

浙江大学医学院附属第一医院 实验动物伦理审查申请表

(The Tab of Animal Experimental Ethical Inspection)

项目(实验)名称 Study title	蛋氨酸-胆碱缺乏饮食诱导非酒精性脂肪性肝炎过程中肠道微生态及代谢组的动态改变		
学科类别 Subject category	感染科	项目负责人(签名) Project manager (signature)	
联系手机(院内网) Contact phone	13906514210	E-mail	ljli@zju.edu.cn

一、动物实验人员资料 (Personnel information):

姓名 name	职称/学位 Title/degree	接受动物学教育与训练情况 Zoology education and training	曾参与的实验动物课题 The experiment experience
叶建中	硕士	浙江省医学实验动物与动物实验培训	肠道微生态影响慢性重大炎症性肠肝疾病的机制研究
李雅婷	硕士	浙江省医学实验动物与动物实验培训	肠道微生态影响慢性重大炎症性肠肝疾病的机制研究
吴文瑞	硕士	浙江省医学实验动物与动物实验培训	肠道微生态影响慢性重大炎症性肠肝疾病的机制研究

二、拟开展课题摘要 (The task in this project):

非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD) 是目前全球最常见的慢性肝脏疾病, 包括肝脂肪变性 & 非酒精性脂肪性肝炎 (NASH)。NASH 通常与 II 型糖尿病、心血管疾病及终末期肾脏病相关, 未来十年内 NASH 将成为肝移植的主要适应症。然而迄今没有获批准的治疗 NASH 的有效药物。最近研究表明, 肠道微生态在 NAFLD 进展至 NASH 的过程中发挥重要作用。正常情况下, 肝脏可作为屏障维持机体与肠道菌群的互利共生状态。但是, 肠道菌群紊乱后可增加有害物质如脂多糖等通过门静脉入肝, 进而会促进 NASH 进展。NAFLD 发展至 NASH 过程中肠道微生态及其代谢组的动态变化目前仍未可知, 因此本研究计划通过蛋氨酸-胆碱缺乏 (MCD) 饮食构建 NASH 小鼠模型, 研究肠道微生态及其代谢组改变在疾病进展过程中的特征及作用。

三、动物实验概要 (Animal experiment summary)

包括: 分组, 预试验、正试验, 技术操作, 标本收集, 安乐处死, 等

(Including: grouping, Preliminary test, Official test, Technical operation, Specimen collection, happiness execution, etc)

实验动物分组处理情况:

A 组 (空白对照组): 给予正常饮食饲喂, 自由饮食、饮水。

B 组 (模型组): 给予 MCD 饮食饲喂, 自由饮食、饮水。

预实验:

第一阶段: 建模

清洁级 C57BL/6J 小鼠 16 只, 雄性, 在标准条件 (普通饮食、自由饮水, 每日 12h 光照

与 12h 黑暗交替循环) 下适应性喂养一周。A 组在标准条件下给予正常饮食继续饲喂 4 周 (8 只), B 组在标准条件下给予 MCD 饮食继续饲喂 4 周 (8 只)。

第二阶段: 验模

饲喂过程中, 每周随机处死空白对照组及模型组小鼠各 2 只, 取出肝脏组织。先肉眼观察, 拍照, 再取肝右叶组织用 10% 中性甲醛溶液进行固定, 乙醇脱水, 石蜡包埋, 4-6 μm 厚度连续切片后进行常规 HE 染色和肝纤维化特染 Masson 染色, 行病理组织学检查。

NanoZoomer 数字病理扫描系统扫描病理切片后观察肝脏形态变化。采用 Image pro plus 软件进行肝 Masson 染色结果的定量分析。Masson 染色每张切片选取 6 个视野 ($\times 200$), 结果表示为: 胶原纤维面积百分比 = 胶原纤维着色面积 / 视场面积 $\times 100\%$, 取平均值。

正试验:

第一阶段: 建模

清洁级 C57BL/6J 小鼠 24 只, 雄性, 在标准条件 (普通饮食、自由饮水, 每日 12h 光照与 12h 黑暗交替循环) 下适应性喂养一周。A 组在标准条件下给予正常饮食继续饲喂 2 周及 4 周 (12 只), B 组在标准条件下给予 MCD 饮食继续饲喂 2 周及 4 周 (12 只)。

第二阶段: 标本收集

饲喂 2 周及 4 周后, 两组小鼠粪便样本于排便后立即收集, 并置 -80°C 冰箱冻存。腹腔注射 4% 水合氯醛安乐处死小鼠。打开腹腔, 下腔静脉取血。肝组织及结肠组织一部分用 10% 中性甲醛溶液进行固定, 乙醇脱水, 石蜡包埋; 其余液氮速冻后置 -80°C 冰箱冻存。留作后续实验用。标本收集完成后, 小鼠尸体 -20°C 冰箱冻存, 集中处理。

以上内容请申请人认真填写, 并经所在科室或学科、实验室盖章确认。(盖章)

以下内容可至动物室填写:

四、实验动物

1、实验动物采购申请:

动物类别/品系 Species or strain	等级 Grade	使用数量 Number (♀ / ♂)	动物来源 Animal sources	质量合格证明编号 Number of qualitative qualification
C57BL/6J	清洁级	♂ 40 只	浙江省实验动物中心	SCXK (浙) 2014-0001

2、动物饲养:

☐ 由浙一动物室工作人员负责

☒ 由实验人员自行负责

Animal staff responsible for

Experimental team responsible for

3、技术技能应用和需求:

☒ 采血 blood collection

☒ 灌胃 fill the stomach

☒ 麻醉 anesthesia

☐ 移植 (transplantation) ☐ 其它 (others)

课题组具备各种动物实验的技术技能

需要动物室支持的技术 (Need to be supported skill): 课题组具备各种动物实验的技术技能

支持者 supporter (签名, signature): None.