


加快审查类

浙江大学医学院附属第一医院 实验动物伦理委员会 审查批准件  
The Tab of Animal Experimental Ethical Inspection of the First Affiliated  
Hospital, College of Medicine, Zhejiang University

批件号 Reference Number: ( 2015 ) 实动快审第 ( 232 ) 号

研究项目名称 Study Title	不同剂量免疫抑制剂 FK506 对大鼠肝移植后肠道微生态作用的研究				
承担学科 Department	肝胆胰外科	项目负责人 (职称)	蒋建文 蒋建文		
审批材料清单 List of Documents	<input checked="" type="checkbox"/> 审查申请表 Application form <input checked="" type="checkbox"/> 研究方案 Protocol <input type="checkbox"/> 其它 Other _____				
拟用动物情况 Decodes of the animals	动物类别/品系 Species or strain	等级 Grade	使用数量 Number (雄性)	动物来源 Animal sources	质量合格证明编号 No. of qualitative qualification
	Lewis 大鼠和 BN 大鼠	SPF 级	Lewis 大鼠 32 只 BN 大鼠 48 只	北京维通利华实验动物技术有限公司	SCXK(京)2012-0001
<b>审查意见 Evaluation Comments:</b> <input checked="" type="checkbox"/> 批准 Approval <input type="checkbox"/> 作必要修改后批准 Conditional Approval <input type="checkbox"/> 不批准本次申请 Disapproval <div style="text-align: right; margin-top: 20px;">           主任签章:            日期: 2015 年 3 月 6 日            Date              浙江大学医学院附属第一医院            科研伦理委员会 (代章)            Research Ethics Committee of the First Affiliated Hospital,            College of Medicine, Zhejiang University         </div>					

附研究方案：

### 一、实验目的：

免疫抑制药物对肝移植患者肠道微生物菌群的影响到目前仍不清楚，免疫抑制剂剂量与肠道微生物改变之间的相互作用是亟待解释的科学问题。本研究将观察不同剂量的 FK506 对肝移植后移植肝功能和肠道微生物的影响。

### 二、材料和方法

#### 1、实验动物

无特定病原体（SPF）雄性 Brown Norway（BN）大鼠和近交系 Lewis 大鼠（体重 220-250g，12-15 周）购自北京维通利华实验动物技术有限公司。

#### 2、实验设计和协议

整个研究分为 5 组。（1）同基因组（BN-BN LT，n = 8）；（2）排斥组（Lewis-BN LT，n = 8）；（3）高剂量 FK506（FK506-H）组（Lewis-BN LT，n = 8）：LT 后 1mg / kg 给药 1 个月。（4）中剂量 FK506（FK506-M）组（Lewis-BN LT，n = 8）；FK506 以 0.5mg / kg 体重给药 1 个月。（5）低剂量 FK506（FK506-L）组（Lewis-BN LT，n = 8）应用 0.1mg / kg 体重的 FK506 1 个月。FK506 用药在 LT 后 7 天期间每 12 小时一次 FK506 通过腹部皮下注射施用，在 LT 后 8-30 天，每天一次灌胃给予 FK506 缓释剂，保持 24 小时稳定释放。第 30 天取材，遵守动物保护措施。

#### 3、实验步骤和样本收集

根据我们以前的技术稍作改良进行大鼠肝移植手术。研究内容包括肝功能和血浆内毒素测试，常规病理和透射电子显微镜（TEM）检测，回盲部 DNA 的提取，实时定量 PCR（RT-qPCR）及变性梯度凝胶电泳（DGGE）分析 DGGE 条带的有意义菌落测序。

### 三、统计分析

数据变量为平均值±标准误差（SD）。Student-t 检验用于评估两组之间的参数数据。菌群分析采用 R 软件等菌群分析专用软件分析，统计分析使用 SPSS 19.0 for Windows（SPSS Inc., Chicago, IL）进行。

# 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	不同剂量免疫抑制剂 FK506 对大鼠肝移植后肠道微生态作用的研究		
学科类别 Subject category	肝胆胰外科	项目负责人（签名） Project manager (signature)	蒋建文 
联系手机(院内网) Contact phone	679092	E-mail	jiangjw@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
鱼达	副研究员/硕士	获得浙江省动物实验中心颁发的合格证	参与国家重点基础研究计划课题 (NO 2007CB513005), (2013CB531403) 等。
何勇	实验员/大专	获得浙江省动物实验中心颁发的合格证	同上
姜骊	实验员/大专	获得浙江省动物实验中心颁发的合格证	同上

## 二、拟开展课题摘要 (The task in this project):

该研究具体探索不同剂量的免疫抑制剂 FK506 对大鼠肝移植后肠道菌群的作用研究，实验模型采用大鼠原位肝脏模型，根据需要分为同基因组，排斥组，低剂量 FK506 组，中剂量 FK506 组，高剂量 FK506 组，大鼠肝移植后应用不同剂量的 FK506 达 30 天，第 30 天时将大鼠麻醉状态下留取标本，处以安乐死，实验动物技术员对研究设计不熟悉，无菌状态下留取血样进行肝功能和内毒素分析，留取肝组织和回肠组织进行病理学，透射电子显微镜 (TEM) 分析，留取回肠部分粪便深低温保存，后续进行肠道菌群 DNA 抽提，进行 RT-PCR 分析和变性梯度凝胶电泳分析，确定肠道菌群的变化，并且进行肠道菌群的分析，包括多样性和丰度，聚类分析，解析不同剂量的免疫抑制剂 FK506 对大鼠肝移植后肠道菌群的作用，为肝移植后合理应用免疫抑制剂提供新的依据。 $P$  值小于 0.05 被认为是统计学显著差异。

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)

无特定病原体 (SPF) 雄性 Brown Norway (BN) 大鼠和近交系 Lewis 大鼠 (体重 220-250g, 12-15 周) 购自北京维通利华实验动物技术有限公司。整个研究分为 5 组。(1) 同基因组 (BN-BN LT, n = 8); (2) 排斥组 (Lewis-BN LT, n = 8); (3) 高剂量 FK506 (FK506-H) 组 (Lewis-BN LT, n = 8): LT 后 1mg / kg 给药 1 个月。(4) 中剂量 FK506 (FK506-M) 组 (Lewis-BN LT, n = 8); FK506 以 0.5mg / kg 体重给药 1 个月。(5) 低剂量 FK506 (FK506-L) 组 (Lewis-BN LT, n = 8) 应用 0.1mg / kg 体重的 FK506 1 个月。FK506 用药在 LT 后 7 天期间每 12 小时一次 FK506 通过腹部皮下注射施用，在 LT 后 8-30 天，每天一次灌胃给予 FK506 缓释剂，保持 24 小时稳定释放。术后第 30 天取材，遵守动物保护措施。

本研究中心具有非常成熟的大鼠肝移植实验技术和设施，并符合动物实验伦理。

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
Lewis 大鼠和 BN 大鼠	SPF	雄性 Lewis 大鼠 32 只 BN 大鼠 48 只	北京维通利华实验 动物技术有限公司	SCXK (京) 2012-0001

2、动物饲养：

☒ 由浙一动物室工作人员负责  
Animal staff responsible for

☐ 由实验人员自行负责  
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

☒ 大鼠肝移植 transplantation )