

(別途様式1)

琉球大学動物実験計画書

学 長 殿

<input checked="" type="checkbox"/> 新規 <input type="checkbox"/> 類似 <input type="checkbox"/> 継続 (承認番号: 第)	<input checked="" type="checkbox"/> 試験・研究 <input type="checkbox"/> 繁殖・維持 <input type="checkbox"/> 教育・実習
---	---

提出年月日	2017 年 07 月 19 日	受付年月日	2017 年 07 月 26 日	受付番号	R2017043
-------	------------------	-------	------------------	------	----------

研究課題	間葉系幹細胞の機能と培養方法に関する研究
------	----------------------

研究目的	急性肝不全・肝硬変治療を目的とした肝再生療法の研究が活発に行われている。肝再生療法に用いられる間葉系幹細胞の機能を評価するため、マウスへの移植を計画している。間葉系幹細胞のQualityの判定において、急性肝不全・肝硬変マウスへの移植による肝機能改善率が臨床の移植成績との相関がある。間葉系幹細胞の機能評価および分化細胞の機能評価においてもマウスへの移植が必須となる。
------	--

動物実験責任者名	フリガナ ノグチ ヒロフミ 氏名 野口 洋文 e-mail noguchih@med.u-ryukyu.ac.jp	所属 医学研究科再生医学講座 連絡先TEL: 1696	職名等 教授
----------	---	-----------------------------------	-----------

飼育保管施設 及び 実験室	飼育保管施設 医学部附属動物実験施設2階SPF マウス室232、233、3階P2飼育 室(感染実験区域内)	実験室 医学部附属動物実験施設2階SPFマウス実 験処置室253、再生医療研究センター2F実 験室
------------------	--	--

実験実施期間	2017 年 06 月 ~ 2018 年 03 月		
使用動物	動物種 マウス	匹数 260匹	備考 <input type="checkbox"/> P2 感染実験 <input type="checkbox"/> P3 感染実験 <input type="checkbox"/> 組換え動物

委員会記入欄	審査終了:20()年 月 日
	修正意見等
	審査結果 <input type="checkbox"/> 本実験計画は、琉球大学動物実験規則等に適合する。 条件1 <input type="checkbox"/> 琉球大学遺伝子組換え生物等使用実験安全委員会の承認後、実験を開始すること。 条件2 <input type="checkbox"/> 条件3 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> 本実験計画は、琉球大学動物実験規則等に適合しない。

学長承認欄	承認:20(17)年 7 月 31 日
	<input checked="" type="checkbox"/> 本実験計画を承認します。 <input type="checkbox"/> 委員会の修正意見等を踏まえ再提出願います。 <input type="checkbox"/> 本実験計画は承認しません。
	承認番号:第 A2017101 号 琉球大学 学長



	動物種	系統	性別	匹数	微生物学的品質	入手先(導入機関名)	備考
使用動物	マウス	C57BL/6	♂	70	SPF	SLC	
	マウス	BALB/c	♂	70	SPF	SLC	
	マウス	BALB/cヌード	♂	60	SPF	SLC	
	マウス	SCID	♂	60	SPF	日本チャールズリバー	

特殊実験区分 (該当項目をすべて■)	<input type="checkbox"/> 1. 感染実験 安全度分類: <input type="checkbox"/> BSL1 <input type="checkbox"/> BSL2 <input type="checkbox"/> BSL3 <input type="checkbox"/> 2. 遺伝子組換え動物使用実験 区分: <input type="checkbox"/> P1A <input type="checkbox"/> P2A <input type="checkbox"/> P3A <input type="checkbox"/> 3. 放射性同位元素・放射線使用実験 <input type="checkbox"/> 4. 化学発癌・重金属実験 (安全対策等:)
動物実験を必要とする理由 (選択項目を■)	<input checked="" type="checkbox"/> 1. 検討したが、動物実験に替わる手段がなかった <input type="checkbox"/> 2. 検討した代替手段の精度が不十分だった <input type="checkbox"/> 3. その他(具体的に記入:)

想定される苦痛のカテゴリー (選択項目を■)	<input type="checkbox"/> B. 脊椎動物を用い、動物に対してほとんどあるいはまったく不快感を与えないと思われる実験。 <input checked="" type="checkbox"/> C. 脊椎動物を用い、動物に対して軽度のストレスまたは痛み(短時間持続するもの)を伴うと思われる実験。 <input type="checkbox"/> D. 脊椎動物を用い、回避できない重度のストレスまたは痛み(長時間持続するもの)を伴うと思われる実験。 <input type="checkbox"/> E. 無麻酔下の脊椎動物に、耐えうる限界に近い またはそれ以上の痛みを与えようと思われる実験。
動物の苦痛軽減、排除の方法 (該当項目をすべて■)	<input checked="" type="checkbox"/> 1. 短時間の保定・拘束および注射など、軽微な苦痛の範囲であり、特に処置を講ずる必要はない。 <input checked="" type="checkbox"/> 2. 麻酔薬・鎮痛薬等を使用する。 (具体的薬剤名及びその投与量・経路を記入: 5%イソフルラン吸入麻酔) <input checked="" type="checkbox"/> 3. 動物が耐えがたい痛みを伴う場合、適切な時期に安楽死措置をとるなどの人道的エンドポイントを考慮する。 (人道的エンドポイントの具体的内容を記入: CCL4の投与による多臓器不全等 (本研究計画に用いるCCL4の濃度(0.5ml/kg)では多臓器不全誘発の可能性は低い)) <input type="checkbox"/> 4. その他(具体的に記入:)
安楽死の方法 (該当項目をすべて■)	<input type="checkbox"/> 1. 麻酔薬等の使用(具体的薬剤名及びその投与量・経路を記入:) <input checked="" type="checkbox"/> 2. 炭酸ガス <input checked="" type="checkbox"/> 3. 中枢破壊(具体的に記入: 頸椎脱臼) <input type="checkbox"/> 4. 安楽死させない(その理由を記入:)
動物死体の処理方法 (選択項目を■)	<input checked="" type="checkbox"/> 1. 医学部付属動物実験施設に委託 <input type="checkbox"/> 2. 外部業者に委託 <input type="checkbox"/> 3. その他(具体的に記入:)
その他必要または参考事項	(関係法令への対応、過去の動物実験計画書承認実績、学内の関連委員会への申請状況、飼養保管施設・実験室の承認状況などを記入する。)

研究計画と方法	<p>研究概要（研究計画と方法について、その概要を記入する。）</p> <p>急性肝不全・肝硬変治療を目的とした肝再生療法の研究が活発に行われている。肝再生療法に用いられる間葉系幹細胞の機能を評価するため、マウスへの移植を計画している。間葉系幹細胞のQualityの判定において、急性肝不全・肝硬変マウスへの移植による肝機能改善率が臨床の移植成績との相関がある。間葉系幹細胞の機能評価および分化細胞の機能評価においてもマウスへの移植が必須となる。これらの細胞を動物へ移植することによる有効性および安全性を検証する。</p>
	<p>実験方法（動物に加える処置、使用動物数の根拠を具体的に記入し、「想定される苦痛のカテゴリー」や「動物の苦痛軽減・排除方法」等と整合性をもたせる。）</p> <p>急性肝不全モデルマウスの作製： 四塩化炭素(CCL4)誘発急性肝不全マウスを作製するため、また再現性確認のため30頭のマウスが必要である（コントロール10頭、細胞投与10頭、上清投与10頭）。またマウス種の個体差を確認するため、BALB/c、C57/BL6の2種類のマウスを使用する。オリーブオイルにて希釈したCCL4(0.5-5.0ml/kg)をマウス腹腔内へ注射を行い、急性肝不全モデルマウスを作製する。参考文献(Cell Transplantation, Vol. 18, pp. 611-618, 2009)。</p> <p>肝硬変モデルマウスの作製： 四塩化炭素(CCL4)誘発肝硬変マウスを作製するため、また再現性確認のため30頭のマウスが必要である（コントロール10頭、細胞投与10頭、上清投与10頭）。またマウス種の個体差を確認するため、BALB/c、C57/BL6の2種類のマウスを使用する。オリーブオイルにて希釈したCCL4(0.5-5.0ml/kg)をマウス腹腔内へ注射(2回/週)を6週行い、肝硬変モデルマウスを作製する。参考文献(Fujii et al. BMC Gastroenterology 2010, 10:79)。</p> <p>マウス間葉系幹細胞の入手： 間葉系幹細胞(脂肪由来・骨髄由来)の入手のため、また再現性確認のため10頭のマウスが必要である。またマウス種の個体差を確認するため、BALB/c、C57/BL6の2種類のマウスを使用する。</p> <p>モデルマウスへの移植(急性肝不全・肝硬変)： 急性肝不全・肝硬変モデルマウスへ尾静脈より間葉系幹細胞・もしくは培養上清を投与する。マウスに5%イソフルラン吸入麻酔後、各臓器を摘出し肝機能を評価する。採血、および臓器摘出後、安楽死させる。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ヒト間葉系幹細胞の入手：タカラバイオ株式会社より購入する。 ・急性肝不全、肝硬変モデルマウスの作製：上記と同じ。 (BALB/cヌードマウス(30頭)、およびSCIDマウス(30頭)を用いる) ・モデルマウスへの移植：上記と同じ。 ・移植細胞数： $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^7$ 個移植する。 ・肝機能測定：採血、肝組織の組織学的な観察をもって行う。 <p>実験中、動物の苦痛が耐え難いもの（CCL4の投与による多臓器不全等）と判断された場合には、直ちに実験を中止し、当該動物を安楽死させる（人道的エンドポイント）。</p>

受付日時	2017 年 07 月 26 日	受付番号	R2017043
承認日時	2017 年 07 月 31 日	承認番号	A2017101

研究課題	間葉系幹細胞の機能と培養方法に関する研究
------	----------------------

動物実験責任者名 (選択項目を■)	フリガナ ノグチ ヒロフミ	所属	職名等	動物実験の経験等
	氏名 野口 洋文 e-mail noguchih@med.u-ryukyu.ac.jp	医学研究科再生医学講座 連絡先TEL: 1696	教授	教育訓練受講の■有□無
動物実験実施者名 (括弧内にフリガナ、 選択項目を■)	潮平 知佳 (シオヒラ チカ) chika@med.u-ryukyu.ac.jp	医学研究科再生医学講座 連絡先TEL: 1696	助教	教育訓練受講の■有□無
	中島 義基 (ナカシマ ヨシキ) nakasima@med.u-ryukyu.ac.jp	医学研究科再生医学講座 連絡先TEL: 1696	助教	教育訓練受講の■有□無
	Saifun Nahar (Saifun Nahar) tuliferdouse@yahoo.com	医学部第一内科 連絡先TEL: 1144	大学院生	教育訓練受講の■有□無
	() 連絡先TEL:			教育訓練受講の□有□無
	() 連絡先TEL:			教育訓練受講の□有□無
	() 連絡先TEL:			教育訓練受講の□有□無
	() 連絡先TEL:			教育訓練受講の□有□無
	() 連絡先TEL:			教育訓練受講の□有□無
	() 連絡先TEL:			教育訓練受講の□有□無
	() 連絡先TEL:			教育訓練受講の□有□無
	() 連絡先TEL:			教育訓練受講の□有□無
	() 連絡先TEL:			教育訓練受講の□有□無
添付書類	動物実験計画書(PDF)を添付いたします。			