

# 上海交通大学医学院附属新华医院实验动物伦理申请表

Application Format for the Laboratory Animal Ethical and Welfare Committee  
XinHua Hospital Affiliated to Shanghai JiaoTong University School of Medicine

受理编号: XHEC-F-2018-062  
Appl. No.

课题名称及编号 Protocol Title and No.	RGD 肽修饰量子点在胰腺癌光动力治疗中的作用及机制研究 编号: 81472844		
课题来源 Sponsor	国家自然科学基金	拟实验时间 Period of Protocol	2018-6~2019-6
科室 Department	消化内科	科室负责人 Principle of Department	范建高
课题负责人 Principle Investigator	徐雷鸣	邮箱和电话 Email and Telephone	xuleiming@xinhumed.com.cn 电话 13651686398
动物实验负责人 Director of Animal Experiment	郑楠楠	邮箱和电话 Email and Telephone	1107893387@qq.com 19821238672
课题实施动物实验人数 Number of Implement	1	经专业培训的人数 Number of Certificates	1

参与动物实验操作人员姓名、相关专业证书编号, 经验、培训、资质和能力的描述。

Name and Certificate Number, Description of Experience/Training/Competency of the Individuals Carrying out the Research

操作人员: 郑楠楠

经验和培训等: 2018 年 3 月份在新华医院动物房参加培训, 熟悉新华医院动物房消毒隔离、物品传递等操作流程, 跟随师姐学习多次, 学习了胰腺癌皮下模型、原位模型以及转移模型。熟练掌握小鼠麻醉、腹腔注射、分离脾脏、分离肿瘤组织, 取眼球血以及小鼠安乐死等操作。

实验要点：包括实验目的、实验方法、实验必要性等

Aim of Experiment, Including Outline of Experiments, Experimental Methods, Necessity, etc.

实验必要性：胰腺癌高发率和低治疗率使其死亡率逐年上升，单一免疫治疗对胰腺癌疗效欠佳。鉴于人体胰腺癌组织标本较珍贵，而小鼠作为一种理想的动物模型，可以较为准确地反映人体病理生理过程，为疾病的治疗提供有价值的参考借鉴，因此有必要将小鼠作为动物模型。

实验目的：探究 I 型蛋白精氨酸甲基转移酶抑制剂 PT1001B 及 RGD 肽修饰量子点-光动力疗法联合 PD-L1 抑制剂对小鼠胰腺癌发展的影响和免疫机制。

实验方法：C57BL/6 雌鼠适应性喂养一周后，右后背部、臀部备皮。将 Panc02 细胞调整浓度至  $5 \times 10^6$  个/100  $\mu$ l，接种到小鼠右后背部皮下，接种前酒精棉球擦拭消毒进针位置，针头在皮下走一段再注射，注射体积为 100 $\mu$ l/只，注射前针头稍微动一动，能动说明在皮下，否则可能在皮内或者肌肉内，注射速度不可太快，可看见明显的鼓包。接种点离进针点尽量较远，减少漏液和污染的可能。注射完毕后，缓慢退出针头，尽量避免漏液。细胞需一直置于冰上，使细胞处于比较低的代谢状态，一般 2h 之内需完成。待肿瘤长到约 100mm<sup>3</sup> 后分组，分别为 control 组，抗 PD-L1 组，光动力治疗组，PT1001B 治疗组，抗 PD-L1+光动力治疗组，抗 PD-L1+PT1001B 治疗组，每组 4 只。治疗方式如下：anti- PD-L1 ( 2mg/ml )：100 $\mu$ l/只，腹腔注射，每 2 天 1 次，共 5 次；光动力治疗：量子点-RGD ( 1 $\mu$ mol/L )，瘤内注射 5 $\mu$ l 后予以激光照射，2 周 1 次，共 2 次；PT1001B ( 6mg/ml )：100 $\mu$ l/20g 体重，每天 1 次，腹腔注射。control 组小鼠予以 PBS 腹腔注射，100 $\mu$ l/只/天。治疗期间，每间隔 2 日进行体重测量及肿瘤长、短径测量。肿瘤长、短径由游标卡尺测得，以此计算肿瘤体积。至治疗终点，腹腔注射 1% 戊巴比妥钠溶液 ( 100 $\mu$ l/10g 体重 ) 麻醉小鼠，收取肿瘤组织，眼球血，称取肿瘤组织重量，收取淋巴结，心、肝、脾、肺、肾等主要器官进行固定、石蜡包埋、HE 染色。

拟使用动物信息 Animal to be Used	动物来源 Animal Origin	上海吉辉实验动物 饲养有限公司	动物数量/只 Quantity	Total <u>96</u> ♀ <u>96</u> ♂ <u>0</u>
	许可证编号 Certificate No.	SCXK 沪 2017-0012	体重/g Weight/g	
	质量合格证 Certification of Fitness	<input checked="" type="checkbox"/> 有 Qualified <input type="checkbox"/> 无 Unqualified	月龄/M Age/month(s)	5 周龄
	动物品种/品系 Breed/Strain	<input type="checkbox"/> 大鼠 Rat <input checked="" type="checkbox"/> 小鼠 Mice <input type="checkbox"/> 裸鼠 Nude Mice <input type="checkbox"/> 兔 Rabbit <input type="checkbox"/> 犬 Dog <input type="checkbox"/> 灵长类 Primary Animal <input type="checkbox"/> 转基因动物 Genetically Modified Animal <input type="checkbox"/> 其他 ( 具体说明 ) Others _____		
	等级 Grade	<input type="checkbox"/> 普通动物 CV <input type="checkbox"/> 清洁动物 CL <input checked="" type="checkbox"/> 无特定病原体动物 SPF <input type="checkbox"/> 无菌动物 GF		



	<p><b>选择实验动物种类和数量的原因</b> Reasons for the Choice of Species and Number of Animals to be Used</p> <p>C57BL/6 鼠：研究免疫机制，故选用免疫系统正常小鼠。由于同种移植需要选择与肿瘤细胞系来源一致的小鼠，故本实验选用 C57BL/6 品系小鼠及同源的胰腺癌细胞系 Panc02。因为实验分组及实验重复的需要，每次实验分六组，每组 4 只，重复 3 次。因为小鼠造模过程中可能出现意外死亡，以小鼠瘤体大小生长较为均一视为造模成功，估计造模成功率为 75%，共需 96 只小鼠。</p>
<p style="writing-mode: vertical-rl; text-orientation: upright;">拟开展动物实验的详细信息 Detailed Information of the Experiments on Animals</p>	<p>详细列出对动物可能造成的所有可预期的伤害，包括动物运输、每个实验方案动物饲养方式、实验操作步骤中等可能产生伤害或不适的细节以及拟采取的防控措施。 Description of the overall harms expected to be experienced by the animals – including details of the likely adverse effects of each protocol, cage breeding and the steps which will be taken to control these adverse effects.</p> <p>小鼠的运输会严格遵守我国动物运输的有关规定，并且在运输过程中，有足够数量的管理人员负责实验动物的健康状况，全面的福利要求和舒适性。运输中可能会有外部病原体的感染，因此会将动物放合适的笼具中，此外运输工具还有防止实验动物遭受高温、高热、雨雪和寒冷等恶劣天气的影响的设备，并且运输车配置维持实验动物正常呼吸和生活的装置及防震设备。</p> <p>本次实验过程中，小鼠采用正常饮食喂养方式，新华医院动物房配备了专业的科技人员、专业培训的饲养人员，掌握大鼠的自然习性、日常需求、应激反应等，可以从专业角度关注并保护小鼠的福利。</p> <p>实验操作过程中，我在抓取、固定小鼠时，一定会做到动作温和，不虐待动物，严格遵循“温和绑定，善良抚慰，减少痛苦和应激发应的原则”，在不影响实验操作的前提下，对小鼠身体的强制性限制减少到最低程度。并在实验过程中随时注意观察小鼠的状态。药物腹腔注射时若刺入到内脏，内脏出血一方面影响实验数据准确性，另外长期内脏出血会导致小鼠内脏溃烂，体重减轻甚至死亡等现象。对此，应该掌握腹腔注射的技巧：左手抓紧背部皮肤使腹部皮肤紧绷，在小鼠于两大腿根连线与腹中线交叉点一侧约 0.3-0.5 cm 位置（偏左/偏右）刺入皮下，针头到达皮下后，沿皮下向前推进 2-3 cm，然后注射器针头与皮肤呈 45° 角刺入腹膜，慢慢感觉到抵抗力消失，即可快速注射液体。取材时使用戊巴比妥作为麻醉剂，最大限度减轻小鼠的痛苦</p>
	<p><b>动物替代、减少动物用量、降低动物痛苦伤害的主要措施</b> Major Measure for 3Rs</p> <p>1.我已经在进行动物实验前用 Panc02 胰腺癌细胞系做过预实验，因此可以减少实验动物用量。</p> <p>2.作为操作人员，我跟随师姐学习造模多次，已经熟练掌握造模流程，因此我将尽可能提高实验质量，增大造模成功率，减少不必要的小鼠使用。</p> <p>3.我本科期间也做过动物实验，熟练掌握动物实验操作技巧，可以尽量减少实验过程中对小鼠的损伤，减轻他们遭受的痛苦和应激反应。</p>
	<p><b>主要观察指标</b> Main Observation Target</p> <p>主要观察指标是小鼠治疗期间肿瘤的体积及小鼠体重、治疗终点肿瘤的重量以及主要器官结构（肉眼观察、HE 染色后显微镜下观察）。</p> <p><b>仁慈终点或实验终结的指标</b></p>

Humane Endpoint or Experimental Terminative Indicator

动物伦理学规定,小鼠肿瘤重量不可超过小鼠体重 10%, 平均肿瘤直径不超过 15mm, 并且如果出现溃烂,造成感染或坏死时,应该中止实验且对动物施行安乐死。考虑到动物福利与伦理学,设置皮下肿瘤体积到达或者超过  $1500\text{mm}^3$  时为人道终点。动物尸体我将严格遵守新华医院动物房的有关规定,在指定时间放到指定地点。

动物的处死方式

Death Conduct

小鼠麻醉后收取肿瘤组织及主要器官后死亡。

非处死动物的处置方式

Not for the Death of the Animal Disposition

☒ 继续使用 Continue to Use

☐ 机构保存 Save in the Agency

☐ 野外放生 Release to the Wild

☐ 其他, 详细说明 Others, Detailed Description

是否使用有毒(害)物质(感染、放射、化学毒、其他)

Poisonous (Harmful) material (Infection, Radiate, Chemical Poison and Other) being used

☒ 否 No

☐ 是 Yes

说明 Declare: 使用小鼠造皮下瘤模型, 手术操作, 不使用任何有毒物质。\_\_\_\_\_

其他说明

Other Statement

无。

声明: 我将自觉遵守实验动物福利伦理原则, 随时接受实验动物伦理委员会的监督与检查, 如违反规定, 自愿接受处罚。I will abide by the rules of animal experimental ethics, accept the supervision and inspection of the animal experimental ethics committee, and accept the punishment if any infringement.

声明人: 课题负责人签名(盖章)

Declarant: Signature(Stamp) of PI


动物实验负责人签名(盖章):

Signature(Stamp) of Director of Animal Experiment

2018 年 4 月 15 日  
Y M D

主管兽医意见

Opinion of Veterinary of Institution

主管兽医签(章): 

Signature (Stamp) Veterinary

2018 年 4 月 18 日

Y M D

模式动物研究部意见:

Opinion from Department of Model Animal

☒ 同意 Agree

☐ 不同意 Disagree

签名:

Signature

2018 年 4 月 18 日

Y M D

备注(Remark)

1. 表格所有填写内容请用签字笔填写或电脑打印(签名处除外)。项目负责人、执行人及合作单位负责人均需在声明人签字栏签字。

2. 需随本表递交相关审查资料如实验方案、课题标书等。要求写明项目的意义、必要性、项目中有关实验动物的用途、饲养管理或实验处置方法、预期出现的对动物的伤害、处死动物的方法、项目进行涉及动物福利和伦理问题的详细描述。


3. 本表一式三份, 伦理委员会、实验动物中心和申请者各备一份。



# 上海交通大学医学院附属新华医院实验动物福利伦理委员会批件

Approval of the Laboratory Animal Ethical and Welfare Committee  
Xin Hua Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine

编号: Approval No. XHEC-F-2018-062

Protocol Information 课题信息	课题名称 Protocol Title	RGD 肽修饰量子点在胰腺癌光动力治疗中的作用及机制研究		
	项目来源 Found Source	国家自然科学基金 (81472844)	拟实验时间 Period of Protocol	2018.06.01-2019.06.01
	动物实验负责人 Director of Animal Experiment	郑楠楠	实施动物实验人数 Number of Implement	1
	课题负责人 Principle Investigator	徐雷鸣	科室 Department	消化内科
	动物品种/品系 Breed/Strain	小鼠	动物数量/只 Quantity	96
Results of Inspection 审查结果	<p><input checked="" type="checkbox"/> 经审查, 该项目动物实验的方法和目的符合动物福利保护原则, 符合国家科技部《关于善待实验动物的指导性意见》等法规的规定, 同意开展研究。(Agree)</p> <p><input type="checkbox"/> 必要修正后, 可以进行试验(Agree after modify)</p> <p><input type="checkbox"/> 不同意该试验(Disagree)</p> <p>主任委员 (Chairman)  日期 (Date) 2018 年 4 月 23 日</p> <p>新华医院实验动物福利伦理委员会 Animal Ethical and Welfare Committee of XHEC</p> 			
The statement 声明	<p>本动物实验方案经过实验动物伦理委员会审核, 符合动物保护、动物福利和伦理原则, 符合国家实验动物福利伦理的相关规定。</p> <p>The animal use protocol listed below has been reviewed and approved by the Animal Ethical and Welfare Committee (AEWC) .</p>			

地址: 上海市杨浦区控江路 1665 号 邮编: 200092 电话: 021-25076143 传真: 021-25078922  
Address: No.1665 Kongjiang Road Shanghai, P.R China, Postcode: 200092 Tel: +86-21-25076143 Fax: +86-21-25078922