

# 广东省中医院实验动物伦理审查表

Application Format for Ethical Approval for Research Involving Animals  
of Guangdong Province Hospital

申请日期: 2018 年 1 月 20 日

受理编号:2018003-2

批准文号: 2018003-2

Appl.Date Y M D

Appl.No.

IACUC Issue No.

课题名称及编号 Program and No. "基于ICC/PDGFR $\alpha$ +细胞/SMC合胞体探讨 氢溴酸槟榔碱促进小肠动力的机制" A1-AFD018161Z1520	课题来源 Sponsor 广州中医药大学高水平大学研究项目 [2016]
课题负责人 Name of Principal Investigator 陈志强	科室 Department 围手术期中医药应用研究团队
动物实验负责人 Contact Person 陈其城	电话和信箱 Contact Tel.No.and Email 13430359003 qstzcc@163.com
课题实施动物实验的人数 Number of Implement 4	具有上岗证书的人数 Number of certificate 1
实验操作人员姓名: Name 陈其城, 蒋志, 张骏鸿, 王涛	
上岗证书编号或参加培训的时间、地点: certificate number or date and address of training 编号: 陈其城, 14105, 2013年7月-2014年3月, 广东省中医药科学院动物中心培训	
经验、培训内容 Description of experience/training 2013年7月-2014年3月: 广东省中医药科学院动物中心举办的实验动物从业人员上岗资质培 训, 主要学习小鼠、大鼠的灌胃、保定、采血, 尾静脉注射, 眼眶取血, 腹腔注射、皮下注 射等实验操作基本技能, SPF动物房进出流程等。	
资格和能力的描述 competency of the individuals carrying out the research. 熟练掌握比格犬剖腹探查术的实验操作流程, 掌握老鼠肠梗阻模型的制作, 熟悉大小鼠灌胃、 尾静脉注射, 细胞培养、WB技术、平滑肌条动力检测实验, 单细胞膜片钳实验操作技术。	
动物实验设施许可证编号: SYXK (粤) 2013-0094 Name and certificate number	特殊实验设施许可证编号 Name and certificate number
拟实验时间: 2018年 3月1日至 2021年2月28日 Experimental period:	



动物实验项目的目的、必要性、意义和如何设计以达成研究目标的  
Experimental objective, necessity and significance and how the program has been designed to  
achieve the objectives of the research.

目的：阐明香槟方、氢溴酸槟榔碱促胃肠动力的机理，为胃肠动力中药的开发提供实验基础。

必要性：槟榔碱是促胃肠动力中药香槟方的主要活性物质，阐明术后肠麻痹的发病机制及槟榔碱的促胃肠动力机理，为临床治疗策略的发展和胃肠动力中药的新药开发提供科学基础。

意义：本项目以氢溴酸槟榔碱促进胃肠动力作用为核心，围绕目前国际上调控胃肠动力研究的热点，研究氢溴酸槟榔碱促进胃肠动力的机理，为胃肠动力新药香槟方的开发提供理论基础。

#### 研究设计：

##### (1)小肠平滑肌中神经递质受体的表达检测

研究平滑肌细胞、ICC 细胞和 PDGFR $\alpha$ +细胞上兴奋性和抑制性神经递质受体的表达差异，为探讨香槟方及氢溴酸槟榔碱对平滑肌动力作用的机制提供基础。

##### (2) 动物和组织水平研究香槟方、氢溴酸槟榔碱促胃肠动力作用的机理

应用微型高灵敏应力传感器研究氢溴酸槟榔碱对 B6.W/W<sup>v</sup> 小鼠、B6.129P2-Nos<sup>3tm1Unc</sup>/J 小鼠和 B6.129P2-P2ry<sup>tm1Bhk</sup>/J 小鼠胃肠运动的影响，并通过离体组织灌流系统研究氢溴酸槟榔碱及相关通路阻断剂对小肠平滑肌条收缩的影响。

##### (3) 氢溴酸槟榔碱对平滑肌细胞/ICC /PDGFR $\alpha$ +细胞电生理特性的影响

用流式细胞分选术从 B6.Kit<sup>+/copGFP</sup> 和 B6.Pdgfra<sup>tm1l(EGFP)Sor</sup>/J 转基因小鼠小肠平滑肌中分选 SMC、ICC 和 PDGFR $\alpha$ +细胞，然后利用膜片钳实验技术，研究氢溴酸槟榔碱对平滑肌细胞、ICC 和 PDGFR $\alpha$ +细胞的电生理特性的影响及其机制。



拟使用动物信息 Animal to be used	动物来源 广东省医学实验动物中心 Animal origin 许可证编号 SCXK(粤)2013-0002 Certificate number		质量合格证 <input checked="" type="checkbox"/> 有 Certification of fitness <div style="text-align: right;"><input type="checkbox"/>无</div>	
	品种/品系breed/strain  <input type="checkbox"/> 大鼠rat <input checked="" type="checkbox"/> 小鼠mice (C57BL/6) <input type="checkbox"/> 裸鼠nude mice  <input type="checkbox"/> 兔rabbit  <input type="checkbox"/> 犬dog  <input type="checkbox"/> 其它(具体说明) others		等级 <input type="checkbox"/> 普通 Grade <div style="text-align: right;"><input checked="" type="checkbox"/>SPF</div>  <div style="text-align: right;"><input type="checkbox"/>其他</div>	
	数量只(♀; ♂ 120 ) Number (♀ ; ♂ )	体重 g Weight 15-20g	月龄 Age	M moon
	选择实验动物种类和数量的原因 Reasons for the choice of species and numbers of animals to be used. C57BL/6 小鼠是目前研究胃肠动力作用的主要野生型小鼠，并广泛运用于基因缺陷的人类疾病模型，与后续涉及的转基因动物品系相同，作为野生型小鼠对照。  C57BL/6 小鼠 120 只，包括预实验以及造模死亡损失的动物。 动物分组：香槟方组、槟榔碱组或空白对照组 (1) 胃肠平滑肌中 M 型受体表达检测，20 只。 (2) 在体应力传感片植入观察香槟方、槟榔碱在各小鼠间的促动力作用，30 只。 (3) 组织水平研究香槟方、槟榔碱促胃肠平滑肌动力的作用机制，30 只。 (4) 平滑肌细胞/ICC 细胞/PDGFR α +细胞的分离培养，40 只，原代培养后进行膜片钳、WB 等。			



<div>动物来源 广东省医学实验动物中心 Animal origin 许可证编号 SCXK(粤)2013-0002 Certificate number</div>		<div>质量合格证 <input checked="" type="checkbox"/>有 Certification of fitness  <input type="checkbox"/>无</div>	
<div>品种/品系breed/strain  <input type="checkbox"/>大鼠rat <input checked="" type="checkbox"/>小鼠mice ( B6.W/W<sup>V</sup>小鼠 ) <input type="checkbox"/>裸鼠nude mice  <input type="checkbox"/>兔rabbit  <input type="checkbox"/>犬dog  <input type="checkbox"/>其它 (具体说明) others</div>		<div>等级 <input type="checkbox"/>普通 Grade  <input checked="" type="checkbox"/>SPF  <input type="checkbox"/>其他</div>	
<div>数量只 (♀ : ♂ 80 ) Number (♀ : ♂ )</div>		<div>体重 g Weight 15-20g</div>	<div>月龄 M Age moon</div>
<div>选择实验动物种类和数量的原因 Reasons for the choice of species and numbers of animals to be used.  W/W<sup>V</sup> 是 C57BL/6 小鼠去除胃肠道 ICC 细胞功能的基因工程小鼠, 用于研究胃 肠动力作用机制的主要动物模型。 B6.W/W<sup>V</sup> 小鼠 80 只, 包括预实验以及造模死亡损失的动物。 动物分组: 香槟方、槟榔碱组或空白对照组 (1) 在体应力传感片植入观察香槟方、槟榔碱在各小鼠间的促动力作用, 40 只。 (2) 组织水平研究香槟方、槟榔碱促胃肠平滑肌动力的作用机制, 40 只。</div>			

动物来源 广东省医学实验动物中心 Animal origin 许可证编号 SCXK(粤)2013-0002 Certificate number		质量合格证 <input checked="" type="checkbox"/> 有 Certification of fitness  <input type="checkbox"/> 无	
品种/品系breed/strain  <input type="checkbox"/> 大鼠rat <input checked="" type="checkbox"/> 小鼠mice (B6.129P2- <i>Nos<sup>3tailunc/-</sup></i> J小鼠) <input type="checkbox"/> 裸鼠nude mice  <input type="checkbox"/> 兔rabbit  <input type="checkbox"/> 犬dog  <input type="checkbox"/> 其它(具体说明) others		等级 <input type="checkbox"/> 普通 Grade  <input checked="" type="checkbox"/> SPF  <input type="checkbox"/> 其他	
数量只(♀ : ♂ 80 ) Number (♀ : ♂ )	体重 g Weight 15-20g	月龄 Age	M moon
选择实验动物种类和数量的原因 Reasons for the choice of species and numbers of animals to be used.  B6.129P2- <i>Nos<sup>3tailunc/-</sup></i> J 是 C57BL/6 小鼠去除胃肠道 ICC 细胞 eNOS 功能的基因工程小鼠, 用于研究胃肠动力作用机制的主要动物模型。 B6.129P2- <i>Nos<sup>3tailunc/-</sup></i> J 小鼠 80 只, 包括预实验以及造模死亡损失的动物。 动物分组: 香槟方、槟榔碱组或空白对照组 (1) 在体应力传感片植入观察香槟方、槟榔碱在各小鼠间的促动力作用, 40 只。 (2) 组织水平研究香槟方、槟榔碱促胃肠平滑肌动力的作用机制, 40 只。			



动物来源 广东省医学实验动物中心 Animal origin 许可证编号 SCXK(粤)2013-0002 Certificate number		质量合格证 <input checked="" type="checkbox"/> 有 Certification of fitness  <input type="checkbox"/> 无
品种/品系breed/strain  <input type="checkbox"/> 大鼠rat <input checked="" type="checkbox"/> 小鼠mice (B6.129P2-P2ryl <sup>tm1Blak</sup> /J小鼠) <input type="checkbox"/> 裸鼠nude mice  <input type="checkbox"/> 兔rabbit  <input type="checkbox"/> 犬dog  <input type="checkbox"/> 其它(具体说明) others		等级 <input type="checkbox"/> 普通 Grade <input checked="" type="checkbox"/> SPF  <input type="checkbox"/> 其他
数量只(♀ ; ♂ 80 ) Number (♀ ; ♂ )	体重 g Weight 15-20g	月龄 M Age moon
选择实验动物种类和数量的原因 Reasons for the choice of species and numbers of animals to be used.  B6.129P2-P2ryl <sup>tm1Blak</sup> /J 是 C57BL/6 小鼠去除胃肠道 PDGFR α + 细胞 P2Y1 受体功能的基因工程小鼠, 用于研究胃肠动力作用机制的主要动物模型。 B6.129P2-P2ryl <sup>tm1Blak</sup> /J 小鼠 80 只, 包括预实验以及造模死亡损失的动物。 动物分组: 香槟方、槟榔碱组或空白对照组 (1) 在体应力传感片植入观察香槟方、槟榔碱在各小鼠间的促动力作用, 40 只。 (2) 组织水平研究槟香槟方、榔碱促胃肠平滑肌动力的作用机制, 40 只。		



动物来源 广东省医学实验动物中心  
Animal origin  
许可证编号 SCXK(粤)2013-0002  
Certificate number

质量合格证 ☒有  
Certification of fitness  
☐无

品种/品系breed/strain  
  
☐大鼠rat  
☒小鼠mice ( B6.Kit<sup>+/copGFP</sup> 小鼠 )  
☐裸鼠nude mice  
  
☐兔rabbit  
  
☐犬dog  
  
☐其它 ( 具体说明 ) others

等级 ☐普通  
Grade  
☒SPF  
  
☐其他

数量只 ( ♀ ; ♂ 40 ) Number ( ♀ ; ♂ )	体重 g Weight 15-20g
--------------------------------------	-----------------------------

月龄 M  
Age moon

选择实验动物种类和数量的原因  
Reasons for the choice of species and numbers of animals to be used.

B6.Kit<sup>+/copGFP</sup>是C57BL/6小鼠荧光标记ICC细胞的基因工程小鼠，进行细胞消化分离后，使用流式细胞分选仪可以得到纯化的ICC细胞，用于后续的电穿孔，WB等实验。  
B6.Kit<sup>+/copGFP</sup>小鼠40只，包括预实验。  
实验分组：正常组及槟榔碱组。  
新鲜消化分选后培养1d，进行电穿孔细胞离子通道测定。  
新鲜消化分选后培养1d，进行蛋白检测。

动物来源 广东省医学实验动物中心 Animal origin 许可证编号 SCXK(粤)2013-0002 Certificate number		质量合格证 <input checked="" type="checkbox"/> 有 Certification of fitness  <input type="checkbox"/> 无	
品种/品系breed/strain  <input type="checkbox"/> 大鼠rat <input checked="" type="checkbox"/> 小鼠mice ( B6.Pdgfra <sup>tm11(EGFP)Sor1</sup> 小鼠 ) <input type="checkbox"/> 裸鼠nude mice  <input type="checkbox"/> 兔rabbit  <input type="checkbox"/> 犬dog  <input type="checkbox"/> 其它（具体说明） others		等级 <input type="checkbox"/> 普通 Grade  <input checked="" type="checkbox"/> SPF  <input type="checkbox"/> 其他	
数量只(♀ ; ♂ 40 ) Number (♀ ; ♂ )	体重 g Weight 15-20g	月龄 Age	M moon
选择实验动物种类和数量的原因 Reasons for the choice of species and numbers of animals to be used.  B6.Pdgfra <sup>tm11(EGFP)Sor1</sup> 是C57BL/6小鼠荧光标记PDGFR α +细胞的基因工程小鼠，进行细胞消化分离后，使用流式细胞分选仪可以得到纯化的PDGFR α +细胞，用于后续的电转，WB等实验。 B6.Pdgfra <sup>tm11(EGFP)Sor1</sup> 小鼠40只，包括预实验。 实验分组：正常组及槟榔碱组。 新鲜消化分选后培养1d，进行膜片钳细胞离子通道测定。 新鲜消化分选后培养1d，进行蛋白检测。			



<div> <div>拟开展动物实验的详细信息</div> <div>Detailed information of the experiments on animals</div> </div>	<p>说明实验对动物可能造成的所有可预期的伤害，包括每个实验方案中可能产生副作用的细节以及采取的防控措施</p> <p>Description of the overall harms expected to be experienced by the animals – including details of the likely adverse effects of each protocol and the steps which will be taken to control these adverse effects.</p> <p>动物疼痛：因个体差异等因素可能造成部分动物麻醉不完全，引起疼痛。</p> <p>防控措施：用夹尾巴等方法确定麻醉程度。若开腹过程中，动物出现疼痛挣扎，则停止取材，追加麻药，至实验动物麻醉充分。</p>
	<p>主要观察指标</p> <p>Main observation target</p> <p>SMC\ICC\PDGFR <math>\alpha</math> 合胞体中 M2\M3 免疫荧光、蛋白表达情况。</p> <p>香槟方、槟榔碱对野生型小鼠及基因敲除小鼠的胃收缩、胃肠肌条动力情况。</p> <p>香槟方、槟榔碱对 SMC\ICC\PDGFR <math>\alpha</math> 电生理特性的影响。</p>
	<p>仁慈终点或实验终结的指标</p> <p>Humane endpoint or experimental terminative indicator</p> <p>在不影响实验结果的前提下，“人为”的确定某一个点（或阶段）及时终止实验即可缩短实验时间，也可减轻实验后期动物所要承受的痛苦。</p> <p>本研究的实验终结指标：麻醉取材后，直接脱臼或放血处死，让动物在无痛中结束生命。</p>
	<p>动物死亡处理</p> <p>Death conduct</p> <p>过量麻醉处死，-40℃冻存于动物中心的尸体柜，由医院统一无害化处理。</p>
	<p>动物替代、减少动物用量、降低动物痛苦伤害的主要措施</p> <p>Major measure for 3Rs</p> <p>本研究实验动物数量为 120 只野生型 C57BL/6 小鼠，3 种基因敲除小鼠各 80 只，2 种细胞荧光标记小鼠各 40 只。</p> <p>严格遵循使用较少量的动物获取同样多的试验数据或使用一定数量的地动物能获得更多实验数据的原则。本课题因为 ICC\PDGFR <math>\alpha</math> + 需要原代培养，又无细胞购买来源。本课题采用水合氯醛麻醉后，迅速取出实验标本，再断颈或放血处死，让动物在无痛中结束生命。</p>



	<p>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</p> <p><input checked="" type="checkbox"/>否no      <input type="checkbox"/> 是yes</p> <p>说明： Declare</p>
--	--

<p>利害分析的小结，说明为何预期的利益多于害处？ A summary of the harm-benefit analysis – why the expected benefits might be considered to outweigh the predicted harms?</p> <p>本研究本着实验动物福利和伦理的原则，严格遵循使用较少量的动物获取同样多的试验数据或使用一定数量的地动物能获得更多实验数据的原则。目前还没有安全有效的促进胃肠动力作用的中药及西药，给临床用药带来极大的困扰。槟榔碱具有较强的促胃肠动力作用，通过本研究为开发促胃肠动力新药提供前期数据。</p>
---

<p>有关福利伦理审查的补充说明 Supplementary instruction for investigate</p> <p>无</p>
---

<p>信息公开和保密要求：说明那些信息需要保密，那些信息可以公开 Declaration for the information disclosure and confidentiality requirements, declaring the information need to be kept secret ,the information can be disclosed.</p> <p>无</p>
--

<p>对伦理审查委员有无回避要求 Claiming jurors for being debarb.</p> <p>无</p>
---



声明:

1、我将自觉遵守实验动物福利伦理相关法规和各项规定, 同意接受伦理委员会和实验动物室管理者的监督与检查。

2、本人保证本申请表中所填内容真实、详尽和易懂。

Declaration:

1.I will abide by the law and regulation stipulation, and accept the supervision and inspection by the committee and laboratory animal department .

2.The information I have given is accurate, detailed and comprehensive.

声明人: 课题负责人签 (章)

*[Signature]*

Declarant: Signature (stamp) of PI

2018 年 3 月 6 日

Y M D

审查结果

课题负责人意见  
Opinion of PI

同意 ☒  
Agree

不同意 ☐  
Disagree

签名  
Signature

*[Signature]*

动物实验中心负责人意见  
Opinion of Director of  
animal experiment

同意 ☒  
Agree

不同意 ☐  
Disagree

签名  
Signature

*[Signature]*

实验动物伦理委员会意见  
Opinion of Committee

同意 ☐  
Agree

不同意 ☐  
Disagree

签名  
Signature

*[Signature]*



2018 年 3 月 5 日

Y M D

备注:

Remarks

申报说明: 申报时, 请提交本表一式五份及电子版。受理文号和审查文号由审查委员会填写。

Notice: Submitting the Application Format in duplicate and a electronic edition.

The Appl. No. and IACUC Issue No. are make out by Jury.