


動物実験計画承認申請書（新規・**継続**）

学長 細井 裕 司 殿

奈良県立医科大学動物実験管理規程第14条に基づき、下記の通り申請致します。

平成 26 年 8 月 26日提出

所属主任者	所属	健康政策医学	職名	教授	氏名	今村 知明	
実験責任者	所属	健康政策医学	職名	准教授	氏名	赤羽 学	
	連絡先	TEL: 内線 2 2 7 8		e-mail: makahane@naramed-u.ac.jp			
実験実施者 及び飼養者	全員の氏名と（ ）内に職名を記載し、代表氏名に○印を付ける。 ○赤羽 学（准教授）、清水隆昌（非常勤医師）、井上和也（非常勤医師）、						
研究課題名	細胞シートの異所性骨化能力について						
医学研究における当該実験の意義	現在までの他の研究報告との重複の有無も含めて、何をどこまで明らかにするか、動物実験の必要性と科学的・社会的意義ならびに他の方法では代替できない理由等について判り易く記載する。 ラット骨髄間葉系細胞から細胞シートを作製することが可能であることが、これまでの実験結果からわかっている。このシートには骨分化能があるため、骨折および骨欠損の治療に有効な手段になりうると考える。 臨床では、外傷や腫瘍などで骨欠損となり、骨移植を行うことはよくあるが、外科的手術で骨を移植するのが一般的である。もし、注射で骨を移植できれば、侵襲が低い有用な手技となる。そこで、ラット大腿骨に骨欠損を作製し、そこに骨形成能を持つ細胞シートを注入移植し、シート注入による骨移植の有用性を検討する動物実験を行う。						
動物実験の内容	動物に与える処置内容、臓器・血液等の採取等、使用匹数の算定根拠を具体的に記載し「想定される苦痛のカテゴリー」や「動物の苦痛軽減・排除」等と整合性をもたせる。 2匹のF344の雄大腿骨から骨髄細胞を採取し、増殖させた骨髄間葉系細胞を使用し細胞シートを作製する。次いで、ラットの大腿骨に骨欠損を作成する。麻酔下に、ラットの大腿骨を後方から展開して露出し骨膜を除去後、ボーンソーを用いて大腿骨中央で内側の皮質骨にのみ骨切り、骨欠損を作成する。骨折予防のためピンによる髓内固定（骨折の外科的固定術）を行う。この後、同部に細胞シートを注射器で注入移植する。この際、シート移植群と非移植群をつくり、3-0で縫合し、閉創する。移植後4週で大腿骨を摘出し、移植した細胞のよる新生骨の過形成や異所性骨化などがないか観察し、骨形成を評価する。 10匹の大腿骨欠損作製用レシピエントラットの両大腿骨に骨欠損を作製し、ここに細胞シートを2枚ずつ移植する。よって合計12匹のラットが必要である。 本研究では、骨切りを行うが直後にしっかりと骨固定を行うため痛みは短時間で麻酔から覚醒後にすぐに歩行可能であり、また培養した細胞を移植するため実験器具も滅菌し清潔操作を行っているため術後感染の可能性は非常に低いと考える。						
動物実験を必要とする理由	該当する項目の□に×印を付けて、その理由を記載して下さい。 <input checked="" type="checkbox"/> 検討したが、動物実験に替わる手段がなかった。 <input type="checkbox"/> 検討したが、代替手段の精度が不十分だった。 理由（ 移植した骨髄間葉系細胞の新生骨の過形成や異所性骨化などを評価する代替法がない ）						
実験期間	動物搬入予定日：平成26年9月10日			実験終了日：平成 26年 10月 30日			
	実験開始日：平成26年9月10日			動物処分日：平成 26年 10月 30日			
使用動物	動物種	系統	微生物学的品質	齢・体重	性別	頭数	入手先（導入機関名）
	ラット	F344	SPF	7週	雄	12	日本 SLC 株式会社

<p>希望飼育条件：該当する項目の□に×印を付けて下さい。</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 一般飼育</p> <p><input type="checkbox"/> 特殊飼育（内容：_____）</p>
<p>希望飼育方法：該当する項目の□に×印を付け、また数字を記入して下さい。</p> <p>1) 飼料（給餌）：<input checked="" type="checkbox"/> 飼育飼料 <input type="checkbox"/> 特殊飼料 <input type="checkbox"/> その他（_____）</p> <p>2) 水（給水）：<input checked="" type="checkbox"/> 自動給水 <input type="checkbox"/> 給水瓶（理由：_____）</p> <p>3) 飼育ケージ：<input type="checkbox"/> ブラケットケージ <input checked="" type="checkbox"/> 床敷ケージ</p> <p>4) ケージ数：_____ 6 ケージ （ケージ当り 2 匹）</p> <p>5) 繁殖飼育：(1)種動物を含めた最大飼育数（_____ 0 匹） (2)最大使用ケージ数（_____ 0 ケージ）</p>
<p>飼育区域：希望する飼育区域の□に×印を付けて下さい。</p> <p><input type="checkbox"/> 総合研究棟地階 <input checked="" type="checkbox"/> 総合研究棟 1 階 <input type="checkbox"/> 総合研究棟 2 階 <input type="checkbox"/> 総合研究棟 3 階 <input type="checkbox"/> 総合研究棟 4 階</p>
<p>実験動物を動物実験施設外に移動する必要がある場合：移動先を記載し、該当する□に×印を付けて下さい。</p> <p>移動先：なし</p> <p>再搬入の有無：<input type="checkbox"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無（総合研究棟 3 階の大学共同研究施設からの再搬入の有無）</p>
<p>屍体発見時の対応：</p> <p>1) 連絡先：所属（ 健康政策医学 ） 氏名（ 赤羽 学 ） TEL 等（ 2 2 7 8 ）</p> <p>2) 処理方法：該当する項目の□に×印を付けて下さい。</p> <p><input type="checkbox"/> 凍結保存 <input type="checkbox"/> 冷蔵保存 <input checked="" type="checkbox"/> 焼却処分</p>
<p>想定される苦痛のカテゴリー：「動物の苦痛の分類」を参照して、該当する項目の□に×印を付けて下さい。</p> <p><input type="checkbox"/> B. 脊椎動物を用い、動物に対してほとんど、あるいは全く不快感を与えないと思われる実験</p> <p><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又は痛み（短時間持続する）を伴うと思われる実験</p> <p><input type="checkbox"/> D. 脊椎動物を用い、回避できない重度のストレスや痛み（長時間持続するもの）を伴うと思われる実験</p> <p><input type="checkbox"/> E. 無麻酔の脊椎動物に、耐えうる限界に近い、またはそれ以上の痛みを与えると思われる実験</p>
<p>動物の苦痛軽減、排除の方法：該当する全ての項目の□に×印を付けて下さい。</p> <p><input type="checkbox"/> 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。</p> <p><input type="checkbox"/> 科学上の目的を損なわない苦痛軽減方法は存在せず、処置できない。</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 麻酔薬・鎮痛薬等を使用する（薬剤名およびその投与量・経路を記載）。</p> <p>・エーテル（密閉容器内で気化させ、吸入）</p> <p>・ペントバルビタール（投与量：50 mg/kg、経路：腹腔内）</p> <p>・塩酸ブプレノルフィン（0.005～0.02mg/kg、経路：筋注）</p> <p><input type="checkbox"/> 動物が耐えがたい痛みを伴う場合、適切な時期に人道的エンドポイントを適用する。</p> <p><input type="checkbox"/> その他（具体的に記載：_____）</p>
<p>安楽死の方法 該当する全ての項目の□に×印を付けて下さい。</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 麻酔薬等の使用（薬剤名及びその投与量・経路を記載。なお、エーテルによる安楽死は原則禁止）</p> <p>・ペントバルビタールを投与量：50 mg/kg で 腹腔内投与し、下記の方法で安楽死させる</p> <p><input type="checkbox"/> 炭酸ガス</p> <p><input type="checkbox"/> 中枢破壊（具体的に記載：_____）</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> その他（具体的に記載： 麻酔下に失血死させる _____）</p>
<p>その他必要または参考事項：</p> <p>大腿骨の小手術（骨切術を行い、その直後に骨固定術を行う）を行うが、手術時間は短く、また直後にピンによる固定を行うためラットは運動可能であり、ストレスや痛みの程度は軽いと考えられる。術後の観察により、活動の著しい低下や食欲減退がみられる場合は、必要に応じて鎮痛剤の投与を行う。鎮痛剤は、創傷治癒に影響を及ぼす NSAIDs ではなく非麻薬性オピオイドを使用する。また、骨髓細胞採取およびサンプル摘出時と大腿骨採取時には動物を安楽死させる。よって、カテゴリーCと考える。</p>

- 注 1) 微生物を用いた動物実験の場合は、「感染動物実験室使用申請書」を添付すること。
- 注 2) 特殊化学物質および重金属を使用する場合は、「特殊化学物質および重金属使用申請書」を添付すること。
- 注 3) 総合研究棟 4・5 階で飼育を希望する場合は、「動物使用・飼育・保管・廃棄処理記録」を添付すること。
- 注 4) 人道的エンドポイントを適用する場合、「動物実験の内容」欄あるいは「その他必要または参考事項」欄にその内容を記載する

最終審査結果通知書

平成26年 9月 2日

実験責任者

赤羽 学 殿

学長 細井裕司



平成26年 8月26日申請の動物実験計画承認申請書に関する最終審査結果を下記の通り通知します。

審査結果：

(1)承認

(2)条件付き承認

(3)変更の勧告

(4)不承認

コメント：

特になし

飼育許可区域：

- | | |
|----------------|------------|
| (1)一般飼育区域 | (飼育室番号：19) |
| (2)バリアシステム飼育区域 | (飼育室番号：) |
| (3)感染実験飼育区域 | (飼育室番号：) |
| (4)特殊化学実験飼育区域 | (飼育室番号：) |
| (5)回復室 | (飼育室番号：) |
| (6)総合研究棟3階 | (飼育室番号：) |
| (7)総合研究棟4階 | (飼育室番号：) |
| (8)総合研究棟5階 | (飼育室番号：) |

飼育方法

1. 飼料： (1)飼育飼料 (2)特殊飼料 (3)その他 ()
2. 給水： (1)自動給水 (2)給水瓶
3. 飼育ケージ： (1)床敷式 (2)ブラケット式 (3)その他 ()
4. ケージ数： 6ケージ (ケージ当たり 2匹)

飼育室利用許可期間：

平成26年 9月10日 ～ 平成26年10月30日

※実験内容や飼育内容に変更を生じた場合は、直ちに「飼育変更許可申請書」を提出して下さい。