

## 動物実験計画書【更新申請】

研究課題

免疫担当細胞を利用した新規免疫療法におけるトリプトファン代謝産物の役割

承認番号

APU19040

承認日

2019/04/22

実験期間

2019/04/22

～

2022/03/31

### 申請区分

- ☐ 新規申請(関連計画書があれば、承認番号を入力して検索してください)
- ☐ 変更申請(変更対象計画書の承認番号を入力して検索してください)
- ☒ 更新申請(2019年3月31日まで承認されている動物実験を更新して行う場合は、こちらを選択してください。)

更新対象計画書を検索

AP16026

検索

(変更申請を含めた最終承認申請書をリンクしてください。例えば、AP16012、AP16012-MD1、AP16012-MD2、の申請がある場合、AP16012-MD2を入力しリンクさせてください。)

**AP16026の内容はこちら**

**(/Feap/ani001.html?mode=view&entno=AP16026)**

提出日

2019/02/01

### 更新概要

更新申請時に変更があるかないかを選択してください

- ☒ ある ☐ ない

更新箇所とその概要を明記してください。(更新時、変更申請を含めた最終承認申請書から変更する箇所と概要を記載ください。)

動物実験分担者の追加

更新の理由

研究成果のさらなる充実のため

(1) 研究責任者（動物実験を含んだ研究全体の責任者）

所属

医療科学部



職名

講師



氏名

星 雅人

連絡先

2532

Email

mhoshi@fujita-hu.ac.jp

(2) 動物実験責任者（申請する動物実験の責任者、動物実験講習会の受講が必須、動物実験関連の書類提出者）（分担者は後述）

所属

医療科学部



職名

講師



氏名

星 雅人

連絡先

2532

Email

mhoshi@fujita-hu.ac.jp

動物実験の経験



ある



ない

動物実験講習会  
の受講

受講  
日

2019/01/30



藤田医科大学動物実験規程を熟知しました



本実験に関する法規を熟知しました



承認期間中年度毎に動物実験継続届を提出します



研究が終了した場合、動物実験実施報告書を提出します

☒ 申請内容を変更する場合は、事前に動物実験計画書の変更申請を提出します

### (3) 研究課題

#### 研究課題

免疫担当細胞を利用した新規免疫療法におけるトリプトファン代謝産物の役割

英名研究課題(共同研究等のために、英名研究課題が必要な場合は記載ください)

### (4) 研究目的(本研究の必要性和科学・医学・社会における意義：例を参考に記載ください。)

抗腫瘍免疫細胞として重要な役割をもつNKT細胞は、近年NKT細胞を活性化させるリガンドである $\alpha$ -ガラクトシルセラミドの発見により、種々の腫瘍細胞に対する細胞免疫療法として期待されている。しかしながら、腫瘍細胞の種類あるいは進行度によっては十分な効果が得られず、その免疫機構の解明が早急の課題である。本研究では、腫瘍細胞に対する種々の免疫細胞を強力に制御し、周囲免疫から逃避させることで注目されているトリプトファン代謝産物に注目し、 $\alpha$ -ガラクトシルセラミド等のリガンド投与による免疫機構の解明を主たる目的とする。本研究は自己免疫の賦活であり、極めて副作用の少ない治療法の根拠となり得るものであり、医学的および社会的意義は大きい。

### (5) 研究方法の概要(動物に対する実験処置を具体的に：例を参考に記載ください。総使用匹数(自家繁殖分を除く)を必ず記載ください。)

生後7週齢のC57BL6バックグラウンドの野生型、ido1 ko、ido2 ko、kmo ko、qprt koマウスを購入または育成し順化した後、生後8週齢にてイソフルラン深麻酔下でセルライン(B16F10, EL-4, A20等)を静脈投与し、腫瘍モデルとする。同様に腫瘍投与1週後に腹腔内に各種リガンドまたはトリプトファン代謝産物を麻酔下で投与する。腫瘍投与後1日、3日、1週、2週で、イソフルラン深麻酔下で肺臓を採取し、生化学的解析および病理学的解析、生存率解析等を行う。また腫瘍投与後、週に2回程度イソフルラン深麻酔下で尾静脈より0.05ml採血を行う。

実験には、5種類のマウスのコントロール群および腫瘍移入群で各6匹、生存率解析で各群15匹の合計210匹使用

### (6) 実験実施期間

承認  
日～

2022/03/31

(7) 動物実験の種類 A)-C)に該当するものを選んでください。

☒ A)試験・研究

☒ 本研究が動物実験の不要な繰り返しにならないように検討しました

☒ Pub Med

☐ 医学中央雑誌

☐ その他

その他の内容

☒ in vitroの実験系および系統発生的に下位の動物種への置き換え（代替）が可能か検討しましたが、代替法がないものと考えます

☒ より侵襲性の低い動物実験方法への代替が可能か検討しましたが、代替手段の感度・精度が不十分であると考えます

☐ その他

その他の内容

☐ B)教育訓練

☐ 本教育訓練の前に、動物を使用しない訓練（講義、ビデオやDVD等）を行いました

☐ その他

その他の内容

☐ C)その他(具体的に記述してください)

(8) 実験動物について

※異なる動物種や動物実験時（開始時）の齢を使用する場合は各動物種と齢について記載ください

1) 動物種：該当する項目を選んでください

☒ マウス

☐ ラット

☐ モルモット

☐ ウサギ

☐ その他

その他の内容

2) 系統名(遺伝子組換え動物（ノックアウト・トランスジェニック・その他）の場合は、その旨と外来遺伝子情報を系統毎に記載ください。)

C57BL6/j  
indoleamine 2,3-dioxygenase1 knockout C57BL6/j  
indoleamine 2,3-dioxygenase2 knockout C57BL6/j  
kyurenine 3-monooxygenase knockout C57BL6/j  
QPRT knockout C57BL6/j

ファイル添付

**3) 遺伝的品質：該当する項目を選んでください**

☒ 近交 ☐ クローズド  
コロニー ☐ その他

その他の内容

**4) 微生物的品質：該当する項目を選んでください**

☒ S P F ☐ コンベンシ  
ョナル ☐ その他

その他の内容

**5) 入手方法：A)からC)で該当する項目を選んでください**

☒ A) 購入

i)繁殖業者

☒ 日本チャー  
ルスリバー ☐ クレア ☐ エスエルシ  
ー ☐ そ  
の  
他

その他の内容

上記3大繁殖業者以外から購入する場合は、ヘル  
スレポートが必要です。

☐ ヘルスレポート提出済み

☐ ヘルスレポート未提出

ii)その後、自家繁殖しますか？

☐ はい「(C)も記入して  
ください」 ☒ いいえ

☒ B) 譲受

i)ヘルスレポートの提出

☒ 提出済み ☐ 未提出

ii)その後、自家繁殖しますか？

☒ はい「(C)も記入して  
ください」 ☐ いいえ

☒ C) 自家繁殖

i) 系統維持・実験繁殖規模(ケージ数)

60

ii) 系統維持・実験繁殖規模の妥当性

本研究では、4種類のKOマウスを使用し、生存率など週齢を合わせて実験を行う。  
1種類のKOマウスで15ケージx4 = 60ケージが実験を遂行する上で必要最小限の数と考える。

6) その他の特記事項

7) 動物実験開始時の齢

8

週齢 ▼

**実験動物について (追加入力1)**

### (9) 人体や環境に対する危険因子と麻薬及び向精神薬

1) 化学的危険因子を使用しますか(有害化学物質承認番号を入力後、確認ボタンを押してリンクさせてください)

☐ はい

どんな危険ですか

☐ 発癌物質

☐ その他

☒ いいえ

2) 生物学的危険因子を使用しますか(感染動物実験承認番号を入力後、確認ボタンを押してリンクさせてください)

☐ はい

☒ いいえ

3) 遺伝子組換え生物を使用しますか(組換えDNA実験計画書の受付番号を入力後、確認ボタンを押してリンクさせてください。承認後、承認番号を変更申請書にて申請してください)

☒ はい

登録データあり

☐ いいえ

4) 麻薬及び向精神薬取締法を理解し、麻薬（ケタミン等）を使用しますか

☐ はい

麻薬は専用の金庫に保管し、麻薬管理簿

([https://drive.google.com/file/d/1wLLrWSy12\\_8kawRVUDXuX3CaN2TtOvxu/view?usp=sharing](https://drive.google.com/file/d/1wLLrWSy12_8kawRVUDXuX3CaN2TtOvxu/view?usp=sharing)) (テンプレート) を作成していますか。

☐ はい

☐ いいえ



☒ いいえ

5) 麻薬及び向精神薬取締法を理解し、向精神薬（ペントバルビタール、ミダゾラム等）を使用しますか

☐ はい

鍵付薬品庫等で保管し、**向精神薬管理簿**

([https://drive.google.com/file/d/1Jn3HNa8PPac8uG8h1zacjvv\\_T6F-l7oH/view?usp=sharing](https://drive.google.com/file/d/1Jn3HNa8PPac8uG8h1zacjvv_T6F-l7oH/view?usp=sharing))

(テンプレート)を作成していますか

☐ はい

☐ いいえ

☒ いいえ

6) 特定外来生物(ウシガエル等)を使用しますか

☐ はい

特定外来生物許可番号

有効期限（開始）

有効期限（終了）

☒ いいえ

7) その他（覚せい剤等、使用の際免許が必要な薬剤等）

## (10) 動物実験の場所

実験場所はどこですか

☒ 疾患モデル教育研究サポートセンター（小動物室含む）

☐ その他（24時間未満保管の場合）（動物実験室承認番号を入力後、確認ボタンを押してリンクさせてください）

動物実験室

確認

動物実験室

確認

動物実験室

確認

## (11) 飼養の場所

動物の飼養を行いますか

☒ はい

飼養場所は

☒ 疾患モデル教育研究サポートセンター（小動物室含む）

☐ その他(24時間以上飼養の場合)(実験動物飼育室承認番号を入力後、確認ボタンを押してリンクさせてください)

実験動物館

確認

実験動物館

確認

実験動物館

確認

☐ いいえ

(12) マウスに対する具体的実験処置等 (苦痛のカテゴリー  
([https://drive.google.com/a/fujita-hu.ac.jp/file/d/0B\\_x33rGBxf0UVIlycEZ0dExLMVE/view?usp=sharing](https://drive.google.com/a/fujita-hu.ac.jp/file/d/0B_x33rGBxf0UVIlycEZ0dExLMVE/view?usp=sharing))はこちらを参照)

1) 疾患モデル動物の種類 (複数の場合はそれぞれの疾患について苦痛のカテゴリーを記載し、最重篤なカテゴリーを右横のマスに記載ください)

D ▾

苦痛のカテゴリー

☐ 自然発症モデル

疾患の名称 (苦痛のカテゴリー)

☐ 遺伝子組換えモデル

疾患の名称 (苦痛のカテゴリー)

☒ 疾患誘発モデル

疾患の名称 (苦痛のカテゴリー)

腫瘍細胞の尾静脈投与による腫瘍転移モデル

☒ 正常動物を使用します

2) マウスに対する簡単な手技について : 行う手技を選んでください。

B ▾

苦痛のカテゴリー

☒ する ☐ しない

☐ 保定する

☐ 固定する

☒ 体重測定

☐ 耳パンチ

技術は習得

☒ した

☐ していない

3) 投与・注入について

B ▾

苦痛のカテゴリー

☒ する ☐ しない

投与・注入手技の習得

☒ した

☐ していない

i) 投与・注入方法

☐ 経口

1回の投与・注  
入量(ml)

頻度

☐ 実験を通して1回のみ

☐ 複数回実  
施

回

☐ 日

☐ 週

☐ 月

☐ 皮下・皮内

1回の投与・注  
入量(ml)

頻度

☐ 実験を通して1回のみ

☐ 複数回実  
施

回

☐ 日

☐ 週

☐ 月

☐ 筋肉内

1回の投与・注  
入量(ml)

頻度

☐ 実験を通して1回のみ

☐ 複数回実  
施

回

☐ 日

☐ 週

☐ 月

☒ 腹腔

1回の投与・注  
入量(ml)

頻度

☒ 実験を通して1回のみ

☐ 複数回実  
施

回

☐ 日

☐ 週

☐ 月

☒ 血管内

1回の投与・注  
入量(ml)

頻度

☒ 実験を通して1回のみ

☐ 複数回実  
施

回

☐ 日

☐ 週

☐ 月

☒ その他

トリプトファン代謝産物を腹腔内に1回／日、0.2ml投与する。

ii)投与・注入による動物の苦痛

☒ ある

苦痛軽減方法

イソフルランによる深麻酔下で実施する。

☐ ない

4) 負荷試験を行いますか

▽

苦痛のカテゴリー

☐ する

☒ しない

5) 給餌制限・給水制限

▽

苦痛のカテゴリー

i) 給餌制限

☐ する

☒ しない

ii) 給水制限

☐ する

☒ しない

6) 麻酔下で材料の採取(生検)はしますか(安楽死後の材料採取を除く)

▽

苦痛のカテゴリー

☐ する

☒ しない

7) 一部採血をしますか

B ▽

苦痛のカテゴリー

☒ する

☐ しない

(適切な採血量の一覧

(<https://drive.google.com/file/d/1QNqHHokqNV0ASNLd7Qv37BewzCqtKVy-/view?usp=sharing>)はこちらを参照)

採取手技の習得はしましたか

☒ した

☐ していない

i) 採血方法

☒ 尾静脈

1回の採血量  
(ml)

0.05

頻度

☐ 実験を通して1回のみ

☒ 複数回実施

回

☐ 日

☒ 週

☐ 月

☐ 耳静脈

1回の採血量  
(ml)

頻度

☐ 実験を通して1回のみ

☐ 複数回実施

回

☐ 日

☐ 週

☐ 月

☐ 心臓

1回の採血量  
(ml)

頻度

☐ 実験を通して1回のみ

☐ 複数回実施

回

☐ 日

☐ 週

☐ 月

☐ その他

頻度

☐ 実験を通して1回のみ

☐ 複数回実施

回

☐ 日

☐ 週

☐ 月

ii) 採血による動物の苦痛

☒ ある

苦痛軽減方法

イソフルランによる深麻酔下で実施する。

☐ ない

8) 移植、手術（外科的処置）その他の医療的行為

☐ する

☒ しない



苦痛のカテゴリー

9) その他の処置



苦痛のカテゴリー

動物種に対する具体的実験処置等 (追加入力 1)

### (13) マウスの苦痛軽減法

#### 苦痛軽減方法についての説明および理由

☐ 軽微な苦痛の範囲なので特に措置を講じなくてよい

☐ 短期間の保定・拘束なので特に問題はない

☒ 麻酔薬・鎮痛薬等を使用する

薬剤名

イソフルラン

☐ その他の苦痛軽減措置を施します

方法（具体的に）

☐ 人道的エンドポイント（Humane endpoint：実験動物を激しい苦痛から開放するために実験を打ち切るタイミング）を適用します

エンドポイントの判別方法 判断基準の一覧

(<https://drive.google.com/file/d/17uQiXFJXRnJLk5MXLejPLPmKbYs-F7U3/view?usp=sharing>)

☐ 科学上の目的を損なわない苦痛軽減方法は存在しない

理由

☐ 長期間の保定・拘束が避けられない

理由

対処方法

### (14) マウスの安楽死方法

#### 安楽死に対しての手技の習得をしましたか

☒ した

☐ しない



#### 安楽死の方法

☐ 過剰量の麻酔薬の投与

薬物名

薬物名

☒ 炭酸ガス吸入

☐ 頸椎脱臼

☐ その他

#### (15) マウスの屍体の処分方法

所定の場所に安置する（その後火葬してもらいます）

☒ はい

☐ いいえ

理由(いいえの場合の理由)

#### 動物種に対する苦痛軽減法等（追加入力1）

#### (16) カテゴリーの分類

実験動物の苦痛の程度はSCAWが作成したカテゴリーのいずれに入るとおもいますか

- ☐ A：生物個体を用いない実験あるいは植物、細菌、原虫、又は無脊椎動物を用いた実験
- ☐ B：脊椎動物を用いた研究で、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操作
- ☐ C：脊椎動物を用いた実験で、動物に対して軽微なストレスあるいは痛み（短時間持続する痛み）を伴う実験
- ☒ D：脊椎動物を用いた実験で、避けることのできない重度のストレスや痛みを伴う実験
- ☐ E：麻酔していない意識のある動物を用いて、動物が耐えることのできる最大の痛み、あるいはそれ以上の痛みを与えるような処置

### 動物実験分担者

#### 分担者の入力

☒ ある ☐ なし

#### 所属・職名

医療科学部



その他の場合御記入ください

教授



その他の場合御記入ください

#### 氏名・連絡先

斎藤邦明

2611

saitok@fujita-hu.ac.jp

#### 動物実験の経験

☒ ある ☐ ない

#### 動物実験講習会 の受講

受講  
日

2019/03/01

### 動物実験分担者（追加入力1）

#### 動物実験分担者

#### 所属・職名

医療科学部



その他の場合御記入ください

准教授



その他の場合御記入ください

#### 氏名・連絡先

山本康子

2520

yama-y@fujita-hu.ac.jp

#### 動物実験の経験

☒ ある ☐ ない

#### 動物実験講習会 の受講

受講  
日

2019/01/30

### 動物実験分担者（追加入力2）

#### 動物実験分担者

#### 所属・職名

医療科学部



その他の場合御記入ください

助教



その他の場合御記入ください

#### 氏名・連絡先

仲本賢太郎

2535

knakamot@fujita-hu.ac.jp

#### 動物実験の経験

☒ ある ☐ ない

動物実験講習会  
の受講

受講  
日

2019/01/30

### 動物実験分担者（追加入力3）

動物実験分担者

所属・職名

医療科学部



その他



その他の場合御記入ください

大学院生

氏名・連絡先

山崎杏佳

2611

ymzkk@fujita-hu.ac.jp

動物実験の経験



ある



ない

動物実験講習会  
の受講

受講  
日

2019/03/01

### 動物実験分担者（追加入力4）

### 動物実験分担者（追加入力5）

### 動物実験分担者（追加入力6）

### 動物実験分担者（追加入力7）

### 動物実験分担者（追加入力8）

### 動物実験分担者（追加入力9）

