

中南大学实验动物福利伦理审查申请表 NO: 20185gmu0187

一、申请者基本情况			
项目名称	人参总皂苷联合姜黄素通过炎症与免疫途径抗肝癌的机制研究		
任务来源	医院课题	资助类别	<input checked="" type="checkbox"/> 1.纵向 <input type="checkbox"/> 2.横向
资助等级	<input checked="" type="checkbox"/> 1.国家级 <input type="checkbox"/> 2.省部级 <input type="checkbox"/> 3.厅局级 <input type="checkbox"/> 4.其他		
实验种类	<input checked="" type="checkbox"/> 1.医学研究 <input type="checkbox"/> 2.药物疫苗类 <input type="checkbox"/> 3.生物类 <input type="checkbox"/> 4.农业研究 <input type="checkbox"/> 5.健康食品 <input type="checkbox"/> 6.其他		
申请单位	湖南中医药大学		
项目负责人	徐晓燕	电话:15874286045	E-mail:382427415@qq.com
联系人	邓哲	电话: 15243602168	E-mail:502120935@qq.com
	曾维予	电话: 15874286045	E-mail:362626330@qq.com
申请目的	<input checked="" type="checkbox"/> 初次申请 <input type="checkbox"/> 延长 <input type="checkbox"/> 修改原申请 (原批准号:)		
合作单位	无		
合作者	无		
二、所需实验动物			
品种: B/C 裸鼠		级别: SPF	年龄: 5w
体重: 20±2g		雌 (只): 0	雄 (只): 50
来源	<input checked="" type="checkbox"/> 1.实验动物学部统一采购: <input type="checkbox"/> 2.国内其他正规饲养繁殖单位: <input type="checkbox"/> 3.国外引进:		

饲养场地	<input checked="" type="checkbox"/> 实验动物学部 <input type="checkbox"/> 自己实验室 <input type="checkbox"/> 其他
<p>三、以非专业语言简述本研究的及对人类、动物或科学的贡献</p> <p>肝癌是全球癌症相关性死亡的主要原因之一，具有发病率高、死亡率高、复发率高的特点。肝癌是由乙型和丙型病毒感染、过度饮酒或非酒精性脂肪肝等引起的慢性肝损伤和炎症导致的，目前临床缺乏有效的治疗方法，5年生存率在8%以下。肝癌的发病机制，不仅与炎症驱动相关，细胞介导的免疫机制的失衡也发挥重要作用。在肿瘤微环境中，控制炎症驱动与恢复细胞免疫，是肝癌治疗的新靶点。姜黄素作为一种天然的抗炎药物，具有抗炎、抗癌、抗病毒、护肝、护心和抗血栓的作用。可调节肿瘤在发生、发展、转移不同阶段的分子通路和细胞靶点。研究表明姜黄素对多种组织来源的肿瘤细胞系具有细胞毒性，可抑制肝癌 HepG2 细胞的增殖和侵袭转移能力，但其抗肿瘤的作用大都集中在抗炎症机制，对免疫机制的作用并不强。联合用药是提高抗肿瘤疗效的重要方式。在肝癌的治疗中，直接细胞毒药物与免疫治疗的联合应用可明显延长患者的生存期。人参是一种具有调节免疫功能的常用中药，人参总皂苷是人参中的主要活性成分，具有抗肿瘤、抗氧化、增强免疫、调节内分泌等药理作用，可以通过介导细胞的免疫系统机制发挥抗癌作用。因此，我们拟将控制炎症的细胞毒性药物姜黄素与调节免疫功能的人参总皂苷联用，探求两者是否具有抑制肝癌的作用，或者协同加强作用，并研究其对肿瘤微环境中炎症与免疫作用的分子机制。</p>	
<p>四、请以实验动物“3R”原则为考虑重点，说明进行动物实验的必要性，包括非动物模型不合适性及选择该动物品种的理由。</p> <p>A.使用动物的理由</p> <p><input checked="" type="checkbox"/>1.一些生物学过程和机理不能在体外研究</p>	

☒2.已进行体外实验，现需进行体内实验

☒3.体外实验需要动物组织

☐4.其他请具体说明：

B.使用某品种动物的理由

☒1.该品种的生理学、解剖学、身体大小等特点最适于本研究

☒2.该品种是本实验公认的理想动物模型

☒3.利用该品种已获得大量的相关数据，本研究进一步扩展该品种相关数据

☐4.从其他品种动物扩展相关数据到该品种

☐5.其他请具体说明：

C.请说明使用动物数量的充分理由：

本实验，需要在适应性饲养一周后进行肿瘤，灌胃，分 7 组，每组 7 只，共计 49 只。

五、描述动物实验的设计

将 49 只 BALB/c 雄性裸小鼠（5 周， $18\pm 3g$ ，SPF 级）随机分为 7 组，每组 7 只小鼠。12/12 小时光照/暗循环饲养，可随意获取鼠粮和水。在治疗前，他们被允许适应 1 周。治疗时，将 0.1 ml 生理盐水中的 HepG2 肝癌细胞(1×10^7)注射入实验小鼠右侧，形成皮下异种移植瘤，当小鼠出现大小相似的肿瘤时，将小鼠分为 7 组：Control 组（灌胃等量生理盐水）、GTSL 组（灌胃人参总皂苷 104mg/kg/d）、GTSH（灌胃人参总皂苷 520mg/kg/d）、CUR 组（灌胃姜黄素 200mg/kg/d）、CUR+GTSL 组（灌胃姜黄素 200mg/kg/d+人参皂苷 104mg/kg/d）、CUR+GTSH 组（灌胃姜黄素 200mg/kg/d+人参皂苷 520mg/kg/d），5-FU+DDP 组（腹腔注射 5 FU 32mg/kg/d + 顺铂 4mg/kg/d）。治疗 21 天后，根据动物实验规程通过颈脱位法对小鼠实施安乐死，剥离皮下肿瘤并测量重量。

1、具体说明所选物质的给药方案

药名	给药剂量和频率	给药途径	给药部位	备注
人参总皂苷	104mg/kg/d	灌胃	胃部	Qd
姜黄素	200mg/kg/d	灌胃	胃部	Qd
5-FU	32mg/kg/d	注射	腹腔	一周一次
DDP	4mg/kg/d	注射	腹腔	一周一次

2、说明动物保定的必要性，动物保定的方法，包括设备和药物。

保定的必要性：保证自己的人身安全，方便手术

保定的方法：固定不动，方便手术

3、标本采集方案

采集的组织或液体	采集方法	数量或体积	采集频率	持续时间或最大采集数量
皮下移植瘤	解剖	每只一个	一次	49

4、动物标识

☐染色

☒耳标

☐芯片

☐缠绷带

☐纹身

☐剪趾

☐插笼卡

☐剪耳

☐其它（请说明）

六、描述手术过程，使审查者知道本实验将做什么，怎样做。

手术过程：1，用生理盐水配 7% 浓度的水合氯醛

2，称取小鼠体重并记录

<p>3, 以 0.5ml/100g 剂量腹腔注射水合氯醛</p> <p>4, 开皮下移植瘤, 保存于液氮罐中以进行后续检测指标。</p> <p>5, 脱颈法处死老鼠, 并袋装后冷冻, 由实验动物中心作无公害化处理</p>											
手术操作人及培训情况	已经通过培训, 具备一定的操作及手术能力										
手术执行地点	湘雅实验室解剖室										
实验后的护理	袋装后冷冻, 由学校实验动物中心作无公害化处理										
是否在同一动物上进行多个操作	<input checked="" type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/> 是, 具体说明:										
<p>七. 导致疼痛的分类</p> <p><input type="checkbox"/> A. 无疼痛</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> B. 一般性疼痛</p> <p><input type="checkbox"/> C. 轻微疼痛</p> <p><input type="checkbox"/> D. 有疼痛, 但能够解除</p> <p><input type="checkbox"/> E. 不能缓解的疼痛</p>											
<p>八. 麻醉、镇痛</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin-top: 10px;"> <thead> <tr> <th style="width: 25%;">药物名称</th> <th style="width: 25%;">给药剂量和频率</th> <th style="width: 25%;">给药途径</th> <th style="width: 25%;">维持时间</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">水合氯醛</td> <td style="text-align: center;">0.5ml/100g</td> <td style="text-align: center;">腹腔</td> <td style="text-align: center;">1-2 小时</td> </tr> </tbody> </table>				药物名称	给药剂量和频率	给药途径	维持时间	水合氯醛	0.5ml/100g	腹腔	1-2 小时
药物名称	给药剂量和频率	给药途径	维持时间								
水合氯醛	0.5ml/100g	腹腔	1-2 小时								
<p>九. 人道主义结束动物生命</p> <p>A 、人道主义结束动物生命标准</p> <p><input type="checkbox"/> 1、体重减轻: 体重减轻达 20-25%, 或是动物出现恶病质或消耗性症候时。</p>											

☐2、实体瘤的大小超过动物体重的 10%。

☐3、丧失食欲：小型啮齿类动物完全丧失食欲达 24 小时或食欲不佳（低于正常量之 50%）达 3 天时。大动物完全丧失食欲达 5 天或食欲不佳（低于正常量之 50%）达 7 天时。

☐4、虚弱（无法进食或饮水）：动物在没有麻醉或镇静的状态下，无法进食或饮水，长达 24 小时无法站立或极度勉强才可站立时。

☒5、垂死/濒死：动物在没有麻醉或镇静的状态下，表现精神抑郁伴随体温过低（低于 37°C）时。

☐6、感染：在抗生素治疗无效并伴随动物全身性不适症状出现时：

☐a、器官：出现器官严重丧失功能的临床症状且治疗无效，或经动物中心兽医判断预后不佳。

☐b、呼吸系统：呼吸困难、发绀大失血。

☐c、心血管系统：大失血、已给予一次输液治疗后仍贫血（低于 20%）

☐d、消化系统：严重呕吐或下痢，消化道阻塞，套迭，腹膜炎，内脏摘除手术

☐e、神经系统：中枢神经抑制、震颤、瘫痪（其中任一肢或以上）、对镇痛剂治疗

无效之疼痛。

☐f、肌肉骨骼系统：肌肉受损或骨折使肢体丧失功能（实验预期发生并通过 IACUC

审核除外）

☐g、皮肤：无法治愈之伤口、重复性自残或二级以上之保温垫烫伤

B、安乐死

☐ 1、迅速断头

☒ 2、头颈部迅速脱臼（<1kg）

☐ 3、在全身麻醉下放血（适合猫，反刍动物，马，猪等）

☐ 4、过量吸入麻醉剂（氟烷、异氟醚、甲氧氟烷等）

☐ 5、腹腔注射安乐死药剂

☐ 6、静脉注射安乐死药剂

☐ 7、二氧化碳或二氧化碳/氧气混合气体

☐ 8、其它，请具体说明

C、剩余动物的最终处理

☒ 1、对动物实施安乐死

☐ 2、返回生产/育种单位

☐ 3、作其它研究

☐ 4、动物饲养在动物中心，直到其自然死亡

☐ 5、其它，具体说明：

D、动物尸体、组织、或体液的最终处理

☐ 1、制作标本

☒ 2、袋装后冷冻，由学校学校实验动物中心作无公害化处理

☐ 3、其它，具体说明

十、有害（毒）物质的使用（应得到安全委员会的批准）

	是	否	使用物品的名称
1 放射性同位素	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	_____
2 生物物品	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	_____
3 有毒化学品、药品	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	_____
4 重组 DNA	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	_____
5 其它	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	_____

十一、实验人员许可证：

徐晓燕 证书编号：5364

十二、承诺

项目负责人承诺书

我承诺该申请表的内容准确无误。

我同意遵守中华人民共和国国家科学技术委员会制定的《实验动物管理条例》、中华人民共和国科学技术部发布的《关于善待实验动物的指导性意见》、湖南省人民政府发布的《湖南省实验动物管理办法》。

我承诺包括我自己在内的该申请表中提及的与实验动物有接触的人员，已经参加了中南大学实验动物学部要求的相关培训，掌握了申请表中涉及的动物实验方法，都有能力完成动物实验，并且深知使用这些活体动物及动物组织所存在的风险。


我清楚作为该项目的负责人，有责任承诺本课题组所有成员在本研究工作中均会遵循人道主义原则，确保实验动物的福利伦理，并严格遵守中南大学实验动物学部的相关规章制度。

项目负责人：徐晓燕

日期： 2016 年 3 月 1 日

十三、审核意见：

同意审批

主审委员签字： 

日期： 2016 年 3 月 1 日