



## 实验动物使用伦理审查申请表

一、申请者基本情况				
课题负责人	骆莹			
电话	18622611528	传真		E-mail ly200101042@hotmail.com
课题名称	多种医学分子技术在肝病诊断治疗中的应用与基础研究			
课题来源	天津市科委科技计划项目			
申请目的	<input checked="" type="checkbox"/> 初次申请, <input type="checkbox"/> 延长或 <input type="checkbox"/> 修改原申请 (原申请批准号 _____)			
二、所需实验动物				
种类	NSIG 小鼠; C57BL/6J 小鼠		年龄	6-12 周
体重/大小	16-25g		性别	雄性
来源	北京华卓康生物科技股份有限公司			
饲养场所	天津市第三中心医院		实验场所	动物实验室
数量	$\underline{100} + \underline{50} + \underline{50} = \underline{200}$ (第一年) (第二年) (第三年) (总计)			
三、动物的运送 (是否需要运送, 如果需要, 说明运送的路线和使用工具等) 北京华卓康生物科技股份有限公司全权负责动物运输到医院所在的动物实验室 (SPF 级), 全部实验均在动物实验室完成。				
四、研究的目的 (简单描述研究的目的, 和该研究对人类, 或动物, 或科学研究的贡献) NSIG 小鼠与 NSG、NOG 等相同, 均为 NOD- PrkdcscidIL2rgtm1 小鼠, 是目前国内外公认的免疫缺陷程度最高, 在本研究中用于 HepG2/Huh7 等人源肝癌细胞系的建模及相关动物体内实验研究。利用 C57BL/6J 小鼠制备肝衰模型鉴定外泌体等对肝脏修复与再生的作用, 阐明干细胞源外泌体内 miRNA 对肝再生的作用及方式, 进而为干细胞来源的外泌体对肝功能衰竭的治疗提供重要的理论依据。				
五、使用实验动物的原理 (解释使用动物的原理; 阐述选择动物属种和数量的依据) 利用 NSIG 小鼠制作皮下移植瘤模型; 利用 C57BL/6 小鼠制备 D-Gal/LPS 肝衰模型。每个模型设计时间点为 3-5 个, 设计实验组为 3-5 组, 预计使用动物 200 只。				
六、描述动物实验的设计和操作流程 移植瘤实验: 小鼠适应性喂养1周后, 皮下注射 $2 \times 10^6$ 的人源肿瘤细胞, 细胞接种后, 每天监测小鼠的肿瘤植入和健康状况。当肿瘤大小可触知时, 通过腹膜注射途径输注按实验设计时间给药, 每天监测肿瘤生长和小鼠健康状况, 每周测量体重等。实验结束时, 将小鼠以CO2安乐死, 并解剖肿瘤块, 称重并成像等。 肝衰模型实验: 小鼠适应性喂养1周后, 给予D-Gal/LPS造模成功后, 取2只动物处死, 取动物血清及肝脏组织固定于10%中性福尔马林磷酸缓冲液中, HE染色观察。造模成功后给予实验组鼠尾静脉注射200 $\mu$ l 外泌体等, 治疗后24hr、72hr 取血检测转氨酶、白蛋白及胆红素等肝功能指标并记录小鼠生存期; 不同时间点处死2 只小鼠留取肝脏标本, 记录小鼠肝脏体积、重量, HE染色检测肝脏组织学变化, 荧光观察外泌体在各类细胞中的分布情况等。				
七、手术操作程序 (如需要, 请填写本目录)				
具体操作步骤	HepG2/Huh7 等人源肝癌细胞皮下注射; D-Gal/LPS 腹腔注射。			
手术操作人及培训情况	操作人员为李岩、骆莹、赵振刚、高敦芹, 所有人员均接受过动物实验上岗培训。			
手术执行的地点	动物实验室			

实验后的护理	给予保温和适度喂水
是否在同一动物上进行多个手术	<input type="checkbox"/> 否 <input checked="" type="checkbox"/> 是，具体说明：肝脏切除造模及脾内移植外泌体
八、导致疼痛的分类 <input checked="" type="checkbox"/> A 轻微，或一过性，或无疼痛 <input type="checkbox"/> B 有疼痛，但能够解除 <input type="checkbox"/> C 不能缓解的疼痛	
九、麻醉、镇痛（对第八项目中的 B 或 C 类动物，应说明使用麻醉或镇痛的方法，包括麻醉剂的名称、剂量、使用方式和时间） 水合氯醛 5mg/kg 腹腔注射麻醉，麻醉时间为 1 小时，术后 4-6 小时苏醒。	
十、实验终结后，如何终止动物的生命和如何处理动物尸体 颈椎脱臼法处死，给予对应部门焚烧处理。	
十一、有害（毒）物质的使用（应得到安全委员会的批准） <div style="text-align: center;">否      是      使用物品的名称</div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; margin-top: 10px;"> <div style="width: 30%;">1 放射性同位素</div> <div style="width: 30%; text-align: center;">___ <input checked="" type="checkbox"/> ___</div> <div style="width: 30%;"></div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; margin-top: 10px;"> <div style="width: 30%;">2 生物物品</div> <div style="width: 30%; text-align: center;">___ <input checked="" type="checkbox"/> ___</div> <div style="width: 30%;"></div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; margin-top: 10px;"> <div style="width: 30%;">3 有毒的化学（药）品</div> <div style="width: 30%; text-align: center;">___ <input checked="" type="checkbox"/> ___</div> <div style="width: 30%;"></div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; margin-top: 10px;"> <div style="width: 30%;">4 重组 DNA</div> <div style="width: 30%; text-align: center;">___ <input checked="" type="checkbox"/> ___</div> <div style="width: 30%;"></div> </div> <div style="margin-top: 10px;">           生物安全水平            具体描述安全操作和处理被污染的动物和有关污染物：         </div>	
项目负责人承诺 1 本课题组成员参加过动物实验的培训。 2 以上填写内容属实，本人对动物实验的设计的科学性、合理性和可行性负全责。	
项目负责人签字： 	日期： 2018 年 3 月 1 日
伦理委员会审核意见：	
经审查，该研究项目符合有关实验动物使用伦理的相关规定，同意开展研究。	
单位公章 	
日期：      年      月      日	