

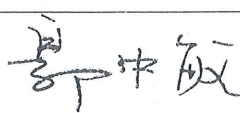


## 中山大学动物实验伦理审查同意书

Affidavit of Approval of Animal Use Protocol, IACUC, SYSU

|                         |            |                      |                        |
|-------------------------|------------|----------------------|------------------------|
| 申请编号<br>Application No. | 2019000035 | 批准编号<br>Approval No. | SYSU-IACUC-2019-000005 |
|-------------------------|------------|----------------------|------------------------|

本动物实验方案经过中山大学实验动物伦理委员会审核，符合动物保护、动物福利和伦理原则，符合国家实验动物福利伦理的相关规定。The animal use protocol listed below has been reviewed and approved by the Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC), Sun Yat-Sen University.

|                                      |                                                                                                                                                                                                     |                       |                                          |                                       |                       |
|--------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|------------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------|
| 实验名称<br>Protocol Title               | L-苏糖酸镁治疗 APP/PS1小鼠阿尔茨海默病的作用机制研究<br>Monitoring the effect of magnesium-L-threonate treating Alzheimer' s disease and analysising the related mechanism in Alzheimer' s disease model of APP/PS1 mice |                       |                                          |                                       |                       |
| 实验申请人<br>Applicant                   | 熊鸸<br>Ying Xiong                                                                                                                                                                                    | 职称/学位<br>Title/Degree | 博士<br>Doctor                             | 邮箱<br>Email                           | xyzjy09154013@163.com |
| 实验负责人<br>Principle Investigator (PI) | 刘军<br>Jun Liu                                                                                                                                                                                       | 职称/学位<br>Title/Degree | 教授<br>Professor                          | 邮箱<br>Email                           | ljktz2018@sohu.com    |
| 院系(部门)<br>Department                 | 中山大学孙逸仙纪念医院(附属第二医院)<br>SUN YAT-SEN MEMORIAL,<br>SUN YAT-SEN UNIVERSITY                                                                                                                              |                       | 申请日期<br>Application date                 | 2019/1/18                             |                       |
| 动物种系<br>Species or Strains           | 小鼠 B6C3F1<br>B6C3F1                                                                                                                                                                                 |                       | 动物数量 Quantity                            | 54                                    |                       |
| 计划执行时间<br>Period of Protocol         | 2018/9/23 ~2019/5/10                                                                                                                                                                                |                       | 实验动物使用许可证<br>Number of Animal use permit | 中山大学(实验动物中心东校区)<br>(SYXK(粤)2016-0112) |                       |
| 审查意见<br>Results of inspection        | <input type="checkbox"/> 符合动物福利伦理要求，同意实验 Agree<br><input checked="" type="checkbox"/> 调整方案后，可进行实验 Agree after modification                                                                          |                       |                                          |                                       |                       |
| 兽医师 Chief<br>Veterinary Officer      |                                                                                                                  |                       | 日期 Date                                  | 2019.4.30                             |                       |

中山大学实验动物伦理委员会 (IACUC, SYSU)

主席 (Chairman) :

日期 (Date) :



地址: 广州中山二路 74 号中山大学实验动物中心 邮编: 510080

Add: Laboratory Animal Center, SUN YAT-SEN UNIVERSITY, No. 74, Zhongshan Road II, Guangzhou, 510080, P.R. China

## 实验动物使用和伦理审查申请表

|                                 |                                                                                                                                                                                                     |                       |                             |                       |             |
|---------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-----------------------------|-----------------------|-------------|
| 申请编号<br>Application No.         | 2019000035                                                                                                                                                                                          |                       | 申请日期 Date                   | 2019/1/18             |             |
| 实验名称<br>Protocol Title          | L-苏糖酸镁治疗 APP/PS1小鼠阿尔茨海默病的作用机制研究<br>Monitoring the effect of magnesium-L-threonate treating Alzheimer' s disease and analysising the related mechanism in Alzheimer' s disease model of APP/PS1 mice |                       |                             |                       |             |
| 项目来源<br>Fund Source             | 广东省科技计划项目<br>Science and Technology Planning Project of Guangdong Province, China                                                                                                                   |                       | 拟实验时间<br>Period of Protocol | 2018/9/23 至2019/5/10  |             |
| 动物种系<br>Species or Strains      | 小鼠 B6C3F1<br>B6C3F1                                                                                                                                                                                 |                       | 动物数量<br>Quantity            | 54                    |             |
| 申请人姓名<br>Applicant              | 熊鸮<br>Ying Xiong                                                                                                                                                                                    | 职称/学位<br>Title/Degree | 博士<br>Doctor                | 电话<br>Tel             | 15626462569 |
| 院系 (部门)<br>Department           | 中山大学孙逸仙纪念医院 (附属第二医院)<br>SUN YAT-SEN MEMORIAL, SUN YAT-SEN UNIVERSITY                                                                                                                                |                       | 邮箱 Email                    | xyzjy09154013@163.com |             |
| 实验负责人<br>Principle Investigator | 刘军<br>Jun Liu                                                                                                                                                                                       | 职称/学位<br>Title/Degree | 教授<br>Professor             | 电话<br>Tel             | 13609794537 |
| 院系 (部门)<br>Department           | 中山大学孙逸仙纪念医院 (附属第二医院)<br>SUN YAT-SEN MEMORIAL, SUN YAT-SEN UNIVERSITY                                                                                                                                |                       | 邮箱 Email                    | ljktz2018@sohu.com    |             |

注: 以上内容需双语填写。

| 实验执行人 | 职称/学位 | 动物实验部<br>准入证编号 | 电话          | 邮箱                    |
|-------|-------|----------------|-------------|-----------------------|
| 苏舒    | 硕士    | (东) 2017-52-15 | 15626214090 | 2321407861@qq.com     |
| 熊鸮    | 博士    | (东) 2017-53-24 | 15626462569 | xyzjy09154013@163.com |

请分别描述本动物实验目的、内容概述、本实验对人类健康或生命科学的意义及本项目进行动物实验的必要性：

实验目的：探究 L-苏糖酸镁对阿尔茨海默病的治疗效果以及分析相关的作用机制。

内容概述：6-7 月龄 APP/PS1 (B6C3-Tg(APPswePSEN1dE9)/Nju) 雄鼠 54 只，包含 48 只阿尔茨海默病雄鼠（阳性雄鼠）和 6 只同窝阴性雄鼠。疾病动物模型构建如下：

基因型为 (App<sup>swe</sup>)T, (Psen1)T 是阿尔茨海默病雄鼠（阳性雄鼠），基因型为 (App<sup>swe</sup>)W, (Psen1)W 的是同窝阴性雄鼠。

实验分组：

54 只雄鼠分为 9 组，每组 6 只小鼠。9 组小鼠给药方式分别为：（1）6 只同窝阴性雄鼠每日给予饮用水；（2）6 只阳性雄鼠每日给予饮用水；（3）6 只阳性雄鼠每日给予 455mg/kg（体重）的 L-苏糖酸镁液（L-苏糖酸镁溶解于饮用水中）；（4）6 只阳性雄鼠每日给予 910mg/kg（体重）的 L-苏糖酸镁液；（5）6 只阳性雄鼠每日给予 1365mg/kg（体重）的 L-苏糖酸镁液；（6）6 只阳性雄鼠每日给予 1365mg/kg（体重）的 L-苏糖酸镁液+（0.5% hydroxypropyl methylcellulose+0.2%Tween 80 液）灌胃；（7）6 只阳性雄鼠每日给予 1365mg/kg（体重）的 L-苏糖酸镁液+四天一次的 2.5mg/kg（体重）的 PD0325901 液灌胃（PD0325901 溶解于 0.5% hydroxypropyl methylcellulose+0.2%Tween 80 液中）；（8）6 只阳性雄鼠每日给予 1365mg/kg（体重）的 L-苏糖酸镁液+四天一次的 5mg/kg（体重）的 PD0325901 液灌胃；（9）6 只阳性雄鼠每日给予 1365mg/kg（体重）的 L-苏糖酸镁液+四天一次的 10mg/kg（体重）的 PD0325901 液灌胃。给药三个月后，9 组小鼠进行 MRI 显像，Morris 水迷宫来评估小鼠空间学习，记忆能力等，然后对各组小鼠经 1%戊巴比妥钠 150mg/kg（体重）过量麻醉处死后取脑组织，进行 Western blot, PCR, 免疫组化，免疫荧光，银染色,TUNEL 染色,流式检测，进一步分析 L-苏糖酸镁对阿尔茨海默病的治疗效果以及相关的作用机制。

意义:本研究是对 L-苏糖酸镁治疗阿尔茨海默病的疗效评估以及分析相关的作用机制。对 L-苏糖酸镁治疗阿尔茨海默病疗效的检测和相关作用机制的探讨，能为阿尔茨海默病的治疗探索新的治疗靶点，有利于解决阿尔茨海默病治疗的某些难题，促进阿尔茨海默病治疗新有效药物的产生并评估新治疗靶点的有效性，具有非常重要的临床价值和科研价值，为进一步进行相关临床研究奠定基础。

必要性：本实验需要监测 L-苏糖酸镁对阿尔茨海默病的治疗效果以及分析相关的作用机制，无法应用计算机模拟或细胞培养替代动物实验，而高等动物阿尔茨海默病模型能够恰当地模拟阿尔茨海默病患者经 L-苏糖酸镁治疗后的病情改善程度，这是低等动物和细胞实验无法替代的。

本实验是否与已通过伦理审查的实验（项目）相关联（重复或类同）？如果有，请注明具体的实验（项目）名称与受理号或 IACUC 编号并附加说明：

无



|          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                     |            |  |
|----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|------------|--|
| 拟使用的动物信息 | 来源                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 南京大学-南京生物医药研究院 (SCXK (苏) 2015-0001) |            |  |
|          | 品种/品系: 小鼠 B6C3F1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                     | 等级: SPF 级  |  |
|          | 数量: 54                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 体重: 33-40g                          | 年龄: 6—7 月龄 |  |
| 拟用实验设施   | 中山大学 (实验动物中心东校区)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                     | 设施: 屏障环境   |  |
| 主要实验操作   | <p><b>实验方案及实验分组</b> (总动物数量、分组依据、分组情况、组数和组动物数):<br/>实验方案, 总动物数量, 动物分组情况, 组数及每组动物数量等情况如下:<br/>内容概述: 6-7 月龄 APP/PS1 (B6C3-Tg(APPswePSEN1dE9)/Nju) 雄鼠 54 只, 包含 48 只阿尔茨海默病雄鼠 (阳性雄鼠) 和 6 只同窝阴性雄鼠。疾病动物模型构建如下:<br/>基因型为 (App<sup>swe</sup>)T, (Psen1)T 是阿尔茨海默病雄鼠 (阳性雄鼠), 基因型为 (App<sup>swe</sup>)W, (Psen1)W 的是同窝阴性雄鼠。<br/>实验分组:<br/>54 只雄鼠分为 9 组, 每组 6 只小鼠。9 组小鼠给药方式分别为: (1) 6 只同窝阴性雄鼠每日给予饮用水; (2) 6 只阳性雄鼠每日给予饮用水; (3) 6 只阳性雄鼠每日给予 455mg/kg (体重) 的 L-苏糖酸镁液 (L-苏糖酸镁溶解于饮水水中); (4) 6 只阳性雄鼠每日给予 910mg/kg (体重) 的 L-苏糖酸镁液; (5) 6 只阳性雄鼠每日给予 1365mg/kg (体重) 的 L-苏糖酸镁液; (6) 6 只阳性雄鼠每日给予 1365mg/kg (体重) 的 L-苏糖酸镁液+ (0.5% hydroxypropyl methylcellulose+0.2%Tween 80 液) 灌胃; (7) 6 只阳性雄鼠每日给予 1365mg/kg (体重) 的 L-苏糖酸镁液+四天一次的 2.5mg/kg (体重) 的 PD0325901 液灌胃 (PD0325901 溶解于 0.5% hydroxypropyl methylcellulose+0.2%Tween 80 液中); (8) 6 只阳性雄鼠每日给予 1365mg/kg (体重) 的 L-苏糖酸镁液+四天一次的 5mg/kg (体重) 的 PD0325901 液灌胃; (9) 6 只阳性雄鼠每日给予 1365mg/kg (体重) 的 L-苏糖酸镁液+四天一次的 10mg/kg (体重) 的 PD0325901 液灌胃。给药三个月后, 9 组小鼠进行 MRI 显像, Morris 水迷宫来评估小鼠空间学习, 记忆能力等, 然后对各组小鼠经 1%戊巴比妥钠 150mg/kg (体重) 过量麻醉处死后取脑组织, 进行 Western blot, PCR, 免疫组化, 免疫荧光, 银染色, TUNEL 染色, 流式检测, 进一步分析 L-苏糖酸镁对阿尔茨海默病的治疗效果以及相关的作用机制。</p> |                                     |            |  |



|                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                                                                                                                                                                       | <p>给药途径和方法：灌胃（√） 皮下（ ） 腹腔（ ） 静脉（ ） 其他（√）</p> <p>给药剂量：L-</p> <p>苏糖酸镁给药剂量分别为 455mg/kg（体重），910mg/kg（体重），1365mg/kg（体重）。PD0325901<br/>给药剂量为 2.5mg/kg（体重），5mg/kg（体重），10mg/kg（体重）。 给药周期：三个月</p> <p>如其他，请注明：L-苏糖酸镁给药：</p> <p>L-苏糖酸镁溶解于小鼠的日常饮用水中，每日给予 L-苏糖酸镁液（L-苏糖酸镁溶解于饮用水中），即口服给药。</p> <p>PD0325901 给药：</p> <p>灌胃给药</p> |
|                                                                                                                                                                                                                       | <p>处死方式：颈椎脱臼（ ） 过量麻醉（√） 二氧化碳吸入法（ ） 其他（ ）</p> <p>如其他，请注明：</p> <p>麻醉方法和麻醉途径：小鼠经腹腔注射 1%戊巴比妥钠 150mg/kg（体重）过量麻醉处死。</p> <p>麻醉药名称：1%戊巴比妥钠 剂量：150mg/kg（体重）</p> <p>如其他，请注明：</p> <p>是否需要手术：<input checked="" type="checkbox"/>否 <input type="checkbox"/>是</p> <p>如是，手术方法路径：</p>                                           |
| <p>实验设计中体现 3R 原则</p>                                                                                                                                                                                                  | <p>替代：本实验用 B6C3-Tg(APP<sup>swe</sup>PSEN1dE9)/Nju 小鼠替代猴子等灵长类动物，符合“3R”原则。</p> <p>减少：每组仅有 6 只小鼠重复，但具有统计学意义，符合“3R”原则。</p> <p>优化：前期阅读大量文献，确定 L-苏糖酸镁和 PD0325901 的初步给药剂量，并进行相关预实验，摸索出最适给药剂量进行优化，符合“3R”原则。</p>                                                                                                         |
| <p><b>主要观察指标</b></p> <p>(1) 各组小鼠的一般生存情况：每日观察小鼠活动度，毛发光泽，体重等；</p> <p>(2) 各组小鼠进行 MRI 显像，Morris 水迷宫来评估小鼠空间学习，记忆能力等；</p> <p>(3) 各组小鼠进行 Western blot，PCR，免疫组化，免疫荧光，银染色，TUNEL 染色，流式检测，进一步分析 L-苏糖酸镁对阿尔茨海默病的治疗效果以及相关的作用机制。</p> |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <p><b>预期实验会对动物造成的伤害（例如手术、药物毒性和实验意外造成的伤害以及动物是否死亡）：</b></p> <p>PD0325901 灌胃给药，可能会损伤小鼠食道，需要操作轻柔。</p>                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |



动物出现非试验目的异常情况（如疾病、意外伤害等）时如何护理或处理？（如该类动物的处理措施或护理措施、是否进行治疗、如何治疗？）

动物濒临死亡或无法继续实验时，应给予药物过量麻醉（每只小鼠经腹腔注射 1%戊巴比妥钠 150mg/kg（体重）过量麻醉）后处死动物。

动物实验的实验终点和人道终点（请分别描述）

实验终点：给药三个月后，9 组小鼠进行 MRI 显像，Morris 水迷宫检测后，取小鼠脑组织进行下一步实验。

为处理动物采取实验标本，先将每只小鼠经腹腔注射

1%戊巴比妥钠 150mg/kg（体重）过量麻醉处死后取材，以尽量减少动物的痛苦。若期间各组小鼠处于重症感染濒危状态或达到人道终点时，应立刻过量麻醉（每只小鼠经腹腔注射

1%戊巴比妥钠 150mg/kg（体重）过量麻醉）后处死动物取材。

人道终点：当小鼠体质量下降大于

10%或出现明显濒危表现（如精神萎靡，毛发无光泽，摄食量显著减少，口唇及肢端发绀，呼吸明显抑制等）作为本实验的人道终点。

拟开展  
动物实验  
信息  
2

实验动物尸体处理：实验动物中心统一无害化处理

减少动物痛苦伤害措施（如麻醉，须提供麻醉药名称、剂量、方法和麻醉途径等）：

实验操作期间，灌胃给药时动作尽量轻柔，灌胃速度尽量快，减轻动物灌胃的痛苦。结束时，为处理动物采取实验标本，先将每只小鼠经腹腔注射

1%戊巴比妥钠 150mg/kg（体重）过量麻醉处死后取材，以尽量减少动物的痛苦。

是否使用有毒（害）物质（感染、放射、化学毒、其他）：

☒否 ☐是

如是，请说明：

如对伦理审查有特殊要求，请说明（例如需要某一委员回避等）：无

备注

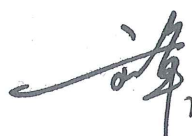
（如动物无质量合格证需在此处说明理由或其他需要告知伦理审查委员会的便于判断是否审批的事项等）：

无



### 声明

本人将自觉遵守实验动物福利伦理原则，同意接受委员会或实验室管理者的监督与检查。

声明人：实验负责人（签章）  2019年 2月 27日

实验执行人（包括参与实验的所有人员，签章） 2019年 2月 27日

熊鸸 苏舒

#### 审查 依据

1. 该实验是否必须用实验动物进行实验，即能否用计算机模拟、细胞培养等非生命方法替代动物或用低等动物替代高等动物进行实验。
2. 表中所填实验相关人员资格和实验相关单位是否合适
3. 表中所填实验所用动物能否通过改良设计方案或用高质量的动物来减少所用动物的数量
4. 能否通过改进实验方法、调整实验观测指标、改良处死动物的方法，来优化实验方案、善待动物
5. 实验设计、实验技术方法及用于本实验的动物数量是否合理可行

**IACUC 和动物伦理委员会初审意见：**（由实验动物伦理委员会人员填写）  
形式审查合格，初审同意通过。  
刘宝宁 2019/1/18

**申报单位意见：**（由申请者打印后交申请人所在单位签署意见并盖章）

经手人（签章）： 

年 月 日

**IACUC 和动物伦理委员会审批意见：**（由实验动物伦理委员会人员填写）  
同意，审核通过。赵勇 2019/1/19  
同意，审核通过 黄文革 2019/1/18

委员签字（盖章）：

年 月 日

备注：

填表说明：



1. 本申请表须在实验前 2 个月提交。要求写明课题的意义、必要性，表中有关实验动物的用途、饲养管理或动物实验操作和观察步骤、实验终结标准、减少动物痛苦伤害措施的程序和方法等涉及动物福利和伦理问题的需要详细描述，可以增加附页。
2. 请根据初审意见修改并提交，初审通过后，请根据会审意见修改并提交，然后会再次初审、会审。通过后将本申请表下载并打印两份，课题负责人、执行人及合作单位负责人均需在声明人签字栏签字，申请单位盖章。然后连同必要的审查资料递交到中山大学实验动物中心北校区办公室。
3. 需在外单位完成课题的，请同时填写校外实验动物设施使用证明。
4. 凡项目资金来源不确定、课题执行人无动物实验资格证（需在有效期内）的课题原则上不能进行，亦不做伦理审查。
5. 联系人：刘老师，020-87330443,020-87332119。