实验动物福利伦理审查表

编号 No.	IACUC-2209028
申请日期 Date	2022-08-31

一、申请者基本情况

实验名称 Protocol	隐丹参酮通过内质网应激途径诱导活化型肝星状细胞凋亡的分子机制研究 Cryptotanshinone induces apoptosis of activated hepatic stellate cells via endoplasmic reticulum stress				
项目来源及编号 Fund Source	国家自然科学基金 81770591 National Natural Science Foundation of China 81770591		拟实验时间 Period of Protocol	2022-09-30 - 2024-03-01	
申请人姓名 Applicant	宋佳逦 Song Jia Li	职称/学位 Title/Degree	硕士 Master	电话 Tel	[redacted]
院系（部门） Department	南京医科大学附属第一临床医学院 First Affiliated Hospital with NJMU			邮箱 Email	[redacted]
实验负责人 Principle Investigator	朱传龙 Zhu Chuan Long	职称/学位 Title/Degree	教授 Professor	电话 Tel	[redacted]
院系（部门） Department	南京医科大学附属第一临床医学院 First Affiliated Hospital with NJMU			邮箱 Email	[redacted]

二、实验人员（没有资格证号不予受理）

实验执行人	职称/学位	实验动物专业技能培训记录卡号	电话	邮箱
宋佳逦	硕22	20202552（2020.12.05-2025.1	[redacted]	

三、项目简介

1、 本研究的目的、内容、意义，动物实验的目的、拟解决问题和实验策略（以非专业语言简述）（≤1000字）

肝纤维化是各种急慢性肝损伤导致的肝纤维化生成和炎症反应的过程。如不及时处理可能进展成为肝硬化甚至肝癌（1）。隐丹参酮（CPT）是公认为具有广泛药理功能的重要化合物。具有多种作用，例如抗炎、抗糖尿病和抗肥胖、抗血管生成、抗淋巴管生成、抗菌和抗癌活性（2）。

目的：本研究旨在探讨隐丹参酮（CPT）对肝星状细胞（HSCs）凋亡的影响。该机制可能为治疗肝纤维化提供新的方法。

动物内容：CCL4用于构建肝纤维化模型。用CPT治疗肝纤维化小鼠模型。采集血液和肝脏样本进行病理检查，并测定肝脏样本的组织病理学变化和胶原蛋白含量。

意义：为肝纤维化治疗提供新的方法。

拟解决问题：为肝纤维治疗提供新的思路。

实验策略：通过CCL4进行肝纤维化小鼠造模，给予CPT治疗，观察小鼠肝纤维化症状是否减轻。

2、 主要参考文献（≤5篇）（≤1000字）

（1）Gan C, Cai Q, Tang C, Gao J. Inflammasomes and Pyroptosis of Liver Cells in Liver Fibrosis. Front Immunol. 2022 May 30;13:896473.
（2）(14)Li H, Gao C, Liu C, Liu L, Zhuang J, Yang J, Zhou C, Feng F, Sun C, Wu J. A review of the biological activity and pharmacology of cryptotanshinone, an important active constituent in Danshen. Biomed Pharmacother. 2021 May;137:111332.

3、 本项目是否与已通过审查的项目相关联（重复或类同）？如果有，具体的项目名称与受理号并附加说明：（≤1000字）

无

四、动物信息

品种	动物品系	基因型	质量合格证	数量	周龄	等级	使用动物来源	饲养设施地点	设施类型

小鼠	C57BL/6		有	♀♂25	6-8W	SPF	本校动物中心生产部	五台动物房	屏障环境（正压）
动物实验计划、分组与实验操作（≤1000字）	将6-8周大的雄性C57BL/6J小鼠（18-22 g）随机分为5组（n = 5）。所有动物都在室温下的标准化条件下饲养，具有合适的湿度和具有黎明/黄昏效果的光/暗循环。随意提供水和标准的无病原体食物。四氯化碳(CCl4；5mL/kg 体重）和橄榄油 [1:9 (v/v)] 的混合物用于通过腹膜内注射诱导小鼠肝纤维化。第 1 组是载体对照，其中小鼠未接受CCl4或CPT治疗。第2组是CCl4模型组。第3组Ccl4+salubrinal。第4组CCL4+CPT。第5组CCL4+CPT+salubrinal。其中第 2-5组注射了 CCl4(5 mL/kg) 每周两次，持续 8 周，以诱导肝纤维化。第3-5组在第5周内每天腹腔注射CPT或 salubrinal。给药8周后，采集血液和肝脏。将肝脏固定在 4% 缓冲多聚甲醛中，用于组织学分析和蛋白质印迹分析。								
动物使用的理由	☐ 一些生物学过程和机理不能在体外研究 ☑ 已进行体外实验，现必须进行体内实验 ☑ 体外实验需要动物组织 ☐ 其它，请具体说明：								
动物品种选择的理由	☑ 该品种的生理学、解剖学、身体大小等特点最适于本研究 ☑ 该品种是本实验公认的理想动物模型 ☑ 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 ☐ 从其它品种动物扩展相关数据到该品种 ☐ 其它，请具体说明：								

五、实验信息

1、 动物实验主要观察指标（≤1000字）

肝脏组织病理切片；静脉血检测肝功能及炎症因子水平

2、 给药方案（包括注射细胞）

药名	给药剂量	给药频率	给药途径	给药部位
CCL4	10 mL/kg	1周两次	腹腔注射	腹部
隐丹参酮	40mL/kg	1日1次	腹腔注射	腹部
salubrinal	10ml/kg	1日1次	腹腔注射	腹部

3、 标本采集方案

采集的组织或体液	采集方法	数量或体积	采集频率	持续时间或最大采集数量
肝脏	处死后采集	1g	1次	-

血液	尾静脉采集	10ul	1次	-

4、 手术操作描述（≤1000字）

无

术者技术资质		手术地点	
手术后护理		同一动物上进行多个操作	☐否 ☑ 是
疼痛评价	☐ 无疼痛或痛苦 ☑ 轻微疼痛或痛苦 ☐ 明显疼痛或痛苦 ☐ 重度疼痛或痛苦		

5、 麻醉与镇痛

药物名称及浓度	给药剂量和频率	给药途径	维持时间

6、 实验动物生命终结标准

- ☐ 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
- ☐ 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℃）时
- ☑ 6、感染，在抗生素治疗无效并伴随动物全身性不适症状
- ☐ 7、器官：出现器官严重丧失功能的临床症状且治疗无效，或经动物中心兽医师判断预后不佳
- ☐ 8、呼吸系统：呼吸困难、发绀大失血
- ☐ 9、心血管系统：大失血、已给予一次输液治疗后仍贫血（低于20％）
- ☐ 10、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
- ☐ 11、神经系统：中枢神经抑制、震颤、瘫痪（其中任一肢或以上）、对止痛剂治疗无效之疼痛
- ☐ 12、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）

☐ 13、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

7、 动物安乐死方法

	小于125g啮齿动物	125g～1kg 啮齿动物/兔	1kg～5kg 啮齿动物/兔	犬	猫	非人灵长类	牛、马、猪	两栖类/鱼类
☐ 二氧化碳	√	√	√	X	X	X	X	√
☑ 巴比妥钠静脉注射（100 mg/kg）	√	√	√	√	√	√	√	√
☑ 巴比妥钠腹腔注射（100 mg/kg）	√	√	√	X	√	X	√	√
☐ 麻醉后放血致死	√	√	√	√	√	√	√	√
☐ 麻醉后静脉注射Kcl（1-2 mg/kg）	√	√	√	√	√	√	√	√
☐ 麻醉后断头	√	√	△	X	X	X	X	√
☐ 麻醉后颈椎脱位	√	√	X	X	X	X	X	X
☐ 动物清醒中直接断头	△	△	△	X	X	X	X	X
☐ 动物清醒中直接颈椎脱位	△	X	X	X	X	X	X	X
☐ 乙醚	△	X	X	X	X	X	X	X

表格说明：Y 建议使用之方法；× 不建议使用之方法；△ 说明理由并经动物实验管理委员会审核通过后可使用之方法。

8、 用CO2或其他吸入性气体对动物安乐死时，需准备另一种物理方法，在动物无意识的状态下，对其进一步安乐死

- ☐ 1、断头
- ☐ 2、头颈部脱臼
- ☐ 3、放血法，如割开大血管、心脏灌注、摘取主要器官
- ☐ 4、切开胸部，使动物气胸和停止呼吸
- ☐ 5、其它 ，请具体说明:

9、 用过剂量的药物（如戊巴比妥）对动物实施安乐死时，在给药10分钟后必须再次检测动物的生命体征。采用以下标准判断动物已死亡

- ☑ 1、动物已经不动了，没有呼吸了
- ☑ 2、动物已没有呼吸、心跳、角膜反射、肌张力和粘膜颜色
- ☐ 3、其它 ，请具体说明：

10、 剩余动物的最终处理

- ☑ 1、安乐死
- ☐ 2、返回供应单位
- ☐ 3、转给其它课题组
- ☐ 4、饲养直至其自然死亡
- ☐ 5、其它 ，请具体说明:

11、 动物尸体、组织、或体液的最终处理

- ☑ 1、制作标本
- ☑ 2、集中无公害化处理
- ☐ 3、其它 ，请具体说明:

12、 动物实验中使用的试剂

- ☐ 1、放射性同位素
- ☐ 2、生物物品
- ☑ 3、化学品、药品
  ccl4,salubrinal,隐丹参酮
- ☐ 4、重组 DNA
- ☐ 5、其它
- ☐ 6、无

13、 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)（≤1000字）

无

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》、江苏省人民政府发布的《江苏省实验动物管理办法》。

我承诺该申请表中提及的实验人员，已经参加实验动物的相关培训，掌握了实验中涉及的动物实验方法，并且深知使用这些活体动物及物组织所存在的风险。

我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。

实验负责人：

实验执行人：

（包括参与实验的所有人员）：

2022年 08月 31日

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

实验动物福利伦理委员会审查意见 委员签字（签章）： 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，然后会再次审核。通过后将本申请表下载并打印一份，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。然后连同必要的审查资料递交到动物伦理委员会兽医办公室。

3、需在外单位完成课题的，请同时填写院外实验动物设施使用证明。

4、凡项目执行人无实验动物上岗培训合格证明材料（需在有效期内）的课题不能进行，亦不做伦理审查。

实验动物福利伦理审查同意书

Affidavit of Approval of IACUC

申请编号	15333	批准编号 Approval No.	IACUC-2209028

本《动物实验方案》经过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。方案的相关信息如下：

The animal use protocol listed below has been reviewed and approved by Institutional Animal Care and Use Committee（IACUC）

实验名称 Protocol Title	隐丹参酮通过内质网应激途径诱导活化型肝星状细胞凋亡的分子机制研究 Cryptotanshinone induces apoptosis of activated hepatic stellate cells via endoplasmic reticulum stress				
申请人姓名 Applicant	宋佳逦 Song Jia Li	职称/学位 Title/Degree	硕士 Master	邮箱 Email	[redacted]
实验负责人 Principle Investigator	朱传龙 Zhu Chuan Long	职称/学位 Title/Degree	教授 Professor	邮箱 Email	
院系（部门） Department	南京医科大学附属第一临床医学院 First Affiliated Hospital with NJMU			申请日期 Application Date	2022-08-31
拟实验时间 Period of Protocol	2022-09-30 - 2024-03-01	实验动物使用许可证 Number of Animal Use Permit		SYXK(苏)2018-0020	
审核意见 Results of Inspection	符合动物福利伦理要求，可以进行实验。 Agree				
兽医师 Chief Veterinary Officer	马贯中 Maguanzhong			日期 Date	

南京医科大学实验动物福利伦理委员会
Institutional Animal Care and Use Committee of NMU

主席(chairman):施爱民　　签名(signature):
Shi Aimin

日期(Date)：2022-09-23

实验动物福利伦理审查同意书

Affidavit of Approval of IACUC

申请编号	15333	批准编号 Approval No.	IACUC-2209028

本《动物实验方案》经过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。方案的相关信息如下：

The animal use protocol listed below has been reviewed and approved by Institutional Animal Care and Use Committee（IACUC）

实验名称 Protocol Title	隐丹参酮通过内质网应激途径诱导活化型肝星状细胞凋亡的分子机制研究 Cryptotanshinone induces apoptosis of activated hepatic stellate cells via endoplasmic reticulum stress				
申请人姓名 Applicant	宋佳逦 Song Jia Li	职称/学位 Title/Degree	硕士 Master	邮箱 Email	[redacted]
实验负责人 Principle Investigator	朱传龙 Zhu Chuan Long	职称/学位 Title/Degree	教授 Professor	邮箱 Email	
院系（部门） Department	南京医科大学附属第一临床医学院 First Affiliated Hospital with NJMU			申请日期 Application Date	2022-08-31
拟实验时间 Period of Protocol	2022-09-30 - 2024-03-01	实验动物使用许可证 Number of Animal Use Permit		SYXK(苏)2018-0020	
审核意见 Results of Inspection	符合动物福利伦理要求，可以进行实验。 Agree				
兽医师 Chief Veterinary Officer	马贯中 Maguanzhong			日期 Date	

南京医科大学实验动物福利伦理委员会
Institutional Animal Care and Use Committee of NMU

主席(chairman):施爱民　　签名(signature):
Shi Aimin

日期(Date)：2022-09-23