



福岡大学動物実験計画書

福岡大学長 殿

申請年月日 平成 29 年 7 月 21 日

☐ 新規 ☒ 継続 ☐ 変更 前回承認番号 (1509863)

研究課題： 大腸癌微小循環構築における筋線維芽細胞TRPA1の役割				
実験責任者名(資格)： 倉原 琳 (講師)		所属： 医 学部	生理学	教室
E-mail： hailin@fukuoka-u.ac.jp		連絡先TEL： 内線3226	H29 講習受講の(<input checked="" type="checkbox"/> 有 ・ <input type="checkbox"/> 無)	
主たる実験従事者(資格)： 倉原 琳 (講師)		所属： 医学部・生理学		
E-mail： hailin@fukuoka-u.ac.jp		連絡先TEL： 内線3226	H29 講習受講の(<input checked="" type="checkbox"/> 有 ・ <input type="checkbox"/> 無)	
上記以外の実験従事者・氏名(資格)	所属	講習受講の(有 ・ 無)		
井上隆司(教授)	医学部生理学	H29 <input checked="" type="checkbox"/> 有 ・ <input type="checkbox"/> 無		
平石敬三(研究員)	医学部生理学	H26 <input checked="" type="checkbox"/> 有 ・ <input type="checkbox"/> 無		
		<input type="checkbox"/> 有 ・ <input type="checkbox"/> 無		
		<input type="checkbox"/> 有 ・ <input type="checkbox"/> 無		
		<input type="checkbox"/> 有 ・ <input type="checkbox"/> 無		
研究意義 目的および必要性： 消化管の炎症・線維化・発癌のプロセスでは、EGF、TGF、PDGF、VEGF、FGFといった様々な増殖因子およびその受容体が過剰に発現し病態の進展に関与することが報告されており、近年分子治療の標的として注目されている。これら増殖因子に反応して病変部へ遊走し組織のリモデリングに寄与する細胞の一つに線維芽細胞がある。臨床的には、線維芽細胞は創傷治癒や線維化と密接に関連し、癌関連線維芽細胞の過剰増殖の程度と腫瘍化には相関が認められている。本研究では、腸管における種々の物理化学刺激やストレスのセンサー蛋白質と考えられる癌関連線維芽細胞TRPチャンネルに注目し、増殖因子刺激に反応したの増殖・遊走、炎症性サイトカイン・細胞外マトリクス産生の制御に果たす役割の解明を通して、炎症と線維化に関わる線維芽細胞の役割、炎症と発癌を繋げる「癌微小環境」構築における癌関連線維芽細胞の潜在的な役割を探索することを目的とする。予備実験として、すでに培養細胞を使ってTRPA1の働きを検討しており、in vivoにおける消化管炎症・線維化、腫瘍の発生や進行におけるTRPA1チャンネルの役割を検討するためにノックアウトマウスを使った実験は不可欠と考える。				
動物飼養保管施設： <input checked="" type="checkbox"/> アニマルセンター () <input type="checkbox"/> 薬学部動物室 () <input type="checkbox"/> その他 ()				
実験実施場所(実験室)： <input checked="" type="checkbox"/> アニマルセンター (実験室) <input type="checkbox"/> 薬学部動物室 () <input checked="" type="checkbox"/> その他 (生理学6研)				
実験予定期間： 平成 29 年 9 月 2 日 ~ 31 年 9 月 1 日 (期間 2年)				
使用動物種	系統または品種	性別	年齢	総使用動物数
遺伝子改変マウス	BDF1-Trpa1KO マウス	♂、♀	4～8週令	70匹/年
	BDF1-WTマウス	♂、♀	4～8週令	60匹/年
(同一研究課題でも動物種ごとに用紙を替え記入ください)				
使用動物種および使用数算出の根拠： 繁殖用のマウスと4つの実験グループ(各グループ10匹)が毎年必要なので、年間130匹：腸炎モデル実験(65匹)と大腸癌モデル実験(65匹)必要となる 内訳：TRPA1 KOマウス70匹/年、WTマウス60匹/年 腸炎モデル実験(10×4グループ+α=65匹)と大腸癌モデル実験(10×4グループ+α=65匹) 新たなKOマウスを作製し、交配の過程におけるKOマウスのバックグラウンドの変化と実験結果の安定性を確認するため、+αの予備数が必要。				

実験の概要：	<input checked="" type="checkbox"/> 遺伝子組換え動物使用実験	<input checked="" type="checkbox"/> 発癌・有害物質投与実験	<input type="checkbox"/> 感染実験
	<input type="checkbox"/> RI・放射線使用実験	<input type="checkbox"/> 試料の投与または接種	<input checked="" type="checkbox"/> 材料採取
	<input type="checkbox"/> 外科的処置	<input type="checkbox"/> 行動観察	<input type="checkbox"/> 免疫実験
	<input checked="" type="checkbox"/> 交配・育種	<input type="checkbox"/> その他（ ）	<input type="checkbox"/> 腫瘍移植実験

具体的処置：（実験方法、動物の苦痛の軽減・排除の方法等について記入する。）

発癌initiatorとしてazoxymethane (AOM)を腹腔内単回投与し、その一週後から発癌promotorとしてdextran sulfate sodium (DSS)を一週間飲水投与する、20週前後で大腸に腫瘍が発生するので、腫瘍形成の経過についてWT mouse と TRPA1 KO mouse 間で比較検討する。

この発癌誘導プロトコールは通常のプロトコールより発癌までにかかる時間が半分に抑えられており、極力マウスに与える苦痛を減らしている。さらに消化管炎症と線維化の関係を調べるため、TNBS腸炎モデルを使用する。（麻酔下で週一回1.0mgTNBSを柔らかいビニールチューブで注腸計6週間）、安楽死させた後に腹部を開いて、大腸を採取する。組織標本を作製し免疫染色実験に供して炎症や線維化の度合いを比較する。またコラゲナーゼやプロテアーゼを用いて線維芽細胞を急性単離し、電気生理学的測定、生化学的測定にも用いる。

これまでのスクリーニングで発見した食品成分で炎症・線維化・癌化に対する治療効果についても検討を行う。

動物実験の種類： <div style="display: flex; flex-direction: column; align-items: flex-start;"> <input type="checkbox"/> 教育・訓練 <input checked="" type="checkbox"/> 試験・研究 <input type="checkbox"/> その他（ ） </div>	動物実験を必要とする理由： <div style="display: flex; flex-direction: column; align-items: flex-start;"> <input checked="" type="checkbox"/> 代替手段が無い <input type="checkbox"/> 代替手段の精度が不十分 <input type="checkbox"/> その他（ ） </div>
--	---

実験動物に与える苦痛の分類： アニマルセンター利用のてびき39頁参照

☐ カテゴリー B. 脊椎動物を用いた実験で、動物に対してほとんど、あるいは全く不快感を与えないと思われる実験

☐ カテゴリー 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または痛みをとまなう実験

☒ カテゴリー 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または痛みをとまなう実験

☐ カテゴリー E. 意識のある動物に、耐えることのできる限界に近いあるいはそれ以上の痛みを与えらると思われる実験

人道的エンドポイント：（カテゴリーC 以上に該当する実験では設定する。）

発癌物質によって起こるストレスや痛みを極力短時間に設定し、苦痛を感じる期間を短縮する。具体的なエンドポイントとして

摂餌・摂水困難もしくは腫瘍サイズの著しい増大や体重の激減を観察した時点で安楽死処置を行って、組織を採取する。

3日に一度体重測定を行って、病態の進行を観察する。体重の激変が観察された時点で安楽死の処置を行う

実験処置時における苦痛の軽減と排除等の方法：

☐ 苦痛とは関係のない実験

☐ 容認される苦痛の範囲内の実験

☐ 許容される苦痛の範囲をこえるが、実験の都合上苦痛の軽減・排除する方法がない。
 （理由を研究意義あるいは具体的処置の欄に記入。）

☐ 容認される苦痛を超えた場合は安楽死させる。（人道的エンドポイントを設定）

☒ 手術等痛みをとまなう処置をするときは麻酔を行なう。

使用薬品名： ソムノベンチル

投与量： 50 mg/kg体重

投与方法：

☐ 静脈内
 ☐ 筋肉内
 ☒ 腹腔内
 ☐ 吸入
 ☐ その他（ ）

その他（ ）

保定または拘束について：

☒ 短時間(30分以内)なので特に問題とならない。

（ 約 10 分 ）

☐ 長時間におよぶが実験上やむをえない。

（ 約 時間 ）

（理由を研究意義あるいは具体的処置の欄に記入する。）

処置後の対処：	<input type="checkbox"/> 実験当日に退舎 <input checked="" type="checkbox"/> 処置後の飼育期間	（	日、	20 週、	月）
（具体的処置の欄に実験処置後の管理法について記入する。）					
実験終了時の処置（安楽死法）： 麻酔薬等の使用では薬剤名・投与量・経路を記入する。					
<div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: flex-start;"> <div style="width: 45%;"> <input type="checkbox"/> 麻酔薬過剰投与 </div> <div style="width: 45%;"> <input type="checkbox"/> 麻酔下での失血 </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; margin-top: 10px;"> <div style="width: 30%;"> （ 薬剤名： </div> <div style="width: 30%;"> 投与量： </div> <div style="width: 30%;"> 経路： </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; margin-top: 10px;"> <div style="width: 30%;"> <input type="checkbox"/> 炭酸ガス吸入 </div> <div style="width: 30%;"> <input checked="" type="checkbox"/> 頸椎脱臼 </div> <div style="width: 30%;"> <input type="checkbox"/> その他 （ </div> </div>					
安楽死させない場合はその理由：					
その他の特記事項					

動物実験委員会記入欄

実験動物の苦痛度分類： カテゴリー（ B, C, D, E ）

修正意見等： _____

承認 ☒ 承認 ☐ 不承認 ☐ 条件付承認


承認年月日： H29 年 9 月 15 日

有効期限： 31 年 9 月 14 日まで

(2019)

承認番号： 1709099

福岡大学長 山口 政 俊



H24.6.1.

福岡大学アニマルセンター(内線4111、4112)

注) 実験の承認期間は、承認後2年(24ヵ月)間となっているが、承認期間中に当該実験が終了した場合は速やかに終了報告書を提出すること。

発癌・有害物質投与実験計画書



福岡大学動物実験委員長 殿

平成 29 年 7 月 20 日

研究課題: 大腸癌微小循環構築における筋線維芽細胞 TRPA1 の役割	
所属: 医学部 生理学 教室	実験責任者名: 倉原 琳
実験責任者以外の実験従事者(所属・氏名): 医学部 生理学 井上 隆司 " 平石 敬三	
発癌・有害物質名: azoxymethane (AOM)	
使用動物種: マウス	使用数: 100 匹
実験期間: 29 年 9 月 2 日から 31 年 9 月 1 日まで	
当該物質の取り扱い上注意すべき点: 保護手袋, めがね, 必要に応じて呼吸用保護具, 手, 皮, 衣服についた時は水で流すこと	
人体に毒性を発生する量と吸収経路: 飲み込むと生命に危険, 発がんのおそれ, 神経毒	
投与方法とその量: AOM 単回投与 (10 mg/kg 体重) 腹腔注射	
投与された動物が発癌・有害物質を排泄(糞尿・皮毛・呼気等)する程度: 1匹への投与は約 0.3 mg だけなので, 排泄されたとしても少量である。 念のため排泄物の処理をきちんとすること。	
投与された動物が発癌・有害物質を体内に貯留する程度: 単回投与でゆっくりと(たプロセスで)発癌するので, 貯留する割合が多いと考えられる。 0.3 mg (20週)	
当該物質の不活化方法: 水で分解される	
安全管理上の注意:	

<動物実験委員会記入欄>

実験を行うにあたっての条件:

承認日: 29. 9. 4 日

動物実験委員長 檜垣 靖樹



(様式 1)

遺伝子組換え実験計画書

学部長印
病院長印

平成26年6月24日


<input checked="" type="checkbox"/> 新規 <input type="checkbox"/> 継続 <input type="checkbox"/> 変更		継続および変更の場合 ※既得承認番号 (福大第 号)				
実験責任者：所属 医学部・生理学 資格 講師 氏名 倉原 琳 (内線 3236)						
課 題 名：TRP チャネルの分子機能と病態生理						
核酸供与体	供与核酸の特性①	宿主②	ベクター③	拡散防止措置区分④	備考	
ヒト・マウス・ラット・ウサギ由来の cDNA ゲノム DNA	生体内イオン輸送や細胞内シグナルに関与する機能性タンパク質の遺伝子 (TRPA1, TRPC, TRPM, TRPV, EGFP, L-type Ca ²⁺ channels, Fyn)	1)大腸菌 (DH5α BL21) 2)培養細胞 3)マウス	1) pGEX 2)pCI-neo pIRES pX330 pMX VSV-G gag-pol 3)該当なし	P1 P1A	蛋白毒素産生能は有しない	
実験の主目的および概要： 生体内様々な機能に関わるチャネルファミリーTRP タンパク質を中心として、その生体内機能発現・調節における役割を解明する。 1)これらの遺伝子が大腸菌で増幅、または大腸菌で蛋白合成して構造・機能解析する 2)様々な細胞に TRP タンパク質またはその変異体を発現させ、機能解析する。細胞で遺伝子導入のためのレトロウイルスを発現させる。 3)TRPA1 ノックアウトマウスの受託作製 (特定非営利活動法人発生病工学研究会) およびその病態モデルの解析を行う。				実験実施期間⑤ 平成26年7月15日～平成31年7月14日 使用実験施設⑥： 医・先端医療科学系総研 424-P1, 426-P1 医・人体生物系総研 1147-P1 アニマルセンター3階(マウス5室315) P1A		
実験従事者	氏名	所属	資格	病原微生物 取り扱い経験	遺伝子組換え 実験経験	備考
	井上隆司 倉原琳 平石敬三	医学部生理学 医学部生理学 医学部生理学	教授 講師 研究員	無 無 無	有(15年) 有(10年) 有(1年)	
⑦変更点、その他：						
遺伝子組換え実験安全委員会 承認番号 (福大第 310 号)				平成26年7月10日 安全委員会 委員長 西 嶋 喜代人		


- ①コードするタンパク質の名称や、その病原性の有無などを記入のこと。
 ②由来と系統名を記入のこと。
 ③由来と種類を記入のこと。
 ④拡散防止措置区分 (封じ込めレベル) を記入のこと。
 ⑤原則として5年以内とする。継続する場合は、計画書を再提出のこと。
 ⑥部屋番号を記入のこと。
 ⑦計画変更の場合、主な変更点を記入のこと。

(様式2)

遺伝子操作動物を用いる実験計画書

平成26年6月24日

・申請者：	医	学部	生理学	教室	氏名	倉原 琳	
						(内線	3236)

・研究課題：	TRP チャネルの分子機能と病態生理
・動植物および使用頭数 (注1)：	TRPA1 ノックアウトマウス 100 頭 BDF1 系統
・異種の遺伝子組換え分子、遺伝子組換え分子または組換え体：	TRP チャネル
・実験内容：	消化管の炎症・線維化・発癌の過程における TRP チャネルの機能の解析
・具体的処置：	WT マウスと KO マウス両方において、腸管炎症モデルと大腸癌発癌モデルを作製する。一定のステージで安楽死させ、腸管炎症・線維化狭窄・発癌などに関わる変化を観察する。
・実験期間：	平成26年7月15日 ～31年7月14日 (5年0ヵ月)
・飼育場所：	福岡大学アニマルセンター (Tg 動物室 マウス5室315)、マウス室
・飼育方法 (逃亡防止設備、排泄物、飲料水等の消毒または焼却)：	飼育室の出入り口には規定に従ったネズミ返しを取り付け、吸排気口、排水口からの逃亡防止策を施している。排泄物および使用済みの床敷などは焼却する。
・動物個体の管理方法：	動物の耳にパンチなどを入れ、固体管理を確実にし、記録を残す。1ゲージに1～5匹入れ毎日飼料、飲水の補充、取り替えを行い、床敷交換を週1～2回行う。
・実験終了後の処理：	実験終了後の動物は規定の方法に従って安楽死させ、死体は焼却処分する。
・その他必要事項：	動物飼育室の入り口に遺伝子改変動物飼育の掲示などをして、部外者の立ち入りを禁止する。
遺伝子組換え実験安全委員会 承認 第167号	平成26年7月10日 実験安全主任者 岩本隆宏 

★系統 (strain) まで記入すること。系統が明らかな動物については、その出所を付記することが望ましい。

★遺伝子組換え体を動物に投与する場合には別途計画書が必要です。