

广东省动物实验证明

设施使用单位：暨南大学附属第一医院（广州华侨医院）

No.00296634

实验名称	ACEI及绿茶多酚改善DEHP致小鼠肾及性腺损伤研究2					
用途	制作动物模型					
实验负责人	孙升云		起止日期	2022-02-22~2022-04-19		
设施类别	动物品种品系	等级	来源证号	数量		
				雄性	雌性	合计
屏障环境	小鼠,B6	SPF级	NO.44824700007857 (质量合格证明)	60	0	60
检测日期	2021-04-30	检测单位	广东省实验动物监测所	检测结果	合格	
设施单位盖章	暨南大学 实验动物管理中心		许可证号	SYXK (粤) 2017-0174		

质量负责人：牛海涛

经手人：关洁宾

日期：2022-02-22

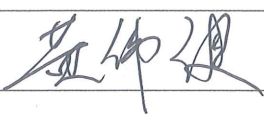
实验动物福利伦理审查表

Affidavit of Approval of Animal Ethical and Welfare

伦理申请编号	2021621-01	批准编号 Approval No.	IACUC-20210630-15
--------	------------	----------------------	-------------------

本动物实验方案经过暨南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。方案的相关信息如下：

The Animal Experiment Protocol listed below has been reviewed and approved by Laboratory Animal Ethics Committee of Jinan University.

实验名称 Protocol Title	ACEI 及绿茶多酚改善DEHP致小鼠肾及性腺损伤研究2		
	ACEI and green tea polyphenols ameliorate DEHP induced renal and gonadal damage in mice		
申请人姓名	孙升云	邮箱	gzssy@163.com
实验负责人	孙升云	邮箱	gzssy@163.com
院系（部门）	第一临床医学院		申请日期 2021-06-21
拟实验时间	2021-07-01 - 2021-08-08	实验动物使用许可证	SYXK（粤）2017-0174
审核意见	☒ 符合动物福利伦理要求，可以进行实验。 Agree ☐ 调整方案后，可以进行实验。 Agree after modify		
兽医师			日期 

暨南大学实验动物伦理委员会
Laboratory Animal Welfare and Ethics Committee of
Jinan University

主任委员（Chairman）：牛海清

日期(Date)：2021-06-30

实验动物福利伦理审查表

编号: 2021621-01	IACUC-20210630-15
申请日期 Date	2021-06-21

一、申请者基本情况

实验名称 Project Name	ACEI 及绿茶多酚改善DEHP致小鼠肾及性腺损伤研究2			
	ACEI and green tea polyphenols ameliorate DEHP induced renal and gonadal damage in mice			
项目来源及编号	广东省科技项目, 编号 32415056	拟实验时间	2021-07-01 - 2021-08-08	
申请人姓名	孙升云	电话	18928903899	
院系 (部门)	第一临床医学院	邮箱	gzssy@163.com	
实验负责人	孙升云	电话	18928903899	
院系 (部门)	第一临床医学院	邮箱	gzssy@163.com	

二、实验人员

实验执行人	所属单位	工号/学号	动物实验资格证编号	电话	邮箱
石珩	第一临床医学院	202025351012	A00601	17752666290	597409@stu2020.jnu.edu.cn
周先令	第一临床医学院	1925351008	A00600	13875550139	258673044@qq.com
张志刚	中医学院	1935641004	A00602	13242415837	m13242415837@163.com

三、本研究的相关资料

3.1 本研究的目及科学贡献 (以非专业语言简述) (≤1000字)

探索ACEI 及绿茶多酚改善DEHP致小鼠肾及性腺损伤研究的机制, 为防治DEHP致人体损伤提供临床依据。

3.2 主要参考文献 (≤5篇) (≤1000字)

1. Mbah AU, Ndukwo GO, Ghasi SI, Shu EN, Ozoemena FN, Mbah JO, et al. Low-dose lisinopril in normotensive men with idiopathic oligospermia and infertility: a 5-year randomized, controlled, crossover pilot study. Clin Pharmacol Ther 2012; 91 (4): 582-589. doi: 10.1038/clpt.2011.265.
2. Kushwaha S, Jena GB. Effects of nicotine on the testicular toxicity of streptozotocin-induced diabetic rat: intervention of enalapril. Hum Exp Toxicol 2014; 33 (6): 609-622. doi: 10.1177/0960327113491509.
3. Kushwaha S, Jena GB. Enalapril reduces germ cell toxicity in streptozotocin-induced diabetic rat: investigation on possible mechanisms. Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol 2012; 385 (2): 111-124. doi: 10.1007/s00210-011-0707-x.
4. Bechara GR, de Souza DB, Simoes M, Felix-Patricio B, Medeiros JL, Jr., Costa WS, et al. Testicular Morphology and Spermatozoid Parameters in Spontaneously Hypertensive Rats Treated with Enalapril. J Urol 2015; 194 (5): 1498-1503. doi: 10.1016/j.juro.2015.06.073.

3.3 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)

项目名称: ACEI及绿茶多酚改善DEHP致小鼠肾及性腺损伤研究1 受理号: 20210608-06 为同一课题的分步研究。

四、动物信息

使用动物来源	☐ 暨南大学实验动物管理中心 ☒ 省内实验动物生产单位 广东药康生物科技有限公司 ☐ 省外实验动物生产单位 ☐ 国外引进 ☐ 自构建	质量合格证	☒ 有 ☐ 无
品种、品系	小鼠 C57BL/6J 数量: ♀; ♂ 60; 笼数15 规格: 8周龄 等级: SPF级		

饲养设施地点	☒ 实验动物管理中心（医学院大楼） ☐ 实验动物管理中心（第二理工楼八楼） ☐ 实验动物管理中心（南校区） ☐ 其它	设施类型	☒ 屏障设施（小鼠、大鼠、地鼠等） ☐ 普通设施（猪、狗、兔、豚鼠等） ☐ 隔离设施
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：		
动物实验计划与分组（≤1000字）	不分批进动物。将60只小鼠分为空白对照组、DEHP组、DEHP+ACEi组、DEHP+绿茶多酚组、DEHP+绿茶多酚+ACEi组，每组12只。分别用生理盐水，DEHP+ACEi、DEHP+绿茶多酚、DEHP+绿茶多酚+ACEi灌胃28天。		

五、实验信息

5.1 动物实验主要观察指标（≤1000字）

用HE染色观察肾组织和睾丸组织病理改变，免疫组化检测肾组织和睾丸组织。

5.2 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
邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯	1500mg/kg	1次/天	灌胃	经口
ACEi	30mg/kg	1次/天	灌胃	经口
绿茶多酚	30mg/kg	1次/天	灌胃	经口

5.3 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
肾	手术	2	1	2
睾丸	手术	2	1	2

5.4 实验操作描述 (≤1000字)

灌胃：灌胃前禁食3-4小时，左手固定小鼠，使其头、颈和身体成一直线，右手持灌胃器（灌胃针连接1ml注射器），沿小鼠嘴角进入，压住舌头，抵住上颌，轻轻向前推进，进入食管有刺空感，如遇阻力，左右晃动再进针，进针至灌胃针2/3处，缓慢推注药物，灌胃容积为0.1-0.2ml/10g。取材：经腹腔注射2%戊巴比妥钠40mg/kg麻醉，仰卧固定，备皮，消毒，铺巾，切取双肾和睾丸，进行HE染色、Western blot检测。处死：取材后进行24h二氧化碳（100%）吸入安乐死处理，处死后的尸体进行消毒处理再冷冻保存，统一送相关部门进行无害化处理。

实验技术人员熟练程度	☐ 非常熟练 ☒ 熟练 ☐ 不熟练 ☐ 不会
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

5.5 麻醉与镇痛

药物名称	给药剂量和频率	给药途径	维持时间
2%戊巴比妥钠	40mg/kg	腹腔注射	约2小时

5.6 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（其中任一支或以上）、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

5.7 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	猪
☒ 二氧化碳	√	√	√	X	X	X
☐ 戊巴比妥钠静 脉注射（100 mg/ kg）	√	√	√	√	√	√
☐ 戊巴比妥钠腹 腔注射（100 mg/ kg）	√	√	√	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
☐ 麻醉后颈椎脱 位	√	√	X	X	X	X

☐ 动物清醒中直接断头	△	△	△	X	X	X
☐ 动物清醒中直接颈椎脱臼	△	X	X	X	X	X
☐ 乙醚	△	X	X	X	X	X
表格说明：√ 建议使用之方法；X 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。						

5.8 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：

5.9 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：

5.10 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：
--

5.11 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：

5.12 特殊物质的使用

- ☐ 1、放射性同位素
- ☐ 2、生物物品
- ☒ 3、化学品、药品 邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯
- ☐ 4、重组 DNA
- ☒ 5、其它 绿茶多酚
- ☐ 6、无

5.13 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》、广东省人民政府发布的《广东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，并且深知并认识这些动物及组织所存在的风险。

我将自觉遵守实验动物福利伦理原则，同意接受暨南大学实验动物伦理委员会的监督与检查。

承诺人签字

2021年5月19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
------	--

审查决议：同意

审查人签字：

刘海霞

张华

2021 年 6 月 30 日

备注：

填表说明：

请下载承诺书，项目负责人签字后，扫描上传附件。<https://lac.jnu.edu.cn/32959/list.htm>