

动物实验伦理审查表

The Tab of Animal Experimental Ethical Inspection

编号(N₀): IACUC-20211101

申请人填写的相关信息 (Concerned information wrote by applicant)	申请单位(Name of organization): 空军军医大学人体解剖与组织胚胎学教研室				
	申请人学历 (Education of applicant) 博士研究生		技术职称 (Professional title)	岗位证书编号 (Number of permit)	
	实验名称(Study title): 氮能神经元在溃疡性结肠炎大鼠结肠运动中的作用				
	经费来源(Funding source): 国家自然科学基金(31971112)				
	动物情况	动物来源(Source of animal): 空军军医大学动物实验中心			
		品种品系(Species or strain): SD大鼠		等级(Grade): SPF级	
		数量(Number): 32只(♀00只; ♂32只)		申请日期(Application date): 2021年11月15日	
		进驻日期(Entering date): 2021年11月18日		结束日期(Ending date): 2021年12月2日	
实验要点, 包括实验方法、观测指标、实验结束后处死动物的方法等(Outline of experiments, experimental methods, observational index, executing animal method et. al): 实验方法: 实验大鼠随机分为对照组(GC)、UC组(EG1)、UC+NOS激动剂凝血酶衍生多肽508三氟乙酸(TP508TFA)组(EG2)、UC+NOS抑制剂NG-单甲基-L-精氨酸单乙酸酯(L-NMMA)组(EG3), 每组8只。实验组分别用5.5%葡聚糖硫酸钠(DSS)自由饮诱导UC(EG1), 在此基础上分别加用TP508 TFA灌胃(EG2)和L-NMMA灌胃(EG3)。(观测指标、实验结束后处死动物的方法见附件页)					
申请人(Signature of applicant): 李艳荣		联系电话(Telephone): 13941653894			
审查依据 (Inspection contents)	该项目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(Does laboratory animal must be used in the project? Could other methods such as computer simulation, cell cultivation or using the low-grade animal instead of the high-grade animal)? 该项目必须用实验动物进行实验, 不能否用计算机模拟、细胞培养等非生命方法替代动物。 表中所填申请人资格和所用动物的品种品系、质量等级、规格是否合适, 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(Are the qualification of applicant, species or strain, grade and specifications of animals suitable? Could the quantity of animals be reduced by improving the study design or using high quality animals)? 申请人资格和所用动物的品种品系、质量等级、规格合适, 已通过改良设计方案减少所用动物的数量。 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(Could the Study design and animal treatment be refined by ameliorating experimental method, adjusting observational index, executing animal method)? 经改进实验方法, 已选用动物痛苦体验感最少的方式造模和处死动物, 以减少动物痛苦体验感、善待动物。				
	审查结果 (是否同意实验方案) (Results of inspection)	课题负责人意见(Study director)	☒ 同意(Agree)	☐ 不同意(Disagree)	签名(Signature) 李艳荣
		动物实验部意见(Director of Dept. of Lab Animal Science)	☒ 同意(Agree)	☐ 不同意(Disagree)	签名(Signature) 李艳荣
		实验动物福利与伦理委员会 (Laboratory Animal Welfare and Ethics Committee)	☒ 同意(Agree)	☐ 不同意(Disagree)	签章(Stamp) 空军军医大学实验动物福利与伦理委员会
	备注(Supplement):				

动物实验福利与伦理审查表（附表）

编号(Nº): IACUC-20211101

项目名称：氮能神经元在溃疡性结肠炎大鼠结肠运动中的作用

项目类别：国家自然科学基金（31971112）

动物实验过程及结果概述：（包括动物实验方法、观测指标、安乐死方式等。）

动物实验设施条件是否与拟开展动物实验的规范性要求相匹配的描述：

动物实验全部在人体解剖与组织胚胎学教研室动物手术室进行，该手术室配备无影灯和小动物呼吸机，为无菌环境，符合开展动物实验的规范性要求。每次试验前均穿实验服戴一次性无菌手套，实验操作达到规范性实验的要求。

动物实验项目的目的、必要性、意义和如何设计以达成研究目标的：

实验目的：为探究氮能神经元在溃疡性结肠炎（UC）大鼠结肠运动中的作用，通过检测一氧化氮合酶（NOS）在UC模型大鼠中的表达和功能，揭示结肠运动中氮能神经元的参与和变化。实验过程中需要造一批溃疡性结肠炎的模型大鼠来进行后续实验，包括大鼠疾病活动指数（DAI）和组织学评分，免疫荧光组织化学染色、苏木精—伊红染色、行为学检测、结肠运动机能学检测、Western blotting和ELISA检测等。该模型是进行后续实验的基础，因此至关重要且无可替代。通过实验探讨NOS变化对结肠运动的影响，进而探讨肠神经系统（ENS）在UC结肠运动中发挥的作用，具有一定的科研意义。

实验设计：实验大鼠随机分为对照组（GC）、UC组（EG1）、UC+NOS激动剂凝血酶衍生多肽508三氟乙酸（TP508TFA）组（EG2）、UC+NOS抑制剂NG-单甲基-L-精氨酸单乙酸酯（L-NMMA）组（EG3），每组8只。实验组分别用5.5% 葡聚糖硫酸钠（DSS）自由饮诱导UC（EG1），在此基础上分别加用TP508 TFA灌胃（EG2）和L-NMMA灌胃（EG3）。造模结束后记录各组大鼠DAI和组织学评分，用1%戊巴比妥钠（5 mL/kg）麻醉处死后采用免疫荧光组织化学染色、Western blotting和ELISA技术计数结肠氮能神经元比例的变化，检测结肠肌间神经丛NOS的表达和变化。采用器官浴系统，对离体结肠环行肌和纵行肌的收缩张力变化进行研究。

选择实验动物种类和数量的原因：

SD大鼠肠道分为十二指肠、空肠、回肠、盲肠、结肠、直肠，其中盲肠较长，约6-8 cm，适合用于消化系统研究。选择SD大鼠为实验动物也可为今后对溃疡性结肠炎疾病的研究提供可靠的动物模型，具有普适性。实验所选择的大鼠数量是在综合考虑3R原则、实验组与对照组的最少数量、满足统计学的最低只数要求下将实验动物分为4级即GC、EG1-3组，每组8只，共32只大鼠。

详细列出对动物可能造成的所有可预期的伤害，包括动物运输、每个实验方案动物饲养方式、实验操作步骤中等可能产生伤害或不适的细节以及拟采取的防控措施：

动物运输均通过专用动物无菌运输盒从动物实验中心运到人体解剖与组织胚胎学教研室SPF级大鼠饲养笼，饲养笼中每笼放置两只大鼠，保证不影响大鼠的活动和身心健康。饲养环境温度24℃，相对湿度40%-60%，12小时明暗交替，给予含有23%蛋白质和水的标准实验室饮食。在造模期间将动物饮水换为5.5% 葡聚糖硫酸钠自由饮，饮水后可能导致实验大鼠出现体重下降、腹泻、便血，从而达到溃疡性结肠炎的造模目的。此为实验目的，不可避免，实验其余各环节均以动物舒适感为优先考虑。实验过程中尽可能减少对实验动物产生伤害和不适，符合3R原则。

主要观察指标: 造模过程中在此过程中, 每日观察各组大鼠的一般情况、体重、大便性状和隐血、便血情况, 评估疾病活动情况。疾病活动指数评分标准如下: 体重: 没有下降, 记0分; 下降1%-5%, 记1分; 下降6%-10%, 记2分; 下降11%-15%, 记3分; 下降大于15%, 记4分。大便性状: 正常(成形), 记0分; 松散(不黏附于肛门的糊状、半成形大便), 记2分; 稀便(可黏附于肛门的稀水样便), 记4分。粪便隐血或肉眼血便情况: 正常, 记0分; 潜血阳性, 记2分; 肉眼血便, 记4分。疾病活动指数计分 = (体重降低评分 + 大便性状评分 + 粪便出血评分) / 3。
仁慈终点或实验终结的指标: 实验动物造模过程中发生感染, 在抗生素治疗无效并伴随动物全身性不适时。
动物处死方法: 利用颈椎脱臼处死法处死。
动物替代、减少动物用量、降低动物痛苦伤害的主要措施: 在动物代替方面将为诱发溃疡性结肠炎的大鼠分为造模阴性组, 可减少实验动物的用量。在降低动物痛苦伤害方面给予动物最舒适的生存空间, 每笼仅放置2只大鼠, 实验过程中保证实验动物除了造模前7日给予5.5% 葡聚糖硫酸钠自由饮外, 其余时间均给予含有23%蛋白质和水的标准实验室饮食。
是否使用有毒(害)物质(感染、放射、化学毒、其他): 实验过程中无有毒有害物质的使用。
利害分析的小结, 说明为何预期的利益多余害处: 本实验旨在为临床上溃疡性结肠炎的发生、发展与治疗提供基础支持, 已在综合考虑3R原则下尽可能减少实验动物的使用, 减轻对动物的损害。实验完毕后, 将为临床上溃疡性结肠炎的治疗提供新的靶点和思路, 具有一定的科研意义。
信息公开和保密要求, 说明哪些信息需要保密, 哪些信息可以公开: 在实验完成后, 全部造模方法和指标参数将以论文的形式发表, 以供科研工作者共同探讨更为优化的实验方案。

动物伦理审查表附件页
实验要点, 包括实验方法、观测指标、实验结束后处死动物的方法等(Outline of experiments, experimental methods, observational index, executing animal method et. al): 观测指标: 记录各组大鼠疾病活动指数(DAI)和组织学评分, 处死后采用免疫荧光组织化学染色、Western blotting和ELISA技术计数结肠氮能神经元比例的变化, 检测结肠肌间神经丛一氧化氮合酶(NOS)的表达和变化。采用器官浴系统, 对离体结肠环行肌和纵行肌的收缩张力变化进行研究。 处死方法: 造模结束后, 用利用颈椎脱臼处死法处死, 采用器官浴系统, 对离体结肠环行肌和纵行肌的收缩张力变化进行测量, 其余结肠组织和血液用于形态学和分子生物学研究。