

愛媛大学動物実験計画書

愛媛大学長 殿

新規 継続 (変更 あり なし)
(承認番号 00-XX-11-22)

提出年月日平成 年 月 日 受付年月日平成 年 月 日 受付番号

研究課題	マクロファージの△△△が関節炎病態に及ぼす影響
------	-------------------------

研究目的	マクロファージの△△△の分子機能を明らかにし、関節炎の新規治療法開発の手がかりを探索する			
動物実験責任者名 (選択項目 <input checked="" type="checkbox"/>)	フリガナ シゲノブ タロウ	部 局 名	職	教育訓練受講年月日
	氏名 重信 太郎 印 tshigenobu@m.ehime-u.ac.jp	〇〇学部△△講座 連絡先TEL:089-960-xxxx	准教授	19XX年〇月△日
動物実験実施者名 (括弧内にフリガナ、 選択項目を <input checked="" type="checkbox"/>)	名 重信 太郎 (シゲノブ タロウ) tshigenobu@m.ehime-u.ac.jp	〇〇学部△△講座 連絡先TEL:089-960-xxxx	准教授	19XX年〇月△日
	松山 二郎 (マツヤマ ジロウ) jmatsuyama@m.ehime-u.ac.jp	〇〇学部△△講座 連絡先TEL:	助教	20XX年〇月△日
	東温 花子 (トウオン ハナコ) htouon@stu.ehime-u.ac.jp	〇〇学部△△講座 連絡先TEL:	大学院生	20XX年〇月△日
	() @	連絡先TEL:		
	() @	連絡先TEL:		

申請前に教育訓練の受講必須教員、准教授、助教等

教育訓練の受講必須教員、大学院生等

年度末とする

入手時の品質

実験実施期間	承認後 ~ 平成 〇〇 年 3 月				中止・終了等 成 年 月 日		
飼養保管施設 及び実験室	飼養保管施設	動物実験センターxxx室, 医学部本館?階△△講座飼育室			実験室	動物実験センターyyy室, 医学部本館?階△△講座実験室	
動物種等	動物種	系 統	性別	匹数	微生物学的品質	入手先(導入機関名)	備考
	マウス	C57BL/6	♀	18	SPF	日本クレア	凍結胚, 精子での入手の場合はその旨を記入
	マウス	KRN TCR	♂	入手済	SPF	〇〇大学	
	マウス	NOD/ShiJcl	♀	3	SPF	日本クレア	
	マウス	LysM-Cre Tg	♂	3	SPF	〇〇大学	
	△△△ flox				Jackson Lab	凍結胚	

複数の動物種の申請可

入手済の場合はその旨を記入
系統が同じでも♂と♀は別の行に

年度内の計画

研究計画	研究概要 (研究計画と方法について、そのほか以下①～③に示すin vitroとin vivoの実験を行う。①関節炎モデルマウスを作製し、xxxxxxやyyyyyyを用いて、関節炎組織と正常関節組織におけるマクロファージの△△△の発現状態を検討する。②マクロファージの培養細胞を用いて、関節炎における△△△の機能について検討する。③マクロファージ特異的△△△ノックアウトマウスを作製し、△△△が関節炎病態に影響を及ぼすか検討する。①～③の結果を総括し、△△△が関節炎治療のシーズとなるか評価する。
と方法	<p>予定する使用動物数 (種・系統別)</p> <p>C57BL/6 WTマウス 18匹</p> <p>KRN TCR マウス 6匹</p> <p>NOD/ShiJcl マウス 3匹</p> <p>K/BxN マウス 20匹 (KRNマウスとNOD/ShiJcl マウスを交配し繁殖させる)</p> <p>LysM-Cre Tgマウス 3匹</p> <p>△△△ floxマウス 3匹</p> <p>LysM-Cre・△△△ floxマウス 18匹 (LysM-Cre Tgマウスと△△△ floxマウスを交配し繁殖させる)</p>

年度内に使用する予定の動物数を記入、繁殖する場合はその旨を明記、動物入手時の「匹数」、「予定する使用動物数」及び「動物実験の方法」の匹数の整合性に注意

動物実験の方法（動物に加える処置、使用動物数の根拠を記入し、「想定される苦痛のカテゴリー」を「倫理的基準に基づいたヒト以外の動物種を用いた医学生物学実験の分類」及び「動物実験処理の苦痛の分類に関する解説」を参照もたせる。）

例) 腫瘍径が 20 mm 以上など

ペントバルビタールの単独投与による麻酔は不適切

安楽死を目的としたペントバルビタールの単独の過剰投与は可

申請する全ての動物種及び系統について動物実験法を記載のこと

1) Dマウスを交配すると高頻度に関節炎を自然発症する個体(= WTマウスの血清を採取し、WTマウスに投与すると関節炎を誘導する)のうちの発症群と非発症群（各群10匹）を三種混合麻酔（0.3 mg/kg メドレタム、4 mg/kg ベンゾブロン、5 mg/kg プロメチアゾール）で深麻酔した後、心臓から全採血して血清を得るとともに安楽死させる。

2) 1)で採取した関節炎誘導血清と非発症群血清をC57BL/6（各9匹）に腹腔内投与する（0.2 mL/匹を必要）。また、関節炎誘導マウスのうち、持続的な横たわりやうずくまりなどの顕著な歩行障害が認められた場合は人道的エンドポイントとしてペントバルビタールの過剰投与にて安楽死させる。

3) 2) で得られた関節炎誘導マウスと対照マウスを炭酸ガスで安楽死したのちに関節組織を採材し、xxxxxxx, yyyyyy, zzzzzzにより（各n=3）、関節炎と対照組織におけるマクロファージと△△△の発現状態を比較検討する。

4) マクロファージの培養細胞を用いて△△△の働きをxxxxxxx, yyyyyyにより検討

5) LysM-Creマウスと△△△floxマウスを交配し、マクロファージ特異的△△△KOマウスを作成する。

6) 5)で作出したコンディショナルKOマウスに 2)と同様に関節炎誘導血清と非発症群血清と腹腔内投与（各9匹）。関節炎病態に影響が認められるかxxxxxxx, yyyyyy, zzzzzzで評価する（各n=3）。

特殊実験区分 (該当項目をすべて■)	<input type="checkbox"/> 1. 感染実験 安全度分類: <input type="checkbox"/> BSL1 <input type="checkbox"/> BSL2 <input type="checkbox"/> BSL3 <input checked="" type="checkbox"/> 2. 遺伝子組換え動物使用実験 区分: ■ P1A <input type="checkbox"/> P2A <input type="checkbox"/> P3A <input type="checkbox"/> 3. 放射性同位元素・放射線使用実験 <input type="checkbox"/> 4. 化学発癌・有害化学物質実験	該当する区分を記入
動物実験の種類 (選択項目を■)	<input checked="" type="checkbox"/> 1. 試験・研究 <input type="checkbox"/> 2. 教育・訓練 <input type="checkbox"/> 3. その他	<input checked="" type="checkbox"/> 動物実験を必要とする理由 <input type="checkbox"/> (選択項目を■) <input checked="" type="checkbox"/> 1. 検討したが、動物実験に替わる手段がなかった。 <input type="checkbox"/> 2. 検討した代替手段の精度が不十分だった。 <input type="checkbox"/> 3. その他 ()
想定される苦痛のカテゴリー (選択項目を■)	<input type="checkbox"/> B. 脊椎動物を用い、動物に対してほとんどあるいはまったく不快感を与えないと思われる実験。 <input checked="" type="checkbox"/> C. 脊椎動物を用い、動物に対して軽度のストレスまたは痛み(短時間持続するもの)を伴うと思われる実験。 <input type="checkbox"/> D. 脊椎動物を用い、回避できない重度のストレスまたは痛み(長時間持続するもの)を伴うと思われる実験。	「倫理的基準に基づいたヒト以外の動物種を用いた医学生物学実験の分類」及び「動物実験処理の苦痛の分類に関する解説」を参照
動物の苦痛軽減、排除の方法 (該当項目をすべて■)	<input type="checkbox"/> 1. 短時間の保定・拘束および注射など、軽微な苦痛の範囲であり、特に処置を講ずる必要はない。 <input checked="" type="checkbox"/> 2. 麻酔薬・鎮痛薬等を使用する。 (具体的薬剤名及びその投与量・経路を記入: 三種混合麻酔; 0.1 mL/10 g; 腹腔内投与) <input checked="" type="checkbox"/> 3. 動物が耐えがたい痛みを伴う場合、適切な時期に安楽死措置(ペントバルビタール)などの人道的エンドポイントを考慮する。 <input type="checkbox"/> 4. その他 (具体的に記入:)	投与量, 投与方法を必ず記載「動物実験の方法」と整合性を持たせる
安楽死の方法 (該当項目をすべて■)	<input checked="" type="checkbox"/> 1. 麻酔薬等の使用 (具体的薬剤名及びその投与量・経路を記入: ペントバルビタール; 120 mg/kg; 腹腔内投与) <input checked="" type="checkbox"/> 2. 炭酸ガス <input type="checkbox"/> 3. 中枢破壊 (具体的に記入:) <input type="checkbox"/> 4. 安楽死させない (その理由を記入:)	安楽死を目的としたペントバルビタールの単独投与は可 3種混合麻酔の過剰投与による安楽死は避ける (安全域が広い)
動物死体の処理方法 (選択項目を■)	<input checked="" type="checkbox"/> 1. 外部業者に依託 <input type="checkbox"/> 2. その他 (具体的に記入:) <input type="checkbox"/>	動物実験センター以外で飼養・実験する場合は、その部屋が逃走防止措置を施されていることの承認を受ける
その他必要または参考事項	(過去の動物実験計画書承認実績, 学内の関連委員会への申請状況, 飼養保管施設・実験室の承認状況などを記入する。) 平成〇〇年 △△月 □□日 遺伝子組み換え実験承認済み 研究課題番号 00-XX-11-22 平成〇〇年 △△月 □□日 飼養保管承認済み 研究課題番号 33-YY44-55	

委員会記入欄	審査終了：平成 年 月 日
	修正意見等
	審査結果 <input type="checkbox"/> 本実験計画は、愛媛大学における動物実験規程等に適合する。 (条件等 <input type="checkbox"/> 遺伝子組換え実験安全委員会の承認後、実験を開始すること。) <input type="checkbox"/> 本実験計画は、愛媛大学における動物実験規程等に適合しない。
学長承認欄	承認：平成 年 月 日
	本実験計画を承認します。 承認番号：第 <div style="text-align: right;">愛媛大学長</div>