様式第１号

 　　　　　　　　 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 |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 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 | 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 | 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 |  ○○学部△△分野連絡先TEL:089-960-xxxx | 准教授 | 19XX年○月△日 |
|
|
| 動物実験実施者名（括弧内にフリガナ） | 氏　名 重信 太郎 (シゲノブ タロウ) tshigenobu@m.ehime-u.ac.jp |  ○○学部△△分野連絡先TEL:089-960-xxxx | 准教授 | 19XX年○月△日 |
|
|
|  松山 二郎 (マツヤマ ジロウ) jmatsuyama@m.ehime-u.ac.jp |  ○○学部△△分野連絡先TEL: | 助教 | 20XX年○月△日 |
|
|
|  東温 花子 (トウオン ハナコ) htouon@stu.ehime-u.ac.jp |  ○○学部△△分野連絡先TEL: | 大学院生 | 20XX年○月△日 |
|
|
|  ( ) @ |  連絡先TEL: |  |   |
|
|
|  ( ) @ |  連絡先TEL:入手時の品質年度末とする |  |   |
|
|

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  実験実施期間 |  　　承認後 ～ 平成　〇〇　年 3 月 | 中止・終了等 | 平成　　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，△△分野研究室 | 実験室 | 動物実験センター，△△分野研究室 |
| 動物種等複数の動物種の申請可 |  | 動物種 | 系　　統 | 性別 | 匹数 | 微生物学的品質 | 入手先(導入機関名)凍結胚，精子での入手の場合はその旨を記入 | 備考 |
| マウス | マウ | C57BL/6 | ♀ | 18 | 　SPF | 日本クレア |  |
| マウス |  | KRN TCR | ♂ | 入手済 | SPF | ○○大学 |  |
| マウス |  | NOD/ShiJcl 　BALB/cAJcl-*nu*/*nu* | ♀ | 3 | SPF | 日本クレア |  |
| マウス |  | LysM-Cre Tg | ♂ | 3 | 　SPF | ○○大学 |  |
| マウス |  | △△△ flox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 | ♀ | 3 | 　SPF | Jackson Lab | 凍結胚 |

年度内の

計画

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  |  研究計画と方法 | 研究概要 （研究計画と方法について，その概要を記入する。）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。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 |  |
| 予定する使用動物数（種・系統別） C57BL/6 WTマウス　18匹 KRN TCR マウス　6匹 NOD/ShiJcl マウス　3匹 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) LysM-Cre Tgマウス　3匹 △△△ floxマウス　3匹 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)  |
| 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」や「動物の苦痛軽減・排除方法」等と整合性をもたせる。）ペントバルビタールの単独投与による麻酔は不適切1. KRNマウスとNOD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(＝K/BxNマウス)が生じる。関節炎発症K/BxN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ことができる。K/BxNマウスのうち関節炎発症群と非発症群（各群10匹）を三種混合麻酔（0.3 mg/kg メデトミジン, 4 mg/kg ミダゾラム, 5 mg/kg ブトルファノール）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。

人道的エンドポイントは具体的に示す例) 腫瘍径が20 mm以上など1. 1)で採取した関節炎群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。
2. 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，zzzzzzz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。

安楽死を目的としたペントバルビタール単独の過剰投与は可1. マクロファージの培養細胞を用いて△△△の働きをxxxxxxx，yyyyyyyにより検討する。
2. 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マウスを作出する。
3. 5)で作出したコンディショナルKOマウスに 2)と同様に関節炎群血清と非発症群血清を腹腔内投与する（各9匹）。関節炎病態に影響が認められるかxxxxxxx，yyyyyy，zzzzzzzで評価する（各n=3）。

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 |
|  |  特殊実験区分(該当項目をすべて■)  | □■□□ |  1. 感染実験　　安全度分類:　□ BSL1 □ BSL2 □ BSL3 2. 遺伝子組換え動物使用実験　　区分: ■ P1A □ P2A □ P3A 3. 放射性同位元素・放射線使用実験該当する区分を記入 4. 化学発癌・有害化学物質実験 |  |
| 動物実験の種類 (選択項目を■) | ■□□ | 1. 試験・研究2. 教育・訓練3. その他 | 動物実験を必要とする理由(選択項目を■) | ■□ | 1.検討したが，動物実験に替わる手段がなかった。2. 検討した代替手段の精度が不十分だった。3. その他（　　　　　　　　　　） |
|  想定される 苦痛のカテゴリー (選択項目を■)「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 | □■□□ | 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。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。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。E. 無麻酔下の脊椎動物に，耐えうる限界に近い　またはそれ以上の痛みを与えると思われる実験。 |
| 動物の苦痛軽減， 　排除の方法(該当項目をすべて■) | □■■□ | 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。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)3. 動物が耐えがたい苦痛を伴う場合，適切な時期に安楽死措置をとるなどの人道的エンドポイントを考慮する。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4. その他 （具体的に記入: ) |
|  安楽死の方法(該当項目をすべて■) | ■■□□ | 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)2. 炭酸ガス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（安全域が広いため）3. 中枢破壊 (具体的に記入: 　 )4. 安楽死させない (その理由を記入: ) |
|  動物死体の処理方法 (選択項目を■) | ■□□ | 1. 外部業者に依託2. その他 （具体的に記入: ) |
|  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○○年　△△月　□□日承認済み　　研究課題番号　00-XX-11-22 |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  |  委員会記入欄 | 審査終了: 平成 年 月　 日 |  |
| 修正意見等 |
| 審査結果　□　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　□　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。）　　　 　　　　□　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　　　 愛媛大学長 |