

博士課程「医歯学倫理学」・修士課程「生命医療倫理学」  
第7回講義（11/28） 動物実験の倫理的側面（2）課題  
Reporting assignment

<課題>

添付の動物実験計画計画書（新規）の内容に関して問題点を全て指摘せよ。  
Point out all the problems in the attached application of animal experiment plan.

各自 A4 紙 1 ページ以内にまとめて大学院係に提出願います。  
Please submit it to the graduate school office within one page of A4 paper.

提出期限：平成 30 年 1 月末日

Submission deadline: January 31, 2018

(別紙様式1)

鹿児島大学動物実験計画書(新規)  
Animals Experiment Plan (New)

鹿児島大学長 殿

※受付年月日	2017 年 12 月 1 日	※受付番号	H29 医歯学 127
--------	-----------------	-------	-------------

※印欄以外を記入すること

動物実験の種類 Types of animal experiments	<input checked="" type="checkbox"/> 試験・研究 Research <input type="checkbox"/> 教育・訓練 Education・Training <input type="checkbox"/> その他 others (      )		
研究課題名 Research title	Trem2 の神経障害性疼痛における役割の解析 Role for Trem2 in neuropathic pain		
実験目的 Aims	食食受容体 Trem2 は障害された神経細胞の処理を媒介することで中枢神経系の恒常性を制御し、その遺伝子異常は様々な神経変性疾患のリスク因子となる。本実験では、神経障害性疼痛の発症と病態形成における Trem2 の役割を明らかにする。 The phagocytic receptor Trem2 is known to control homeostasis in the central nerves system through exclusion of damaged neurons and its debris. Mutations in Trem2 have been reported to be a risk factor for various neuro-degenerative diseases. In this experiment, we will try to clarify the role for Trem2 in the development and pathogenesis of neuropathic pain.		
社会的意義 Social significance	生理的な痛みは、個体に危険を知らせる警告系として重要であり、慢性化した痛みは患者の QOL を著しく低下させ、治療の対象となる。また、来院する患者は何らかの痛みを訴える場合が多い。中でも神経障害性疼痛は治療に難渋し有効な治療薬・治療法開発かが急務であり、そのために発症機構の解明が重要となる。 Physiological pain is important as a warning system to inform individuals of danger, and chronic pain significantly lowers the patient's QOL and becomes the target of treatment. Also, patients visiting the hospital often complain of some sort of pain. Among them, neuropathic pain is difficult to treat and it is urgent to develop effective therapeutic drugs and therapeutic methods, and therefore, it is important to elucidate the pathogenic mechanism.		
動物実験を必要とする理由 Reasons for using animals (check where applicable <input checked="" type="checkbox"/> )	<input checked="" type="checkbox"/> 検討したが、動物実験に替わる手段が無かった。There was no means to replace an animal experiment <input type="checkbox"/> 検討したが、代替手段の精度が不十分だった。The precision of alternative means was insufficient <input type="checkbox"/> その他 Others :		
動物実験責任者 Person responsible for the	Affiliation	Department of immunology, Graduate school of Medical and Dental Sciences	
	Name	動物一郎	Ext. 5302

experiment	Title	Professor		Have taken the lecture of animal experiments?
	e-mail	ichiro@m2.kufm.kagoshima-u.ac.jp		<input type="checkbox"/> Yes <input checked="" type="checkbox"/> No
実験実施者代表者 Representative practitioner of the experiments	Affiliation	Department of immunology, Graduate school of Medical and Dental Sciences		
	Name	動物二郎	Ext. 5305	
	Title	Graduate student		Have taken the lecture of animal experiments?
	e-mail	jjiro@m2.kufm.kagoshima-u.ac.jp		<input checked="" type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No
代表者を除く実験実施者 全員の氏名 The other practitioners	Name	Affiliation	Phone (Ext.)	Have taken the lecture of animal experiments?
	薩摩花子	Dept. Immunology	5305	<input checked="" type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No ( . . )
	鹿児島太郎	Dept. Immunology	5305	<input checked="" type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No ( . . )
				<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無 ( . . )
				<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無 ( . . )

※受付番号：H26 医歯学 127

実験実施期間 Experiment period	開始日 Start	承認日以降 Approval date	終了日 End	2020年 11月 30日	
飼養保管施設 Animal facility	鹿児島大学研究推進機構研究支援センター動物実験施設 Institute of Laboratory Animal Science, Research Support Center Kagoshima University		実験室 Place of the experiment	鹿児島大学研究推進機構研究支援センター動物実験施設 Institute of Laboratory Animal Science, Research Support Center Kagoshima University	
使用動物 Animals used (check where applicable ■)	動物種 Species	系統 Strain	性別 Sex	匹数 Number of animals	年齢又は体重 Age or weight
	Mouse	C57BL/6	♂	30	8-20 wks
	■SPF □Clean □Conventional		入手先 Source : Purchase from Japan SLC		
	Species	Strain	Sex	Number of animals	Age or weight
	Mouse	Trem2-KO	♂	30	8-20 Wks
	■SPF □Clean □Conventional		入手先 Source : Self-bleeding		
<b>実験計画と方法 Experimental plans and Methods</b> (動物に加える処置、使用動物数の根拠を具体的に記入する。苦痛を伴う実験では、人道的エンドポイント「耐えられない苦痛が始まる前に実験を終了し、しかも実験目的を損なわない時期」を明記すること。Please specify the treatment to be applied to animals and the basis of the number of animals used. In painful experiments, clearly state the humanitarian end point "the time to end the experiment before the unbearable pain begins and not to impair the purpose of the experiment".)					
実験の種類 Type of experiment	□急性実験 Acute ■慢性実験 Chronic				
実験内容 Content of experiment	■遺伝・行動観察 Genetics・Behavior □薬物投与 Drug administration □血液／臓器採取 Harvest organs/blood □外科処置 Surgery □発癌試験 Carcinogenesis □その他 Others				

(1) 神経障害性疼痛の誘導

マウスを麻酔（ペントバルビツール腹腔内投与）し、左腰部を背側から切開する。第四腰椎側面に沿って切開し脊髄神経を露出する。L4 脊髄神経を切断する。筋肉・皮膚を縫合し、抗生物質を投与する。この手術は麻酔下で行うため、動物に対する苦痛は殆どないものと考えられる。

(1) Induction of neuropathic pain

Mice are anesthetized (intraperitoneally administered with sodium pentobarbital), and the left waist is incised from the dorsal side. An incision is made along the side of the fourth lumbar spine to expose the spinal nerve, and we cut the L4 spinal nerve. After sewing the muscle and skin, antibiotics are administered. Since this operation is performed under anesthesia, it is considered that there is hardly any pain to animals.

(2) 痛み関連行動の評価

上記の手術後、通常 2 週間にわたり痛み関連行動を観察する。本実験で用いる末梢神経障害性疼痛のモデルは、一般的にアロディニアを呈する。アロディニアを評価するため von Frey テストを用いる。痛み行動を評価する目的のため、鎮痛薬などを用いることはできない。これらのテストは使用動物全てに適用される。アロディニア発症後から術後 2 週間まで痛み関連行動を観察する期間では、カテゴリーD に該当すると考えられる。

(2) Evaluation of pain-related behaviors

After the surgery above, we observe pain-related behaviors usually for 2 weeks. The model of peripheral neuropathic pain used in this experiment generally shows allodynia. We use the von Frey test to evaluate allodynia. For the purpose of evaluating pain behavior, analgesics can not be used. These tests apply to all animals used. It seems that it corresponds to Pain Category D in the period of observing pain-related behaviors from afterset of allodynia until 2 weeks postoperatively.

(3) 経心臓灌流固定

(2)の手術適用後、一部のマウスに関しては、経時的に還流固定し、組織(脊髄・後根神経節・切断部位等)を採取する。還流固定はマウスに深く麻酔（ケタミン+メデトミジンの腹腔内投与）をかけ、開胸して心臓を露出し、固定液（4%パラホルムアルデヒド）を心臓から全身に灌流する。灌流固定後、腰部脊髄を摘出する。組織採取を行わなかった動物に関しては安楽死（エーテル吸入）を行って処分する。

(3) Transcardial perfusion fixation

At day 7 and 14 after the operation in (2), mice are deeply anesthetized (intraperitoneally administered with ketamine + medetomidine), and then sacrificed by transcardial perfusion with 20 ml of 4 % paraformaldehyde in 0.1 M sodium phosphate buffer (PB; pH 7.4). After perfusion fixation, the L4 segment of the spinal cord and DRG are removed and used for immunohistochemistry. For animals that have not been harvested tissue, euthanasia (ether inhalation) is performed to dispose of them.

使用材料の毒性 Toxicity of materials (ヒト及び環境への影響と対策を明記すること。Specify the impact on human and the environment and countermeasures.)

該当しない。Not applicable

実験区分 Category of	<input type="checkbox"/> 感染実験 Use of Infectious microorganism (安全度分類 BSL level: <input type="checkbox"/> BSL1 <input type="checkbox"/> BSL2 <input type="checkbox"/> BSL3)	<input type="checkbox"/> 特定外来生物使用実験 Use of Specified alien species
---------------------	---	--

<p>Experiment (該当項目をすべて■) (Check all if applicable ■)</p>	<p><input type="checkbox"/> 遺伝子組換え動物使用実験 Use of genetically modified animals (区分:Category: <input type="checkbox"/> P1A <input type="checkbox"/> P2A <input type="checkbox"/> P3A) 承認番号 Approval number : _____</p>	<p><input type="checkbox"/> 放射性同位元素・放射線使用実験 Use of radioisotopes 承認番号 Approval number : _____</p>
---	---	---

想定される苦痛の カテゴリー Pain category (選択項目を■)	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/> <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実験 Experiments using vertebrates with little or no discomfort to animals C. 脊椎動物を用い、動物に対して軽度のストレス又は <u>短時間持続する痛み</u> を伴う実験 Experiments using vertebrates with mild stress or short lasting pain with animals D. 脊椎動物を用い、回避できない重度のストレス又は <u>長時間持続する痛み</u> を伴う実験 Experiments using vertebrates with severe stress or long lasting pain that can not be avoided E. 無麻酔下の脊椎動物に、耐えうる限界に近い 又はそれ以上の痛みを与える実験 Experiments that give pain to nearly endurable limits to vertebrate animals without anesthesia
苦痛軽減・排除の 方法 Method of pain relief / exclusion (該当項目をすべて■) (Check all if applicable ■)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	1. 短時間の保定・拘束及び注射など、軽微な苦痛の範囲であり、特に処置を講ずる必要はない It is a range of minor distress such as brief holding, restraint and injection, and there is no need to take any particular measures. 2. 科学上の目的を損なわない苦痛軽減方法は存在せず、処置できない There is no pain relief method that does not impair the purpose of science. 3. 麻酔薬・鎮痛薬等を使用する Use anesthetics / analgesics. (具体的薬剤名及びその投与量,経路,麻酔時間等を記入 Enter specific drug name and its dosage, route, anesthesia time) ・ペントバルビタール Sodium pentobarbital (40 mg/kg) 腹腔内投与 intraperitoneal administration ・塩酸ケタミン (75 mg/kg) +塩酸メデトミジン (1.0 mg/kg) の腹腔内投与 4. 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をとるなどの人道的エンドポイントを考慮する。Consider a humanitarian endpoint such as euthanasia at an appropriate time if the animal is accompanied by intolerable pain. (詳細は「実験計画と方法」に記載すること For details, please describe in "Experimental plan and method") 5. その他 others:
安楽死の方法 Method of euthanasia (該当項目をすべて■) (Check all if applicable ■)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	1. 麻酔薬等の使用 (具体的薬剤名及びその投与量, 経路等を記入) Use of anesthesia (Enter specific drug name and its dose, route etc.) 2. 頸椎脱臼法 Cervical dislocation 3. その他 Others ●方法 method: 4. 安楽死させない Do not euthanize ●理由 reasons :
How to handle dead bodies (該	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	1. 焼却 Incineration 2. 固定保存 Fixed storage ●方法 Method :

当項目を すべて■) (Check all if applicable ■)	<input type="checkbox"/> 3. その他 others ●方法 method :
その他必要又は 参考事項 Other needs or Reference matters	(飼養保管施設・実験室の承認状況、麻薬を使用する実験では麻薬研究者番号を記載 Status of approval of animal facility・laboratory, narcotic researcher number in experiment using narcotics) ① 実験実施者は教育訓練済みである。The practitioner has already been educated and trained. ② 実験室である医歯学総合研究科棟2（基礎医学系）7階 細胞培養実験室は承認済みである。The laboratory has been approved.

※委員会記入欄 Reviews by the Animal Committee	修正意見等 Comments :  審査結果 History of review ○一次審査承認日： 年 月 日 ○二次審査承認日： 年 月 日 ○三次審査承認日： 年 月 日
※学長承認欄 Approval by the president	承認： 年 月 日  実験計画を承認します。  承認番号： 第 号 鹿 児 島 大 学 長 (公印省略)