

動物実験に関する自己点検表（2019年度）

動物実験責任者	医療栄養学科 教授 加藤 隆幸						
動物実験・飼育室の設置場所	[REDACTED]						
動物処置室の設置場所	[REDACTED]						
研究課題	医療栄養学科 3年後期必修科目 栄養生理学実験						
動物実験の目的	<p>栄養の状態を動物実験によって確認する。主にタンパク質の栄養状態が動物の成長にどのような影響を及ぼすのかを、体重増加曲線や血液成分の栄養素量によって観察する。主にアルブミン/グロブリン比、血清脂質濃度等を測定し、栄養状態の評価をする。動物飼育の最後には、動物の解剖を行い器官・組織の構造についてヒトと動物との相違点を理解する。また、解剖時に採血し、血清を分離し血液生化学検査についても理解を促す。</p>						
動物実験の実施期間	2019年11月11日 ～ 2020年1月30日						
使用動物	動物種	性別	系統	匹数	入手先	遺伝的保証	微生物学的保証
	ラット	オス	Wistar	24	東京実験動物（株）	-	SPF
安全管理上注意を要する動物実験	該当しない						
動物実験の方法	<p>11月11日より AIN-93G 精製飼料で予備飼育を行った。飼育開始授業日（11月14,15日）より、AIN-93G 飼料、たんぱく質給源を大豆たんぱく質に置換した飼料、不足アミノ酸添加飼料（合計4種類）にて飼育を開始した。各クラスは8匹の3週齢の雄ラットを4群に分け（1群あたり2匹）、それぞれの飼料を2週間にわたり投与し、体重・飼料摂取量を記録した。飲料水は蒸留水を自由摂取させた。明暗周期は8:00～20:00の12時間周期、飼育温度23℃、湿度55%、常時換気かつフィルターを通して内外ともに脱臭し、騒音の発生を最小限に留めた環境下で飼育を行った。飼育終了日（11月28,29日）に三種混合麻酔薬（メドミジン+ミダゾラム+ブトルファンール混合麻酔）の腹腔内投与で深麻酔とし、心採血により脱血死させた。血液は血清を用いた生化学検査（総たんぱく質・アルブミン・ALT・AST・トリグリセリド・総コレステロール・HDLコレステロール・リン脂質濃度）に供した。</p>						
3R	当該動物種と使用数を必要とする理由	<p>ラットは雑食性であり、ヒトと代謝が似ていることから、栄養学的な実験に適している。また、マウスより体が大きく、血液などの分析用サンプルを採取しやすい。加えて、ラットは性格がおとなしく、飼育がしやすいという利点もある。1クラスを8班に分け、2班で1群2匹のラットの飼育を行った。1クラスあたり8匹が必要となり、3クラスで24匹を用いた。統計学的な見地からは1群6匹が望ましい。4群で24匹が必要となる。学年を3クラスに分け、各クラスは8班で編成する。2班で1群2匹のラットの飼育を行った。</p>					
	動物の苦痛軽減、排除の方法	<p>常時換気、フィルターを通した内外ともに脱臭による臭気の除去、予想騒音は60～65 dB、室温23℃、湿度55%の環境に制御された飼育庫内で飼育は行った。飼育中は AIN-93G 精製飼料およびその改変飼料を与えた。成長阻害が起こるような改変飼料とはせず、タンパク質栄養の違いが確認できる程度の改変にとどめた。蒸留水は自由に摂取させた。</p>					
	動物実験終了時の安楽死の方法	<p>三種混合麻酔薬（メドミジン+ミダゾラム+ブトルファンール混合麻酔）の腹腔内投与で深麻酔とし、心採血により脱血死させた。</p>					
動物実験実施者及び飼養者	医療栄養学科 教授 加藤 隆幸、助教 宮路 茜						
東京医療保健大学動物実験委員会への申請・審査・承認・報告	<p>本実験は、東京医療保健大学動物実験委員会規程に従い、東京医療保健大学動物実験委員会に申請、審査、承認、報告のもとに行われた。 申請日：2019年9月18日 承認日：2019年10月10日 報告日：2020年2月3日</p>						

動物実験に関する自己点検票 (令和元年度)

動物実験責任者	東が丘看護学部 看護学科 准教授 小宇田 智子					
動物実験・飼育室の設置場所	東が丘看護学部 看護学科 演習・実験棟飼育室					
動物処置室の設置場所	東が丘看護学部 看護学科 演習・実験棟ラボ室					
研究課題	閉経後の高脂肪食に対する食物依存性の形成と大豆タンパク質による抑制					
動物実験の目的	閉経後は、摂食欲求の亢進に伴い摂食量や脂肪摂取量が増加し、肥満など生活習慣病の発症リスクが急増する。脂肪含有率の高い食事の摂取機会が多い現代社会において、閉経後の神経機能の変化がこのような食事に対する「食物依存性」を形成し、閉経後の生活習慣病の発症に大きく関与していると考えられる。本研究では、閉経による高脂肪食に対する依存形成のしやすさについて、神経機能の変化から明らかにすることを目的とする。さらに閉経による高脂肪食に対する依存形成を大豆タンパク質が減弱させるかどうかについて検討する。					
使用動物	動物種	性別	系統	匹数	入手先	遺伝的保証
	マウス	オス	C57BL/6J	20	東京実験動物(株)	-
安全管理上注意を要する動物実験	該当しない					
動物実験の方法	20匹の8週齢雌性C57BL/6Jマウス(うち、10匹は偽手術、10匹は卵巣摘出済み)を購入し、オリエンタル酵母社製の飼料にて1週間予備飼育を行う。偽手術マウスおよび卵巣摘出マウスをそれぞれ5匹ずつ、4群(Sham-C, Sham-H, OVX-C, OVX-H)にランダムに分け、Sham-CおよびOVX-Cの2群には予備飼育で与えたコントロール飼料を、Sham-HおよびOVX-Hの2群には60 kcal%の高脂肪食を約4ヵ月間与えた。個体識別はアニマルマーカにて行った。その間、摂餌量と体重を測定した。3種混合麻酔薬(メドミジン+ミダゾラム+ブトルファンール混合麻酔)を腹腔内投与して深麻酔し、心採血で脱血により安楽死させ、肝臓、腎周囲と皮下脂肪組織および脳を摘出した。肝臓と脂肪組織は重量測定、脳は側坐核におけるD2受容体およびドーパミン輸送体の発現局在の免疫組織化学的検出に供し、血清中トリグリセライド濃度測定を行った。明暗周期は07:00~19:00の12時間周期、飼育温度23°C、湿度55%の環境で飼育した。評価および遺伝子発現量の定量を行う。					
3R	当該動物種と使用数を必要とする理由	マウスはラットと比べて体が小さいため、比較的小さなスペースで飼育が可能であり、消費する飼料も少量ですむ。本研究では、依存形成を検討するため、当該分野でよく用いられているC57BL/6Jマウスを選択した。 マウスは、Sham-C、Sham-H、OVX-C、OVX-Hの4群にわけ、各群5匹ずつ、合計20匹使用した。				
	動物の苦痛軽減、排除の方法	臓器摘出の際には3種混合麻酔薬(メドミジン+ミダゾラム+ブトルファンール混合麻酔)を腹腔内投与による深麻酔により、苦痛を軽減した。				
	動物実験終了時の安楽死の方法	3種混合麻酔薬(メドミジン+ミダゾラム+ブトルファンール混合麻酔)を腹腔内投与して深麻酔し、心採血により脱血死させた。				
動物実験実施者及び飼養者	東が丘看護学部 看護学科 准教授 小宇田 智子					
東京医療保健大学動物実験委員会への申請・審査・承認・報告	本実験は、東京医療保健大学動物実験委員会規定に従い、東京医療保健大学動物実験委員会に申請、審査、承認、報告のもとに行われた。 申請日：令和元年6月24日 承認日：令和元年7月16日 報告日：令和2年7月5日					

動物実験に関する自己点検票（令和元年度）

動物実験責任者	東が丘看護学部 看護学科 准教授 小宇田 智子						
動物実験・飼育室の設置場所	東が丘看護学部 看護学科 演習・実験棟飼育室						
動物処置室の設置場所	東が丘看護学部 看護学科 演習・実験棟ラボ室						
研究課題	二次胆汁酸の大腸上皮および腸管漏出に対する影響と AU-1803 の効果						
動物実験の目的	<p>一次胆汁酸は脂質の摂取に伴い分泌され、大部分は小腸において吸収されるが一部は大腸に到達する。大腸に到達した一次胆汁酸は、腸内細菌により二次胆汁酸に変換される。二次胆汁酸の一種であるデオキシコール酸（DCA）は、活性酸素種を介して細胞障害を引き起こす。DCA による腸上皮の細胞障害は、腸の透過性を亢進し、腸内細菌や未消化物等が血中に漏出する腸管漏出をよばれる状態を引き起こす原因の一つであると考えられている。現在の日本では食の欧米化に伴い脂質摂取量が増加することにより、胆汁酸の生成量の増加、さらには二次胆汁酸の生成量の増加が見込まれる。</p> <p>株式会社アミノアップでのヒト結腸由来細胞（DLD-1）を用いた <i>in vitro</i> 試験において、AU-1803 を処理することで DCA により誘導される DLD-1 のカスパーゼ 3 活性が抑制することが見出された。そこで、二次胆汁酸による大腸上皮細胞障害および腸管漏出に対する AU-1803 の影響を、動物を用いた <i>in vivo</i> 試験で評価することを目的とする。ただし二次胆汁酸の投与は小腸での二次胆汁酸の吸収が生じ、肝毒性が強いことが知られているため、本試験では DCA の前駆体であり、毒性が低いコール酸（CA）を投与し、腸内細菌の作用により大腸で DCA を産生させ、その影響を評価する。</p>						
使用動物	動物種	性別	系統	匹数	入手先	遺伝的保証	微生物学的保証
	マウス	オス	ICR	30	東京実験動物（株）	-	SPF
安全管理上注意を要する動物実験	該当しない						

動物実験の方法	<p>30匹の5週齢雄性ICRマウスをMF粉末飼料(オリエンタル酵母)にて1週間予備飼育し、ランダムに5匹ずつ6群(対照群、AU-1803低用量群、AU-1803高用量群、コール酸(CA)投与群、AU-1803低用量+CA投与群、AU-1803高用量+CA投与群)に分けた。対照群にはMF粉末飼料、AU-1803低用量群には0.3% w/wの濃度でAU-1803を添加したMF粉末試料、AU-1803高用量群には0.6% w/wの濃度でAU-1803を添加したMF粉末試料、CA投与群には1.2% w/wの濃度でCAを添加したMF粉末飼料、AU-1803低用量+CA投与群とAU-1803高用量+CA投与群には、AU-1803とCAをそれぞれ上記濃度で添加したMF粉末試料を5週間自由摂食させた。ただし、AU-1803低用量+CA投与群とAU-1803高用量+CA投与群にはCA混餌を与える前にAU-1803の事前投与としてAU-1083のみの混餌を最初の1週間与えた。飼育5週間で、体重および摂餌量を測定した。尚、AU-1803およびCAの混餌濃度は、他施設の予備実験の結果を踏まえて決定した。本混餌濃度では下痢や血便、便秘などはみられなかった。</p> <p>明暗周期は07:00~19:00の12時間周期、飼育温度23°C、湿度55%の環境で飼育した。</p> <p>飼育終了後、3種混合麻酔薬(メドトミジン+ミダゾラム+ブトルファノール混合麻酔)を腹腔内投与して深麻酔し、大腸と肝臓を摘出し組織・細胞学的評価を行った。本計画はSCAWの苦痛分類ではカテゴリBに該当すると考えられる。</p>
<p>3R 当該動物種と使用数を必要とする理由</p> <p>動物の苦痛軽減、排除の方法</p> <p>動物実験終了時の安楽死の方法</p>	<p>マウスはラットと比べて体が小さいため、比較的小さなスペースで飼育が可能であり、消費する飼料も少量ですむ。本計画で用いるAU-1803は一度に大量に生成することが困難であるため、マウスを用いた。また、ICRマウスは他の近交系マウスに比べて体が大きく、比較的小おとなしくて扱いやすいため、薬理実験などで多く用いられる系統である。そのため本計画では代表的なクローズドコロニー系統のICRマウスを選択した。</p> <p>マウスは、対照群、AU-1803低用量群、AU-1803高用量群、CA群、AU-1803低用量+CA群、AU-1803高用量+CA群の6群にわけ、各群5匹ずつ、合計30匹使用した。1群3~4匹では平均値や標準偏差に意味を持たないため、平均値で群間比較する場合は最低1群5匹以上必要である。そのため本実験では1群5匹とした。</p> <p>3種混合麻酔薬(メドトミジン+ミダゾラム+ブトルファノール混合麻酔)の腹腔内投与による深麻酔により、苦痛を軽減した。</p> <p>3種混合麻酔薬(メドトミジン+ミダゾラム+ブトルファノール混合麻酔)を腹腔内投与して深麻酔し、心採血により脱血死させた。</p>
動物実験実施者及び飼養者	東が丘看護学部 看護学科 准教授 小宇田 智子
東京医療保健大学動物実験委員会への申請・審査・承認・報告	本実験は、東京医療保健大学動物実験委員会規定に従い、東京医療保健大学動物実験委員会に申請、審査、承認、報告のもとに行われた。

動物実験に関する自己点検表（2019年度）

動物実験責任者	医療栄養学科 教授 加藤 隆幸						
動物実験・飼育室の設置場所	[REDACTED]						
動物処置室の設置場所	[REDACTED]						
研究課題	医療栄養学科 2年前期必修科目 解剖生理学実習						
動物実験の目的	ラットを解剖することで、ヒトとの違いに注意しながら、器官の位置関係を観察し、解剖学・生理学の基本知識を再確認する。 解剖時に採血し、血球を観察し、血液に関する理解を促す。また、血清を分離し、血液生化学検査についても理解を促す。						
動物実験の実施期間	2019年5月13日 ～ 2019年7月31日						
使用動物	動物種	性別	系統	匹数	入手先	遺伝的保証	微生物学的保証
	ラット ラット	オス メス	Wistar Wistar	12 12	東京実験動物(株) 東京実験動物(株)	- -	SPF SPF
安全管理上注意を要する動物実験	該当しない						
動物実験の方法	5月13日より AIN-93G 精製飼料で飼育を行った。飲料水は蒸留水を自由摂取させた。明暗周期は8:00～20:00の12時間周期、飼育温度23℃、湿度55%、常時換気かつフィルターを通して内外ともに脱臭され、防音設備の整った環境下で飼育を行った。 解剖日5月15, 17日に三種混合麻酔薬（メドミジン+ミダゾラム+ブトルファノール混合麻酔）の腹腔内投与で深麻酔とし、心採血で脱血により安楽死させた。個体は解剖実験に供し、血液は血清を用いた血液生化学検査に供した。また性差についても検討を行った。 本計画では動物に与える不快感は軽微と考えられるので、SCAWの苦痛分類ではカテゴリBに該当する。明らかな体調不良の個体は上記の方法で安楽死させる予定であった。						
3 R	当該動物種と使用数を必要とする理由	管理栄養士養成課程では、人体解剖見学は行われておらず、人体模型の観察に加えて、ラットを用いて各臓器を観察することが一般的となっている。2年生3クラス構成となっており、各クラスを8班に分け、全24班で行った。1班あたり3～5名で1匹の解剖を行った。オスとメスの違いについては、2班を1組として、それぞれラットを交換して観察させることで動物の使用数の削減を行い、オス12匹、メス12匹が必要となる。					
	動物の苦痛軽減、排除の方法	常時換気、フィルターを通した内外ともに脱臭による臭気の除去、予想騒音は60～65 dB、室温23℃、湿度55%の環境に制御された飼育庫内で飼育は行った。飼育中は解剖前日を除き、げっ歯類用の飼料および蒸留水を自由に摂取させた。					
	動物実験終了時の安楽死の方法	三種混合麻酔薬（メドミジン+ミダゾラム+ブトルファノール混合麻酔）の腹腔内投与で深麻酔とし、心採血で脱血により安楽死させた。					
動物実験実施者及び飼養者	医療栄養学科 教授 加藤 隆幸、助教 宮路 茜、助手 長谷川 友梨						
東京医療保健大学動物実験委員会への申請・審査・承認・報告	本実験は、東京医療保健大学動物実験委員会規程に従い、東京医療保健大学動物実験委員会に申請、審査、承認、報告のもとに行われた。 申請日：2019年4月1日 承認日：2019年4月15日 報告日：2019年8月1日						