

國立臺東大學 114 學年度第 1 學期 實驗動物管理與使用委員會會議紀錄

時間：114 年 11 月 11 日(星期二)下午 12:10 分

主席：胡焯淳院長

出席人員：詳簽到表

紀錄：廖琮綸

壹、主席致詞：略。

貳、確認上次會議紀錄及決議執行情形：確定。

案次	案由	決議	執行情形
1	生命科學系李俊霖老師申請 說明：「黑纖米及其萃取物調 節血糖動物實驗」之動物實驗 申請案，請核備。	照案通過核備	實驗進行中。

參、業務報告與宣導：

- 一、本校 114 年度生物醫療廢棄物代清除及代處理勞務契約期限為 114 年 5 月 1 日至 119 年 4 月 30 日止，請有清運需求之實驗室可與環安組連絡。
- 二、若申請動物實驗計畫需要「送審證明」之教師，可自行自環安組網頁-其他更多服務-實驗室專區-生物安全、動物實驗項下之「動物實驗申請表送審證明」，下載表單填寫並請申請審查教師核章後，再送至環安組，以利加快行政作業。

肆、提案事項：

提案一、生命科學系李俊霖老師申請「臺東六號黑晶洛神花微膠囊化原料的功效驗證與產品化」之動物實驗申請案，請審議。

(提案人：生命科學系李俊霖教授)

說明：

- 一、依本校實驗動物管理與使用委員會設置要點辦理。
- 二、飼養動物種類與期程：115 年度雄性 SD 品系大鼠 56 隻。
- 三、計畫行期間至 115/1/1 至 115/12/31 止。
- 四、檢附本案動物實驗申請表 1 份。

國立臺東大學動物實驗申請表

一、基本資料

計畫主持人姓名： 李俊霖	辦公室電話：089-517759
單位： 生命科學系	行動電話：0905190583
職稱： 教授	電子信箱：cllee@nttu.edu.tw
聯絡人姓名：李俊霖	聯絡電話：089-517759
計畫名稱（中文）：臺東六號黑晶洛神花微膠囊化原料的功效驗證與產品化	
計畫種類： <input type="checkbox"/> 醫學研究 <input type="checkbox"/> 教學訓練 <input type="checkbox"/> 藥物及疫苗 <input type="checkbox"/> 農業研究 <input checked="" type="checkbox"/> 健康食品 <input type="checkbox"/> 其他：	
申請類別： <input checked="" type="checkbox"/> 新計畫 <input type="checkbox"/> 延續計畫 (原動審表編號：)	
經費來源：國科會專題計畫	
計畫執行期限自 115/01/01 至 115/12/31	
動物飼養期限自：自 115/01/01 至 115/01/31	

二、負責進行動物實驗之相關人員資料

姓名	職稱	電話	參與動物實驗年數/ 教育與訓練經歷 ^a	是否已參加本校動物 中心使用訓練課程
楊培鑫	專任助理	089-517759	5 年/生命科學系訓練	<input checked="" type="checkbox"/> 是 <input type="checkbox"/> 否

^a 參與動物實驗年數/教育與訓練經歷：請填寫在本校或其他單位之訓練經歷，無經驗者請填寫由 XXX 老師指導

三、實驗所需之動物（請詳實填寫，不同種類及品系請分別列出；執

行多年期計畫者，請分年度列述）：

年度	動物別 ^a	品系	動物用量	年齡/性別	來源 ^b	飼養場所
115	rat	SD	56	male	樂斯科	生命科學系 實驗動物房

^a：保育類野生動物請加註，並另依野生動物保育法相關規定辦理。

^b：自野外捕捉之動物請加註，並另說明來源地區、隔離檢疫方式及隔離期間；取自民間市場者，必要時須比照辦理。

^b: 動物來源請明確填寫：國家實驗動物中心、樂斯科、XX 大學實驗動物中心、民間飼養場(場名)、其他(詳細填寫)。

四、動物飼養場所

本校生命科學系實驗動物房

本校非動物中心飼養場所：_____，

請說明飼養環境，如：溫度、濕度、飼料、飲水、光週期與墊料。

其他寄養場所：_____

請說明飼養場所之設備、飼養管理措施、負責人及聯絡電話，及原則上須提供該場所經核准營業之證明文件。

五、動物飼養管理

由實驗動物中心代養 由寄養場所負責

由實驗室人員自養

如由實驗室人員負責，請說明其對動物飼養之背景與訓練。

六、說明動物實驗／操作場所

本校生命科學系實驗動物房

實驗動物中心

個人實驗室或其他地方 _____

七、請簡述本研究之目的與本實驗使用之動物其需求數量之必要性

(執行多年期計畫者，若動物實驗內容不同，請分年度列述)。

(一) 本研究之目的

評估黑晶洛神花萃取微膠囊粉對高脂飲食誘導代謝症候群大鼠的健康改善效果。以開發改善代謝症候群及腸道菌群之保健素材

(二) 使用活體實驗動物的理由，有無替代方案？

本研究以高脂飲食誘導代謝症候群的大鼠模型進行評估，該模型能模擬人類代謝症候群的多重特徵，包括肥胖、血脂異常及腸道菌群失衡。由於此研究需探討黑晶洛神花萃取微膠囊粉在肥胖代謝症候群相關生理與生化指標的影響，並進一步分析其對腸道菌群結構的調節效果，因此必須採用活體動物試驗進行評估。但本實驗將遵循動物實驗三原則（3R 原則）：替代（Replacement）、減量（Reduction）與精緻化（Refinement），以減少對動物的使用和影響，同時確保實驗數據的科學性與有效性。

(三)請儘可能依照統計分析方法，敘述前項使用動物數量之必要性。

實驗結果均以平均值 \pm 標準偏差 (mean \pm SD) 表示。利用 SPSS 22.0 系統之單因子變異數 (One-way ANOVA) 進行統計分析，再以 Duncan's Multiple Range Test 作組間的差異性比較，當 $p < 0.05$ 時表示具有顯著性差異。

八、動物實驗內容

請詳細說明實驗中所進行之動物實驗內容、方法、劑量與步驟（含動物保定、投藥、注射、麻醉、手術及術後照顧等），並簡述使動物痛苦降至最低的方法（執行多年期計畫者，若動物實驗內容不同，請分年度列述）。

(一) 簡述整個實驗流程與內容，包括保定方法、投予何種物質(如藥物、細胞株、感染性物質等)、劑量、方式(靜脈、皮下、腹腔注射等)與頻率。

1. 實驗動物飼養與照料

動物實驗方法參考 Usman 與 Hosono 兩位學者於 2000 年發表文獻之模式加以修改 (Usman and Hosono, 2000)。本研究中所採用之動物為購自樂斯科生物科技股份有限公司之 SD 品系雄性大鼠，週齡 8 週，每組 8 隻，共 56 隻。飼養於控制相對溼度 60%，室溫 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ ，光照時間為 8:00~20:00 之 12 小時光照循環，食物與水供給不予限制之環境下。大鼠預養 2 週後，進行實驗分組後，開始進行 8 週正式實驗。每週測定攝食量與體重。

2. 動物分組與實驗設計

本實驗使用黑晶洛神花萃取微膠囊粉作為試驗樣本，評估其對高脂飲食誘導代謝症候群大鼠之改善效果。本實驗設置正常對照組 (NOR 組)、高脂飲食組 (HF)、台東三號洛神花萃取粉 (TT3-H)、台東六號黑晶洛神葵微膠囊粉末低劑量組 (TT6-L) 台東六號黑晶洛神葵微膠囊粉末低劑量組 (TT6-H)、台東六號洛神花花萼副產物發酵粉 (TT6-F-H)、花青素 (AN)，共 7 組，每組 8 隻大鼠，試驗前隨機分配動物至各組。飼料設計方面，正常對照組使用 Chew diet #5001 作為基礎飼料，熱量為 3.34 kcal/g；高脂飲食組 (HF) 之飼料則由 74% Chew diet #5001、25% Butter powder 與 1% 膽固醇組成，飼料熱量為 4.17 kcal/g。試驗樣品每日以 25 mL 無菌蒸餾水配製成懸浮樣品溶液，每週根據動物體重變化重新配製，並以飲水方式每日投予對應劑量的試驗物質，持續 8 週，期間紀錄動物的體重變化、飲食量、飲水量及食物利用率。

表 3-1 試驗物質對高油脂飲食大鼠之動物分組與試驗物質劑量配置

Groups	Diet	Test substance	Rat dose (mg/kg BW)	RDA for adult (mg/60kg BW)
NOR	Normal diet	ROW	-	-
HF	High fat diet	ROW	-	-
TT3-H	High fat diet	台東三號洛神花萃取粉	52	1000
TT6-L	High fat diet	台東六號黑晶洛神葵微膠囊粉末低	103	3000
TT6-H	High fat diet	台東六號黑晶洛神葵微膠囊粉末	207	20.65
TT6-F-H	High fat diet	台東六號洛神花花草副產物發酵粉	0.310	1000
AN	High fat diet	花青素	0.620	6

Normal diet 是以 Chew diet #5001 作為動物飼料，飼料熱量為 3.34 kcal/g。High fat diet 之組成為 74% 之 Chew diet #5001、25% Butter powder 與 1% 之膽固醇，飼料熱量為 4.17 kcal/g。

3. 脂肪組織細胞截面積

將部份脂肪組織浸泡於 10% formaldehyde 以固定細胞，經脫水及石蠟包埋後，製成組織切片，以蘇木青與伊紅 (hematoxylin and eosin) 做常規染色。於顯微鏡下 (放大倍率 10X) 拍攝切片結果，利用影像分析軟體 Image J (institutes of health, Bethesda, MD, USA) 計算脂肪組織之截面積 (Chen and Farese, 2002)。

4. 脂肪組織之脂肪細胞數目

取 0.2 g 脂肪組織，加入 4 mL chloroform-methanol (v/v= 2:1) 溶劑中以均質機均質，過濾後之濾液含有大部分之脂質，以 chloroform-methanol (v/v= 2:1) 定容置 4 mL (Folch et al., 1957)，取 10 µL 均質液置於通風櫃中，待溶劑揮發後並以市售生化檢驗套組 (TR213, Randox) 進行 TG 濃度分析。由 Image J 計算所得的平均細胞體積乘以 TG (triolein) 密度 (0.915)，可得平均細胞重量。脂肪細胞數目之運算方法為 TG 濃度除以組織細胞重量 (Soria et al., 2002)。

5. 脂肪組織中 lipase 活性測定

脂肪組織以生理食鹽水清洗後，將水分吸乾，精確秤取 0.1 g 組織置於 2 mL eppendorf tube 中。將組織剪碎後，加入 1 mL KRB buffer (120 mM NaCl, 4.7 mM KCl, 2.2 mM CaCl₂, 1.2 mM MgSO₄ · 7H₂O, 1.2 mM KH₂PO₄, 25 mM NaHCO₃, 5 mM glucose and 2% BSA per liter, pH 7.4)，於 37°C 下震盪培養 1 hr。收集培養液，以市售套組 (GY105, Randox) 分析甘油濃度，lipolysis 效率以單位重量組織釋放之甘油量來表示 (Berger and Barnard, 1999)。

6. 肝組織與糞便脂質分析

取 0.1 g 肝與糞便組織，於 1 mL chloroform-methanol (v/v = 2:1) 溶劑中均質。過濾後之濾液含有肝組織，以 chloroform-methanol (v/v = 2:1) 溶劑定量至 1 mL 後，以 15,000 ×g，離心 15 min，取上清液放置通風櫃直到揮發，再以 DMSO (dimethyl sulfoxide) 回溶脂質，儲存於 -20°C，作為日後分析肝組織或糞便中 TC 及 TG 之樣品 (Folch et al. 1957)。檢測肝組織濃度分別使用市售生化試劑 (CH 201, Randox) 分析 TC 濃度，以市售生化試劑 (TR 213, Randox) 分析 TG 濃度，操作方法如套組說明書所示。

7. 組織解剖學病理實驗：

動物犧牲後，取胸腔主動脈、肝臟組織，於福馬林浸泡後進行石蠟包埋與組織病理切片染色，並以解剖顯微鏡觀察並照相，病理切片委託國立中興大學獸醫學系進行切片與病理判讀。

8. 生物統計分析方法：

以 SPSS 10.1 系統之單因子變方分析 (One-way ANOVA) 進行統計處理，再以 Duncan's Multiple Range Test 作組間的差異性比較，p < 0.05 表具有顯著性差異。

(二) 有無進行外科手術？■無；□有，若有請填寫下列事項：

非存活手術(Non-Survival Surgery) _____

存活手術(Survival Surgery) _____

(三) 若實驗含外科程序，請簡述麻醉方法、劑量、投藥方式與手術後的照顧：

(1) 麻醉前處理： 動物禁食 動物不禁食 其他 _____

(2) 麻醉前給藥： 需 不需 其他 _____

(3) 麻醉方法及麻醉劑

麻醉方法	吸入性麻醉	注射性麻醉(請填寫劑量及注射方法) ^a
------	-------	--------------------------------

麻醉劑	<input type="checkbox"/> CO ₂ +10~50% O ₂ <input type="checkbox"/> Halothane <input type="checkbox"/> Isoflurane <input type="checkbox"/> 其他	<input type="checkbox"/> Pentobarbital ^b _____ <input type="checkbox"/> 已有管制藥品登記證，證號_____ <input type="checkbox"/> 已申請，審核中 <input type="checkbox"/> 尚未申請 <input type="checkbox"/> Ketamine ^b _____ <input type="checkbox"/> 已有管制藥品登記證，證號_____ <input type="checkbox"/> 已申請，審核中 <input type="checkbox"/> 尚未申請 <input type="checkbox"/> Ketamine + Xylazine _____ <input type="checkbox"/> Zoletil(舒泰) _____ <input type="checkbox"/> Zoletil+Xylazine _____ <input type="checkbox"/> 其他 _____
-----	---	---

^a：注射方法：IV(靜脈注射)，IM(肌肉注射)，SC(皮下注射)，IP(腹腔注射)。

^b：Pentobarbital 和 Ketamine 為第三級管制藥品，須先取得管制藥品登記證後方能使用

(4) 術後照顧：

(A)止痛劑不使用 使用，商品名(學名)：_____，

劑量、投藥方式與頻率：_____

(B)抗生素不使用 使用，商品名(學名)：_____，

劑量、投藥方式與頻率：_____

(C) 其他處理：_____

(四) 動物的疼痛處理

本實驗是否可能會造成動物的疼痛與不適？

低疼痛、或幾乎不造成動物的疼痛或窘迫。

動物的疼痛或窘迫可以適當的方法解除→請說明藥品名稱、劑量與途徑。

以碘酒消毒，定期換藥並觀察傷口癒合狀況，傷口數日即可癒合。

無法解除的疼痛或窘迫→請說明理由。

(五) 若為癌症研究或實驗過程會引起動物高度不適，請說明人道終點(Humane endpoint)，例如：動物體重下降超過原體重的 15~20%、平均腫瘤直徑在小鼠超過 20 mm、在大鼠超過 40 mm、慾不振(無法進食)、虛弱、感染、腫瘤、其他：器官臟器的失能，對治療無反應等。

(六) 獲取多株抗體之動物實驗？■無；□有，若有請填寫下列事項：

- (1) 使用抗原之全名
- (2) 採血所使用之保定方法
- (3) 採血的方式與頻率

九、實驗結束後動物處置方法

(1) 安樂死方法：

<input type="checkbox"/> 麻醉後頸椎脫臼，麻醉劑：_____	
<input type="checkbox"/> 麻醉後斷頭，麻醉劑：_____	
<input type="checkbox"/> 麻醉後採血或放血致死，麻醉劑：_____	
<input checked="" type="checkbox"/> CO ₂	<input type="checkbox"/> 深度麻醉中灌流，麻醉劑：_____
<input type="checkbox"/> Pentobarbital overdose, Dose (mg/Kg) : _____, 純予方式： <input type="checkbox"/> 靜脈 <input type="checkbox"/> 腹腔	
<input type="checkbox"/> 其他：_____	

(2) 屍體處理方法：

包裝好冰存在動物室屍體冷凍庫，統一交由感染性廢棄物廠商焚化處理

其他：_____

十、有無進行危險性實驗，如生物危險（含感染性生物質、致癌藥物）、放射線及化學危險（含毒物）實驗？ 無 有 如有，請填寫下列事項

1. 實驗之危險性屬於 生物危險 放射線 毒性化學危險
2. 如屬生物危險實驗，
詳述危害物質名稱與生物安全等級 _____
是否已送生物安全委員會審核 是 否
請詳述下列事項
 - (A) 進行危險物品之實驗方法、途徑及實驗地點
 - (B) 說明針對實驗人員、實驗動物以及周邊人畜環境可能之危害，及所採行之保護措施
 - (C) 實驗廢棄物與屍體之處理方式
3. 如屬放射線或毒性化學危險實驗，請說明本案向主管機關之申請狀況：
(放射線物質實驗須經行政院原子能委員會認可；毒性化學實驗須經行政院環境保護署認可。)
 尚未申請。

已申請，審核中。

通過認可，

使用危險物質之認可證件名稱與證號_____

使用危險物質人員之認可證件名稱與證號_____

實驗地點 _____

我保證以上所填資料完全屬實

並確認此申請案之執行與運作符合「動物保護法」及相關法規之規定

申請人簽章 _____

申請日期 2025/10/22

初審結果

初審通過

改善後再審

不通過

須改善或不通過之審查意見：

評審人簽章 _____ 日期 _____

複審結果

照案通過

改善後複審

不通過

須改善或不通過之審查意見：

評審人簽章 _____ 日期 _____

最終審查結果

照案通過

不通過

動物實驗管理小組召集人簽章 _____ 日期 _____

提案二、應用科學系黃書葦老師申請「CIRCLE-Translational:以隨機對照試驗與多模態研究探討秋水仙素在慢性肢體威脅性缺血中的作用—從臨床療效到動物與細胞模型的機制解析」之動物實驗申請案，請核備。
(提案人:應用科學系黃書葦助理教授)

說明

- 一、依本校實驗動物管理與使用委員會設置要點辦理。
- 二、飼養動物種類與期程(分年編列)114 年度 B6 品系雄性鼠 24 隻、115 年度 B6 品系雄性鼠 96 隻、116 年度 B6 品系雄性鼠 96 隻。
- 三、計畫行期間:114/9/1 至 116/7/31 止。
- 四、檢附本案動物實驗申請表 1 份，已將原申請書及審查同意書發還教師。

國立臺東大學
實驗動物照護及使用委員會(或小組)審查同意書
Affidavit of Approval of Animal Use Protocol
National Taitung University Experimental Animal Center

同意書編號：NTTU-at-114007

計畫主持人(PI)：黃書華 職稱：助理教授
單位：應用科學系 飼養/應用地點：生科系動物房
計畫名稱：CIRCLE-Translational：以隨機對照試驗與多模態研究探討秋水仙素在慢性肢體威脅性缺血中的作用——從臨床療效到動物與細胞模型的機制解析
動物實驗申請表編號：NTTU-at 114007

本計畫之「動物實驗申請表」業經實驗動物照護及使用委員會或小組審查通過。
本計畫預定飼養應用之動物如下：

<u>動物種類</u>	<u>動物數量</u>	<u>實驗執行時間</u>
B6 mice	216 隻/2 年	114.09.01-116.07.31

The animal use protocol listed below has been reviewed and approved by the
Institutional Animal Care and Use Committee or Panel (IACUC/ IACUP)
Protocol Title : _____

IACUC Approval No : _____

Period of Protocol : Valid From: _____ To: _____ (mm/dd/yyyy)

Principal Investigator (PI) : _____

實驗動物照護及使用委員會或小組召集人 鄒海芬 日期 9/6-2025
IACUC Chairman Chu Hui-han Date 9/6-2025

國立臺東大學動物實驗申請表

一、基本資料

計畫主持人姓名：黃書華	辦公室電話：6435
單位：應用科學系	行動電話：0966695973
職稱：助理教授	電子信箱：swhuang@nttu.edu.tw
聯絡人姓名：黃書華 聯絡電話：6435	
計畫名稱（中文）： CIRCLE-Translational：以隨機對照試驗與多模態研究探討秋水仙素在慢性肢體威脅性缺血中的作用—從臨床療效到動物與細胞模型的機制解析	
計畫種類： <input checked="" type="checkbox"/> 醫學研究 <input type="checkbox"/> 教學訓練 <input type="checkbox"/> 藥物及疫苗 <input type="checkbox"/> 農業研究 <input type="checkbox"/> 健康食品 <input type="checkbox"/> 其他：	
申請類別： <input checked="" type="checkbox"/> 新計畫 <input type="checkbox"/> 延續計畫（原動審表編號：）	
經費來源：主持人自籌	
計畫執行期限自：114.09.01 至：116.07.31	
動物飼養期限自：114.09.01 至：116.07.31	

二、負責進行動物實驗之相關人員資料

姓名	職稱	電話	參與動物實驗年數/ 教育與訓練經歷 ^a	是否已參加本校動物 中心使用訓練課程
黃書華	助理教授	6435	10 年/台大及國防醫學院動物試驗訓練通過	<input type="checkbox"/> 是 <input checked="" type="checkbox"/> 否
				<input type="checkbox"/> 是 <input type="checkbox"/> 否
				<input type="checkbox"/> 是 <input type="checkbox"/> 否
				<input type="checkbox"/> 是 <input type="checkbox"/> 否

^a 參與動物實驗年數/教育與訓練經歷：請填寫在本校或其他單位之訓練經歷，無經驗者請填寫由 XXX 老師指導

三、實驗所需之動物（請詳實填寫，不同種類及品系請分別列出；執

行多年期計畫者，請分年度列述）：

年度	動物別 ^a	品系	動物用量	年齡/性別	來源 ^b	飼養場所
114	齧齒類	B6 mice	24 隻	8 週齡/公	國家衛生研究院或樂斯科	動物中心
115	齧齒類	B6 mice	96 隻	8 週齡/公	國家衛生研究院或樂斯科	動物中心
116	齧齒類	B6 mice	96 隻	8 週齡/公	國家衛生研究院或樂斯科	動物中心

^a：保育類野生動物請加註，並另依野生動物保育法相關規定辦理。

^b：自野外捕捉之動物請加註，並另說明來源地區、隔離檢疫方式及隔離期間；取自民間市場者，必要時須比照辦理。

^b：動物來源請明確填寫：國家實驗動物中心、樂斯科、XX 大學實驗動物中心、民間飼養場（場名）、其他（詳細填寫）。

四、動物飼養場所

本校生命科學系實驗動物房

本校生醫農食研究中心實驗動物房

本校非動物中心飼養場所：_____，

請說明飼養環境，如：溫度、濕度、飼料、飲水、光週期與墊料。

其他寄養場所：_____

請說明飼養場所之設備、飼養管理措施、負責人及聯絡電話，及原則上須提供該場所經核准營業之證明文件。

五、動物飼養管理

由生科系實驗動物房代養 由生醫農食研究中心代養

由寄養場所負責

由實驗室人員自養

如由實驗室人員負責，請說明其對動物飼養之背景與訓練。

六、說明動物實驗／操作場所

本校生命科學系實驗動物房 本校生醫農食研究中心實驗動物房

個人實驗室或其他地方

七、請簡述本研究之目的與本實驗使用之動物其需求數量之必要性

(執行多年期計畫者，若動物實驗內容不同，請分年度列述)。

(一) 本研究之目的

外周動脈疾病 (Peripheral Arterial Disease, PAD) 是全球性的重要公共衛生議題，影響超過 2.3 億人，且患者人數持續上升 (Aboyans et al., 2018)。其中，下肢動脈疾病 (Lower Extremity Artery Disease, LEAD) 為 PAD 最常見的臨床表現之一，當病程進展至慢性肢體威脅性缺血 (Chronic Limb-Threatening Ischemia, CLTI) 時，患者將面臨高度截肢與死亡風險。CLTI 病患常同時合併動脈粥樣硬化性心血管疾病，使其整體預後更為不良。

慢性發炎反應與微血管功能障礙是 CLTI 病理機轉的核心。炎症在動脈粥樣硬化與微循環灌流障礙的惡化中扮演關鍵角色，促進內皮功能異常、單核球與中性球的活化與組織傷害反應。近年來，研究指出**秋水仙素 (Colchicine) **具抗發炎與免疫調節效果，能抑制嗜中性球活化與減少 NLRP3 發炎體形成，進而減輕血管內膜發炎與栓塞風險。在冠狀動脈疾病 (CAD) 與心肌梗塞後預防方面，已有大型臨床試驗支持低劑量秋水仙素可降低心血管事件 (Tardif et al., 2019; Nidorf et al., 2020)。

儘管秋水仙素在心血管疾病的應用已逐漸受到肯定，其於下肢缺血性疾病 (特別是 CLTI) 中的潛在療效與作用機轉，仍未被充分探討。本研究計畫將採用隨機對照試驗設計結合動物與細胞實驗模型，以多層級方式探討秋水仙素於慢性肢體威脅性缺血的治療潛力及其相關分子機轉。

動物實驗部分，將使用小鼠進行單側髂動脈結紮以建立慢性下肢缺血模型。動物將隨機分為：對照組 (生理食鹽水)、秋水仙素低劑量組及秋水仙素高劑量組及搭配運動作為復健。治療將以腹腔注射方式每日施用，持續 2–3 週。實驗觀察指標包括：下肢血流、步態速度與活動能力 (Treadmill Test)、血清發炎與氧化壓力指標 (IL-1 β 、MPO、MDA 等)、組織病理變化 (H&E、Masson 染色、肌肉壞死程度) 及微血管密度與新生血管標記 (CD31, VEGF 免疫染色)。透過此模型可驗證秋水仙素在調節缺血性組織損傷與微血管修復上的潛能。

(二) 使用活體實驗動物的理由，有無替代方案？

目前已經有文獻以 B6 小鼠模型模擬人體 CLTI，但目前尚未有秋水仙素介入方式來改善臨床病徵之探討，因此本研究將探討秋水仙素不同治療濃度對 CLTI 小鼠癒後的影響。

(三)請儘可能依照統計分析方法，敘述前項使用動物數量之必要性。

This experiment is divided into two stages. The first stage is to make Limb ischemia model, with a total of 12 animals. After the operation, 3 animals will be sacrificed on day1, day3, day7 and day30 to evaluate the effect of model establishment. The experiment will be repeated twice. **N=12X2=24 (First year)**

Mice are divided into eight groups of six each: (A) sham control, (B) sham with exercise training, (C) sham with Colchicine, (D) sham with exercise training and Colchicine, (E) limb ischemia control, (F) limb ischemia with post-ischemia exercise training, (G) limb ischemia with post-ischemia Colchicine, (H) limb ischemia with post-ischemia exercise training and Colchicine. The experiment will be repeated twice **N=8x6X2=48X2=96 (Second & Third year)**

To induce hind leg ischemia, study mice are anesthetized with 100 mg/kg intraperitoneal ketamine. A midline incision is made in the abdomen, exposing the right common iliac artery and vein without separating them. Both vessels are doubly ligated with 7-0 silk and cut proximal to the internal iliac artery to create the ischemic condition. To prevent fluid loss and liver drying during the procedure, wetting gauze is applied to cover the abdominal cavity. After ligation, the abdominal wall is sutured closed with interrupted sutures. This method increases the severity of ischemia and ensure model reproducibility while minimizing the risk of fatal hemorrhage often observed when isolating the iliac artery alone(Westvik et al. 2009; Karakoyun et al. 2014). The sham group undergoes a similar surgical procedure, but without ligation. Laser Doppler perfusion imaging (LDPI) is used to measure blood perfusion three days after inducing hind limb ischemia. To confirm effective induction of ischemia, a cutoff value of $\leq 60\%$ of LDPI relative value compared the non-ischemic limb is adopted. An LDPI relative value of $\leq 60\%$ must be achieved in the ischemic limb before each mouse proceeds to the next step of the study.

Exercise training groups (B, D, F and H) are subjected to resistance exercise training by ladder climbing for one week. Exercise training starts one week after the sham or ischemia procedure. Resistance exercise is designed as described in prior studies(Horii et al. 2018; Li et al. 2021). The exercise protocol involves using a ladder with a height of 1 m and rungs spaced 1 cm apart, inclined at an angle of 80 degrees. The training regimen spans four weeks, starting with one week of adaptation without any load. From the second week onwards, the mice undergo three weeks of exercise with progressively increasing load. The weight attached to the mice's tails is gradually increased from 0% to 75% of their body

weight, with a daily increment of 10%. The training consists of eight rounds per day, with each round including three climbs up the ladder. A one-minute rest period is provided between each round. This training regimen is performed five days per week for a total duration of three weeks.

Colchicine treatment groups (C, D, G and H) receives intraperitoneal Colchicine starting one week after the sham or ischemia procedure. Colchicine is given via intraperitoneal injections at 0.5 $\mu\text{g/g}$ of body weight, according to previous studies(Zhang et al. 2014; Xin et al. 2020; Küçük et al. 2021). Colchicine is given on a daily basis for four weeks. In groups D and H, each daily dose of Colchicine is given prior to resistance exercise training on the days they coincide.

Blood samples are collected at three time points during the study (Figure). One week after the sham/ischemia procedure, three mice in each group are randomly selected for blood collection through submandibular bleeding using a lancet. Lactate dehydrogenase (LDH), creatine kinase (CK), aspartate aminotransferase (AST), and alanine aminotransferase (ALT) levels are assessed. Two weeks into exercise and/or Colchicine treatment, the other three mice in each group are sampled for blood with the same method to check LDH, CK, AST and ALT levels. Finally, after four weeks of exercise and/or Colchicine treatment, all mice are euthanized by cervical dislocation and blood is drawn from directly from their hearts, to analyze serum LDH, CK, AST and ALT levels.

八、動物實驗內容

請詳細說明實驗中所進行之動物實驗內容、方法、劑量與步驟（含動物保定、投藥、注射、麻醉、手術及術後照顧等），並簡述使動物痛苦降至最低的方法（執行多年期計畫者，若動物實驗內容不同，請分年度列述）。

(一) 簡述整個實驗流程與內容，包括保定方法、投予何種物質(如藥物、細胞株、感染性物質等)、劑量、方式(靜脈、皮下、腹腔注射等)與頻率。

動物實驗操作中所涉及之物質為「COLCHICINE」，根據文獻換算成小鼠劑量：0.5 $\mu\text{g/g}$ of body weight。預計每日透過腹腔注射一次，為期 2-4 週。

(二) 有無進行外科手術？無；有，若有請填寫下列事項：

非存活手術(Non-Survival Surgery) _____

■存活手術(Survival Surgery) Limb ischemia

(三) 若實驗含外科程序，請簡述麻醉方法、劑量、投藥方式與手術後的照顧：

(1) 麻醉前處理：動物禁食 動物不禁食 其他 _____

(2) 麻醉前給藥：需 不需 其他 _____

(3) 麻醉方法及麻醉劑

麻醉方法	吸入性麻醉	注射性麻醉(請填寫劑量及注射方法) ^a
麻醉劑	<input type="checkbox"/> CO ₂ +10~50% O ₂ <input type="checkbox"/> Halothane <input type="checkbox"/> Isoflurane <input type="checkbox"/> 其他	<input type="checkbox"/> Pentobarbital ^b _____ <input type="checkbox"/> 已有管制藥品登記證，證號_____ <input type="checkbox"/> 已申請，審核中 <input type="checkbox"/> 尚未申請 <input type="checkbox"/> Ketamine ^b _____ <input type="checkbox"/> 已有管制藥品登記證，證號_____ <input type="checkbox"/> 已申請，審核中 <input type="checkbox"/> 尚未申請 <input type="checkbox"/> Ketamine + Xylazine _____ <input type="checkbox"/> Zoletil(舒泰) _____ <input checked="" type="checkbox"/> Zoletil + Xylazine 1:1.5 混合液， 0.02ml/mice, 單次給予，腹腔注射 <input type="checkbox"/> 其他 _____

^a：注射方法：IV(靜脈注射)，IM(肌肉注射)，SC(皮下注射)，IP(腹腔注射)。

^b：Pentobarbital 和 Ketamine 為第三級管制藥品，須先取得管制藥品登記證後方能使用

(4) 術後照顧：

(A)止痛劑不使用 使用，商品名(學名)：Ketoprofen, 2-5mg/kg,
q24h, IP，

劑量、投藥方式與頻率：_____

(B)抗生素不使用 使用，商品名(學名)：_____，

劑量、投藥方式與頻率：_____

(C) 其他處理：_____

(四) 動物的疼痛處理

本實驗是否可能會造成動物的疼痛與不適？

低疼痛、或幾乎不造成動物的疼痛或窘迫。

動物的疼痛或窘迫可以適當的方法解除→請說明藥品名稱、劑量與途徑。

無法解除的疼痛或窘迫→請說明理由。

使用木塊及無菌紙巾，減低動物焦慮情形，本試驗在術後前三天會給予止痛藥物，降低動物不適情形

(五) 若為癌症研究或實驗過程會引起動物高度不適，請說明人道終點(Humane endpoint)，例如：動物體重下降超過原體重的 15~20%、平均腫瘤直徑在小鼠超過 20 mm、在大鼠超過 40 mm、慾不振(無法進食)、虛弱、感染、腫瘤、其他：器官臟器的失能，對治療無反應等。

動物體重下降超過原體重的 15~20%、慾不振(無法進食)、虛弱、感染

(六) 獲取多株抗體之動物實驗？■無；□有，若有請填寫下列事項：

- (1) 使用抗原之全名
- (2) 採血所使用之保定方法
- (3) 採血的方式與頻率

九、實驗結束後動物處置方法

(1) 安樂死方法：

<input type="checkbox"/> 麻醉後頸椎脫臼，麻醉劑：_____	
<input type="checkbox"/> 麻醉後斷頭，麻醉劑：_____	
<input type="checkbox"/> 麻醉後採血或放血致死，麻醉劑：_____	
<input checked="" type="checkbox"/> CO ₂	<input type="checkbox"/> 深度麻醉中灌流，麻醉劑：_____
<input type="checkbox"/> Pentobarbital overdose, Dose (mg/Kg) : _____, 純予方式： <input type="checkbox"/> 靜脈 <input type="checkbox"/> 腹腔	
<input type="checkbox"/> 其他：_____	

(2) 屍體處理方法：

■包裝好冰存在動物室屍體冷凍庫，統一交由感染性廢棄物廠商焚化處理

其他：_____

十、有無進行危險性實驗，如生物危險（含感染性物質、致癌藥物）、放射線及化學危險（含毒物）實驗？■無 有
如有，請填寫下列事項

1. 實驗之危險性屬於 生物危險 放射線 毒性化學危險

2. 如屬生物危險實驗，

詳述危害物質名稱與生物安全等級 _____

是否已送生物安全委員會審核 是 否

請詳述下列事項

(A) 進行危險物品之實驗方法、途徑及實驗地點

(B) 說明針對實驗人員、實驗動物以及周邊人畜環境可能之危害，及所採行之保護措施

(C) 實驗廢棄物與屍體之處理方式

3. 如屬放射線或毒性化學危險實驗，請說明本案向主管機關之申請狀況：

(放射線物質實驗須經行政院原子能委員會認可；毒性化學實驗須經行政院環境保護署認可。)

尚未申請。

已申請，審核中。

通過認可，

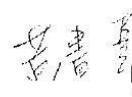
使用危險物質之認可證件名稱與證號 _____

使用危險物質人員之認可證件名稱與證號 _____

實驗地點 _____

我保證以上所填資料完全屬實

並確認此申請案之執行與運作符合「動物保護法」及相關法規之規定



申請人簽章 _____

申請日期 114.07.01

初審結果

初審通過

改善後再審

不通過

須改善或不通過之審查意見：

行政助理 廖琮綸

評審人簽章

環保處 姚卓清昆
安全衛生組組長

日期 114.8.4.

複審結果

■評審委員

照案通過

改善後複審

不通過

須改善或不通過之審查意見：

已請醫大醫師檢視電子檔資料，無問題通過。

行政助理 廖琮綸

評審人簽章

日期 9.15

■評審委員

照案通過

改善後複審

不通過

須改善或不通過之審查意見：

副教授 林志輝

評審人簽章

日期 9/15

照案通過

不通過

最終審查結果

1

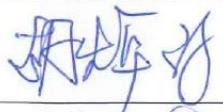
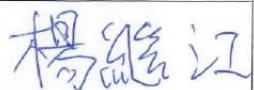
2

伍、臨時動議:無

陸、散會:下午12時25分

國立臺東大學
114 學年度第 1 學期實驗動物管理與使用委員會會議

114 年 11 月 11 日 12 時 10 分

職 稱	姓 名	委 員	簽 到
理工學院院長	胡焯淳	主任委員	
總務長	施能木	當然委員	
生命科學系系主任	林志輝	當然委員	
生命科學系教授	李俊霖	委員	
生物醫學碩士學位學程主任	楊繼江	委員	
懷恩動物醫院院長	穆昭安	外聘委員	
臺東馬偕醫院醫師	趙鎮民	外聘委員	