103年版

核准編號：10912H039

國立清華大學

動物實驗申請表

**一、計畫主持人：** 胡尚秀Shang-Hsiu Hu 職 稱： 副教授 聯絡電話： 03-5731175

**協同主持人**： 張幸治Shing-Jyh Chang  職 稱： 主治醫生 聯絡電話： 0975837104

**二、單位**： 生醫工程與環境科學系 實驗地點：國立清華大學生醫中心實驗動物

 新竹馬偕紀念醫院 設施/生物科技館B02/IVIS儀器室

三、計畫/課程/試驗名稱(中文/英文)：子宮頸神經內分泌癌之分子特徵比較與個人化多重化療藥物毒殺腫瘤晶片平台建立/ Comparing the profiles of neuroendocrine cervical carcinoma and establishing personalized 3D tumor chip for multiple chemotherapeutic drugs platform

類別： 醫學研究類

**四、經費來源**： 科技部

**五、執行期限**： 110年8月 至 113年7月 (請填寫起訖年月)

**六、負責進行動物實驗之相關人員資料：**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | 姓名 | 職稱 | 參與實驗期限 | 具有動物實驗相關技術與經驗年數 |
| 1 | 詹宜潔 | 碩士班研究生 | 110/8/1-112/7/31 | 尾靜脈注射、腹腔注射、IVIS使用資格、心臟採血、臉頰採血、器官解剖、皮下腫瘤建立、腦瘤建立。經驗年資1年 |
| 2 | 許慶唯 | 碩士班研究生 | 110/8/1-112/7/31 | 尾靜脈注射、腹腔注射、心臟採血、臉頰採血、器官解剖、皮下腫瘤建立。經驗年資1年 |
| 3 | 呂曉旻 | 碩士班研究生 | 109/8/1-113/7/31 | 尾靜脈注射、腹腔注射、心臟採血、器官解剖、腦瘤建立。經驗年資1年 |
| 4 | 沈威廷 | 碩士班研究生 | 109/8/1-113/7/31 | 尾靜脈注射、心臟採血、臉頰採血、器官解剖、皮下腫瘤建立。經驗年資1年 |
| 5 | 李政翰 | 碩士班研究生 | 109/8/1-113/7/31 | 尾靜脈注射、心臟採血、臉頰採血、器官解剖、皮下腫瘤建立，由實驗室人員訓練。經驗年資1年 |
| 6 | 閔聖皓 | 碩士班研究生 | 109/8/1-113/7/31 | 尾靜脈注射、心臟採血、臉頰採血、器官解剖、皮下腫瘤建立，由實驗室人員訓練。經驗年資1年 |
| 7 | Thrinayan Moorthy | 碩士班研究生 | 109/8/1-113/7/31 | 尾靜脈注射、心臟採血、臉頰採血、器官解剖、皮下腫瘤建立，由實驗室人員訓練。經驗年資1年 |
| 8 | Bhanu Nirosha | 博士班研究生 | 109/8/1-113/7/31 | 尾靜脈注射、心臟採血、臉頰採血、器官解剖、皮下腫瘤建立，由實驗室人員訓練。經驗年資1年 |
| 9 | 許如秀 | 博士班研究生 | 109/8/1-113/7/31 | 尾靜脈注射、腹腔注射、IVIS使用資格、心臟採血、器官解剖、腦瘤建立、皮下腫瘤建立。經驗年資4年 |
| 10 | 楊宇文 | 碩士班研究生 | 109/8/1-113/7/31 | 尾靜脈注射、腹腔注射、心臟採血、器官解剖、腦瘤建立。經驗年資1年 |
| 11 | Huynh Thi My Hue(黄氏美惠) | 博士班研究生 | 109/8/1-113/7/31 | 尾靜脈注射、腹腔注射、心臟採血、器官解剖、腦瘤建立。經驗年資1年 |
| 12 | 黃楚涵 | 碩士班研究生 | 109/8/1-113/7/31 | 尾靜脈注射、腹腔注射、心臟採血、器官解剖、腦瘤建立。經驗年資1年 |
| 13 | 陳郁人 | 碩士班研究生 | 109/8/1-113/7/31 | 尾靜脈注射、腹腔注射、心臟採血、器官解剖、腦瘤建立。經驗年資1年 |
| 14 | 吳亭嫻 | 碩士班研究生 | 109/8/1-113/7/31 | 尾靜脈注射、腹腔注射、心臟採血、器官解剖、腦瘤建立。經驗年資1年 |
| 15 | 吳澤鈞 | 碩士班研究生 | 109/8/1-113/7/31 | 尾靜脈注射、腹腔注射、心臟採血、器官解剖、腦瘤建立。經驗年資1年 |
| 16 | 趙偉傑 | 碩士班研究生 | 109/8/1-113/7/31 | 尾靜脈注射、腹腔注射、心臟採血、器官解剖、腦瘤建立。經驗年資1年 |
| 17 | 陳品華 | 大學部專題生 | 109/8/1-113/7/31 | 尾靜脈注射、腹腔注射、心臟採血、器官解剖、腦瘤建立。經驗年資1年 |

七、實驗所需之動物：

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 動物別/品系*a* | 使用數量/年 | 動物來源*b* | 動物飼養場所*c* | 是否需要繁殖*d* |
| 歷史名稱：BALB/cAnN.Cg-*Foxnl­nu*/CrNarl簡稱：NUDE種源編號：RMRC12005供應分級：1級 | 154隻/3年 | 國家實驗動物中心 | 清華大學實驗動物設施 | 否 |

註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。

註b：1.動物來源可能為國內外合法繁殖場(例如國家實驗動物中心，樂斯科生物科技有限公

司，美國JAX實驗室…等)、其他國內外研究機構之轉讓與贈與(例如美國或歐洲的

大學，EMMA…等)、小型私人繁殖場及野外捕捉等，請說明動物來源，由照護委員

會(小組)評估適當性與合法性。

2.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。

註c**：如需繁殖「實驗動物(指供作科學應用目的使用者)」，請填寫附錄一。**

**八、動物飼養**： ■ 由實驗動物房專人負責 □ 由實驗室人員負責 □ 由託養場所負責。

若由實驗室人員負責，請說明其對動物飼養之背景與訓練。如動物飼養於非本機構之

其他場所，須提供該場所所屬機構名稱、地址及該場所核准營運之證明文件(租借場

地進行)或審核通過之動物實驗申請表(委託或合作)。

**九、請簡述本研究之目的：**

 本研究期望能整合應用個人化醫學方案，優化已建立的藥物快速篩選系統，動物實驗的用意在驗證此篩選系統的效力，並且瞭解此藥物篩選系統於動物體內對於腫瘤細胞的治療效果，因此我們規劃於計畫後期進行動物實驗。

**十、請以動物實驗應用3Rs之替代及減量原則，說明動物實驗試驗設計、實驗動物需求、動物種別及數量之必要性：**

**（一）活體動物試驗之必要性，以及選擇此動物種別的原因：**

本研究期望能整合應用個人化醫學方案，優化已建立的藥物快速篩選系統，動物實驗的用意在驗證此篩選系統的效力，研究內容包括個人化藥物篩選平台，因此在動物選擇上需為可長出實體腫瘤，且可作為藥物試驗前期研究，因此需以活體動物作為個人化藥物療效進行評估，且要觀察分析腫瘤體積及生長抑制，因此必須使用具免疫缺陷特性之BALA/c nude mice，而為了實驗的一致性，因此皆會使用同一種別動物。 (Adv. Funct. Mater., 2017, 27, 1700056.)

**（二）法源依據：**

1. 動物保護法第三條第三項、實驗動物：指為科學應用目的而飼養或管領之動物。

2. 動物保護法第三條第四項、科學應用：指為教學訓練、科學試驗、製造生物製劑、試驗商品、藥物、毒物及移植器官等目的所進行之應用行為。

3. 動物保護法第十五條：使用動物進行科學應用，應儘量避免使用活體動物，有使用之必要時，應以最少數目為之，並以使動物產生最少痛苦及傷害之方式為之。

4. 動物保護法第十六條：進行動物科學應用之機構，應設置「實驗動物照護及使用委員會或小組」，以督導該機構進行實驗動物之科學應用。

5. 「實驗動物照護及使用委員會或小組設置及管理辦法」第四條：照護委員會或小組審核該機構之動物科學應用時，應由利用實驗動物進行科學應用者事先提出申請，申請內容包括計畫名稱、計畫主持人、實驗動物種類、品種、數量、實驗設計、執行期限、負責進行動物實驗之相關人員名冊、依本法第十五條第一項規定所進行之替代、減量及精緻化之評估說明等資料，經照護委員會或小組審議核可，始得進行；經核可之內容變更時，亦同。

6. 實驗動物照護及使用委員會或小組設置及管理辦法」第五條：照護委員會或小組發現該機構進行動物科學應用者違反本辦法相關規定，或未依前條核可內容辦理時，應勸導改善，經勸導仍未改善者，得終止其使用實驗動物；情節重大者應通報所屬直轄市或縣（市）主管機關依本法及相關規定處理，並副知中央主管機關。

**（三）參考文獻：**

1. Yu-Lin Su, Ting-Wei Yu, Wen-Hsuan Chiang, Hsin-Cheng Chiu, Chun-Hsiang Chang, Chi-Shiun Chiang, Shang-Hsiu Hu\*, Hierarchically Targeted and Penetrated Delivery of Drugs to Tumors by Size-Changeable Graphene Quantum Dot Nanoaircrafts for Photolytic Therapy, Adv. Funct. Mater., 2017, 27, 1700056.

2. Yu-Lin Su, Kuan-Ting Chen, Yu-Chen Sheu, Shuo-Yuan Sung, Ru-Siou Hsu, Chi-Shiun Chiang, Shang-Hsiu Hu\*, The Penetrated Delivery of Drug and Energy to Tumors by Lipo-Graphene Nanosponges for Photolytic Therapy, ACS Nano, 2016, 10, 9420.

**（四）說明動物實驗試驗設計(動物分組方法、每組使用動物數量等)：**

 本研究期望能整合應用個人化醫學方案，優化已建立的藥物快速篩選系統，動物實驗的用意在驗證此篩選系統的效力。為了瞭解此藥物篩選系統於動物體內對於腫瘤細胞的治療效果，因此我們規劃於計畫後期進行動物實驗。為有利於實驗進行將分為藥物釋放動力學評估及抗腫瘤效果評估組，投藥方式皆為尾靜脈注射。

以G-POWER軟體計算樣本數[3]，並設置以下參數：

1.Test family：F-tests。

2.Statistical test：ANOVA:Fixed effects，omnibus，one-way

3.Type of power：A prioli：Compute required sample size-given α，power，and effect size

Effect size f：假定為large，設定為0.4。

3.α err prob：型一誤差以一般設定0.05。

4.Power：檢定力設定為0.80。

 5.Number of groups：設定為22。
 可獲得計算所需總樣本數為154隻。



 實驗規劃流程表：

每組實驗設計為22組，每組7隻，共需154隻。

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 實驗批次 | 隻數 | 實驗條件 | 腫瘤注射天數 |
| 1 | 7 | 對照組 | 14天 |
| 1 | 7 | 對照組 | 21天 |
| 2 | 7 | 第一種抗癌藥物 | 14天 |
| 2 | 7 | 第一種抗癌藥物 | 21天 |
| 2 | 7 | 第二種抗癌藥物 | 14天 |
| 2 | 7 | 第二種抗癌藥物 | 21天 |
| 2 | 7 | 第三種抗癌藥物 | 14天 |
| 2 | 7 | 第三種抗癌藥物 | 21天 |
| 2 | 7 | 第四種抗癌藥物 | 14天 |
| 2 | 7 | 第四種抗癌藥物 | 21天 |
| 3 | 7 | 優勢抗癌藥物之一+劑量改變 | 14天 |
| 3 | 7 | 優勢抗癌藥物之一+劑量改變 | 21天 |
| 3 | 7 | 優勢抗癌藥物之二+劑量改變 | 14天 |
| 3 | 7 | 優勢抗癌藥物之二+劑量改變 | 21天 |
| 3 | 7 | 優勢抗癌藥物之三+劑量改變 | 14天 |
| 3 | 7 | 優勢抗癌藥物之三+劑量改變 | 21天 |
| 4 | 7 | 二種優勢抗癌藥物組合一 | 14天 |
| 4 | 7 | 二種優勢抗癌藥物組合一 | 21天 |
| 4 | 7 | 二種優勢抗癌藥物組合二 | 14天 |
| 4 | 7 | 二種優勢抗癌藥物組合二 | 21天 |
| 4 | 7 | 二種優勢抗癌藥物組合三 | 14天 |
| 4 | 7 | 二種優勢抗癌藥物組合三 | 21天 |

**十一、請以實驗動物應用3Rs之精緻化原則，說明實驗中所進行之動物實驗內容：**

**（一）實驗物質之投予、採樣方法及其頻率：**

A、藥物名稱:藥物組合包括Etoposide或Cisplatin或篩選出的優勢抗癌藥物及組合

 劑量: 待二維及三維細胞培養實驗結果訂定，每次100μl

 給予途徑:以尾靜脈注射方式進行給藥

B、裸鼠血液濃度評估

腫瘤接踵：動物實驗步驟將遵守動物照護與使用手冊，並得到實驗動物照護與使用小組批准。異種移植使用所純化並培養的子宮頸神經內分泌癌細胞；癌細胞以細胞密度1x106 顆/毫升，單一注射體積100 ml 至裸鼠右後肢皮下，當皮下腫瘤長至直徑0.5 公分時，老鼠將隨機被分成數組進行處理，當10-14 天後，腫瘤長至體積75 mm3時，開始進行藥物試驗。

藥物投遞：藥物實驗分組依據前述實驗設計執行。

(1) 實驗組為將經二維及三維細胞培養後所選定的藥物組合載藥複合微粒溶液(100 μL)以靜脈注射方式由裸鼠尾部注入，藥物注射量為待二維及三維細胞培養實驗結果訂定。

(2) 於注射藥物後的2、8、24小時進行尾部抽血取樣，並以HPLC分析血液樣品中經二維及三維細胞培養後所選定的藥物組合的濃度，得到藥物隨時間於裸鼠體內的濃度變化關係。另一方面，於注射藥物後的24小時，利用活體影像系統觀察載藥複合微粒(將少量Cy5.5包覆於載藥微粒內部)累積於腫瘤組織內之螢光顯影，隨即將裸鼠犧牲，進行組織切片及染色以獲得藥物於鼠體內各器官之分布資訊。

C、抗腫瘤效果評估:

以皮下注射方式種入實驗裸鼠 (擬購自國家實驗動物中心)背部右側，待其腫瘤長至25 mm3時，將經二維及三維細胞培養後所選定的藥物組合的複合微粒懸浮液100 μL，固定藥物總劑量為10 mg/kg，分別於治療的當天與五天後給藥)，由老鼠尾部以靜脈注射方式注入，由第一次注射藥物後開始計算視為day 0 (D0)，之後每天紀錄腫瘤大小及裸鼠體重變化，觀察裸鼠生長情形，持續20天。

**（二）動物之保定、禁食、禁水、限制行動（如代謝籠、跑步機、行為實驗）的方法及時間：**

 **若動物需長時間保定（超過四小時），請說明所用之器械與方法：**
投藥及採血取樣前將小鼠固定於壓克力保定器中並給予適當保溫（暖光燈照射或保溫台），操作時間於20分鐘內完成，儘量縮短動物保定時間，降低動物緊迫/不適感。定量血液中藥物實驗，於注射藥物後的2、8、24小時進行尾部抽血取樣，每次採血約0.01-0.05 mL。

**（三）麻醉（鎮靜）方法、劑量、投藥、手術方式與麻醉（手術）後的照護：**

 麻醉方式乃是利用氣麻機搭配氣體麻醉(Isoflurane, 氧氣4% )，首先先在壓克力箱將動物利用氣麻昏迷，再將動物送至直流電動物保溫墊的平台(37oC)並架設鼻吸式動物氣麻系統，以利腫瘤接種，如前述異種移植所純化培養的子宮頸神經內分泌癌細胞，以細胞密度1x106 顆/毫升，單一注射體積100 l 至鼠右後肢皮下，當皮下腫瘤長至直徑0.5 公分時，老鼠將隨機被分成數組進行處理，當10-14 天後，腫瘤長至體積75 mm3時，開始進行藥物試驗注射藥物乃利用尾靜脈注射，注射後，將利用耳標分組，並註記治療內容，在手術過後將會把老鼠放回鼠籠並使用保溫燈照射，避免老鼠失溫而引起身體不適，等待老鼠全數回復清醒並觀察是否能正常活動，等到確認全數皆無異狀再送回至動物飼養場所，並每天觀察老鼠體重、初步外觀與行為。而進行動物體內腫瘤累積量的測試，主要的方法乃為於動物皮下兩側種植腫瘤，當腫瘤成形後，將藥物利用靜脈注射於動物體中，再利用活體螢光觀察(IVIS)來評估藥物於腫瘤的累積量，瞭解於體內的情形。

**（四）如何使動物之緊迫或疼痛降至最低（例如：使用鎮靜劑或止痛劑、添加環境豐富化物件等，並依疼痛標準級別與實驗目的，描述動物疼痛處理方式)：**

1. 為增進動物福祉及實驗精緻化，動物於實驗動物房飼養期間，會給予築巢紙、巢料片、滅菌積木條，讓動物滿足包括覓食、築巢、尋求隱蔽…等本能需求，並使動物表現正常生理，避免動物因長期飼養於飼育盒中所可能產生異常的行為(原地繞圈、過度打鬥、刻版行為)與不正常的身心發展(過度理毛、門齒過長)，進而影響到內分泌或免疫系統異常。
2. 實驗過程中動物若因腫瘤生成或手術切除產生痛苦，若疼痛標準級別達到「中等程度」（Morton and Griffiths 的五項評估），我們將會選擇使用止痛劑緩解緊迫與疼痛，若達到「中等程度」以上且無法恢復者，基於動物福利考量，動物將會儘速實行人道安樂死。

實驗後觀察腫瘤生成的過程，特別觀測動物是否因為腫瘤的生成而有任何不適或者疼痛的反應，實際上會根據動物體重是否有大幅度的減少(飲食情形)，身體拱背姿勢的情況，另外，動物呼吸的頻率以及是否有震顫和痙攣的現象等，還有與其他動物間的互動和對於刺激是否有反應等，藉由以上的觀察來了解動物因為腫瘤生成的疼痛程度。爾後，根據動物疼痛強度給予舒緩，從低到高的疼痛強度施予單一止痛劑Carprofen (5 mg/kg, q24h, SC)，以減緩動物疼痛；此外，也可利用非藥物方式減低動物疼痛，例如：用大量柔軟的軟木墊料、更改餵食策略、調整室內照明和飼養溫度等，不當的環境皆會促使動物緊迫並使疼痛惡化，另一方面，透過我們的雙手對於動物的撫摸按摩和互動，也能轉移及舒緩動物的疼痛。

**（五）實驗預期結束之時機，以及動物出現何種異常與痛苦症狀時提前人道終止實驗：**

1.體重下降:快速失去原體重的15-20％、或成長期動物持續無增重、未監測體重但動物呈現惡病質及持續性肌肉消耗時。2.食慾不振:小型囓齒動物於24-36小時，或者小型囓齒類動物於3天僅攝食少量食物時(僅攝取部分之正常需求)。3.虛弱:無法自行餓時及飲水，但先需排除是否為麻醉後動物甦醒期，再評估是否因病或實驗等因素導致動物虛弱。4.身體器官的感染:呈現物理性指標及異常的血檢值，對藥物治療無良好反應且持續演變為全身性疾病時。5.腫瘤:生長超過動物原體重的10％，平均腫瘤直徑在小鼠超過20mm，或者腫瘤轉移或快速增長至潰爛，造成感染或壞死時。6.其他:器官臟器的失能，對治療無反應，或由獸醫師評估為癒後極差者，如(1)呼吸道系統:嚴重呼吸道感染、呼吸困難、發疳。(2)循環系統:嚴重貧血、無法控制的出血現象，(PVC低於15%)、黃疸。(3)消化道系統:疾病或實驗造成嚴重持續性嘔吐或下痢、阻塞、腸套疊、腹膜炎、腹圍擴大。(4)泌尿生殖系統:腎衰竭、腹腔積尿。(5)肌肉骨骼系統:肌肉損傷、骨骼受損、四肢無法行走。(6)神經系統:異常的中樞神經反應(抽蓄、顫抖、癱瘓、歪頭等)、無法有效控制疼痛。(7)其他:持續性的自殘行為、不癒合的傷口、嚴重影響動物進食飲水的病症、傳染性疾病末期、持續性低溫、明顯的器官及五官功能損傷、動物遭受窘迫及疼痛時的行為及生理現象等。若動物出現上述任一情況則會立即提前人道終止實驗。

**十二、請說明實驗結束後動物之處置方式（如復原處置、安樂死、屍體處理方法、轉讓…）：**

1. 放入動物前，先灌注CO2於可密閉之容器，關閉CO2後放入動物。
2. 再灌注CO2於瓶內約1-5分鐘，確定動物不動、不呼吸、瞳孔放大，關閉CO2後再觀察2分鐘確定死亡。

**動物屍體處理：**

屍體經高溫高壓滅菌處理後再將屍體集中於-20 oC冰櫃，並委託環安中心合格廠商進行清運處理。所有實驗動物之使用與操作均依據「實驗動物管理與使用指南」之規範進行。

**十三、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：

（一）實驗之危險性屬於 □生物危險 □放射線 □毒性化學危險

1、進行危險物品實驗施用之方法、途徑及場所：

2、針對實驗人員、實驗動物以及飼養環境所採行之保護措施：

3、實驗廢棄物與屍體之處理方式：

（二）如屬生物危險實驗，請陳述：

是否有生物安全委員會之核准資料： ■ 無 □有

（三）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。

■ 實驗不屬於放射線或毒性化學危險實驗

**申請人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。**

**(若有申請補助計畫需檢附「申請動物實驗倫理3R說明」時，請填寫附錄二)**

申請人簽名： 日期：

單位主管簽名： 日期：

**國立清華大學動物實驗計畫摘要**

填表日期： 109 年 12 月 27 日

**※如表格不敷使用，請自行加寬空格或增加頁數。**

計畫主持人姓名： 胡尚秀

實驗計畫名稱：**子宮頸神經內分泌癌之分子特徵比較與個人化多重化療藥物毒殺腫瘤晶片平台建立**

|  |
| --- |
| 於2018年公布的美國SEER統計報告指出1987-2012年間，婦科神經內分泌腫瘤的總發病率增加了4倍，然而在此25年之間，癌症治療有著明顯的進步，但在婦科神經內分泌腫瘤的總體存活上卻無差異。因此更有效的治療管理策略仍有待發。子宮頸神經內分泌癌被歸屬於小細胞肺癌的肺外變異種。近年依據基因組和轉錄組分析表現的一些研究發表已將小細胞肺癌鑑定出新的四個分子亞型，其特徵基因為ASCL1， NEUROD1， YAP1， 及POU2F3。然而，這些特徵在子宮頸神經內分泌癌或婦科神經內分泌癌中的分佈或表現尚未被詳細研究。因此，ASCL1、NEUROD1、及INSM1間的互動與調控，以及其他在小細胞肺癌的新生物標記和臨床試驗中的標靶藥物於子宮頸神經內分泌癌婦科神經內分泌癌的應用潛力皆有待注目研究。我們過去的研究已成功自罕見腫瘤組織分離培養5株子宮頸神經內分泌細胞及1株子宮內膜神經內分泌言細胞，已完成細胞特色鑑定及腫瘤球培養，並且利用這些細胞找出蛋白質生物標記與測試化療藥物效能。將以子宮頸神經內分泌癌3D腫瘤球晶片為試驗材料，並且規劃將篩選出的多重毒殺藥物組合以動物平台驗證其可行性。如動物實驗結果可驗證以3維腫瘤晶片篩選藥物的效能，將可大大提升多重毒殺藥物組合篩選效率，並有望為病人及醫師提供個人化多重毒殺藥物組合選項。因此，在本計畫將調查在小細胞肺癌的4分子亞型及其生物標記與試驗藥物於子宮頸神經內分泌癌或婦科神經內分泌癌關連性與臨床應用性。同時在此計畫期望能整合應用個人化醫學方案，建立一FDA核准婦癌與小細胞肺癌化療藥物及標靶藥物快速篩選系統：透過癌組織細胞純化培養，藉由次世代基因定序及RNA定序分析基因變異與RNA表現，篩選FDA核准婦癌與小細胞肺癌化療藥物及標靶藥物組合，將多重毒殺藥物組合以3D腫瘤晶片測試其細胞毒殺效能及腫瘤穿透能力，篩選出能有效抑制毒殺腫瘤的多重毒殺藥物組合，有以下目標: (1)鑑定子宮頸神經內分泌癌之小細胞肺癌亞型特徵分佈與關聯性(2)次世代定序子宮頸神經內分泌癌細胞之基因體與RNA序列(3)建立FDA核准婦科癌症及小細胞肺癌藥物(4)建立高通量腫瘤微球晶片並測試藥物毒殺效能(5)以動物模式驗證毒殺藥物或多重毒殺藥物效能此計畫將可望建立為患病人數逐漸提升的子宮頸神經內分泌癌提供更多個人化的治療選擇。 |

本人保證以上所填資料完全屬實

 計畫主持人簽名：

**附件一 (若有申請補助計畫需檢附3R說明時，請填寫本說明。)**

**動物實驗人道管理替代、減量及精緻化(3R)說明**

本研究計畫涉及動物實驗，已考量「替代（Replace）」、「減量（Reduce）」及「精緻化（Refine）」之3R精神，將實驗設計最佳化，並說明如下：

**一、3R原則：**

■本實驗計畫已經本人及機構內「實驗動物照護及使用委員會（或小組）」詳實審查，無其他替代方案。

■本實驗計畫已經本人及機構內「實驗動物照護及使用委員會（或小組）」詳實審查，已使用最少數量動物。

■本實驗計畫已經本人及機構內「實驗動物照護及使用委員會（或小組）」詳實審查，已做到精緻化，或動物福利最佳化。包含：

■已考慮並要求執行動物疼痛評估

■已考慮並要求執行適當減輕動物痛苦方式（如：■麻醉劑、■止痛劑、■設定人道安樂死時機）

□其他(請說明)：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

**二、教育訓練：**

為促進3R精神之落實，本研究實際負責進行動物實驗之相關人員之教育與訓練經歷：

■實驗動物人道管理(例如：動物福利、3R原則)

■實驗專業技術訓練

□其他(請說明) ：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

**三、使用動物來源：**

為確保本研究計畫實驗品質與效益，本實驗之動物來源為：

■ AAALAC認證繁殖機構＿國家實驗動物中心

□其他繁殖機構＿＿＿＿＿＿＿＿(請註明名稱及地址等)

□其他（請說明）\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

**四、監督機制：**

為確保實驗品質與效益，本研究計畫相關動物實驗之監督機制為：

■「實驗動物照護及使用委員會(或小組)」，隸屬機構層級 校級

■召集人職稱 生命科學院院長

■已設置專責專職獸醫師，並參與計畫審查及動物照護與管理

■計畫審查已包括外部委員

**五、行政院農業委員會最近一次實地查核本機構「動物科學應用」之評比紀錄：**

□優、□良、■尚可、□較差，查核年度： 107 年 （請附相關公文書）

**六、若行政院農業委員會最近一次實地查核本機構「動物科學應用」之評比為「較差」，建議改善事項之改善情形說明如下**：