

# 台北榮民總醫院動物實驗申請表

91.10.15 訂定  
98.7.10 修正

核准編號： IACUC  
2011-015

## 一、計畫主持人及研究計畫相關資料：

主持人：洪成志	單位：精神部	職稱：主治醫師
電話：02-28757027#304	行動電話：0919996260	實驗室電話： 02-28757027#266
電子郵件：cjhong@vghtpe.gov.tw		
協同主持人： <small>(若無則免填)</small>	單位：	職稱：
電話：	行動電話：	實驗室電話：
電子郵件：		
計畫名稱(中文)：以習得無助的動物模式研究睡眠不穩定性		
類別： <input checked="" type="checkbox"/> 醫學研究類 <input type="checkbox"/> 藥物及疫苗類 <input type="checkbox"/> 教學訓練類 <input type="checkbox"/> 健康食品類 <input type="checkbox"/> 其他 _____		
經費來源： <input type="checkbox"/> 國科會 <input type="checkbox"/> 國衛院 <input type="checkbox"/> 衛生署 <input type="checkbox"/> 中研院 <input type="checkbox"/> 本院		
<input checked="" type="checkbox"/> 其他 榮總台灣聯合大學合作研究計畫		
執行期限： 100 年 01 月 01 日 至 100 年 12 月 31 日 (請填西元年)		

## 二、執行動物實驗人員之相關資料：

姓名	職稱/電話	動物實驗經驗	教育與訓練經歷
1. 郭忠訓	研究助理 28757027#266	<input checked="" type="checkbox"/> 有， <u>3</u> 年 <input type="checkbox"/> 無，由_____指導	<input checked="" type="checkbox"/> 有： <u>陽明大學腦科所</u> <input type="checkbox"/> 無
2. 郭書璋	研究助理 28757027#269	<input checked="" type="checkbox"/> 有， <u>5</u> 年 <input type="checkbox"/> 無，由_____指導	<input checked="" type="checkbox"/> 有： <u>陽明大學解剖所</u> <input type="checkbox"/> 無

## 三、動物來源及使用量相關資料：

動物別	品系	每年使用數量	動物來源
小鼠(mice)	C57BL/6J	240	國家實驗動物中心

- 4、動物飼養(複選)： 由動物室專人負責  由實驗室人員負責。請說明動物飼養背景與訓練：  
\_\_\_\_\_  由託養場所負責。請說明其設備與飼養管理措施，與其核准之證明文件：  
\_\_\_\_\_

五、動物實驗性質、目的、方法與步驟：

1. 實驗性質 (複選)： 試藥投予  獲取材料  遺傳繁殖  外科實驗  行為觀察  
 危險性實驗 (請加填第九項)  其他 \_\_\_\_\_

2. 請簡述本研究之目的：

臨床上，憂鬱症常伴隨著睡眠障礙，呈現入睡困難，睡眠中斷，早醒或多夢等症狀。換言之，憂鬱症患者的睡眠呈現不穩定現象。過去藉由睡眠期的生理訊號分析，得知憂鬱症患者睡眠時的中樞與自主神經皆呈現過度活化狀態。以中樞神經而言，憂鬱症患者其睡眠時的腦波呈現慢波睡眠減少及快速動眼期出現的頻率增加。以自主神經而言，憂鬱症患者其睡眠的交感神經呈現興奮狀態。我們之前的研究也證實，經由測量睡眠時，呼吸與心跳的偶合程度(穩定性)，可以來偵測並定量憂鬱症患者睡眠不穩定性及失眠的嚴重程度。然而，目前對於憂鬱症狀如何影響睡眠的穩定性仍不清楚。鑑於臨床實驗上，很難以追蹤方式來探討憂鬱症發生前後的睡眠生理的變化。因此，我們提出這個計劃：以習得無助的動物憂鬱症模式，評估習得無助小鼠的睡眠不穩定性。

目的：

- (1)建立小鼠電生理訊號紀錄方法。
- (2)以習得無助實驗方法建立小鼠之憂鬱症模式。
- (3)以多重生理訊號分析測量習得無助小鼠的睡眠不穩定性並探討不同程度之習得無助是否對睡眠不穩定性有影響。

3. 簡述實驗地點、內容、方法、劑量與步驟 (含保定、投藥、注射、麻醉、手術及術後照顧)，並簡述本實驗使用動物最少需求數量之必要性。

- (甲)長時間保定(超過四小時)?  無  有(請說明所用之器械與方法)  
(乙)對動物投予藥物?  無  有(請簡述藥物名稱、投予路徑、劑量與頻率)  
(丙)實驗含外科程序?  無  有(請簡述麻醉方法、劑量、投藥方式與手術後照顧)

**A. Surgery for polysomnography recordings**

Mice will be placed in the anesthetic box and anesthetized with the volatile anesthetics Isoflurane (3.5-4.5 % for Induction; 1.5-3% for maintenance), then placed into the stereotaxic apparatus. Recording electrodes for polysomnography will be implanted under isoflurane anesthesia. The dorsal surface of the skull will be exposed and cleaned. Four stainless steel screws will be driven bilaterally for fixed the recording electrode with dental cement. The ECG will be obtained via a pair of microwires placed under the skin of the dorsal part of the body; one between the cervical and thoracic levels, and the other at the lumbar level. Following suturing to complete the surgery, dental cement will be applied to fasten the connection socket to the surface of the skull. During dental cement application, continuous monitoring of the physiologic signals will be made to ascertain that the micro wires are fixed. After surgery, the mice will rest for recovery in home-cage for 7 days.

**B. The Learned Helplessness paradigm**

On day 1, mice will be subjected to a pre-shock escape screening. On days 2-4, mice will be subjected to inescapable shock on a grid floor in a plexiglass box with the tail fixed by tape. Scrambled electric shocks will be delivered onto the grid floor, which is made of stainless steel bars (3 mm in diameter, spaced 0.5 cm apart). Learned helplessness will be induced by administering 90 inescapable foot-shocks (0.6 mA, 100V, 5 seconds/shock) in 8 hours per day with a



from inter-shock interval (range 2-6 minutes) in day time(10am-6pm). Post-shock escape test will be performed on the 5th day. In the pre-shock escape screening test and post-shock escape test, mouse will be placed in an automatically controlled two-way shuttle box (PsyLab auto-control shuttle box). A 4-second sound cue will be delivered before a 2-second electric shock (0.6mA). A gate was inserted into the box, dividing it into two equal compartments. When tested mouse escapes by crossing over the hurdle, the trial stops and the latency of escape is recorded automatically. If escape was not made in 30 seconds, the trial was recorded as a failure. A test consists of 30 trials and every trial is separated with 30-seconds rest

### C. Experiment Group

#### 1. Surgery group –

There are 30 mice for practicing surgery for implanting recording electrodes and polysomnography recordings.

#### 2. Learned Helplessness group –

There are 30 mice for setting up or modifying the learned helplessness paradigm for mice with recording electrodes.

#### 3. Experiment group –

##### (1) Polysomnography Group –

We will record and analyze the ECG, EEG, EMG, and sleep state among learned helplessness, non learned helplessness, and control group. There are 30 mice in each group, and there are 90 mice total.

##### (2) Gene expression group –

After learned helplessness paradigm, we will sacrifice those mice and extract total RNA and protein from brain tissue. We will measure the gene and protein expression among learned helplessness, non learned helplessness, and control group. There are 30 mice in each group, and there are 90 mice total.

六、請說明擬使用活體動物 (而非其他非活體實驗模擬) 模式之必要性 (可複選):

無替代實驗方法     替代實驗方法耗時費力     替代實驗方法的準確度不夠

七、實驗方法是否會造成動物持久之痛苦?     是     否

如是, 請說明疼痛處理、照顧辦法及使動物痛苦降至最低的方法 (可複選):

輸液療法     保溫     流質食物     處方飼料     傷口治療     鎮痛劑     抗生素

八、請說明實驗結束後動物之處置方式 (可複選): 1. 復原處置  : \_\_\_\_\_

2. 安樂死的方法:  過量注射巴比妥鹽類     二氧化碳     麻醉狀態下頸椎脫臼  
 麻醉狀態下斷頭     麻醉狀態下靜脈注射氯化鉀     麻醉狀態下採(放)血致死

3. 動物屍體處理方式:  委託動物中心處理     其他 \_\_\_\_\_

九、是否含危險性實驗, 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, 請填下列資料:

1. 實驗之危險性屬於  生物危險性     放射線危險性     毒性化學危險性

2. 請簡要陳述生物危險實驗:

(甲) 進行危險物品實驗施用之方法、途徑及場所。

(乙) 針對實驗人員、實驗動物以及周邊人畜環境所採行之保護措施。

(丙) 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:

尚未申請     已申請, 審核中     通過認可

本院生物實驗安全委員會建議：

本院生物實驗安全委員簽名：\_\_\_\_\_ 日期：\_\_\_\_\_

本院輻射防護委員會建議：


本院輻射防護人員簽名：\_\_\_\_\_ 日期：\_\_\_\_\_

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\_\_\_\_\_

十、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。

主持人簽章：  日期： 2010.12.29

單位主管簽章：  日期： 2010.12.20.