

Inventaris Wob-verzoek W16-07S									
		wordt verstrekt				weigeringsgronden			
nr.	document	reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1
	NTS2015350								
1	Aanvraagformulier				x		x	x	
2	Projectvoorstel				x		x	x	
3	Niet-technische samenvatting	x							
4	Bijlage beschrijving dierproeven 1,2,3				x		x	x	
5	DEC-advies				x		x	x	
6	Ontvangstbevestiging				x		x	x	
7	Verzoek aanvulling				x		x	x	
8	Aanvulling onderzoeker				x		x	x	
9	Mails voorgenomen besluit 2-2-2016				x		x	x	
10	Advies CCD		x						x
11	Beschikking en vergunning				x		x	x	
12	Mail beschikking 5-2-2016				x		x	x	
13	Mail terugkoppeling DEC 9-2-2016				x		x	x	



16 DEC. 2015

AVD 103002015350

Aanvraag Projectvergunning Dierproeven Administratieve gegevens

- U bent van plan om één of meerdere dierproeven uit te voeren.
- Met dit formulier vraagt u een vergunning aan voor het project dat u wilt uitvoeren. Of u geeft aan wat u in het vergunde project wilt wijzigen.
- Meer informatie over de voorwaarden vindt u op de website www.zbo-ccd.nl of in de toelichting op de website.
- Of bel met 0900-2800028 (10 ct/min).

1 Gegevens aanvrager

1.1	Heeft u een deelnemernummer van de NVWA? <i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>	<input checked="" type="checkbox"/> Ja > Vul uw deelnemernummer in <input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen	
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	Naam instelling of organisatie	Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen
		Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[REDACTED]
		KvK-nummer	4 1 0 5 5 6 2 9
1.3	Vul de gegevens van het postadres in. <i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i>	Straat en huisnummer	Geert Grooteplein 10
		Postbus	9101, [REDACTED]
		Postcode en plaats	6500HB Nijmegen
		IBAN	NL90ABNA0231209983
		Tenaamstelling van het rekeningnummer	UMC st Radboud
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED] <input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
		Functie	[REDACTED]
		Afdeling	[REDACTED]
		Telefoonnummer	[REDACTED]
		E-mailadres	[REDACTED]
1.5	<i>(Optioneel)</i> Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED] <input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.
		Functie	[REDACTED]
		Afdeling	[REDACTED]
		Telefoonnummer	[REDACTED]
		E-mailadres	[REDACTED]

- 1.6 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de persoon die er verantwoordelijk voor is dat de uitvoering van het project in overeenstemming is met de projectvergunning.
- (Titel) Naam en voorletters Dhr. Mw.
- Functie
- Afdeling
- Telefoonnummer
- E-mailadres
- 1.7 Is er voor deze projectaanvraag een gemachtigde?
- Ja > Stuur dan het ingevulde formulier *Melding Machtiging* mee met deze aanvraag
- Nee

2 Over uw aanvraag

- 2.1 Wat voor aanvraag doet u?
- Nieuwe aanvraag > Ga verder met vraag 3
- Wijziging op (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
- Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.2
- Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
- Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.3
- 2.2 Is dit een *wijziging* voor een project of dierproef waar al een vergunning voor verleend is?
- Ja > Beantwoord dan in het projectplan en de niet-technische samenvatting alleen de vragen waarop de wijziging betrekking heeft en onderteken het aanvraagformulier
- Nee > Ga verder met vraag 3
- 2.3 Is dit een *melding* voor een project of dierproef waar al een vergunning voor is verleend?
- Nee > Ga verder met vraag 3
- Ja > Geef hier onder een toelichting en ga verder met vraag 6

3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?
- Startdatum 14 _ 01 _ 2016
- Einddatum 14 _ 01 _ 2021
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Adoptive T cell therapy and DC vaccination in hematological malignancies
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Immuuntherapie tegen kanker: van ontwikkeling naar doelgerichte behandeling
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- Naam DEC RU DEC
- Postadres Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen
- E-mailadres

4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het?
- | | |
|--|------|
| <input checked="" type="checkbox"/> Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 741,00 | Lege |
| <input type="checkbox"/> Wijziging € | Lege |
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.
- | |
|---|
| <input checked="" type="checkbox"/> Via een eenmalige incasso |
| <input type="checkbox"/> Na ontvangst van de factuur |
- Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.*

5 Checklist bijlagen

- 5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?

Verplicht
<input type="checkbox"/> Projectvoorstel
<input checked="" type="checkbox"/> Niet-technische samenvatting
Overige bijlagen, indien van toepassing
<input type="checkbox"/> Melding Machtiging
<input checked="" type="checkbox"/> DEC advies, factuurinformatie

6 Ondertekening

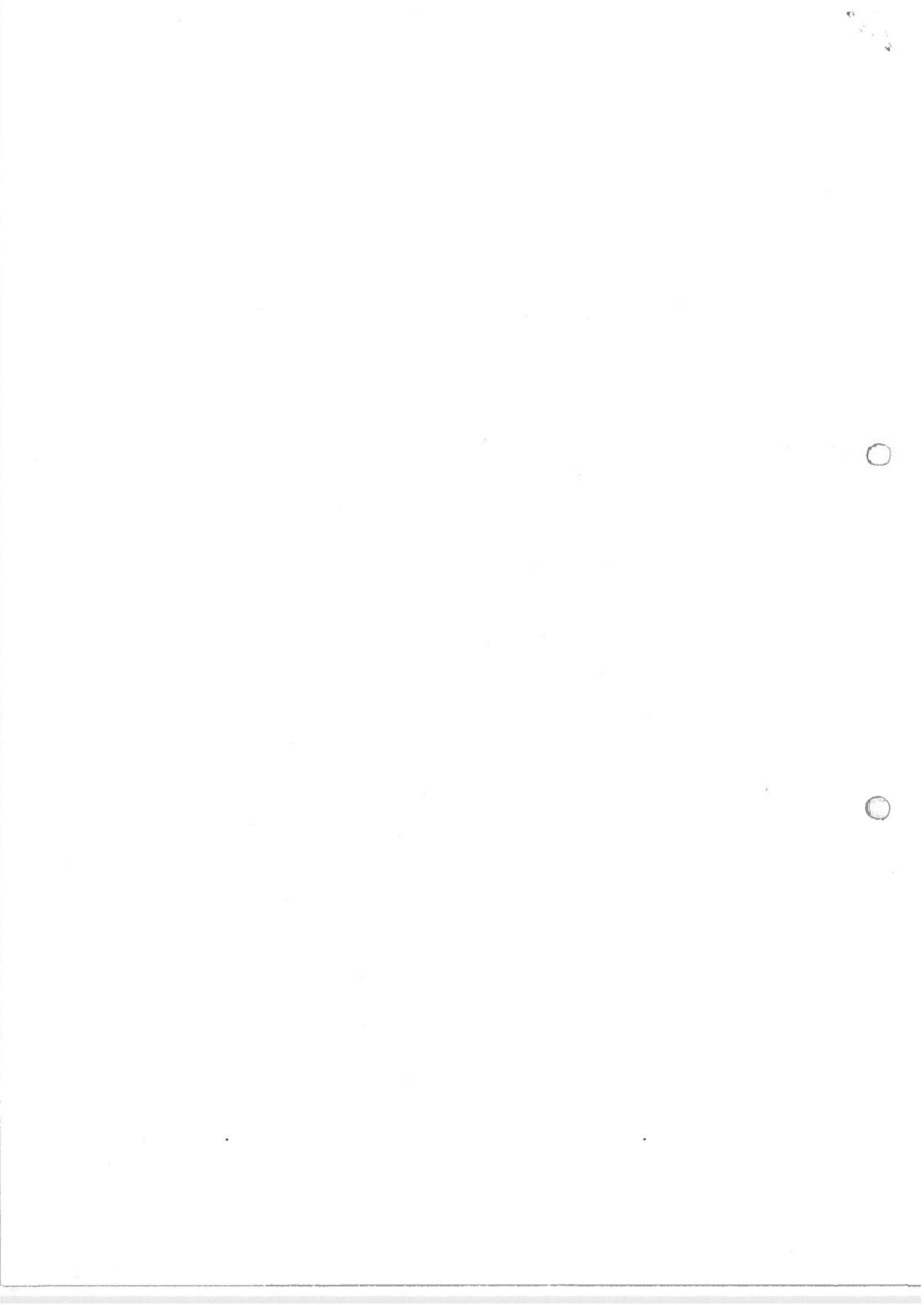
- 6.1 Print het formulier uit, onderteken het en stuur het inclusief bijlagen via de beveiligde e-mailverbinding naar de CCD of per post naar:

Centrale Commissie
Dierproeven
Postbus 20401
2500 EK Den Haag

Ondertekening door de instellingsvergunninghouder of gemachtigde (zie 1.6). De ondergetekende verklaart:

- dat het projectvoorstel is afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.
- dat de personen die verantwoordelijk zijn voor de opzet van het project en de dierproef, de personen die de dieren verzorgen en/of doden en de personen die de dierproeven verrichten voldoen aan de wettelijke eisen gesteld aan deskundigheid en bekwaamheid.
- dat de dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU, behalve in het voorkomende geval de in onderdeel F van de bijlage bij het bij de aanvraag gevoegde projectvoorstel gemotiveerde uitzonderingen.
- dat door het ondertekenen van dit formulier de verplichting wordt aangegaan de leges te betalen voor de behandeling van de aanvraag.
- dat het formulier volledig en naar waarheid is ingevuld.

Naam	[REDACTED]
Functie	[REDACTED]
Plaats	Nijmegen
Datum	14 - 12 - 2015
Handtekening	[REDACTED]



Form Project proposal

- This form should be used to write the project proposal of animal procedures.
- The appendix 'description animal procedures' is an appendix to this form. For each type of animal procedure, a separate appendix 'description animal procedures' should be enclosed
- For more information on the project proposal, see our website(www.centralecommissiedierproeven.nl).
- Or contact us by phone (0900-2800028).

1 General information

1.1	Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.	10300
1.2	Provide the name of the licenced establishment.	Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen
1.3	Provide the title of the project.	Adoptive T cell therapy and DC vaccination in hematological malignancies

2 Categories

2.1	Please tick each of the following boxes that applies to your project.	<input checked="" type="checkbox"/> Basic Research <input checked="" type="checkbox"/> Translational or applied research <input type="checkbox"/> Regulatory use or routine production <input type="checkbox"/> Research into environmental protection in the interest of human or animal health or welfare dier <input type="checkbox"/> Research aimed at preserving the species subjected to procedures <input type="checkbox"/> Higher education or training
-----	---	---

Forensic enquiries

Maintenance of colonies of genetically altered animals not used in other animal procedures

3 General description of the project

3.1 Background

Describe the project (motivation, background and context) with respect to the categories selected in 2.

- For legally required animal procedures, indicate which statutory or regulatory requirements apply (with respect to the intended use and market authorisation).
- For routine production, describe what will be produced and for which uses.
- For higher education or training, explain why this project is part of the educational program and describe the learning targets.

The immune system is a powerful defense mechanism against foreign pathogens, but also against altered or damaged cells, such as cancer cells. The innate immune system, including natural killer (NK) cells and dendritic cells, is the first line of defense and has the power to quickly respond to danger signals. Subsequently, potent innate antigen-presenting cells (like dendritic cells) activate adaptive immune effector cells, including T cells. These effectors have the potential to generate long-lasting protective immunity. Nevertheless, in cancer major dysregulation of the immune system is observed. Despite initial success of standard therapies, still too many patients have progressive disease or develop relapse. This indicates the urgency to develop novel potent therapies to boost and support anti-tumor immunity. In our project we mainly focus on hematological cancers, which account for approximately 7% of all newly diagnosed cancers in Europe and are categorized in four major groups: acute leukemia's, chronic leukemia's, malignant lymphomas and plasma cell malignancies. However, our immunotherapeutic strategies could also be applied in other cancers.

Allogeneic stem cell transplantation (allo-SCT) is a potent cellular immunotherapy due to donor-derived graft-versus-tumor responses mediated by T cells and NK cells.(1) These immune cells have the potential to competently eliminate residual tumor cells, mediating long-term remission and possibly cure of the disease.(2) However, allo-SCT is associated with high morbidity and mortality due to conditioning-related toxicity, infections and graft-versus-host-disease. Furthermore, in many patients the induction and/or reactivation of anti-tumor responses is inadequate, and tumor cells exploit immune suppressive mechanisms to escape anti-tumor immune responses. Therefore, potent new and/or improved immunotherapies are required to boost anti-tumor immunity to prevent patients from developing progressive or relapsed disease.(2)

T cells can be used as therapy against hematological malignancies. However, it is essential that these T cells recognize and attack only the malignant cells. This would generate a specific, effective and safe treatment. Especially in the setting of allo-SCT, donor T cells could also recognize and destruct healthy patient' cells, most often in the skin, liver, intestinal tract and lungs. This severe complication is called graft-versus-host-disease, and can be fatal for the patient. In the non-transplant setting recognition of antigens expressed by healthy tissues could induce autoimmunity. Therefore, it is essential to specifically target antigens expressed by the tumor cells (or the patient hematological cells in the setting of allo-SCT), such as tumor antigens or minor histocompatibility antigens.(3, 4) This would boots the anti-tumor effect without risk of inducing graft-versus-host-disease or other autoimmune-based side effects. To generate T cells recognizing only the antigen of interest, different strategies can be applied. Either in vitro culturing with dendritic cells presenting the antigen of interest, or gene-modification of T cells with T cell receptors (TCRs) for the

specific antigen. Both strategies will be used in this project to investigate T cell therapy against hematological malignancies, where the efficacy of targeting different antigens will be investigated.

Notably, besides antigen-specificity, also high T cell potency is essential. When tumor-reactive T cells are generated in vitro, T cell differentiation is initiated resulting in mainly terminally differentiated effector T cells that become quickly exhausted. In contrast, early memory T cells have been shown to exhibit better proliferative and self renewal capacity, and might thereby exert a more potent anti-tumor effect. Therefore, to generate a potent therapeutic T cell product, we aim to inhibit T cell differentiation during the in vitro generation of tumor-reactive T cells. Previous in vitro and in vivo studies showed that inhibiting differentiation of T cells is a promising strategy to boost anti-tumor immunity which will be further investigated in this project.(5)

Moreover, to boost the effect of T cell therapy, or to induce a T cell response in vivo, dendritic cell-based vaccination can be used as a promising strategy (6-8). Dendritic cells are the most potent antigen-presenting cells of the immune system. In addition to their crucial role in T cell activation, crosstalk between dendritic cells and NK cells has also been shown to be highly important for proper anti-tumor immunity formation.(9, 10) Using dendritic cells to boost both T cells and NK cells could enhance both the direct innate immune defence, as well as the long-term immune protection against malignant cells.

Multiple clinical vaccination trials have been performed in the past two decades, where monocyte-derived dendritic cells are infused into patients for induction of anti-tumor immunity.(6) Although these trials have shown that dendritic cell vaccination is feasible, safe, and capable of promoting immune responses, only a minority of patients has clinical benefit. This illustrates the urgency for improved dendritic cell vaccine efficacy and potency. Natural occurring myeloid dendritic cell and plasmacytoid dendritic cell subsets are highly interesting for clinical exploration, as these dendritic cell types have the capacity to potentiate each others' T cell stimulatory potential via cross-talk. Using these natural subsets instead of monocyte-derived dendritic cells could greatly enhance the clinical responses. To efficiently generate clinical scale numbers of highly mature and functional dendritic cells, we developed a unique ex vivo culture protocol to generate these natural dendritic cell subsets from hematopoietic progenitor cells.(7) Moreover, this protocol creates the possibility to modify the dendritic cells for further functional improvements (e.g. via silencing of co-inhibitory molecules). Previous studies showed that these dendritic cell vaccines are a promising strategy to boost anti-tumor immunity which will be further investigated in this project.

References

1. Appelbaum FR. Haematopoietic cell transplantation as immunotherapy. *Nature*. 2001;411(6835):385-9.
2. Bachireddy P, Burkhardt UE, Rajasagi M, Wu CJ. Haematological malignancies: at the forefront of immunotherapeutic innovation. *Nature reviews Cancer*. 2015;15(4):201-15.
3. Spierings E. Minor histocompatibility antigens: past, present, and future. *Tissue antigens*. 2014;84(4):374-60.
4. [REDACTED]
5. [REDACTED]
6. [REDACTED]
7. [REDACTED]

8.

9. Ferlazzo G, Pack M, Thomas D, Paludan C, Schmid D, Strowig T, et al. Distinct roles of IL-12 and IL-15 in human natural killer cell activation by dendritic cells from secondary lymphoid organs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2004;101(47):16606-11.

10. Gerosa F, Gobbi A, Zorzi P, Burg S, Briere F, Carra G, et al. The reciprocal interaction of NK cells with plasmacytoid or myeloid dendritic cells profoundly affects innate resistance functions. *Journal of immunology*. 2005;174(2):727-34.

11.

12.

13.

14.

15.

16.

17.

3.2 Purpose

Describe the project's main objective and explain why this objective is achievable.

- If the project is focussed on one or more research objectives, which research questions should be addressed during this project?
- If the main objective is not a research objective, which specific need(s) does this project respond to?

Potent new and/or improved immunotherapies are required to boost anti-tumor immunity to prevent patients from developing progressive or relapsed disease. **Therefore, in this project we aim to study and improve additive therapies against hematological malignancies, focussing on tumor-reactive T cells and dendritic cell vaccination. To achieve this objective we use 2 different strategies:**

- 1. Improve the in vitro generation of tumor-reactive T cells (e.g. exploring the recognition of novel tumor-antigens, or inhibition of T cell differentiation).**
- 2. Improving dendritic cell vaccination to boost in vivo T cell and NK cell activation (e.g. by in vitro generation of dendritic cells, and boosting/modification of their stimulatory capacity).**

Experiments described in this project will answer the question whether these strategies are promising for subsequent clinical translation, which has proven very valuable for clinical translation in previous studies. We have obtained broad experience with this strategy of development and preclinical in vivo characterization of these immune therapies.

In the [REDACTED] we have long-standing experience with patient diagnostics, as well as investigation of tumor characteristics and tumor-reactive immune responses in patients with hematological malignancies. Furthermore, we develop and improve the anti-tumor potential of various key players (including T cells, NK cells and dendritic cells) essential in (the regulation of) immune protection against cancer. Our research encompasses basal studies that focus on gaining more insight into the development and differentiation of immune cells, as well as into the mechanisms underlying immune effector (dys)functionality.(4-8, 11-17) Furthermore, we perform translational studies to explore our novel potent immunotherapeutic approaches, either as monotherapy or in combination with other therapies for treatment of cancer.(4-8, 11-17) These studies contribute to novel treatment options for cancer patients. [REDACTED]

3.3 Relevance

What is the scientific and/or social relevance of the objectives described above?

This research will provide more insight into the function of the immune system in the battle against cancer, and explore novel immunotherapeutic strategies that can be used as monotherapy or potentiated in combination therapies. Our data will be published in peer-reviewed journals and will be presented at (inter)national conferences, thereby inform the scientific community and help them in their work.

Moreover, the results obtained in our research studies will contribute to the development and application of new immunotherapies in hematological cancer and could be further explored to other cancer fields. **In The Netherlands, 2000-3000 patients are diagnosed every year with a hematological malignancy. Though this varies between type of malignancy, relapse rates are up to 60%. For these patients the development of additional therapy is essential, where T cell and dendritic cell therapy could induce a long term anti-tumor response. By exploiting novel strategies on the kind of tumor antigen which is targeted, the different therapies developed in this application could be used to be able to treat as many patients possible.** The application of novel and more potent (combinations) therapies will eventually lead to improved cancer-free survival and improved quality of life, which is essential in these types of cancer. Additionally, curing cancer and prevention cancer relapse will positively impact healthcare costs.

3.4 Research Strategy

3.4.1 Provide an overview of the overall design of the project (strategy).

First, extensive in vitro studies will be performed to analyse the T cells and dendritic cells on different components of the strategies. These include for T cells their phenotype, transcriptome, in vitro expansion capacity, killing capacity. For the dendritic cells this includes their phenotype, stimulatory capacity towards T and/or NK cells, and cytokine production. Only promising cell products and (combination) strategies will be tested in animal models.

For dendritic cell therapy, we will study the survival and stimulatory capacity (as read out by T cell and/or NK cell number and phenotype) of the dendritic cells. In addition, we will study the anti-tumor effect (induced by the dendritic cells via the T cells and/or NK cells) in both tumour growth, as well as survival of tumour-bearing mice. This can be tested as a single product, or in comparison to other/previously tested cell products (e.g. monocyte-derived dendritic cells).

For the T cells, improvement of the T cell therapy product will be tested on their expansion capacity and phenotype upon adoptive transfer (e.g. after dendritic cell vaccination or tumor exposure). Moreover, we will test their anti-tumor effect (with or without dendritic cell vaccination) in both tumour load as well as survival of tumour-bearing mice. Lastly, we will test the self-renewal capacity of the T cells to test their long-term anti-tumour protection. Finally, successful T cell products and successful dendritic cell products can be combined in subsequent animal experiment for further research towards the optimal strategy.

For both the T cell products as well as the Dendritic cell products, the specific research question as well as in vitro data will be used to decide whether procedure 1 or 2 will be commenced first. If the first procedure is successful (e.g. significant effect between tested cell product and control setting), it will also be tested in the other procedure (Procedure 2 after successful procedure 1 and other way around). If the first procedure is unsuccessful, new in vitro data will first be generated to further optimize the cell product before further in vivo testing.

These strategies will be performed in several well established mouse models that are well running in the lab. The relevance and investigational strategy of these approaches are further described in section 3.4.2.

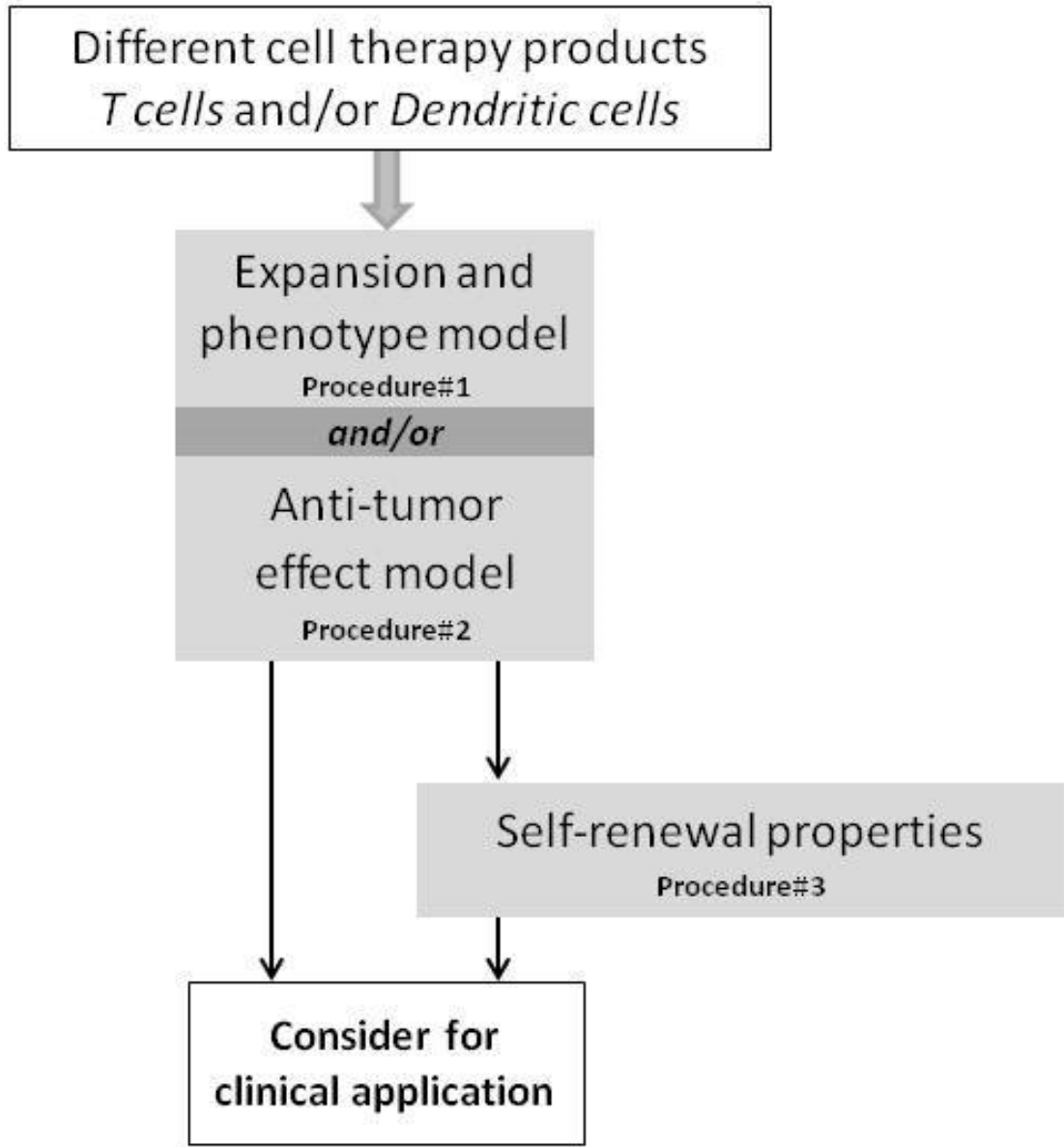


Figure Decision Tree. Strategy of testing the different immune cell products. The different products will be tested in procedure #1 and/or #2. With successful data in one or both of these procedures, the product could be considered for clinical application, or further tested for its self-renewal properties in procedure#3.

3.4.2 Provide a basic outline of the different components of the project and the type(s) of animal procedures that will be performed.

To investigate the potency of different T cell and dendritic cell products against cancer, we designed 3 different animal procedures that will allow us to address the following points:

Improving dendritic cell products for vaccination strategies

To improve dendritic cell products for a superior anti-tumor effect, we will explore the potency of dendritic cells generated from hematopoietic progenitor cells. Different strategies in the generation of the cells, as well as in modulation of improving their stimulatory capacity towards T and NK cells will be extensively studied *in vitro*. The successful products will then be investigated for their tumor-reactive T and/or NK cell activation-capacity *in vivo* (**procedure #1**). Furthermore, we will investigate the anti-tumor potency of the dendritic cell products via tumor-reactive T and/or NK cells against hematological malignancies (**procedure #2**). These will be tested compared to no, or control dendritic cells, which can be done with up to 6 groups of different cell products. If experiments are successful, combination of the different strategies (e.g. different dendritic cell subsets and silencing of co-inhibitory molecules) could be investigated.

Improving adoptive T cell products for adoptive transfer

To improve T cell therapy, we focus on the antigen-specificity of the T cells as well as their differentiation status. As mentioned, in T cell therapy, the choice of antigen is essential in the effectiveness and safety of the therapy. Exploring different strategies for the generation of tumor-reactive T cells (e.g. TCR-transduction), creates a new field of antigens. These different antigen-specific T cell products can be tested in (**procedure #1**) for their expansion capacity, and in (**procedure #2**) for their anti-tumor capacity. In addition, to improve the strength of T cells for adoptive therapy, differentiation of T cells is inhibited. After extensive *in vitro* analysis, the potent tumor-reactive T cell products will be tested *in vivo* for their expansion capacity and phenotype upon *in vivo* stimulation (**procedure #1**), as well as their anti-tumor effect against hematological malignancies (**procedure #2**). If sufficient improvement of the anti-tumor response against hematological malignancies and/or a successful expansion of the tumor-reactive T cells is observed in these experiments, we will study the self-renewal capacity of the T cells when T cell differentiation was inhibited. T cells with high self-renewal capacity will result in a long-term persistence of these cells in the patient, and could therefore give long-term protection against the malignant cells. This will be tested in a secondary transplant model (**procedure #3**), compared to control T cells, which can be done with up to 6 groups of different tumor-reactive T cell products. If experiments are successful, the combination of the different strategies (e.g. TCR transfer and inhibition of T cell differentiation, or different dendritic cell vaccinations) could be investigated.

3.4.3 Describe the coherence between the different components and the different steps of the project. If applicable, describe the milestones and selection points

In the development of immune therapies against hematological malignancies, this project focusses on T cells and dendritic cells. As dendritic cells instruct and guide the T cells towards the malignant cells, these therapeutic strategies are connected. In the

experiments to test and analyse therapeutic potential of the different T cell products, dendritic cells will be used to support and boost the T cells. Moreover, in the models to analyse the therapeutic potential of the dendritic cell products, their stimulatory effect on T and/or NK cells will be used for readout. For clinical application, adoptive T cell therapy and dendritic cell vaccination would favourably be combined as therapy.

In this project, the different immune cell products we will (after extensive *in vitro* studies (**go/no-go moment**)) evaluate their:

- (Induction of) Expansion and/or phenotype of T and/or NK cells upon *in vivo* stimulation
- Anti-tumor potential of/via tumor-reactive T cell and/or NK cell products against hematological malignancies
- When relevant, study the self-renewal capacity of the immune cell therapy products. The self-renewal capacity will only be studied when either the expansion or anti-tumor potential experiments showed promising data toward a successful strategy/therapy (**go/no-go moment**).

The procedures described in this application will let us determine the potency of the different cell products, to decide which products could be selected for further clinical development. After each experiment we will evaluate whether the therapeutic strategy/product is promising for the therapy of cancer (**go/no-go moment**). If the therapeutic cell products shows unfavorable or non-successful *in vivo* behavior this will serve as a no go for further evaluation. In case the product requires further optimization, new *in vitro* studies will be carried out before further animal studies will be performed.

Successful strategies will be combined in further *in vitro* experiments and *in vivo* animal models. The experiments described in this application will be allow us to test and select the best individual immune therapy products and test their combinations, which is essential for selection of the optimal strategies for clinical development.

3.4.4 List the different types of animal procedures. Use a different appendix 'description animal procedures' for each type of animal procedure.

Serial number	Type of animal procedure
1	#1 Expansion and phenotype model
2	#2 Anti-tumor effect model
3	#3 Self-renewal properties of T cells in secondary transplant model

Appendix

Description animal procedures

- This appendix should be enclosed with the project proposal for animal procedures.
- A different appendix 'description animal procedures' should be enclosed for each type of animal procedure.
- For more information, see our website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Or contact us by phone. (0900-2800028).

1 General information

1.1	Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.	10300	
1.2	Provide the name of the licenced establishment.	Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen	
1.3	List the different types of animal procedures. <i>Use the serial numbers provided in Section 3.4.4 of the Project Proposal form.</i>	Serial number 1	Type of animal procedure #1 Expansion and phenotype model

2 Description of animal procedures

A. Experimental approach and primary outcome parameters

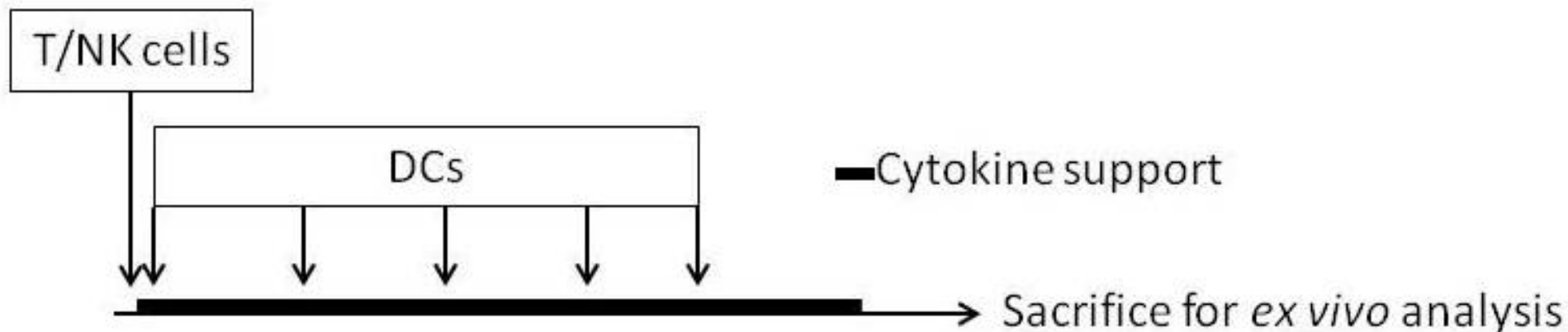
Describe the general design of the animal procedures in relation to the primary outcome parameters. Justify the choice of these parameters.

As it is important for a good anti-tumor effect that T cells proliferate well, and dendritic cells induce this proliferation, this model is performed to test the expansion capacity of T cells. In addition, the phenotype and function of T and NK cells will be investigated upon in vivo activation which will reveal more information on the immunological strength of the cell product. This will be performed for the different tumor-reactive T cell products, where we will compare the expansion/phenotype/function of different T cell products to each other. In addition this will be tested for the different dendritic cell products, where we will test the expansion/phenotype/function of tumor-reactive T and/or NK cells upon stimulation by different dendritic cell products. Therefore, immune deficient mice are infused with human (tumor-reactive) T or NK cells, which are then stimulated (to induce expansion) with dendritic cells. The primary outcome of the experiment is the ex vivo analysis (cell number, phenotype and function) of the T and/or NK cells.

This will be determined during the experiment via blood collections (e.g. tail vein punctures with a weekly interval), and upon sacrifice of the mice which will take place one week after the last dendritic cell vaccination.

These outcome parameters have successfully been used in previous studies performed [REDACTED] and by other international research groups.

The attached figure is a representative example of the model.



References

1. [REDACTED]
2. [REDACTED]
3. [REDACTED]
4. [REDACTED]
5. Gattinoni, L et al. A human memory T cell subset with stem cell-like properties. Nature Medicine 2011. 17(10). 1290-98

Describe the proposed animal procedures, including the nature, frequency and duration of the treatment. Provide justifications for the selected approach.

Mice are infused with T and/or NK cells (i.v., one or multiple infusions, max 3 infusions in 2 weeks) followed by dendritic vaccination (up to 6 vaccines, i.p. at 1 to 2 times per week). Previous experiments showed that dendritic cell vaccinations with weekly intervals are needed for antigen-specific T cell expansion in mice.

As we are working with immunodeficient mice which lack cytokine production, human cytokines are given for T and/or NK cell support (i.p. or s.c. max every 2-3 days, up to one week after last dendritic cell vaccine) (1-5). The maximum of an injection every 2-3 days is based on rhIL-15, which we currently use as a supportive cytokine for T cells. This is infused every 2-3 days due to the short half-life of rhIL-15 (6). Other cytokines could be tested in this model for optimisation and to reduce the number of injections, and thereby discomfort. As cytokine support is needed for NK and T cell persistence in immunodeficient mice, the maximum length of cytokine support will be 6 weeks, which is one week after the last dendritic cell vaccination.

T and/or NK cell expansion will be monitored by weekly blood collection (e.g. weekly tail puncture, max 100ul).

Mice are sacrificed for ex vivo analysis one week after the last dendritic cell vaccination, resulting in a maximum duration of the experiment of 6 weeks. If blood is collected at sacrifice, this is performed under anesthesia (e.g. via heart puncture).

References

1. Sun et al. Human Interleukin-15 Improves Engraftment of Human T Cells in NOD-SCID Mice Clin Vaccine Immunol. 2006. 13(2) 227-234
2. [REDACTED]
3. [REDACTED]

4. [REDACTED]

5. [REDACTED]

6. Hisataka Kobayashi, J et al. Differences of Biodistribution, Pharmacokinetics, and Tumor Targeting between Interleukins 2 and 15. CANCER RESEARCH 2000. 60. 3577–3583

Describe which statistical methods have been used and which other considerations have been taken into account to minimise the number of animals.

The different immune cell products will first be extensively tested in vitro before in vivo studies will be performed. Only the immune cell products with promising in vitro results will be selected for animal studies with appropriate conditions and their controls to reduce the number of mice.

The group size required for each experiments will be determined:

- According to previous in vitro and in vivo experiments performed in the group;
- According to the literature describing similar experimental designs;
- Using validated statistical approaches based on power calculation, expected effect of the treatment, standard deviation, number of comparisons, and read-out parameters.

B. The animals

Specify the species, origin, estimated numbers, and life stages. Provide justifications for these choices.

Species: Mouse. These are the lowest possible species to study the human immune system. To study human immune functions in mice we will use immune deficient strains lacking T, B and NK- cells, which will not reject injected human cells.

Origin and life stage: Mice of [REDACTED] or commercially available will be used at an age of 6-25 weeks at the start of experiments.

Sex: In these experiments both females and males will be used. However, to prevent differences caused by sex of the mice during inflammatory reaction (by for instance hormones and size of lymphoid organs), all mice within one experiment will be of the same sex.

Estimated number: Based on the number of animal experiments performed in previous years, and on the research plans we developed for the 5 forthcoming years, we estimate a need of 1200 mice in total (i.e. 8-10 mice per group, 2-6 groups per experiment, 15-20 experiments). **Each experiment will always have at least one control group and up to 5 groups of different modulated therapeutic products. An example would be control T cells and 5 different T cells products, each treated with a different modification protocol. The number of groups will be based on in vitro experiments in which different therapeutic products will be compared before experiments in vivo will be performed.**

This includes mice needed for experiments to optimize the model (e.g. testing new cytokines for support of T and NK cells) and for training of (new) art9 and art12 employees for the included procedures.

Species	Origin	Maximum number of animals	Life stage
Immunodeficient mice (e.g. NSG mice)	██████████ or commercially available	1200	6-25 weeks old

C. Re-use

Will the animals be re-used?

No, continue with question D.

Yes > Explain why re-use is considered acceptable for this animal procedure.

Are the previous or proposed animal procedures classified as 'severe'?

No

Yes > Provide specific justifications for the re-use of these animals during the procedures.

D. Replacement, reduction, refinement

Describe how the principles of replacement, reduction and refinement were included in the research strategy, e.g. the selection of the animals, the design of the procedures and the number of animals.

The amount of mice will first be minimized by doing extensive in vitro investigations into the different immune cell therapy products. In addition, only the most promising strategies will be considered for in vivo evaluation.

Replacement: Animal models are most often required in cancer research to validate and to translate a novel approach to the clinical situation. Following intensive in vitro studies, new approaches should be tested in vivo to mimic the in situ situation found in patients, what we achieve using mouse models. No established pre-clinical models in lower animal species are available for our research purpose.

Reduction: Particular attention is paid to the determination of the optimal size of each group, for each experiment that is required to reach statistical significance. Use of fewer animals could lead to inadequate interpretation of the results.

Refinement: To reduce anxiety, mice will be housed in groups and not individually. The general health of the animals will be monitored daily by the

researcher and/or the biotechnician. The methods that we use are well established and the experiments will be performed by experienced researchers. Previous research by our group and others has shown the translational value of this type of studies.

Explain what measures will be taken to minimise 1) animal suffering, pain or fear and 2) adverse effects on the environment.

To prevent discomfort due to stress, experiments are performed by experienced staff, and mice are housed in social housing. To minimize animal suffering, pain or fear, repeated injections will be made at different sites when possible. Humane endpoints will be monitored precisely.

Repetition and Duplication

E. Repetition

Explain what measures have been taken to ensure that the proposed procedures have not already been performed. If applicable, explain why repetition is required.

Non-applicable

Accommodation and care

F. Accommodation and care

Is the housing and care of the animals used in experimental procedures not in accordance with Annex III of the Directive 2010/63/EU?

No

Yes > If this may adversely affect animal welfare, describe how the animals will be housed and provide specific justifications for these choices.

G. Location where the animals procedures are performed

Will the animal procedures be carried out in an establishment that is not licenced by the NVWA?

No > Continue with question H.

G. Location where the animals procedures are performed

Yes > Describe this establishment.

Provide justifications for the choice of this establishment. Explain how adequate housing, care and treatment of the animals will be ensured.

Classification of discomfort/humane endpoints

H. Pain and pain relief

Will the animals experience pain during or after the procedures?

No > Continue with question I.

Yes > Will anaesthesia, analgesia or other pain relieving methods be used?

No > Justify why pain relieving methods will not be used.

The biotechnical procedures described here only include injections and do not require pain relief. However, terminal blood collection will be performed under anesthesia without recovery.

Yes > Indicate what relieving methods will be used and specify what measures will be taken to ensure that optimal procedures are used.

I. Other aspects compromising the welfare of the animals

Describe which other adverse effects on the animals welfare may be expected?

The following forms of discomfort can occur:

- 1) Pain and stress by injections, repeated injections or blood collections.
- 2) Pain and illness related to xenograft reactions.

Explain why these effects may emerge.

The pain, stress and discomfort in this experiment is mainly induced by (multiple) injections and blood collections. In addition, the human T cell could induce a xenograft reaction, where the human T cells attack the mouse tissues. This can particularly cause damage in the gut and skin of infused mice, resulting in diarrhea and bad fur conditions.

Indicate which measures will be adopted to prevent occurrence or minimise severity.

The general humane endpoints (**more than 20% weight loss**, hunched statue, bad fur condition, loss of activity) will apply.

J. Humane endpoints

May circumstances arise during the animal procedures which would require the implementation of humane endpoints to prevent further distress?

No > Continue with question K.

Yes > Describe the criteria that will be used to identify the humane endpoints.

General humane endpoints will be applied in all mouse experiments. Per experiment specific humane endpoints will be described in addition to the general humane endpoints, to be sure to prevent unnecessary suffering of the mice. **In this particular procedure the humane endpoints are then severe weight loss (>20%) and loss of activity.**

Indicate the likely incidence.

The incidence of the xenograft reaction, and thereby the expected incidence of the humane endpoints is very low (<1%)

K. Classification of severity of procedures

Provide information on the expected levels of discomfort and indicate to which category the procedures are assigned (non-recovery, mild, moderate, severe).

Moderate for all mice

End of experiment

L. Method of killing

Will the animals be killed during or after the procedures?

No

Yes > Explain why it is necessary to kill the animals during or after the procedures.

Mice will be sacrificed at the end of experiment for ex vivo analysis.

Is the proposed method of killing listed in Annex IV of Directive 2010/63/EU?

No > Describe the method of killing that will be used and provide justifications for this choice.

Yes

Appendix

Description animal procedures

- This appendix should be enclosed with the project proposal for animal procedures.
- A different appendix 'description animal procedures' should be enclosed for each type of animal procedure.
- For more information, see our website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Or contact us by phone. (0900-2800028).

1 General information

1.1	Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.	10300		
1.2	Provide the name of the licenced establishment.	Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen		
1.3	List the different types of animal procedures. <i>Use the serial numbers provided in Section 3.4.4 of the Project Proposal form.</i>	<table border="1"><tr><td>Serial number 2</td><td>Type of animal procedure #2 Anti-tumor effect model</td></tr></table>	Serial number 2	Type of animal procedure #2 Anti-tumor effect model
Serial number 2	Type of animal procedure #2 Anti-tumor effect model			

2 Description of animal procedures

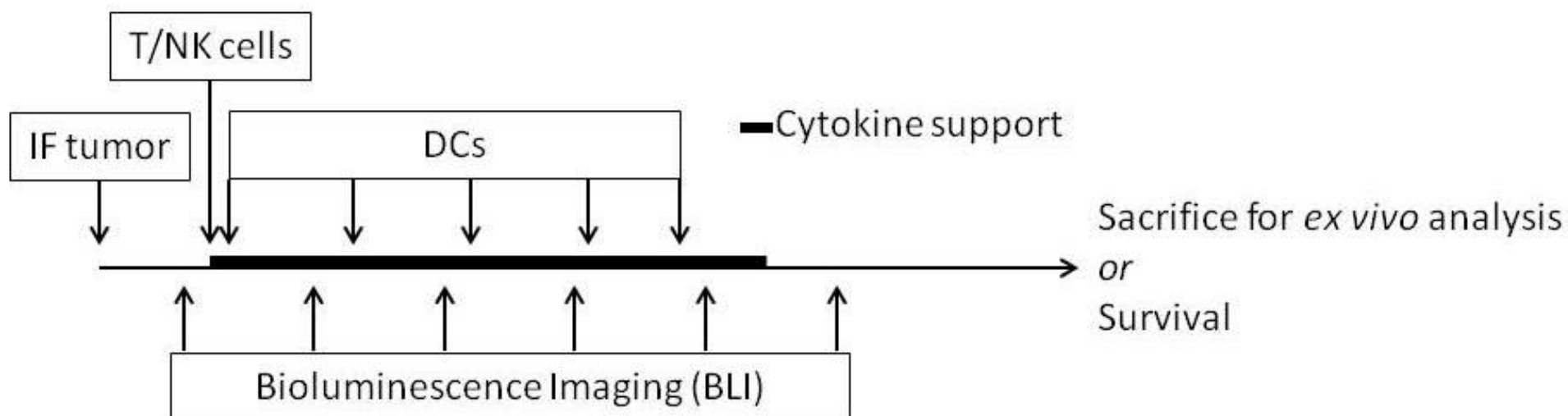
A. Experimental approach and primary outcome parameters

Describe the general design of the animal procedures in relation to the primary outcome parameters. Justify the choice of these parameters.

In this model we will test the anti-tumor potential of, or induced by, the different immune cell products (e.g. anti-tumor effect of different T cell products, or antitumor effect of T and/or NK cells upon stimulation by different dendritic cell products). Therefore, mice are injected with a luciferase-expressing hematopoietic tumor cell line in their femur to mimic leukemic growth at its natural location. Then mice are infused with human (tumor-reactive) T and/or NK cells, which are stimulated (to activate and induce expansion) with subsequential dendritic cell vaccination. The primary outcome of the experiment is the tumor growth which can be monitored by bioluminescence imaging. In addition, mice can be sacrificed one week after their last dendritic cell vaccine to match the anti-tumor effect with the ex vivo analysis of the NK and/or T cells, or can be monitored for survival.

These outcome parameters have successfully been used in previous studies performed by our research group and by other international research groups.

The attached figure is a representative example of the model.



References

1. [REDACTED]
2. [REDACTED]
3. Gattinoni, L et al. A human memory T cell subset with stem cell-like properties. Nature Medicine 2011. 17(10). 1290-98

Describe the proposed animal procedures, including the nature, frequency and duration of the treatment. Provide justifications for the selected approach.

Mice are intra femurally (i.f.) injected with hematopoietic tumor cells under anesthesia, to mimic tumor growth in the natural location. Tumor growth will be monitored using repeated (e.g. weekly) Bioluminescence Imaging (BLI) after luciferin injection (ip or iv) under anesthesia. After an established tumor, T and/or NK cells will be infused (i.v., one or multiple infusions, max 3 infusions in 2 weeks) followed by dendritic cell vaccination (up to 6 vaccines, i.p. at 1 to 2 times per week). Previous experiments showed that dendritic cell vaccinations are needed for antigen-specific T cell expansion in mice.

As we are working with immunodeficient mice which lack cytokine production, human cytokines are given for T and/or NK cell support (i.p. or s.c. max every 2-3 days, up to one week after last dendritic cell vaccine). The maximum of an injection every 2-3 days is based on rhIL-15, which we currently use as a supportive cytokine for T cells. This is infused every 2-3 days due to the short half-life of rhIL-15. Other cytokines could be tested in this model for optimisation and to reduce the number of injections, and thereby discomfort. As cytokine support is needed for NK and T cell persistence in immunodeficient mice, the maximum length of cytokine support will be 6 weeks, which is one week after the last dendritic cell vaccination.

T and/or NK cell expansion will be monitored by weekly blood collection (e.g. weekly tail puncture, max 100ul).

Mice are either sacrificed for ex vivo analysis one week after the last dendritic cell vaccination, or monitored for survival. In case of ex vivo analysis, the experiment will have a maximum duration of 8 weeks. If mice are monitored for survival according to the humane endpoints, the experiment will have a maximum duration of 100 days. If blood is collected at sacrifice, this is performed under anesthesia (e.g. via heart puncture).

Describe which statistical methods have been used and which other considerations have been taken into account to minimise the number of animals.

The amount of mice will first be minimized by doing extensive in vitro investigations into the different immune cell products. In addition, only the most promising strategies will be considered for in vivo evaluation.

The group size required for each experiments will be determined:

- According to previous in vitro and in vivo experiments performed in the group;
- According to the literature describing similar experimental designs;
- Using validated statistical approaches based on power calculation, expected effect of the treatment, standard deviation, number of comparisons, and read-out parameters.

We will also take into account drop out of animals during the experiment due to experimental procedures. **In these experiments this will be based on the i.f. injections. around 5-10% of the i.f. injections results in a misinjection (e.g. blockade of the needle resulting in no injection, or injection outside the femur). This can be determined either during the i.f. injection (then mice will be sacrificed without recovery from anesthesia), or during the first BLI before group allocation. These mice will be sacrificed and excluded from the experiment. Therefore, 5-10% extra mice will be included in experiments which include i.f. injection of tumor cells.**

B. The animals

Specify the species, origin, estimated numbers, and life stages. Provide justifications for these choices.

Species: Mouse. These are the lowest possible species to study the human immune system. To study human immune functions in mice we will use immune deficient strains lacking T, B and NK- cells, which will not reject injected human cells.

Origin and life stage: Mice [REDACTED] or commercially available will be used at an age of 6-25 weeks at the start of experiments.

Sex: In these experiments both females and males will be used. However, to prevent differences caused by sex of the mice during inflammatory reaction (by for instance hormones and size of lymphoid organs), all mice within one experiment will be of the same sex.

Estimated number: Based on the number of animal experiments performed in previous years, and on the research plans we developed for the 5 forthcoming years, we estimate a need of 1200 mice in total (i.e. 8-10 mice per group, 2-6 groups per experiment, 15-20 experiments). **Each experiment will always have at least one control group and up to 5 groups of different modulated therapeutic products. An example would be control T cells and 5 different T cells products, each treated with a different modification protocol. The number of groups will be based on in vitro experiments in which different therapeutic products will be compared before experiments in vivo will be performed.**

This includes mice needed for experiments to optimize the model (e.g. testing new cytokines for support of T and NK cells, main screening will be done in expansion model Procedure#1, but in some situation this should also be tested in the anti-tumor setting) and for training of (new) art9 and art12 employees for the included procedures.

Species	Origin	Maximum number of animals	Life stage
Immune deficient mice (e.g. NSG mice)	[REDACTED] or commercially available	1200	6-25 weeks old

C. Re-use

Will the animals be re-used?

No, continue with question D.

Yes > Explain why re-use is considered acceptable for this animal procedure.

Are the previous or proposed animal procedures classified as 'severe'?

No

Yes > Provide specific justifications for the re-use of these animals during the procedures.

D. Replacement, reduction, refinement

Describe how the principles of replacement, reduction and refinement were included in the research strategy, e.g. the selection of the animals, the design of the procedures and the number of animals.

The amount of mice will first be minimized by doing extensive in vitro investigations into the different immune cell therapy products. In addition, only the most promising strategies will be considered for in vivo evaluation.

Replacement: Animal models are most often required in cancer research to validate and to translate a novel approach to the clinical situation. Following intensive in vitro studies, new approaches should be tested in vivo to mimic the in situ situation found in patients, what we achieve using mouse models. No established pre-clinical models in lower animal species are available for our research purpose.

Reduction: Particular attention is paid to the determination of the optimal size of each group, for each experiment that is required to reach statistical significance. Use of fewer animals could lead to inadequate interpretation of the results.

Refinement: To reduce anxiety, mice will be housed in groups and not individually. The general health of the animals will be monitored daily by the researcher and/or the biotechnician. The methods that we use are well established and the experiments will be performed by experienced researchers. Previous research [REDACTED] and others has shown the translational value of this type of studies.

Explain what measures will be taken to minimise 1) animal suffering, pain or fear and 2) adverse effects on the environment.

To prevent discomfort due to stress, experiments are performed by experienced staff, and mice are housed in social housing. To minimize animal suffering, pain or fear, analgesia and anesthesia will be used when needed and possible. Repeated injections will be made at different sites when possible. Humane endpoints will be monitored precisely.

Repetition and Duplication

E. Repetition

Explain what measures have been taken to ensure that the proposed procedures have not already been performed. If applicable, explain why repetition is required.

Non-applicable

Accommodation and care

F. Accommodation and care

Is the housing and care of the animals used in experimental procedures not in accordance with Annex III of the Directive 2010/63/EU?

No

Yes > If this may adversely affect animal welfare, describe how the animals will be housed and provide specific justifications for these choices.

G. Location where the animals procedures are performed

Will the animal procedures be carried out in an establishment that is not licenced by the NVWA?

No > Continue with question H.

Yes > Describe this establishment.

Provide justifications for the choice of this establishment. Explain how adequate housing, care and treatment of the animals will be ensured.

Classification of discomfort/humane endpoints

H. Pain and pain relief

Will the animals experience pain during or after the procedures?

No > Continue with question I.

Yes > Will anaesthesia, analgesia or other pain relieving methods be used?

No > Justify why pain relieving methods will not be used.

Yes > Indicate what relieving methods will be used and specify what measures will be taken to ensure that optimal procedures are used.

Inhalation anesthesia (e.g. Isoflurane) and analgesia (s.c. Temgesic injection before i.f. injection) will be used during i.f. injections, and inhalation anesthesia (e.g. Isoflurane) will be used during Bioluminescence Imaging.

The rest of the biotechnical procedures described here do not require pain relief. However, terminal blood collection will be performed under anesthesia without recovery.

I. Other aspects compromising the welfare of the animals

Describe which other adverse effects on the animals welfare may be expected?

The following forms of discomfort can occur:

- 1) Pain and stress by injections, repeated injections or blood collections.
- 2) Pain and illness related to xenograft reactions that can occur following human immune cell injection (i.e. attack of mouse tissues by human cells). This can particularly cause damage in the gut and skin of infused mice, resulting in diarrhea and bad fur conditions.
- 3) Distress due to procedures performed under anesthesia with narcosis and recovery, repeated procedures (like bioluminescence imaging).
- 4) Illness due to tumor cell progression such as nausea, paralysis.

Explain why these effects may emerge.

The pain, stress and discomfort in this experiment is mainly induced by (multiple) injections and blood collections. In addition, the human T cell could induce a xenograft reaction, where the human T cells attack the mouse tissues. This can particularly cause damage in the gut and skin of infused mice, resulting in diarrhea and bad fur conditions. In addition, in the survival experiments mice will suffer from discomfort due to tumor growth.

Indicate which measures will be adopted to prevent occurrence or minimise severity.

1) General health will be inspected daily by responsible researchers and care-takers of the animal facility (i.e. 7 days a week). Mice will be weighed and inspected for their coat and skin condition, activity, and attitude. Animal with significant distress will be killed according to humane endpoints. Special experimental-specific endpoints will be defined, as described in J, to further minimize the discomfort of the mice.

2) Anesthesia sessions (e.g. with isofluran inhalation) will be kept as short as possible, with sufficient recovery time between sessions

J. Humane endpoints

May circumstances arise during the animal procedures which would require the implementation of humane endpoints to prevent further distress?

No > Continue with question K.

Yes > Describe the criteria that will be used to identify the humane endpoints.

General humane endpoints will be applied in all mouse experiments. Per experiment specific humane endpoints will be described in addition to the general humane endpoints, to be sure to prevent unnecessary suffering of the mice. In this particular procedure, we know that tumor cells injected i.f. can overgrow outside the bone, forming a palpable tumor. Mice bearing tumor > 1 cm in diameter (measured by caliper) will be sacrificed. Tumor cells can also disseminate in the body and develop metastasis (mostly at other sites in bones and in liver). Humane endpoints are then severe weight loss (>20%), paralysis, or loss of activity. Notably, such humane endpoints occurs late and are expected only in survival analysis.

Indicate the likely incidence.

For ex vivo analysis (40% of the experiment within this procedure), the incidence of humane endpoints is <5%. For the survival analysis (60% of the experiment within this procedure), incidence of humane endpoints is around 50%

K. Classification of severity of procedures

Provide information on the expected levels of discomfort and indicate to which category the procedures are assigned (non-recovery, mild, moderate, severe).

Mice which are sacrificed for ex vivo analysis (40% of the experiment within this procedure) will have moderate discomfort. The mice followed for survival (60% of the experiment within this procedure) will have severe discomfort.

End of experiment

L. Method of killing

Will the animals be killed during or after the procedures?

No

Yes > Explain why it is necessary to kill the animals during or after the procedures.

Mice will either be killed due to humane endpoints of survival analysis or at the end of the experiment for ex vivo analysis.

Is the proposed method of killing listed in Annex IV of Directive 2010/63/EU?

No > Describe the method of killing that will be used and provide justifications for this choice.

Yes

Appendix

Description animal procedures

- This appendix should be enclosed with the project proposal for animal procedures.
- A different appendix 'description animal procedures' should be enclosed for each type of animal procedure.
- For more information, see our website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Or contact us by phone. (0900-2800028).

1 General information

1.1	Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.	10300		
1.2	Provide the name of the licenced establishment.	Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen		
1.3	List the different types of animal procedures. <i>Use the serial numbers provided in Section 3.4.4 of the Project Proposal form.</i>	<table border="1"><tr><td>Serial number 3</td><td>Type of animal procedure #3 Self-renewal properties of T cells in secondary transplant model</td></tr></table>	Serial number 3	Type of animal procedure #3 Self-renewal properties of T cells in secondary transplant model
Serial number 3	Type of animal procedure #3 Self-renewal properties of T cells in secondary transplant model			

2 Description of animal procedures

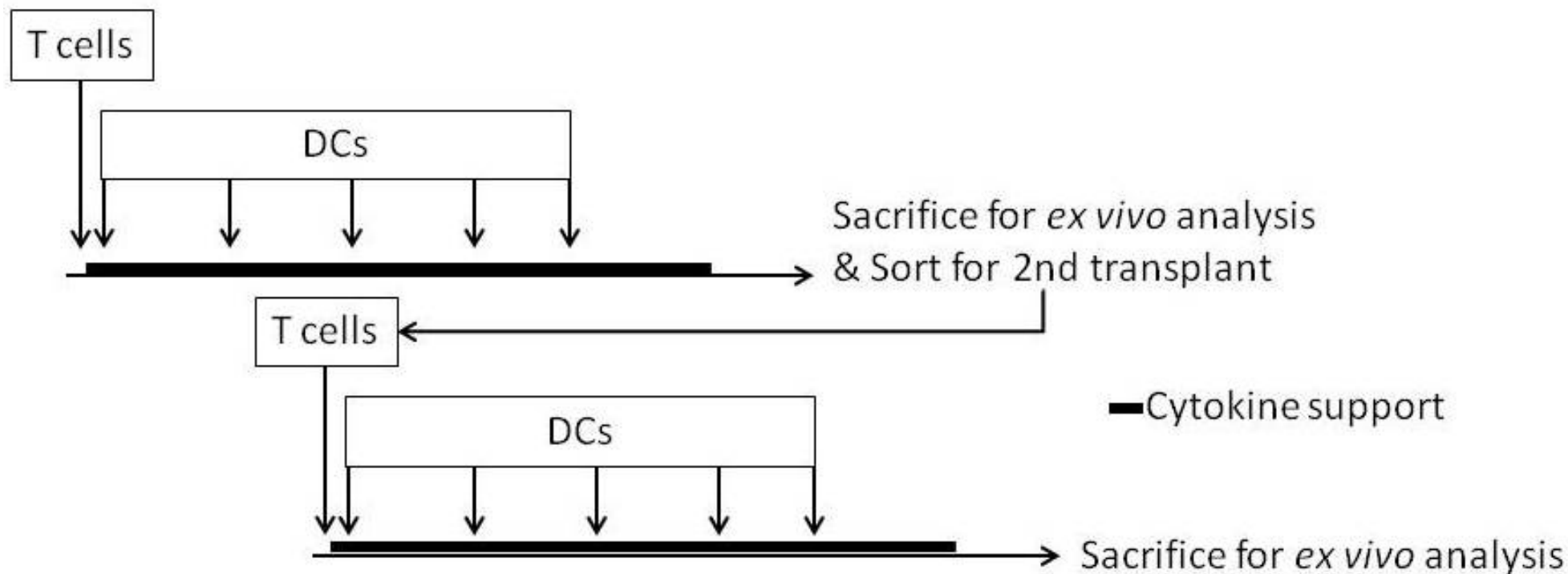
A. Experimental approach and primary outcome parameters

Describe the general design of the animal procedures in relation to the primary outcome parameters. Justify the choice of these parameters.

In this model we will test the self-renewal capacity of various tumor-reactive T cell products. If T cells have self-renewal capacity they can maintain their cell population, and result in a long-term presence and thereby long-term anti-tumor effect. Therefore, mice are infused with human T (tumor-reactive) cells, which are stimulated (to induce expansion) with subsequential dendritic cell vaccination. These expanded T cells are then collected and (partly) infused in new mice where they are again stimulated with dendritic cells. The primary outcome of the experiment is the ex vivo analysis of the T cells during the experiment via blood collection and after sacrifice of second cohort of the mice, which will take place one week after the last dendritic cell vaccine, in which we will determine the number, phenotype and function of the in vivo expanded cells.

These outcome parameters have successfully been used in previous studies performed by our research group and by other international research groups.

The attached figure is a representative example of the model.



References

1. Gattinoni, L et al. A human memory T cell subset with stem cell-like properties. Nature Medicine 2011. 17(10). 1290-98

2. [Redacted]

3. [Redacted]

Describe the proposed animal procedures, including the nature, frequency and duration of the treatment. Provide justifications for the selected approach.

Mice are infused with different T cell products (i.v., one or multiple infusions, max 3 infusions in 2 weeks) which are then activated with dendritic cells (up to 6 vaccines, i.p. at 1 to 2 times per week). Previous experiments showed that weekly dendritic cell vaccination are needed for antigen-specific T cell expansion in mice.

As we are working with immunodeficient mice which lack cytokine production, human cytokines are given for T cell support (i.p. or s.c. max every 2-3 days, up to one week after last dendritic cell vaccine). The maximum of an injection every 2-3 days is based on rhIL-15, which we currently use as a supportive cytokine for T cells. This is infused every 2-3 days due to the short half-life of rhIL-15. Other cytokines could be tested in this model for optimisation and to reduce the number of injections, and thereby discomfort. As cytokine support is needed for T cell persistence in immunodeficient mice, the maximum length of cytokine support will be 6 weeks, which is one week after the last dendritic cell vaccination. To monitor T cell expansion, blood is collected (e.g. at weekly intervals via tail puncture, max 100ul). Mice sacrificed one week after the last dendritic cell vaccination via cervical dislocation. If blood is collected at sacrifice, this is performed under anesthesia (isoflurane, e.g. via heart puncture). From the lymphoid organs (e.g. blood, spleen, bone marrow) of these mice, T cells are collected to use for secondary transfer.

The isolated T cell (subsets) are infused into a new groups of mice. Again these T cells are activated with dendritic cells and supported with cytokine support as described above. Again these mice are sacrificed one week after the last dendritic cell vaccination via cervical dislocation. If blood is collected at sacrifice, this is performed under anesthesia (isoflurane, e.g. via heart puncture). The maximum duration of the total experiment is 12 weeks.

References

1. Gattinoni, L et al. A human memory T cell subset with stem cell-like properties. Nature Medicine 2011. 17(10). 1290-98

2. [REDACTED]

3. [REDACTED]

Describe which statistical methods have been used and which other considerations have been taken into account to minimise the number of animals.

The amount of mice will first be minimized by doing extensive in vitro investigations into the different T cell products. In addition, data from animal experiment in procedure #1 and/or procedure #2 will be used for the selection of the most promising products/strategies, which will then be considered for in vivo evaluation on self-renewal capacity.

The group size required for each experiments will be determined:

- According to previous in vitro and in vivo experiments performed in the group;
- According to the literature describing similar experimental designs;
- Using validated statistical approaches based on power calculation, expected effect of the treatment, standard deviation, number of comparisons, and read-out parameters.

- In these experiments we will use statistical approaches for group size calculations in the 2nd transplant groups. The size of the 1st transplant groups will be based on the number of cells needed for 2nd transplant derived from these groups.

B. The animals

Specify the species, origin, estimated numbers, and life stages. Provide justifications for these choices.

Species: Mouse. These are the lowest possible species to study the human immune system. To study human immune functions in mice we will use immune deficient strains lacking T, B and NK- cells, which will not reject injected human cells.

Origin and life stage: Mice [redacted] or commercially available will be used at an age of 6-25 weeks at the start of experiments.

Sex: In these experiments both females and males will be used. However, to prevent differences caused by sex of the mice during inflammatory reaction (by for instance hormones and size of lymphoid organs), all mice within one experiment will be of the same sex.

Estimated number: Based on the number of animal experiments performed in previous years, and on the research plans we developed for the 5 forthcoming years, we estimate a need of 250 mice in total (i.e. 5 mice per group, 3-10 groups per experiment, 5 experiments). **The amount and distribution of groups will be dependent on the specific set-up of the experiment. For instance to answer the question whether T cells contain self-renewal capacity, and in which cell subset of T cells this resides, one could think of the following groups: group 1 - Stimulation of T cell product followed by sacrifice of the mice, group 2&3 - 2nd transplant of 2 different T cell subsets derived from mice in group 1. On the other hand, if self-renewal capacity of different T cell products is tested, groups 1-3 could be stimulation of (e.g. up to) 3 different T cell products, including also a control T cell group, and groups 4-10 would then be the 2nd transplant of different T cell subsets derived from groups 1-3.**

This includes mice needed for experiment to optimize the model (e.g. testing new cytokines for support of T cells) and for training of (new) art9 and art12 employees for the included procedures.

Species	Origin	Maximum number of animals	Life stage
Immune deficient mice (e.g. NSG mice)	[redacted] or commercially available	250	6-25 weeks old

C. Re-use

Will the animals be re-used?

No, continue with question D.

Yes > Explain why re-use is considered acceptable for this animal procedure.

Are the previous or proposed animal procedures classified as 'severe'?

No

Yes > Provide specific justifications for the re-use of these animals during the procedures.

D. Replacement, reduction, refinement

Describe how the principles of replacement, reduction and refinement were included in the research strategy, e.g. the selection of the animals, the design of the procedures and the number of animals.

The amount of mice will first be minimized by doing extensive in vitro investigations into the different immune cell therapy products. In addition, only the most promising strategies will be considered for in vivo evaluation.

Replacement: Animal models are most often required in cancer research to validate and to translate a novel approach to the clinical situation. Following intensive in vitro studies, new approaches should be tested in vivo to mimic the in situ situation found in patients, what we achieve using mouse models. No established pre-clinical models in lower animal species are available for our research purpose.

Reduction: Particular attention is paid to the determination of the optimal size of each group, for each experiment that is required to reach statistical significance. Use of fewer animals could lead to inadequate interpretation of the results.

Refinement: To reduce anxiety, mice will be housed in groups and not individually. The general health of the animals will be monitored daily by the researcher and/or the biotechnician. The methods that we use are well established and the experiments will be performed by experienced researches. Previous research [REDACTED] and others has shown the translational value of this type of studies.

Explain what measures will be taken to minimise 1) animal suffering, pain or fear and 2) adverse effects on the environment.

To prevent discomfort due to stress, experiments are performed by experienced staff, and mice are housed in social housing. To minimize animal suffering, pain or fear repeated injections will be made at different sites when possible. Human endpoints will be monitored precisely.

Repetition and Duplication

E. Repetition

Explain what measures have been taken to ensure that the proposed procedures have not already been performed. If applicable, explain why repetition is required.

Non-applicable

Accommodation and care

F. Accommodation and care

Is the housing and care of the animals used in experimental procedures not in accordance with Annex III of the Directive 2010/63/EU?

No

Yes > If this may adversely affect animal welfare, describe how the animals will be housed and provide specific justifications for these choices.

G. Location where the animals procedures are performed

Will the animal procedures be carried out in an establishment that is not licenced by the NVWA?

No > Continue with question H.

Yes > Describe this establishment.

Provide justifications for the choice of this establishment. Explain how adequate housing, care and treatment of the animals will be ensured.

Classification of discomfort/humane endpoints

H. Pain and pain relief

Will the animals experience pain during or after the procedures?

No > Continue with question I.

Yes > Will anaesthesia, analgesia or other pain relieving methods be used?

H. Pain and pain relief

No > Justify why pain relieving methods will not be used.

The biotechnical procedures described here only include injection and do not require pain relief. However, terminal blood collection will be performed under anesthesia without recovery.

Yes > Indicate what relieving methods will be used and specify what measures will be taken to ensure that optimal procedures are used.

I. Other aspects compromising the welfare of the animals

Describe which other adverse effects on the animals welfare may be expected?

The following forms of discomfort can occur:

- 1) Pain and stress by injections, repeated injections or blood collections.
- 2) Pain and illness related to xenograft reactions that can occur following human immune cell injection (i.e. attack of mouse tissues by human cells). This can particularly cause damage in the gut and skin of infused mice, resulting in diarrhea and bad fur conditions

Explain why these effects may emerge.

The pain, stress and discomfort in this experiment is mainly induced by (multiple) injections and blood collections. In addition, the human T cell could induce a xenograft reaction, where the human T cells attack the mouse tissues. This can particularly cause damage in the gut and skin of infused mice, resulting in diarrhea and bad fur conditions.

Indicate which measures will be adopted to prevent occurrence or minimise severity.

General health will be inspected daily by responsible researchers and care-takers of the animal facility (i.e. 7 days a week). Mice will be weighed and inspected for their coat and skin condition, activity, and attitude. Animal with significant distress will be killed according to humane endpoints. Special experimental-specific endpoints will be defined, as described in J, to further minimize the discomfort of the mice.

J. Humane endpoints

May circumstances arise during the animal procedures which would require the implementation of humane endpoints to prevent further distress?

No > Continue with question K.

Yes > Describe the criteria that will be used to identify the humane endpoints.

The general humane endpoints (**more than 20% weight loss**, hunched statue, bad fur condition, loss of activity) will apply. No experimental specific humane endpoints are expected.

Indicate the likely incidence.

The incidence of the xenograft reaction, and thereby the expected incidence of the humane endpoints is very low (<1%)

K. Classification of severity of procedures

Provide information on the expected levels of discomfort and indicate to which category the procedures are assigned (non-recovery, mild, moderate, severe).

Moderate for all mice

End of experiment

L. Method of killing

Will the animals be killed during or after the procedures?

No

Yes > Explain why it is necessary to kill the animals during or after the procedures.

Mice will be sacrificed at the end of experiment for ex vivo analysis.

Is the proposed method of killing listed in Annex IV of Directive 2010/63/EU?

No > Describe the method of killing that will be used and provide justifications for this choice.

Yes

DEC-advies

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer 2015-0120
2. Titel van het project: Adoptive T cell therapy and DC vaccination in hematological malignancies
3. Titel van de NTS: Immunotherapie tegen kanker: van ontwikkeling naar doelgerichte behandeling
4. Type aanvraag:
 - nieuwe aanvraag projectvergunning
5. Contactgegevens DEC:
 - Naam DEC: RUDEC
 - Telefoonnummer contactpersoon: [REDACTED] bereikbaar op maandag, dinsdag, en donderdag van 9:00 tot 15:00 uur
 - Mailadres contactpersoon: [REDACTED]
6. Adviestraject:
 - ontvangen door DEC: 22-09-2015
 - aanvraag compleet
 - in vergadering besproken: 06-10-2015
 - anderszins behandeld
 - termijnonderbreking(en) van 13-10-2015 tot 23-11-2015
 - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen
 - aanpassing aanvraag: 23-11-2015
 - advies aan CCD: 14-12-2015
7. Eventueel horen van aanvrager
 - Datum
 - Plaats
 - Aantal aanwezige DEC-leden
 - Aanwezige (namens) aanvrager
 - Strekking van de vraag / vragen
 - Strekking van het (de) antwoord(en)
 - Het horen van de aanvrager heeft geleid tot aanpassing van de aanvraag
8. Correspondentie met de aanvrager
 - Datum: 13-10-2015
 - Strekking van de vragen:

Project Proposal:

-3.2 Op deze manier geformuleerd lijkt de hoofddoelstelling tweeledig. Bedoelen de onderzoekers misschien dat de hoofddoelstelling van hun onderzoek is 'to improve T cells and NK cells as therapy for hematological malignancies.'? Beide subdoelstellingen dragen bij aan deze hoofddoelstelling.

-3.3 De onderzoekers kunnen het medisch belang nog iets beter toelichten en toespitsen op het voorgestelde onderzoek. Welk percentage van de patiënten met een hematologische

tumor zou bijvoorbeeld baat kunnen hebben bij deze therapie als deze geoptimaliseerd wordt?

-3.4.3 De samenhang tussen de verschillende onderdelen van het project is nog niet duidelijk uitgelegd. Op welke wijze zullen resultaten uit het ene deel gebruikt worden bij de andere onderdelen? Onder 3.4.2 is dit kort aangegeven. De onderzoekers worden verzocht dit helder te omschrijven bij dit onderdeel (3.4.3), inclusief go/no go momenten.

Description of Animal Procedures:

-DAP1, vraag A1. De onderzoekers hebben de illustratie van het general design bij A2 gegeven. Het zou hier beter op zijn plaats zijn.

-DAP1, vraag A3. Welke hoeveelheid uitval verwachten de onderzoekers? Op welke wijze is hiermee in de berekening onder B rekening gehouden?

-DAP1, vraag B (geldt ook voor DAP2 en -3): Willen de onderzoekers zowel mannelijke als vrouwelijke dieren gebruiken? Zo niet, wat is hiervoor de rationale?

-DAP1 en DAP2, vraag B. De onderzoekers verwachten dat de experimenten uit 2 tot 6 groepen dieren zullen bestaan. Kunnen zij bij A2 een voorbeeld beschrijven van een experiment met 6 groepen, en kunnen zij aangeven van welke omstandigheden het aantal groepen afhankelijk is?

-DAP1, vraag I3 en J. Uit J blijkt dat er experiment specifieke eindpunten zullen zijn. De onderzoekers worden verzocht de tekst bij I en J in overeenstemming met elkaar te brengen.

-DAP2, vraag H. Bij i.f. injectie van tumorcellen is adequate pijnbestrijding nodig. De commissie zou graag de zwaarwegende experimentele omstandigheden horen die het noodzakelijk maken om binnen 24 uur na injectie van de tumorcellen te starten met T-cel therapie.

-DAP2, vraag J. Ernstig gewichtsverlies is onvoldoende gedefinieerd. Welk percentage gewichtsverlies zal worden gehanteerd?

-DAP3, vraag B. Kunnen de onderzoekers duidelijker opschrijven uit welke groepen zo'n experiment zal bestaan, en daarbij vermelden welke groepen voor de tweede transplantatie worden gebruikt.

- Datum antwoord: 23-11-2015
- Strekking van de antwoorden:

Project Proposal:

- 3.2 De hoofddoelstelling van deze aanvraag is de verbetering van additieve immuuntherapieën tegen hematologische maligniteiten, waarbij gebruik wordt gemaakt van enerzijds T cel infusies en anderzijds dendritische cel vaccinatie, die in vivo de T cellen zullen aansturen. Omdat bekend is dat dendritische cellen ook natural killer (NK) cellen kunnen aansturen zal ook dit worden meegenomen in de ontwikkeling van een optimaal dendritisch cel vaccinatie product. Om de hoofddoelstelling te verduidelijken is deze geherformuleerd zoals onderstaand.

“Therefore, in this project we aim to study and improve additive therapies against hematological malignancies, focussing on tumor-reactive T cells and dendritic cell vaccination. To achieve this objective we use 2 different strategies:

1. Improve the in vitro generation of tumor-reactive T cells (e.g. exploring the recognition of novel tumor-antigens, or inhibition of T cell differentiation).
2. Improving dendritic cell vaccination to boost in vivo T cell and NK cell activation (e.g. by in vitro generation of dendritic cells, and boosting/modification of their stimulatory capacity)."

-3.3 Om het medische belang van deze therapieën aan te geven is onderstaande informatie toegevoegd aan de aanvraag.

"In The Netherlands, about 2000 to 3000 patients are diagnosed with a hematological malignancy every year. Though relapse rates varie between type of malignancy, this can be up to 60%. This shows that the development of additional therapy is essential, where T cell and dendritic cell therapy could induce a long term anti-tumor response. By exploiting novel strategies on the kind of tumor antigen which is targeted, the different therapies developed in this application could be used to be able to treat as many patients possible."

-3.4.3 Om beter de samenhang aan te geven tussen de verschillende onderdelen van de aanvraag is onderstaande tekst bijgevoegd in 3.4.3.

"In the development of immune therapies against hematological malignancies, this project focuses on T cells and dendritic cells. As dendritic cells instruct and guide the T cells towards the malignant cells, these therapeutic strategies are connected. In the experiments to test and analyse the therapeutic potential of the different T cell products, dendritic cells will be used to support and boost the T cells. Moreover, in the models to analyse the therapeutic potential of the dendritic cell products, their stimulatory effect on T cells and/or NK cells will also be used for readout. For clinical application, adoptive T cell therapy and dendritic cell vaccination would favorably be combined as therapy."

Verder zijn in de verschillende no/no-go momenten beter toegespitst in dit gedeelte van de aanvraag.

Description of Animal Procedures:

DAP1

-A1 Op verzoek van de commissie is het figuur in alle 3 de Description of Animal Procedures verplaatst naar vraag A1.

- A3 Uitval van dieren is vooral te verwachten in Description of Animal Procedure 2 waarbij de intra femurale (i.f.) injectie kan leiden tot een misinjectie. Omdat er dan geen tumorgroei plaatsvindt in het beenmerg zullen deze muizen worden uitgesloten van het experiment en geofferd. Om te voorkomen dat door deze uitval de groepen te klein worden zal in experimenten waar i.f. injectie wordt uitgevoerd 5-10% extra muizen worden geïncubeerd. Om dit verder uit te leggen is in Description of Animal Procedures 2 de volgende tekst toegevoegd.

"In these experiments this will be based on the i.f. injections. around 5-10% of the i.f. injections results in a misinjection (e.g. blockade of the needle resulting in no injection, or injection outside the femur). This can be determined either during the i.f. injection (then mice will be sacrificed without recovery from anesthesia), or during the first BLI before group allocation. These mice will be sacrificed and excluded from the experiment. Therefore, 5-10% extra mice will be included in experiments which include i.f. injection of tumor cells."

In Description of Animal Procedures 1 en 3 is deze tekst verwijderd aangezien het in deze modellen minder waarschijnlijk is dat er dieren vanwege experimentele procedures zullen uitvallen.

- B (ook DAP 2 en 3) In alle experimenten kan zowel gebruik worden gemaakt van mannelijke als vrouwelijke dieren. Echter, om de verschillen veroorzaakt door sekse van de dieren (bijvoorbeeld door hormonen of de grootte van lymfoide organen te voorkomen en daarmee de variatie binnen een experiment zo klein mogelijk te houden, zal de sekse binnen een experiment gelijk worden gehouden. Dit is als volgt gespecificeerd in de aanvraag.

“In these experiments both females and males could be used. However, to prevent differences caused by sex of the mice during inflammatory reaction (by for instance hormones and size of lymphoid organs), all mice within one experiment will be of the same sex”

-B (ook DAP 2) Om een beter beeld te geven van de mogelijkheden van de groepen is de tekst in beide Description of Animal Procedures uitgebreid met de volgende toelichting.

“Each experiment will always have at least one control group and up to 5 groups of different modulated therapeutic products. An example would be control T cells and 5 different T cells products each treated with a different modification protocol. The number of groups will be based on in vitro experiments in which different therapeutic products will be compared before experiments in vivo will be performed. “

-I3 en J Om de eindpunten beschreven in I3 en J gelijk te maken is de omschrijving in zowel I3 als J aangepast. Hierbij is in I3 de zin ‘No experimental humane endpoints are expected’ verwijderd. En is in J herschreven naar het volgende.

“In this particular procedure the humane endpoints are then severe weight loss (>20%) and loss of activity. “

DAP2

- H Omdat er in de literatuur onduidelijkheid bestaat over het effect van pijnbestrijding op T cel functie was in de aanvraag beschreven dat wanneer i.f. injectie van tumorcellen en de infusie van T cellen binnen 24 uur viel er geen pijnbestrijding maar alleen anesthesie werd toegepast bij deze handeling. Echter, dit zal slechts in een uitzonderlijke situatie het geval zijn, bijvoorbeeld wanneer het effect van T cellen op een hele lage tumordosis dient te worden getest bij een tumor die erg snel groeit. Na heroverweging hebben we besloten dat dit hoogstwaarschijnlijk niet toegepast zal worden, en is dit daarom verwijderd uit de aanvraag.

- J Ernstig gewichtsverlies is gedefinieerd als meer dan 20% verlies. Dit is aangepast in alle 3 de Description of Animal procedures.

DAP3

- B Om een duidelijker beeld te schetsen van het gebruik van de verschillende groepen is de volgende tekst toegevoegd aan het onderdeel.

“The amount and distribution of groups will be dependent on the specific set-up of the experiment. For instance, to answer the question whether T cells contain self-renewal capacity, and in which subset of T cells this resides, one could think of the following groups: group 1 - Stimulation of T cell product followed by sacrifice of the mice, group 2&3 - 2nd transplant of 2 different T cell subsets derived from mice in group 1. On the other hand, if self-renewal capacity of different T cell products is tested, groups 1-3 could be stimulation of

(e.g. up to) 3 different T cell products, including also a control T cell group, and groups 4-10 would then be the 2nd transplant of different T cell subsets derived from groups 1-3.”

Als toevoeging is in vraag A3 een extra uitleg voor de berekening van de groepsgrootte toegevoegd door middel van onderstaande tekst.

“In these experiments we will use statistical approaches for group size calculations in the 2nd transplant groups. The size of the 1st transplant groups will be based on the number of cells needed for 2nd transplant derived from these groups.”

- De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag.
9. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC)
- Aard expertise
 - Deskundigheid expert
 - Datum verzoek
 - Strekking van het verzoek
 - Datum expert advies
 - Expert advies

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Het project is vergunningplichtig.
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.
3. De DEC is competent om hierover te adviseren.

C. Beoordeling (inhoud):

1. Het project is:
 - uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord
2. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorie is in overeenstemming met de hoofddoelstelling.
3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling, namelijk ‘to study and improve additive therapies against hematological malignancies, focusing on tumor-reactive T cells and dendritic cell vaccination’. Deze hoofddoelstelling leidt tot twee strategieën die in dit project afzonderlijk en in combinatie worden onderzocht, te weten ‘improving the in vitro generation of tumor-reactive T-cells’ en ‘improving dendritic cell vaccination to boost in vivo T cell and NK cell activation’. De te behalen onderzoeksresultaten in muismodellen zullen duidelijk maken welke strategieën therapeutisch relevante tumor-actieve T-cellen opleveren, welke strategieën leiden tot therapeutisch relevante vaccinaties met dendritische cellen, en welke (combinatie) van deze strategieën het beste therapeutische effect in vivo in een xenotransplantatie model geeft. Voorts wordt duidelijk op welke wijze de populatie van tumor-actieve T-cellen in stand gehouden kan worden in vivo. Deze resultaten kunnen op korte termijn leiden tot de ontwikkeling van effectievere therapieën voor mensen met kanker van hematologische oorsprong. Elk jaar krijgen twee- tot drieduizend mensen deze diagnose. De huidige behandeling blijkt bij 60% van de patiënten niet afdoende. Maatschappelijk is dit onderzoek van belang, omdat de resultaten kunnen bijdragen aan de ontwikkeling van betere therapieën voor hematologische kankers, wat zou resulteren in gezondheidswinst voor veel mensen. De DEC vindt het vergaren van kennis over het ontwikkelen van betere additieve therapieën voor hematologische kankers van substantieel belang.

4. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Deze groep heeft veel ervaring in dit onderzoeksveld en met de voorgestelde dierproeven. De gekozen aanpak leidt tot betrouwbare uitspraken over het therapeutisch potentieel van tumor-reactieve T-cellen die met verschillende strategieën zijn gegenereerd, over het therapeutisch potentieel van verschillende vaccinaties met dendritische cellen, en over het anti-tumor effect van (een combinatie van) beide therapieën.
5. Er is geen sprake van bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren.
6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. Het ongerief wordt hoofdzakelijk bepaald door de groei van humane hematologische kankercellen in het beenmerg, en de behandeling daarvan met humane cellen. De DEC schat het ongerief als gevolg van de benodigde herhaalde bloedafnames, injecties met humane T-cellen of dendritische cellen, en injecties met cytokines elke 2-3 dagen in als matig. Het ongerief als gevolg van de groei van humane hematologische kankercellen gedurende langere tijd in het survivaalexperiment schat de commissie in als ernstig. Een experiment van dit type is noodzakelijk alvorens de meest veelbelovende therapieën bij patiënten kunnen worden toegepast en in die zin is dit ongerief dan ook onvermijdelijk. Het cumulatief ongerief voor de muizen in de beschreven vergunningaanvraag is dus juist ingeschat als matig voor 70% van de dieren en ernstig voor 30% van de dieren.
7. Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen **vervangen**. De doelstelling van het project kan niet gerealiseerd worden zonder proefdieren of door gebruik van minder complexe diersoorten. Een therapie waarbij het immuunsysteem is betrokken kan niet goed bestudeerd worden zonder proefdiermodellen. De onderdelen van het project die in vitro bestudeerd kunnen worden zijn al uitgevoerd. Voor het beantwoorden van de resterende onderzoeksvragen zijn dierproeven noodzakelijk. De muis is het minst complexe proefdier waarin de werking van humane immuuncellen, waaronder het anti-tumor effect van deze cellen, onderzocht kan worden.
8. In het project wordt optimaal tegemoet gekomen aan de vereiste van de **vermindering** van dierproeven. Het maximale aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat en proportioneel ten opzichte van de gekozen strategie en de looptijd. De DEC is het eens met het beschreven onderzoeksmodel en de onderbouwing van het aantal benodigde dieren. Door de stapsgewijze aanpak waarin de resultaten uit eerdere proeven worden gebruikt voor het design van vervollexperimenten wordt onnodig gebruik van proefdieren voorkomen. De DEC is van oordeel dat het project kan worden uitgevoerd met maximaal 2650 muizen.
9. Het project is in overeenstemming met de vereiste van de **verfijning** van dierproeven. De experimentele handelingen bij de dieren zullen worden uitgevoerd door hierin getrainde onderzoekers, waardoor de stress voor de dieren zoveel mogelijk wordt beperkt. Dagelijkse controles van de dieren zorgen ervoor dat bij onverwacht optredend ongerief tijdig kan worden ingegrepen. De onderzoekers zullen gedurende het project trachten de frequentie van cytokine-injecties te verminderen. De DEC is ervan overtuigd dat de dierproeven zo humaan mogelijk worden uitgevoerd.
Er is geen sprake van belangwekkende milieueffecten.
10. De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project, zelfstandig leesbaar, beknopt en begrijpelijk geformuleerd.

D. Ethische afweging

Op basis van de onder C genoemde overwegingen komt de DEC tot de volgende ethische afweging.

Met dit onderzoek worden belangrijke wetenschappelijke inzichten verworven in het therapeutisch potentieel van tumor-reactieve T-cellen die met verschillende strategieën zijn gegenereerd, over het therapeutisch potentieel van verschillende vaccinaties met dendritische cellen, en over het anti-tumor effect van (een combinatie van) beide therapieën. Voorts wordt duidelijk op welke wijze de populatie van tumor-reactieve T-cellen in stand gehouden kan worden in vivo. Deze resultaten zullen op korte termijn kunnen leiden tot de ontwikkeling van effectievere additionele therapieën voor mensen met hematologische kanker. Het belang van meer kennis over effectievere additionele therapieën voor hematologische maligniteiten acht de DEC substantieel, aangezien de huidige behandeling bij 60% van de patiënten niet tot genezing leidt.

Tegenover dit substantiële belang staat het gegeven dat 70% van de dieren matig ongerief en 30% van de dieren ernstig ongerief zullen ondervinden als gevolg van de groei van humane hematologische kankercellen en de injectie met humane T-cellen en dendritische cellen in combinatie met de benodigde handelingen. Het ernstige ongerief ontstaat wanneer het therapeutische effect van de meest veelbelovende (combinatie van) therapieën wordt onderzocht. Deze stap is noodzakelijk alvorens een dergelijke therapie bij patiënten kan worden toegepast. De commissie is er van overtuigd dat bij de dierproeven adequaat invulling gegeven zal worden aan de vereisten op het gebied van de vervanging, vermindering en/of verfijning van dierproeven. Het gebruik van de dieren en het daarbij optredende ongerief is onvermijdelijk, wil men de doelstellingen kunnen realiseren.

De DEC is van oordeel dat het hier boven geschetste belang de onvermijdelijke nadelige gevolgen van dit onderzoek voor de dieren, in de vorm van angst, pijn of stress, rechtvaardigt. Aan de eis dat het belang van de experimenten op dient te wegen tegen het ongerief dat de dieren wordt berokkend, is voldaan.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

- De DEC adviseert de vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarden
 - Op grond van het wettelijk vereiste dient de projectleider bij beëindiging van het project een beoordeling achteraf aan te leveren die is afgestemd met de IvD.

2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Radboud Universiteit Nijmegen



Postbus 9101

6500 HB NIJMEGEN ()



**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD103002015350

Bijlagen

2

Datum 16 december 2015

Betreft Ontvangstbevestiging Aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 15 december 2015.

Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD103002015350. Gebruik dit nummer wanneer u contact met de CCD opneemt.

Wacht met de uitvoering van uw project

Als wij nog informatie van u nodig hebben dan ontvangt u daarover bericht. Uw aanvraag is in ieder geval niet compleet als de leges niet zijn bijgeschreven op de rekening van de CCD. U ontvangt binnen veertig werkdagen een beslissing op uw aanvraag. Als wij nog informatie van u nodig hebben, wordt deze termijn opgeschort. In geval van een complexe aanvraag kan deze termijn met maximaal vijftien werkdagen verlengd worden. U krijgt bericht als de beslisperiode van uw aanvraag vanwege complexiteit wordt verlengd. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

Factuur

Bijgaand treft u de factuur aan voor de betaling van de leges. Wij verzoeken u de leges zo spoedig mogelijk te voldoen, zodat we uw aanvraag in behandeling kunnen nemen. Is uw betaling niet binnen dertig dagen ontvangen, dan kan uw aanvraag buiten behandeling worden gesteld. Dit betekent dat uw aanvraag niet beoordeeld wordt en u uw project niet mag starten.

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.centralecommissiedierproeven.nl. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur

Gegevens aanvrager

Uw gegevens


Deelnemersnummer NVWA: 10300

Naam instelling of organisatie: Radboud Universiteit Nijmegen

Naam portefeuillehouder of
diens gemachtigde:

KvK-nummer: 41055629

Straat en huisnummer: Geert Groteplein 10

Postbus: 9101, 

Postcode en plaats: 6500 HB NIJMEGEN

IBAN: NL90ABNA0231209983

Tenaamstelling van het
rekeningnummer: UMC st Radboud

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

Naam: 

Functie: 

Afdeling: 

Telefoonnummer: 

E-mailadres: 

Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

Naam: [REDACTED]
Functie: [REDACTED]
Afdeling: [REDACTED]
Telefoonnummer: [REDACTED]
E-mailadres: [REDACTED]

Gegevens verantwoordelijke uitvoering proces

Naam: [REDACTED]
Functie: [REDACTED]
Afdeling: [REDACTED]
Telefoonnummer: [REDACTED]
E-mailadres: [REDACTED]

Gegevens gemachtigde

BSN: [REDACTED]
Naam: [REDACTED]
Postbus: 9101
Postcode en plaats: 6500 HB NIJMEGEN ([REDACTED])

Wilt u een nieuwe machtiging afgeven? Nee

Wat mag de gemachtigde doen?
 Een projectvergunning aanvragen
 Een wijziging op een verleende projectvergunning aanvragen
 Een melding doorgeven op een verleende projectvergunning
 Een bezwaarschrift indienen en daarover communiceren met de Centrale Commissie Dierproeven en alle andere handelingen verrichten die nodig zijn voor een goede afwikkeling van het bezwaarschrift
 Alle bovenstaande opties

Over uw aanvraag

Wat voor aanvraag doet u? Nieuwe aanvraag
 Wijziging op een (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
 Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn

Over uw project

Geplande startdatum: 14 januari 2016
Geplande einddatum: 14 februari 2021
Titel project: Adoptive T cell therapy and DC vaccination in hematological malignancies
Titel niet-technische samenvatting: Immunotherapie tegen kanker: van ontwikkeling naar doelgerichte behandeling
Naam DEC: RU DEC
Postadres DEC: Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen [REDACTED]
E-mailadres DEC: [REDACTED]

Betaalgegevens

De leges bedragen: € 741,-
De leges voldoet u: na ontvangst van de factuur

Checklist bijlagen

Verplichte bijlagen: Projectvoorstel
 Beschrijving Dierproeven
 Niet-technische samenvatting
Overige bijlagen: Melding Machtiging
 DEC-advies

Ondertekening

Naam: [REDACTED]
Functie: [REDACTED]
Plaats: Nijmegen
Datum: 14 december 2015



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Radboud Universiteit Nijmegen



Postbus 9101,
6500 HB NIJMEGEN



**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD103002015350

Bijlagen

2

Datum 16 december 2015

Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 16 december 2015

Vervaldatum: 15 januari 2016

Factuurnummer: 15700350

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD103002015350	€ 741,00

Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum over te maken op rekening NL28RBOS 056.99.96.066 onder vermelding van het factuurnummer en aanvraagnummer, ten name van Centrale Commissie Dierproeven, Postbus 20401, 2500 EK te 's Gravenhage.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Radboud Universiteit Nijmegen

████████████████████

████████████████████

Postbus 9101
6500 HB NIJMEGEN

**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
www.centralecommissiedierproeven.nl
T 0900-28 000 28 (10 ct /min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD103002015350

Uw referentie

Bijlagen
1

Datum 19 januari 2016
Betreft Aanvulling Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte ██████████

Op 15 december 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Adoptive T cell therapy and DC vaccination in hematological malignancies" met aanvraagnummer AVD103002015350. In uw aanvraag zitten voor ons nog enkele onduidelijkheden. In deze brief leest u wat wij nog nodig hebben en wanneer u een beslissing kunt verwachten.

Welke informatie nog nodig

Wij hebben de volgende informatie van u nodig om uw aanvraag verder te kunnen beoordelen:

Onduidelijkheden

- 1) In de verschillende bijlagen dierproeven spreekt u over muizen die bedoeld zijn voor modeloptimalisatie. Wij begrijpen dat dit nodig kan zijn, maar willen een beeld krijgen van welk deel van de dieren voor optimalisatiedoeleinden benut zal worden. Kunt u aangeven om hoeveel dieren dit ongeveer zal gaan?
- 2) In de verschillende bijlagen dierproeven spreekt u over muizen die bedoeld zijn voor training van nieuwe medewerkers. Dit lijkt tegenstrijdig met de opmerking dat de experimenten worden uitgevoerd door ervaren personeel. Kunt u aangeven om hoeveel muizen dit ongeveer zal gaan, welke behandelingen deze dieren zullen ondergaan (en hoe vaak) en of deze dieren geïncubeerd worden in de studies of dat deze dieren alleen voor training zullen worden gebruikt?
- 3) Kunt u verder verhelderen wat de criteria zijn waarop u besluit procedure 1 dan wel procedure 2 dan wel beide uit te voeren met de verschillende cel therapie producten? Zijn resultaten uit procedure 1 van invloed op uitvoering van procedure 2?

Datum

19 januari 2016

Onze referentieAanvraagnummer
AVD103002015350

Wij vragen u deze informatie te verduidelijken.

Zonder deze aanvullende informatie kan de beslissing nadelig voor u uitvallen omdat de gegevens onvolledig of onduidelijk zijn.

Opsturen binnen veertien dagen

Stuur de ontbrekende informatie binnen veertien dagen na de datum van deze brief op. U kunt dit aanleveren via NetFTP. Stuurt u het per post op, gebruik dan het formulier dat u bij deze brief krijgt.

Wanneer een beslissing

De behandeling van uw aanvraag wordt opgeschort tot het moment dat wij de aanvullende informatie hebben ontvangen. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.centralecommissiedierproeven.nl. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlage:

- formulier Melding Bijlagen via de post



Melding

Bijlagen via de post

- U wilt één of meerdere bijlagen naar ons versturen? Voeg *altijd* deze Melding Bijlagen toe. Wij weten dan welke documenten van u zijn en hoeveel documenten u opstuurt.
- Meer informatie vindt u op www.centralecommissiedierproeven.nl
- Of bel met ons: 0900 28 000 28 (10 ct/min).

1 Uw gegevens

1.1 Vul de gegevens in.

Naam aanvrager		
Postcode		Huisnummer

1.2 Bij welke aanvraag hoort de bijlage?
Het aanvraagnummer staat in de brief of de ontvangstbevestiging.

Aanvraagnummer	
----------------	--

2 Bijlagen

2.1 Welke bijlagen stuurt u mee?

Vul de naam of omschrijving van de bijlage in.

<input type="checkbox"/>	
<input type="checkbox"/>	
<input type="checkbox"/>	

3 Ondertekening

3.1 Onderteken het formulier en stuur het met alle bijlagen op naar:

Centrale Commissie
Dierproeven
Postbus 20401
2500 EK Den Haag

Naam		
Datum	-	- 20
Handtekening		

Centrale Commissie Dierproeven

Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen
 Geert Groteplein Zuid 10
 T
 www.radboudumc.nl

Datum	Ons kenmerk	Pagina
20 januari 2016		1 van 2

Onderwerp
 RU-DEC 2015-0120 / AVD103002015350

Geachte Centrale Commissie Dierproeven,

Naar aanleiding van uw vragen en opmerkingen betreffende onze aanvraag RU-DEC 2015-0120 / AVD103002015350 onderstaand puntsgewijs onze reactie.

1) *De commissie heeft aangegeven graag een beter beeld te krijgen van het aantal dieren dat voor optimalisatiedoelinden van de dierproeven zal worden gebruikt.*

Het verwachte aantal dieren wat gebruikt zal worden voor optimalisaties van modellen is maximaal 5% van de aangegeven aantallen. Met deze aantallen verwachten wij de (in de toekomst) noodzakelijke optimalisaties uit te kunnen voeren.

Om dit te verduidelijken is onderstaande tekst toegevoegd aan onderdeel Animals B1 in alle 3 de Description of Animal Procedures:

"For the optimization of the models we expect to use less than 5% of the requested animals."

2) *De commissie heeft aangegeven graag meer informatie te ontvangen over het trainen van nieuwe werknemers, welke en hoe vaak deze dieren handelingen zullen ondergaan, en of deze dieren naderhand nog in experimenten zullen worden gebruikt*

Het uitvoeren van de experimenten zal inderdaad gedaan worden door ervaren medewerkers, echter nieuwe medewerkers op het project zullen daarom getraind dienen te worden alvorens deze aan de experimenten kunnen deelnemen. Het gaat hier dan voornamelijk om de standaard injectie technieken (i.v., i.p., s.c.). De meer gespecialiseerde technieken (e.g. hartpunctie, intrafemorale injectie) zullen worden uitgevoerd door een kleine selectie van getrainde werknemers, of door getrainde biotechnici betrokken bij het project. Met deze trainingen vooraf, op surplus dieren, willen we bereiken dat de handelingen in de experimenten altijd worden uitgevoerd door ervaren medewerkers. Deze zullen daardoor minder variaties geven, met betrekking tot bijvoorbeeld misinjecties, en hierdoor kam ook ongerief voorkomen worden.

Het aantal dieren dat hiervoor gebruikt zal worden ligt laag, maximaal 1% van de aangevraagde dieren. Daarbij zal er bij voorkeur gebruik worden gemaakt van dieren uit de fok die niet voor andere experimenten gebruikt kunnen worden. De dieren die voor training worden gebruikt zullen niet in andere experimenten worden geïncubeerd.

Om dit te verduidelijken is onderstaande tekst toegevoegd aan onderdeel Animals B1 in alle 3 de Description of Animal Procedures:

“Training of new employees will be performed to ensure to have experienced researchers performing experiments, which will reduce unnecessary discomfort of the mice and unwanted variation e.g. due to misinjections. For this training, less than 1% of the requested mice will be used. When possible, animals will be selected which are left over from breeding. Animals used in training will not be used in other experiments.”

3) *De commissie heeft aangegeven graag criteria te ontvangen waarop wordt Procedure 1, dan wel procedure 2, of beiden zal worden uitgevoerd op de verschillende cel therapie producten. Daarnaast vraagt de commissie toelichting of de resultaten uit deze procedures invloed zullen hebben op elkaar.*

Op basis van de specifieke vraagstelling bij het therapeutische cel product, alsmede de in vitro data, zal besloten worden of procedure 1 dan wel 2 als eerste wordt uitgevoerd, of dat slechts een van beide procedures uitgevoerd zal worden. Voor bijvoorbeeld een therapeutisch celproduct wat in vitro een verhoogde effectorfunctie maar geen verhoogde proliferatie laat zien, zou gekozen kunnen worden alleen het anti-tumor effect in procedure 2 te testen. Wanneer de eerst uitgevoerde procedure succesvol is (bijvoorbeeld significant verschil tussen getest cel producten en controle cel product/geen behandeling) kan het celtherapie product ook worden getest in de andere procedure (succesvol in 1 kan getest worden in 2 en visa versa). Hierbij zullen de resultaten uit het eerdere experimenten altijd gebruikt worden voor verdere optimalisatie van vervolggelaxperimenten (bijv. voor bepalen van aantal dieren door middel van gemeten spreiding en effecten). Wanneer deze procedure niet succesvol is zal de andere procedure niet worden uitgevoerd maar zal er eerst verdere ontwikkeling plaatsvinden in in vitro experimenten.

Om dit te verduidelijken is onderstaande tekst toegevoegd aan de Research Strategy 3.4.1 van de Project Proposal van de aanvraag:

“For both the T cell products as well as the Dendritic cell products, the specific research question as well as in vitro data will be used to decide whether procedure 1 or 2 will be commenced first. If the first procedure is successful (e.g. significant effect between tested cell product and control setting), it will also be tested in the other procedure (Procedure 2 after successful procedure 1 and other way around). If the first procedure is unsuccessful, new in vitro data will first be generated to further optimize the cell product before further in vivo testing.”

Bovenstaande aanpassingen zijn verwerkt in de aanvraag, waarbij tekstuele wijzigingen en toevoegingen zijn aangegeven via rode en vetgedrukte teksten. Wij hopen u hiermee voldoende te hebben geïnformeerd. Mocht u nog verdere vragen hebben horen we dit graag.

Met vriendelijke groet,

[REDACTED]

[REDACTED]

Van: Info-zbo
Verzonden: dinsdag 2 februari 2016 17:01
Aan: [REDACTED]
Onderwerp: RE: AVD103002015350: voorgenomen besluit

Geachte [REDACTED],

Dank u wel voor uw reactie. Wij zullen de beschikking in orde gaan maken en u deze toesturen.

Met vriendelijke groet,

[REDACTED]

Centrale Commissie Dierproeven www.centralecommissiedierproeven.nl

.....
Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag
.....

T: 0900 2800028

E: info@zbo-ccd.nl (Let op: nieuw e-mail adres)

Van: [REDACTED]
Verzonden: dinsdag 2 februari 2016 16:48
Aan: info@zbo-ccd.nl; [REDACTED]
CC: [REDACTED]
Onderwerp: RE: AVD103002015350: voorgenomen besluit

Geachte mevrouw [REDACTED]

Ik heb zojuist met de onderzoekers gesproken. Zij gaan akkoord met deze voorwaarde en zullen een pilotstudie uitvoeren om eventuele verschillen tussen de geslachten vast te stellen. Zo niet, dan zullen evenredige aantallen mannen en vrouwen worden gebruikt in de overige experimenten. Als er wel verschillen zijn, zullen de onderzoekers dit terug rapporteren aan de CCD.

Wij zien de definitieve beslissing van de CCD graag tegemoet.

Met vriendelijke groet,

[REDACTED]

Radboud universitair medisch centrum
Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen [REDACTED]

[REDACTED]
www.radboudumc.nl

Aanwezig: ma, di, wo en vr van 8.30 – 17.00 uur

Van: Info-zbo [<mailto:info@zbo-ccd.nl>]

Verzonden: dinsdag 2 februari 2016 14:29

Aan: [REDACTED]

CC: [REDACTED]

Onderwerp: AVD103002015350: voorgenomen besluit

Geachte heer/mevrouw,

Wij hebben een aanvraag voor een projectvergunning dierproeven van u in behandeling. Het gaat om het project 'Adoptive T cell therapy and DC vaccination in hematological malignancies' met aanvraagnummer AVD103002015350.

De CCD heeft uw aanvraag besproken en is voornemens deze te vergunnen. De CCD wil echter een aantal voorwaarden toevoegen aan de vergunning waaronder één voorwaarde die mogelijk consequenties zouden kunnen hebben voor de uitvoering van uw project. Deze voorwaarde en de argumentatie hiervoor vindt u hieronder.

Voorgenomen voorwaarde:

In een pilotstudie wordt vastgesteld of het gebruik van beide geslachten mogelijk is. Deze pilotstudie kan parallel/geïntegreerd aan de eerste studie met mannelijke dieren worden uitgevoerd. Indien er geen verschil in uitkomsten wordt gevonden, worden in alle dierproeven mannelijke en vrouwelijke dieren in evenredige aantallen gebruikt. Zo doende wordt voorkomen dat surplus dieren in voorraad moeten worden gedood. De aanvrager mag de uitkomsten van de eerste onderzoeken waarbij beide geslachten gebruikt worden rapporteren aan de CCD. De uitkomst van deze eerste onderzoeken kan voor de CCD aanleiding geven om bovenstaande voorwaarde van gelijk gebruik van beide geslachten voor deze projectvergunning te wijzigen of in te trekken.

Onderbouwing:

In uw aanvraag geeft aan dat u in alle bijlagen beide geslachten gaat gebruiken. Om spreiding in de data te voorkomen bent u van plan binnen één experiment slechts één geslacht te gebruiken. U heeft uw argument dat er minder variatie zal zijn bij het gebruik van alleen dieren van één geslacht niet met wetenschappelijk bewijs onderbouwd. Deze voorwaarde is toegevoegd om het aantal in voorraad gedode dieren te beperken.

Aangezien bovengenoemde voorwaarde mogelijk de uitvoering van uw project kan beïnvloeden, wil de CCD u nog in de gelegenheid stellen te reageren op deze voorwaarde alvorens zij een definitief besluit neemt. Daarnaast willen wij de DEC vragen de CCD aanvullend te adviseren over deze voorwaarde. Indien uw reactie of het aanvullend advies van de DEC daar aanleiding toe geeft, kan de CCD haar voorgenomen besluit nog herzien.

Om u hiervoor de gelegenheid te kunnen geven, en uw reactie vervolgens tijdens de CCD vergadering te kunnen bespreken, dienen wij de behandeltermijn op te schorten. Hoewel de CCD uw aanvraag binnen de wettelijke termijn van 40 werkdagen heeft beoordeeld, zullen we, door u in de gelegenheid te stellen te reageren op het voorgenomen besluit, de termijn van 40 werkdagen overschrijden. Wij kunnen u daarom alleen in de gelegenheid stellen te reageren, indien u instemt met het opschorten van de behandeltermijn totdat de CCD uw aanvraag opnieuw kan bespreken en een definitief besluit kan nemen.

Indien u gebruik wilt maken van de mogelijkheid te reageren op de voorgenomen voorwaarde, verzoeken wij u in te stemmen met het opschorten van de behandeltermijn en ons hiervan uiterlijk woensdag 03 februari 2016 op de hoogte te stellen.

Indien u gebruik maakt van bovenstaande mogelijkheid, wordt u verzocht uiterlijk maandag 8 februari 2016 inhoudelijk te reageren en eventueel aanvullende informatie aan te leveren. Wij zullen uw reactie vervolgens doorsturen naar de DEC die advies heeft uitgebracht over uw aanvraag en deze vragen de CCD naar aanleiding van uw reactie aanvullend te adviseren over bovengenoemde voorwaarde.

Mocht u geen gebruik willen maken van de mogelijkheid te reageren of instemmen met de voorgenomen voorwaarde, verzoeken wij u ons dat ook uiterlijk 3 februari 2016 te laten weten. Het voorgenomen besluit zal dan definitief gemaakt worden. Indien wij dan niets van u gehoord hebben, gaan wij er ook van uit dat u geen gebruik wilt maken van de mogelijkheid de aanvullende informatie te verstrekken.

Wij wachten uw reactie af.

Met vriendelijke groet,

[REDACTED]

Centrale Commissie Dierproeven www.centralecommissiedierproeven.nl

Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag

.....
T: **0900 2800028**

E: info@zbo-ccd.nl (Let op: nieuw e-mail adres)

Het Radboudumc staat geregistreerd bij de Kamer van Koophandel in het handelsregister onder nummer 41055629.
The Radboud university medical center is listed in the Commercial Register of the Chamber of Commerce under file number 41055629.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen

Postbus 9101

6500 HB NIJMEGEN



**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/mln)
Info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD103002015350

05 FEB. 2016

Datum

Betreft Aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte

Op 15 december 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Adoptive T cell therapy and DC vaccination in hematological malignancies" met aanvraagnummer AVD103002015350. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 21 januari 2016 heeft u uw aanvraag aangevuld. De aanvullingen betroffen een verheldering van het aantal dieren dat voor optimalisatiedoeleinden gebruikt zal worden, een verheldering van de handelingen en het aantal dieren dat gebruikt zal worden voor het trainen van nieuwe medewerkers, en verheldering van de criteria waarop procedure 1 danwel procedure 2 danwel beide zullen worden uitgevoerd.

Beslissing

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a van de Wet op de Dierproeven (hierna: de wet). Hierbij gelden de voorwaarden zoals genoemd in de vergunning. De eerste twee voorwaarden zijn algemene voorwaarden. De laatste voorwaarde is toegevoegd om evenredig gebruik van beide geslachten van dieren te optimaliseren om het aantal in voorraad gedode dieren te beperken. Op 2 februari 2016 hebben wij u in de gelegenheid gesteld te reageren op het voorgenomen besluit van de CCD betreffende deze laatste voorwaarde. U heeft op 2 februari 2016 aangegeven accoord te gaan met de voorwaarde zoals hierboven toegelicht en in de vergunning beschreven. U kunt met uw project "Adoptive T cell therapy and DC vaccination in hematological malignancies" starten. De vergunning wordt afgegeven van 5 februari 2016 tot en met 14 januari 2021. Deze termijn is anders dan in uw aanvraag, omdat de door u aangevraagde begindatum in het verleden ligt.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

Beoordeling achteraf

Na afloop van het project zal er een beoordeling plaatsvinden, zoals bedoeld in artikel 10a1, lid 1d en lid 3, in de wet. Meer informatie over de eisen bij een beoordeling achteraf vindt u in de bijlage.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie RU DEC gevoegd. Dit advies is opgesteld op 14 december 2015. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet.

Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de Dierexperimentencommissie. Wij nemen dit advies van de commissie grotendeels over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering, met toevoeging van de voorwaarden zoals hierboven gemotiveerd.

Dit advies en de in de bijlage opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet- en regelgeving zijn de grondslag van dit besluit.

Bezwaar

Als u het niet eens bent met deze beslissing, kunt u binnen zes weken na verzending van deze brief schriftelijk een bezwaarschrift indienen.

Een bezwaarschrift kunt u sturen naar Centrale Commissie Dierproeven, afdeling Juridische Zaken, postbus 20401, 2500 EK Den Haag.

Bij het indienen van een bezwaarschrift vragen we u in ieder geval de datum van de beslissing waartegen u bezwaar maakt en het aanvraagnummer te vermelden. U vindt deze nummers in de rechter kantlijn in deze brief.

Bezwaar schorst niet de werking van het besluit waar u het niet mee eens bent. Dat betekent dat dat besluit wel in werking treedt en geldig is. U kunt tijdens deze procedure een voorlopige voorziening vragen bij de Voorzieningenrechter van de rechtbank in de woonplaats van de aanvrager. U moet dan wel kunnen aantonen dat er sprake is van een spoedeisend belang.


Voor de behandeling van een voorlopige voorziening is griffierecht verschuldigd. Op <http://www.rechtspraak.nl/Organisatie/Rechtbanken/Pages/default.aspx> kunt u zien onder welke rechtbank de vestigingsplaats van de aanvrager valt.

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.centralecommissiedierproeven.nl. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven


ir. G. de Peuter
Algemeen Secretaris

Bijlagen:

- Vergunning
- Hiervan deel uitmakend:
- DEC-advies
 - Weergave wet- en regelgeving

Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de Dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam: Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen

Adres: Postbus 9101 [REDACTED]

Postcode en plaats: 6500 HB NIJMEGEN

Deelnemersnummer: 10300

deze projectvergunning voor het tijdvak 5 februari 2016 tot en met 14 januari 2021, voor het project "Adoptive T cell therapy and DC vaccination in hematological malignancies" met aanvraagnummer AVD103002015350, volgens advies van Dierexperimentencommissie RU DEC.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is [REDACTED] Voor de uitvoering van het project is [REDACTED] verantwoordelijk.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 15 december 2015
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 21 januari 2016;
 - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 15 december 2015;
 - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 14 december 2015, ontvangen op 15 december 2015;
 - d De aanvullingen op uw aanvraag, ontvangen op 21 januari 2016.

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
Expansion and phenotype model	Muizen (Mus musculus) / Immune deficient	1200	Matig / moderate	
Anti-tumor effect model	Muizen (Mus musculus) / Immune deficient	1200	Ernstig / severe	
Self-renewal properties of T cells in secondary transplant model	Muizen (Mus musculus) / Immune deficient	250	Matig / moderate	

Voorwaarden

Op grond van artikel 10a1 lid 2 Wod zijn aan een projectvergunning voorwaarden te stellen

De vergunning wordt verleend onder de voorwaarde dat go/no go momenten worden afgestemd met de IvD.

In artikel 10, lid 1a van de wet, wordt bepaald dat het verboden is een dierproef te verrichten voor een doel dat, naar de algemeen kenbare, onder deskundigen heersende opvatting, ook kan worden bereikt anders dan door middel van een dierproef, of door middel van een dierproef waarbij minder dieren kunnen worden gebruikt of minder ongerief wordt berokkend dan bij de in het geding zijnde proef het geval is. Nieuwe onderzoeken naar alternatieven kunnen tot gevolg hebben dat inzichten en/of omstandigheden van het aangevraagde project in de vergunningsperiode wijzigen, gedurende de looptijd van deze vergunning. Indien bovenstaande zich voordoet dient aanvrager dit in overleg met de IvD te melden bij de CCD. De CCD kan in een dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarden wijzigen of intrekken.

In een pilotstudie wordt vastgesteld of het gebruik van beide geslachten mogelijk is. Deze pilotstudie kan parallel/ geïntegreerd aan de eerste studie met mannelijke dieren worden uitgevoerd. Indien er geen verschil in uitkomsten wordt gevonden, worden in alle dierproeven mannelijke en vrouwelijke dieren in evenredige aantallen gebruikt. Zo doende wordt voorkomen dat surplus dieren in voorraad moeten worden gedood. De aanvrager mag de uitkomsten van de eerste onderzoeken waarbij beide geslachten gebruikt worden rapporteren aan de CCD indien er verschillen in uitkomsten zijn tussen geslachten. De uitkomst van deze eerste onderzoeken kan voor de CCD aanleiding geven om bovenstaande voorwaarde van gelijk gebruik van beide geslachten voor deze projectvergunning te wijzigen of in te trekken.

Beoordeling achteraf

In dit project worden dierproeven toegepast die vallen in de categorie ernstig volgens artikel 10b van de wet en wordt daarom voorzien van beoordeling achteraf. Deze beoordeling zal uiterlijk 14 januari 2022 plaatsvinden. Er zal dan beoordeeld worden of de doelstellingen van het project werden bereikt. Daarnaast wordt bekeken of de schade die de dieren hebben ondervonden, het aantal en soorten proefdieren en de ernst van lijden van de proefdieren conform de vergunning waren.

Weergave wet- en regelgeving

Dit project en wijzigingen

Volgens artikel 10c van de Wet op de Dierproeven (hierna de wet) is het verboden om andere dierproeven uit te voeren dan waar de vergunning voor is verleend. De dierproeven mogen slechts worden verricht in het kader van een project, volgens artikel 10g. Uit artikel 10b volgt dat de dierproeven zijn ingedeeld in de categorieën terminaal, licht, matig of ernstig. Als er wijzigingen in een dierproef plaatsvinden, moeten deze gemeld worden aan de Centrale Commissie Dierproeven. Hebben de wijzigingen negatieve gevolgen voor het dierenwelzijn, dan moet volgens artikel 10a5 de wijziging eerst voorgelegd worden en mag deze pas doorgevoerd worden na goedkeuren door de Centrale Commissie Dierproeven.

Artikel 10b schrijft voor dat het verboden is een dierproef te verrichten die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, tenzij hiervoor door de Minister een ontheffing is verleend.

Verzorging

De fokker, leverancier en gebruiker moeten volgens artikel 13f van de wet over voldoende personeel beschikken en ervoor zorgen dat de dieren behoorlijk worden verzorgd, behandeld en gehuisvest. Er moeten ook personen zijn die toezicht houden op het welzijn en de verzorging van de dieren in de inrichting, personeel dat met de dieren omgaat moet toegang hebben tot informatie over de in de inrichting gehuisveste soorten en personeel moet voldoende geschoold en bekwaam zijn. Ook moeten er personen zijn die een eind kunnen maken aan onnodige pijn, lijden, angst of blijvende schade die tijdens een dierproef bij een dier wordt veroorzaakt. Daarnaast zijn er personen die zorgen dat een project volgens deze vergunning wordt uitgevoerd en als dat niet mogelijk is zorgen dat er passende maatregelen worden getroffen.

In artikel 9 staat dat de persoon die het project en de dierproef opzet deskundig en bekwaam moet zijn. In artikel 8 van het Dierproevenbesluit 2014 staat dat personen die dierproeven verrichten, de dieren verzorgen of de dieren doden, hiervoor een opleiding moeten hebben afgerond.

Voordat een dierproef die onderdeel uitmaakt van dit project start, moet volgens artikel 10a3 van de wet de uitvoering afgestemd worden met de instantie voor dierenwelzijn.

Pijnbestrijding en verdoving

In artikel 13 van de wet staat dat een dierproef onder algehele of plaatselijke verdoving wordt uitgevoerd tenzij dat niet mogelijk is, dan wel bij het verrichten van een dierproef worden pijnstillers toegediend of andere goede methoden gebruikt die de pijn, het lijden, de angst of de blijvende schade bij het dier tot een minimum beperken. Een dierproef die bij het dier gepaard gaat met zwaar letsel dat hevige pijn kan veroorzaken, wordt niet zonder verdoving uitgevoerd. Hierbij wordt afgewogen of het toedienen van verdoving voor het dier traumatischer is dan de dierproef zelf en het toedienen van verdoving onverenigbaar is met het doel van de dierproef. Bij een dier wordt geen stof toegediend waardoor het dier

niet meer of slechts in verminderde mate in staat is pijn te tonen, wanneer het dier niet tegelijkertijd voldoende verdoving of pijnstilling krijgt toegediend, tenzij wetenschappelijk gemotiveerd. Dieren die pijn kunnen lijden als de verdoving eenmaal is uitgewerkt, moeten preventief en postoperatief behandeld worden met pijnstillers of andere geschikte pijnbestrijdingsmethoden, mits die verenigbaar zijn met het doel van de dierproef. Zodra het doel van de dierproef is bereikt, moeten passende maatregelen worden genomen om het lijden van het dier tot een minimum te beperken.

Einde van een dierproef

Artikel 13a van de wet bepaalt dat een dierproef is afgelopen wanneer voor die dierproef geen verdere waarnemingen hoeven te worden verricht of, voor wat betreft nieuwe genetisch gemodificeerde dierenlijnen, wanneer bij de nakomelingen niet evenveel of meer, pijn, lijden, angst, of blijvende schade wordt waargenomen of verwacht dan bij het inbrengen van een naald. Er wordt dan door een dierenarts of een andere ter zake deskundige beslist of het dier in leven zal worden gehouden. Een dier wordt gedood als aannemelijk is dat het een matige of ernstige vorm van pijn, lijden, angst of blijvende schade zal blijven ondervinden. Als een dier in leven wordt gehouden, krijgt het de verzorging en huisvesting die past bij zijn gezondheidstoestand..

Volgens artikel 13b moet de dood als eindpunt van een dierproef zoveel mogelijk worden vermeden en vervangen door in een vroege fase vaststelbare, humane eindpunten. Als de dood als eindpunt onvermijdelijk is, moeten er zo weinig mogelijk dieren sterven en het lijden zo veel mogelijk beperkt blijven.

Uit artikel 13d volgt dat het doden van dieren door een deskundig persoon moet worden gedaan, wat zo min mogelijk pijn, lijden en angst met zich meebrengt. De methode om te doden is vastgesteld in de Europese richtlijn artikel 6.

In artikel 13c is vastgesteld dat proefdieren geadopteerd kunnen worden, teruggeplaatst in hun habitat of in een geschikt dierhouderijsysteem, als de gezondheidstoestand van het dier het toelaat, er geen gevaar is voor volksgezondheid, diergezondheid of milieu en er passende maatregelen zijn genomen om het welzijn van het dier te waarborgen.

De Minister heeft vrijstelling ontheffing verleend volgens artikel 13c, die de afwijkende methode van doden op basis van wetenschappelijke motivering ten minste even humaan acht als de in de richtlijn opgenomen passende methoden.

Beoordeling achteraf

Volgens artikel 10a1, lid 1d en lid 3 van de wet worden projecten waarbij niet-menselijke primaten worden gebruikt, projecten die als ernstig ingedeelde dierproeven omvatten of een dierproef die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, achteraf beoordeeld worden.

[REDACTED]

Van: Info-zbo
Verzonden: vrijdag 5 februari 2016 9:03
Aan: [REDACTED]
CC: [REDACTED]
Onderwerp: Beschikking AVD103002015350
Bijlagen: DEC advies 350.pdf; Beschikking AVD103002015350.pdf

Geachte heer, mevrouw,

Deze beschikking is ook per post verzonden.

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven www.centralecommissiedierproeven.nl
Nationaal Comité advies dierproevenbeleid www.ncadierproevenbeleid.nl

.....
Bezuidenhoutseweg 73 | 2594 AC | Den Haag Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag
.....

Van: Info-zbo
Verzonden: dinsdag 9 februari 2016 12:25
Aan: [REDACTED]
Onderwerp: Terugkoppeling aanvraag AVD103002015350

Beste DEC,
Enige tijd geleden heeft u ons een advies gezonden betreffende aanvraag AVD103002015350 (Adoptive T cell therapy and DC vaccination in hematological malignancies).
Onze dank voor dit heldere, goed onderbouwde DEC advies.

Tijdens het proces hebben wij de onderzoeker gebeld ter verduidelijking van de kans op een xenograft response. Daarnaast hebben wij schriftelijk enkele vragen gesteld aan de onderzoeker:

- 1) In de verschillende bijlagen dierproeven spreekt u over muizen die bedoeld zijn voor modeloptimalisatie. Wij begrijpen dat dit nodig kan zijn, maar willen een beeld krijgen van welk deel van de dieren voor optimalisatiedoelstellingen benut zal worden. Kunt u aangeven om hoeveel dieren dit ongeveer zal gaan?
- 2) In de verschillende bijlagen dierproeven spreekt u over muizen die bedoeld zijn voor training van nieuwe medewerkers. Dit lijkt tegenstrijdig met de opmerking dat de experimenten worden uitgevoerd door ervaren personeel. Kunt u aangeven om hoeveel muizen dit ongeveer zal gaan, welke behandelingen deze dieren zullen ondergaan (en hoe vaak) en of deze dieren geïncubeerd worden in de studies of dat deze dieren alleen voor training zullen worden gebruikt?
- 3) Kunt u verder verhelderen wat de criteria zijn waarop u besluit procedure 1 dan wel procedure 2 dan wel beide uit te voeren met de verschillende cel therapie producten?
Zijn resultaten uit procedure 1 van invloed op uitvoering van procedure 2?

De onderzoeker heeft deze vragen naar tevredenheid beantwoord.

De CCD heeft besloten de vergunning te verlenen met de volgende voorwaarden:

- 1) De vergunning wordt verleend onder de voorwaarde dat eventuele go/no go momenten worden afgestemd met de IvD.
- 2) In artikel 10, lid 1a van de wet, wordt bepaald dat het verboden is een dierproef te verrichten voor een doel dat, naar de algemeen kenbare, onder deskundigen heersende opvatting, ook kan worden bereikt anders dan door middel van een dierproef, of door middel van een dierproef waarbij minder dieren kunnen worden gebruikt of minder ongerief wordt berokkend dan bij de in het geding zijnde proef het geval is. Nieuwe onderzoeken naar alternatieven kunnen tot gevolg hebben dat inzichten en/of omstandigheden van het aangevraagde project in de vergunningsperiode wijzigen, gedurende de looptijd van deze vergunning. Indien bovenstaande zich voordoet dient aanvrager dit in overleg met de IvD te melden bij de CCD. De CCD kan in een dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarden wijzigen of intrekken.
- 3) In een pilotstudie wordt vastgesteld of het gebruik van beide geslachten mogelijk is. Deze pilotstudie kan parallel/ geïntegreerd aan de eerste studie met mannelijke dieren worden uitgevoerd. Indien er geen verschil in uitkomsten wordt gevonden, worden in alle dierproeven mannelijke en vrouwelijke dieren in evenredige aantallen gebruikt. Zo doende wordt voorkomen dat surplus dieren in voorraad moeten worden gedood. De aanvrager mag de uitkomsten van de eerste onderzoeken waarbij beide geslachten gebruikt worden rapporteren aan de CCD. De uitkomst van deze eerste onderzoeken kan voor de CCD aanleiding geven om bovenstaande voorwaarde van gelijk gebruik van beide geslachten voor deze projectvergunning te wijzigen of in te trekken.

Wegens ernstig ongerief in een deel van de dieren zal een beoordeling achteraf plaatsvinden.

Omdat de laatste voorwaarde als een beperkende voorwaarde gezien wordt, is de aanvrager in de gelegenheid gesteld hierop nog te reageren voordat het besluit definitief gemaakt werd. De aanvrager is accoord gegaan met het uitvoeren van een pilot studie.

Deze e-mail is bedoeld ter informatie, u hoeft niets te doen.

Met vriendelijke groet,

[REDACTED]
Centrale Commissie Dierproeven

Inventaris Wob-verzoek W16-07S									
		wordt verstrekt				weigeringsgronden			
nr.	document	reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1
	NTS2016385								
1	Aanvraag projectvergunning				x		x	x	
2	Aanvraagformulier				x		x	x	
3	Projectvoorstel				x			x	
4	Niet-technische samenvatting	x							
5	Bijlage beschrijving dierproeven				x			x	
6	Analyse				x			x	
7	Machtiging				x		x	x	
8	DEC-advies				x			x	
9	Ontvangstbevestiging				x		x	x	
10	Advies CCD		x						x
11	Beschikking en vergunning				x		x	x	
12	Mail beschikking 29-2-2016				x		x	x	
13	Mail terugkoppeling DEC 29-2-2016				x		x	x	

Centrale Commissie Dierproeven
Postbus 20401
2500 EK Den Haag

Genmab B.V.
Yalelaan 60
3584 CM Utrecht
Postbus 85199
3508 AD Utrecht
Tel. +31 (0) 30 2 123 123
Fax +31 (0) 30 2 123 110
www.genmab.com
KvK 30169902

Datum : 7-Jan-2016
Referentie : 20160107-SVE-002
Betreft : Project aanvraag 2015.II.11.049

Beste leden van de CCD,

Bij deze wil ik graag een project aanvraag indienen namens de vergunninghouder 24400, getiteld "Investigation of pharmacokinetics of antibody formats in rodents".

Deze project aanvraag is reeds doorgesproken met de DEC Utrecht onder nummer 2015.II.11.049.

In de uploads vindt u alle documenten nodig voor de project aanvraag en eveneens het aanvraag formulier van de project vergunning dierproeven en de machtiging van de portefeuillehouder aan [REDACTED] om deze project aanvragen in te dienen. Deze laatste zijn eveneens per post naar de CCD toegestuurd.

De volgende documenten zijn geïncludeerd:

- 1 2015.II.11.049 aanvraag-projectvergunning 24400
- 2 2015.II.11.049 project-proposal-PK Genmab 24400
- 3 2015.II.11.049 appendix-description-animal-procedures-1.3 24400
- 4 2015.II.11.049 NTS 1.3 PK 24400
- 5 2015.II.11.049 Addenda power analysis 24400
- 6 2015.II.11.049 melding-machtiging-aanvraag 24400
- 2015.II.11.049 letter from DEC

Graag hoor ik van u of u de aanvraag heeft ontvangen en in behandeling kunt nemen.

Met vriendelijke groet,

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]



Aanvraag Projectvergunning Dierproeven Administratieve gegevens

- U bent van plan om één of meerdere dierproeven uit te voeren.
- Met dit formulier vraagt u een vergunning aan voor het project dat u wilt uitvoeren. Of u geeft aan wat u in het vergunde project wilt wijzigen.
- Meer informatie over de voorwaarden vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl, of in de toelichting op de website.
- Of bel met 0900-2800028 (10 ct/min).

1 Gegevens aanvrager

1.1	Heeft u een deelnemernummer van de NVWA? <i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>	<input checked="" type="checkbox"/> Ja > Vul uw deelnemernummer in	24400 - 385
		<input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen	
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	Naam instelling of organisatie	Genmab
		Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[Redacted]
		KvK-nummer	30169902
1.3	Vul de gegevens van het postadres in. <i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i>	Straat en huisnummer	Yalelaan 60
		Postbus	
		Postcode en plaats	3584 CM Utrecht
		IBAN	NL07ABNA0434201243
		Tenaamstelling van het rekeningnummer	[Redacted]
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[Redacted] <input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.
		Functie	[Redacted]
		Afdeling	[Redacted]
		Telefoonnummer	[Redacted]
		E-mailadres	[Redacted]
1.5	<i>(Optioneel)</i> Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[Redacted] <input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
		Functie	[Redacted]
		Afdeling	[Redacted]
		Telefoonnummer	[Redacted]
		E-mailadres	[Redacted]

- 1.6 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de persoon die er verantwoordelijk voor is dat de uitvoering van het project in overeenstemming is met de projectvergunning.
- | | |
|-----------------------------|--|
| (Titel) Naam en voorletters | <input type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw. |
| Functie | |
| Afdeling | |
| Telefoonnummer | |
| E-mailadres | |
- 1.7 Is er voor deze projectaanvraag een gemachtigde?
- Ja > Stuur dan het Ingevulde formulier Melding Machtiging mee met deze aanvraag
- Nee

2 Over uw aanvraag

- 2.1 Wat voor aanvraag doet u?
- Nieuwe aanvraag > Ga verder met vraag 3
- Wijziging op (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
- Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.2
- Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
- Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.3
- 2.2 Is dit een wijziging voor een project of dierproef waar al een vergunning voor verleend is?
- Ja > Beantwoord dan in het projectplan en de niet-technische samenvatting alleen de vragen waarop de wijziging betrekking heeft en onderteken het aanvraagformulier
- Nee > Ga verder met vraag 3
- 2.3 Is dit een melding voor een project of dierproef waar al een vergunning voor is verleend?
- Nee > Ga verder met vraag 3
- Ja > Geef hier onder een toelichting en ga verder met vraag 6

3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?
- | | |
|------------|--------------|
| Startdatum | 1 - 2 - 2016 |
| Einddatum | 1 - 2 - 2021 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Development of antibodies for therapeutic use: Research of pharmacokinetics in rodents
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Ontwikkeling van antistoffen voor therapeutische toepassingen: Onderzoek naar farmacokinetiek in knaagdieren
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- | | |
|-------------|--|
| Naam DEC | Utrecht |
| Postadres | Bureau van de DEC Utrecht
Huispostnummer [REDACTED]
Postbus 85500
3508 GA Utrecht |
| E-mailadres | dec-utrecht@umcutrecht.nl |

4 Betaalgegevens


- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het? Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 741 Lege
 Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen. Via een eenmalige incasso
 Na ontvangst van de factuur
- Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.*


5 Checklist bijlagen

- 5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?
- Verplicht
- Projectvoorstel
- Niet-technische samenvatting
- Overige bijlagen, indien van toepassing
- Melding Machtiging
-

6 Ondertekening


- 6.1 Print het formulier uit, onderteken het en stuur het inclusief bijlagen via de beveiligde e-mailverbinding naar de CCD of per post naar:
- Centrale Commissie
 Dierproeven
 Postbus 20401
 2500 EK Den Haag
- Ondertekening door de instellingsvergunninghouder of gemachtigde (zie 1.7). De ondergetekende verklaart:
- dat het projectvoorstel is afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.
 - dat de personen die verantwoordelijk zijn voor de opzet van het project en de dierproef, de personen die de dieren verzorgen en/of doden en de personen die de dierproeven verrichten voldoen aan de wettelijke eisen gesteld aan deskundigheid en bekwaamheid.
 - dat de dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU, behalve in het voorkomende geval de in onderdeel F van de bijlage bij het bij de aanvraag gevoegde projectvoorstel gemotiveerde uitzonderingen.
 - dat door het ondertekenen van dit formulier de verplichting wordt aangegaan de leges te betalen voor de behandeling van de aanvraag.
 - dat het formulier volledig en naar waarheid is ingevuld.

Naam 

Functie 

Plaats Utrecht

Datum 6 - 11 - 2015

Handtekening 



Form Project proposal

- This form should be used to write the project proposal for animal procedures.
- The appendix 'description animal procedures' is an appendix to this form. For each type of animal procedure, a separate appendix 'description animal procedures' should be enclosed.
- For more information on the project proposal, see our website (www.centralecommissiedierproeven.nl).
- Or contact us by phone (0900-2800028).

1 General information

- 1.1 Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.
- 1.2 Provide the name of the licenced establishment.
- 1.3 Provide the title of the project.

2 Categories

- 2.1 Please tick each of the following boxes that applies to your project.
- Basic research
- Transitional or applied research
- Regulatory use of routine production
- Research into environmental protection in the interest of human or
- Research aimed at preserving the species subjected to procedures
- Higher education or training
- Forensic enquiries
- Maintenance of colonies of genetically altered animals not used in other animal procedures

3 General description of the project

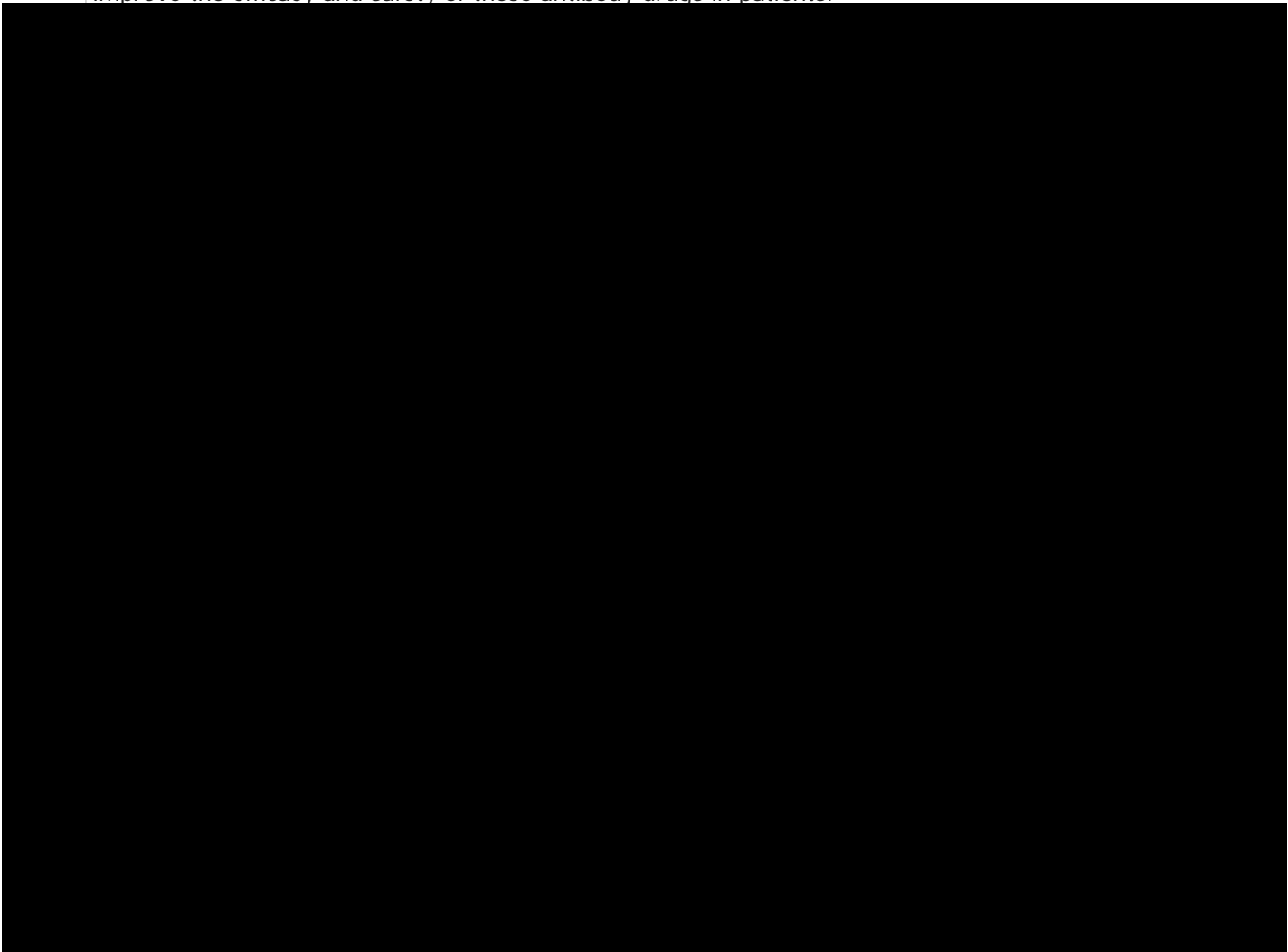
3.1 Background

Describe the project (motivation, background and context) with respect to the categories selected in 2.

- For legally required animal procedure, indicate which statutory or regulatory requirements apply (with respect to the intended use and market authorisation).
- For routine production, describe what will be produced and for which use.
- For higher education or training, explain why this project is part of the educational program and describe the learning targets.

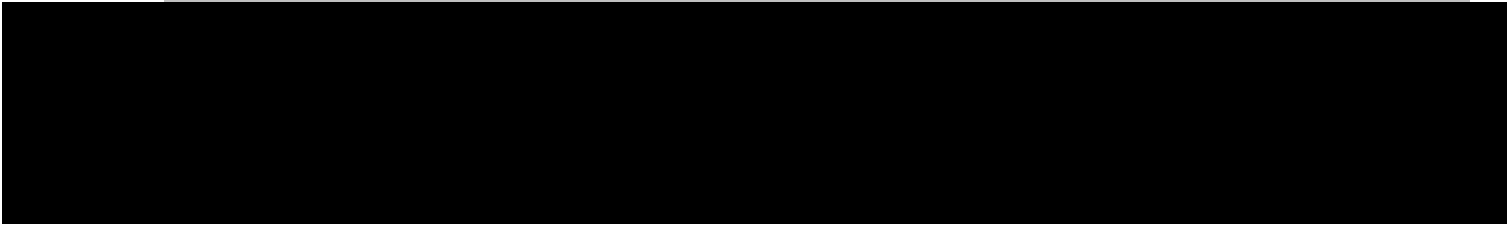
In the last years recombinant antibodies for therapeutic use in patients with cancer and/or chronic inflammatory diseases have been proven to be very successful ([Scott AM, Nature reviews, 2012](#)). However, development of new and modified improved antibody formats is continuously needed to further

improve the efficacy and safety of these antibody drugs in patients.




3.2 Purpose

Describe the project's main objective and explain why this objective is achievable.

- If the project is focussed on one or more research objectives, which research questions should be addressed during this project?
 - If the main objective is not a research objective, which specific need(s) does this project respond to?
- 

3.3 Relevance

What is the scientific and/or social relevance of the objectives described above?



3.4 Research strategy

3.4.1 Provide an overview of the overall design of the project (strategy).

The project described in this application can be classified as a sequence of similarly structured pharmacokinetic (PK) studies.

A general description of a typical PK in vivo study, described in this project applications, is as follow: Mice (or rats) are injected with different antibody formats. By taking blood samples at various time points, the amount of antibody in the blood can be detected over time. (See also 2A in description animal procedures)

The purpose is to gain knowledge about the residence time in the blood of newly developed antibody formats. This is important for the effectiveness of these antibodies in patients and provides insight into the dosage that is needed for patients.

3.4.2 Provide a basic outline of the different components of the project and the type(s) of animal procedures that will be performed.

Different types of PK experiments can be performed. The experimental design can differ in:

- a) Strain of mice/rats (immune deficient, immune competent, knockout or humane transgene e.g. for human neonatal Fc receptor (FcRn) (see more detail in appendix), or other genes that can interfere with antibody clearance
- b) Animal species (mice or rats).
- c) The addition of other compounds to the therapeutic antibody to modify factors involved with clearance
- d) The use of bioluminescent, fluorescent or radioactive labeled antibodies

Ad b) In general mice will be used for the PK studies. However, when a much higher blood volume or more frequent blood sampling is needed for ex vivo analysis or when we have indications that rats better reflect the clearance in humans for a tested antibody, rats are preferred and will be used for the PK study.

Ad d) To get more insight in the distribution of the specific antibodies within the animals, or in which organs of the animal they are cleared, antibodies can be labeled with (fluorescent/radioactive) dyes and detected in vivo with imaging techniques.

The designs c - d will only be used in a minority of the PK studies where the "Mechanism of action" of the therapeutic drug needs to be explored in more detail.

3.4.3 Describe the coherence between the different components and the different steps of the project. If applicable, describe the milestones and selection points.

Depending on the "mechanism of action" of the modified antibodies, and the scientific questions, we make the selections (in a, b and c and d in 3.4.2) and design for the most appropriate PK study.

In the coming 5 years, we expect to generate 30 newly modified antibody formats

3.4.4 List the different types of animal procedures. Use a different appendix 'description animal procedures' for each type of animal procedure.

Serial number	Type of animal procedure
1	PK experiment
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	



Appendix

Description animal procedures

- This appendix should be enclosed with the project proposal for animal procedures.
- A different appendix 'description animal procedures' should be enclosed for each type of animal procedure.
- For more information, see our website (www.centralecommissiedierproeven.nl).
- Or contact us by phone (0900-2800028).

1 General information

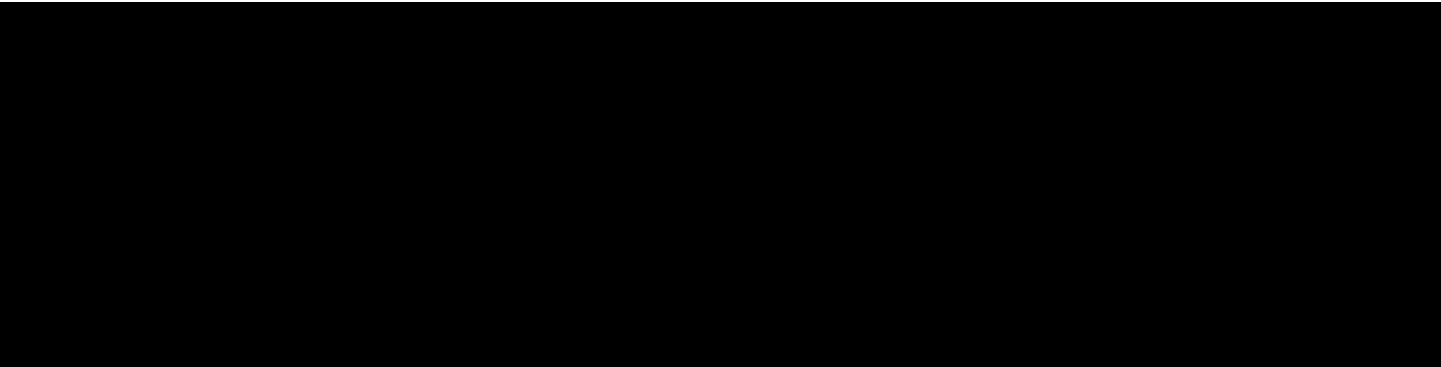
- 1.1 Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.
- 1.2 Provide the name of the licenced establishment.
- 1.3 List the serial number and type of animal procedure.
- | Serial number | Type of animal procedure |
|---------------|--------------------------|
| 1 | PK experiment |

Use the serial numbers provided in Section 3.4. of the Project Proposal for 1.

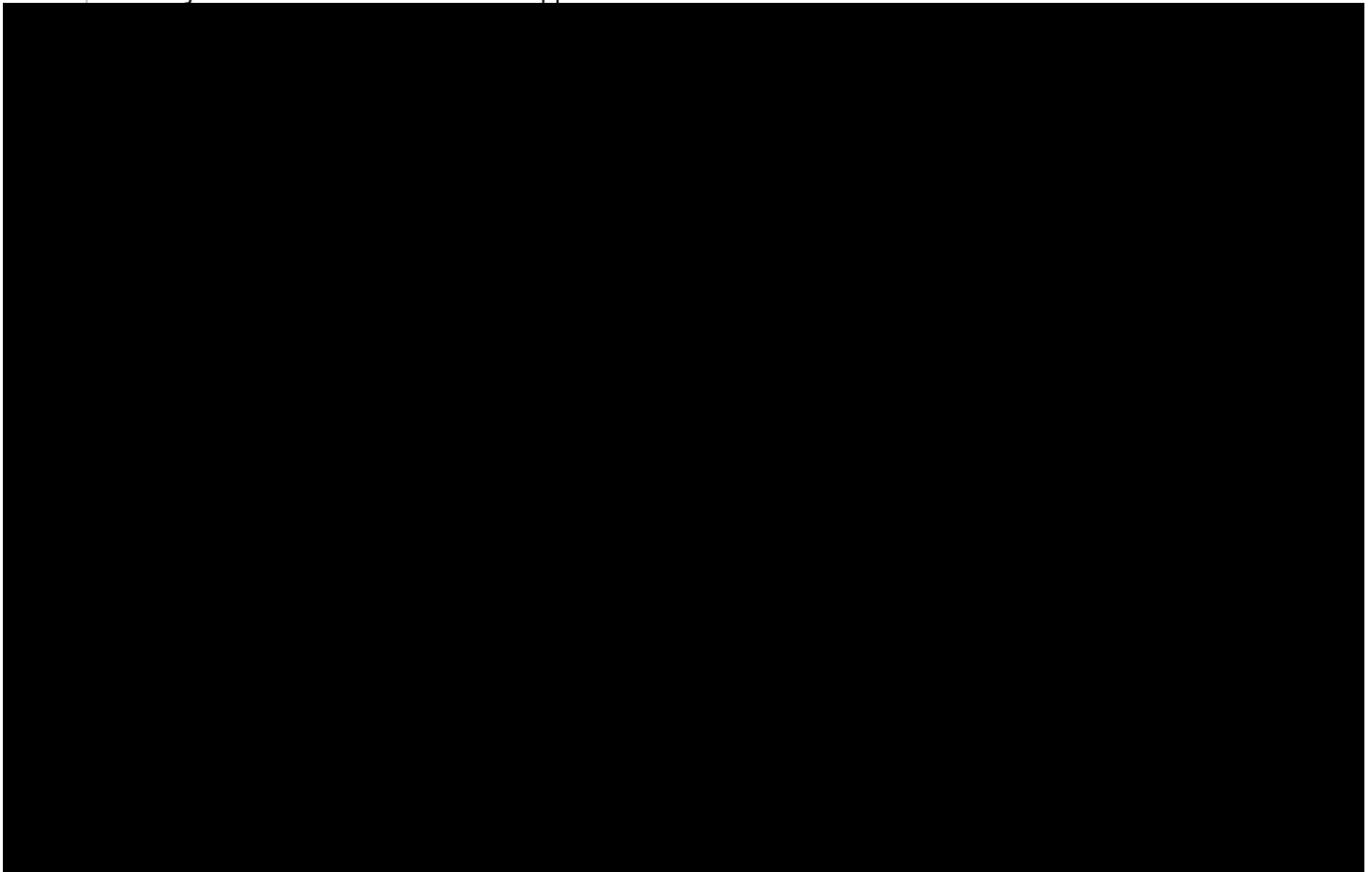
2 Description of animal procedures

A. Experimental approach and primary outcome parameters

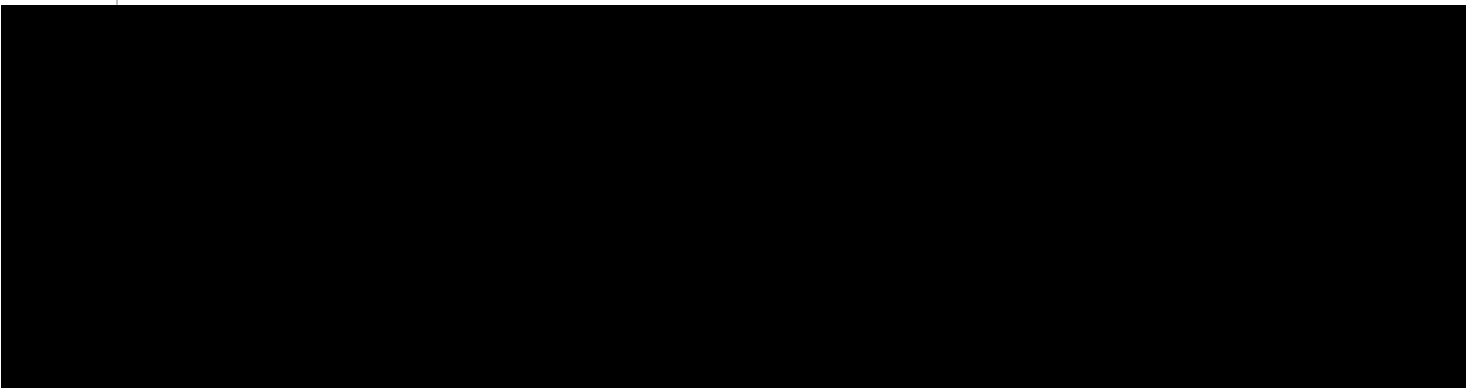
Describe the general design of the animal procedure in relation to the primary outcome parameters. Justify the choice of these parameters.




Describe the proposed animal procedures, including the nature, frequency and duration of the treatment. Provide justifications for the selected approach.



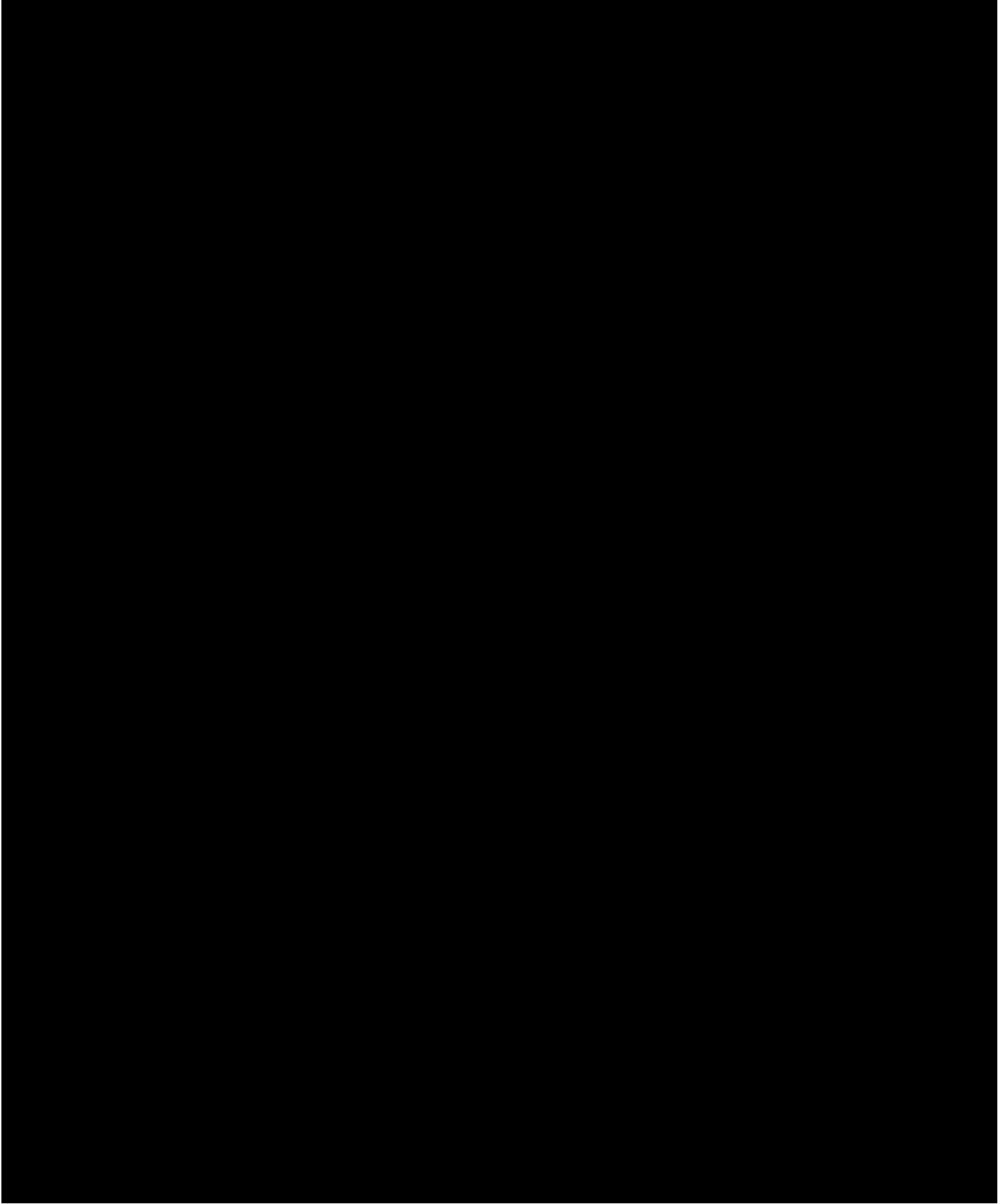
Describe which statistical methods have been used and which other considerations have been taken into account to minimise the number of animals.





B. The animals

Specify the species, origin, estimated numbers, and life stages. Provide justifications for these choices.



C. Re-use

Will the animals be re-used?

No, continue with question D.

Yes > Explain why re-use is considered acceptable for this animal procedure.

Are the previous or proposed animal procedures classified as 'severe'?

No

Yes> Provide specific justifications for the re-use of these animals during the procedures.

D. Replacement, reduction, refinement

Describe how the principles of replacement, reduction and refinement were included in the research strategy, e.g. the selection of the animals, the design of the procedures and the number of animals.

Replacement:

- In vitro studies to analyze the binding properties of the antibodies to FcRn (neonatal FC receptor, a receptor molecule involved in the clearance) and computer structural analysis will be performed.

The disappearance of antibodies from the blood circulation is a complex and partly unknown process and this can only be examined in living animals, before final evaluation in humans.

- This simulation is based on, and in line with the current knowledge described in literature and our own data on the PK of antibodies.

Reduction:

- Power analysis identified that animals per groups is the minimal and good amount of animals to give acceptable results to draw proper conclusions.
- Furthermore as indicated in 2A, in consultation with the animal welfare officer and the DEC we decided to stay with mice per group instead of more animals. This means that we are a bit above the fixed blood volume take of the mice within the first week of the experiment, but based on our findings and observation we do not see that this is paired with severe discomfort of the mice.

Refinement:

- The amount and frequency of blood take in these studies is kept as low as possible in each study design
- In case of antibody drug conjugates (were a toxin is coupled to an antibody) the dose will be always below the anticipated minimal tolerated dose (MTD)
- The biotechnicians are well trained in blood take via puncture of the facial vein. Upon advice of the animal welfare officer we decided to perform in the first week blood take via the vena sephena which should allow a better controlled lower blood volume take. Our own experience confirmed that advice.
- When higher amounts of blood volume in the specific time points are needed we will also consider the use rats in these studies.
- In future studies we will include bloodcount/Hb content analysis to check if our current used blood sampling method indeed does not lead to anemia or hypervolemia as expected.
- We will invest in the application of the "dry-blood-spot" method in our PK studies, which if successful, leads to the use of less blood per blood sampling

Explain what measures will be taken to minimise 1) animal suffering, pain or fear and 2) adverse effects on the environment.

- Monitoring of mobility and viability of mice will be performed at least twice a week, and in the first week at each time point of blood take. Personnel of the animal facility, inspects the animals daily and informs us immediately when the health conditions of the animals appear critical.
- We will apply euthanasia before clinical signs of severe distress appear. In previous studies, no severe distress was observed.

Repetition and duplication

E. Repetition

Explain what measures have been taken to ensure that the proposed procedures have not already been performed. If applicable, explain why repetition is required.

Accommodation and care

F. Accommodation and care

Is the housing and care of the animals used in experimental procedures not in accordance with Annex III of the Directive 2010/63/EU?

No

Yes > If this may adversely affect animal welfare, describe how the animals will be housed and provide specific justifications for these choices.

G. Location where the animals procedures are performed

Will the animal procedures be carried out in an establishment that is not licenced by the NVWA?

No > Continue with question H.

Yes > Describe this establishment.

Provide justifications for the choice of this establishment. Explain how adequate housing, care and treatment of the animals will be ensured.

Classification of discomfort/humane endpoints

H. Pain and pain relief

Will the animals experience pain during or after the procedures?

No > Continue with question I.

Yes > Will anaesthesia, analgesia or other pain relieving methods be used?

No > Justify why pain relieving methods will not be used.

Yes > Indicate what relieving methods will be used and specify what measures will be taken to ensure that optimal procedures are used.

I. Other aspects compromising the welfare of the animals

Describe which other adverse effects on the animals' welfare may be expected?

Stress and local pain can occur.

Explain why these effects may emerge.

Stress and local pain can be caused by the injection of a needle at moment of antibody injection and blood sampling or recovery from anaesthesia.

Indicate which measures will be adopted to prevent occurrence or minimise severity.

J. Humane endpoints

May circumstances arise during the animal procedures which would require the implementation of humane endpoints to prevent further distress?

No > Continue with question K.

Yes > Describe the criteria that will be used to identify the humane endpoints.

No specific humane endpoint in relation to the treatment and procedure are expected, however unexpected incidences unrelated to the treatment can always occur. Therefore, a humane endpoint can be based on visual inspection of abnormal behaviour, posture and appearance of the mice.

Indicate the likely incidence.

K. Classification of severity of procedures

Provide information on the expected levels of discomfort and indicate to which category the procedures are assigned ('non-recovery', 'mild', 'moderate', 'severe').

Procedure and treatment is mild, but due to repetitive blood take in first week scaled it up to moderate. Where imaging is applied the discomfort is moderate.

End of experiment

L. Method of killing

Will the animals be killed during or after the procedures?

No

Yes > Explain why it is necessary to kill the animals during or after the procedures.

Animals are specifically bred for this procedure and cannot be used for another type of experiment

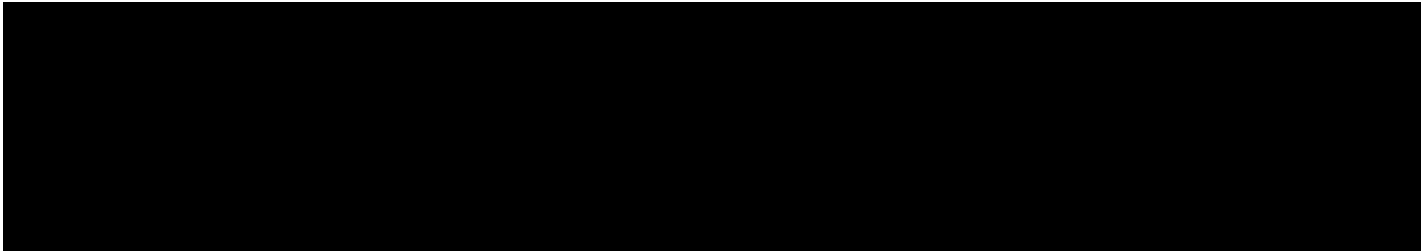
Is the proposed method of killing listed in Annex IV of Directive 2010/63/EU?

No > Describe the method of killing that will be used and provide justifications for this choice.

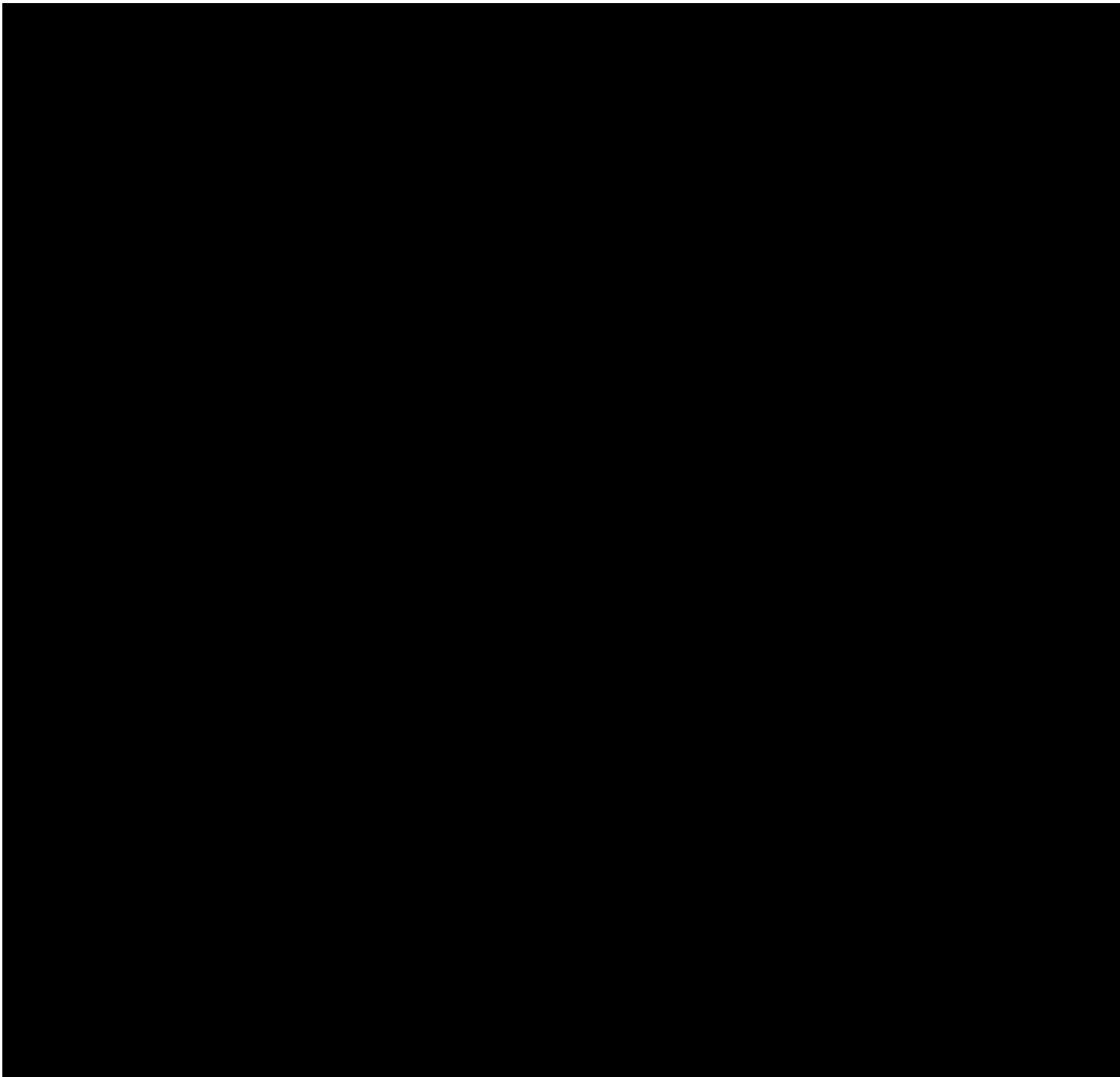
Yes

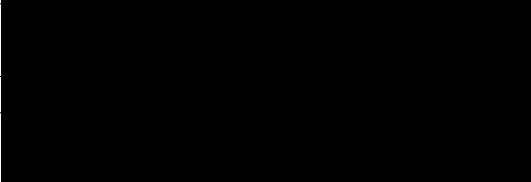
Addenda 1– Poweranalysis PK studies

Groepsgrootte



Poweranalyse klarings-studies.



	Power			
N per group	99%	90%	80%	50%
3				
4				
5				
6				



Melding Machtiging

- U kunt met dit formulier een machtiging afgeven of beëindigen.
- U machtigt een natuurlijk persoon (zoals een adviseur) of een rechtspersoon (zoals een BV, stichting, vereniging) om uw zaken voor u te behartigen. De machtiging is voor maximaal vijf jaar geldig.
- Meer informatie vindt u op www.centralecommissiedierproeven.nl.

1 Gegevens aanvrager

- 1.1 Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.

Naam van de portefeuillehouder [REDACTED]
KvK-nummer 30169902
NVWA deelnemernummer 24400

2 Gegevens gemachtigde

- 2.1 Vul één van deze nummers van de gemachtigde in: KvK-nummer, of Burgerservicenummer (BSN) Geef aan welk nummer u invult.

KvK-nummer 30169902
 BSN

- 2.2 Wat zijn de gegevens van de gemachtigde?

Naam gemachtigde [REDACTED] Dhr. Mw.
Adres of postbus Yalelaan 60
Postcode en Plaats 3508AD Utrecht
Email-adres gemachtigde [REDACTED]

3 Inhoud machtiging

- 3.1 Wilt u een nieuwe machtiging afgeven?
 Ja > Geef bij vraag 3.3 aan wat de gemachtigde voor u mag doen.
 Nee
- 3.2 Wilt u een machtiging intrekken?
 Ja > Ga door naar vraag 4
 Nee
- 3.3 Wat mag de gemachtigde voor u doen?
 Een projectvergunning aanvragen
 Een wijziging op een verleende projectvergunning aanvragen
 Een melding doorgeven op een verleende projectvergunning
 Een bezwaarschrift indienen en daarover communiceren met de Centrale Commissie Dierproeven en alle andere handelingen verrichten die nodig zijn voor een goede afwikkeling van het bezwaarschrift.
 Alle bovenstaande opties

4 Ondertekening

- 4.1 Onderteken het formulier en stuur het als bijlage met uw aanvraag mee via de beveiligde e-mailverbinding of per post:

Centrale Commissie
Dierproeven
Postbus 20401
2500 EK Den Haag

Ik heb dit formulier volledig en naar waarheid ingevuld. Ik verklaar dat ik bekend ben met alle voorwaarden van wet en regelgeving (Wod, dierproevenbesluit en dierproevenregeling).

Naam gemachtigde

Datum

Handtekening
portefeuillehouder
van de instelling

Handtekening
gemachtigde

[Redacted]
9 - nov - 2015

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer : 2015.II.11.049
2. Titel van het project : Investigation of pharmacokinetics of antibody formats in rodents
3. Titel van de NTS : Evaluatie van de verblijftijd in het bloed van antilichamen voor kankertherapie

4. Type aanvraag:

- nieuwe aanvraag projectvergunning
 wijziging van vergunning met nummer :

5. Contactgegevens DEC

- Naam DEC : DEC Utrecht
Telefoonnummer contactpersoon : 088 75 59 247
Emailadres contactpersoon : dec-utrecht@umcutrecht.nl

6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):

- ontvangen door DEC: 06-11-2015
 aanvraag compleet:
 in vergadering besproken: 18-11-2015
 anderszins behandeld: per mail: 30-11-2015
 termijnonderbreking(en) van / tot : 20-11-2015 tot 29-11-2015
 besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met max. 15 werkdagen:
 aanpassing aanvraag:
 advies aan CCD: 19-12-2015

7. Eventueel horen van aanvrager

- Datum:
- Plaats:
- Aantal aanwezige DEC-leden:
- Aanwezige (namens) aanvrager:
- Strekking van de vraag / vragen:
- Strekking van het (de) antwoord(en):
- Het horen van de aanvrager heeft geleid tot aanpassing van de aanvraag:

8. Correspondentie met de aanvrager

- Datum: 20-11-2015
- Strekking van de vragen:

Bijlage 1

- A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters: De DEC vraagt zich af gezien het bloedvolume dat u wilt afnemen of de dry-blood-spot methode niet kan worden toegepast als alternatief. Graag uw visie.

- A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters: Verder schrijft u dat u geen 'signs of anemia' ziet. De DEC zou graag zien dat u eventueel additioneel (tenzij u gebruik kunt maken van de dry-blood-spot methode) een wildtype muis mee laat lopen in uw experiment om bij deze muis het Hb gehalte te bepalen. De anemie wordt vaak te laat ontdekt als alleen wordt vertrouwd op het klinische beeld. Kunt u zich hierin vinden?
- B. De dieren: Graag motiveren waarom u een experiment 2 maal uitvoert. Dit wordt nu niet beargumenteerd.
- B. De dieren: U beschrijft een kwalitatief verschil tussen mannen en vrouwen. Pleit deze argumentatie er niet juist voor om zowel mannelijk als vrouwelijke dieren te gebruiken? Graag uw visie.
- B. De dieren: Realiseert u zich dat u wel eens te weinig dieren zult kunnen hebben met een gewicht van boven de 25 gram als u gebruik maakt van vrouwtjes van deze stammen? Graag uw uitleg hoe u dit probleem gaat oplossen.

Niet Technische Samenvatting

- 3.4 Verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdierendieren: De DEC doet u de suggestie om de zin 'Echter, er zijn geen aanwijzingen dat dit gepaard gaat met de welzijnsaantasting van de dieren' te verwijderen.'
- Datum antwoord: 29-11-2015
- Strekking van de antwoorden:

Bijlage 1

- A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters: Applying the 'dry-blood spot' method in these studies is indeed of interest. Up to now, we did not include this in the design of our studies since until recently this technique was only used for 'small molecules'. However, based on your remark, we looked again into the literature and found some interesting publications showing that this method seems also to work for antibodies. Knowing this we intend to test this and, when showing that performing respective ELISAs from dried blood is as successful as using fresh or frozen plasma, we will incorporate this in our future PK study design. [REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED] We, therefore, request the use of [REDACTED] additional mice, so that we can perform at least 2 PK studies in parallel. In the Appendix of the project application, this is adapted in 2A. The additional use of [REDACTED] mice is included in 2B, and added in the 2D Refinement.
- A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters: We agree with the DEC that measurements of signs of anemia is a good way to support our observations in the blood sampling methods as we do now. We will explore the best possibilities to measure anemia in mice and discuss with experts the ideas on how to measure the hemoglobin content and/or a blood count of the mouse blood. We suggest to include [REDACTED] additional mice to our experimental setting and to perform these measurements in two independent studies. In the appendix of the project application, the additional use of [REDACTED] mice is included in 2B. and I removed the sentence in 2D Reduction 'we never have observed signs of anemia or hypovolemia' and added this point in the 2D Refinement
- B. De dieren: To be clearer, we do not perform an identical experiment twice. [REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED]

[REDACTED]

These two experiments normally differ in design, with respect to dosing and sometimes to mouse/rat strain.

- B. De dieren: The DEC argues that we might use both males and females in the PK experiments. However, we have a strong preference to use only females which is explained in the points below.
 1. Females are easier to housekeep, since males in general fight much more and need more often separated housekeeping which in both scenarios causes stress and distress to the animals.
 2. Indeed, the activity of the innate immune system (mainly complement) is different in females compared to male mice. For mechanistic PK studies and to compare different antibodies to select for the best clone with the most preferable profile, it is important to stick to one gender in our experiments, since the different immune system might influence the clearance in modified antibody formats a lot.
 3. [REDACTED]
 4. Most efficacy studies (described in a parallel project application 2014.III.08.069) will be performed in female mice. In order to have a proper and conclusive support for the observed efficacy results, we would very much prefer to have clearance data and other PK parameters from the same mouse strain and the same gender.
 5. Furthermore, mixing of males and females in one experiment is really not preferred. A much bigger variation in the outcome per group will be introduced, which reduces the possibility to distinguish between the different antibodies in the test groups. If both genders should be included in one experiment a higher number of mice per group needs to be used, which increases considerably the total number of mice and the experimental design. Having the goal to keep the mouse numbers low (taking into account the 3R's) and the animal experiment as small as possible it is not in favor to use mice of two genders in the same setting. We realize that all these points can be argued but we will try to balance the choice of males and females in each experiment as much as possible. And if the research question and the antibody format allow the use of male mice, we intend to use also males for PK studies.
- B. De dieren: Yes, we do realize that the body weight in some cases does not reach the 25 gram, however we will therefore use as much as possible mice older than 10 weeks. Furthermore, we consider in cases that we need all the blood sampling points for a conclusive analysis, the use of male mice, rats or other mice strains which have a bigger body weight. However, in all other strains and by use of rats we cannot predict as well the outcome of the studies and we would have to build up a new data package with historical data what would be laborious task with additional use of animals.

Niet Technische Samenvatting

- 3.4 Verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdierendieren: I removed this sentence in Par. 3.4 of the Non-Technical Summary. Also in the NTS the total number of animal used is adapted. The total number of mice is adapted to 1380, and the total number of animals is adapted to 1500
- De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag: Ja

9. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC)

- Aard expertise:
- Deskundigheid expert:
- Datum verzoek:
- Strekking van het verzoek:
- Datum expert advies:
- Expert advies:

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Het project is vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet).
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.
3. De DEC is competent om hierover te adviseren.
4. Er zijn geen DEC-leden betrokken bij het betreffende project.

C. Beoordeling (inhoud):

1. Het project is:

- uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord.
- uit onderwijskundig oogpunt verantwoord.
- uit het oogpunt van productiedoeleinden verantwoord.
- wettelijk vereist.

2. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorie is in overeenstemming met de hoofddoelstelling.

3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling. Kanker en chronische ontstekingsziekten zijn ziekten die grote invloed hebben op het dagelijks leven en de levensverwachting van patiënten. Een vrij recente en succesvolle therapievorm voor patiënten met kanker en/of chronische ontstekingsziekten is de toepassing van therapeutische antilichamen. Om deze therapievorm te optimaliseren en breder toepasbaar te maken worden nieuwe en gemodificeerde therapeutische antilichamen ontwikkeld. De aanvrager wil met behulp van de voorliggende projectaanvraag de farmacokinetiek van nieuwe en gemodificeerde therapeutische antilichamen in muizen en ratten in kaart brengen, zodat met behulp van de verkregen resultaten de meest veelbelovende antilichamen geselecteerd kunnen worden voor verder (pre)klinisch onderzoek. Het belang van deze doelstelling is in de ogen van de DEC substantieel.

4. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. In dit project wordt de farmacokinetiek van verschillende therapeutische antilichamen onderzocht in muizen en ratten (bijlage 1), waarbij de opzet van de experimenten kan variëren en is afgestemd op het te onderzoeken antilichaam en de bijbehorende onderzoeksvragen. De experimenten kunnen van elkaar verschillen voor wat betreft diersoort, stam, en eventuele conjugaties van antilichamen (zie 3.4.1 van de projectaanvraag). De keuze voor de te testen antilichamen is gebaseerd op resultaten van *in vitro* assays waarin de specifieke bindings- en functionele activiteit van de antilichamen onderzocht is. De DEC is ervan overtuigd dat de aanvrager over voldoende expertise en voorzieningen beschikt om de projectdoelstelling met de gekozen strategie/aanpak binnen de gevraagde termijn te realiseren.

5. Er is geen sprake van de volgende bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren:
- Bedreigde diersoort(en) (10e lid 4)
 - Niet-menselijke primaten (10e)
 - Dieren in/uit het wild (10f)
 - Gefokt voor dierproeven (11)
 - Zwerfdieren (10h)
 - Hergebruik (1e lid 2)
 - Huisvesting en verzorging
 - Locatie: instelling vergunninghouder (10g)
6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. Het ongerief wordt voor alle dieren in bijlage 1 ingeschat als matig. Dit ongerief is het gevolg van herhaaldelijke bloedafnamen, en bij een aantal dieren ook van herhaaldelijk bijkomen uit de anesthesie ten behoeve van de imaging van gelabelde antilichamen.
7. Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen vervangen. De interacties tussen verschillende weefsels en celtypen die een rol spelen bij de klaring van antilichamen zijn complex en deels nog onbekend, waardoor deze niet in hun volledigheid *in vitro* of *in silico* nagebootst kunnen worden. *In vitro* experimenten en *in silico* simulaties worden wel gebruikt om een voorselectie te maken van veelbelovende therapeutische antilichamen, en om verkregen resultaten te vergelijken/valideren met eerder uitgevoerde experimenten en gegevens uit de literatuur.
8. In het project wordt optimaal tegemoet gekomen aan de vereiste van de vermindering van dierproeven. Het maximale aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat. Aan de hand van een poweranalyse, die is uitgevoerd met gegevens van vergelijkbare farmacokinetiekstudies, is bepaald dat een minimale groepsgrootte van █ dieren toereikend is om relevante en statistisch significante verschillen te kunnen aantonen.
9. Het project is in overeenstemming met de vereiste van de verfijning van dierproeven en het project is zo opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. Om de klaring van de antilichamen goed in kaart te kunnen brengen zijn herhaaldelijke - en in de eerste week vrij frequente - bloedafnamen noodzakelijk. Met de totale hoeveelheid af te nemen bloed wordt de voorgeschreven limiet van 8 ml/kg/14 dagen overschreden, maar naar mening van de DEC is dit verdedigbaar. Als men de hoeveelheid af te nemen bloed zou verminderen door meer dieren in te zetten, dan zou dit tot een verdubbeling van het aantal benodigde proefdieren leiden. Daarnaast hebben de onderzoekers in eerdere studies geen aanwijzingen gehad dat een dergelijke overschrijding van de limiet tot extra ongerief leidt bij de proefdieren. Om deze waarneming te onderbouwen zijn op advies van de DEC extra muizen aan de studie toegevoegd, zodat kan worden onderzocht of de huidige frequentie en gehanteerde methoden voor bloedafname inderdaad niet tot een anemie of hypovolemie leiden. Om de kans op ongerief door de herhaaldelijke bloedafnamen te minimaliseren worden verschillende maatregelen ter verfijning toegepast. █
█
█
█

Ontwikkelingen op het gebied van minimale bloedafname worden nauwlettend gevolgd, en wanneer een nieuwe methode beschikbaar komt die uit welzijnsoogpunt te prefereren is, dan wordt deze na overleg met de Instantie voor Dierenwelzijn toegepast. De dieren worden nauwlettend geobserveerd, zodat tijdig ingegrepen kan worden bij onverwacht (ernstig) ongerief. Na correspondentie met de DEC is besloten om extra muizen op te nemen in de projectaanvraag, zodat onderzocht kan worden of de dry-blood-spot methode toegepast kan worden voor de benodigde analyses. Wanneer dit het geval is, dan kan in toekomstige studies worden volstaan met een kleinere hoeveelheid bloed per bloedafname. Dat de experimenten in principe alleen met vrouwelijke dieren uitgevoerd worden is een weloverwogen en in de ogen van de DEC acceptabele keuze (zie pagina 3 van dit document).

10. De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd.

D. Ethische afweging

Op grond van de onder C, punt 3, genoemde overwegingen is de DEC unaniem van mening dat het belang van de doelstelling het in kaart brengen van de farmacokinetiek van nieuwe en gemodificeerde therapeutische antilichamen in muizen en ratten substantieel is. De onderzoeksgroep heeft in het verleden laten zien dat farmacokinetiekstudies, zoals beschreven in de voorliggende projectaanvraag, eraan bijdragen dat nieuwe therapeutische antilichamen succesvol naar de kliniek gebracht kunnen worden. De DEC is van mening dat de juiste onderzoeksstrategie gekozen is, waarbij veel aandacht besteed is aan de vereisten van vermindering en verfijning. Dit alles brengt de DEC tot het oordeel dat het belang van de doelstelling opweegt tegen het matige ongerief dat de dieren in dit project zullen ondervinden, en dat het gebruik van de dieren ethisch aanvaardbaar is.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

- De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:
- De DEC adviseert de vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarden
- De DEC adviseert de vergunning te verlenen.

2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.

Dierexperimentencommissie Utrecht



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Genmab B.V.

Yalelaan 60

3508 AD UTRECHT



**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD244002016385

Bijlagen

2

Datum 8 januari 2016

Betreft Ontvangstbevestiging Aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 7 januari 2016.

Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD244002016385. Gebruik dit nummer wanneer u contact met de CCD opneemt.

Wacht met de uitvoering van uw project

Als wij nog informatie van u nodig hebben dan ontvangt u daarover bericht. Uw aanvraag is in ieder geval niet compleet als de leges niet zijn bijgeschreven op de rekening van de CCD. U ontvangt binnen veertig werkdagen een beslissing op uw aanvraag. Als wij nog informatie van u nodig hebben, wordt deze termijn opgeschort. In geval van een complexe aanvraag kan deze termijn met maximaal vijftien werkdagen verlengd worden. U krijgt bericht als de beslisperiode van uw aanvraag vanwege complexiteit wordt verlengd. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

Factuur

Bijgaand treft u de factuur aan voor de betaling van de leges. Wij verzoeken u de leges zo spoedig mogelijk te voldoen, zodat we uw aanvraag in behandeling kunnen nemen. Is uw betaling niet binnen dertig dagen ontvangen, dan kan uw aanvraag buiten behandeling worden gesteld. Dit betekent dat uw aanvraag niet beoordeeld wordt en u uw project niet mag starten.

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.centralecommissiedierproeven.nl. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur

Gegevens aanvrager

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 24400

Naam instelling of organisatie: Genmab B.V.

Naam portefeuillehouder of
diens gemachtigde:

KvK-nummer: 30169902

Straat en huisnummer: Yalelaan 60

Postcode en plaats: 3584 CM UTRECHT

IBAN:

Tenaamstelling van het
rekeningnummer:

Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

Naam:

Functie:

Telefoonnummer:

E-mailadres:

Gegevens gemachtigde

Naam: [REDACTED]
Adres: Yalelaan 60
Postcode en plaats: 3508 AD UTRECHT

Wilt u een nieuwe machtiging afgeven? Ja

Wat mag de gemachtigde doen?

- Een projectvergunning aanvragen
- Een wijziging op een verleende projectvergunning aanvragen
- Een melding doorgeven op een verleende projectvergunning
- Een bezwaarschrift indienen en daarover communiceren met de Centrale Commissie Dierproeven en alle andere handelingen verrichten die nodig zijn voor een goede afwikkeling van het bezwaarschrift
- Alle bovenstaande opties

Over uw aanvraag

Wat voor aanvraag doet u?

- Nieuwe aanvraag
- Wijziging op een (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
- Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn

Over uw project

Geplande startdatum: 1 februari 2016
Geplande einddatum: 1 februari 2021
Titel project: Development of antibodies for therapeutic use: Research of pharmacokinetics in rodents
Titel niet-technische samenvatting: Ontwikkeling van antistoffen voor therapeutische toepassingen: Onderzoek naar farmacokinetiek in knaagdieren
Naam DEC: Utrecht
Postadres DEC: Bureau van de DEC Utrecht [REDACTED]
Postbus 85500 3508 GA Utrecht
E-mailadres DEC: dec-utrecht@umcutrecht.nl

Betaalgegevens

De leges bedragen: €935,-
De leges voldoet u: na ontvangst van de factuur

Checklist bijlagen

Verplichte bijlagen:

- Projectvoorstel
- Beschrijving Dierproeven
- Niet-technische samenvatting

Overige bijlagen:

- Melding Machtiging
- DEC-advies

Ondertekening

Naam:



Functie:



Plaats:

Utrecht

Datum:

6 november 2015



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Genmab B.V.



Yalelaan 60

3508 AD UTRECHT



**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD244002016385

Bijlagen

2

Datum 8 januari 2016

Betreft Eenmalig factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 8 januari 2016

Vervaldatum: 7 februari 2016

Factuurnummer: 16700385

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD244002016385	€ 935,00

Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum over te maken op rekening NL28RBOS 056.99.96.066 onder vermelding van het factuurnummer en aanvraagnummer, ten name van Centrale Commissie Dierproeven, Postbus 20401, 2500 EK te 's Gravenhage.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Genmab B.V.

[REDACTED]
Yalelaan 60
3508 AD UTRECHT
[POSTNET]

**Centrale Commissie
Dierproeven**
Postbus 20401
2500 EK Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD244002016385
Bijlagen

1

29 FEB 2016

Datum
Betreft Beslissing Aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Op 7 januari 2016 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Development of antibodies for therapeutic use: Research of pharmacokinetics in rodents " met aanvraagnummer AVD244002016385. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Beslissing

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a van de Wet op de Dierproeven (hierna: de wet). Hierbij gelden de algemene voorwaarden zoals genoemd in de vergunning. U kunt met uw project "Development of antibodies for therapeutic use: Research of pharmacokinetics in rodents " starten. De vergunning wordt afgegeven van 29 februari 2016 tot en met 1 februari 2021. De looptijd van de vergunning wijkt af omdat de startdatum in de aanvraag in het verleden ligt.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie Utrecht gevoegd. Dit advies is opgesteld op 19 december 2015. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet.

Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de Dierexperimentencommissie. Wij nemen het advies van de commissie over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering. Met het oog op art. 10a, lid 1, worden twee algemene voorwaarden toegevoegd. Dit advies en de in de bijlage opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet- en regelgeving zijn de grondslag van dit besluit.

Bezwaar

Als u het niet eens bent met deze beslissing, kunt u binnen zes weken na verzending van deze brief schriftelijk een bezwaarschrift indienen. Een bezwaarschrift kunt u sturen naar Centrale Commissie Dierproeven, afdeling Juridische Zaken, postbus 20401, 2500 EK Den Haag.

Bij het indienen van een bezwaarschrift vragen we u in ieder geval de datum van de beslissing waartegen u bezwaar maakt en het aanvraagnummer te vermelden. U vindt deze nummers in de rechter kantlijn in deze brief.

Bezwaar schorst niet de werking van het besluit waar u het niet mee eens bent. Dat betekent dat dat besluit wel in werking treedt en geldig is. U kunt tijdens deze procedure een voorlopige voorziening vragen bij de Voorzieningenrechter van de rechtbank in de woonplaats van de aanvrager. U moet dan wel kunnen aantonen dat er sprake is van een spoedeisend belang.

Voor de behandeling van een voorlopige voorziening is griffierecht verschuldigd. Op <http://www.rechtspraak.nl/Organisatie/Rechtbanken/Pages/default.aspx> kunt u zien onder welke rechtbank de vestigingsplaats van de aanvrager valt.

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.centralecommissiedierproeven.nl. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:



Mr. drs. H.M. van der Gaag-Halbertsma
plv Algemeen Secretaris

Bijlagen:

- Vergunning
- Hiervan deel uitmakend:
 - DEC-advies
 - Weergave wet- en regelgeving

Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de Dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam: Genmab B.V.
Adres: Yalelaan 60
Postcode en plaats: 3584 CM UTRECHT
Deelnemersnummer: 24400

deze projectvergunning voor het tijdvak 29 februari 2016 tot en met 1 februari 2021, voor het project "Development of antibodies for therapeutic use: Research of pharmacokinetics in rodents " met aanvraagnummer AVD244002016385, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC-Utrecht. De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is [REDACTED].
De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 7 januari 2016
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 7 januari 2016;
 - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 7 januari 2016;
 - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 19 december 2015, ontvangen op 7 januari 2016.

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
PK experiment	Muizen (Mus musculus) /	1380	Matig / moderate	Cumulatief matig ongerief.
PK experiment	Ratten (Rattus norvegicus) /	120	Matig / moderate	Cumulatief matig ongerief.

Voorwaarden

Op grond van artikel 10a1 lid 2 Wod zijn aan een projectvergunning voorwaarden te stellen

De vergunning wordt verleend onder de voorwaarde dat de go/no go momenten worden afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.

In artikel 10, lid 1a van de wet, wordt bepaald dat het verboden is een dierproef te verrichten voor een doel dat, naar de algemeen kenbare, onder deskundigen heersende opvatting, ook kan worden bereikt

anders dan door middel van een dierproef, of door middel van een dierproef waarbij minder dieren kunnen worden gebruikt of minder ongerief wordt berokkend dan bij de in het geding zijnde proef het geval is. Nieuwe onderzoeken naar alternatieven kunnen tot gevolg hebben dat inzichten en/of omstandigheden van het aangevraagde project in de vergunningsperiode wijzigen, gedurende de looptijd van deze vergunning. Indien bovenstaande zich voordoet dient aanvrager dit in overleg met de IvD te melden bij de CCD. De CCD kan in een dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarden wijzigen of intrekken.

Weergave wet- en regelgeving

Dit project en wijzigingen

Volgens artikel 10c van de Wet op de Dierproeven (hierna de wet) is het verboden om andere dierproeven uit te voeren dan waar de vergunning voor is verleend. De dierproeven mogen slechts worden verricht in het kader van een project, volgens artikel 10g. Uit artikel 10b volgt dat de dierproeven zijn ingedeeld in de categorieën terminaal, licht, matig of ernstig. Als er wijzigingen in een dierproef plaatsvinden, moeten deze gemeld worden aan de Centrale Commissie Dierproeven. Hebben de wijzigingen negatieve gevolgen voor het dierenwelzijn, dan moet volgens artikel 10a5 de wijziging eerst voorgelegd worden en mag deze pas doorgevoerd worden na goedkeuren door de Centrale Commissie Dierproeven.

Artikel 10b schrijft voor dat het verboden is een dierproef te verrichten die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, tenzij hiervoor door de Minister een ontheffing is verleend.

Verzorging

De fokker, leverancier en gebruiker moeten volgens artikel 13f van de wet over voldoende personeel beschikken en ervoor zorgen dat de dieren behoorlijk worden verzorgd, behandeld en gehuisvest. Er moeten ook personen zijn die toezicht houden op het welzijn en de verzorging van de dieren in de inrichting, personeel dat met de dieren omgaat moet toegang hebben tot informatie over de in de inrichting gehuisveste soorten en personeel moet voldoende geschoold en bekwaam zijn. Ook moeten er personen zijn die een eind kunnen maken aan onnodige pijn, lijden, angst of blijvende schade die tijdens een dierproef bij een dier wordt veroorzaakt. Daarnaast zijn er personen die zorgen dat een project volgens deze vergunning wordt uitgevoerd en als dat niet mogelijk is zorgen dat er passende maatregelen worden getroffen.

In artikel 9 staat dat de persoon die het project en de dierproef opzet deskundig en bekwaam moet zijn. In artikel 8 van het Dierproevenbesluit 2014 staat dat personen die dierproeven verrichten, de dieren verzorgen of de dieren doden, hiervoor een opleiding moeten hebben afgerond.

Voordat een dierproef die onderdeel uitmaakt van dit project start, moet volgens artikel 10a3 van de wet de uitvoering afgestemd worden met de instantie voor dierenwelzijn.

Pijnbestrijding en verdoving

In artikel 13 van de wet staat dat een dierproef onder algehele of plaatselijke verdoving wordt uitgevoerd tenzij dat niet mogelijk is, dan wel bij het verrichten van een dierproef worden pijnstillers toegediend of andere goede methoden gebruikt die de pijn, het lijden, de angst of de blijvende schade bij het dier tot een minimum beperken. Een dierproef die bij het dier gepaard gaat met zwaar letsel dat hevige pijn kan veroorzaken, wordt niet zonder verdoving uitgevoerd. Hierbij wordt afgewogen of het toedienen van verdoving voor het dier traumatischer is dan de dierproef zelf en het toedienen van verdoving onverenigbaar is met het doel van de dierproef. Bij een dier wordt geen stof toegediend waardoor het dier

niet meer of slechts in verminderde mate in staat is pijn te tonen, wanneer het dier niet tegelijkertijd voldoende verdoving of pijnstilling krijgt toegediend, tenzij wetenschappelijk gemotiveerd. Dieren die pijn kunnen lijden als de verdoving eenmaal is uitgewerkt, moeten preventief en postoperatief behandeld worden met pijnstillers of andere geschikte pijnbestrijdingsmethoden, mits die verenigbaar zijn met het doel van de dierproef. Zodra het doel van de dierproef is bereikt, moeten passende maatregelen worden genomen om het lijden van het dier tot een minimum te beperken.

Einde van een dierproef

Artikel 13a van de wet bepaalt dat een dierproef is afgelopen wanneer voor die dierproef geen verdere waarnemingen hoeven te worden verricht of, voor wat betreft nieuwe genetisch gemodificeerde dierenlijnen, wanneer bij de nakomelingen niet evenveel of meer, pijn, lijden, angst, of blijvende schade wordt waargenomen of verwacht dan bij het inbrengen van een naald. Er wordt dan door een dierenarts of een andere ter zake deskundige beslist of het dier in leven zal worden gehouden. Een dier wordt gedood als aannemelijk is dat het een matige of ernstige vorm van pijn, lijden, angst of blijven schade zal blijven ondervinden. Als een dier in leven wordt gehouden, krijgt het de verzorging en huisvesting die past bij zijn gezondheidstoestand..

Volgens artikel 13b moet de dood als eindpunt van een dierproef zoveel mogelijk worden vermeden en vervangen door in een vroege fase vaststelbare, humane eindpunten. Als de dood als eindpunt onvermijdelijk is, moeten er zo weinig mogelijk dieren sterven en het lijden zo veel mogelijk beperkt blijven.

Uit artikel 13d volgt dat het doden van dieren door een deskundig persoon moet worden gedaan, wat zo min mogelijk pijn, lijden en angst met zich meebrengt. De methode om te doden is vastgesteld in de Europese richtlijn artikel 6.

In artikel 13c is vastgesteld dat proefdieren geadopteerd kunnen worden, teruggeplaatst in hun habitat of in een geschikt dierhouderijsysteem, als de gezondheidstoestand van het dier het toelaat, er geen gevaar is voor volksgezondheid, diergezondheid of milieu en er passende maatregelen zijn genomen om het welzijn van het dier te waarborgen.

De Minister heeft vrijstelling ontheffing verleend volgens artikel 13c, die de afwijkende methode van doden op basis van wetenschappelijke motivering ten minste even humaan acht als de in de richtlijn opgenomen passende methoden.

Van: Info-zbo
Verzonden: maandag 29 februari 2016 10:35
Aan: [REDACTED]
CC: [REDACTED]
Onderwerp: Beslissing aanvraag projectvergunning dierproeven
Bijlagen: Beslissing projectvergunning dierproeven AVD224002016385.pdf

Geachte heer/mevrouw,

Deze zal ook per post worden verzonden.

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven www.centralecommissiedierproeven.nl

Bezuidenhoutseweg 73 | 2500 AV | Den Haag
Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag

Van: Info-zbo
Verzonden: maandag 29 februari 2016 10:51
Aan: dec-utrecht@umcutrecht.nl
Onderwerp: terugkoppeling besluit op aanvraag AVD244002016385

Geachte leden van DEC-Utrecht,

Op 19 december 2015 heeft u advies uitgebracht op de projectaanvraag met titel 'Investigation of pharmacokinetics of antibody formats in rodents', en aanvraagnummer AVD244002016385. Wij danken u voor uw advies en koppelen graag het oordeel van de CCD over deze aanvraag aan u terug. De CCD heeft besloten de vergunning te verlenen, onder de volgende algemene voorwaarden:

De vergunning wordt verleend onder de voorwaarde dat de go/no go momenten worden afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.

In artikel 10, lid 1a van de wet, wordt bepaald dat het verboden is een dierproef te verrichten voor een doel dat, naar de algemeen kenbare, onder deskundigen heersende opvatting, ook kan worden bereikt anders dan door middel van een dierproef, of door middel van een dierproef waarbij minder dieren kunnen worden gebruikt of minder ongerief wordt berokkend dan bij de in het geding zijnde proef het geval is. Nieuwe onderzoeken naar alternatieven kunnen tot gevolg hebben dat inzichten en/of omstandigheden van het aangevraagde project in de vergunningsperiode wijzigen, gedurende de looptijd van deze vergunning. Indien bovenstaande zich voordoet dient aanvrager dit in overleg met de IvD te melden bij de CCD. De CCD kan in een dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarden wijzigen of intrekken.

De aanvrager en de verantwoordelijk onderzoeker zijn hierover ingelicht.

We hopen u op deze wijze voldoende geïnformeerd te hebben.

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven www.centralecommissiedierproeven.nl

.....
Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag
.....

T: 0900 2800028

E: info@zbo-ccd.nl

Inventaris Wob-verzoek W16-07S									
		wordt verstrekt				weigeringsgronden			
nr.	document	reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1
	NTS2016402								
1	Aanvraagformulier				x		x	x	
2	Projectvoorstel				x			x	
3	Niet-technische samenvatting oud			x					
4	Bijlage beschrijving dierproeven				x			x	
5	Bijlage			x					
6	Machtiging				x		x	x	
7	DEC-advies				x		x	x	
8	Ontvangstbevestiging				x		x	x	
9	Verzoek aanvulling				x		x	x	
10	Niet-technische samenvatting	x							
11	Advies CCD		x						x
12	Beschikking en vergunning				x		x	x	
13	Mail beschikking 2-3-2016				x		x	x	



27 JAN. 2016

AVD 114002016402

Aanvraag Projectvergunning Dierproeven Administratieve gegevens

- U bent van plan om één of meerdere dierproeven uit te voeren.
- Met dit formulier vraagt u een vergunning aan voor het project dat u wilt uitvoeren. Of u geeft aan wat u in het vergunde project wilt wijzigen.
- Meer informatie over de voorwaarden vindt u op de website www.zbo-ccd.nl of in de toelichting op de website.
- Of bel met 0900-2800028 (10 ct/min).

1 Gegevens aanvrager

1.1	Heeft u een deelnemernummer van de NVWA? <i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>	<input checked="" type="checkbox"/> Ja > Vul uw deelnemernummer in	11400
		<input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen	
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	Naam instelling of organisatie	Vrije Universiteit Medisch Centrum (VUMC) Amsterdam
		Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[Redacted]
		KvK-nummer	64156338
		Straat en huisnummer	de Boelelaan 1117
1.3	Vul de gegevens van het postadres in. <i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i>	Postbus	-
		Postcode en plaats	1081HV Amsterdam
		IBAN	NL07DEUT 0549 3100 02
		Tenaamstelling van het rekeningnummer	VU medisch centrum
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[Redacted] <input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
		Functie	[Redacted]
		Afdeling	[Redacted]
		Telefoonnummer	[Redacted]
		E-mailadres	[Redacted]
1.5	<i>(Optioneel)</i> Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[Redacted] <input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
		Functie	[Redacted]
		Afdeling	[Redacted]
		Telefoonnummer	[Redacted]
		E-mailadres	[Redacted]

- 1.6 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de persoon die er verantwoordelijk voor is dat de uitvoering van het project in overeenstemming is met de projectvergunning.
- | | |
|-----------------------------|--|
| (Titel) Naam en voorletters | <input type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw. |
| Functie | |
| Afdeling | |
| Telefoonnummer | |
| E-mailadres | |
- 1.7 Is er voor deze projectaanvraag een gemachtigde?
- Ja > Stuur dan het ingevulde formulier *Melding Machtiging mee met deze aanvraag*
- Nee

2 Over uw aanvraag

- 2.1 Wat voor aanvraag doet u?
- Nieuwe aanvraag > Ga verder met vraag 3
- Wijziging op (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
- Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.2
- Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
- Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.3
- 2.2 Is dit een *wijziging* voor een project of dierproef waar al een vergunning voor verleend is?
- Ja > Beantwoord dan in het projectplan en de niet-technische samenvatting alleen de vragen waarop de wijziging betrekking heeft en onderteken het aanvraagformulier
- Nee > Ga verder met vraag 3
- 2.3 Is dit een *melding* voor een project of dierproef waar al een vergunning voor is verleend?
- Nee > Ga verder met vraag 3
- Ja > Geef hier onder een toelichting en ga verder met vraag 6

3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?
- | | |
|------------|--------------|
| Startdatum | 1 - 3 - 2016 |
| Einddatum | 1 - 3 - 2021 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Antilichaam gemedieerde iNKT cel activatie voor de behandeling van kanker
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Antilichaam gemedieerde iNKT cel activatie voor de behandeling van kanker
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- | | |
|-------------|--|
| Naam DEC | DEC-VU-VUMC |
| Postadres | [Redacted] Amsterdam The Netherlands |
| E-mailadres | [Redacted] |

4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het? Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 935 Lege
 Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.
Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.
- Via een eenmalige incasso
 Na ontvangst van de factuur

5 Checklist bijlagen

- 5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?
- Verplicht
- Projectvoorstel
- Niet-technische samenvatting
- Overige bijlagen, indien van toepassing
- Melding Machtiging
-

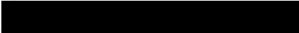
6 Ondertekening

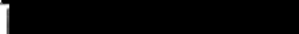
- 6.1 Print het formulier uit, onderteken het en stuur het inclusief bijlagen via de beveiligde e-mailverbinding naar de CCD of per post naar:

Centrale Commissie
 Dierproeven
 Postbus 20401
 2500 EK Den Haag

Ondertekening door de instellingsvergunninghouder of gemachtigde (zie 1.7). De ondergetekende verklaart:


- dat het projectvoorstel is afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.
- dat de personen die verantwoordelijk zijn voor de opzet van het project en de dierproef, de personen die de dieren verzorgen en/of doden en de personen die de dierproeven verrichten voldoen aan de wettelijke eisen gesteld aan deskundigheid en bekwaamheid.
- dat de dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU, behalve in het voorkomende geval de in onderdeel F van de bijlage bij het bij de aanvraag gevoegde projectvoorstel gemotiveerde uitzonderingen.
- dat door het ondertekenen van dit formulier de verplichting wordt aangegaan de leges te betalen voor de behandeling van de aanvraag.
- dat het formulier volledig en naar waarheid is ingevuld.

Naam 

Functie 

Plaats Amsterdam

Datum 25/01-2016

Handtekening 



Format Projectvoorstel dierproeven

- Dit format gebruikt u om uw projectvoorstel van de dierproeven te schrijven
- Bij dit format hoort de bijlage Beschrijving dierproeven. Per type dierproef moet u deze bijlage toevoegen.
- Meer informatie over het projectvoorstel vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul de titel van het project in.

2 Categorie van het project

- 2.1 In welke categorie valt het project.
- U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.*
- Fundamenteel onderzoek
- Translationeel of toegepast onderzoek
- Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
- Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de
- Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
- Hoger onderwijs of opleiding
- Forensisch onderzoek
- Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven

3 Algemene projectbeschrijving

3.1 Achtergrond

Licht het project toe. Beschrijf de aanleiding, de achtergrond en de context. Besteed aandacht aan de bij vraag 2 aangekruiste categorieën.

- Geef in geval van 'wettelijk vereiste dierproeven' aan welke wettelijke eisen (in relatie tot beoogd gebruik en markttoelating) van toepassing zijn.
- Geef in geval van 'routinematige productie' aan welk(e) product(en) het betreft en voor welke toepassing(en).
- Geef in geval van 'hoger onderwijs of opleiding' aan waarom in dit project, in relatie tot het opleidingsprogramma en eindtermen, is gekozen voor dierproeven.

Invariante natural killer T-cellen (iNKT) betreffen een unieke populatie lymfocyten die wordt

gekaracteriseerd door de expressie van een (semi-)invariante T-cel receptor (TCR) (i.e. geconserveerd tussen verschillende mensen en dieren). Interactie met (glyco-)lipiden gepresenteerd in CD1d, een MHC-1 achtig molecuul, resulteert in snelle activatie, cytokine productie en een potente anti-tumor response (i.e. tumorcel dood). Hierbij hebben iNKT cellen een direct cytotoxisch effect op de tumor cellen en activeren door hen geproduceerde cytokines daarnaast andere immuun cellen (e.g. cytotoxische T-lymfocyten, natural killer cellen), hetgeen resulteert in een potente anti-tumor immuun response. De eigenschap van iNKT cellen om een anti-tumor immuun response zowel te induceren als te faciliteren geeft ze potentieel een belangrijke rol in de immuun controle van zowel *CD1d-positieve tumoren* (e.g. multiple myeloma (MM), T-cel acute lymfatische leukemie (T-ALL)) als *CD1d-negatieve tumoren* (e.g. hoofd-hals kanker en colorectaal kanker).¹⁻⁴

Multipel myeloom

CD1d komt tot expressie op een groot aantal hematologische tumoren, inclusief multipel myeloom (MM) en T-cel acute lymfatische leukemie (T-ALL).^{5,6} MM is een plasma cel maligniteit welke wordt vooraf gegaan door de voorstadia monoclonal gammopathy of unknown significance (MGUS) en smouldering multiple myeloma (SMM). Deze voorstadia worden onder andere gekenmerkt door de afwezigheid van klinische symptomen. MGUS komt voor bij 3% van de kaukasische bevolking en heeft een risico op ziekte progressie (tot MM) van 1% per jaar. SMM heeft een progressie risico van 10% per jaar in de eerste 5 jaar na diagnose. Men spreekt van MM wanneer symptomen optreden gekenmerkt door o.a. nierfalen, bot pijn en/of spontane botfracturen, anemie en vermoeidheid.

Alhoewel veel patiënten baat hebben bij de huidige therapie en de overleving sterk is verbeterd na de introductie van nieuwe therapieën (e.g. bortezomib, thalidomide, en lenalidomide) blijft de ziekte grotendeels ongeneeslijk met een gemiddelde overleving van 6,1 jaar. Gezien de beperkte behandel mogelijkheden is de consensus dat de voorstadia van MM niet worden behandeld.^{7,8} Nieuwe behandel opties waarbij de ziekte in een vroeg stadium kan worden geattaqueerd –voordat permanente schade optreed - zijn echter aantrekkelijk en onderwerp van onderzoek. Het direct doden van MM cellen door het eigen immuunsysteem vormt hierin een belangrijke therapeutische mogelijkheid. (pre-)Klinische studies hebben de potentie van iNKT cellen in de behandeling van MM benadrukt.

T-cel acute lymphoblastische leukemie

Immuuntherapie is eveneens een belangrijk nieuw therapeuticum voor verschillende soorten leukemie waaronder T-cel acute lymphoblastische leukemie (T-ALL). T-ALL komt met name voor bij kinderen en adolescenten en heeft ondanks zeer intensieve chemotherapie al of niet gecombineerd met stamcel transplantatie een 5 -jaar overleving van 66-80 procent, waarbij de uitkomst voor volwassenen aanzienlijk slechter is. *In vitro* studies met humane primaire T-ALL cellen en geactiveerde iNKT cellen laten evidente tumor cel dood zien en benadrukken hiermee de potentiële rol van iNKT cellen in T-ALL therapie.⁶

CD1d-negatieve tumoren

Klinische follow-up studies in zowel hoofd-hals-kanker als colorectaal kanker hebben een belangrijke associatie laten zien tussen ziekte progressie en (verminderde) iNKT cel aantallen en tumor infiltratie. iNKT cel therapie vormt derhalve ook bij CD1d negatieve tumoren een mogelijk belangrijke rol.^{9,10}

Muizen studies ondersteunen de klinische observaties en tonen aan dat iNKT cellen een belangrijke rol spelen in immuun surveillance van tumoren. Kanker patiënten, inclusief patiënten met MM, leukemie en hoofd-hals-kanker, hebben echter een progressief verlies in functie en aantallen van iNKT cellen. Deze defecten zijn geassocieerd met een slechte uitkomst maar zijn reversibel met een adequate stimulus.^{2,5} Klinische studies hebben laten zien dat activatie en/of infusie van iNKT cellen resulteert in een objectieve tumor response in een deel van de patiënten; de anti-tumor effecten zijn echter relatief beperkt en niet consistent.^{4,11} Een mogelijke verklaring hiervoor is dat de iNKT cellen worden geremd door een

suppressieve tumor micro-omgeving en/of gepresenteerd glycolipide resulterend in een suboptimale iNKT activatie. Deze klinische studies benadrukken wel de potentie en veiligheid van iNKT cel therapie in kanker patiënten. Derhalve zijn nieuwe methoden die de suppressieve effecten van de tumor cellen kunnen overkomen gewenst.

Effectieve stimulering van de interactie tussen tumor cellen en iNKT cellen door middel van een therapie gericht op CD1d of, in het geval van CD1d-negatieve tumoren d.m.v. een bi-specifiek antilichaam (e.g. een antilichaam dat tegelijk iNKT als tumor cellen bindt) vormt hierin een belangrijke aspect.

In ons laboratorium hebben we een uniek anti-humaan CD1d antilichaam ontwikkeld dat de eigenschap heeft om *in vitro* iNKT cellen zeer snel te activeren wanneer het gebonden is aan CD1d. Activatie wordt gekenmerkt door een iNKT gemedieerde tumor cel dood en productie van het cytokine IFN- γ .

[Redacted text]

[Redacted text].¹²

Hiernaast is er in ons laboratorium een antilichaam ontwikkeld wat enerzijds een specifiek tumor antigen bindt ([Redacted text]) en anderzijds iNKT cellen. Door simultane binding treedt direct contact op tussen iNKT en tumor cellen resulterend, *in vitro*, in iNKT cel activatie en tumor cel dood. Dit bi-specifieke antilichaam maakt het mogelijk om de unieke anti-tumor eigenschappen van iNKT cellen in hun volle omvang te benutten in CD1d negatieve tumoren. *In vitro* onderzoek in ons laboratorium heeft de potentie van dit bi-specifieke antilichaam aangetoond.

Met het huidige projectvoorstel willen wij *in vivo* onderzoeken of de ontwikkelde antilichamen *in vivo* iNKT cellen kunnen activeren en hierdoor tumor groei kunnen voorkomen.

1. Godfrey DI, MacDonald HR, Kronenberg M, et al. NKT cells: what's in a name? *Nat Rev Immunol* 2004 Mar;4(3):231-7.
2. Exley MA, Lynch L, Varghese B, et al. Developing understanding of the roles of CD1d-restricted T cell subsets in cancer: reversing tumor-induced defects. *Clin Immunol* 2011 Aug;140(2):184-95.
3. [Redacted]
4. [Redacted]
5. Dhodapkar MV, Richter J. Harnessing natural killer T (NKT) cells in human myeloma: progress and challenges. *Clin Immunol* 2011 Aug;140(2):160-6.
6. Takahashi T, Haraguchi K, Chiba S, et al. Valpha24+ natural killer T-cell responses against T-acute lymphoblastic leukaemia cells: implications for immunotherapy. *Br J Haematol* 2003 Jul;122(2):231-9.
7. Moreau P, San Miguel J, Ludwig H, et al. Multiple myeloma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2013 Oct;24 Suppl 6:vi133-7.
8. Kumar SK, Dispenzieri A, Lacy MQ, et al. Continued improvement in survival in multiple myeloma: changes in early mortality and outcomes in older patients. *Leukemia* 2014 May; 28(5): 1122–1128.
9. Tachibana T, Onodera H, Tsuruyama T, et al. Increased intratumor Valpha24-positive natural killer T cells: a prognostic factor for primary colorectal carcinomas. *Clin Cancer Res* 2005 Oct 15;11(20):7322-7.
10. [Redacted]
11. Richter J, Neparidze N, Zhang L, et al. Clinical regressions and broad immune activation following combination therapy targeting human NKT cells in myeloma. *Blood*. 2013 Jan 17;121(3):423-30.
12. [Redacted]

3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

- In het geval het project gericht is op één of meer onderzoeksdoelen: op welke vra(a)g(en) dient dit project antwoord(en) te verschaffen?
- In geval het een ander dan een onderzoeksdoel betreft: in welke concrete behoefte voorziet dit project?

Doelstelling project voorstel:

Primaire doel in deze studie betreft het *in vivo* induceren van een potente anti-tumor immuun response door activatie van iNKT cellen tegen CD1d positieve en CD1d negatieve tumoren.

Hierbij beogen wij de volgende onderzoeksvragen te kunnen beantwoorden;

1. Kunnen de door ons gemaakte unieke anti-CD1d specifieke [REDACTED] en bi-specifieke constructen iNKT cellen activeren *in vivo*
2. Kunnen de geactiveerde iNKT cellen tumor groei tegen gaan en/of volledig elimineren
3. Kunnen de geactiveerde iNKT cellen andere immuun cellen activeren en op deze manier een versterkte immuun response induceren

Haalbaarheid project voorstel:

1. *In vitro* heeft het anti-humaan CD1d [REDACTED] bewezen effectiever te zijn dan de huidige bekende glycolipiden met betrekking tot iNKT cel activatie en anti-tumor response. *In vivo* studies hebben aangetoond dat activatie van iNKT cellen door een immuun stimulerend glycolipide geladen op tumor cellen veilig is en een sterk inhiberend effect heeft op tumor cel groei, hierdoor is het aannemelijk dat de door ons voorgestelde therapie een tenminste even groot effect zal hebben.
2. Recent onderzoek heeft uitgewezen dat bispecifieke antilichamen zeer effectief zijn *in vivo* en in klinische studies. Huidige constructen targeten alle T-cellen inclusief suppressieve T-cellen. Gezien de unieke eigenschap van iNKT cellen om een sterke anti-tumor immuun response te induceren is het aannemelijk dat het voorgestelde bi-specifieke antilichaam een zeer potente anti-tumor response kan opwekken.
3. Het gebruik van een immuundeficiëntie (NSG) muis voorkomt afstoting van zowel de humane tumor xenograft en humane iNKT cellen waardoor het werkelijke effect van de behandeling (en dus behalen van de doelen) nauwkeurig is vast te stellen.
4. Ervaring binnen het onderzoeksinstituut met enkele van de voorgestelde en met vergelijkbare tumor modellen waarborgt het technisch succesvol uitvoeren van de dierexperimenten.
5. Binnen de onderzoeksgroep is ruime ervaring opgedaan met [REDACTED] voor de behandeling van humane tumor xenografts in NSG muizen (lopende studies). Hiernaast wordt er nauw samen gewerkt met [REDACTED] waar zeer ruime expertise is op het gebied van [REDACTED] inclusief dierproeven. Persoonlijke communicatie met een onderzoeksgroep van [REDACTED] ([REDACTED] [REDACTED]) en samenwerking met de afdeling [REDACTED] zorgen voor adequate kennis omtrent het gebruik van humane hematologische tumor xenografts in muizen.
6. Door alleen therapie vormen die *in vitro* effectief zijn te gebruiken, de dierproeven gefaseerd uit te voeren en de ruime aanwezige ervaring te benutten waarborgen we dat de gestelde onderzoeksvragen kunnen worden beantwoord.
7. Reeds toegekende onderzoeksbeurzen verzekeren voldoende financiële onderbouwing voor de uitvoering van het voorgestelde project.

3.3 Belang

Beschrijf het wetenschappelijk en/of maatschappelijk belang van de hierboven beschreven doelstelling(en).

Wetenschappelijk belang:

Om de *in vivo* functionaliteit van het unieke anti-CD1d specifieke [REDACTED] en de bi-specifieke constructen aan te tonen met betrekking tot iNKT cel activatie en tumor groei inhibitie in CD1d positieve en CD1d negatieve tumoren. En om inzicht te verwerven in het *in vivo* mechanisme van een anti-tumor immuun response van

de door ons ontworpen antilichamen gecombineerd met iNKT infusie. Hiernaast geeft het voorgestelde diermodel belangrijke informatie over de farmacodynamiek en farmacokinetiek van de desbetreffende antilichamen.

Maatschappelijk belang:

De in vitro zeer effectief gebleken antilichamen gecombineerd met de belangrijke anti-tumor eigenschappen van iNKT cellen maakt de voorgestelde therapievorm kansrijk met een potentieel breed implicatie gebied.

Een groot aantal hematologische maligniteiten zijn CD1d positief wat de combinatie van ons immuun stimulerende [REDACTED] met iNKT cellen een zeer aantrekkelijke therapie vorm maakt. Targeting van CD1d negatieve tumoren door het bi-specifieke construct ([REDACTED]) opent de weg, van iNKT gemedieerde anti-tumor immunotherapie, naar een zeer brede applicatie in een grote verscheidenheid aan tumoren

3.4 Onderzoeksstrategie

3.4.1 Geef een overzicht van de algemene opzet van het project (strategie).

De voorgestelde experimenten bestaan allen uit de combinatie van een humane tumor xenograft gevolgd door behandeling met humane iNKT cellen en antilichamen in muizen. Op basis van het te gebruiken antilichaam kunnen drie subonderdelen worden onderscheiden (a-c).

a) *In vivo* experimenten met CD1d positieve tumoren en het anti-humaan CD1d [REDACTED]. In dit onderdeel zal de vraag worden beantwoord of het anti-humaan CD1d [REDACTED];

- a) iNKT cellen kan activeren
- b) Een potente anti-tumor response kan induceren tegen CD1d positieve tumoren (lijnen/primaire tumoren)
- c) De geactiveerde iNKT cellen andere immuun cellen kunnen activeren.

Uitvoering van dit onderdeel zal plaatsvinden door het (ten dele) sequentieel uitvoeren van verscheidene experimenten; e.g. bepaling tumor take rate en groei kinetiek van de te gebruiken tumoren, dosis bepaling anti-humaan CD1d [REDACTED], bepaling optimale hoeveelheid iNKT cellen al of niet gecombineerd met PBMC/PBL infusie.

b) *In vivo* experimenten met CD1d positieve tumoren en anti-humaan CD1d [REDACTED] gelinkt aan;

- a) Een anti-tumor [REDACTED]
- b) Een co-stimulerend en/of ander T-cel bindend [REDACTED]

Gekeken zal worden naar het additief effect van het bi-specifieke construct. Experimenten in dit onderdeel zullen pas worden uitgevoerd na, tenminste ten dele, afronding van deel (a) en uitgebreide *in vitro* proeven waaruit het additieve effect is gebleken. Ook hier zal uitvoering (ten dele) sequentieel plaatsvinden. Verkregen *in vivo* gegevens uit onderdeel (a) zullen gebruikt worden voor optimalisering van de geplande experimenten.

c) *In vivo* experimenten met een bi-specifiek antilichaam voor het targeten van CD1d negatieve tumoren. In dit onderdeel zal een anti-tumor [REDACTED]-anti-iNKT ([REDACTED]) bi-specifiek construct gebruikt worden om de vraag te beantwoorden of

- a) iNKT cellen kunnen worden geactiveerd
- b) Geactiveerde iNKT cellen een potente anti-tumor immuun response kunnen induceren in CD1d-negatieve tumoren. Tumor groei kinetiek/ take rate zal worden bepaald d.m.v. een pilot experiment.

Indien effectief gebleken zullen soortgelijke experimenten worden uitgevoerd waarin de *in vitro* effectief

gebleken bi-specifieke constructen, gericht tegen andere tumor targets (), worden onderzocht. Verschillende subonderdelen vinden (deels) sequentieel plaats.

3.4.2 Geef een overzicht op hoofdlijnen van de verschillende onderdelen van het project en de daarbij gebruikte type(n) dierproef of dierproeven.

Voor de subonderdelen a-c zoals beschreven in 3.4.1 zal gebruikt worden gemaakt van 1 type dierproef; namelijk een humaan tumor model in immuundeficiënte NSG muizen gevolgd door behandeling met de combinatie therapie van humane iNKT (+/- andere immuun effector) cellen en de desbetreffende antilichaam infusie. Drie groepen tumormodellen kunnen worden onderscheiden:

- a) CD1d positieve, al dan niet, hematologische solide tumor
- b) CD1d positieve leukemische tumor
- c) CD1d-negatieve solide tumor

Tumor cellen zullen subcutaan of orthotopisch (a-c) of intra-tibiaal (b) worden geïnjecteerd.

De gebruikte diersoort is een muis met een aangeboren sterk deficiënt immuunsysteem, een zogenaamde NOD scid gamma (NSG) muis, om afstoting van de tumor graft en immuunreactie tegen de toegediende effector cellen te voorkomen. NSG muizen worden frequent gebruikt voor humane tumor modellen en zijn algemeen geaccepteerd als adequaat diermodel voor dergelijke studies. Gekozen is voor zowel humane tumor cellen als humane iNKT cellen omdat 1) de gebruikte antilichamen gericht zijn tegen humane cellen, 2) De extropoleerbaarheid naar de humane situatie wordt gemaximaliseerd.

3.4.3 Beschrijf en benoem de logische samenhang van deze verschillende onderdelen en de eventuele fasering in de uitvoering. Vermeld eventuele mijlpalen en keuzemomenten.

De kern van het huidige projectvoorstel is iNKT cel gemedieerde anti-tumor immuuntherapie waarbij gebruik wordt gemaakt van verschillende methoden om iNKT cellen te activeren om een potente anti-tumor immuun response te induceren tegen zowel CD1d positieve als negatieve tumoren.

Zoals beschreven in 3.4.1 bestaat het project voorstel uit deel (a-c), waarbij in deel (a) en (b) gebruik gemaakt zal worden van CD1d positieve tumoren en in deel (c) van CD1d negatieve tumoren. Uitvoering van deel (b) zal afhangen van bevindingen in deel (a) en zal plaatsvinden tenminste na ten dele afronding van deel (a). Deel (c) maakt gebruik van bi-specifieke constructen en een ander tumor model en zal onafhankelijk van deel (a) en (b) kunnen plaatsvinden.

Individuele experimenten zullen ten minste ten dele gefaseerd plaatsvinden waarbij na afronding van elk onderdeel de verkregen resultaten zullen worden geanalyseerd en indien mogelijk geïmplementeerd in vervolg experimenten.

3.4.4 Benoem de typen dierproeven. Vul per type dierproef een bijlage Beschrijving dierproeven in.

Volgnummer	Type dierproef
1	humaan tumor xenograft model NSG muis
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	



Format

Niet-technische samenvatting

- Dit format gebruikt u om uw niet-technische samenvatting te schrijven
- Meer informatie over de niet-technische samenvatting vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1 Titel van het project	Antilichaam gemedieerde iNKT cel activatie voor de behandeling van kanker
1.2 Looptijd van het project	Versillende onderdelen van het project zullen (ten dele) na elkaar worden uitgevoerd. Tevens zullen meerdere onderzoekers bij het project betrokken zijn, hierdoor is de verwachte looptijd maximaal 5 jaar.
1.3 Trefwoorden (maximaal 5)	Immuuntherapie, kanker, antilichamen

2 Categorie van het project

2.1 In welke categorie valt het project. <i>U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.</i>	<input checked="" type="checkbox"/> Fundamenteel onderzoek
	<input checked="" type="checkbox"/> Translationeel of toegepast onderzoek
	<input type="checkbox"/> Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
	<input type="checkbox"/> Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid
	<input type="checkbox"/> Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
	<input type="checkbox"/> Hoger onderwijs of opleiding
	<input type="checkbox"/> Forensisch onderzoek
	<input type="checkbox"/> Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven

3 Projectbeschrijving

3.1 Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang)	<p>Immuuntherapie is een therapie gericht op activatie van het eigen immuunsysteem voor de behandeling van kanker. Naast de standaard kanker behandeling met chemotherapie en radiotherapie vormt immuuntherapie een steeds belangrijkere behandel methode. Invariante natural killer T-cellen (iNKT) zijn een uniek type witte bloedcel welke, na activatie, kankercellen zeer effectief kan doden. Therapie gericht op activatie van deze immuun cellen kan daarom een belangrijke nieuwe vorm van kankerbehandeling zijn.</p> <p>iNKT cellen kunnen onder andere worden geactiveerd door binding aan de cel marker CD1d welke aanwezig is op veel soorten kanker. De kankercellen</p>
---	--

kunnen echter iNKT cel activatie onderdrukken waardoor de kankercellen niet voldoende gedood worden.

CD1d komt voor op onder andere multipel myeloom (ziekte van Kahler) en leukemie. Ondanks agressieve chemotherapie en beenmergtransplantaties overlijden nog steeds veel patiënten aan deze ziektes waardoor nieuwe behandel opties nodig zijn. Therapie gericht op activatie van iNKT cellen, waardoor de kankercellen wel gedood worden, vormt hierbij een belangrijke optie.

In ons laboratorium hebben we twee unieke antilichamen ontwikkeld welke iNKT cellen kunnen activeren resulterend in kankercel dood. Het eerste antilichaam bindt direct aan CD1d, waardoor iNKT cellen weer adequaat kunnen worden geactiveerd. Het tweede antilichaam, een zogenaamd bi-specifiek antilichaam, bindt zowel kankercellen als iNKT cellen en zorgt er op deze manier voor dat iNKT cellen worden geactiveerd. Dit laatste antilichaam kan worden gebruikt in het geval er geen CD1d voorkomt op de tumor.

Van beide antilichamen hebben we in het laboratorium aangetoond dat ze zeer effectief zijn. In het huidige project voorstel willen wij deze nieuwe vorm van immunotherapie verder onderzoeken.

3.2 Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?

De door ons voorgestelde antilichaam behandelingen hebben de mogelijkheid om te worden toegepast bij een groot aantal soorten kanker. Veel kanker soorten zijn CD1d positief wat de combinatie van het immuun stimulerende antilichaam en iNKT cellen toepasbaar maakt in deze tumoren. Tevens maakt het bi-specifieke antilichaam het mogelijk om de positieve anti-tumor eigenschappen van iNKT cellen in te kunnen inzetten tegen CD1d-negatieve tumoren. De voorgestelde experimenten geven ook inzicht in het werkingsmechanisme van deze antilichamen.

3.3 Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?

Muizen. Het totaal aantal gebruikte dieren wordt geschat op 720.

3.4 Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren?

De mogelijke negatieve gevolgen voor de dieren bestaan uit:
- Stress, ongemak, pijn en conditie verlies veroorzaakt door de tumorgroei
- Stress, ongemak en pijn veroorzaakt door injecties en bloedafname
- Ongemak en angst tijdens het bijkomen van narcose
- Bijwerkingen veroorzaakt door de behandeling van de tumoren (immuun activatie)

3.5 Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst?

Het verwachte en maximaal toelaatbare ongerief voor alle deelnemende dieren wordt geschat op matig.

3.6 Wat is de bestemming van de dieren na afloop?

De dieren worden volgens Europese richtlijnen gedood waarna de organen worden gebruikt voor een uitgebreide analyse van het effect van de kanker behandeling.



4 Drie V's

4.1 **Vervanging**

Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdiervrije alternatieven niet gebruikt kunnen worden.

Uitgebreid onderzoek in ons laboratorium heeft aangetoond dat de antilichamen in een kweekschaal zeer effectief iNKT cellen activeren resulterend in kankercel dood. Om deze therapie verder te kunnen ontwikkelen voor toekomstige toepasbaarheid in mensen is informatie omtrent de werking en effectiviteit in een levend dier essentieel.

4.2 **Vermindering**

Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt.

Door gebruik te maken van een pilot experiment, de verschillende onderzoeks onderdelen na elkaar uit te voeren en nauwkeurige berekeningen van de dier aantallen, wordt voorkomen dat te veel dieren worden gebruikt.

4.3 **Verfijning**

Verklaar de keuze voor de diersoort(en). Verklaar waarom de gekozen diermodel(len) de meest verfijnde zijn, gelet op de doelstellingen van het project.

Met muizen is het meeste ervaring met dit soort tumor modellen. Alle handelingen in de experimenten worden door ervaren onderzoekers/dierverzorgers uitgevoerd om het ongerief voor de dieren zo laag mogelijk te houden. Het ongerief van het dier wordt zo laag mogelijk gehouden door het gebruik van anesthesie wanneer dit nodig is (bv. Hartpunctie).

Vermeld welke algemene maatregelen genomen worden om de negatieve (schadelijke) gevolgen voor het welzijn van de proefdieren zo beperkt mogelijk te houden.

Verschiede handelingen zullen zo veel mogelijk worden gecombineerd om stress momenten te verminderen. Dagelijks zullen de dieren worden bekeken en meerdere malen per week zal de tumor grootte worden bepaald om ongemak te voorkomen en/of te verminderen. Indien dit niet mogelijk is zullen de dieren worden geëuthanaseerd.

Kooiverrijking en toegang tot onbeperkt water en voedsel zal worden gewaarborgd. De tumoren zullen zo geplaatst worden dat de dieren er zo min mogelijk last van hebben.

5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

Beoordeling achteraf

Andere opmerkingen



Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer | Type dierproef |
|------------|---------------------------------------|
| 1 | humaan tumor xenograft model NSG muis |

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

In het huidige project voorstel maken wij gebruik van een humaan tumor xenograft model in NOD scid gamma (NSG) muizen. Drie typen tumoren zullen worden gebruikt; 1) solide groeiend CD1d positieve tumoren, 2) leukemisch groeiend CD1d positieve tumoren en 3) solide groeiend CD1d negatieve tumoren. Primaire tumoren of tumor cellijnen zullen subcutaan of orthotopisch (1 en 3) of intra-tibiaal (2) worden geïnoculeerd. Na uitgroei van de tumor zal gestart worden met de behandeling bestaand uit wekelijks parenterale infusie van effector cellen (e.g. a) gekweekte zuivere humane iNKT cellen of b) perifeer bloed mononucleaire cellen (PBMC) / perifeer bloed lymfocyten(PBL) al of niet verrijkt met gekweekte iNKT cellen) en 1-2x/week parenterale infusie van het desbetreffende antilichaam, te noemen;

1. anti-humaan CD1d [redacted] al of niet gekoppeld aan andere [redacted].
2. anti-tumor-anti-iNKT bispecifiek construct. Hierbij bestaat het anti-tumor construct uit een [redacted] gericht tegen een tumor epitoom, [redacted] en het anti-iNKT construct [redacted].

Primaire uitkomstparameter is tumor groei, i.e. tumor grootte /tumor load (volume, bioluminescentie of percentage leukemische cellen in het bloed). Secundaire parameters zijn iNKT cel activatie en cytokine productie.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

NSG muizen zullen worden geïnoculeerd met de aangegeven tumor cellen. De tumor omvang zal worden gemonitord door volume metingen enkele malen per week vanaf week 1 voor solide subcutaan groeiende

tumoren, voor orthotopisch getransplanteerde tumoren zal gebruik worden gemaakt van bio-imaging 1x/week. Leukemische tumor load (percentage tumor cellen) zal in de pilot studie vanaf week 1 maximaal tweemaal per week worden bepaald in afgenomen bloed. Afhankelijk van de gevonden groeikinetiek kan eventueel later gestart worden en/of minder frequent de tumor grootte/ load worden bepaald in de vervolg experimenten.

Start van therapie zal afhangen van de gevonden groei kinetiek in de pilot experimenten. Bij de start van de therapie zullen de muizen worden gerandomiseerd en parenteraal worden geïnjecteerd met humane effector cellen van een gezonde donor direct gevolgd door het te onderzoeken antilichaam (pyrogeen vrij geproduceerd). Per week zal bloed worden afgenomen voor flow cytometrie analyse. Bloedafnamen en effector cel infusie zal wekelijks plaatsvinden. Eén tot twee maal per week zal het desbetreffende antilichaam parenteraal worden toegediend. De grootte van de te gebruiken antilichamen ligt over het algemeen onder het renale filtratie niveau waardoor mogelijk snelle renale klaring plaatsvindt, hierdoor zullen de antilichamen tot twee maal per week worden toegediend. Wekelijkse bloedafnames zijn nodig om effector cel frequentie en activatie te bepalen. Het in eerste instantie tot enkele malen per week bepalen van de tumor load is nodig om een nauwkeurig beeld te krijgen van de tumor groei kinetiek.

De volgende subonderdelen zullen (deels sequentieel) worden uitgevoerd (voor subonderdelen en geschatte dier aantallen zie bijlage 1A):

- A. Tumor take-rate bepaling
- B. Dosis bepaling antilichaam ()
- C. Bepaling van de optimale hoeveelheid toegediende en soort effector cellen, bestaande uit:
 - (1) gekweekte iNKT
 - (2) PBMC/PBL al dan niet verrijkt met gekweekte iNKT cellen
- D. Inoculatie van *primaire* humane tumor cellen gevolgd door de optimale effector cel infusie en antilichaam therapie.

Duur van de behandeling zal afhangen van de tumor groei snelheid, te bereiken doel van het experiment en/of humane eindpunten. Experimenten zullen zo kort mogelijk duren zonder dat de onderzoeksvraag in het geding komt. De verwachting is dat de experimenten in onderdeel (a) en (b) enkele (3-4) weken in beslag zullen nemen. Voor de overige onderdelen zullen de dieren, afhankelijk van de gevonden anti-tumor response, langdurig worden vervolgd (tot maximaal 120 dagen na start therapie). Gedurende deze verlengde observatie periode zal gekeken worden naar tumor recidief.

Experimenten met het anti-humane CD1d gekoppeld aan andere en vinden alleen plaats mits de *in vivo* effectiviteit van het anti-humaan CD1d en *in vitro* effectiviteit van het anti-humane CD1d gekoppeld aan andere is gebleken.

De verwachting is dat 1-3 verschillende bi-specifieke constructen zullen worden getest.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

Voor subonderdelen (a-c) is uitgegaan van het kleinste verschil tussen de verschillende groepen en een standaard deviatie van 0,2. Om een minimale effect grote van 30% met een power van 80% en een alpha van 0,05 te kunnen vaststellen is een groepsgrootte van 9 dieren nodig.

Voor subonderdeel (d) is er een groepsgrootte van 14 dieren nodig om met een power van 80% en een alpha van 0,05 een minimaal effect te detecteren van 25%. Hierbij is uitgegaan van een standaard deviatie van 0,3 voor de gepaarde variatie in de populatie.

Gebaseerd op ervaring van ons eigen laboratorium, en is uitgegaan van 20% uitval (e.g falen tumor groei) voor zowel het CD1d positieve (hematologische) solide tumor model als CD1d positieve leukemische tumor model. Eerdere experimenten met het CD1d-negatieve solide tumor model in onze groep en de groep uit laten een maximale uitval van 10% zien. Door experimenten sequentieel uit te voeren wordt het aantal subonderdelen maximaal beperkt (e.g. bevindingen in het CD1d positieve hematologische solide tumor model worden gebruikt in het CD1d positieve leukemische tumor model).

B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levensstadia. Onderbouw deze keuzes.

Diersoort	NOD-scid IL2Rgamma ^{null} (NSG) muis. Om tumor afstoting door het eigen immuunsysteem te voorkomen is gekozen voor een muizen stam met een aangeboren sterk deficiënt immuunsysteem.
Herkomst	Eigen fok. Vanwege dierenwelzijn (geen transport), en de aanwezigheid van eigen fok is gekozen voor deze optie.
Geschatte aantallen	720. Aan de hand van de getoonde berekening in onderdeel A (<i>en bijlage 1A</i>) is gekomen tot dit aantal.
Levensstadia	Jongvolwassen. Om te voorkomen dat leeftijd gerelateerde complicaties optreden bij langdurige experimenten en om de groepen zo homogeen mogelijk te houden is gekozen voor jongvolwassen dieren.
Geslacht	Beide. Het geslacht heeft geen invloed op de voorgestelde therapieën. Voor enkele (langdurige experimenten) zal mogelijk gekozen worden voor alleen vrouwelijke dieren om de mogelijkheid om "kooien" samen te voegen open te houden.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Vervanging:

Uitgebreide *in vitro* proeven hebben aangetoond dat de voorgestelde therapie zeer effectief iNKT cellen kan activeren resulterend in tumor cel dood. Om deze therapie verder te kunnen karakteriseren en ontwikkelen voor toekomstige toepasbaarheid in mensen is informatie omtrent de bio-distributie en *in vivo* effectiviteit essentieel. Tot op heden is er geen volwaardig alternatief om deze informatie te verkrijgen.

Vermindering:

Door de introductie van een pilot experiment, het sequentieel uitvoeren van de experimenten en statistische power analyse wordt voorkomen dat onnodig grote of te kleine dier aantallen worden gebruikt. Gekozen is voor intra-tibiale tumor cel injectie voor introductie van een leukemisch groeiende tumor omdat hierbij minder variatie tussen de dieren optreedt en de tumor bij meer dieren aanslaat resulterend in kleinere groepen (persoonlijke communicatie afdeling ██████████ en zoals beschreven door Lee et al, Int J Oncol 2012).

Verfijning:

Verschillende handelingen (e.g. bloedafname, effector cel injectie) zullen zoveel mogelijk worden gecombineerd om stress momenten te reduceren. Dagelijks zullen de dieren worden geobserveerd en tot meerdere malen per week zal de tumor grootte worden bepaald. Hierbij zal gehandeld worden volgens de "code of practice dierproeven in het kankeronderzoek" (Den Haag/Zutphen, juli 1999).

Kooverrijking en toegang tot water en voedsel (ad libitum) zal worden gewaarborgd. Bij het injecteren van de subcutane tumor zal rekening worden gehouden met de lokalisatie waardoor de tumor zo min mogelijk effect heeft op het normale functioneren.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Dagelijks zullen de muizen in hun habitat worden geobserveerd op tekenen van ongerief. Gecontroleerde huisvesting/voeding zorgen voor een minimaal risico op infecties.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

In vivo studies hebben de potentie van iNKT therapie voor de behandeling van maligniteiten aangetoond. Deze modellen maakten in de regel gebruik van een muizen tumor –en muizen iNKT cellen, waarbij iNKT cellen werden geactiveerd met een synthetisch glycolipide. De verkregen resultaten waren veelbelovend, echter lastig vertaalbaar naar de menselijke situatie. Het gebruik van een humaan model (e.g. humane iNKT – en tumor cellen) laat dit beter toe. Belangrijker, wij maken geen gebruik van het genoemde synthetisch glycolipide maar van een unieke antilichaam welke *in vitro* veel potenter is. *In vivo* onderzoek met dergelijke antilichamen heeft zover wij hebben kunnen nagaan niet plaatsgevonden. Pilot experimenten zijn geïndiceerd aangezien er verschillen zijn tussen eerder gebruikte en de huidig gebruikte tumor cel lijnen (e.g. wel/geen transfectie met CD1d, verschillende bronnen van de gebruikte tumor cel lijnen) welke invloed kunnen hebben op zowel de tumor take-rate als groeikinetiek.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder Wod valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Ten tijde van tumor injectie, bloedafname (e.g. via de staartvene) en injectie van de voorgestelde therapie kunnen de dieren kortdurend een geringe mate van pijn ervaren, ervaring leert dat dit echter niet opweegt tegen het ongerief van algehele anesthesie. Toepassing van NSAIDs is niet mogelijk gezien de beschreven immuunmodulerende (bij)werking en hiermee additioneel geïntroduceerde variabele.

Ja > Geef dan aan welke pijnverlichtingsmethoden worden toegepast en op welke wijze wordt verzekerd dat dit op een optimale wijze gebeurt.

Bloedafname leidend tot groter ongerief (e.g. "tail-snips", hartpunctie) zal onder algehele anesthesie plaatsvinden. Voor intra-tibiale tumor cel injectie zullen de dieren onder algehele anesthesie worden gebracht. Alvorens injectie plaatsvindt zal adequate anesthesie worden gecontroleerd door afwezigheid van reflexen.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

- a. Handelen
- b. Wegen
- c. Dragen van tumoren
- d. Bepalen tumor grootte
- e. Anesthesie voor bio-imaging

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Om de gewenste meetresultaten te verkrijgen zijn bovengenoemde handelingen nodig.

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

Welzijnsaantasting zal worden geminimaliseerd door de beschreven handelingen onder D (kopje verfijning).

J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Criteria conform de "code of practice dierproeven in het kankeronderzoek" (Den Haag/Zutphen, juli 1999) zullen worden gehanteerd. De dieren zullen worden geëuthanaseerd wanneer maximaal matig ongerief is bereikt.

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

<10%. De overige >90% zal worden geëuthanaseerd volgens van te voren vastgestelde criteria (e.g. tumor grootte, einde studie). Van leukemische tumoren is bekend dat deze soms zeer snel kunnen groeien en of meer ongerief veroorzaken t.o.v. solide tumoren, hierdoor is de verwachting dat maximaal 20% van de dieren uit deze groep bovenvermelde criteria zal bereiken voor het studie eind punt.

K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

Matig ongerief. De wekelijkse bloedafnamen, therapie injectie en het dragen van tumoren voor een langere tijd maakt het cumulatief ongerief matig (zie tabel 1B voor opsplitsing van de soort en mate van ongerief).

Einde experiment

L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee

Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Om eventuele ongecontroleerde tumor uitgroei te voorkomen is terminatie aan het einde van de proef essentieel. Tevens is uitgebreide analyse van de geëuthanaseerde dieren nodig om inzicht te krijgen in o.a. immuun cel distributie en activatie, orgaan infiltratie, tumor distributie.

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja

Bijlage 1.

Tabel A. Geschatte dieraantallen per tumortype en experiment.

Tumor type	Experimenten per tumortype	Groepen per experiment	Aantal dieren per groep ⁽¹⁾	Totaal aantal dieren
a) CD1d positieve (hematologische) solide tumor	Pilot experiment	2	5	10
	Dosisbepaling	10	12	120
	Effector cel hoeveelheid en soort	14	12	168
	Additief effect bi-specifiek construct	4	12	48
	Engraftment van primaire humane tumor cellen	18 ⁽²⁾	3	54
b) CD1d positieve leukemische tumor	Pilot experiment	2	5	10
	Therapie effect	10	12	120
	Engraftment van primaire humane tumor cellen	18 ⁽²⁾	3	54
c) CD1d-negatieve solide tumor	Pilot experiment	2	4	8
	Dosisbepaling	4	10	40
	Effector cel hoeveelheid en soort	4	10	40
	Engraftment van primaire humane tumor cellen	16 ⁽²⁾	3	48
Totaal				720

⁽¹⁾ Aantal dieren per groep is gecorrigeerd voor verwachte uitval.

⁽²⁾ Primaire humane tumor cellen zullen voor een directe therapeutisch vergelijking gepaard worden geïnoculeerd, elk tumor paar is hierbij afkomstig van een andere donor.

Tabel B. Schatting mate van ongerief per soort en tumor type.

Soort ongerief	Kwalificatie (licht/matig/ernstig)	Tumor type (a/b/c)
Handelen (incl wegen)	licht	a,b,c
Injectie en dragen tumor (subcutaan/ orthotopisch)	matig	a,c
Intra-tibiale injectie en dragen tumor	matig	b
Meten tumor grote	licht	a,c
Parenterale injectie	licht	a,b,c
Bloedafname	matig	a,b,c
Anesthesie	licht	a,b,c
Cumulatief ongerief	matig	a,b,c



Melding Machtiging

- U kunt met dit formulier een machtiging afgeven of beëindigen.
- U machtigt een natuurlijk persoon (zoals een adviseur) of een rechtspersoon (zoals een BV, stichting, vereniging) om uw zaken voor u te behartigen. De machtiging is voor maximaal vijf jaar geldig.
- Meer informatie vindt u op www.centralecommissiedierproeven.nl.

1 Gegevens aanvrager

1.1 Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.

Naam van de portefeuillehouder	[Redacted]
KvK-nummer	53815211
NVWA deelnemernummer	11400

2 Gegevens gemachtigde

2.1 Vul één van deze nummers van de gemachtigde in: KvK-nummer, of Burgerservicenummer (BSN) Geef aan welk nummer u invult.

<input type="checkbox"/> KvK-nummer	[Redacted]
<input checked="" type="checkbox"/> BSN	[Redacted]

2.2 Wat zijn de gegevens van de gemachtigde?

Naam gemachtigde	[Redacted]	<input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
Adres of postbus	[Redacted]	
Postcode en Plaats	[Redacted]	Amsterdam

3 Inhoud machtiging

- 3.1 Wilt u een nieuwe machtiging afgeven?
 Ja > Geef bij vraag 3.3 aan wat de gemachtigde voor u mag doen.
 Nee
- 3.2 Wilt u een machtiging intrekken?
 Ja > Ga door naar vraag 4
 Nee
- 3.3 Wat mag de gemachtigde voor u doen?
 Een projectvergunning aanvragen
 Een wijziging op een verleende projectvergunning aanvragen
 Een melding doorgeven op een verleende projectvergunning
 Een bezwaarschrift indienen en daarover communiceren met de Centrale Commissie Dierproeven en alle andere handelingen verrichten die nodig zijn voor een goede afwikkeling van het bezwaarschrift.
 Alle bovenstaande opties

4 Ondertekening

- 4.1 Ondertekenen het formulier en stuur het als bijlage met uw aanvraag mee via de beveiligde e-mailverbinding of per post:
- Ik heb dit formulier volledig en naar waarheid ingevuld. Ik verklaar dat ik bekend ben met alle voorwaarden van wet en regelgeving (Wod, dierproevenbesluit en dierproevenregeling).

Centrale Commissie
Dierproeven
Postbus 20401
2500 EK Den Haag

Naam gemachtigde

Datum

3 0 - 0 7 - 2 0 1 5

Handtekening
portefeuillehouder
van de instelling

Handtekening
gemachtigde



DEC-advies

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer:

2. Titel van het project:

Antilichaam gemedieerde iNKT cel activatie voor de behandeling van kanker

3. Titel van de NTS:

Antilichaam gemedieerde iNKT cel activatie voor de behandeling van kanker

4. Type aanvraag:

- nieuwe aanvraag projectvergunning*
- wijziging van vergunning met nummer

5. Contactgegevens DEC:

- naam DEC: *Vrije Universiteit Amsterdam / VU medisch centrum*
- telefoonnummer contactpersoon: [REDACTED]
- mailadres contactpersoon: [REDACTED]

6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):

- ontvangen door DEC: 27-8-2015*
- aanvraag compleet: 27-8-2015*
- in vergadering besproken: 8-9-2015*
- anderszins behandeld: *n.v.t.*
- termijnonderbreking(en) van / tot: *n.v.t.*
- besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen: *n.v.t.*
- aanpassing aanvraag: n.v.t.*
- advies aan CCD: 25-1-2016*

7. Eventueel horen van aanvrager: *n.v.t.*

8. Correspondentie met de aanvrager

- Datum: *14-9-2015 en 8-12-2015*
- Strekking van de vraag / vragen:
De DEC stelt dat de NTS soms iets te technisch is, deze moet in begrijpelijker taal worden geschreven. Bovendien vraagt de DEC toelichting bij de strategie, de DEC is van mening dat hier sprake is van 1 type dierproef. Er is meer uitleg nodig betreffende de ervaring van de onderzoekers en de eventuele samenwerking met andere groepen. Bij de mate van ongerief moeten ook de humane eindpunten vermeld worden. Om het geheel overzichtelijker te maken kunnen de onderzoekers het beste de aantallen en de mate van ongerief in een tabel weergeven en dit als bijlage toevoegen.
- Datum antwoord: *23-10-2015 en 9-12-2015*

- Strekking van het (de) antwoord(en):
De gevraagde aanpassingen zijn doorgevoerd en de benodigde toelichting is gegeven.
- De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag: *Ja*

9. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC): *n.v.t.*

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. *Het project is vergunning plichtig. Het omvat dierproeven in de zin der wet.*
2. *De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.*
3. *De DEC is competent om over deze projectvergunningaanvraag te adviseren. De benodigde expertise op dit wetenschappelijk terrein is aanwezig binnen de DEC.*
4. *Vanwege betrokkenheid bij het betreffende project is een aantal DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, niet betrokken bij de advisering: n.v.t. (geen van de DEC-leden is betrokken bij het betreffende project)*

C. Beoordeling (inhoud):

1. Het project is:

- ✓ *uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord*
- *uit onderwijskundig oogpunt verantwoord*
- *uit het oogpunt van productiedoeleinden verantwoord*
- *wettelijk vereist*

2. *De in de aanvraag aangekruiste doelcategorieën (fundamenteel en toegepast onderzoek) zijn in overeenstemming met de hoofddoelstelling. De doelstelling is helder omschreven. Het doel van deze studie is het induceren van een anti-tumor immuunrespons door activatie van iNKT (invariante natural killer T) cellen. Om de iNKT cellen in een in vivo situatie te activeren gebruikt men een tweetal unieke antilichamen, welke de onderzoeksgroep zelf heeft ontwikkeld, met een in vitro bewezen effectiviteit. Het uiteindelijke doel is om dankzij de immuunrespons tumorgroei tegen te gaan en/of de tumor te elimineren.*
3. *De DEC onderschrijft het wetenschappelijke en maatschappelijke belang van de doelstelling, te weten:*

Het wetenschappelijk belang: Via in vivo onderzoek wil men inzicht verkrijgen in het de functionaliteit en het werkingsmechanisme van immuun stimulerende antilichamen, met betrekking tot iNKT cel activatie en tumorremming. Het diermodel zal meer inzicht geven over de farmacodynamiek en farmacokinetiek van de desbetreffende antilichamen.

Het maatschappelijk belang: Het ontwikkelen van een iNKT gemedieerde anti-tumor immuuntherapie, welke gericht is op de activatie van het immuunsysteem, voor de

behandeling van hematologische maligniteiten. Deze therapie kan mogelijk worden toegepast als anti-tumor immunotherapie van een groot aantal soorten kanker.

Met de voorhanden zijnde behandelingsmethoden kan een groot deel van de kankerpatiënten niet adequaat worden geholpen, er is daarom behoefte aan betere therapieën. Het maatschappelijk belang van dit onderzoek is om die reden groot. Zowel het wetenschappelijke als het maatschappelijke belang wordt door de DEC ingeschat als substantieel.

- 4. Naar de overtuiging van de DEC beschikt de aanvrager over voldoende expertise en voorzieningen om de projectdoelstelling met de gekozen strategie / aanpak binnen de gevraagde termijn te realiseren.*

Recent uitgevoerd in vitro onderzoek heeft aangetoond dat de antilichamen die men wil testen in een kweekschaal zeer effectief zijn in het activeren van iNKT cellen en resulteren in kankerceldood. Tevens hebben studies aangetoond dat activatie van iNKT cellen door een immuunstimulerend glycolipide geladen op tumor cellen veilig is en een sterk inhiberend effect heeft op de tumorcelgroei. Deze eerder gevonden resultaten maken het aannemelijk dat de voorgestelde therapie een gunstig effect zal hebben.

Alle technische voorzieningen die benodigd zijn voor uitvoering van het project zijn voorhanden. Binnen de onderzoeksgroep is zowel voldoende deskundigheid als financiering aanwezig om het project succesvol uit te voeren. Ervaring binnen het onderzoeksinstituut met vergelijkbare tumormodellen waarborgt het technisch succesvol uitvoeren van de dierexperimenten. Bovendien wordt er nauw samengewerkt met de [REDACTED], waar zeer ruime expertise is op het gebied van [REDACTED] inclusief dierproeven. Nauw contact met de universiteit van Salamanca en met de afdeling [REDACTED] zorgen voor adequate kennis over het gebruik van humane hematologische tumorxenografts in muizen.

De DEC acht het reëel om te veronderstellen dat op basis van de resultaten van de voorgenomen reeks experimenten beschreven in het project nieuwe en/of aanvullende therapieën zullen worden ontwikkeld. De nieuw verkregen inzichten en therapieën kunnen op termijn bij patiënten worden toegepast, wat de kansen op remissie en op uiteindelijke genezing doet toenemen. De gevraagde looptijd van 5 jaar acht de DEC reëel gezien de beschrijving van de verschillende subonderdelen benoemd in Bijlage 1A van de aanvraag. De aanvraag heeft een navolgbare opbouw en is naar de mening van de DEC een toetsbare eenheid.

- 5. Alle dieren worden gefokt voor het gebruik in dierproeven, er is geen sprake van afwijkende huisvesting en/of hergebruik. Er is geen sprake van bedreigde diersoorten, niet-menselijke primaten, zwerfdieren en/of dieren in/uit het wild. De toegepaste methoden voor anesthesie/euthanasie zijn conform de Richtlijn. Voor het merendeel van de experimenten zullen zowel mannelijke als vrouwelijke dieren worden gebruikt.*
- 6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is naar de mening van de DEC door de aanvragers realistisch ingeschat en geclassificeerd. Het verwachte ongerief is licht tot matig. Licht ongerief wordt verwacht als gevolg van het hanteren, het meten van de tumorgrootte, de parenterale injectie en het bijkomen uit anesthesie. Matig ongerief zal ontstaan als gevolg van het injecteren en dragen van de tumor (voor een langere tijd) en wekelijkse bloedafname. Ernstig ongerief wordt niet verwacht. Het gebruik van immuun*

gecompromitteerde dieren zal naar verwachting niet leiden tot ongerief, wanneer deze onder de juiste omstandigheden worden gehuisvest. De criteria conform de "code of practice dierproeven in het kankeronderzoek" (Den Haag/Zutphen, juli 1999) zullen worden gehanteerd. Wanneer er meer dan matig ongerief optreedt dan wordt het experiment beëindigd en worden de betreffende dieren geëuthanaseerd.

7. *Het project is in overeenstemming met de vereisten ten aanzien van de **vervanging** van dierproeven. Het gebruik van proefdierlijke methoden of minder complexe diersoorten is volgens de DEC niet mogelijk.*

Eerder uitgevoerde in vitro proeven hebben aangetoond dat de voorgestelde therapie zeer effectief iNKT cellen kan activeren resulterend in tumorcel dood. Om de therapie verder te kunnen ontwikkelen voor toekomstige toepasbaarheid in patiënten is informatie omtrent de bio-distributie en in vivo effectiviteit essentieel. Tot op heden is er geen volwaardig alternatief om deze informatie te verkrijgen en daarom is het gebruik van proefdieren onvermijdelijk.

De keuze voor het gebruik van muizen is naar het oordeel van de DEC gerechtvaardigd. Het gebruik van dit diermodel heeft een duidelijke meerwaarde ten opzichte van de reeds uitgevoerde in vitro experimenten. Er wordt gebruikt gemaakt van muizen met een verzwakt immuunsysteem, omdat alleen in deze dieren tumorcellen van patiënten kunnen uitgroeien zonder een afstotingsreactie op te roepen. Zo is het effect van de behandeling nauwkeuriger vast te stellen en is de uitkomst van de studie beter te interpreteren voor de tumoren in de mens.

8. *In het project wordt optimaal tegemoet gekomen aan de vereiste van de **vermindering** van dierproeven.*

Door gebruik te maken van een pilot experiment, het gefaseerd uitvoeren van de experimenten en een poweranalyse wordt voorkomen dat er teveel of te weinig dieren worden gebruikt. Het maximale aantal proefdieren is proportioneel ten opzichte van de gekozen strategie en de looptijd. De DEC onderschrijft dat het project kan worden uitgevoerd met maximaal 720 muizen, en acht dit aantal realistisch onderbouwd.

Onnodige duplicatie van experimenten wordt voorkomen doordat de onderzoekers goed bekend zijn met het onderzoeksveld en samenwerken met de andere onderzoeksgroepen die vergelijkbaar onderzoek verrichten.

9. *Het project is in overeenstemming met de vereiste van de **verfijning** van dierproeven en het project is zo opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd.*

De richtlijnen conform de "code of practice dierproeven in het kankeronderzoek" (Den Haag/Zutphen, juli 1999) zullen worden gevolgd. De dieren worden dagelijks geobserveerd en meerdere malen per week zal de tumorgrootte worden bepaald om ongemak te voorkomen en/of te verminderen.

Verschillende handelingen zullen zoveel mogelijk worden gecombineerd om stress te minimaliseren. Bij het injecteren van de subcutane tumor zal rekening worden gehouden met de plaatsbepaling, zodat de tumor zo min mogelijk effect heeft op het normale functioneren van de dieren.

Om het ongerief te minimaliseren worden alle handelingen door ervaren/bekwame onderzoekers en dierverzorgers uitgevoerd en waar mogelijk wordt pijnstilling of verdoving toegepast. Mochten er onvoorziene complicaties optreden die meer dan matig ongerief veroorzaken dan wordt op basis van strikt geformuleerde humane eindpunten het experiment onmiddellijk beëindigd.

Er is geen sprake van belangwekkende milieueffecten.

10. *De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd. De NTS voldoet daarmee aan de eisen zoals gesteld in artikel 10.a.1.7 van de Wod.*

D. Ethische afweging

Volgens de DEC rechtvaardigen de doeleinden van dit project het voorgestelde gebruik van dieren. Het doel van deze studie is om een nieuwe immuuntherapie te ontwikkelen die tumorgroei in patiënten tegen gaat en/of tumoren kan elimineren. Het verwachte resultaat, in het kader van de therapieontwikkeling voor de behandeling van kanker, is afgewogen tegen het, maximaal als matig ingeschatte ongerief, aantasting van integriteit en het doden van de dieren in de proef.

Eerder uitgevoerde in vitro proeven hebben aangetoond dat de voorgestelde therapie zeer effectief tumorcellen dood. Om de therapie verder te kunnen ontwikkelen is het gebruik van een in vivo diermodel essentieel. De DEC onderschrijft dat de doelstellingen niet zonder het gebruik van proefdieren kunnen worden behaald en acht het gebruik van maximaal 720 muizen en de daarmee samenhangende schade aan deze dieren gerechtvaardigd.

Bij het uitvoeren van de dierproeven wordt een adequate invulling gegeven aan de vereisten op het gebied van de vervanging, vermindering en verfijning van de dierproeven. Het project is (1) van substantieel belang en (2) van goede kwaliteit.

(1) Zowel het wetenschappelijke als het maatschappelijke belang worden door de DEC ingeschat als substantieel. De resultaten zullen bijdragen aan het verkrijgen van meer inzicht in het werkingsmechanisme van immuun stimulerende antilichamen en het ontwikkelen van een nieuwe anti-tumor immuuntherapie. Op termijn kunnen de uitkomsten van het project leiden tot betere/effectievere behandelingsmethoden voor patiënten.

(2) De DEC is van mening dat dit project verantwoord is vanuit wetenschappelijk oogpunt en acht het waarschijnlijk dat de projectdoelstelling met de gekozen strategie binnen de gevraagde termijn wordt behaald. De onderzoekers beschikken over ruime ervaring en kennis op het gebied van de te gebruiken methoden en werken nauw samen met andere onderzoeksgroepen. Dit in combinatie met de beschikbare faciliteiten en infrastructuur betekent dat de onderzoekers goed gekwalificeerd en geoutilleerd zijn voor het uitvoeren van het in dit project beschreven onderzoek.

Samenvattend kan worden gesteld dat het als substantieel te kwalificeren belang van het onderzoek naar het oordeel van de DEC opweegt tegen het gebruik van maximaal 720 muizen en het daarbij verwachte maximale matige ongerief.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

- De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen
- De DEC adviseert de vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarden
- ✓ *De DEC adviseert de vergunning te verlenen*

2. *Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.*



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

VU Medisch Centrum



**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD114002016402

Bijlagen

2

Datum 26 januari 2016

Betreft Ontvangstbevestiging Aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 25 januari 2016.

Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD114002016402. Gebruik dit nummer wanneer u contact met de CCD opneemt.

Wacht met de uitvoering van uw project

Als wij nog informatie van u nodig hebben dan ontvangt u daarover bericht. Uw aanvraag is in ieder geval niet compleet als de leges niet zijn bijgeschreven op de rekening van de CCD. U ontvangt binnen veertig werkdagen een beslissing op uw aanvraag. Als wij nog informatie van u nodig hebben, wordt deze termijn opgeschort. In geval van een complexe aanvraag kan deze termijn met maximaal vijftien werkdagen verlengd worden. U krijgt bericht als de beslisperiode van uw aanvraag vanwege complexiteit wordt verlengd. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

Factuur

Bijgaand treft u de factuur aan voor de betaling van de leges. Wij verzoeken u de leges zo spoedig mogelijk te voldoen, zodat we uw aanvraag in behandeling kunnen nemen. Is uw betaling niet binnen dertig dagen ontvangen, dan kan uw aanvraag buiten behandeling worden gesteld. Dit betekent dat uw aanvraag niet beoordeeld wordt en u uw project niet mag starten.

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.centralecommissiedierproeven.nl. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur

Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

Naam: [REDACTED]
Functie: [REDACTED]
Afdeling: [REDACTED]
Telefoonnummer: [REDACTED]
E-mailadres: [REDACTED]

Gegevens gemachtigde

BSN: [REDACTED]
Naam: [REDACTED]
Adres: [REDACTED]
Postcode en plaats: [REDACTED] AMSTERDAM

Wilt u een nieuwe machtiging afgeven? Nee

Wat mag de gemachtigde doen?

- Een projectvergunning aanvragen
- Een wijziging op een verleende projectvergunning aanvragen
- Een melding doorgeven op een verleende projectvergunning
- Een bezwaarschrift indienen en daarover communiceren met de Centrale Commissie Dierproeven en alle andere handelingen verrichten die nodig zijn voor een goede afwikkeling van het bezwaarschrift
- Alle bovenstaande opties

Over uw aanvraag

Wat voor aanvraag doet u?

- Nieuwe aanvraag
- Wijziging op een (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
- Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn

Over uw project

Geplande startdatum: 1 maart 2016
Geplande einddatum: 1 maart 2021
Titel project: Antilichaam gemedieerde INKT cel activatie voor de behandeling van kanker
Titel niet-technische samenvatting: Antilichaam gemedieerde INKT cel activatie voor de behandeling van kanker
Naam DEC: DEC-VU-VUMC
Postadres DEC: [REDACTED] Amsterdam
E-mailadres DEC: [REDACTED]

Betaalgegevens

De leges bedragen: € 935,-
De leges voldoet u: na ontvangst van de factuur

Checklist bijlagen

Verplichte bijlagen: Projectvoorstel
 Beschrijving Dierproeven
 Niet-technische samenvatting
Overige bijlagen: Melding Machtiging
 DEC-advies

Ondertekening

Naam: [REDACTED]
Functie: [REDACTED]
Plaats: Amsterdam
Datum: 25 januari 2016



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

VU Medisch Centrum



**Centrale Commissie
Dierproeven**
Postbus 20401
2500 EK Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD114002016402
Bijlagen
2

Datum 26 januari 2016
Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 26 januari 2016
Vervaldatum: 25 februari 2016
Factuurnummer: 16700402

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD114002016402	€ 935,00

Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum over te maken op rekening NL28RBOS 056.99.96.066 onder vermelding van het factuurnummer en aanvraagnummer, ten name van Centrale Commissie Dierproeven, Postbus 20401, 2500 EK te 's Gravenhage.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

VUMC

De Boelelaan 1117
1081 HV Amsterdam

**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
www.centralecommissiedierproeven.nl
T 0900-28 000 28 (10 ct /min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD114002016402

Uw referentie
uw ref

Bijlagen
1

Datum 16 februari 2016
Betreft Aanvulling Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte [REDACTED]

Op 25 januari 2016 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Antilichaam gemedieerde iNKT cel activatie voor de behandeling van kanker" met aanvraagnummer AVD114002016402. In uw aanvraag zitten voor ons nog enkele onduidelijkheden. In deze brief leest u wat wij nog nodig hebben en wanneer u een beslissing kunt verwachten.

Welke informatie nog nodig

Wij hebben de volgende informatie van u nodig om uw aanvraag verder te kunnen beoordelen:

Niet technische samenvatting

De Niet technische samenvatting bij uw aanvraag is te gecompliceerd beschreven, en niet begrijpelijk voor een breed publiek. Graag ontvangen wij een Niet technische samenvatting die voldoet aan de eisen. Deze eisen kunt u vinden op onze website www.centralecommissiedierproeven.nl.

Leges

De leges die u verschuldigd bent zijn nog niet door ons ontvangen of de betaling is nog niet verwerkt. Uw aanvraag is niet compleet als de leges niet zijn ontvangen.

Zonder deze aanvullende informatie kan de beslissing nadelig voor u uitvallen omdat de gegevens onvolledig of onduidelijk zijn.

Opsturen binnen veertien dagen

Stuur de ontbrekende informatie binnen veertien dagen na de datum van deze brief op. U kunt dit aanleveren via NetFTP. Stuurt u het per post op, gebruik dan het formulier dat u bij deze brief krijgt.

Wanneer een beslissing

De behandeling van uw aanvraag wordt opgeschort tot het moment dat wij de aanvullende informatie hebben ontvangen. Uw aanvraag is in ieder geval niet

compleet als de leges niet zijn ontvangen. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.centralecommissiedierproeven.nl. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlage:

- formulier Melding Bijlagen via de post

Datum

16 februari 2016

Onze referentie

Aanvraagnummer

AVD114002016402



Melding

Bijlagen via de post

- U wilt één of meerdere bijlagen naar ons versturen? Voeg *altijd* deze Melding Bijlagen toe. Wij weten dan welke documenten van u zijn en hoeveel documenten u opstuurt.
- Meer informatie vindt u op www.centralecommissiedierproeven.nl
- Of bel met ons: 0900 28 000 28 (10 ct/min).

1 Uw gegevens

1.1 Vul de gegevens in.

Naam aanvrager		
Postcode		Huisnummer

1.2 Bij welke aanvraag hoort de bijlage?
Het aanvraagnummer staat in de brief of de ontvangstbevestiging.

Aanvraagnummer	
----------------	--

2 Bijlagen

2.1 Welke bijlagen stuurt u mee?

Vul de naam of omschrijving van de bijlage in.

<input type="checkbox"/>	
<input type="checkbox"/>	
<input type="checkbox"/>	

3 Ondertekening

3.1 Onderteken het formulier en stuur het met alle bijlagen op naar:

Centrale Commissie
Dierproeven
Postbus 20401
2500 EK Den Haag

Naam		
Datum	-	- 20
Handtekening		



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

VU Medisch Centrum

[REDACTED]
de Boelelaan 1117
1081 HV AMSTERDAM
|||||

**Centrale Commissie
Dierproeven**
Postbus 20401
2500 EK Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD114002016402

02 MAART 2016

Datum

Betreft Aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Op 25 januari 2016 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Antillichaam gemedieerde iNKT cel activatie voor de behandeling van kanker" met aanvraagnummer AVD114002016402. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 22 februari 2016 heeft u uw aanvraag aangevuld. Op ons verzoek heeft u een aangepaste NTS ingediend. De aangepaste NTS voldoet aan de gestelde eisen.

Beslissing

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a van de Wet op de Dierproeven (hierna: de wet). Hierbij gelden de voorwaarden zoals genoemd in de vergunning. De eerste voorwaarde is gesteld omdat u heeft aangegeven beide geslachten te gebruiken, maar dat voor enkele (langdurige) experimenten voor alleen vrouwelijke dieren wordt gekozen. In artikel 4 lid 2, Richtlijn 2010/63/EU en in artikel 1d in samenhang met artikel 10 lid 2 aanhef en onder sub a van de Wod is opgenomen dat, indien er verschillende methoden bestaan om een dierproef te verrichten, wordt gekozen voor de dierproef waarbij een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt. De CCD ziet dit als onderdeel van de ethische toetsing. De CCD voert het beleid dat aan vergunningen een voorwaarde kan worden verbonden in verband met het terugdringen van in voorraad gedode dieren. De tweede voorwaarde is toegevoegd om te voorkomen dat dieren onnodig ongerief ondergaan. De derde voorwaarde is een algemene voorwaarde. U kunt met uw project "Antillichaam gemedieerde iNKT cel activatie voor de behandeling van kanker" starten. De vergunning wordt afgegeven van 2 maart 2016 tot en met 1 maart 2021. Deze termijn is anders dan in uw aanvraag, omdat de aangevraagde startdatum in het verleden ligt.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie DEC-VU-VUMC gevoegd. Dit advies is opgesteld op 25 januari 2016. Bij de

beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet.

Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de Dierexperimentencommissie, met toevoeging van enkele voorwaarden. Wij nemen dit advies van de commissie over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering.

Dit advies en de in de bijlage opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet- en regelgeving zijn de grondslag van dit besluit.

Bezwaar

Als u het niet eens bent met deze beslissing, kunt u binnen zes weken na verzending van deze brief schriftelijk een bezwaarschrift indienen.

Een bezwaarschrift kunt u sturen naar Centrale Commissie Dierproeven, afdeling Juridische Zaken, postbus 20401, 2500 EK Den Haag.

Bij het indienen van een bezwaarschrift vragen we u in ieder geval de datum van de beslissing waartegen u bezwaar maakt en het aanvraagnummer te vermelden. U vindt deze nummers in de rechter kantlijn in deze brief.

Bezwaar schorst niet de werking van het besluit waar u het niet mee eens bent. Dat betekent dat dat besluit wel in werking treedt en geldig is. U kunt tijdens deze procedure een voorlopige voorziening vragen bij de Voorzieningenrechter van de rechtbank in de woonplaats van de aanvrager. U moet dan wel kunnen aantonen dat er sprake is van een spoedeisend belang.


Voor de behandeling van een voorlopige voorziening is griffierecht verschuldigd. Op

<http://www.rechtspraak.nl/Organisatie/Rechtbanken/Pages/default.aspx> kunt u zien onder welke rechtbank de vestigingsplaats van de aanvrager valt.

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.centralecommissiedierproeven.nl. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:


mr. drs. H.M. van der Gaag-Halbertsma
plv Algemeen Secretaris

Bijlagen:

- Vergunning
- Hiervan deel uitmakend:
 - DEC-advies
 - Weergavewet-enregelgeving

Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de Dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam: VU Medisch Centrum
Adres: De Boelelaan 1117
Postcode en plaats: 1081 HV AMSTERDAM
Deelnemersnummer: 11400

deze projectvergunning voor het tijdvak 02 maart 2016 tot en met 01 maart 2021, voor het project "Antilichaam gemedieerde iNKT cel activatie voor de behandeling van kanker" met aanvraagnummer AVD114002016402, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC-VU-VUMC.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is [REDACTED]

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 25 januari 2016
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 25 januari 2016;
 - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 22 februari 2016;
 - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 25 januari 2016, ontvangen op 25 januari 2016.
 - d De aanvullingen op uw aanvraag, ontvangen op 22 februari 2016

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
Humaan tumor xenograft model NSG muis	Muizen (Mus musculus) / NOD-scid IL2Rgammanull (NSG)	720	Matig / moderate	

Voorwaarden

Op grond van artikel 10a1 lid 2 Wod zijn aan een projectvergunning voorwaarden te stellen

- Wanneer een experiment met alleen vrouwelijke dieren ingezet wordt, dient vooraf te worden afgestemd met de IvD of dat in voorliggend geval nodig is.

- Voor aanvang van het project worden alle go/no-go momenten en de criteria op basis waarvan besloten wordt het onderzoek wel of niet te continueren vastgesteld en afgestemd met de IvD.

- In artikel 10, lid 1a van de wet, wordt bepaald dat het verboden is een dierproef te verrichten voor een doel dat, naar de algemeen kenbare, onder deskundigen heersende opvatting, ook kan worden bereikt anders dan door middel van een dierproef, of door middel van een dierproef waarbij minder dieren kunnen worden gebruikt of minder ongerief wordt berokkend dan bij de in het geding zijnde proef het geval is. Nieuwe onderzoeken naar alternatieven kunnen tot gevolg hebben dat inzichten en/of omstandigheden van het aangevraagde project in de vergunningsperiode wijzigen, gedurende de looptijd van deze vergunning.

Indien bovenstaande zich voordoet dient aanvrager dit in overleg met de IvD te melden bij de CCD. De CCD kan in een dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarden wijzigen of intrekken.

Weergave wet- en regelgeving

Dit project en wijzigingen

Volgens artikel 10c van de Wet op de Dierproeven (hierna de wet) is het verboden om andere dierproeven uit te voeren dan waar de vergunning voor is verleend. De dierproeven mogen slechts worden verricht in het kader van een project, volgens artikel 10g. Uit artikel 10b volgt dat de dierproeven zijn ingedeeld in de categorieën terminaal, licht, matig of ernstig. Als er wijzigingen in een dierproef plaatsvinden, moeten deze gemeld worden aan de Centrale Commissie Dierproeven. Hebben de wijzigingen negatieve gevolgen voor het dierenwelzijn, dan moet volgens artikel 10a5 de wijziging eerst voorgelegd worden en mag deze pas doorgevoerd worden na goedkeuren door de Centrale Commissie Dierproeven.

Artikel 10b schrijft voor dat het verboden is een dierproef te verrichten die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, tenzij hiervoor door de Minister een ontheffing is verleend.

Verzorging

De fokker, leverancier en gebruiker moeten volgens artikel 13f van de wet over voldoende personeel beschikken en ervoor zorgen dat de dieren behoorlijk worden verzorgd, behandeld en gehuisvest. Er moeten ook personen zijn die toezicht houden op het welzijn en de verzorging van de dieren in de inrichting, personeel dat met de dieren omgaat moet toegang hebben tot informatie over de in de inrichting gehuisveste soorten en personeel moet voldoende geschoold en bekwaam zijn. Ook moeten er personen zijn die een eind kunnen maken aan onnodige pijn, lijden, angst of blijvende schade die tijdens een dierproef bij een dier wordt veroorzaakt. Daarnaast zijn er personen die zorgen dat een project volgens deze vergunning wordt uitgevoerd en als dat niet mogelijk is zorgen dat er passende maatregelen worden getroffen.

In artikel 9 staat dat de persoon die het project en de dierproef opzet deskundig en bekwaam moet zijn. In artikel 8 van het Dierproevenbesluit 2014 staat dat personen die dierproeven verrichten, de dieren verzorgen of de dieren doden, hiervoor een opleiding moeten hebben afgerond.

Voordat een dierproef die onderdeel uitmaakt van dit project start, moet volgens artikel 10a3 van de wet de uitvoering afgestemd worden met de instantie voor dierenwelzijn.

Pijnbestrijding en verdoving

In artikel 13 van de wet staat dat een dierproef onder algehele of plaatselijke verdoving wordt uitgevoerd tenzij dat niet mogelijk is, dan wel bij het verrichten van een dierproef worden pijnstillers toegediend of andere goede methoden gebruikt die de pijn, het lijden, de angst of de blijvende schade bij het dier tot een minimum beperken. Een dierproef die bij het dier gepaard gaat met zwaar letsel dat hevige pijn kan veroorzaken, wordt niet zonder verdoving uitgevoerd. Hierbij wordt afgewogen of het toedienen van verdoving voor het dier traumatischer is dan de dierproef zelf en het toedienen van verdoving onverenigbaar is met het doel van de dierproef. Bij een dier wordt geen stof toegediend waardoor het dier

niet meer of slechts in verminderde mate in staat is pijn te tonen, wanneer het dier niet tegelijkertijd voldoende verdoving of pijnstilling krijgt toegediend, tenzij wetenschappelijk gemotiveerd. Dieren die pijn kunnen lijden als de verdoving eenmaal is uitgewerkt, moeten preventief en postoperatief behandeld worden met pijnstillers of andere geschikte pijnbestrijdingsmethoden, mits die verenigbaar zijn met het doel van de dierproef. Zodra het doel van de dierproef is bereikt, moeten passende maatregelen worden genomen om het lijden van het dier tot een minimum te beperken.

Einde van een dierproef

Artikel 13a van de wet bepaalt dat een dierproef is afgelopen wanneer voor die dierproef geen verdere waarnemingen hoeven te worden verricht of, voor wat betreft nieuwe genetisch gemodificeerde dierenlijnen, wanneer bij de nakomelingen niet evenveel of meer, pijn, lijden, angst, of blijvende schade wordt waargenomen of verwacht dan bij het inbrengen van een naald. Er wordt dan door een dierenarts of een andere ter zake deskundige beslist of het dier in leven zal worden gehouden. Een dier wordt gedood als aannemelijk is dat het een matige of ernstige vorm van pijn, lijden, angst of blijvende schade zal blijven ondervinden. Als een dier in leven wordt gehouden, krijgt het de verzorging en huisvesting die past bij zijn gezondheidstoestand..

Volgens artikel 13b moet de dood als eindpunt van een dierproef zoveel mogelijk worden vermeden en vervangen door in een vroege fase vaststelbare, humane eindpunten. Als de dood als eindpunt onvermijdelijk is, moeten er zo weinig mogelijk dieren sterven en het lijden zo veel mogelijk beperkt blijven.

Uit artikel 13d volgt dat het doden van dieren door een deskundig persoon moet worden gedaan, wat zo min mogelijk pijn, lijden en angst met zich meebrengt. De methode om te doden is vastgesteld in de Europese richtlijn artikel 6.

In artikel 13c is vastgesteld dat proefdieren geadopteerd kunnen worden, teruggeplaatst in hun habitat of in een geschikt dierhouderijsysteem, als de gezondheidstoestand van het dier het toelaat, er geen gevaar is voor volksgezondheid, diergezondheid of milieu en er passende maatregelen zijn genomen om het welzijn van het dier te waarborgen.

De Minister heeft vrijstelling ontheffing verleend volgens artikel 13c, die de afwijkende methode van doden op basis van wetenschappelijke motivering ten minste even humaan acht als de in de richtlijn opgenomen passende methoden.

Van: Info-zbo
Verzonden: woensdag 2 maart 2016 14:41
Aan: [REDACTED]
CC: [REDACTED]
Onderwerp: Beschikking AVD114002016402
Bijlagen: Beschikking AVD114002016402.pdf

Geachte [REDACTED]

Deze beschikking is ook per post verzonden.

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven www.centralecommissiedierproeven.nl
Nationaal Comité advies dierproevenbeleid www.ncadierproevenbeleid.nl

.....
Bezuidenhoutseweg 73 | 2594 AC | Den Haag Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag
.....