

14. Beoordeel of de aanvrager voldoende aannemelijk heeft gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*). De DEC is van mening dat voor de doelstelling van de proeven beschreven in deze wijziging geen vervangingsalternatieven beschikbaar zijn. Voor het verkrijgen van immunologische parameters uit de longen is een longspoelsel om tijdens een lopende proef bij een levend dier materiaal afkomstig uit de longen te verkrijgen.
15. Beoordeel of het aantal te gebruiken dieren realistisch is ingeschat en of er een heldere strategie is om ervoor te zorgen dat tijdens het project met zo min mogelijk dieren wordt gewerkt waarmee een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*). Zie advies bij de oorspronkelijke aanvraag. Het totale aantal dieren blijft ongewijzigd, maar het uiteindelijk gebruikte aantal dieren zal waarschijnlijk veel lager zijn. Indien in longspoelingen voorspellende parameters gevonden worden, zullen er uiteindelijk minder dieren nodig zijn om effectiviteit van een vaccin vast te stellen omdat minder post mortem monsters in de tijd nodig zullen zijn. Indien in de spoelingen geen voorspellende parameters gevonden worden is het eerder ingeschatte aantal dieren wel nodig.
16. Beoordeel of het project in overeenstemming is met de vereiste van verfijning van dierproeven en het project zodanig is opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*). De longspoeling zal worden uitgevoerd onder anesthesie, er is aangegeven door de onderzoekers dat er geen pijn na afloop wordt verwacht en de DEC heeft geen reden om hieraan te twifelen.
17. Beoordeel, indien het wettelijk vereist onderzoek betreft, of voldoende aannemelijk is gemaakt dat er geen duplicatie plaats zal vinden en of de aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om tijdens de uitvoering van het project te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt. Licht uw beoordeling toe. Zie advies bij de oorspronkelijke aanvraag.

Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef

18. Geef aan of dieren van beide geslachten in gelijke mate ingezet zullen worden. Indien alleen dieren van één geslacht gebruikt worden, beoordeel of de aanvrager dat in voldoende mate wetenschappelijk heeft onderbouwd. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3; zie bijlage I voor voorbeeld*). Zie advies bij de oorspronkelijke aanvraag.
19. Geef aan of dieren gedood worden in kader van het project (tijdens of na afloop van de dierproef). Indien dieren gedood worden, geef aan of en waarom dit noodzakelijk is voor het behalen van de doelstellingen van het project. Indien dieren gedood worden, geef aan of er een voor de diersoort passende dodingsmethode gebruikt wordt die vermeld staat in bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU. Zo niet, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht uw beoordeling toe. Indien van toepassing, geeft ook aan of er door de aanvrager ontheffing is aangevraagd (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*). Zie advies bij de oorspronkelijke aanvraag.
20. Indien niet-humane primaten, honden, katten of landbouwhuisdieren worden gedood om niet-wetenschappelijke redenen, is herplaatsing of hergebruik overwogen? Licht toe waarom dit wel/niet mogelijk is. **Nvt**

NTS

8. Beoordeel of het project goed is opgezet, de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen en of de gekozen strategie en experimentele aanpak kan leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Licht uw beoordeling toe. *Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C6*). De DEC is er van overtuigd dat deze wijziging aansluit bij de wetenschappelijke inzichten en geen hiaten bevat die de bruikbaarheid van de resultaten in de weg zullen staan. De gevraagde wijziging is een verbetering van de experimentele opzet.

Welzijn dieren

9. Geef aan of er sprake is van één of meerdere bijzondere categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren. Beoordeel of de keuze hiervoor voldoende wetenschappelijk is onderbouwd en of de aanvrager voldoet aan de in de Wet op de Dierproeven (Wod). voor de desbetreffende categorie genoemde beperkende voorwaarden. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C1; zie bijlage I voor toelichting en voorbeelden*).

- Bedreigde diersoort(en) (10e, lid 4)
- Niet-menselijke primaten (10e)
- Dieren in/uit het wild (10f)
- Niet gefokt voor dierproeven (11, bijlage I richtlijn)
- Zwerfdieren (10h)
- Hergebruik (1e, lid 2)
- Locatie: buiten instelling vergunninghouder (10g)
- Geen toepassing verdooving/pijnbestrijding (13)
- Dodingsmethode niet volgens bijlage IV richtlijn (13c, lid 3)

10. Geef aan of de dieren gehuisvest en verzorgd worden op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU. Indien niet aan deze minimale eisen kan worden voldaan, omdat het, om redenen van dierenwelzijn of diergezondheid of om wetenschappelijke redenen, noodzakelijk is hiervan af te wijken, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht uw beoordeling toe. Zie het eerdere advies bij de oorspronkelijke aanvraag.

11. Beoordeel of het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven voor elk dier realistisch is ingeschat en geclassificeerd. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C2*). De DEC heeft uitgebreid gediscussieerd over de gevraagde wijziging in relatie tot de 3-V's en daar een aantal vragen over gesteld o.a. over het ongerief van de spoelingen en of het totale ongerief dan beperkt zal blijven tot matig. Na de uitleg over de procedure is de DEC (met toelichting van de IvD) van mening dat het ongerief realistisch is ingeschat.

12. Het uitvoeren van dierproeven zal naast het ongerief vaak gepaard gaan met aantasting van de integriteit van het dier. Beschrijf op welke wijze er sprake is van aantasting van integriteit. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C2*). (*zie bijlage I voor voorbeeld*). De integriteit van de gebruikte dieren zal niet anders dan door de gevraagde handeling worden aangetast [(longspoeling onder anesthesie)].

13. Beoordeel of de criteria voor humane eindpunten goed zijn gedefinieerd en of goed is ingeschat welk percentage dieren naar verwachting een humaan eindpunt zal bereiken. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*). Zie advies bij de oorspronkelijke aanvraag.

3V's

4. Geef aan of DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, zijn uitgesloten van de behandeling van de aanvraag en het opstellen van het advies. Indien van toepassing, licht toe waarom. **Nee**

C. Beoordeling (inhoud)

1. Beoordeel of de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft (*Zie handreiking 'Invulling definitie project'; zie bijlage I voor toelichting en voorbeeld*). De ingediende wijziging is toetsbaar en heeft na de beantwoording van de vragen van de Commissie voldoende samenhang en is een logisch onderdeel van het eerder ingediende projectvoorstel. De Commissie heeft verzocht het amendement per brief toe te lichten. Het bepalen van immunologische parameters in longspoelsel voegt aan wetenschappelijke waarde toe omdat dan tijdens een lopende proef kan worden vastgesteld of een te onderzoekend vaccin beschermend werkt en of aantallen pathogenen in het spoelsel lager zijn dan in het spoelsel van controle dieren bij het vaststellen of een vaccin beschermend werkt. Daardoor hangt de gevraagde wijziging samen met de oorspronkelijke aanvraag namelijk het onderzoek naar effectiviteit van vaccins.
2. Signaleer of er mogelijk tegenstrijdige wetgeving is die het uitvoeren van de proef in de weg zou kunnen staan. Het gaat hier om wetgeving die gericht is op de gezondheid en welzijn van het dier of het voortbestaan van de soort (bijvoorbeeld Wet dieren en Flora- en faunawet). Naar het oordeel van de DEC is er geen "tegenstrijdige" wetgeving die de gevraagde wijziging in de weg zou kunnen staan.
3. Beoordeel of de in de projectaanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) aansluit(en) bij de hoofddoelstelling. Nevendooelstellingen van beperkt belang hoeven niet te worden aangekruist in het projectvoorstel. Nvt

Belangen en waarden

4. Benoem zowel het directe doel als het uiteindelijke doel en geef aan of er een directe en reële relatie is tussen beide doelstellingen. Beoordeel of het directe doel gerechtvaardigd is binnen de context van het onderzoeksveld (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C4; zie bijlage I voor voorbeeld*). De beoogde doelstelling van deze wijziging past in die van de oorspronkelijke projectaanvraag, door de gevraagde wijziging veranderd er niets aan het oorspronkelijke doe.
5. Benoem de belanghebbenden in het project en beschrijf voor elk van de belanghebbenden welke morele waarden in het geding zijn of bevorderd worden (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 2.B en tabel 1; zie bijlage I voor voorbeeld*). Zie het eerdere advies bij de oorspronkelijke aanvraag.
6. Geef aan of er sprake kan zijn van substantiële milieueffecten. Zo ja, benoem deze, leg uit waarom daar sprake van kan zijn en geef aan of deze effecten afgedekt worden door specifieke wet- en regelgeving op het gebied van het omgaan met voor het milieu risicovolle stoffen of organismen. Zie het eerdere advies bij de oorspronkelijke aanvraag.

Proefopzet en haalbaarheid

7. Beoordeel of de kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven voldoende gewaarborgd zijn. Licht uw beoordeling toe. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C5*). Zie het eerdere advies bij de oorspronkelijke aanvraag.

DEC-advies

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer **AVD^{10.2.e.eng}2016561**
 2. Titel van het project **Research on new swine vaccines**
 3. Titel van de NTS **Onderzoek naar nieuwe varkensvaccins**
 4. Type aanvraag:
 - nieuwe aanvraag projectvergunning
 - wijziging van vergunning met nummer AVD^{10.2.e.eng}2016561-II**
 5. Adviestraject (data dd-mm-jjjj): wijziging III (zie in blauw de aangepaste delen van het advies)
 - ontvangen** door DEC: verzoek van CCD om advies over projectvergunningaanvraag **AVD^{10.2.e.eng}2016561-8** op 26 feb 2019.
 - aanvraag compleet
 - in vergadering besproken
 - anderszins** behandeld per mail behandeld
 - termijnonderbreking(en) van / tot
 - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen
 - aanpassing aanvraag
 - advies aan CCD
 6. Geef aan of de aanvraag is afgestemd met de IvD en deze de instemming heeft van de IvD. Ja
- Bij de punten 8 t/m 10 kan worden volstaan met 'n.v.t.' wanneer de betreffende acties niet aan de orde zijn geweest.*
7. Eventueel horen van aanvrager nvt
 8. Correspondentie met de aanvrager zie brief 'DEC vragen en antwoorden n.a.v. wijziging AVD^{10.2.e.eng}2016561-III' met daarin de antwoorden van de onderzoeker (onderaan dit document).
 9. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC) nvt.

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Is het project vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet)? Indien van toepassing, licht toe waarom het project niet vergunningplichtig is en of daar discussie over geweest is.
Indien niet vergunningplichtig, ga verder met onderdeel E. Advies.
2. **De aanvraag betreft een wijziging op een bestaande vergunning.**
3. Is de DEC competent om hierover te adviseren? **Ja**

4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het? Nieuwe aanvraag Projectvergunning € Lege
 Wijziging € 859,00 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 _____
 Datum 25 - 2 - 2019

Handtekening _____
 10.2 .e. en g

- 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 AVD 10.2 .e. en g 2016561
- 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 - 9 - 2016
- Einddatum 31 - 8 - 2021
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Research on new swine vaccines
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Onderzoek naar nieuwe varkensvaccins
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- Naam DEC 10.2 .e. en g
- Postadres
- E-mailadres



W-561-8

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 > <i>Vul uw deelnemernummer in</i> 10.2.e.eng <input type="checkbox"/> Nee > <i>U kunt geen aanvraag doen</i>
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	Naam instelling of organisatie Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde KvK-nummer Straat en huisnummer Postbus Postcode en plaats IBAN Tenaamstelling van het rekeningnummer
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>	(Titel) Naam en voorletters Functie Afdeling Telefoonnummer E-mailadres
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	<input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
1.5	<i>(Optioneel)</i> Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters Functie Afdeling Telefoonnummer E-mailadres

10.2.e.eng

10.2.e.eng

 Dhr. Mw.

Datum

25 augustus 2020

Onze referentie

Aanvraagnummer

AVD116002015253-6

Vergunning

Uw vergunning wijzigt als volgt (wijzigingen cursief gedrukt):

Naam Bijlage	Diersoort	Aantal dieren	Ongerief
• 3.4.4.4 Schistosoma mansoni infection.	muizen	<i>396 198</i>	Matig/Ernstig
• 3.4.4.10 Colitis model	muizen	<i>0-140</i>	Matig

Voor het overige blijft de vergunning ongewijzigd. De eerder toegevoegde voorwaarde van Beoordeling achteraf blijft gehandhaafd.

U dient deze brief toe te voegen bij uw oorspronkelijke vergunning.

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 93118, 2509 AC, 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 gegevens in het colofon.

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.zbo-ccd.nl. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

De Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:

A black rectangular box redacting the signature of the official.

Drs. F. Braunstahl

Bijlage

- DEC-advies



Centrale Commissie Dierproeven

> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag

Academisch Ziekenhuis Leiden
t.a.v. 10.2.e.eng
Postbus 9600
2300 RC Leiden

Centrale Commissie Dierproeven

Postbus 93118
2509 AC Den Haag
www.centralecommissiedierproeven.nl
T 0900-28 000 28 (10 ct /min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD116002015253-6

Bijlagen
1

Datum 24 augustus 2020

Betreft Beslissing Aanvraag wijziging projectvergunning dierproeven

Geachte 10.2.e.eng

Op 11 juni 2020 hebben wij uw aanvraag voor wijziging van een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project 'Metabolic control of dendritic cell-driven t cell polarization: dissecting underlying signals' met aanvraagnummer AVD116002015253, waarvoor op 17 december 2015 een vergunning is afgegeven. Uw wijzigingsaanvraag is bij ons geregistreerd onder aanvraagnummer AVD116002015253-6. Met de aangevraagde wijziging van de eerder verleende vergunning beoogt u een colitis model toe te voegen aan uw vergunning. Wij hebben uw wijzigingsaanvraag beoordeeld.

Beslissing

Wij wijzen uw wijzigingsaanvraag toe. Dit betekent dat het op grond van artikel 10a, lid 1 van de Wet op de dierproeven (hierna: de wet) is toegestaan de in de wijzigingsaanvraag beschreven dierproeven onder de vergunning voor het project 'Metabolic control of dendritic cell-driven t cell polarization: dissecting underlying signals' uit te voeren. Hierna kunt u lezen op grond van welke overwegingen wij tot deze beslissing zijn gekomen.

Procedure

Wij hebben advies gevraagd bij de Dierexperimentencommissie DEC Leiden (hierna: de DEC). Dit advies is opgesteld op 2 juli 2020. 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 DEC. Wij nemen dit advies van de DEC 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.

Nadere vragen aanvrager

Op 13 augustus 2020 hebben wij u om aanvullingen gevraagd. U heeft tijdig antwoord gegeven. De aanvullingen hadden betrekking op een verheldering in de NTS. Uw antwoord is betrokken bij de behandeling van uw aanvraag.

Overwegingen

Op grond van de bovenstaande stukken zijn wij van mening dat de toe te voegen dierproeven toelaatbare wijzigingen betreffen van het project, waarvoor op 17 december 2015 een vergunning is verleend.

24-07-2020

die is afgestemd met de IVD.

- Voor de uitvoering van dit project is tevens een ministeriële ontheffing vereist
- Overige door de DEC aan de uitvoering verbonden voorwaarden

✓ **De DEC adviseert de vergunning te verlenen**

2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.

24-07-2020

de dierproeven. De DEC is van mening dat de resultaten zullen bijdragen aan het verkrijgen van meer kennis over of in levende dieren de stofwisselingseigenschappen van dendritische cellen bepalen welke afweerrespons er door deze cellen wordt geactiveerd. De DEC acht het belang van de fundamenteel wetenschappelijke doelstelling essentieel en schat de kans op het realiseren van de doelstellingen in als hoog. De verkregen fundamenteel wetenschappelijke kennis kan vervolgens als basis dienen voor de ontwikkeling van nieuwe immuuntherapieën waarbij, door het manipuleren van de stofwisseling in dendritische cellen, bepaalde ziektes voorkomen of mogelijk zelfs genezen kunnen worden. De onderzoeksgroep beschikt over een ruime ervaring met de gekozen onderzoeksstrategie en met de voorgestelde typen dierproeven. De DEC onderschrijft dat de doelstellingen niet zonder het gebruik van proefdieren kunnen worden behaald en acht het gebruik van het aantal dieren en het daarmee samenhangende gering tot ernstig ongerief bij de dieren gerechtvaardigd.

M.b.t. de wijziging:

De DEC heeft op basis van een ethische afweging voltallig geconcludeerd dat de aangevraagde wijziging acceptabel is omdat:

- de wijziging is gebaseerd op nieuw verkregen inzichten uit het lopend onderzoek;
- de voorgestelde aanvulling van het onderzoek met het colitis muizen model van toegevoegde wetenschappelijke waarde is;
- het ongerief voor de dieren dankzij het formuleren en hanteren van duidelijke humane eindpunten zorgvuldig is begrensd waardoor ernstig ongerief voorkomen kan worden.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

- De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:
 - o De vaststelling dat het project niet vergunningplichtig is
 - o De volgende doorslaggevende ethische bezwaren
 - o De volgende tekortkomingen in de aanvraag
- De DEC adviseert de vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarden
 - o Op grond van het wettelijk vereiste dient de projectleider bij beëindiging van het project een beoordeling achteraf aan te leveren.

7. In het project wordt de keuze voor het diermodel duidelijk onderbouwd. De betrokken dieren en diermodellen zijn het meest geschikt voor deze studieopzet. De desbetreffende dierproef berokkent de dieren het minste pijn, lijden, angst of blijvende schade. De DEC is ervan overtuigd dat voor zover mogelijk *in vitro* studies worden uitgevoerd maar dat er voor de vervolgvraagstellingen geen alternatieven beschikbaar zijn dan het voorgestelde gebruik van intacte dieren om de doelstelling van dit project te realiseren.
8. In het project wordt optimaal tegemoet gekomen aan de vereisten van vermindering van dierproeven. De onderzoeksgroep heeft jarenlange ervaring met dit soort experimenten en door het gebruik van duidelijke go/no-go momenten wordt per experiment het minimum benodigde aantal dieren ingezet. Technieken en procedures worden zorgvuldig toegepast. Dit alles is gebaseerd op jarenlange ervaring. Het maximale aantal te gebruiken dieren is realistisch geschat.
9. De uitvoering van het project is in overeenstemming met de vereisten van verfijning van dierproeven en is zo opgezet dat de dierproeven met zo min mogelijk ongerief worden uitgevoerd. Bij de opzet van dit onderzoek wordt rekening gehouden met dierenwelzijn door het gebruik van adequate anesthesie waar nodig, het gebruik van genetische gemodificeerde dieren waarin selectief dendritische cellen bepaalde afwijkingen in hun stofwisseling hebben en het gebruik van een gemuteerde parasiet en bacterie bij het Malaria en listeria infectie model waar de dieren niet of minder ziek van worden, zodat het meeste ongerief wordt voorkomen.
De DEC is ervan overtuigd dat de beschreven dierproeven zo humaan mogelijk zullen worden uitgevoerd.
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

Het fundamenteel wetenschappelijke onderzoek in dit project is van essentieel belang. Bij het uitvoeren van de dierproeven wordt een adequate invulling gegeven aan de vereisten op het gebied van de vervanging, vermindering en verfijning van

4. 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 doelcategorie is in overeenstemming met de hoofddoelstelling.
3. Het primaire doel van de projectaanvraag is om de invloed van het metabolisme van dendritische cellen en de daaruit volgende polarisatie van de immuunrespons i.e. de activatie op een Th2/Treg respons of een Th1/cytotoxic respons, te onderzoeken. De DEC onderschrijft het wetenschappelijk belang van deze projectaanvraag en erkent dat *in vivo* studies noodzakelijk zijn om de onderzoeksvraag te beantwoorden. Naast een wetenschappelijk belang, ziet de DEC ook een mogelijk toekomstige klinische relevantie van het onderzoek in deze projectaanvraag. De DEC erkent het essentieel belang van dit onderzoek om het metabolisme in DC's te detecteren.
4. Naar de overtuiging van de DEC beschikt de aanvrager over voldoende expertise en voorzieningen om de projectdoelstelling met de gekozen strategie binnen de gevraagde termijn te realiseren. De benadering en uitwerking van de proefopzet met de verschillende diermodellen is goed onderbouwd met diverse go/no-go momenten die onnodig gebruik van dieren voorkomen.
5. Alle dieren worden gefokt bij een geregistreerd fokbedrijf 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 uit het wild. De toegepaste methoden voor anesthesie en euthanasie zijn conform de Richtlijn.
6. De Commissie heeft geconstateerd dat de onderzoeker zich houdt aan de "Code of Practice Dierproeven in het Kankeronderzoek" als basis voor de humane eindpunten. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd

24-07-2020

informatie ingewonnen met betrekking tot de niet technische samenvatting. De informatie in de NTS was in sommige opzichten te technische geschreven. Door de DEC is gevraagd dit aan te passen en de NTS op een aantal punten uit te breiden.

Bij de projectaanvraag spitste de discussie in de DEC zich primair op het ongerief, de groepsgrootte en de humane eindpunten in de diverse appendices. Naar aanleiding van deze vragen en suggesties is het projectvoorstel inclusief de NTS naar tevredenheid door de aanvrager aangepast.

- Datum vragen: 23-06-2020
- Datum antwoord: 02-07-2020
- Strekking van de vragen: De DEC heeft bij de aanvrager aanvullende informatie ingewonnen over de humane eindpunten met betrekking tot het rectale bloedverlies. Naar aanleiding van deze vraag is bijlage 10 naar tevredenheid door de aanvrager aangepast.

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

- Aard expertise: proefdiergeneeskundige praktijk
- Deskundigheid expert: proefdierkundig adviseur met uitgebreide veterinaire ervaring.
- Datum verzoek: 04-08-2015
- Datum expert advies: 13-08-2015
- Strekking van het verzoek: De DEC heeft gevraagd of het gekozen footpad model de beste keuze is voor het verkrijgen van resultaten uit de popliteus lymfeklier gezien het bijkomende ongerief. De expert heeft bevestigd dat dit een bekend model is en voor het betreffende experiment een logische keuze.

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Het project is vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet)
2. De aanvraag betreft een wijziging op een bestaande vergunning.
3. De DEC is competent om over deze projectaanvraag te adviseren. De benodigde expertise op dit wetenschappelijke terrein is aanwezig binnen de DEC.

DEC-advies

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer: AVD116002015253
2. Titel van het project: Metabolic control of dendritic cell-driven t cell polarization: dissecting underlying signals.
3. Titel van de NTS: Het manipuleren van de stofwisseling van verkennercellen om het afweersysteem te sturen.
4. Type aanvraag:
 - nieuwe aanvraag projectvergunning
 - wijziging van vergunning met nummer
5. Contactgegevens DEC:
 - naam DEC: DEC Leiden
 - telefoonnummer contactpersoon: 10.2 .e. en g
 - mailadres contactpersoon:
10.2 .e. en g
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
 - ontvangen door DEC: 12-06-2020
 - aanvraag compleet: 12-06-2020
 - in vergadering besproken: 18-06-2020
 - anderszins behandeld: n.v.t.
 - termijnonderbreking(en): 23-06-2020 t/m 02-07-2020
 - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen
 - aanpassing aanvraag: 02-07-2020
 - advies aan CCD: 02-07-2020
7. Eventueel horen van aanvrager
 - N.v.t.
8. Correspondentie met de aanvrager
 - Datum vragen: 18-08-2015
 - Datum antwoord: 24-08-2015
 - Strekking van de vragen: De DEC heeft bij de aanvrager aanvullende

which Th2 polarizariation is important for immunity or pathogenesis (e.g. S. mansoni infection [#4], asthma [#8]).

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	DC generation for T cell priming/polarizarition assay in vitro
2	subcutaneous immunization
3	FITC-painting
4	Model of Schistosoma mansoni infection
5	Model of Malaria infection
6	Model of Listeria infection
7	Melanoma Tumor model
8	Model of allergic asthma
9	Model of High fat diet-induced type II diabetes
10	Model of colitis

is regulated by AMPK/mTOR signalling in these cells. In addition, to be able to determine whether any immune-priming/polarizing phenotype is due to an aberrant capacity of the DCs to migrate a FITC painting model will be used.

- Milestone (2): established whether DC-AMPK/mTOR regulates immune polarization in subcutaneous immunization model and migration of skin DCs.

- Go / no-Go moments (2): If the subcutaneous immunization model (part 2) shows that there is no immunological phenotype in mice that harbour DC-specific deletions in AMPK or mTOR signalling pathway, part 3a and 3b will not be performed.

3) When these experiments reveal there is a defect in immune priming and/or polarization when DCs have defects in AMPK/mTOR signalling, the next phase of this project will focus on addressing whether these immunological observations can be extrapolated to models of highly prevalent (3a) infectious diseases or (3b) non-infectious diseases.

(3a) The first arm of the final part of this project aims to define whether the balance in mTOR/AMPK signalling in DCs is an important determinant of immune polarization and thereby disease outcome in models of highly prevalent infectious diseases: schistosomiasis, malaria, and Listeria. Not only are these infection models chosen for their clinical relevance but also because each of these infections are well-known to elicit unique highly polarized immune responses; Th2/Treg responses in the case of schistosomiasis, primarily cytotoxic T cell responses in the case of malaria and strong Th1 responses in response to listeria infection. Each of these specific responses are essential for protection against these infections. This makes them ideal immunological models to test our hypothesis in the context of systemic infections as well as what it means for disease outcome.

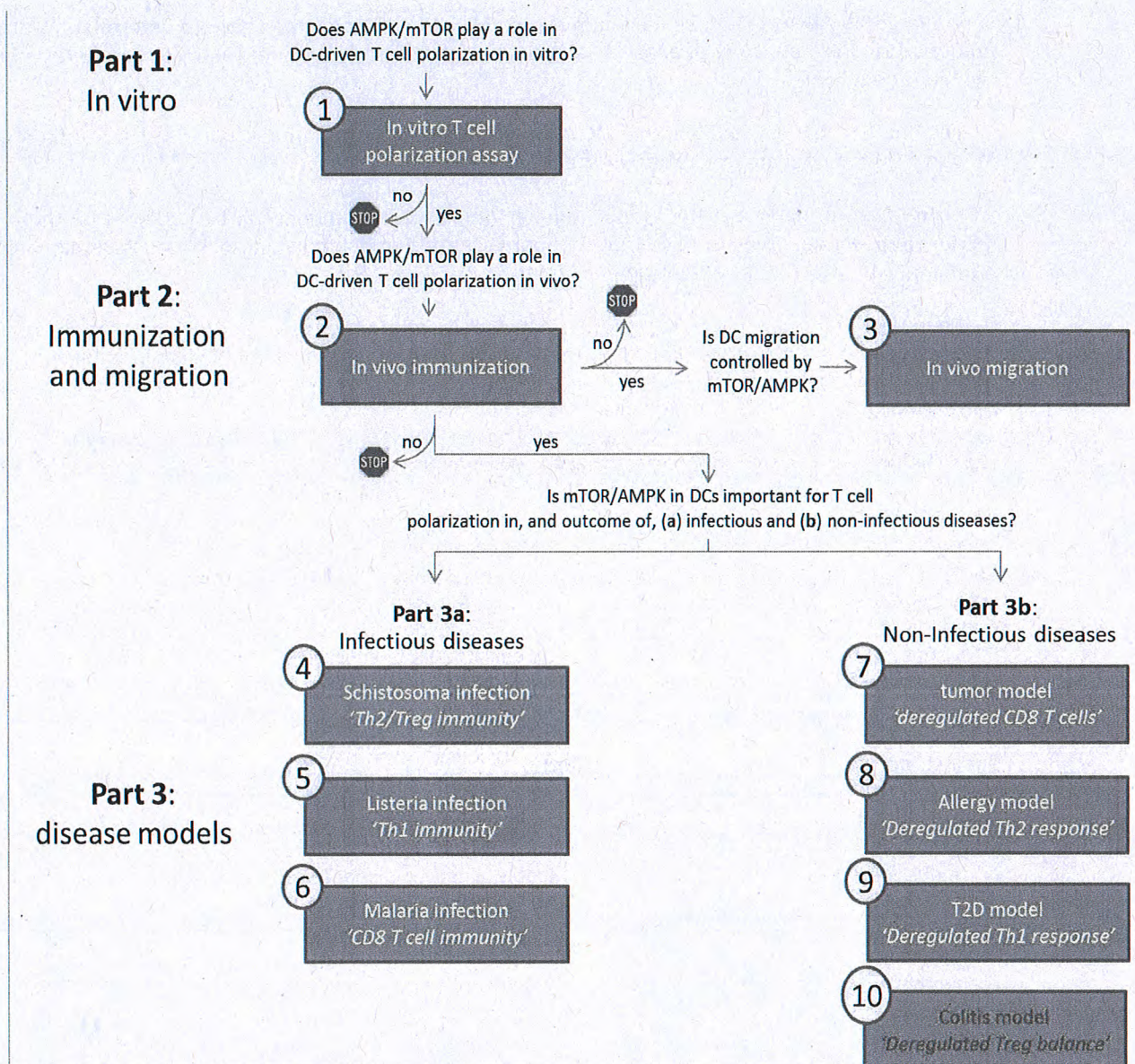
- Milestone (3a): Defined the role of DC-AMPK/mTOR in immune polarization, pathology and protection against, schistosomiasis, malaria and Listeria.

3b) In second arm of the final part of this project aims to define whether the balance in mTOR/AMPK signalling in DCs is also an important determinant of immune polarization and thereby disease outcome in models of highly prevalent non-communicable western diseases: allergic asthma, melanoma tumour growth and high fat diet (HFD)-induced Type II Diabetes. The immunological basis for each of these diseases is different as they have been shown to be caused by an aberrant Th2 response, a defective Th1/cytotoxic T cell response, and a switch from Th2/Treg to Th2/cytotoxic T cell responses, respectively, which we hypothesize will all be controlled by the balance in AMPK/mTOR signalling in DCs. The use of these non-infectious disease models is also highly relevant for a different reason, since these models in conjunction with the aforementioned infection and immunization models enable one to assess whether our hypothesis is generalizable to both non-infectious and infectious diseases or only hold true for certain settings.

- Milestone (3b): Defined the role of DC-AMPK/mTOR in immune polarization and disease progression during allergic asthma, tumour development, HFD-induced type II diabetes and colitis

Taken together, these distinct infectious and non-infectious models form the basis for a coherent set of targeted experiments to address the main objective of this project, of which the results may contribute to the design of metabolism based approaches to manipulate DCs function in clinical settings to potentially help to boost immunity against infectious diseases or tumours as well as to treat non-communicable inflammatory diseases such as allergies and HFD-driven Type II diabetes.

'Partial' (strain or phenotype-specific) Go/no-Go moments: If, for example, in part 1 or 2 only mTOR signalling, but not AMPK, in DCs appears to play a role in regulating immunepolarization, mice with defects in DC-specific defects in AMPK signalling will not be studied in part 3a and 3b. Moreover, if for example in part 1 and 2 mTOR signalling appears to be important for Th2 priming by DCs but not for induction of Th1 or CD8 T cell responses, then those mice will only be tested in models in part 3 in



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.

1) The project will start with the metabolic characterization of, and analysis of the T cell polarizing capacity of DCs cultured or isolated from WT mice in which mTOR and AMPK signalling axes will be pharmacologically or genetically inhibited or promoted. These data will be compared with data obtained from DCs isolated from transgenic mice with DC-specific deletions of key components within the AMPK and mTOR signalling pathways.

- Milestone (1): established whether the AMPK and mTOR signalling axes control DC metabolism and thereby T cell polarizing capacity in vitro

- Go / no-Go moments (1): If this part shows no efficient deletion of the targeted genes and/or no effect of manipulation of AMPK/mTOR signalling axis on T cell polarization in vitro, part 2-4 will not be performed.

2) Next, using the mutant mice, subcutaneous immunization will be performed, which is a simple, yet powerful, in vivo model for a first assessment of whether local immune priming and polarization by DCs

phenotype is due to an aberrant capacity of the DCs to migrate or a consequence of altered DC-T cell communication.

animal experiments involved (see figure 2):

#2 subcutaneous immunization model

#3 FITC-painting DC migration model

Part 3) Next the roles of AMPK and mTOR signalling axes in DC-mediated immunepolarization during (a) infectious and (b) non-infectious diseases will be assessed.

Part 3a) The roles of AMPK and mTOR signalling axes in DC-mediated immunepolarization during systemic infections will be determined by using well-studied infection models of the parasitic helminth schistosoma , malaria and Listeria, which are each characterized by a unique DC-mediated immunepolarization profile: i.e. Th2/Treg responses by schistosoma infection, Cytotoxic CD8 T cell responses by Malaria infection and Th1 responses by Listeria infection. Since these immune responses are critical in controlling pathogen burden and infection-induced pathology, these parameters will be assessed as well to address whether potential effects on immunepolarization translate into changes in immunopathology and/or resistance to infection.

animal experiments involved (see figure 2):

#4 schistosoma mansoni infection model

#5 Malaria infection model

#6 Listeria monocytogenes infection model

Part 3b) In parallel, the effects of DC-specific perturbations in mTOR/AMPK signalling in immune polarization and disease outcome of non-infectious diseases will be assessed, in models of allergic asthma, tumour growth, high fat diet induced Type 2 diabetes and colitis. These type of diseases that have seen a rapid increase in prevalence in the western world in recent decades and are each characterized by a distinct form of immune-deregulation (ie deregulated Th2 in the case of Allergic asthma, suppressed Th1/cytotoxic T cell responses in the case of tumour development, a switch from Th2/Treg to Th1/cytotoxic T cell responses in metabolic tissues in High fat diet (HFD)-induced Type 2 diabetes and a too strong Th17 and too weak Treg response in the intestine in colitis). These models will provide key mechanistic insights into how DC metabolism regulates immunepolarization and thereby disease outcome. Moreover, findings from these studies can lead to the identification of druggable targets in metabolic signalling pathways in DCs that can be used to develop novel therapeutic approaches to treat these highly prevalent diseases.

animal experiments involved (see figure 2):

#7 Melanoma tumor model

#8 Allergic Asthma model

#9 High fat diet-induced Type II Diabetes model

#10 Colitis model

Figure 2: outline research strategy

drugs targeting metabolic regulators (for example: rapamycin targeting mTOR and metformin targeting AMPK), are currently, albeit for different purposes, already used in the clinic. We therefore anticipate that findings from this project can readily be translated into clinically relevant settings such as DC-based immunotherapy. While others are testing the effects of different cytokines, adjuvants and antigens in improving DC-based immunotherapies, this project aims to contribute to this field from a unique angle by identifying metabolic signaling pathways in DCs that can be manipulated to regulate their function.

3.4 Research strategy

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

To assess the role of the AMPK and mTOR signalling axes in the regulation of DC metabolism and thereby their immunepolarizing function, the central strategy will be to test well-defined in vitro and in vivo models of DC-dependent Th2/Treg and Th1/Cytotoxic T cell immune polarization in different mouse strains with DC-specific deletions of key components within those signaling pathways.

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.

Part 1) As a first step elucidate the role of the AMPK and mTOR signalling axes in the regulation of DC metabolism and thereby their immunepolarizing function, AMPK and mTOR signalling and their downstream targets/transcription factors will be pharmacologically or genetically promoted or inhibited in DC cultured from bone marrow or isolated from naive WT mice in which the DC populations have been expanded in vivo using following inoculation with a Flt3-L expressing tumour. These cells will be characterized metabolically and will be analysed for their ability to prime and polarize t cell responses in vitro in a T cell coculture assay. Not only mTOR and AMPK itself but also its downstream targets such as transcription factors PGC1 (master regulators of mitochondrial biogenesis and metabolism that is activated by AMPK and inhibited by mTOR), HIF1a (a key regulator of glycolysis downstream of mTOR) and SREBP (regulator of Fatty acid synthesis downstream of mTOR) will be targeted to assess what factors downstream of AMPK/mTOR signalling control DC metabolism and function (see figure 1).

In parallel we will generate mice with DC-specific deletions of key components within the AMPK and mTOR signalling pathways. To this end, mice expressing cre recombinase under the control of the DC-specific marker CD11c, will be crossed to mice with floxed alleles of components within the AMPK and mTOR signalling pathways. In this respect mouse strain are available with floxed genes encoding Raptor and rictor (key proteins of the mTORC1 and 2 complexes, respectively) and LKB1 (a central activator of AMPK) and AMPK (see figure 1). In addition, if data from the WT mice as described above reveal that particular targets downstream of AMPK/mTOR signalling are important in controlling DC driven T cell polarization, CD11c-cre mice will be crossed to mice harbouring floxed genes of these targets. Since most of these cre-lox combinations has never been crossed before, DC frequency and numbers and surface markers expression will be assessed in naïve transgenic mice to determine whether these genes are important in DC homeostasis in naïve mice. Next, the DCs of these transgenic mice will generated as described above and characterized in vitro for 1) absence of expression of targeted genes 2) change in metabolism and 3) T cell-polarizing capacity in vitro.

animal experiments involved (see figure 2):

#1 Generation of DCs for in vitro T cell-coculture assays

Next, to test whether AMPK and mTOR signalling axes are also important in the regulation of DC metabolism and thereby their immunepolarizing function in vivo, the mutant mice strains will be used in well-defined in vivo models of DC-driven T cell polarization

Part 2) First the mutant mice will be analysed for their capacity to generate a local polarized immune response by different immune-polarizing antigens/adjuvants in a model of subcutaneous immunization. For this purpose antigens/adjuvants will be used that are known to promote Th2/Treg, Th1 or cytotoxic CD8 T cell responses in these setting. If the transgenic mice with DC-specific deletions of AMPK/mTOR signalling molecules show an altered immunepriming/polarizing capacity, the migratory ability of the Skin DCs will be determined using a FITC-painting model, to be able to distinguish whether the immune-

(appendix 4) to this colitis model. This is for 3 reasons: 1) In both the *S. mansoni* infection model and the colitis model Treg responses are important in protecting against inflammation and pathology, in the liver and intestine, respectively. Hence, they are both models to address the question what the role of DC-driven regulation of Treg responses in outcome of disease, but in different organs. 2). In our current research strategy we have used the *S. mansoni* infection model on only a selected number of mouse strains with the most striking phenotypes. As a results we have not yet used the maximum number of mice we have been granted to use for this model. Reallocating these mice to the colitis model would allow us to perform these experiments without the need for requesting additional mice. 3) The colitis model is expected to result in a similar degree of cumulative discomfort as the *S. mansoni* infection model. In summary, this amendment directly contributes to addressing a main objective of this project and aligns well with overall strategy of the license, without increasing degree of discomfort or number of experimental animals needed.

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?

The main objective of the current project is to define the role of the mTOR and AMPK signalling axis in controlling DC metabolism and thereby the immune polarizing properties of these cells in vitro and in vivo. The main researcher has ample experience with and expertise in the biology and metabolism of DCs and has access to various transgenic mouse strains to study AMPK and mTOR signalling in DCs in vivo. Moreover, the department has the required technology available to study cellular metabolism and has expertise with the different in vivo models that will be used to address this main aim. This makes this project highly feasible and as such we anticipate that the proposed timeframe to address the main objective is realistic.

3.3 Relevance

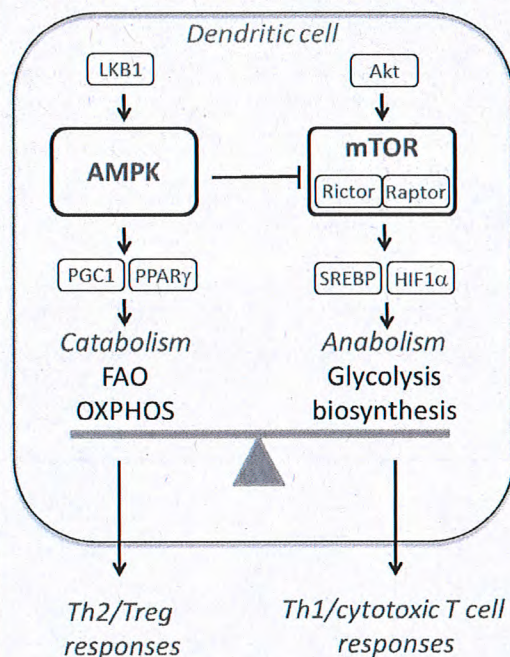
What is the scientific and/or social relevance of the objectives described above?

The field of immunometabolism is a novel and very rapidly developing research area. Most of our understanding in this area has been gained from studies with T cells and macrophages. However, still little is known about the metabolic pathways that support DC activation or their immune-polarizing functions. The current proposal aims to fill this gap. Manipulation of metabolism in DCs to promote or inhibit immunity is a novel concept and it is to be expected that there is great practical significance in understanding how metabolism is linked to function in DCs. There is a major interest in the use of DCs as targets for immune-intervention and for vaccine strategies, because of their powerful immune stimulatory as well as regulatory functions. The few studies that have been performed on DC metabolism so far have mostly used in vitro models. However, in vitro models to study cellular metabolism lack the metabolic complexity of situations in vivo, where in contrast to in vitro systems, nutrient availability and oxygen tension may be rapidly fluctuating or limiting. Therefore, since cellular metabolism is highly dependent on the nutrient availability in the microenvironment DCs reside in, it is of crucial importance to also understand how metabolism of DCs shapes their function in tissues in vivo. Hence, the results from the current proposal in which both in vitro and in vivo models are used, will not only provide novel insights in the basic understanding of the molecular mechanisms through which DCs in vivo become conditioned to prime different classes of immune responses that will be of interest to immunologists, but will also lead to the identification of metabolic regulators in DCs that could potentially be targeted to manipulate the biology of these cells in situ to our advantage for therapeutic purposes in humans. For instance promoting the development of tolerogenic DCs has great potential as a therapeutic approach in settings where unwanted effector T cell responses need to be controlled, such as following transplantation to prevent rejection, in auto-immune disorders or allergies (of which the latter will be studied in this project). Conversely, rendering DCs more immunogenic to promote more robust cellular and humoral immunity is central for improving DC-based vaccination efficacy to potentially treat certain infectious diseases and cancers, such as melanoma. In this respect it is important to note that several

increasingly clear that cellular metabolism dictates the fate and function of immune cells. However, still little is known about the metabolic pathways that regulate DC function and shape their immune-polarizing properties.

Recently published and preliminary data indicate that strongly immunogenic DCs that prime Th1 and cytotoxic CD8 T cell responses are metabolically characterized by a switch to anabolic metabolism fuelled by glycolysis, whereas Th2- or Treg-polarizing tolerogenic DCs display catabolic metabolism dependent on mitochondrial fatty acid oxidation (FAO) and oxidative phosphorylation (OXPHOS), and that these metabolic states are required for their immune-polarizing capacities (see figure 1). However which signalling pathways are important for the regulation of these metabolic properties of DCs and thereby their immunepolarizing function in vitro and in vivo is still unclear. In other cell types mTOR and AMPK, as major sensors of nutrient availability and bioenergetics of a cell, have been shown be crucial regulators of anabolic and catabolic metabolism, respectively. We therefore hypothesize that the balance between mTOR and AMPK signalling determines the T cell-polarizing properties of DCs through control of the balance between anabolic and catabolic metabolism in these cells (see figure 1). Thus, we predict that strong AMPK and/or low mTOR activation favours DCs to promote Th2/Treg responses, whereas tipping the balance in the opposite direction licences DCs to effectively prime Th1 and cytotoxic CD8 T cell responses.

Figure 1: Role of AMPK/mTOR in DC metabolism?



Amendment:

During this project we have found that loss of AMPK in DCs selectively reduces the number and function of DCs that prime regulatory T (Treg) responses in the gut. We hypothesize that this effect on intestinal DCs in the gut would curtail Treg development and render these conditional KO mice more susceptible to development of gut inflammation. However, the current license does not include an inflammation model specific to the gut in which we can specifically address the importance of AMPK signalling in intestinal DCs in regulating gut Treg responses and thereby local inflammation. Therefore, we want to add a DSS-induced colitis model to this license in which tolerogenic DCs and regulatory T cells have been shown to play an important protective role in disease development (Jin et al, Cell Rep, 2020; Zhang et al, Muc Immunol, 2018). Importantly, this colitis model addresses one of the main aims of the license which is to assess the role of AMPK/mTOR-driven signaling in DCs in regulating their capacity to prime T cell responses (in this case specifically T reg responses) in vivo and thereby disease outcome. The amendment therefore fits perfectly in the overall strategy of the license. For this revised strategy, we propose to reallocate a number of mice originally proposed to be used for the *S. mansoni* infection model



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'. 11600
- 1.2 Provide the name of the licenced establishment. Leids Universitair Medisch Centrum
- 1.3 Provide the title of the project. Metabolic control of dendritic cell-driven t cell polarization: dissecting underlying signals

2 Categories

- 2.1 Please tick each of the following boxes that applies to your project.
- Basic research
- Translational or applied research
- Regulatory use or 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 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.

Dendritic cells (DCs) are key regulators of both immunity and tolerance by controlling activation and polarization of effector T helper cells (Th) and regulatory T cell (Treg) responses. Therefore, there is a major focus on developing approaches to manipulate DC function for immunotherapy. It is becoming





Datum
5 februari 2019

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD116002015271-8

Gewijzigde Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de dierproeven

Uw vergunning wijzigt als volgt; Er worden in totaal n=3000 dieren toegevoegd aan de bijlagen 3.4.4.1, 3.4.4.2 en 3.4.4.3. De wijzigingen zijn cursief weergegeven:

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren vergund -> <i>aangepast</i>	Ernst	Opmerkingen
3.4.4.1 Vaccinatie met adjuvans	Muizen (Mus musculus)	5000-> + 1000	Licht	90% licht, 10% matig ongerief. Matig alleen bij gebruik van IFA of montanide als adjuvans
3.4.4.2 Adoptieve T - lymfocyt injectie	Muizen (Mus musculus)	1000 -> + 400	Licht	
3.4.4.3 Therapie met immuunmodulerende antilichamen of small molecules	Muizen (Mus musculus)	5000 -> + 1600	Licht	

Voor het overige blijft uw vergunning ongewijzigd.

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 gegevens in het colofon.

Datum
5 februari 2019
Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD116002015271-8

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,

De Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:

10.2 .e. en g

drs. F. Braunstahl
Algemeen Secretaris

Bijlagen

- Vergunning

Hiervan deel uitmakend: - DEC-advies



Centrale Commissie Dierproeven

> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag

Academisch Ziekenhuis Leiden

Drs. 10.2.e.en g

Postbus 9600

2300 RC LEIDEN

Centrale Commissie Dierproeven

Postbus 93118
2509 AC Den Haag
www.centralecommissiedierproeven.nl

T 0900-28 000 28 (10 ct /min)

info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD116002015271-8

Uw referentie

Bijlagen

1

Datum 5 februari 2019

Betreft Beslissing Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte 10.2.e.en g

Op 14 november 2018 hebben wij uw aanvraag voor wijziging van een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project: "Ontwikkeling van combinatie therapie voor solide tumoren, gebaseerd op vaccinatie en immuunmodulatie" met aanvraagnummer AVD116002015271, waarvoor op 14 januari 2016 een vergunning is afgegeven. Uw wijzigingsaanvraag is bij ons geregistreerd onder aanvraagnummer AVD116002015271-8.

Met de aangevraagde wijziging van de eerder verleende vergunning beoogt u dieren toe te voegen aan uw vergunning. Wij hebben uw wijzigingsaanvraag beoordeeld.

Beslissing

Wij wijzen uw wijzigingsaanvraag toe. Dit betekent dat het op grond van artikel 10a, lid 1 van de Wet op de dierproeven (hierna: de wet) is toegestaan de in de wijzigingsaanvraag beschreven dierproeven onder de vergunning voor het project "Ontwikkeling van combinatie therapie voor solide tumoren, gebaseerd op vaccinatie en immuunmodulatie" uit te voeren.

Hierna kunt u lezen op grond van welke overwegingen wij tot deze beslissing zijn gekomen.

Procedure

Advies dierexperimentencommissie

Wij hebben advies gevraagd bij de Dierexperimentencommissie (hierna: de DEC) DEC Leiden. Dit advies is ontvangen op 10 januari 2019. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a lid 3 van de wet.

Overwegingen

Alle hierboven genoemde stukken liggen ten grondslag aan ons besluit. Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de DEC, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering.

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 93118, 2509 AC Den Haag.

24 januari 2019

die is afgestemd met de IvD.

- Voor de uitvoering van dit project is tevens een ministeriële ontheffing vereist
- Overige door de DEC aan de uitvoering verbonden voorwaarden

✓ **De DEC adviseert de vergunning te verlenen**

2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.

de dierproeven. 1 op de 3 mensen in Nederland krijgt in zijn leven kanker. Daarmee is deze ziekte doodsoorzaak nummer 1. De DEC is van mening dat de verzamelde kennis zal bijdragen aan meer inzicht in de relatie tussen afweersysteem en kanker. Volgens de DEC is deze kennis essentieel om tot rationeel ontworpen vormen van immuuntherapie te komen die krachtig genoeg zijn om in de kliniek te testen. De DEC acht het belang van de fundamenteel wetenschappelijke doelstelling essentieel en schat de kans op het realiseren van de doelstellingen in als hoog. De opgedane kennis uit het onderzoek kan uiteindelijk naar de patiënt gebracht worden in de vorm van klinische trials en later wellicht als gevestigde behandelingen, zodat de overleving van mensen met kanker zal verbeteren. Bovendien wordt gedurende het onderzoek veel kennis en inzicht verzameld over het immuunsysteem en de interactie met tumoren waardoor nieuwe combinatie therapieën ontwikkeld kunnen worden.

De onderzoeksgroep beschikt over een ruime ervaring met de gekozen onderzoeksstrategie en met de voorgestelde dierproef. De DEC onderschrijft dat de doelstellingen niet zonder het gebruik van proefdieren kunnen worden behaald en acht het gebruik van het aantal dieren en het daarmee samenhangende licht tot matig ongerief bij de dieren gerechtvaardigd. De DEC is van mening dat het een wijziging van een bestaande vergunning betreft: de vragen die hier nu expliciet gesteld worden zijn een verdieping van de vragen die nu al onder de bestaande vergunning onderzocht worden, maar waarvoor momenteel te weinig dieren beschikbaar zijn. Zij vindt de inzet van 3000 extra muizen en het gering ongerief dat deze dieren wordt aangedaan acceptabel.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

- De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:
 - o De vaststelling dat het project niet vergunningplichtig is
 - o De volgende doorslaggevende ethische bezwaren
 - o De volgende tekortkomingen in de aanvraag
- De DEC adviseert de vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarden
 - o Op grond van het wettelijk vereiste dient de projectleider bij beëindiging van het project een beoordeling achteraf aan te leveren

vaccins eerst uitgetest worden op gekweekte dendritische cellen en zal bepaald worden of anti-tumor T cellen geactiveerd worden. Alleen vaccins die hiertoe in staat zijn, zullen getest worden in proefdieren. De DEC is ervan overtuigd dat er geen alternatieven beschikbaar zijn voor het voorgestelde gebruik van intacte dieren om de doelstelling van dit project te realiseren.

8. In het project wordt optimaal tegemoet gekomen aan de vereisten van vermindering van dierproeven. De onderzoeksgroep heeft jarenlange ervaring met dit soort experimenten. De gebruikte technieken en muis modellen zijn veelal geoptimaliseerd gedurende de afgelopen jaren, zodat resultaten eenduidig geïnterpreteerd kunnen worden en geen proefdieren nodig zijn om de *in vivo* werkzaamheid uit te zoeken. Bovendien beschikt de onderzoeksgroep over een team van vaste biotechnici die de benodigde ervaring hebben met proefdieronderzoek. Behandelingen worden na elk experiment beoordeeld en alleen verder getest als resultaten laten zien dat ze effectiever zijn dan de huidige standaard behandeling. Deze stapsgewijze opbouw zorgt voor het minimaal gebruik van proefdieren. Naar inzien van de DEC zijn de beschreven go/no-go momenten realistisch, helder en eenduidig omschreven. De DEC is ervan overtuigd dat het onderzoek ethisch verantwoord zal worden uitgevoerd. Ondanks de hoge aantallen acht de DEC het maximale aantal te gebruiken dieren als realistisch geschat.
9. De uitvoering van het project is in overeenstemming met de vereisten van verfijning van dierproeven en is zo opgezet dat de dierproeven met zo min mogelijk ongerief worden uitgevoerd. Bij de opzet van dit onderzoek wordt rekening gehouden met dierenwelzijn door het gebruik van adequate anesthesie en analgesie waar. De DEC is ervan overtuigd dat de beschreven dierproeven zo humaan mogelijk zullen worden uitgevoerd.
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

Het fundamenteel wetenschappelijke onderzoek in dit project is van essentieel belang. Bij het uitvoeren van de dierproeven wordt een adequate invulling gegeven aan de vereisten op het gebied van de vervanging, vermindering en verfijning van

vergunning onderzocht worden, maar waarvoor momenteel te weinig dieren beschikbaar zijn. Zij vindt de inzet van 3000 extra muizen en het gering ongerief dat deze dieren wordt aangedaan acceptabel.

4. Naar de overtuiging van de DEC beschikt de aanvrager over voldoende expertise en voorzieningen om de projectdoelstelling met de gekozen strategie binnen de gevraagde termijn te realiseren. Het project bouwt verder op langlopend onderzoek dat wordt uitgevoerd door de onderzoeksgroep in samenwerking met internationale onderzoeksgroepen, allen met een internationaal erkende expertise. Over de afgelopen jaren zijn volgens vergelijkbare strategieën en aanpak belangrijke wetenschappelijk resultaten behaald resulterend in vele publicaties in vooraanstaande tijdschriften.
5. Alle dieren worden gefokt bij een geregistreerd fokbedrijf 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 uit het wild. De toegepaste methoden voor anesthesie en euthanasie zijn conform de Richtlijn.
6. De DEC heeft een korte discussie gevoerd over het gebruik van injectie anesthesie en het langdurig onder anesthesie zijn van de dieren ten behoeve van het intrekken van de crème. De DEC vertrouwt erop dat de deskundigheid van de onderzoeksgroep in combinatie met het toezicht van de IvD ertoe zullen leiden dat de procedure op een ethisch verantwoorde manier zal worden uitgevoerd.

Voor een meerderheid van de dieren geldt dat het cumulatief ongerief als gevolg van de technische handelingen waaraan het dier wordt onderworpen, wordt ingeschat als licht ongerief. In een aanzienlijk aantal gevallen is er echter sprake van matig ongerief als gevolg van de gebruikte adjuvantia en toedieningsroute, de tumorgroei, behandeling of chirurgische ingreep. Deze inschatting van de DEC is in overeenstemming met het niveau van cumulatief ongerief ingeschat door de onderzoekers.

7. In het project wordt de keuze voor het diermodel duidelijk onderbouwd. De betrokken dieren en het gekozen diermodel zijn het meest geschikt voor deze studieopzet. De desbetreffende dierproef berokkent de dieren het minste pijn, lijden, angst of blijvende schade. Waar mogelijk zullen eerst *in vitro* experimenten uitgevoerd worden om de hoeveelheid *in vivo* experimenten te verminderen en de specificiteit te verhogen. Zo zullen de synthetische kanker

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

- N.v.t.

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Het project is vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet)
2. De aanvraag een wijziging op een bestaande vergunning.
3. De DEC is competent om over deze projectaanvraag te adviseren. De benodigde expertise op dit wetenschappelijke terrein is aanwezig binnen de DEC.
4. Eén van de DEC-leden is de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker van het project. Met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid is deze persoon uitgesloten van de behandeling van de aanvraag en het opstellen van het advies.

C. Beoordeling (inhoud):

1. Het project is:
 - uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord
 - uit onderwijskundig oogpunt verantwoord
 - uit het oogpunt van productiedoelenden verantwoord
 - wettelijk vereist
2. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorieën zijn in overeenstemming met de hoofddoelstelling.
3. Het primaire doel van de projectaanvraag is om nieuwe inzichten te verwerven in de interactie tussen immuun systeem en kanker om de effectiviteit van immuuntherapie te verbeteren. De DEC erkent dat het van essentieel belang is om onderliggende mechanismen goed te ontrafelen met als doel de effectiviteit van de therapieën te verbeteren en rationele combinatie therapieën te ontwikkelen. Naar inzicht van de DEC staat het onderzoek dicht bij de kliniek en de DEC acht het onderzoek zowel in een fundamenteel opzicht als ook in klinisch opzicht zeer relevant. De DEC onderschrijft het grote wetenschappelijk belang van deze projectaanvraag en erkent dat *in vivo* studies noodzakelijk zijn om de onderzoeksvraag te beantwoorden. De DEC is van mening dat het een wijziging van een bestaande vergunning betreft: de vragen die hier nu expliciet gesteld worden zijn een verdieping van de vragen die nu al onder de bestaande

DEC-advies

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer: AVD116002015271
2. Titel van het project: Ontwikkeling van combinatie therapie voor solide tumoren, gebaseerd op vaccinatie en immuunmodulatie.
3. Titel van de NTS: Ontwikkeling van combinatie therapie voor solide tumoren, gebaseerd op vaccinatie en immuunmodulatie.
4. Type aanvraag:
 - nieuwe aanvraag projectvergunning
 - wijziging van vergunning met nummer
5. Contactgegevens DEC:
 - naam DEC: DEC Leiden
 - telefoonnummer contactpersoon: 10.2 .e. en g
 - mailadres contactpersoon:
10.2 .e. en g
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
 - ontvangen door DEC: 03-01-2019
 - aanvraag compleet: 03-01-2019
 - in vergadering besproken: 10-01-2019
 - anderszins behandeld: schriftelijke inbreng i.v.m. behalen quorum.
 - termijnonderbreking(en):
 - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen
 - aanpassing aanvraag:
 - advies aan CCD: 10-01-2019
7. Eventueel horen van aanvrager
 - N.v.t.
8. Correspondentie met de aanvrager
 - N.v.t.

10.2 .e. en g

•

•

•

•

•

•

•

De 10.1 c en 10.2 g e antistoffen zijn effectief in twee tumor modellen, maar geven geen lange-termijn bescherming. De behandeling induceert dus geen afweer geheugen. Met behulp van kanker vaccins en adoptieve transfer van T cellen willen we dit probleem bestuderen en oplossen.

In totaal zullen er 40 extra experimenten gedaan worden, waarvoor we 3000 extra muizen nodig hebben: 1000 extra muizen voor bijlage 1, 400 extra muizen voor bijlage 2 en 1600 extra muizen voor bijlage 3.

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

De voorgestelde extra proeven op dit project zullen alleen bijlage 1, 2 en 3 betreffen. De combinatie therapieën worden uitgevoerd zoals in de vergunning is aangegeven.

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 go/no-go momenten zoals in de vergunning is aangegeven veranderen niet.

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Aantallen zijn aangepast
2	Aantallen zijn aangepast
3	Aantallen zijn aangepast
4	Geen aanpassingen
5	Geen aanpassingen
6	Geen aanpassingen
7	
8	
9	
10	<ul style="list-style-type: none">• 10.2 .e. en g••••••

4. 10.2 .e. en g

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?

De algemene doelstelling van dit project verandert niet. Er komen enkele vragen bij die betrekking hebben op 'checkpoint' therapie:

1. Welke cellen in de 10.1 c en 10.2 g zijn verantwoordelijk voor het therapeutisch effect van PD-1 / PD-L1 blokkade?
2. Werkt 10.1 c en 10.2 g blokkade door middel van het induceren van een 10.1 c en 10.2 g programma in CD8 T cellen?
3. Hoe kunnen we langdurige memory genereren na therapie met activerende 10.1 c en 10.2 g antistoffen.

In relatie tot 'haalbaarheid' zouden we graag willen opmerken dat voor bovenstaande extra vragen reeds aanvullende financiering verkregen is en ook personeel is aangesteld, zodat ook dit nieuwe onderzoek uitgevoerd kan worden in de resterende twee jaar van deze vergunning. De extra onderzoekers zijn allen gefinancierd uit peer-reviewed grants waarvan de kwaliteit dus gecontroleerd is door internationale top-wetenschappers.

Verder hebben de dierexperimenten die tot nu toe op dit project zijn uitgevoerd in belangrijke mate bijgedragen tot 14 publicaties in toonaangevende tijdschriften (zie publicatie lijst onderaan). Dit geeft aan dat de onderzoeksgroep goed in staat is om relevante onderzoeksvragen beantwoord te krijgen.

3.3 Belang

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

Het belang van de doelstellingen verandert niet.

3.4 Onderzoeksstrategie

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

De algemene opzet van het project verandert niet.

De specifieke uitbreiding betreft doelstelling 3. 'Verbeteren van 'immune checkpoint' therapie' van ons oorspronkelijke project.

We willen ons vooral richten op het werkingsmechanisme van de nieuw gevonden checkpoint 10.1 c en 10.2 g gebruik makend van de nieuwe knockout muizen. Dit zijn experimenten zoals beschreven in bijlage 3 ('Therapie met immuunmodulerende antilichamen of small molecules'). We hebben gevonden dat deze checkpoint vooral zijn functie uitvoert in immuun cellen als deze geactiveerd zijn en inderdaad is blokkade van dit molecuul effectief bij combinaties met kanker vaccines in aanwezigheid van intratumorale T cellen. Vandaar ook dat bijlage 1 ('Vaccinatie met adjuvans') en 2 ('Adoptieve T-lymfocyt injecties') gebruikt zullen worden. Voor deze experimenten zullen we dus combinaties maken van bijlagen 1, 2 en 3, zoals ook in het oorspronkelijke project staat aangegeven.

U kunt de in de wijziging beschreven aanpassingen uitvoeren.
U dient deze brief toe te voegen bij uw oorspronkelijke vergunning.

Datum

3 mei 2019

Onze referentie

Aanvraagnummer

AVD [REDACTED] 2016561-8

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 93118, 2509 AC, 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 gegevens in het colofon.

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.zbo-ccd.nl. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

De Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:

Drs. F. Braunstahl

10.2 .e. en g

~~Bijlagen~~

- DEC-advies



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 gezondheid of het welzijn van mens of dier
- 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.

Wij vragen om een uitbreiding van het aantal muizen dat mag worden ingezet onder deze vergunning: Er is een relatieve verschuiving van diersoorten in de routinematige dierproeven geconstateerd (zie ook de bijlage). Het is daarom passend om de trainingen die nodig zijn om vaardigheden op peil te houden, of nieuwe technieken aan te leren, ook uit te voeren met een gelijke verhouding in de aantallen diersoorten. Er worden additionele dieren van de relevante species (muis) aangevraagd. Hierdoor kunnen de trainingen beter aansluiten op de uiteindelijke dierproeven beter worden uitgevoerd. Een tweede reden waarom meer muizen worden aangevraagd voor trainingsdoeleinden is de grootte van de te onderzoeken structuren. Doordat deze kleiner zijn, zijn er meer trainingen nodig geweest in muis voor training en ontwikkeling dan ingeschat.

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?

3.3 Belang

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

3.4 Onderzoeksstrategie

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

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

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.

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Het aanleren, onderhouden en optimaliseren van biotechnische vaardigheden van proefdier medewerkers
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	

9	
10	



Centrale Commissie Dierproeven

> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

10.2 .e. en g

Centrale Commissie Dierproeven

Postbus 93118
2509 AC Den Haag
www.centralecommissiedierproeven.nl
T 0900-28 000 28 (10 ct /min)
Info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD 10.2 .e. en g 2016533-1

Uw referentie
uw ref

Bijlagen
2

Datum 26 maart 2019

Betreft Beslissing Aanvraag wijziging projectvergunning dierproeven

Geachte heer 10.2 .e. en g,

Op 24 januari 2019 hebben wij uw aanvraag voor wijziging van een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Het aanleren, onderhouden en optimaliseren van biotechnische vaardigheden van proefdier medewerkers" met aanvraagnummer AVD 10.2 .e. en g 016533, waarvoor op 1 juli 2016 een vergunning is afgegeven. Uw wijzigingsaanvraag is bij ons geregistreerd onder aanvraagnummer AVD 10.2 .e. en g 201653-1. Met de aangevraagde wijziging van de eerder verleende vergunning beoogt u 150 muizen toe te voegen aan de vergunning. Wij hebben uw wijzigingsaanvraag beoordeeld.

Beslissing

Wij wijzen uw wijzigingsaanvraag toe. Dit betekent dat het op grond van artikel 10a, lid 1 van de Wet op de dierproeven (hierna: de wet) is toegestaan de in de wijzigingsaanvraag beschreven dierproeven onder de vergunning voor het project "Het aanleren, onderhouden en optimaliseren van biotechnische vaardigheden van proefdier medewerkers" uit te voeren. Hierna kunt u lezen op grond van welke overwegingen wij tot deze beslissing zijn gekomen.

Procedure

Wij hebben advies gevraagd bij de Dierexperimentencommissie 10.2 .e. en g (hierna: de DEC). Dit advies is opgesteld op 15 februari 2019. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet.

Overwegingen

Op grond van de bovenstaande stukken zijn wij van mening dat de toe voegen dierproeven toelaatbare wijzigingen betreffen van het project, waarvoor op 1 juli 2016 een vergunning is verleend.