

	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?
Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.

☒ Ja > Vul uw deelnemernummer in | 11400
☐ 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
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]	☒ Dhr. ☐ Mw.
Functie	[Redacted]	
Afdeling	[Redacted]	
Telefoonnummer	[Redacted]	
E-mailadres	[Redacted]	

- 1.5 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.

(Titel) Naam en voorletters	[Redacted]	☒ Dhr. ☐ 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 <i>Melding Machtiging</i> 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 | <div style="background-color: black; width: 100%; height: 1.2em;"></div>
Amsterdam The Netherlands |
| E-mailadres | <div style="background-color: black; width: 100%; height: 1.2em;"></div> |

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.
- ☐ 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 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. | 11400 |
| 1.2 | Vul de naam van de instelling of organisatie in. | VU medisch centrum (VUmc) |
| 1.3 | Vul de titel van het project in. | Antilichaam gemedieerde iNKT cel activatie voor de behandeling van kanker |

2 Categorie van het project

- | | | |
|-----|--|---|
| 2.1 | In welke categorie valt het project.

<i>U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.</i> | ☒ 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]

[REDACTED]¹²

Hiernaast is er in ons laboratorium een antilichaam ontwikkeld wat enerzijds een specifiek tumor antigen bindt [REDACTED] 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]) 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	Verschillende 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>	☒ Fundamenteel onderzoek
	☒ Translationeel of toegepast onderzoek
	☐ Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
	☐ Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid
	☐ 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 Projectbeschrijving

3.1 Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang)	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. iNKT cellen kunnen onder andere worden geactiveerd door binding aan de cel marker CD1d welke aanwezig is op veel soorten kanker. De kankercellen
---	--

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 immuuntherapie 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.

Verschiedende 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.	11400	
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	VU medisch centrum (VUmc)	
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 [] al of niet gekoppeld aan andere []
2. anti-tumor-anti-iNKT bispecifiek construct. Hierbij bestaat het anti-tumor construct uit een [] gericht tegen een tumor epitoom, [] en het anti-iNKT construct []

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. Bloedafnames 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 () 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 welk 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 diersoorten 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 [REDACTED] 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).

Kooiverrijking 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 huidige 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
Metten 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.

☐ KvK-nummer	[REDACTED]
☒ BSN	[REDACTED]

- 2.2 Wat zijn de gegevens van de gemachtigde?

Naam gemachtigde	[REDACTED]	☒ Dhr. ☐ Mw.
Adres of postbus	[REDACTED]	
Postcode en Plaats	[REDACTED] Amsterdam	

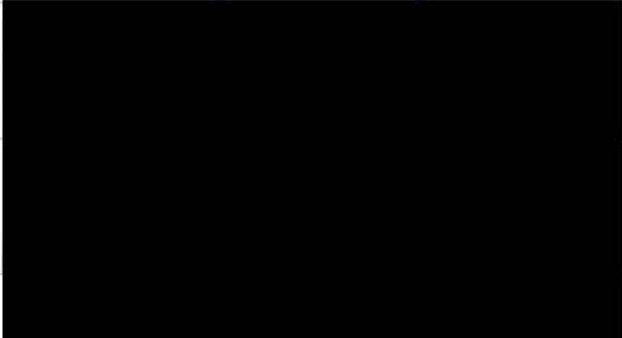
3 Inhoud machtiging

- 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).
- Naam gemachtigde 

Centrale Commissie
Dierproeven
Postbus 20401
2500 EK Den Haag

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 diervverzorgers 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/efficiëntere 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 aanvrager

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 11400
Naam instelling of organisatie: VU Medisch Centrum
Naam portefeuillehouder of
diens gemachtigde: [REDACTED]
KvK-nummer: 64156338
Straat en huisnummer: De Boelelaan 1117
Postcode en plaats: 1081 HV AMSTERDAM
IBAN: NL07DEUT0549310002
Tenaamstelling van het
rekeningnummer: VU medisch centrum

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

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

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: [x] Projectvoorstel
[x] Beschrijving Dierproeven
[x] Niet-technische samenvatting
Overige bijlagen: [x] Melding Machtiging
[x] 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.
- | | |
|--------------------------|--|
| ☐ | |
| ☐ | |
| ☐ | |

3 Ondertekening

- 3.1 Onderteken het formulier en stuur het met alle bijlagen op naar:
- | | | | |
|--------------|---|---|----|
| Naam | | | |
| Datum | - | - | 20 |
| Handtekening | | | |
- Centrale Commissie
Dierproeven
Postbus 20401
2500 EK Den Haag



Centrale Commissie Dierproeven

> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

VU Medisch Centrum

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

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 / moderat e	

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
.....