

	Inventaris Wob-verzoek W17-09								
		wordt verstrekt			weigeringsgronden				
nr.	document	reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1
	NTS2017883								
1	Aanvraagformulier				x		x	x	
2	Projectvoorstel				x		x	x	
3	Niet-technische samenvatting oud			x					
4	Bijlage beschrijving dierproeven 1				x		x	x	
5	Bijlage beschrijving dierproeven 2				x		x	x	
6	Bijlage beschrijving dierproeven 3				x		x	x	
7	DEC-advies				x		x	x	
8	Ontvangstbevestiging				x		x	x	
9	Verzoek aanvulling aanvraag				x		x	x	
10	Reactie aanvulling aanvraag			x					
11	Niet-technische samenvatting nieuw	x							
12	Advies CCD		x						x
13	Beschikking en vergunning				x		x	x	



Centrale Commissie Dierproeven

01 MAART 2017

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 Gegevensaanvrager

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>	☒ Ja >Vul uwdeelnemernummer in	10500
		☐ Nee >U kunt geen aanvraag doen	
1.2	Vul de gegevens in van deinstellingsvergunninghoud er die de projectvergunning aanvraagt.	Naam instelling of organisatie	Rijksuniversiteit Groningen
		Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	
		KvK-nummer	1179037
1.3	Vul de gegevens van het postadres in. <i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i>	Straat en huisnummer	A. Deusinglaan 1,
		Postbus	
		Postcode en plaats	9713 AV Groningen
		IBAN	NL45ABNA0474567206
		Tenaamstelling van het rekeningnummer	Rijksuniversiteit Groningen
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	☒ Dhr. ☐ Mw.
		Functie	
		Afdeling	
		Telefoonnummer	
		E-mailadres	
1.5	(Optioneel) Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	☐ Dhr. ☒ Mw.
		Functie	
		Afdeling	
		Telefoonnummer	
		E-mailadres	

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	[Redacted]	☐ Dhr. ☒ Mw.
	Functie	[Redacted]	
	Afdeling	[Redacted]	
	Telefoonnummer	[Redacted]	
	E-mailadres	[Redacted]	
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 <i>wijziging</i> 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 <i>melding</i> voor een project of dierproef waar al een vergunning voor is verleend?	☐ Nee > Ga verder met vraag 3		
	☐ Ja > Geef hieronder een toelichting en ga verder met vraag 6 		

3 Over uw project

3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?	Startdatum	1 - 2 - 2017
	Einddatum	1 - 2 - 2022
3.2 Wat is de titel van het project?	Generation, characterization and validation of immune-humanized Patient Derived Xenograft models for anti-cancer treatment.	
3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?	Het ontwikkelen van muismodellen voor onderzoek naar patiënt-specifieke immunologische behandelmethoden tegen kanker.	
3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?	Naam DEC	
	Postadres	
	E-mailadres	

4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het? ☒ Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 1541 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

- 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

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 Groningen

Datum 27 02 2017 

Handtekening 



Form Project proposal

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

1 General information

- 1.1 Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'. 10500
- 1.2 Provide the name of the licenced establishment. University of Groningen
- 1.3 Provide the title of the project. Generation, characterization and validation of immune-humanized Patient Derived Xenograft models as model for anti-cancer treatment.

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.

Immunotherapy has recently proven highly effective in clinical trials, yet only in a subset of patients. Developing novel preclinical models to assess therapeutic efficacy against a heterogeneous population of tumors and derive response biomarkers is therefore essential to translate this success to a broader (or

preselected) patient population. The heterogeneity and close reflection of the patient situation afforded by patient-derived xenograft (PDX) models is ideally suited for this purpose. Indeed, response rates of implanted tumor grafts against various conventional agents as well as investigational drugs have been reported to correlate with responses of patients (ref 1). However, a key component absent from current PDX models is the presence of an immune system, most notably T cells. In this proposal, we will therefore evaluate a novel approach to reconstitute T cells in PDX-bearing animals.

[REDACTED]

[REDACTED]

In this proposal the focus will be on establishing proof-of-principle for this approach using PDX of ovarian cancer, a model with which we have extensive experience (ref 1).

References:

1. Alkema, N. G., Tomar, T., Duiker, E. W., Meersma, G. J., Klip, H., van der Zee, A. G. J., de Jong, S. (2015). Biobanking of patient and patient-derived xenograft ovarian tumour tissue: efficient preservation with low and high fetal calf serum based methods. Scientific Reports, 5, [14495].

[REDACTED]

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 aim of this proposal is to establish proof-of-principle for a novel immune-competent patient derived xenograft (PDX) model of cancer. If successful, we will apply for follow-up projects to test novel immunotherapeutic strategies in this model. The main research question is: does our immune-competent PDX model [REDACTED] reflect the immune situation observed in patients? This question will be

addressed in three subprojects, with go/no-go moments after subproject 1 and 2:

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

Perspectives

After successful completion of this project, we will validate this novel immune-humanized PDX model as a platform for identifying new therapeutic targets and novel treatment strategies for the treatment of ovarian cancers based on immune modulation. Here fore, additional CCD approval will be sought at a later time when more data on success rates, humanization percentage, etc. are available from the initial above described 3 appendices.

References:

6. Hidalgo M, Amant F, Biankin AV, Budinská E, Byrne AT, Caldas C, Clarke RB, de Jong S, Jonkers J, Mælandsmo GM, Roman-Roman S, Seoane J, Trusolino L, Villanueva A. Patient-derived xenograft models: an emerging platform for translational cancer research. *Cancer Discov.* 2014;4: 998-1013.

3.3 Relevance

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

Cancer is still one of the leading causes of death. Many cancer patients do not respond to current treatments. Our research group, therefore, is interested in developing new treatment strategies to circumvent treatment resistance in these patients. It is of extreme importance to generate clinically more relevant models, such as the PDX models, to test these novel treatment strategies. This is essential, since pre-clinical models based on established cell line xenografts do not have a good predictive value for clinical treatment response in cancer patients. It has been described that PDX models preserve tumor heterogeneity and show more of the histology and genetic features of the human cancer specimen they are derived from. Hence, PDX models are more reliable models to test novel treatment strategies that have been tested extensively in vitro. We are aware that establishing PDX models implies a lot of work

and a large number of animals is needed. Therefore, we are part of the EuroPDX Consortium, which aims at collaborating between different research institutes in sharing not only knowledge but also tumor tissue needed for additional PDX models that are established by the different institutes.

3.4 Research strategy

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

We aim to establish proof-of-principle for a novel immune-competent PDX model and use these models in the future to test novel treatment strategies.

[REDACTED]

[REDACTED]

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.

The project consists of three subprojects.

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

In all three subprojects the animals can undergo the following procedures: anaesthesia by inhalation, implantation of [REDACTED] cells and/or tumors under anaesthesia, blood sampling (tail vein) and tumor measurements. At the end of the experiment, the animals will be sacrificed under anaesthesia. Tumor tissue and organs are collected for *ex vivo* analysis.

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.

[REDACTED]

Together, these experiments will provide proof-of-principle for our strategy as a novel preclinical model for cancer research.

Milestone 1: [REDACTED] Milestone 1 will be achieved when we can demonstrate functionality *in vivo* by T cell reconstitution. A no-go decision for subproject 2/3 will be made if no humanization is observed.

Milestone 2: [REDACTED]

Milestone 3: For use in translational research, immune-humanized mice bearing an autologous PDX tumor need to be established. Milestone 3 will therefore be reached when we observe immune responses of humanized mice towards the tumor graft similar to that which is observed in the patient. Milestone 3 will not be pursued if milestone 1 cannot be achieved. The exact humanization used for this milestone will be dependent on the outcome of milestones 1 and 2.

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	Humanizing immune-deficient mice [REDACTED]
2	Optimizing humanization [REDACTED]
3	Establishing immune-humanized PDX models of ovarian cancer
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	Het ontwikkelen van muismodellen voor onderzoek naar patiënt-specifieke immunologische behandelmethoden tegen kanker.
1.2 Looptijd van het project	5 jaar
1.3 Trefwoorden (maximaal 5)	Kanker, oncologie, muismodel

2 Categorie van het project

2.1 In welke categorie valt het project.	☒ Fundamenteel onderzoek
<i>U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.</i>	☒ 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)	Het doel van dit project is om <i>immunologisch humanemuismodellen</i> te ontwikkelen voor kankeronderzoek. Voor het opzetten van deze muismodellen wordt immuunweefsel afkomstig van patiënten in muizen geïmplant. In de vakliteratuur wordt dit <i>humanisering</i> van muizen genoemd. Daarnaast zullen in deze muizen stukjes tumor van dezelfde patiënt geïmplant worden, het zogeheten <i>Patient Derived Xenograft</i> (PDX). Eerder is aangetoond dat de tumoren in deze PDX-modellen zich vergelijkbaar gedragen als de tumoren in de desbetreffende patiënten. Ook vertonen deze PDX-modellen een vergelijkbare respons op verschillende anti-kankertherapieën. Door toevoeging van een humaan immuunsysteem ontstaan <i>humane PDX-modellen</i>, die in de toekomst gebruikt kunnen worden om nieuwe immunologische behandelstrategieën tegen kanker te onderzoeken. Het einddoel is om de juiste behandeling aan de juiste patiënt te kunnen geven.
---	---

3.2	Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?	De hoge sterfte aan kanker vraagt dringend om het ontwikkelen van nieuwe behandelingen om de overlevingskans van patiënten te verbeteren. Met de in dit project ontwikkelde humane PDX-modellen krijgen we de beschikking over diermodellen met een tumor die een grote gelijkenis vertoont met de tumor in de patiënt zelf. Door de muizen gelijktijdig te humaniseren, kunnen we de interactie tussen het afweersysteem en het biologische gedrag van deze tumoren observeren onder omstandigheden die in de mens niet mogelijk zijn. Tumoren van één patiënt kunnen bijvoorbeeld in verschillende humane muizen behandeld worden met verschillende immunologische geneesmiddelen. Hiermee zou bepaald kunnen worden welke behandeling het meest geschikt is voor deze patiënt. Uiteindelijk kan dit vertaald worden naar een verbetering van de diagnose en behandeling van patiënten in de kliniek.
3.3	Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?	Muizen, het geschatte aantal is 610
3.4	Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren?	Afhankelijk van het experiment kunnen dieren in meer of mindere mate negatieve gevolgen ondervinden. Hierbij kan gedacht worden aan stress, ongemak en mogelijk verandering van lichaamsgewicht en aantasting van de conditie door implantatie van immuunweefsel, tumorgroei of onverwachte bijwerkingen van handelingen.
3.5	Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst?	matig
3.6	Wat is de bestemming van de dieren na afloop?	De dieren worden geëuthanaseerd in het kader van de proef

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.	Bij het ontwikkelen van nieuwe geneesmiddelen voor kankerpatiënten zijn dierproeven nog steeds belangrijk. Op het moment worden hier vaak kankercellijnen voor gebruikt. Het wordt echter steeds duidelijker dat kankercellijnen geen goede weergave zijn van de enorme verschillen tussen verschillende vormen van kanker en ook niet van de verschillen tussen verschillende patiënten met dezelfde soort kanker. Het is daarom onwaarschijnlijk dat kankercellijnen gebruikt kunnen worden om de juiste behandeling voor te schrijven aan de juiste patiënt. Door het gebruiken van tumorweefsel afkomstig van individuele patiënten in een dier wordt wel een betrouwbaar, sterk op de tumor van de patiënt lijkend model verkregen. Dit model kan gebruikt worden om nieuwe behandelingen te testen en de resultaten naar de kliniek te vertalen. Een belangrijk obstakel bij het gebruik van dergelijke modellen op dit moment is echter de afwezigheid van een humaan afweerstelsel. Gezien de recente doorbraken op het gebied van immuuntherapie is het essentieel om betere diermodellen te ontwikkelen waarbij tumor en afweerstelsel van de patiënt tezamen geanalyseerd kunnen worden.
4.2	Vermindering	Er wordt gebruik gemaakt van uitgebreid literatuuronderzoek, gegevens uit

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

weefselkweken, ervaring binnen de onderzoeksgroep met het ontwikkelen van het PDX-model en een Europees samenwerkingsverband voor PDX-modellen. Dit heeft onder meer als doel onnodige herhaling van experimenten tussen onderzoeksgroepen te voorkomen.

Door middel van statistische analyses wordt het minimaal noodzakelijke aantal dieren bepaald.

Zogeheten go/no-go momenten worden gebruikt om alleen strikt nodige experimenten uit te voeren.

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.

De keuze van muizen is op basis van reeds beschikbare wetenschappelijke informatie en de ervaring van de onderzoeksgroep en een Europees samenwerkingsverband voor PDX-modellen.

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

Voor alle experimenten zal de "Code of practice dierproeven in het kankeronderzoek" worden aangehouden. De dieren worden nauwlettend gevolgd. Indien nodig wordt pijnstilling toegepast

5In te vullen door de CCD

Publicatie datum

Beoordeling achteraf

Andere opmerkingen



Appendix

Description animal procedures

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

1 General information

- 1.1 Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'. 10500
- 1.2 Provide the name of the licenced establishment. University of Groningen
- 1.3 List the serial number and type of animal procedure.
- | Serial number | Type of animal procedure |
|---------------|---|
| 1 | Humanizing immune-deficient mice [REDACTED] |
- Use the serial numbers provided in Section 3.4.4 of the Project Proposal form.*

2 Description of animal procedures

A. Experimental approach and primary outcome parameters

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

Aim: This animal procedure aims to humanise mice [REDACTED]

Background: Immunotherapy has recently proven highly effective in clinical trials, yet only in a subset of patients. Developing novel models to preclinically assess therapeutic efficacy against a heterogeneous population of tumors and derive response biomarkers is therefore essential to translate this success to a broader (or preselected) patient population. The heterogeneity and close reflection of the patient situation afforded by PDX models is ideally suited for this purpose. However, a key component absent from current PDX models is the presence of an immune system, most notably T cells. Humanization of PDX mice has the potential to side-step this obstacle by introducing a patient-specific immune system in mice bearing an autologous tumor graft. [REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

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

Under anesthesia, [REDACTED] cells will be implanted under the kidney capsule of [REDACTED] in [REDACTED]. Implantation under the kidney capsule was chosen as it has been used [REDACTED] in literature due to the highly vascularized nature of this region. T cell reconstitution (and phenotype) in these mice will be monitored in the blood by retro-orbital sampling of 100uL before and at 6 week intervals after implantation. Mice will be sacrificed when blood T cell levels start to decrease, after a maximum of 30 weeks after implantation (latest time point used in literature), or if signs of graft-vs-host disease are observed. After termination, organs will be harvested and analysed for T cell infiltration by parallel immunohistochemistry and flow cytometry, and in functional assays to determine self-tolerance.

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

Differences between blood and organ reconstitution will be assessed by a paired Student's t-test ($p < 0.05$) comparing to sham-operated mice. The lack of T cells in athymic mice has been extensively documented with minimal variation observed after years of use of this model. We are therefore confident no untreated animals are needed as a control here.

B. The animals

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

Genetically altered animals from an established animal breeding company inside or outside the EU, maximum 120 mice, young adults.

From literature, immune deficient mice of ~4-8 weeks are preferable because of optimal grafting of [REDACTED] cells. For this study, female mice will be used. Female mice are preferable since our tissue is derived from human females and differences in (both human and animal) male and female immune systems have frequently been described (see e.g. Furman et al. PNAS 2013).

To establish the robustness of our approach, we will use [REDACTED] cells from 4 different [REDACTED] lines: 2 from ovarian cancer patients with wildtype BRCA, 1 from a patient with germline BRCA1 mutation and 1 from a patient with germline BRCA2 mutation (the most common germline mutations in this disease). Since it is possible that despite proper differentiation *in vitro*, our [REDACTED] lines will not be able to generate functional thymic epithelium *in vivo*, we will also use 1 [REDACTED] cell line that was previously used in literature for

weight of more than 15% occurs, animals will be euthanized. Although it has not been reported in literature for [REDACTED] grafts, graft-versus-host disease (GvHD) might occur. Animals will be monitored especially closely for early signs of GvHD (skin lesions) and euthanized immediately upon early symptoms to spare further suffering. GMOs are handled under the applicable laws and safety standards for it.

Repetition and duplication

E. Repetition

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

[REDACTED] After completion of this (short) animal procedure, we will actively disseminate results to the scientific community to avoid unnecessary repetition of our experiments.

Accommodation and care

F. Accommodation and care

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

☒ No

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

G. Location where the animals procedures are performed

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

☒ No > Continue with question H.

☐ Yes > Describe this establishment.

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

Classification of discomfort/humane endpoints

H. Pain and pain relief

Will the animals experience pain during or after the procedures?

☐ No > Continue with question I.

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

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

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

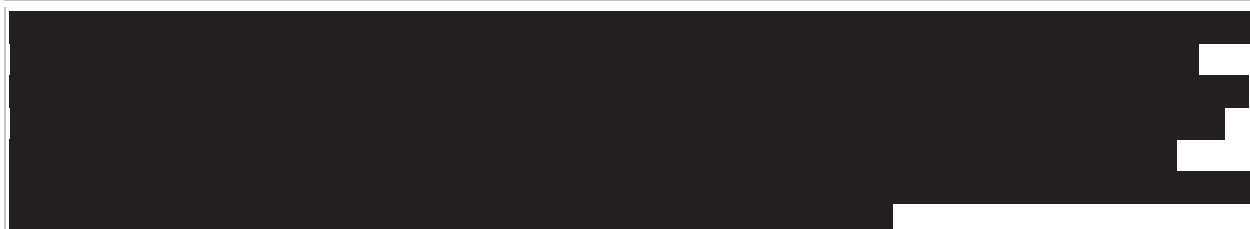
Before surgery and [REDACTED] implantation, each animal will undergo full anesthesia. During surgery, each animal will receive pain medication (analgesia) intraoperatively to ensure reduction of pain after surgery and anesthesia recovery.

I. Other aspects compromising the welfare of the animals

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

Graft-versus-host disease (GvHD) might occur that could result in discomfort. Animals will be monitored for GvHD by assessing the occurrence of skin lesions.

Explain why these effects may emerge.



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

The welfare is checked regularly and intensifies when necessary. GvHD is not expected to occur during the time-frames proposed here. Nevertheless, animals will be monitored especially closely for early signs of GvHD and euthanized immediately upon early symptoms to spare mice further suffering.

J. Humane endpoints

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

☐ No > Continue with question K.

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

Mice will be euthanized when an animal is no longer eating or drinking or weight loss of more than 15% is observed. Humane endpoints will also be applied when animals develop GvHD (skin lesions).

Indicate the likely incidence.

Weight loss of more than 15% of the body weight can occur after a surgical procedure, however this is rare. Based on literature, the occurrence of GvHD in the proposed time frame is unlikely to occur.

K. Classification of severity of procedures

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

The level of discomfort for the procedure described should be rated as moderate. Animals will experience mild discomfort due to handling, moderate discomfort due to implantation of [REDACTED] cells under renal capsule, and induction and recovery from anaesthesia. Therefore the cumulative expected levels of discomfort will be classified as moderate. The highest level of discomfort from a single action is moderate.

Under anaesthesia implantation of [REDACTED] cells under renal capsule – moderate
Handling of the animal for welfare evaluation – mild
Blood sampling – mild
Sacrificing under anaesthesia – non-recovery

End of experiment

L. Method of killing

Will the animals be killed during or after the procedures?

☐ No

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

Animals will be terminated under general anaesthesia. This termination is essential for harvesting, organs for ex vivo analysis of T cell reconstitution.

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

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

☒ Yes



Appendix

Description animal procedures

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

1 General information

- 1.1 Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'. 10500
- 1.2 Provide the name of the licenced establishment. University of Groningen
- 1.3 List the serial number and type of animal procedure.
- | Serial number | Type of animal procedure |
|---------------|--------------------------|
| 2 | Optimizing humanization |
- Use the serial numbers provided in Section 3.4.4 of the Project Proposal form.*

2 Description of animal procedures

A. Experimental approach and primary outcome parameters

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

[Redacted text]

[Redacted text]

[Redacted text]

[Redacted text]

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

Under anesthesia, scaffolds seeded with [REDACTED] cells will be implanted subcutaneously in athymic mice. As a control, scaffolds seeded with only [REDACTED] will be used. A reference group where $\sim 4 \times 10^6$ [REDACTED] cells are implanted under the kidney capsule of athymic mice will also be used (see appendix 1). T cell reconstitution (and phenotype) in these mice will be monitored in the blood by retro-orbital sampling of 100uL before and at 6 week intervals after implantation. Mice will be sacrificed when blood T cell levels start to decrease, after a maximum of 30 weeks after implantation (latest time point used in literature), or if signs of graft-vs-host disease are observed. After termination, organs will be harvested and analysed for T cell infiltration by parallel immunohistochemistry and flow cytometry, and in functional assays to determine self-tolerance.

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

Differences between blood and organ reconstitution of T cells (absolute number and percentage of total) will be assessed by Kruskal-Wallis test using a Dunns post-test ($p < 0.05$) comparing all individual groups. Only superior immune-reconstitution (assessed by statistically significant increases) will be considered a success.

B. The animals

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

Genetically altered animals from an established animal breeding company inside or outside the EU, maximum 70 mice, young adults.

From literature, immune deficient mice of ~ 4 -8 weeks are preferable because of optimal grafting of [REDACTED] cells. For this study, female mice will be used. Female mice are preferable since our tissue is derived from human females and differences in (both human and animal) male and female immune systems have frequently been described (see e.g. Furman et al. PNAS 2013).

To minimize the number of animals required, we will first use only one [REDACTED] line (BRCA wt). We will have several groups:

1. A control group for humanisation using [REDACTED] cells implanted under the kidney capsule as in appendix 1 (control).
2. A group implanted subcutaneously with [REDACTED] scaffolds [REDACTED]
3. A group implanted subcutaneously with [REDACTED] scaffolds [REDACTED]
4. A group implanted subcutaneously with [REDACTED] scaffolds [REDACTED]

We do not believe implantation of scaffolds alone could mediate immune reconstitution in these animals and therefore prefer not to unnecessarily use animals for such a control group. Similarly, we believe it would not be relevant within the setup of this experiment to once again include a sham-surgery or untreated group as we have done for appendix 1. It might however be biologically possible that [REDACTED] cells alone could mediate some form of immune reconstitution after e.g. de-differentiation and we therefore believe this control group is warranted.

From literature, the maximum group size required in similar experiments to obtain significant differences in T cell reconstitution was 10 mice per condition (see references included with the application). Therefore: 4 (groups of one [REDACTED] line) $\times$ 10 (animals per group) = 40 animals are initially required.

However, we will pursue several strategies to minimize this number (see section D).

If the [REDACTED] scaffolds and/or [REDACTED] scaffolds approach proves equal/superior to the control implantation (as assessed by statistically significant increases in absolute number and percentage of T cells), we will expand only this group (if both, only the group with the highest level of reconstitution) to include the other 3 [REDACTED] lines described in appendix 1 to establish the robustness of this approach.

This would then result in an additional maximum number of: 3 [REDACTED] lines with 1 group) x 10 (animals per group) = 30 animals. However, we will pursue several strategies to minimize this number (see section D).

Maximum number of animals needed is therefore: 40+30=70 (see below for reduction measures)

C. Re-use

Will the animals be re-used?

☒ No, continue with question D.

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

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

☐ No

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

D. Replacement, reduction, refinement

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

Replacement:

We have already optimized [REDACTED] *in vitro*. However, true functionality of thymic cells cannot be determined *in vitro* and *in vivo* experiments are needed for proof of function.

Reduction:

As discussed in appendix 1, T cell reconstitution after implantation of [REDACTED] cells has been reported in a number of publications with significant differences between sham- and [REDACTED]-implanted mice reported in each paper. However, group size and variation between animals differs between all papers (3-10 animals per group), potentially due to differences in the [REDACTED] cells used. The final number of animals needed for each group (to a maximum of 10) within this appendix is therefore dependent on the optimal number of animals identified in appendix 1. The minimum required number will obviously be selected for this procedure.

In addition, we have chosen to initially only compare reconstitution for a single [REDACTED] line, thereby reducing the maximum number of animals required in total (from 4x4x10=160 to 70). We believe this does not comprise our experimental setup as we are here evaluating differences in host environment and not (as in appendix 1) differences in [REDACTED] characteristics.

Refinement:

We have extensive experience with the proposed animal procedures and optimal refinements of actions for this model are in place.

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

All procedures will be performed under general anaesthesia where required and adequate pain relief will be employed when necessary. Animals will be housed in groups with cage enrichment and food and drink will be administered ad libitum. Procedures will be limited to a minimum and when possible performed at the same time. Symptoms of pain, suffering and anxiety will be closely monitored by behavioral observations and by monitoring the weight of the animals and recorded in a welfare diary. If loss of

weight of more than 15% occurs, animals will be euthanized. Although it has not been reported in literature for [REDACTED] grafts, graft-versus-host disease (GvHD) might occur. Animals will be monitored especially closely for early signs of GvHD (skin lesions) and euthanized immediately upon early symptoms to spare further suffering. GMOs are handled under the applicable laws and safety standards for it.

Repetition and duplication

E. Repetition

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

As described in appendix 1, to the best of our knowledge, no data is available on the function of [REDACTED] in vivo, a critical question for their use in humanization strategies. Furthermore, no publications described different implantation strategies for [REDACTED] cells, nor the use of [REDACTED] for improving development. After completion of this procedure, we will actively disseminate our results to the scientific community to avoid unnecessary repetition of our experiments.

Accommodation and care

F. Accommodation and care

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

☒ No

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

G. Location where the animals procedures are performed

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

☒ No > Continue with question H.

☐ Yes > Describe this establishment.

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

Classification of discomfort/humane endpoints

H. Pain and pain relief

Will the animals experience pain during or after the procedures?

☐ No > Continue with question I.

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

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

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

Before surgery and [REDACTED] implantation, each animal will undergo full anesthesia. During surgery, each animal will receive pain medication (analgesia) intraoperatively to ensure reduction of pain after surgery and anesthesia recovery.

I. Other aspects compromising the welfare of the animals

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

Graft-versus-host disease (GvHD) might occur that could result in discomfort. Animals will be monitored for GvHD by assessing the occurrence of skin lesions.

Explain why these effects may emerge.



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

The welfare is checked regularly and intensifies when necessary. GvHD is not expected to occur during the time-frames proposed here. Nevertheless, animals will be monitored especially closely for early signs of GvHD and euthanized immediately upon early symptoms to spare mice further suffering.

J. Humane endpoints

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

☐ No > Continue with question K.

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

Mice will be euthanized when an animal is no longer eating or drinking or weight loss of more than 15% is observed. Humane endpoints will also be applied when animals develop GvHD (skin lesions).

Indicate the likely incidence.

Weight loss of more than 15% of the body weight can occur after a surgical procedure, however this is rare. Based on literature, the occurrence of GvHD in the proposed time frame is unlikely to occur.

K. Classification of severity of procedures

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

The level of discomfort for the procedure described should be rated as moderate. Animals will experience mild discomfort due to handling, moderate discomfort due to implantation of [REDACTED] cells under renal capsule, or subcutaneously in scaffolds, and induction and recovery from anaesthesia. Therefore the cumulative expected levels of discomfort will be classified as moderate. The highest level of discomfort from a single action is moderate.

Under anaesthesia implantation of [REDACTED] under renal capsule – moderate

Under anaesthesia implantation of [REDACTED] subcutaneously – moderate

Handling of the animal for welfare evaluation – mild

Blood sampling – mild

Sacrificing under anaesthesia – non-recovery

End of experiment

L. Method of killing

Will the animals be killed during or after the procedures?

☐ No

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

Animals will be terminated under general anaesthesia. This termination is essential for harvesting, organs for ex vivo analysis of T cell reconstitution.

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

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

☒ Yes



Appendix

Description animal procedures

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

1 General information

- 1.1 Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'. 10500
- 1.2 Provide the name of the licenced establishment. University of Groningen
- 1.3 List the serial number and type of animal procedure.
- | Serial number | Type of animal procedure |
|---------------|--|
| 3 | Establishing immune-humanized PDX models of ovarian cancer |
- Use the serial numbers provided in Section 3.4.4 of the Project Proposal form.*

2 Description of animal procedures

A. Experimental approach and primary outcome parameters

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

Aim: This animal procedure is a proof-of-principle experiment to humanize mice bearing Patient-Derived Tumor Xenografts (PDX) by implanting [REDACTED] cells derived from the same patient (see appendix 1 and 2).

Background: Within the animal procedures described in appendix 1 and 2 of this application, we expect to establish that athymic mice can be efficiently humanized [REDACTED]. Here, we will assess the immune response of these humanized mice against tumors (PDX) from the same patient.

Preliminary data: We have successfully established ovarian cancer PDX models with a high engraftment efficiency. Further, our research group is part of the European PDX (EurOPDX) consortium whose main goal is to establish a European multi-cancer PDX databank. Within the consortium we share knowledge and whenever possible tissue from established PDX models among each other to increase the number of PDXs per tumor subtypes. Ample experience with generating PDX models is therefore available. Optimal humanization of mice using [REDACTED] cells will be established in appendix 1 and 2 of the application (assessed by absolute T cell numbers and percentage of total circulating immune cells). We will use the humanization approach outlined in appendix 2, unless this approach proves inferior to the strategy used in appendix 1. Of note, at equal reconstitution, we will also opt for the humanization approach outlined in appendix 2 as we believe the subcutaneous implantation [REDACTED] to be practically superior to implantation of [REDACTED] cells under the renal capsule.

Plan of investigation: We will humanize mice according to the optimal procedure established in appendix

1 or 2 while also subcutaneously implanting a PDX tumor from the same patient. We will assess whether humanization prior to, or after implantation of tumor, is more successful in recapitulating the human tumor-immune micro-environment. Tumor, blood, bone marrow, spleen, [REDACTED] etc. will be analysed for immune reconstitution using a combination of flow cytometry and immunofluorescent analysis of tissue. We will determine "self" tolerance by implanting a tumor PDX from another (HLA-mismatched) patient. These outcome measures will determine immune competence and self-tolerance and evaluate our strategy as a suitable approach for humanisation of mice.

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

Under anesthesia, mice are implanted with [REDACTED] cells under the kidney capsule, or subcutaneously with scaffolds [REDACTED] (depending on the outcome of appendix 1 and 2). In addition, mice will be implanted in the flank (contralateral if scaffolds are used) with tumor tissue. Briefly, the skin of the neck of the animal will be shaved and disinfected. A 1 cm skin incision will be made to be able to form a subcutaneous pocket in the side of the lower back. One tumor piece is deposited in the pocket and the skin is closed with absorbable sutures. Animals receive pain medication intraoperatively. From our experience with PDX models of ovarian cancer, we expect tumors to start growing after 3-6 weeks. T cell reconstitution (and phenotype) in these mice will be monitored in the blood by retro-orbital sampling of 100 μ L before and at 6 week intervals after implantation. Mice will be sacrificed when blood T cell levels start to decrease, after a maximum of 30 weeks after implantation (latest time point used in literature), if signs of graft-vs-host disease are observed, or if tumor size reaches 1000-1500 mm³ (tumor growth will be monitored by caliper measurements). After termination, tumor and organs will be harvested and analysed for T cell infiltration by parallel immunohistochemistry and flow cytometry, and in functional assays to determine self-tolerance.

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

Differences between tumor, blood and organ reconstitution of T cells (absolute number and percentage of total) will be determined by Kruskal-Wallis test using a Dunns post-test ($p < 0.05$) comparing all individual groups of each individual [REDACTED] line. T cell-reconstitution of PDX tumors compared to non-humanized mice (assessed by statistically significant differences) will be considered a success. For self-tolerance, tumor rejection as measured by graft survival will be determined (Kaplan Meier analysis).

B. The animals

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

Genetically altered animals from an established animal breeding company inside or outside the EU, maximum 420 mice, young adults.

From literature, immune deficient mice of ~4-8 weeks are preferable because of optimal grafting of [REDACTED] cells and PDX. For this study, female mice will be used. Female mice are preferable since our tissue is derived from human females and differences in (both human and animal) male and female immune systems have frequently been described (see e.g. Furman et al. PNAS 2013).

We will initially use the two BRCA-wt [REDACTED] lines with corresponding tumor. We will have several groups:

1. A control group for humanisation using [REDACTED] cells from [REDACTED] line 1 [REDACTED] implanted according to the optimal protocol established in appendix 1 or 2 [REDACTED]
2. A group implanted only with a PDX from the patient corresponding to [REDACTED]
3. A group implanted with [REDACTED] from [REDACTED] and implanted with the corresponding PDX1 [REDACTED]
4. A group implanted with [REDACTED] from [REDACTED] and the mismatched PDX from patient 2 [REDACTED]
5. A control group humanized using [REDACTED] cells from [REDACTED]
6. A group implanted only with [REDACTED]
7. A group implanted with [REDACTED] from [REDACTED] and implanted with the corresponding [REDACTED]
8. A group implanted with [REDACTED] from [REDACTED] and the mismatched PDX from patient 1 [REDACTED]

This will allow us to establish differences in immune reconstitution and effects of the tumor on immune cell function compared to non-tumor-bearing humanized mice.

The required group size will depend on the data from appendix 1 and 2, set at a maximum of 10 mice

per group (see appendix 1 and 2). Therefore, we will calculate here with the maximum of 10 mice per group, but this number may be lower depending on the outcome of appendix 1 and 2. Since we will compare implantation order of PDX implantation first or [redacted] implantation first, we will have 8(groups) x 2 [redacted] lines)= 16 groups in total. With a maximum of 10 mice per group this would mean 160 mice.

For each PDX model, we would therefore need tumor tissue for 30 mice (3 groups x 10 animals, see groups above). From our experience with ovarian cancer PDX models, we know we would need 3 successive passages to generate enough material for these 30 mice. In brief, tumor specimens of a patient will first be implanted in three mice (F1; 3 mice per patient). In our previous studies, we have observed a 68% take-rate for ovarian tumors. This means we need to implant 3 patient tumors in F1 in order to ensure material is available from 2 patients (3 x 3 = 9 mice). F1 tumors will be harvested and implanted into a second set of 3 mice (F2; 2 x 3 = 6 mice), harvested and re-implanted into another set of 5 mice (F3; 2 x 5 = 10 mice). F3 tumors are then harvested and split into 8 new fragments (40 fragments). Fragments are then implanted into the experimental mice (30) or biobanked for (genetic)analysis. In total, we would therefore need:

F1: 9 mice

F2: 6 mice

F3: 10 mice

Total: 25 mice per PDX model, 2 PDX models, so: 2 x 25 = 50 mice

Should the groups size described above be smaller, numbers will of course be adjusted down for the required number of tumor tissue fragments.

Should these humanization experiments prove successful (assessed by significantly increased T cell infiltration of the PDX tumors compared to non-humanized mice), we will validate these findings for 2 additional BRCA1/2-mutant [redacted] lines [redacted]

We will therefore have 2 pairs of [redacted] lines [redacted] For each pair a maximum of 50 animals are needed for generating tumor tissue for the experimental groups. For each pair, also a maximum of 160 animals are needed for the experimental groups.

Maximum number of animals needed is therefore: 2(pairs of [redacted] lines) x (50 + 160 animals) = 420

C. Re-use

Will the animals be re-used?

☒ No, continue with question D.

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

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

☐ No

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

D. Replacement, reduction, refinement

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

Replacement:

We have already optimized [redacted] *in vitro*. However, true functionality [redacted] cannot be determined *in vitro* and *in vivo* experiments are needed for proof of function.

Reduction:

As discussed in appendix 1 and 2, T cell reconstitution after implantation of [redacted] cells has been reported in a number of publications with significant differences between sham- and [redacted] mice reported in each paper. However, group size and variation between animals differs between all papers (3-10 animals per group), potentially due to differences in [redacted] cells used.

The final number of animals needed for each group (to a maximum of 10) within this appendix is therefore dependent on the optimal number of animals identified in appendix 1 and 2. The minimum required number will obviously be selected for this procedure.
In addition, we have chosen to initially only compare reconstitution for two lines, thereby reducing the maximum number of animals required.

Refinement:

We have extensive experience with the proposed animal procedures and optimal refinements of actions for this model are in place.

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

All procedures will be performed under general anaesthesia where required and adequate pain relief will be employed when necessary. Animals will be housed in groups with cage enrichment and food and drink will be administered ad libitum. Procedures will be limited to a minimum and when possible performed at the same time. Symptoms of pain, suffering and anxiety will be closely monitored by behavioral observations and by monitoring the weight of the animals and recorded in a welfare diary. For all experiments the standard code of practice Animals Experiment in Cancer Research will be followed. If loss of weight of more than 15% occurs, animals will be euthanized. Although it has not been reported in literature for grafts, graft-versus-host disease (GvHD) might occur. Animals will be monitored especially closely for early signs of GvHD (skin lesions) and euthanized immediately upon early symptoms to spare further suffering. GMOs are handled under the applicable laws and safety standards for it.

Repetition and duplication

E. Repetition

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

As described in appendix 1 and 2, to the best of our knowledge, no data is available on the humanization of PDX-bearing mice humanized using derived from . After completion of this procedure, we will actively disseminate our results to the scientific community to avoid unnecessary repetition of our experiments.

Accommodation and care

F. Accommodation and care

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

☒ No

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

G. Location where the animals procedures are performed

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

☒ No > Continue with question H.

☐ Yes > Describe this establishment.

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

Classification of discomfort/humane endpoints

H. Pain and pain relief

Will the animals experience pain during or after the procedures?

☐ No > Continue with question I.

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

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

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

Before surgery, [REDACTED] and PDX implantation, each animal will undergo full anesthesia. During surgery, each animal will receive pain medication (analgesia) intraoperatively to ensure reduction of pain after surgery and anesthesia recovery.

I. Other aspects compromising the welfare of the animals

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

Tumor growth should never impair water/food intake or the animal's movement. However, in rare cases tumor growth could become invasive or ulceration of the tumor could take place. Graft-versus-host disease (GvHD) might occur that could result in discomfort.

Explain why these effects may emerge.

Depending on the growth characteristics of the patient tumor, invasive growth or ulceration due to the tumor could occur. [REDACTED]

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

The welfare is checked regularly and intensified when necessary. In this way we can detect fast tumor growth, ulceration at early stage to reduce suffering. If suffering of ulceration or invasive tumor growth reach level 4, animals will be sacrificed. GvHD is not expected to occur during the time-frames proposed here. Nevertheless, animals will be monitored especially closely for early signs of GvHD (skin lesions) and euthanized immediately upon early symptoms to spare mice further suffering.

J. Humane endpoints

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

☐ No > Continue with question K.

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

According to the standard code of practice Animals Experiment in Cancer Research, mice will be euthanized when an animal is no longer eating or drinking, excessive weight reduction (taken tumor growth into account) is observed, the tumor reaches a size of more than 10% of the total body weight, the total tumor size exceeds 2000 mm³, when a single tumor exceeds 1500 mm³, the tumor shows persistent ulceration, when tumor growth becomes invasive or when no tumor growth occurs within 6 months after implantation. Humane endpoints will also be applied when animals develop GvHD.

Indicate the likely incidence.

Weight loss of more than 15% of the body weight can occur after a surgical procedure, however this is rare. Tumors are unlikely to reach maximum size in these experiments. Based on literature, the occurrence of GvHD in the proposed time frame is unlikely to occur.

K. Classification of severity of procedures

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

The level of discomfort for the procedure described should be rated as moderate. Animals will experience mild discomfort due to handling, moderate discomfort due to implantation of ■■■ cells under renal capsule, or subcutaneously in scaffolds, moderate discomfort due to implantation and growth of a tumor, and induction and recovery from anaesthesia. Therefore the cumulative expected levels of discomfort will be classified as moderate. The highest level of discomfort from a single action is moderate.

Under anaesthesia subcutaneous implantation of tumor- moderate

Subcutaneous tumor growth for a couple of months- mild to moderate

Under anaesthesia implantation of ■■■ cells under renal capsule or subcutaneously- moderate

Handling of the animal for welfare evaluation- mild

Blood sampling – mild

Sacrificing under anaesthesia – non-recovery

End of experiment

L. Method of killing

Will the animals be killed during or after the procedures?

☐ No

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

Animals will be terminated under general anaesthesia. This termination is essential for harvesting, organs for ex vivo analysis of T cell reconstitution.

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

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

☒ Yes

Format DEC-advies

Maak bij de toepassing van dit format gebruik van de Praktische Handreiking: Ethisch Toetsingskader voor proefdiergebruik. Voor voorbeelden, zie bijlage I.

Herhaling van antwoorden is niet nodig. Indien van toepassing kan verwezen worden naar een bij een eerdere vraag verstrekt antwoord.

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer Interne RUG code **8081**
2. Titel van het project: **Generation, characterization and validation of immune-humanized Patient Derived Xenograft models as model for anti-cancer treatment**
3. Titel van de NTS: **Het ontwikkelen van muismodellen voor onderzoek naar patiënt-specifieke immunologische behandelmethoden tegen kanker.**
4. Type aanvraag:
 - ☒ **nieuwe aanvraag projectvergunning**
 - ☐ wijziging van vergunning met nummer
5. Contactgegevens DEC:
 - naam DEC: **DEC-RUG**
 - telefoonnummer contactpersoon: [REDACTED]
 - e-mailadres contactpersoon: [REDACTED]
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
 - ☐ ontvangen door DEC **11-01-2017**
 - ☐ aanvraag compleet **11-01-2017**
 - ☐ in vergadering besproken **19-01-2017**
 - ☐ anderszins behandeld **15-02-2017**
 - ☐ termijnonderbreking(en) van / tot **20-01-2017 tot 13-02-2017**
 - ☐ besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen **n.v.t.**
 - ☐ aanpassing aanvraag **13-02-2017**
 - ☐ advies aan CCD: **24-02-2017**
7. Geef aan of de aanvraag is afgestemd met de IvD en deze de instemming heeft van de IvD.
De IvD heeft aangegeven dat de aanvraag met de IvD is afgestemd.

Bij de punten 8 t/m 10 kan worden volstaan met 'n.v.t.' wanneer de betreffende acties niet aan de orde zijn geweest. Bij vragen die gericht zijn op het compleet maken van de aanvraag (aanvullingen achtergrond informatie etc) kan bij punten 8 en 9 worden volstaan met de vermelding van het type vragen en de vermelding dat de aanvraag op de desbetreffende onderdelen is aangepast of dat de antwoorden in de aanvraag zijn verwerkt. Bij vragen die gericht zijn op het verkrijgen van verklaringen voor keuzes die door de aanvrager gemaakt worden, kan niet worden volstaan met het weergeven van de strekking van de antwoorden tenzij de antwoorden volledig in de aanvraag zijn opgenomen. Als dat het geval is, moet dat in het DEC advies worden benoemd en in de aanvraag inzichtelijk worden gemaakt.

8. Eventueel horen van aanvrager **n.v.t.**

- Datum
- Plaats
- Aantal aanwezige DEC-leden
- Aanwezige (namens) aanvrager
- Gestelde vraag / vragen
- Verstrekt(e) antwoord(en)
- Het horen van de aanvrager heeft wel/niet geleid tot aanpassing van de aanvraag

9. Correspondentie met de aanvrager

Datum **20-01-2017**

- **Vragen/opmerkingen t.a.v. uw aanvraag/bijlage**
- 1/ In bijlagen 1-2 wordt frequentie, methode en volume van bloedsampling niet gespecificeerd, er staat alleen "multiple times". Dit zou nader beschreven moeten worden.
- 2/ In bijlage 3 staat tail vein, met intervals gebaseerd op bijlagen 1-2, dan moet het vaststellen van sampling intervals in die bijlagen als uitkomst parameter gedefinieerd worden
- 3/ De aanvragers zijn erg "zuinig" in aangevraagde aantallen. Als een experiment door onvoorziene omstandigheden faalt, is er een reëel risico dat hele aanvraag te krap is ingezet. In kader van robuustheid of reproduceerbaarheid is een eventueel validatie/herhalings experiment verdedigbaar.
- 4/De startdatum van het project, weergegeven in het aanvraagformulier, staat op 1-2-2016. De DEC neemt aan dat dit 2017 is zou moeten zijn
-
- Datum antwoord:**05-02-2017**
- Verstrekt(e) antwoord(en):
 - 1/ In bijlage 1-2 is de specificatie "multiple times" in onderdeel A vervangen door de zin: "T cell reconstitution (and phenotype) in these mice will be monitored in the blood by retro-orbital sampling of 100uL before and at 6 week intervals after implantation."
 - 2/ In lijn met het antwoord op vraag 1 is in bijlage 3 de specificatie: "at intervals determined to be optimal from experiments in appendix 1 and 2" vervangen door de zin: "T cell reconstitution (and phenotype) in these mice will be monitored in the blood by retro-orbital sampling of 100uL before and at 6 week intervals after implantation."
 - 3/ De robuustheid van het systeem wordt naar onze mening al voldoende getest door het gebruik van meerdere ■■■ lijn en behoeft in dit geval geen extra muizen. In het kader van reproduceerbaarheid is een herhalingsexperiment met alle ■■■ lijnen en de ■■■ toegevoegd in bijlage 1 van de aanvraag in sectie B als volgt: "We will repeat each experiment twice to establish the reproducibility of our experiments." De benodigde aantallen muizen zijn hierop aangepast in de gehele aanvraag.
 - 4/Correct. Dit is gecorrigeerd in het aanvraagformulier.

- **De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag**

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

- Aard expertise
- Deskundigheid expert
- Datum verzoek
- Strekking van het verzoek
- Datum expert advies
- Advies expert

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. **Ja**
Indien niet vergunningplichtig, ga verder met onderdeel E. Advies.
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag / een wijziging op een bestaande vergunning. **Nieuwe aanvraag**
3. Is de DEC competent om hierover te adviseren? **Ja**
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. **N.v.t.**

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*).

Deze aanvraag heeft een concrete doelstelling en kan getypeerd worden als een project. De subdoelen zijn allemaal noodzakelijk om de doelstelling te behalen. Het is helder welke handelingen en ongerief individuele dieren zullen ondergaan. De aanvrager heeft zowel binnen de doelstellingen als tussen de doelstellingen criteria beschreven op basis van welke criteria deze zal besluiten het project wel of niet te continueren. De DEC vertrouwt erop dat de aanvrager gedurende het project op zorgvuldige wijze besluiten zal nemen over de voortgang van het project en er niet onnodig dieren gebruikt zullen worden. Gezien bovenstaande is de DEC van mening dat de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft.

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 Wet Natuurbescherming).

Voor zover de DEC de mogelijke tegenstrijdigheid kan beoordelen is er geen aanleiding om deze strijdigheid met andere relevante wettelijke bepalingen aanwezig te achten. De DEC wil wel vooropstellen dat deze signaleringsfunctie niet tot de taken van de DEC behoort.

3. Beoordeel of de in de projectaanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) aansluit(en) bij de hoofddoelstelling. Nevendoelstellingen van beperkt belang hoeven niet te worden aangekruist in het projectvoorstel. **De doelcategorie sluit aan bij de hoofddoelstelling.**

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).

Het directe doel is om een immuno-competent patiënt-afkomstig xenograft (PDX) model voor kanker op te zetten om nieuwe immuuntherapeutische strategieën te kunnen testen. Het uiteindelijke doel is om voor mensen betere behandelmethoden tegen kanker te ontwikkelen. Er is deels directe en reële relatie tussen het directe en uiteindelijke doel: de kankercellen die het xenograft vormen in het model zijn afkomstig van mensen. Het uiteindelijke doel zal waarschijnlijk binnen de looptijd van het project niet gehaald worden. Het project is gericht op fundamenteel en translationeel onderzoek m.b.t. de hierboven beschreven (directe) doel. De aanvrager heeft duidelijk gemaakt wat dit project kan bijdragen aan het onderzoeksveld en het directe doel is dus gerechtvaardigd binnen de context van het onderzoeksveld.

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*)
De belangrijkste belanghebbenden in dit fundamentele/translationele project zijn de proefdieren, en patiënten.

Waarden die voor proefdieren in het geding zijn: de integriteit van de dieren zal worden aangetast, de dieren zullen beperkt worden in hun natuurlijke gedrag en gedurende de proeven zullen de dieren stress ondervinden en ongerief ondergaan.

Waarden die voor patiënten bevorderd kunnen worden: de gezondheid van patiënten kan hierdoor verbeterd worden. Hierdoor kan de kwaliteit van leven verbeterd worden van patiënten en van hun naasten.

6. Is er aanleiding voor de DEC om de in de aanvraag beschreven effecten op het milieu in twijfel te trekken?

Voor zover de DEC de beschreven effecten op het milieu kan beoordelen is er geen aanleiding om de in de aanvraag beschreven effecten op het milieu in twijfel te trekken. De DEC wil wel vooropstellen dat deze signaleringsfunctie niet tot de taken van de DEC behoort.

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*).

Voor zover de DEC kan beoordelen zijn de kennis en kunde van de onderzoeksgroep adequaat gezien de wetenschappelijke output alsmede de aandacht voor de drie V's

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 het projectvoorstel aansluit bij recente wetenschappelijke inzichten en geen hiaten bevat die de bruikbaarheid van de resultaten in de weg zullen staan. De voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters zijn logisch en helder gekozen en sluiten aan bij de aangegeven doelstellingen en de gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen naar de mening van de DEC leiden tot het behalen van de doelstelling in het kader van het project.**

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*). **N.v.t.**

- ☐ 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 verdoving/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. **De DEC heeft zich ervan verzekerd dat huisvesting en verzorging volgens de richtlijn gebeurt. Dit op basis van de daartoe strekkende verklaring van zowel de vertegenwoordiger van de vergunninghouder als de aanvrager onder respectievelijk punt 6 van de ondertekening van de aanvraag en punt F van de bijlage.**

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*). **Dit is goed ingeschat. De DEC vertrouwt erop dat de aanvrager al het mogelijke zal doen om het eventuele ongerief voor de proefdieren te identificeren, te verminderen en waar mogelijk te voorkomen.**

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 het dier wordt aangetast door implantatie van humane cellen, bloedafname en opoffering.**

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*). **Naar de mening van de DEC zijn de humane eindpunten zorgvuldig beschreven en is de inschatting van het percentage dieren dat naar verwachting een humaan eindpunt zal bereiken eveneens zorgvuldig aangegeven in de projectaanvraag**

3V's

- 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 aanvrager heeft voldoende aannemelijk gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn. De complexe interactie tussen immuun cellen en tumorcellen zijn alleen in vivo na te bootsen**

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*). **Naar de mening van de DEC is het aantal te gebruiken dieren realistisch ingeschat en wel zodanig dat niet meer dan nodig, maar ook niet minder dan nodig dieren worden gebruikt voor het behalen van een betrouwbaar wetenschappelijke resultaat, zulks mede gebaseerd op de door de aanvrager aangeleverde literatuur referenties**

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 DEC heeft zich ervan verzekerd dat de aanvrager al het mogelijke zal doen om het eventuele ongerief voor de proefdieren te identificeren, te verminderen en waar mogelijk te voorkomen. Hierbij heeft de DEC onder andere de pijnbestrijding in haar beoordeling betrokken.**

16. 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. **Voor zover de DEC kan beoordelen zijn de kennis en kunde van de onderzoeksgroep adequaat en mede gezien het daartoe strekkende antwoord van de aanvrager in de projectaanvraag heeft de DEC reden aan te nemen dat onnodige duplicatie achterwege blijft**

Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef

17. 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*). **In onderhavige projectaanvraag worden vrouwelijke dieren gebruikt. De onderzoeker heeft naar de mening van de DEC deze keuze in de projectaanvraag voldoende onderbouwd. Alhoewel de DEC-RUG vermindering van proefdieren in voorraad gedood toejuicht is zij overigens van mening dat dit aspect met name met de centrale dienst proefdieren en de aanvrager kortgesloten dient te worden daar de DEC niet betrokken is bij de fok en aankoop van proefdieren.**
18. 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*). **Naar de mening van de DEC is dit genoegzaam beschreven in de projectaanvraag door de aanvrager: dieren**

worden gedood voor uitname van te analyseren weefsels.

19. 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. **N.v.t.**

NTS

20. Is de niet-technische samenvatting een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd?

Naar de mening van de DEC is zulks het geval.

D. Ethische afweging

Rechtvaardigen de doelstellingen van het project "**Generation, characterization and validation of immune-humanized Patient Derived Xenograft models for anti-cancer treatment**", dat gericht is op de ontwikkeling van een gehumaniseerd xenotransplantatie muis model voor eierstok kanker en daarmee de mogelijke van de ontwikkeling van nieuwe therapieën voor de behandeling van kanker patiënten het matige ongerief, dat de muizen wordt aangedaan in het onderhavige project?

Waarden die voor de proefdieren in het geding zijn: **matig nadeel.**

Waarden die voor de doelgroep bevorderd worden: **potentieel groot voordeel.**

Algemeen: **vergroting van biomedische kennis met betrekking tot het ontwikkelen van een xenotransplantatiemodel in een muis met een gehumaniseerd immuunsysteem, leidend tot een verbeterde gezondheidszorg.**

De DEC-RuG is van mening dat de belangen van de samenleving in het algemeen en de patiënten en hun naasten in het bijzonder binnen het project "**Generation, characterization and validation of immune-humanized Patient Derived Xenograft models for anti-cancer treatment.**" zwaarder wegen dan de belangen/waarden van de proefdieren. Voor de betrokken proefdieren leiden deze proeven, na licht dan wel matig ongerief, tot de dood. Zij worden door de experimenten in hun welzijn geschaad. Ten gevolge van de proeven zullen de dieren stress ondervinden. De integriteit van de dieren zal worden aangetast door het toedienen van [REDACTED] cellen, al dan niet in combinatie met tumor weefsel transplantatie en implantatie van [REDACTED]. De dieren worden gemonitord en blootgesteld aan herhaalde bloedafname, en de opoffering aan het eind van de proeven. Dit zal ook repercussies hebben op hun natuurlijke gedrag.

Indien de doelstellingen bereikt worden, zal dit project echter leiden tot een relevante uitbreiding van medisch-wetenschappelijke modellen om immuuntherapie te ontwikkelen tegen kanker bij mensen. Voor de kanker patiënten is verbetering van hun welzijn en mogelijk uitzicht op werkzame, nieuwe therapie van groot belang.

Vandaar dat de DEC-RuG het onderhavige onderzoek, zowel vanuit wetenschappelijk, translationeel als vanuit maatschappelijk oogpunt, van reëel belang acht.

Het is aannemelijk dat de doelstelling behaald zal worden. De onderzoekers zullen zoveel mogelijk trachten het welzijn van de dieren te bevorderen, waardoor het werkelijke ongerief van de dieren beperkt blijft in relatie tot het te behalen voordeel.

De DEC-RuG beantwoordt de centrale morele vraag: Rechtvaardigt de doelstelling van het project "**Generation, characterization and validation of immune-humanized Patient Derived Xenograft models for anti-cancer treatment.**", dat gericht is op de ontwikkeling van een nieuw xenotransplantatie muis model voor de ontwikkeling van anti-kanker therapie, de opoffering en het matige ongerief, dat de dieren wordt aangedaan in het voorliggende project bevestigend.

Hoewel de DEC-RuG de intrinsieke waarde van het dier onderschrijft en oog heeft voor het te ondergane ongerief van de proefdieren, weegt het reële belang van dit project naar haar mening zwaarder.

De DEC-RuG is van mening dat de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen en dat de gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. De onderzoekers beschikken over de benodigde kennis en technische expertise. Er is geen sprake van duplicatie.

In de gekozen strategie wordt op bevredigende wijze tegemoet gekomen aan de vereisten van vervanging, vermindering en verfijning. De DEC-RuG is er van overtuigd dat de aanvrager voldoende maatregelen treft om zowel het ongerief van de dieren als het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken. De DEC-RuG is ervan overtuigd dat er geen alternatieven zijn, waardoor deze dierproef met minder ongerief of met minder, dan wel zonder levende dieren zou kunnen worden uitgevoerd.

Op grond van deze overwegingen beschouwt de DEC-RuG de voorgestelde dierproeven in het projectvoorstel "**Generation, characterization and validation of immune-humanized Patient Derived Xenograft models for anti-cancer treatment.**" als ethisch gerechtvaardigd en voorziet de DEC-RuG derhalve het onderhavige projectvoorstel van een positief advies.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

☐ **De DEC adviseert de vergunning te verlenen.**

2. Het uitgebrachte advies kan unaniem tot stand zijn gekomen dan wel gebaseerd zijn op een meerderheidsstandpunt in de DEC. Indien gebaseerd op een meerderheidsstandpunt, specificeer het minderheidsstandpunt op het niveau van verschillende belanghebbenden en de waarden die in het geding zijn (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 4.A; zie bijlage I voor voorbeeld*).

Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.

3. Omschrijf de knelpunten/dilemma's die naar voren zijn gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies zowel binnen als buiten de context van het project (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 4.B*).

N.v.t. De DEC is overigens niet gewoon projectaanvragen buiten de context c.q. haar verantwoordelijkheid en competentie te beoordelen.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Rijksuniversiteit Groningen

A. Deusinglaan 1,
9713 AV GRONINGEN
[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
AVD105002017883

Bijlagen

2

Datum 24 februari 2017

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [Redacted]

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 24 februari 2017. Het gaat om uw project "Generation, characterization and validation of immune-humanized Patient Derived Xenograft models for anti-cancer treatment.". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD105002017883. 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).

Datum:

24 februari 2017

Aanvraagnummer:

AVD105002017883

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur

Datum:
24 februari 2017
Aanvraagnummer:
AVD105002017883

Gegevens aanvrager

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 10500
Naam instelling of organisatie: Rijksuniversiteit Groningen
Naam portefeuillehouder of
diens gemachtigde: [REDACTED]
KvK-nummer: 1179037
Postcode en plaats: 9713 AV GRONINGEN
IBAN: NL45ABNA0474567206
Tenaamstelling van het
rekeningnummer: Rijksuniversiteit Groningen

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

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

Datum:
24 februari 2017
Aanvraagnummer:
AVD105002017883

Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

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

Gegevens verantwoordelijke uitvoering proces

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

Over uw aanvraag

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

Over uw project

Geplande startdatum: 1 februari 2017
Geplande einddatum: 1 februari 2022
Titel project: Generation, characterization and validation of immune-humanized Patient Derived Xenograft models for anti-cancer treatment.
Titel niet-technische samenvatting: Het ontwikkelen van muismodellen voor onderzoek naar patiënt-specifieke immunologische behandelmethoden tegen kanker.
Naam DEC: DEC-RUG
E-mailadres DEC:

Betaalgegevens

De leges bedragen: € 1.541,-
De leges voldoet u: na ontvangst van de factuur

Checklist bijlagen

Verplichte bijlagen:

- ☒ Projectvoorstel
- ☒ Beschrijving Dierproeven
- ☒ Niet-technische samenvatting

Overige bijlagen:

- ☒ DEC-advies

Ondertekening

Naam:



Functie:



Plaats:

GRONINGEN

Datum:

24 februari 2017

Aanvraagnummer:

AVD105002017883



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Rijksuniversiteit Groningen

A. Deusinglaan 1,
9713 AV GRONINGEN



**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
AVD105002017883

Bijlagen

2

Datum 24 februari 2017

Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 24 februari 2017

Vervaldatum: 26 maart 2017

Factuurnummer: 170883

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD105002017883	€ 1.541,00

Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum over te maken op rekening NL29INGB 070.500.1512 onder vermelding van het factuurnummer en aanvraagnummer, ten name van Centrale Commissie Dierproeven, Postbus 93144, 2509 AC te 's Gravenhage.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Rijksuniversiteit Groningen

A. Deusinglaan 1,
9713 AV GRONINGEN



**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
AVD105002017883

Datum 3 maart 2017

Betreft Aanvulling aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte

Op 24 februari 2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Generation, characterization and validation of immune-humanized Patient Derived Xenograft models for anti-cancer treatment." met aanvraagnummer AVD105002017883. In uw aanvraag zitten voor ons nog enkele onduidelijkheden. In deze brief leest u wat wij nog nodig hebben en wanneer u een beslissing kunt verwachten.

Welke informatie nog nodig

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

Onduidelijkheden

Er zijn twee administratieve vragen:

In de NTS zijn een aantal woorden aan elkaar geschreven. Pas dit aan en stuur een nieuwe NTS in.

U gebruikt dieren met een verzwakt immuunsysteem. Wat wordt gedaan om gezondheidsproblemen als gevolg van de immunodeficientie van de dieren te voorkomen.

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.

Datum:

3 maart 2017

Aanvraagnummer:

AVD105002017883

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.



Melding bijlagen

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

Naam instelling: Rijksuniversiteit Groningen

Adres:

Postcode en plaats:

Aanvraagnummer: AVD105002017883

2 Bijlagen

Welke bijlagen stuurt u mee?

Vink de bijlagen aan of vul de naam of omschrijving in.

☐ Projectvoorstel

☐ Beschrijving Dierproeven

☐ Niet-technische samenvatting

☐ Melding Machtiging

☐ Aanvraagformulier

☐

☐

☐

Datum:

3 maart 2017

Aanvraagnummer:

AVD105002017883

3 Ondertekening

Naam:

Datum: - -

Handtekening:

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

Centrale Commissie Dierproeven

Postbus 20401

2500 EK Den Haag

Antwoorden op aanvullende vragen van aanvraag AVD105002017883: "Generation, characterization and validation of immune-humanized Patient Derived Xenograft models for anti-cancer treatment."

Communicatie van de CCD:

In de NTS zijn een aantal woorden aan elkaar geschreven. Pas dit aan en stuur een nieuwe NTS in.

Onze reactie:

Dit is aangepast.

Communicatie van de CCD:

U gebruikt dieren met een verzwakt immuunsysteem. Wat wordt gedaan om gezondheidsproblemen als gevolg van de immunodeficiëntie van de dieren te voorkomen.

Onze reactie:

Om gezondheidsproblemen als gevolg van de immunodeficiëntie te voorkomen wordt gebruik gemaakt van maatregelen zoals huisvesting onder IVC omstandigheden, werken met de dieren in een laminair flowkast, gebruik van geautoclaveerd water en sterilisatie van materiaal waarmee de dieren in aanraking komen. Het CDP Groningen heeft uitvoerig ervaring met het huisvesten van immunodeficiëntie dieren en onze onderzoeksgroep heeft de beschreven handelingen in het verleden ook succesvol uitgevoerd onder steriele condities in de flowkast (implanteren van PDX, etc.) Wij verwachten hier dan ook geen aanvullende problemen.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Rijksuniversiteit Groningen

A. Deusinglaan 1,
9713 AV GRONINGEN

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
AVD105002017883

Bijlagen

1

Datum 3 april 2017
Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte

Op 24 februari 2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Generation, characterization and validation of immune-humanized Patient Derived Xenograft models for anti-cancer treatment." met aanvraagnummer AVD105002017883. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Beslissing

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a van de Wet op de Dierproeven (hierna: de wet). Hierbij gelden de voorwaarden zoals genoemd in de vergunning.

Met het oog op artikel 10a, lid 1, zijn er algemene voorwaarden gesteld.

U kunt met uw project "Generation, characterization and validation of immune-humanized Patient Derived Xenograft models for anti-cancer treatment." starten. De vergunning wordt afgegeven van 4 april 2017 tot en met 1 februari 2022.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie DEC-RUG gevoegd. Dit advies is opgesteld op 24 februari 2017. 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. Dit advies van de commissie nemen wij over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering.

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

Datum:
3 april 2017
Aanvraagnummer:
AVD105002017883

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:

Algemeen Secretaris

Bijlagen:

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



Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de Dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam: Rijksuniversiteit Groningen

Adres: A. Deusinglaan 1, [REDACTED]

Postcode en plaats: 9713 AV GRONINGEN

Deelnemersnummer: 10500

deze projectvergunning voor het tijdvak 4 april 2017 tot en met 1 februari 2022, voor het project "Generation, characterization and validation of immune-humanized Patient Derived Xenograft models for anti-cancer treatment." met aanvraagnummer AVD105002017883, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC-RUG.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is Hoogleraar. Voor de uitvoering van het project is Analist verantwoordelijk.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 24 februari 2017
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 24 februari 2017;
 - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 24 februari 2017;
 - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 24 februari 2017, ontvangen op 24 februari 2017.

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
1: Humanizing immune-deficient mice through [REDACTED]				
	Muizen (Mus musculus) / genetisch aangepaste dieren	120	100% Matig	
2: Optimizing humanization [REDACTED]				
	Muizen (Mus musculus) / genetisch aangepaste dieren	70	100% Matig	
3: Establishing immune-humanized PDX models of ovarian cancer				
	Muizen (Mus musculus) / genetisch aangepaste dieren	420	100% Matig	

Aanvraagnummer:

AVD105002017883

Voorwaarden

Op grond van artikel 10a1 lid 2 van de Wet op de dierproeven zijn aan een projectvergunning voorwaarden te stellen

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

In artikel 10, lid 1 sub a 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 afstemming met de IvD te melden bij de CCD. De CCD kan in een dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarde wijzigen of intrekken.



Aanvraagnummer:
AVD105002017883

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

Aanvraagnummer:

AVD105002017883

kunnen lijden als de verdoving eenmaal is uitgewerkt, moeten preventief en postoperatief behandeld worden met pijnstillers of andere geschikte pijnbestrijdingsmethoden, mits die verenigbaar zijn met het doel van de dierproef. Zodra het doel van de dierproef is bereikt, moeten passende maatregelen worden genomen om het lijden van het dier tot een minimum te beperken.

Einde van een dierproef

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

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

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

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