

	Dossier: AVD10800202317083	
		Aanwezig
1	NTS	X
2	Aanvraagformulier	X
3	Projectvoorstel	X
4	Bijlage beschrijving dierproeven	X
5	DEC-advies	X
6	Ontvangstbevestiging	X
	Evt. Vragen CCD aan aanvrager	X
	Evt. antwoorden aanvrager	N.v.t.
7	Beschikking en vergunning	X

NIET-TECHNISCHE PROJECTSAMENVATTING

Naam van het project	Een nieuw doelgericht medicijn tegen blaaskanker.
NTS-identificatiecode	NTS-NL-333301 v.1, 12-10-2023
Land	Nederland
Taal	nl
Duur van het project, uitgedrukt in maanden.	24
Trefwoorden	Humane blaaskanker Gepersonaliseerde behandeling Experimenteel medicijn Muizen met defect in immuunsysteem Combinatie met chemotherapie
Doel(en) van het project	Fundamenteel onderzoek: Oncologie

DOELSTELLINGEN EN VERWACHTE VOORDELEN VAN HET PROJECT

Beschrijf de doelstellingen van het project (bijvoorbeeld het aanpakken van bepaalde wetenschappelijke onduidelijkheden, of wetenschappelijke of klinische behoeften).	We hebben een veelbelovend nieuw en experimenteel medicijn gevonden dat mogelijk de prognose van ongeveer 12% van de patiënten met gevorderde (uitgezaaide) blaaskanker sterk kan verbeteren. Blaaskanker is momenteel een dodelijke vorm van kanker met een vijfjaarsoverleving van slechts 15% wanneer de kanker vergevorderd en uitgezaaid is bij de diagnose. Op basis van onze data analyses en labresultaten heeft ongeveer 12% van de blaaskankerpatiënten specifieke genmutaties die hun tumoren mogelijk zeer gevoelig maakt voor ons nieuwe medicijn. Wereldwijd zijn dit zo'n 20.000 mensen per jaar. Voordat we echter dit medicijn gaan testen in blaaskankerpatiënten is het nodig de effectiviteit te testen in een diermodel. We gaan onderzoeken hoe efficiënt het nieuwe medicijn werkt: alleen of in combinatie met de chemotherapie die deze patiënten al krijgen. Het enige geschikte model om het middel te testen op echte tumoren met de bovengenoemde genmutatieprofiel is door menselijke blaaskankercellen te injecteren bij muizen en uit te laten groeien tot tumoren die we vervolgens kunnen behandelen met het experimentele medicijn.
Welke potentiële voordelen kan dit project opleveren? Leg uit hoe de wetenschap vooruit kan worden geholpen of mensen, dieren of het milieu uiteindelijk voordeel kunnen hebben bij het project. Maak, waar van toepassing, een onderscheid tussen voordelen op korte termijn (binnen de looptijd van het project) en voordelen op lange termijn (die mogelijk pas worden bereikt nadat het project is afgerond).	Als de dierproef succesvol verloopt, kunnen we een consortium aangaan grotere samenwerking opzetten met oncologen van verschillende ziekenhuizen, en het farmaceutische bedrijf dat het medicijn ontwikkelt, zodat we een klinische studie kunnen opzetten. Als deze slaagt, hebben we binnen een termijn van enkele jaren een medicijn dat de prognose van een grote groep naar schatting zo'n 20.000 patiënten wereldwijd per jaar aanmerkelijk kan verbeteren.

VOORSPELDE SCHADE

<p>In welke procedures worden de dieren gewoonlijk gebruikt (bijvoorbeeld injecties, chirurgische procedures)? Vermeld het aantal en de duur van deze procedures.</p>	<p>We zullen blaaskankercellen afkomstig van patiënten onderhuids injecteren bij muizen. De gebruikte muizenstam mist een deel van het afweersysteem, zodat de menselijke kankercellen niet worden opgeruimd. Zo kunnen er tumoren groeien uit deze menselijke blaaskankercellen in de muizen. Zodra de tumoren meetbaar zijn, zullen we de behandeling starten met ons experimentele medicijn, al dan niet in combinatie met het chemotherapeutische medicijn ██████████. We zullen het effect testen door iedere drie dagen de tumoren op te meten, en we voorspellen een sterk remmend effect van met name de combinatietherapie.</p>																
<p>Wat zijn de verwachte gevolgen/nadelige effecten voor de dieren, bijvoorbeeld pijn, gewichtsverlies, inactiviteit/verminderde mobiliteit, stress, abnormaal gedrag, en wat is de duur van die effecten?</p>	<p>De muizen kunnen mogelijk bijwerkingen van de medicatie hebben, met name in de combinatiegroep die ook chemotherapie krijgt. Het best meetbare effect zou afname van eetlust en gewichtsverlies zijn. Daarom zullen we het gewicht van de muizen tijdens de behandeling zeer regelmatig meten. Van de tumoren zelf zullen de muizen weinig tot geen last hebben, omdat we de tumorcellen slechts op 1 plek onder de huid, op de rug injecteren, en we de tumoren niet groter dan 1x1x1 cm laten worden. Vanaf deze onderhuidse injectieplek op de rug is de kans op uitzaaiing minimaal.</p>																
<p>Welke soorten en aantallen dieren zullen naar verwachting worden gebruikt? Wat zijn de verwachte ernstgraden en de aantallen dieren in elke ernstcategorie (per soort)?</p>	<table border="1"><thead><tr><th rowspan="2">Soort:</th><th rowspan="2">Totaal aantal</th><th colspan="4">Geraamde aantallen naar ernstgraad</th></tr><tr><th>Terminaal</th><th>Licht</th><th>Matig</th><th>Ernstig</th></tr></thead><tbody><tr><td>Muizen (<i>Mus musculus</i>)</td><td>222</td><td>0</td><td>0</td><td>222</td><td>0</td></tr></tbody></table>	Soort:	Totaal aantal	Geraamde aantallen naar ernstgraad				Terminaal	Licht	Matig	Ernstig	Muizen (<i>Mus musculus</i>)	222	0	0	222	0
Soort:	Totaal aantal			Geraamde aantallen naar ernstgraad													
		Terminaal	Licht	Matig	Ernstig												
Muizen (<i>Mus musculus</i>)	222	0	0	222	0												
<p>Wat gebeurt er met de dieren die aan het einde van de procedure in leven worden gehouden?</p>	<table border="1"><thead><tr><th rowspan="2">Soort:</th><th colspan="3">Geraamd aantal te hergebruiken, in het habitat-/houderijsysteem terug te plaatsen of voor adoptie vrij te geven dieren</th></tr><tr><th>Hergebruikt</th><th>Teruggeplaatst</th><th>Geadopteerd</th></tr></thead><tbody></tbody></table>	Soort:	Geraamd aantal te hergebruiken, in het habitat-/houderijsysteem terug te plaatsen of voor adoptie vrij te geven dieren			Hergebruikt	Teruggeplaatst	Geadopteerd									
Soort:	Geraamd aantal te hergebruiken, in het habitat-/houderijsysteem terug te plaatsen of voor adoptie vrij te geven dieren																
	Hergebruikt	Teruggeplaatst	Geadopteerd														
<p>Geef de redenen voor het geplande lot van de dieren na de procedure.</p>	<p>We moeten de dieren aan het einde van de procedures doden. De reden daarvoor is dat we enkele vitale organen en een relatief groot bloedvolume nodig hebben om de concentraties medicijn te bepalen. Dit is om er zeker van te zijn dat de dieren wel voldoende van het experimentele medicijn hebben binnen gekrijgen. Verder moeten deze weefsels en de tumoren worden geanalyseerd in het lab om het effect van de medicatie op tumorweefsel en gezond weefsel grondig te bestuderen.</p>																

TOEPASSING VAN DE DRIE V'S

1. Vervanging

Beschrijf welke diervrije alternatieven op dit gebied voorhanden zijn en waarom zij niet voor het project kunnen worden gebruikt.

We hebben ale uitgebreid in gekweekte blaaskankercellen getest welke concentraties en doseringen we nodig gaan hebben om heel selectief tumorcellen op te ruimen terwijl normale cellen gespaard worden. We hebben ook al uitgezocht in gekweekte blaaskankercellen welke concentraties van het nieuwe geneesmiddel en bestaande chemotherapie elkaar het meest versterken als combinatietherapie. Zo kunnen we straks in één keer de juiste doseringen geneesmiddel aan de muizen geven. Maar in in vitro experimenten kunnen niet de dierproef vervangen. De reden is dat we in celkweek de gecombineerde invloeden van tumorbloedvatvorming, ontstekingscellen, en bindweefselcellen nu nog niet voldoende kunnen nabootsen, terwijl deze factoren mogelijk wel een sterke invloed kunnen hebben op de effectiviteit van het experimentele medicijn.

2. Vermindering

Leg uit hoe de aantallen dieren voor dit project zijn bepaald. Beschrijf de stappen die zijn genomen om het aantal te gebruiken dieren te verminderen en de beginselen die zijn gebruikt bij het opzetten van de studies. Beschrijf, waar van toepassing, de praktijken die gedurende het hele project zullen worden toegepast om het aantal dieren die in overeenstemming met de wetenschappelijke doelstellingen werden gebruikt, tot een minimum te beperken. Deze praktijken kunnen bijvoorbeeld bestaan uit proefprojecten, computermodellen, het delen van weefsel en hergebruik.

Voordat we de proef gaan starten hebben we al heel nauwkeurig met gekweekte blaaskankercellen bepaald welke doseringen medicijn we moeten gaan gebruiken. Daardoor hoeven we slechts één dosering te testen in de muizen en kunnen we het aantal groepen beperkt houden. Daarnaast hebben we ervoor gekozen alleen vrouwelijke muizen te gebruiken. Er zou voor gekozen kunnen worden zowel in mannetjes als vrouwtjes te gaan meten. Er is namelijk een klein risico dat het effect van de medicijnen anders is in mannetjes dan vrouwtjes, maar we hebben geen reden om aan te nemen dat dit zo is, en het scheelt een factor twee in het benodigde aantal muizen.

3. Verfijning

Geef voorbeelden van de specifieke maatregelen (bv. verscherpte monitoring, postoperatieve behandeling, pijnbestrijding, training van dieren) die in verband met de procedures moeten worden genomen om de welzijnskosten (schade) voor de dieren tot een minimum te beperken. Beschrijf de mechanismen om gedurende de looptijd van het project nieuwe verfijningstechnieken in gebruik te nemen.

We laten de tumoren niet groter worden dan één kubieke cm, omdat boven dit formaat de muizen gehinderd zouden kunnen worden in hun bewegingsvrijheid. We mixen het medicijn in het voer, zodat we ze geen dwangvoeding hoeven te geven. Dit betekent wel dat we een kleine pilot-proef moeten doen om zeker te weten dat de doseringen kloppen met onze aannames van de daadwerkelijke voedselinname. We gebruiken alleen vrouwelijke muizen. Mannetjes hebben de neiging veel erger te vechten, wat zou leiden tot verwondingen, stress, en solitaire huisvesting.

Licht de keuze van de soorten en de bijbehorende levensstadia toe

Omdat we humane blaaskankers met een hele specifieke genmutaties moeten behandelen, hebben we geen andere keuze dan specifieke kankercellijnen van patiënten te transplanteren in een diermodel. Als we bijvoorbeeld de blaas zouden behandelen met een kankerverwekkende stof, zouden er wel spontaan blaastumoren ontstaan, maar is het maar de vraag welke van die tumoren ook de benodigde mutatie in het voor onze proef belangrijke gen zouden krijgen. Vandaar dus dat kankercellen injecteren die al de gewenste mutaties bevatten. Muizen met een defect in hun afweersysteem zijn hiervoor het meest geschikte diermodel, omdat bij normale muizen de menselijke cellen zouden worden herkend en opgeruimd door het afweersysteem. We hebben gekozen voor jongvolwassen dieren, omdat ze in ieder geval niet te jong moeten zijn.

Dat wil zeggen dat ze niet meer bij de moeder melk hoeven te drinken. Anders zouden we het medicijn niet via voer kunnen geven. Verder zouden de muizen anders te klein zijn om een tumor te dragen zonder fysiek ongemak.

VOOR EEN BEOORDELING ACHTERAF GESELECTEERD PROJECT

Project geselecteerd voor BA?	nee
Termijn voor BA	
Reden voor de beoordeling achteraf	
Bevat ernstige procedures	
Maakt gebruik van niet-menselijke primaten	
Andere reden	
Toelichting van de andere reden voor de beoordeling achteraf	

AANVULLENDE VELDEN

Link naar de eerdere versie van de NTS buiten het EC-systeem	
--	--



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 neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Gegevens aanvrager

1.1	Heeft u een deelnemernummer van de NVWA? <i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>	<input checked="" type="checkbox"/> Ja > Vul uw deelnemernummer in	10800
		<input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen	
1.2	Wat voor aanvraag doet u?	<input checked="" type="checkbox"/> Nieuwe aanvraag > Ga verder met vraag 1.3	
		<input type="checkbox"/> Wijziging > Vul hiernaast het AVD nummer van uw vergunde project in en ga verder met vraag 2.1	
		<input type="checkbox"/> Melding > Vul hiernaast het AVD nummer van uw vergunde project in en ga verder met vraag 2.2	
1.3	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	Naam instelling of organisatie	Universiteit Utrecht
		Titel, voorletters en achternaam van de portefeuillehouder	Titel Voorletters Achternaam <input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw
		E-mailadres contactpersoon	info@ivd-utrecht.nl
		Titel, voorletters en achternaam van de diens gemachtigde (indien van toepassing)	Titel Voorletters Achternaam <input type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw
		E-mailadres gemachtigde	
	Vul de gegevens van het postadres in.	Straat en huisnummer	Instantie voor Dierenwelzijn Utrecht 50
		Postcode en plaats	3584CJ UTRECHT
		Postbus, postcode en plaats	80125 3508TC UTRECHT
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	<input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
		Functie	
		Afdeling	
		Telefoonnummer	

1.5	<i>(Indien van toepassing)</i> Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	E-mailadres	[REDACTED]
		(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED] <input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.
		Functie	[REDACTED]
		Afdeling	[REDACTED]
		Telefoonnummer	
1.6	<i>(Indien van toepassing)</i> Vul hier de gegevens in van de persoon aan wie de portefeuillehouder de verantwoordelijkheid inzake de algemene uitvoering van het project en de overeenstemming daarvan met de projectvergunning heeft gedelegeerd.	E-mailadres	[REDACTED]
		(Titel) Naam en voorletters	<input type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
		Functie	
		Afdeling	
		Telefoonnummer	
1.7	<i>(Optioneel)</i> Vul hier de gegevens in van de Instantie voor Dierenwelzijn	Telefoonnummer	030-2531569
		E-mailadres	info@ivd-utrecht.nl
1.8	Is er voor deze projectaanvraag een gemachtigde?	<input type="checkbox"/> Ja > <i>Stuur dan het ingevulde formulier Melding Machtiging mee met deze aanvraag</i> <input checked="" type="checkbox"/> Nee	

2 Over uw aanvraag

2.1	Gaat uw aanvraag over een <i>wijziging</i> op een vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn?	<input checked="" type="checkbox"/> Nee > Ga verder met vraag 3	
		<input type="checkbox"/> Ja > Geef hier onder kort de wijziging en de onderbouwing daarvan weer. Geef in de originele formulieren (niet-technische samenvatting, projectvoorstel en bijlage dierproeven) duidelijk aan (bij voorbeeld in een andere kleur) waar de projectaanvraag wijzigt. Ga daarna verder met vraag 6.	
2.2	Gaat uw aanvraag over een <i>melding</i> op een vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn?	<input type="checkbox"/> Nee > Ga verder met vraag 3	
		<input type="checkbox"/> Ja > Geef hier onder weer wat deze melding inhoudt en ga verder met vraag 6	

3 Over uw project

3.1	Wat is de geplande start- en einddatum van het project?	Startdatum	1 - 9 - 2023
		Einddatum (t/m)	31 - 8 - 2025
3.2	Wat is de titel van het project?	Inventing a new targeted therapy for muscle-invasive bladder cancer.	
3.3	Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?	Een nieuwe doelgerichte therapie om de prognose van blaaskankerpatiënten te verbeteren.	
3.4	Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) van voorkeur?	Naam DEC	DEC Utrecht
		Postadres	Postbus 85500 3508 GA Utrecht
		E-mailadres	dec-utrecht@umcutrecht.nl

4 Factuurgegevens

4.1 (indien factuuradres afwijkt van de gegevens uit vraag 1.3) Vul de gegevens van het factuuradres in.	Naam: UU-ASC		Afdeling:
	Straat:		Huisnummer:
	Postcode:	Plaats:	
	Postbus: 80.011	Postcode: 3508TA	Plaats: UTRECHT
E-mail: asc.factuur@uu.nl			
4.2 (optioneel) Vul hier het ordernummer van de instelling in.	Ordernummer: CB.841910.3.01.011		

5 Checklist bijlagen

5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?	Verplicht
	<input checked="" type="checkbox"/> Projectvoorstel Aantal bijlage(n) dierproeven 1
	<input checked="" type="checkbox"/> Niet-technische samenvatting
	Overige bijlagen, indien van toepassing
<input type="checkbox"/> Melding Machtiging	
<input type="checkbox"/>	

6 Ondertekening

- 6.1 Print het formulier uit, onderteken het en stuur het inclusief bijlagen via de beveiligde e-mailverbinding naar de CCD en per post naar de Centrale Commissie Dierproeven (voor adresgegevens zie website)
- Ondertekening door de portefeuillehouder namens de instellingsvergunninghouder of gemachtigde (zie 1.8). 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 C van de bijlage bij het bij de aanvraag gevoegde projectvoorstel gemotiveerde uitzonderingen.
 - dat door het ondertekenen van dit formulier de verplichting wordt aangegaan de leges te betalen voor de behandeling van de aanvraag.
 - dat het formulier volledig en naar waarheid is ingevuld.

Naam	
Functie	
Plaats	Utrecht
Datum	25 - 05 - 2023
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 the Guidelines to the project licence application form for animal procedures on 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'.	10800
1.2 Provide the name of the licenced establishment.	Utrecht University
1.3 Provide the title of the project.	Inventing a new targeted therapy for muscle-invasive bladder cancer.

2 Categories

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

Motivation. Urinary bladder cancer is one of the most common and deadly cancers. It is the 9th most common cause of cancer deaths worldwide among men and the 13th among men and women combined (1). Bladder cancer typically develops from epithelial stem cells in the inner layer of the bladder wall. When it manages to invade the muscle-layer underneath, it can invade surrounding organs and

metastasize. In this advanced stage – called muscle-invasive bladder cancer (MIBC) – the therapeutic options are still very poor. Hence, the 5-year survival of patients with MIBC is as low as ~15% (2). Approximately 430.000 patients are diagnosed with bladder cancer each year, of which 167.700 are classified as MIBC (3). The current standard of care is surgical removal of the entire bladder (i.e. including the primary tumor), followed by systemic therapy with the chemotherapeutic drug [REDACTED] (3,4). However, the effect of systemic chemotherapy is usually inadequate because tumors develop chemoresistance. A subset of patients nowadays benefits from new immune checkpoint inhibition therapies, but this is effective in only a minority of the patients with MIBC. Hence there is a clear need for new and additional targeted therapies to improve the prognosis of MIBC patients (3).

Background. To find new targeted therapeutic strategies our lab explores the possibility of synthetic lethality. Synthetic lethality means that inhibition of a protein (for example a kinase) only kills cells that have a specific gene mutation. Hence, we search for gene mutations that sensitize the bladder cancer cells to a drug that kills cancer cells, but not healthy cells. We study DNA profiles from MIBC patients for recurring mutations, and test in the lab which targetable vulnerabilities these mutations create. To our excitement, we have now pilot data in MIBC cell lines that strongly suggest that we have discovered a synthetic lethal interaction between one of the most commonly mutated genes in MIBC [REDACTED] and a newly developed first-in-class [REDACTED] kinase inhibitor. We hope to treat patients with [REDACTED] MIBC in the future, but before we can do that we need to test the efficacy of this drug in an *in vivo* (mouse) model.

Context. [REDACTED] is a protein that can slow down or even completely halt cell cycle progression when DNA replication is disturbed. We and others found that [REDACTED] is an oncogene that forces cells into DNA replication. For the cancer cells this offers the advantage that they don't need any growth signals to start dividing. However, this comes at a cost, because the unscheduled DNA replication of cells with cells with [REDACTED] is uncoordinated and prone to DNA damage. Hence we reasoned that [REDACTED] cancer cells may heavily rely on [REDACTED] to slow down and better coordinate their cell cycle. [REDACTED] is amplified in many cancers, but by far most commonly in MIBC with estimated incidence of 10-15% of all patients (5). Recently, [REDACTED] a first-in-its-class [REDACTED] inhibitor was developed for ovarian cancers with another genetic mutation background (6) We initiated a collaboration with the developers of [REDACTED] test our hypothesis. Using isogenic MIBC cell lines with and without [REDACTED] we saw that high levels of [REDACTED] protein strongly sensitize cells to the [REDACTED] inhibitor. Even more excitingly, we observed *in vitro* a synergistic effect between the [REDACTED] inhibitor and the chemotherapeutic drugs [REDACTED]. These chemotherapeutic drugs are already commonly given to patients with MIBC, and that's why we wish to test the efficacy [REDACTED] inhibition alone or in combination with a low dose of [REDACTED] in a preclinical (*in vivo*) model of MIBC. [REDACTED] belongs to a class of drugs called kinase inhibitors. This class of drugs is known to act only transiently. So the only way to achieve a durable remission with such a drug is to eliminate all tumor cells, for example by triggering apoptosis. Hence, we will – in case we see remissions in the mice – test the durability of the remission by withdrawing the [REDACTED] inhibitor and awaiting rebound tumor growth.

3.2 Purpose

3.2.1 Describe the project's immediate and ultimate goals. Describe to which extent achieving the project's immediate goal will contribute to achieving the ultimate goal.

The immediate goal is to test the efficacy of a novel drug ([REDACTED]) to block the proliferation of human MIBC xenografts that carry [REDACTED]. This has the purpose of [REDACTED]

demonstrating for the first time that this experimental drug can block growth of [REDACTED] MIBC tumors; either as monotherapy or in combination with the widely used chemotherapeutic drug [REDACTED]

The ultimate goal is to develop a life-saving therapy based on [REDACTED] inhibition, alone or in combination with the [REDACTED] for patients with advanced bladder cancer. The therapy will be personalized to patients with [REDACTED] This is ~12% of all patients with MIBC.

3.2.2 Provide a justification for the project's feasibility.

This project is feasible, because it entails subcutaneous xenografting of human cancer cell lines and subsequent treatment with an experimental drug in a well-described and widely used immunodeficient mouse model (Balb-c-Nu/Nu mice). Previous publications show that our MIBC cell lines should be able to grow out as xenograft tumors, and [REDACTED] treatment was done in immunodeficient mice before by our collaborators. Nevertheless we will start with small pilot tests to make sure that the real experiment does not fail for any technical reasons.

Last but not least: we will receive sufficient external funds to pay these experiments, including the salary costs for our trained staff dedicated to this project.

3.2.3 Are, for conducting this project, other laws and regulations applicable that may affect the welfare of the animals and/or the feasibility of the project?

No

Yes > Describe which laws and regulations apply en describe the effects on the welfare of the animals and the feasibility of the project.

Not applicable.

3.3 Relevance

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

Muscle-invasive bladder cancer (MIBC) is a deadly disease with a 5-year survival of 15%. The options for systemic therapy are mostly limited to chemotherapeutic drugs (platinum drugs and gemcitabine). These untargeted drugs can have severe side effects, and their efficacy is usually hampered by chemoresistance. Hence, more effective, molecularly targeted therapies are urgently needed to improve the prognosis of patients with muscle-invasive bladder cancer. We have very promising in vitro and in silico data that suggest that patients could substantially benefit from a novel, targeted drug called [REDACTED] is a novel, first-in-its class [REDACTED] inhibitor that is currently in Phase I clinical trials in patients with ovarian cancers with [REDACTED]. Our in vitro pilot data strongly suggest that patients that carrying a combination of 1) [REDACTED] gene and 2) [REDACTED] gene may also benefit from [REDACTED]. Around 12% of all MIBC patients carry this combination of mutations and would qualify. In absolute numbers this means that of the 167.700 patients diagnosed with MIBC globally, up to 20.000 of these patients could be eligible for [REDACTED] inhibitor therapy (3,5).

Our animal experiments are a first and crucial follow-up step to show that [REDACTED] therapy is indeed able to improve the prognosis of MIBC patients with [REDACTED]. We need to confirm that [REDACTED] can block MIBC growth in vivo using a mouse model of [REDACTED] MIBC. In addition, we expect based on in vitro pilot experiments that [REDACTED] can act synergistically with [REDACTED] which is the current standard of care chemotherapy in these patients. However, it is important to investigate if [REDACTED] can be safely combined with [REDACTED] therapy, and to confirm synergy in an in vivo setting before we can begin testing this drug in

human MIBC patients. If successful, [REDACTED] has the potential to improve the (disease progression-free) survival of thousands of bladder cancer patients across the globe each year.

3.3.2 Who are the project's stakeholders? Describe their specific interests.

1. Patients with muscle-invasive bladder tumors that carry [REDACTED] mutations and [REDACTED] gene [REDACTED] (~12% of all MIBC patients; roughly 20.000 MIBC patients annually across the globe).
2. The cancer research / cell cycle field. [REDACTED] is a common, but poorly studied oncogene. Our study will provide important mechanistic insight how the [REDACTED] oncogene can be therapeutically targeted to inhibit tumor growth in vivo. This could inspire other tumor biology researchers to work out similar or improved strategies to target [REDACTED] [REDACTED] for example with new combinations of [REDACTED] [REDACTED] and other drugs.
3. [REDACTED] This is the company that developed the [REDACTED] inhibitor [REDACTED] a first-in-its-class small molecular weight drug. Currently they are testing it in Phase I clinical trials for application in ovarian cancer. They had not considered the option of treating bladder cancer patients with this drug before. If they can successfully repurpose their drug for bladder cancer patients, there is a clear commercial benefit for them, as it substantially increases the amount of cancer patients that can be treated with their compound.
4. Preclinical data from this study will provide a rationale for urologic oncologists to enroll patients in clinical trials to test [REDACTED] and decide whether [REDACTED] should be given to patients alone or in combination with [REDACTED] therapy.
5. If successful: companies that can develop companion diagnostics to detect [REDACTED] [REDACTED] mutations. Personalized treatment would require development of a rapid, reliable, and affordable diagnostic test to identify MIBC patients that qualify for [REDACTED] treatment.
6. Experimental mice. We deem the use of animals unavoidable, because we cannot prove that [REDACTED] MIBC can be therapeutically targeted based on only in silico predictions and cell culture models, because it is much more difficult to inhibit a real tumor (which has a vasculature and a stroma that may affect drug exposure and drug efficacy) than cultured cells. Second, we cannot evaluate in an in vitro model the safety/side effects of combination treatment of [REDACTED] with the current MIBC [REDACTED] [REDACTED] therapy. We aim to use a minimum amount of animals and refine the experiments using a step-wise workflow with go/no-go decisions; we include an in vitro pre-screening, and then a pilot phase before doing the main experiment (see figure 1).

3.4 Strategy

3.4.1 Provide an overview of the overall design of the project (strategy). If applicable, describe the different phases in the project, the coherence, the milestones, selection points and decision criteria.

The overall design (see Figure 1 below) entails an initial pilot step (phase I) in which we

- a) verify that our MIBC cell lines grow out to palpable xenograft tumors within 3-6 weeks after subcutaneous injection,
- b) confirm that we achieve the required plasma drug concentrations by mixing the compound into the food,
- c) confirm that the combination treatment of [REDACTED] with [REDACTED] does not cause severe side effects, seen as weight loss or other noticeable signs of discomfort.

Once we have confirmed this (which we obviously expect), we will perform the full experiment (phase II). The full experiment is a treatment of mice carrying MIBC xenografts with [REDACTED] [REDACTED] as monotherapy; and combination therapy of [REDACTED] and [REDACTED]. The first

aim is to examine the effect of the drug by itself, whereas the second (i.e. combination) treatment regimen will be important for translation into the clinic. [redacted] chemotherapy is the first-line therapy for MIBC. So if [redacted] can be tolerated on top of [redacted] treatment, or even better, if there is drug synergy with [redacted] in mouse xenografts we provide a clear rationale to combine [redacted] therapy this current first line chemotherapy. We will compare the effect of combination therapy with [redacted] monotherapy in order to be able to demonstrate drug synergy. In case we see complete tumor remission in the mono- or combination therapy groups, we will discontinue the therapy and monitor potential regrowth, with the aim of evaluating the durability of [redacted] inhibition.

3.4.2 Provide a justification for the strategy described above.

The procedure for doing xenograft experiments is straightforward and widely used. Our team has hand-on experience with this procedure (7). Still, we chose a stepwise strategy, in which we run small pilot experiments (phase I), followed by the actual experiment (phase II). This will minimize the risk for a failed experiment by confirming beforehand in small groups of mice parameters like reproducible and sufficiently rapid outgrowth of the specific tumor cell lines, achieving sufficiently high drug concentrations, and effects of the drug combination on general health. The workflow is shown below in Figure 1.

We chose this 2-staged approach, because we must confirm that the injected cells lines consistently grow into full-blown tumors within 3-6 weeks. Although literature suggests that our patient-derived bladder cancer cell lines [redacted] can be xenografted, we argue that it is important to do this within our own institute in our specific experimental conditions, as engraftment rates can differ between mouse strains and experimental conditions.

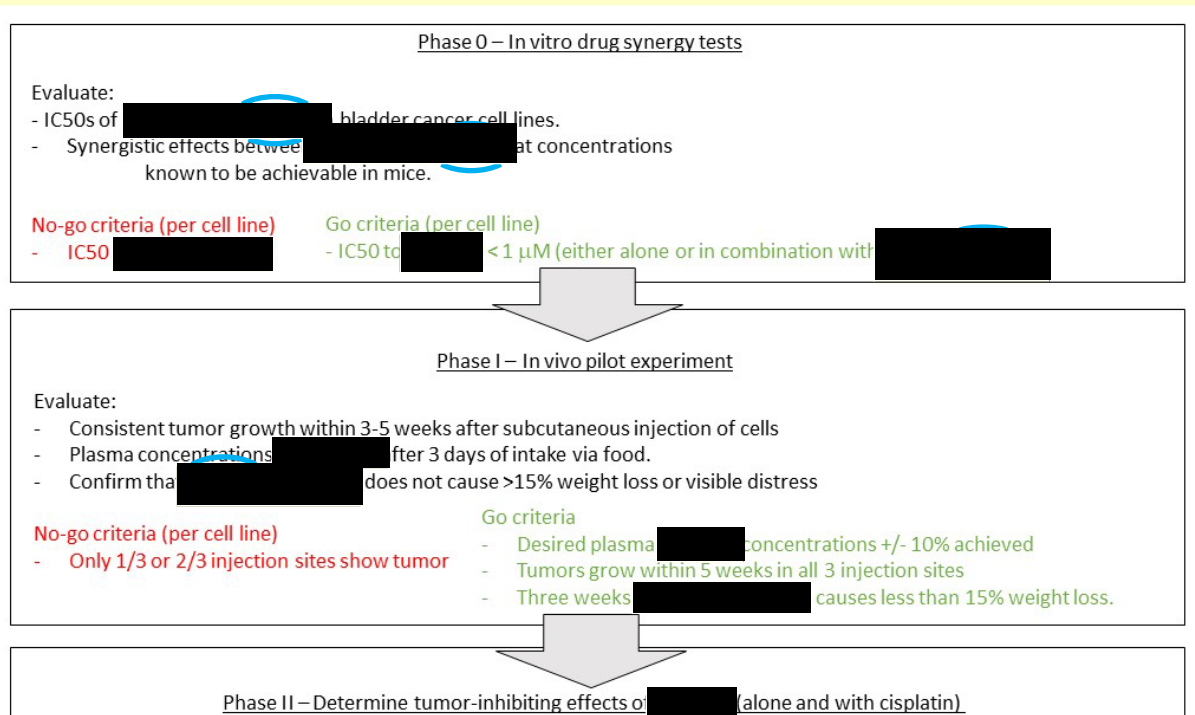


Figure 1; work flow of the current animal experiment, and go/no-go decision criteria. Phase 0 is entirely in vitro (and is already completed (and passed) for nearly all cell lines at the time of writing this proposal)

References

1. Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R.L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., and Bray, F. (2021) Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer.J.Clin.* **71**, 209-249
2. Lughezzani, G., Burger, M., Margulis, V., Matin, S.F., Novara, G., Roupret, M., Shariat, S.F., Wood, C.G., and Zigeuner, R. (2012) Prognostic factors in upper urinary tract urothelial carcinomas: a comprehensive review of the current literature. *Eur.Urol.* **62**, 100-114
3. Sanli, O., Dobruch, J., Knowles, M.A., Burger, M., Alemozaffar, M., Nielsen, M.E., and Lotan, Y. (2017) Bladder cancer. *Nat.Rev.Dis.Primers.* **3**, 17022
4. Moschini, M., Deho, F., Salonia, A., Briganti, A., and Montorsi, F. (2022) Bladder cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann.Oncol.* **33**, 561
5. Robertson, A.G., Kim, J., Al-Ahmadie, H., Bellmunt, J., Guo, G., Cherniack, A.D., Hinoue, T., Laird, P.W., Hoadley, K.A., Akbani, R., Castro, M.A.A., Gibb, E.A., Kanchi, R.S., Gordenin, D.A., Shukla, S.A., Sanchez-Vega, F., Hansel, D.E., Czerniak, B.A., Reuter, V.E., Su, X., de Sa Carvalho, B., Chagas, V.S., Mungall, K.L., Sadeghi, S., Pedomallu, C.S., Lu, Y., Klimczak, L.J., Zhang, J., Choo, C., Ojesina, A.I., Bullman, S., Leraas, K.M., Lichtenberg, T.M., Wu, C.J., Schultz, N., Getz, G., Meyerson, M., Mills, G.B., McConkey, D.J., TCGA Research Network, Weinstein, J.N., Kwiatkowski, D.J., and Lerner, S.P. (2017) Comprehensive Molecular Characterization of Muscle-Invasive Bladder Cancer. *Cell.* **171**, 540-556.e25

3.4.3 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	Testing effect of an experimental cancer drug on bladder cancer xenografts in immunodeficient mice.



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 on the project proposal, see the Guidelines to the project licence application form for animal procedures on 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'.	10800	
1.2 Provide the name of the licenced establishment.	Utrecht University	
1.3 List the serial number and type of animal procedure <i>Use the numbers provided at 3.4.3 of the project proposal.</i>	Serial number	Type of animal procedure
	1	Testing effect of an experimental cancer drug on bladder cancer xenografts in immunodeficient mice.

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.

The primary outcome of these experiments is the effect of an experimental novel cancer drug on growth of pre-existing human bladder cancer subcutaneous xenografts. Tumor growth is measured by monitoring the tumor volumes over time. If the experimental drug causes full remission, we will also monitor the tumor sites after discontinuation of the treatment, to evaluate the durability of the experimental drug effect.

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

A timeline showing all interventions can be found at the end of this section. Upon arrival, the mice will be rested for 1-2 weeks. Then we will inject 2-10 million human bladder cancer cells (depending on the cell line) subcutaneously on the back of the mice. Once palpable tumors are detectable (expected duration 2-5 weeks), we will start giving our experimental cancer drug to the mice. The novel [REDACTED] [REDACTED] [REDACTED] will be provided orally via the food and [REDACTED] will be injected intraperitoneally once per week. This is a method of administering [REDACTED] to mice that -although not identical to human dosing schedules- recapitulates the therapeutic scheme of human cancer patients well. We will treat the mice for up to 8 weeks, and monitor xenograft tumor sizes and body weights during this period. If animals reach the humane endpoints described below prior to 8 weeks, they will be euthanized. At the end of the drug

treatment period we will kill the control mice that still have tumor volumes below 1 cm³, and harvest the tumors, plasma and some organs for tissue analysis. For the drug-treated mice the follow-up depends on the tumor sizes. If at the end of the treatment the tumors are equally sized or larger than at the onset in the majority (>50% of mice within one therapy regimen) of (the mice in one drug-treated group , we will also kill the mice from this group to harvest the tumor material. In case we see treatment groups with remissions (tumors smaller than at the onset of treatment in >50% of mice), we will stop the drug treatment but continue to monitor the tumor injection sites for up to 8 more weeks, with the aim to evaluate re-growth of the tumors after drug continuation. After those additional 8 weeks, the mice will be killed and tumors (or tumor injection sites) will be harvested for histologic and molecular analysis.

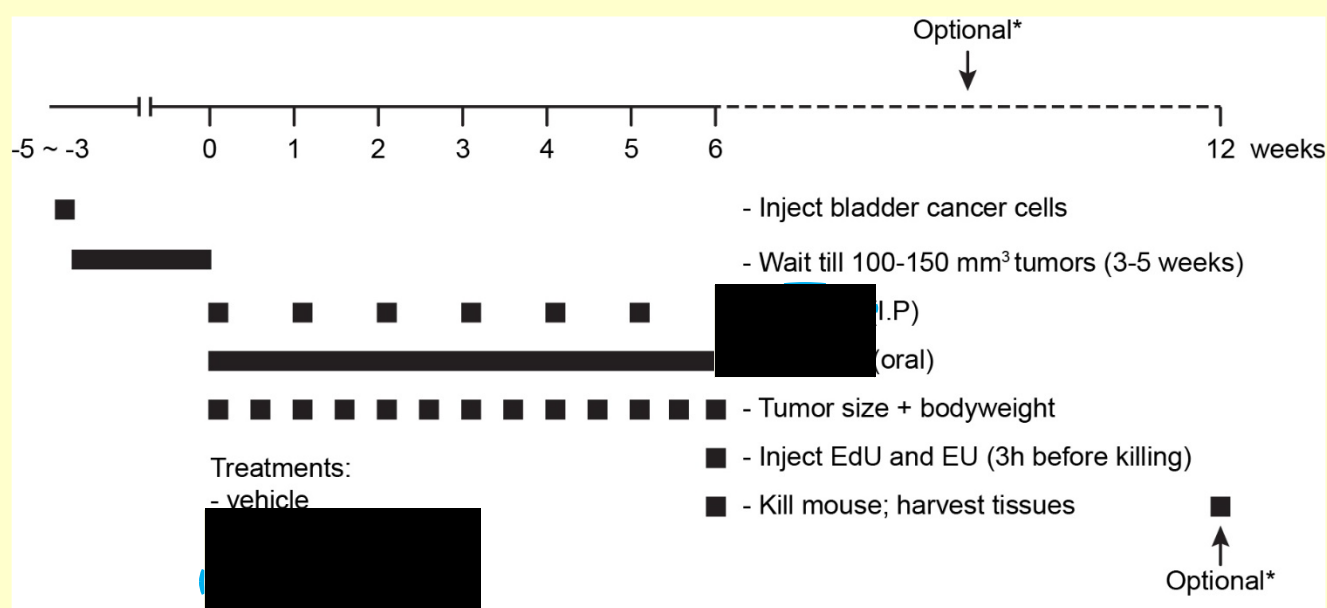


Figure 2 Schematic of the interventions and groups in the xenograft experiments. Black dots and bars indicate the interventions. * Optional: only if >50% of the mice in a specific treatment group show tumor shrinkage in response to the drug(s).

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

Before we inject any xenograft cell line into a mouse, we have carefully determined the IC₅₀s for our experimental drugs, and the concentrations at which these drugs act synergistically in vitro. Thus, we do not need to work with groups of mice that receive different drug dosages. Our collaborators have sufficient (mouse-specific and human-specific) data to help us translating a desired and achievable plasma concentration to a required food concentration of [redacted]. For [redacted] ample literature describes how [redacted] dosage translates to tumor concentrations (8).

Furthermore, we will perform small-scale (n=3 per cell line) pilots to compare the tumor growth of the various bladder cancer cell lines in our lab that would qualify for these xenografts. We will select only up to three of the cell lines that grow most consistently into subcutaneous tumors, at similar onset timing and growth speeds. Thus, we minimize statistical variation, and avoid having to repeat the entire drug treatment protocol with a different cell line in a new batch of mice.

References.

(8) Danielle D. Jandial, Karen Messer, Salman Farshchi-Heydari, Minya Pu, Stephen B. Howell. Tumor platinum concentration following intraperitoneal administration of ██████████ versus carboplatin in an ovarian cancer model. *Gynecologic Oncology* 2009, 115(3); 362-366.

B. The animals

Specify the species, origin, life stages, estimated numbers, gender, genetic alterations and, if important for achieving the immediate goal, the strain.

Serial number	Species	Origin	Life stages	Number	Gender	Genetically altered	Strain
1	Mouse	Charles River	Young adults (~6-8 weeks)	150222	Female	CAnN.Cg-Foxn1nu/Crl	BALB/c nu/nu

Provide justifications for these choices

Species	We need to treat tumors with a specific genetic background: ██████████ ██████████ ██████████ ██████████ We don't have a spontaneous or genetic murine bladder cancer model to achieve these tumors. Immunodeficient mice allow the use of human-derived tumors with the appropriate background. And even though they lack T-cells, the xenograft tumors in these animals have a stroma (i.e. vasculature, fibroblasts, innate immunity) that recapitulates a real human tumor, and is far more representative and translatable than the current available cell culture models, which still lack a tumor stroma. Hence the mouse model is to date the gold standard for this type of experiments.
Origin	We don't have a specific preference for a provider.
Life stages	The mice need to be post-weaning age and preferentially adult. However, there is no need to age them any longer than that, and the older mice are more expensive to buy.
Number	We need in total 222 mice for this project. This includes both the <u>pilot experiments</u> (30 mice, and <u>192 mice for the full experiments</u> (n=16 per group x 4 drug conditions (see scheme above under A) x 3 bladder cancer cell lines). The primary read-out is tumor volume, and n=16 per group is based on power calculations (>50% reduction in tumor volume) and extensive pre-existing published data on these type of xenograft experiments. We have consulted a statistician to support us with the power calculations.
Gender	As the injected tumor cells are human, we have no indication that the effects of these drugs will differ substantially in female or male tumor-bearing mice. Global human cancer statistics show that bladder cancer is more common in men than in women, but this can be ascribed to gender imbalances in exposure to risk factors (smoking, occupational exposure to certain toxins). Once bladder cancer manifests itself, therapeutic responses are similar between men and women. We prefer to use females over males, because females fight less. This is important because we thus avoid being forced to house some mice in a solitary manner after a severe fight.
Genetic alterations	CAnN.Cg-Foxn1nu/Crl
Strain	BALB/c nu/nu

C. Accommodation and care

Is the housing and care of the animals used in experimental procedures in accordance with Annex III of the Directive 2010/63/EU?

Yes

No > If this may adversely affect animal welfare, describe how the animals will be housed and provide specific justifications for these choices

Not applicable.

D. Pain and compromised animal welfare

Will the animals experience pain during or after the procedures?

No

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

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

To the best of our knowledge the subcutaneous injection of tumor cells and growth of xenografts with sizes below 1000 mm³ do not cause pain. Moreover, the drugs we test are not expected to cause pain either. Apart from that our only interventions are intraperitoneal injections at various time points; but injections do not require analgesia.

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

Click or tap here to enter text.

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

The mice may suffer from the same side effects of [REDACTED] as human beings in Phase I of the project: notably nausea, and decreased appetite. We expect this effect to be minimal, because we will use submaximal dosages of this drug. Based on previous literature we know what dosages of [REDACTED] are tolerated by mice; we only don't know if the combination [REDACTED] + [REDACTED] will exacerbate the side effects of [REDACTED]

Explain why these effects may emerge.

We cannot exclude side effects from the cancer drugs, notably [REDACTED]

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

We will monitor the body weights of the animals two times per week, and we will euthanize the mice in case of excessive weight loss (see below).

E. 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 F

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

Although we predict that the drugs are tolerated well by the mice, it is possible that [REDACTED] exacerbates [REDACTED] and [REDACTED] may cause side effects and hence cause distress. We will use dosages of [REDACTED] and [REDACTED] that are known to be well tolerated by mice, but the combination of both drugs can exacerbate side effects. [REDACTED] therapy causes nausea and lack of appetite. We will make sure that mice keep eating normal quantities of food weighing them twice per week. We will also observe the mice every day to screen for signs of distress, such as orbital tightening, nose bulging, and lethargic behavior. If mice lose > 15% body weight within 72 hours, or show at least one other clear sign of distress we will euthanize the mice; due to the combination of [REDACTED] [REDACTED] [REDACTED] (irrespective of tumor growth). With respect to tumor growth: we will always directly euthanize the mice if a tumor volume of 1000 mm³ is reached.

Indicate the likely incidence.

In the pilot study, we will test the combination of [REDACTED] and [REDACTED] in 3 non-tumor bearing mice. We expect to see no significant health problems with the drug combo, but if we see this in at least one mouse, we will lower the dose of [REDACTED] for the main experiment. In this way we expect to avoid drug-induced humane endpoints in the full experiment.

F. Classification of severity of procedures

Provide information on the experimental factors contributing to the discomfort of the animals and indicate to which category these factors are assigned ('non-recovery', 'mild', 'moderate', 'severe'). In addition, provide for each species and treatment group information on the expected levels of cumulative discomfort (in percentages).

Moderate (100%)

All procedures in per mouse can be found in the table below.

Phase I (Pilot experiments):

Procedure:	Frequency:	Discomfort level:
Ear clipping	1x	Mild
Subcutaneous injection of tumor cells (on back)	1x	Mild
Tumor growth (subcutaneous on back)	1x	Moderate
Intraperitoneal injection of ██████████	2x	Mild
Potential side effects of ██████████	2x	Moderate
Intraperitoneal injection of EdU / IdU	1x	Mild
Anaesthesia, termination and blood/tissue collection	1x	Mild

Phase II (Drug efficacy study)

Procedure:	Frequency:	Discomfort level:
Ear clipping	1x	Mild
Subcutaneous injection of tumor cells (on back)	1x	Mild
Tumor growth (subcutaneous on back)	1x	Moderate
Intraperitoneal injection of ██████████	6x	Mild
Potential side effects of ██████████	6x	Moderate
Tumor nodule measurement & body weighing	12-25x	Mild
Intraperitoneal injection of EdU / IdU	1x	Mild
Anaesthesia, termination and blood/tissue collection	1x	Mild

G. 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	Before doing mouse experiments we have performed in vitro cell viability assays to determine the concentrations of ██████████ and ██████████ that achieve drug synergy for every bladder cancer cell line that we use in this project. Only cell lines showing clear in vitro synergy at relevant concentrations will be used to grow xenografts. However, in vitro experiments cannot fully replace in vivo experiments, because presence of a tumor vasculature, and stromal cells such as fibroblasts and innate immune cells can have a big effect on the efficacy of the experimental drug. In addition, we need to confirm that the experimental drug in combination with ██████████ is tolerated in vivo.
Reduction	We will use only one carefully chosen dosage of drug per cell line, which reduces the number of groups. With our approach we avoid the need to treat mice with multiple dosages of the drugs, allowing us to have only four treatment conditions per cell line (i.e. untreated control, ██████████ ██████████ ██████████ ██████████ ██████████ ██████████ ██████████ all at one dosage). Performing a small pilot prior to the primary experiment also reduces the total number of mice as we will only proceed with experimental conditions that prove successful in the pilot.

Refinement	<p>We will not allow the xenograft tumors to grow beyond 1000 mm³. This is sufficiently large for evaluation of the drug treatment effect, but small enough to avoid any negative impact on the normal behavior and well-being of the mice.</p> <p>██████████ will be provided orally through the food. This eliminates the need to administer the drug daily via oral gavage. In addition, we will use only female mice, because females fight less frequently than males and this minimizes the risk that mice need to be separated and housed individually.</p>
------------	---

Are adverse environmental effects expected? Explain what measures will be taken to minimise these effects.

No

Yes > Describe the environmental effects and explain what measures will be taken to minimise these effects.

Not applicable.

H. Re-use

Will animals be used that have already been used in other animal procedures ?

No > Continue with question I.

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.

Not applicable.

I. Repetition

Explain for legally required animal procedures what measures have been taken to ensure that the proposed procedures have not already been performed. If applicable, describe why duplication is required.

Not applicable.

J. 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 K.

Yes > Describe this establishment.

Not applicable.

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

Not applicable.

3. End of experiment

K. Destination of the animals

Will the animals be killed during or after the procedures?

No > Provide information on the destination of the animals.

Click or tap here to enter text.

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

We need to harvest the entire tumors, as well as blood plasma, livers, and kidneys of the mice to study biodistribution of the drugs. The animals cannot recover from this.

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.

Click or tap here to enter text.

Yes > Will a method of killing be used for which specific requirements apply?

No > Describe the method of killing.

Appropriate standard method, such as cervical dislocation or CO₂ inhalation

Yes > Describe the method of killing that will be used and provide justifications for this choice.

Click or tap here to enter text.

If animals are killed for non-scientific reasons, justify why it is not feasible to rehome the animals.

Click or tap here to enter text.

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer : AVD10800202317083
2. Titel van het project : Inventing a new targeted therapy for muscle-invasive bladder cancer.
3. Titel van de NTS : Een nieuw doelgericht medicijn tegen blaaskanker.

4. Type aanvraag:

- nieuwe aanvraag projectvergunning
 wijziging van vergunning met nummer :

5. Contactgegevens DEC

Naam DEC : DEC Utrecht
Telefoonnummer contactpersoon : 06-31118069
Emailadres contactpersoon : dec-utrecht@umcutrecht.nl

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

- ontvangen door DEC: 1-6-2023
 aanvraag compleet:
 in vergadering besproken: 17-5-2023 / 19-7-2023
 anderszins behandeld:
 termijnonderbreking(en) van / tot : 24-5-2023 / 4-7-2023 en 24-7-2023 / 18-8-2023
 besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met max. 15 werkdagen:
 aanpassing aanvraag:
 advies aan CCD: 31-8-2023

7. De aanvraag is afgestemd met de IvD en deze is hiermee akkoord.

8. Eventueel horen van aanvrager

- Datum: 17-5-2023
- Plaats: Online in Teams
- Aantal aanwezige DEC-leden: 7
- Aanwezige (namens) aanvrager: Verantwoordelijk onderzoeker
- Gestelde vragen en verstrekte antwoorden: De DEC heeft de onderzoekers gehoord. Hieruit zijn onderstaande vragen, zoals vermeld bij punt A9, voortgekomen, die schriftelijk aan de onderzoekers werden voorgelegd.
- Het horen van de aanvrager heeft geleid tot aanpassing van de aanvraag.

9. Correspondentie met de aanvrager

- Datum vragen: 24-5-2023 en 24-7-2023
- Datum antwoord: 4-7-2023 en 18-8-2023
- Strekking gestelde vragen en antwoorden:

De DEC heeft uw NTS en projectaanvraag op 19 juli 2023 beoordeeld en heeft nog de volgende vragen/opmerkingen.

- Het aantal dieren dat in de tekst wordt genoemd stemt niet overeen met het aantal dieren in de tabel (#150 en #222). Wilt u de aantallen corrigeren? *Done*
 - U noemt in een antwoord op de vraag om klinische betrokkenheid [REDACTED], maar hij is geen clinicus. Wilt u dat anders omschrijven?
Opmerking door DEC secr: dit antwoord was niet in de tekst van de aanvraag opgenomen dus heeft de onderzoeker niet aangepast.
 - U hebt besloten in de herziene aanvraag om [REDACTED] te vervangen door [REDACTED]. Wilt u dit ook in de figuren vervangen? *Done*
- De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag in blauw.

De DEC heeft uw NTS en projectaanvraag op 17 mei 2023 beoordeeld en heeft nog de volgende vragen/opmerkingen.

Projectvoorstel

3.1 Achtergrond

- Wat is de incidentie van blaastumoren met 'invasion of the muscle layer'? Wat is het aantal patiënten i.p.v. percentage bij de categorieën tumoren, dat u denkt te gaan behandelen?

Antwoord: jaarlijks krijgen wereldwijd 430.000 mensen de diagnose blaaskanker. Hiervan wordt 39% (167.700 mensen) geclassificeerd als spierinvasief. Op basis van de beschikbare data schatten we dat 12% van deze mensen [REDACTED] mutatie heeft [REDACTED] [REDACTED], en komen zo uit bij maximaal 20.000 nieuwe patiënten per jaar wereldwijd. Het is ondoenlijk nu al in te schatten hoeveel van deze patiënten dan ook zo'n gepersonaliseerde behandeling kunnen/zullen krijgen, maar wij mikken natuurlijk op een zo hoog mogelijk percentage. Dit is ook nu duidelijker aangegeven in het proposal, onder relevance.

- Wilt u toelichten of u een samenwerking hebt met de kliniek en zo ja, wilt u opnemen hoe hun advies is verwerkt bij het opstellen van de aanvraag?

Antwoord: ja, wij hebben contact met [REDACTED] [REDACTED] om advies te krijgen en samen te werken op dit project. We hebben met name gesproken over de noodzaak en transleerbaarheid van onze studie, en gesproken over de mogelijkheid om blaaskanker organoiden te gebruiken in dit project. Hieronder een overzicht:

- 1) Kunnen tests in blaaskankerorganoiden de muizenproef volledig vervangen? *Helaas is dit niet het geval op basis van de argumenten die we hieronder geven onder "strategie".*
- 2) Zouden we xenografts met blaaskanker organoiden in plaats van de door ons voorgestelde blaaskankercellijnen een wezenlijke verbetering kunnen zijn van deze proef?
Organoiden kunnen net als blaaskankercellijnen (subcutaan of in de blaaswand) worden

geïnjecteerd in immuundeficiënte muizen om uit te groeien tot tumoren. Het voordeel van organoiden is dat ze rechtstreeks van patiënten afkomstig zijn en beter de heterogeniteit tussen patiënten laten zien. Blaaskankercellijnen zijn ook heterogeen en afkomstig van patiënten maar volledig geadapteerd aan groeien op plastic in monolayers. Om deze van heterogeniteit tussen organoid-lijnen in kaart te brengen, moeten er organoiden van een groot aantal donoren worden geanalyseerd. Dit is een belangrijke, maar andere vraagstelling dan onze muizenstudie, waarin we met name willen kijken naar wat er van de effectiviteit van ██████ in een complex model met tumorstroma, vasculatuur, en farmacokinetische / dynamische heterogeniteit. Om deze vraag te beantwoorden, is de strategie om enkele goed gekarakteriseerde blaaskankercellijnen te xenograften niet inferieur aan de strategie om enkele organoid-lijnen die goed reageren op ██████ ██████. We hebben wel afgesproken proeven op te zetten om deze heterogeniteit van organoid cellijnen in gevoeligheid voor ██████ in vitro te testen. Maar nogmaals, dit is een aparte vraagstelling.

- 3) Is het testen van ██████ in combinatie met ██████ relevant? Het antwoord van de oncologen was "ja", maar wel werd aangegeven dat de ██████ in de oncologische kliniek veel vaker wordt gegeven aan blaaskankerpatiënten dan ██████ omdat de eerste superieure effecten (maar ook meer bijwerkingen) heeft. Dit heeft te maken met kleine verschillen in de farmacokinetische eigenschappen van ██████ en ██████. In vitro zijn ██████ en ██████ uitwisselbaar. Hoewel het dus geen cruciaal verschil is denken wij dat het beter is om ██████ in plaats van ██████ te gebruiken in deze muizenproef. Dit is nu aangepast in de tekst.

3.2 Haalbaarheid

- Hoeveel ervaring is er met de modellen die u gaat gebruiken en wat zijn eerder behaalde resultaten?

Antwoord: het model van subcutane injectie van blaaskankercellijnen is in een groot aantal papers beschreven. Ik beperk me tot de 5 cellijnen die voor onze studie geschikt en beschikbaar zijn, namelijk HT1376, TCCSUP, 5637, UMUC3, en T24 cellen. De referenties zijn voor sommige cellijnen hetzelfde; in dat geval zijn er in die studie meerdere cellijnen gebruikt. Deze tabel geeft geen uitputtend overzicht, maar laat zien dat er genoeg ervaring met ons model is om veel vertrouwen te hebben in een succesvolle uitvoering van ons model.

Cellijn	Referenties	Bevinding
HT1376	- PNAS 2020; 117: 563-572 - Am J Clin Exp Urol 2018; 6: 138-148	>200 mm ³ tumoren in gemiddeld 40 dagen.
5637	- Scientific Reports 2017; 7: 14103 - Int J Mol Sciences 2013; 14: 24603-24618	Snel groeiende xenografts, duur tot 200 mm ³ zo'n 20 dagen.
TCCSUP	- J National Cancer Inst 2007; 99: 558-568 - Int J Mol Sciences 2023; 24: 6021	> 200 mm ³ tumoren in zo'n 28 dagen
T24	- Am J Clin Exp Urol 2018; 6: 138-148 - Scientific Reports 2017; 7: 14103	>200 mm ³ tumoren in gemiddeld 23 dagen.

UMUC3	- Am J Clin Exp Urol 2018; 6: 138-148 - Nutrients 2016; 8: 744	>200 mm ³ tumoren in gemiddeld 65 dagen.
-------	---	--

3.3 Belang

- Wilt u meer toelichting geven over de financiering?

Antwoord: ik en mijn onderzoeksgroep hebben in het voorjaar van 2022 contact gezocht met ██████████ met onze hypothese dat hun compound ██████████ mogelijk goed zou kunnen werken bij blaastumoren met ██████████. Dit was naar aanleiding van hun artikel ██████████ ██████████, waarin ze ██████████ - ██████████ beschreven en het werkingsmechanisme in ovariumkankercellen met ██████████. Ik was geïnteresseerd op basis van mijn biologische kennis van het ██████████ gen, dat net als ██████████ een oncogen is. ██████████ ██████████ hebben volgens onze ongepubliceerde data vergelijkbare effecten in kankercellen, dus ik wilde graag testen of ██████████ ook werkt in onze modellen. Op cellijnen die we al in mijn lab gemaakt hadden, konden we eenvoudig enkele eerste proeven doen met een batch ██████████ die ze ons gegeven hebben. We (██████████) zijn toen overeengekomen dat het belangrijk is om ██████████ te testen in een in vivo blaaskankermodel alvorens we naar patiënten gaan omdat 1) resultaten van celkweek als monolayers op plastic moeilijk te transleren zijn naar een echte tumor. Je mist dan namelijk de impact van de tumor micro-omgeving (stromale cellen, extracellulaire matrix, nutriënten, zuurstof, etc.), en variabele penetratie van medicijn in de tumor. Ten tweede vonden we het erg belangrijk dat we in vivo testen of ██████████ ██████████ therapie in combinatie met elkaar verdragen worden, en of ze elkaars effect versterken. De informatie die onze proef oplevert, zal essentieel zijn voor het opzetten van een klinische studie: al dan niet in combinatie met ██████████. We hebben ██████████ gevraagd of ze deze proef kunnen financieren, en zijn daartoe bereid, omdat ze op basis van onze proeven een strategische keuze kunnen maken om te gaan investeren klinische trials met spierinvasieve blaaskanker als indicatie voor hun medicijn. Het is dus een gesponsorde overeenkomst, maar wel op ons eigen initiatief. En wij mogen hoe dan ook de resultaten publiceren. Dit hebben wij al contractueel vastgelegd, en de academische vrijheid is dus zo gewaarborgd.

- Wilt u de belangen van de stakeholders explicieter beschrijven?

Antwoord: dit hebben we gedaan, en de nieuwe tekst is in rood te lezen.

3.4 Strategie

- Wilt u onderbouwen, wat de rationale is achter muizenstudies? Wat gaan studies in immuundeficiënte muizen toevoegen als al bekend is dat (1) in vitro de kankercellijn dood gaat en (2) een fase I studie in ovarium kanker is uitgevoerd?

- Bij (1) Waarom kunt u voor de effectiviteitsbepaling geen organoids gebruiken?

- Bij (2) Waarom kunt u met de verzamelde gegevens uit de fase I studie niet bij de METC toestemming vragen voor een fase I studie naar blaaskanker als er al gegevens zijn over de behandeling met deze remmer bij patiënten met ovarium kanker?

Antwoord: (1) we willen benadrukken dat organoids in feite 3D stamcelkweken zijn, vergelijkbaar met spheroids van tumorcellijnen. Hoewel patient-derived organoids zeker een elegant model zijn dan

cellijnen, omdat ze rechtstreeks van een patient afkomstig zijn, kunnen we organoids niet zo maar beschouwen als mini-tumoren en heeft het model zijn beperkingen. Organoids kunnen nu dus (nog) niet een dierproef met immuundeficiënte muizen vervangen om de effectiviteit van een experimenteel geneesmiddel goed te voorspellen. Ten eerste is wordt in een tumor niet iedere tumorcel blootgesteld aan gelijke hoeveelheden medicijn, afhankelijk van de vascularisatie van de tumor. Deze heterogeniteit is met organoiden nog niet te modeleren, omdat organoids kleine klompjes cellen zonder vasculatuur zijn. Ten tweede speelt het tumorstroma (extracellulaire matrix, cancer-associated fibroblasts, macrofagen) een belangrijke rol in de effectiviteit. Het is bijvoorbeeld bekend dat fibroblasten factoren kunnen produceren die tumorcellen beschermt tegen [REDACTED] (Long et al. Cell Death & Disease 2019; 10: 375). Het is nu nog niet mogelijk om al deze complexiteit in een organoid of sferoid model mee te nemen, en zo drug-effectiviteit goed te voorspellen. Hoewel we daar naar streven voor de toekomst. Sterker nog, we willen dit project gebruiken om in ons lab complexe sferoid/organoid modellen te ontwikkelen en te benchmarken tegen de xenograft data. Tenslotte beschikt de biobank in [REDACTED] geen blaaskanker organoids met (bewezen) [REDACTED] [REDACTED] waardoor we niet de beschikking hebben over het juiste model.

Het antwoord op (2) is dat de ovariumtumoren worden behandeld op basis van een mutatie in een ander oncogen – namelijk [REDACTED]. Het mechanisme is daar dus echt anders en ervaringen met [REDACTED] in ovariumkankerpatiënten zijn dus niet zomaar te extrapoleren. Het gaat daar om een genetisch ander type tumoren gaat en mogelijk een ander werkingsmechanisme. Daarnaast is er geen ervaring met combinatietherapie tussen [REDACTED] en [REDACTED] en zal onze studie belangrijk inzicht geven in de effectiviteit en veiligheid van deze combinatie, hetgeen nodig is om tot een juiste opzet voor medische-ethische aanvraag voor een klinische trial te komen.

- Wat is uw ervaring van [REDACTED] bij ovarium kanker? In welk model hebt u ervaring?

Antwoord: wij hebben zelf geen ervaring met [REDACTED] bij ovariumkanker. Mijn contactpersonen [REDACTED] hebben xenograftproeven uitgevoerd met ovariumkanker cellijnen met [REDACTED]. Van het krijgen we grondig advies over de praktische uitvoering. Daarnaast heeft mijn onderzoeksgroep hands-on ervaring met xenograftproeven uitgevoerd met cellijnen. Dit waren cellijnen die we zelf in het lab getransformeerd hadden tot tumorcellijn [REDACTED].

- Wilt u toelichten hoe de transleerbaarheid is van dit model? Als in de kliniek blijkt, dat met een behaalde plasmaconcentratie van een medicijn de primaire tumor in de blaas en doorgroeiende tumor in de spierlaag moeilijk doeltreffend is te bereiken, hoe transleerbaar zijn dan de data behaald via deze subcutane i.p.v. een orthotope tumor naar de kliniek?

Antwoord: bij MIBC wordt de primaire tumor met blaas en al verwijderd alvorens de systemische medicatie wordt gestart (radicale cystectomie, zie Witjes et al. European Urology 2012; 79: 82-104. Het doel van de systemische therapie die wij voor ogen hebben is dus niet gericht op de primaire tumor, maar juist op eventuele (micro-) metastases, en die kunnen zich op allerlei locaties bevinden

(lymfeklieren, nabije organen in buikholte, lever, longen, botten). Daarom is het niet nodig de xenografts in de blaaswand te injecteren. Het grote voordeel van subcutaan is dat de tumoren dan eenvoudig te meten en te monitoren zijn.

Bijlage 1

B. De dieren

- Als u kiest voor toediening van een middel via het voer i.p.v. via oral gavage, (1) is volgens de DEC de kooi de experimentele eenheid en (2) bestaat een toegenomen spreiding tussen de dieren in een kooi, wat het benodigde aantal dieren hoger maakt. Wilt u het experimentele ontwerp doornemen met een biostatisticus en het ontwerp eventueel daarop aanpassen?

Antwoord: We hebben hierover [REDACTED] statisticus [REDACTED] geconsulteerd. Zij bevestigde dat het verstandig is rekening te houden met mogelijke clustering-effecten bij de door ons gekozen proefopzet met toediending via voer. Dit kan gedaan worden door een correctie factor (Intraclass Correlation Coefficient, ICC) over de originele power berekening. We hebben op basis van de literatuur en zo realistisch mogelijke aannames het besloten dat ICC van 1.6 veilig is. Dit betekent dus dat de n per groep met een factor 1.6 omhoog moet. Dat betekent dus n=16 muizen per groep waar we in eerste instantie n=10 berekend hadden. Ten slotte hebben we computersimulaties gedaan waaruit bleek dat we het aantal dieren per kooi klein moeten houden (niet meer dan 3 muizen per kooi) om het cluster effect te beperken.

- Weegt u het voer, zodat u kunt aantonen, wat de dieren in een kooi hebben gegeten?

Antwoord: ja dat zullen we zeker doen. Echter, we weten dat er ook voer gemorst gaat worden en in de bedding van de kooien terecht komt. We gebruiken namelijk voer in poedervorm (Tekland 2018; T.2918M.15) zodat we zelf de [REDACTED] kunnen inmengen, dat echter wel als nadeel heeft dat er wat meer spill-over is dan bij pellet voer. Het wegen van voer zal dus niet meer dan een grove indicatie van de voedselinname geven.

- Kunt u bij toediening via het voer uw proefopzet aanpassen met inclusie van een groep, die gevoed wordt volgens paired-feeding, dus die te eten krijgt, wat de testgroep volgens terugweging van het voer, heeft gegeten?

Antwoord: Wij kunnen eenvoudig in de pilot bijhouden hoeveel er ongeveer gegeten wordt door het voer te wegen, en zullen dit dan ook doen. Mochten muizen op voer dat [REDACTED] bevat minder eten dan voer zonder het medicijn (verschil 10% of meer), zullen we de paired-feeding strategie toepassen. We verwachten echter dat paired feeding niet nodig is omdat onze partners van [REDACTED] aangeven dat in hun ervaring muizen het voer met [REDACTED] prima eten, en geen aversie hebben tegen dit medicijn.

- Kunt u onderbouwen, waarom u vrouwelijke dieren wilt gebruiken, terwijl blaaskanker in de kliniek vaker voorkomt bij mannen. Hoe zullen de data dan transleerbaar zijn?

Antwoord: blaaskanker komt inderdaad vaker voor bij mannen dan bij vrouwen. Echter, de huidige consensus in het veld is dat dit met name te maken heeft met hogere blootstelling van mannen aan risicofactoren (vooral roken en schadelijke stoffen in industrieën als rubber-, tabak- en verfindustrie (zie voor referenties Dobruch et al. European Urology 2016; 69: 300-310 en Cumberbatch et al. European Urology 2018; 74: 784-795). Het ziekteverloop is vergelijkbaar bij mannen en vrouwen, en er is geen indicatie dat er wezenlijke verschillen zijn te verwachten van geslacht op behandelings-effect.

Dus we hebben geen doorslaggevend argument om voor mannetjesmuizen te kiezen. Voor ons weegt dus het dierwelzijnsaspect zwaarder. Dit wordt nu ook wat uitgebreider toegelicht onder deel B "Gender".

- Bij 'statistiek' noemt u, dat u pilotstudies (Farmacokinetiek studies (DMPK)) in 3 muizen wilt doen. Deze zijn in het A-deel of bij de aantallen dieren verder niet opgenomen. Wilt u de bloedafname, die u gaat verrichten, opnemen bij de handelingen? Kunt u de pilotexperimenten apart uitschrijven en opnemen in de aanvraag (handelingen, experimentele opzet en ongerief)?

Antwoord: deze muizen (n=30) waren wel meegenomen in het totaal aantal. We hebben geprobeerd dit nu explicieter op te schrijven. De bloedafname gebeurt bij terminatie onder algehele anesthesie. We zien dit dus niet als aparte handeling. Dit staat nu in de tabel in bijlage 1.

F. Classificatie van ongerief.

- Wilt u aangeven in een tabel, welke handelingen u verricht, hoe vaak, welk ongerief optreedt bij elke handeling en wat vervolgens het cumulatieve ongerief dan wordt?

Antwoord: zie ingevoegde tabel in Bijlage 1. Het cumulatieve ongerief schatten we in als "moderate".

G. Vervanging, vermindering en verfijning

- Waarom kunt u geen organoids gebruiken voor effectiviteit?

- Hoe denkt u erover om ten behoeve van verfijning/ ter voorkoming van grote gewichtsverliezen aan de dieren, die minder eetlust kunnen krijgen, een dieet te geven met een hogere concentratie proteïnen (18 i.p.v. 16%), zoals bijvoorbeeld wordt gebruikt voor muizen in de fok?

Antwoord: dit is een goede suggestie. Onder het kleine voorbehoud dat het voer dat we nodig hebben om de ████████ toe te dienen verkrijgbaar is het wat mij betreft akkoord om 18% eiwit te geven.

Echter betekent dit ook dat de dieren die als controles dienen voor de ████████ behandelde groepen, zodat alle behandelde dieren hetzelfde dieet krijgen (dus ook de dieren die vehicle krijgen of alleen ████████ Is dit akkoord?

Niet Technische Samenvatting

- Wilt u de NTS herschrijven op plekken, waar u nu (volgens de DEC) te grote beloften maakt en de tekst aanpassen/ beperken tot werkelijke aantallen? Het gaat met name over de eerste zin. Later gebruikt u ook 'een grote groep'...

Antwoord: aangepast.

- In de 2^e zin gebruikt u percentages, die niet overeenkomen met de percentages, die in de aanvraag zijn gebruikt. Wilt u dit op elkaar afstemmen?

Antwoord: aangepast; het moest daarom nu wel wat specifiekere, dus de zin is langer geworden. Het was feitelijk namelijk niet onjuist wat ik daar had geschreven, maar het was dus niet duidelijk genoeg.

- Wilt u de tekst controleren op taal- en spelfouten?

Antwoord: gedaan, enkele fouten er uit gehaald.

- Wilt u moeilijke termen als 'consortium' of 'gen-mutatieprofiel' vervangen door eenvoudigere taal?

Antwoord: aangepast.

- De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag in rood. De onderzoeker heeft de tekst niet 1:1 uit zijn antwoorden in de aanvraag overgenomen.

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

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

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

C. Beoordeling (inhoud):

1. De aanvraag is toetsbaar en heeft voldoende samenhang. *De aanvraag beschrijft het onderzoek naar een therapie tegen invasief blaaskanker in een selecte patiëntengroep die een specifieke genmutatie heeft (██████████) en zeer ontvankelijk maakt voor de therapie. Het onderzoek zal worden uitgevoerd in immuun gecompromitteerde dieren waarin humane tumoren zijn getransplanteerd. Het onderzoek is met name gericht op (micro) metastases wat de transleerbaarheid van gevonden resultaten naar de mens sterk verhoogt. Er is een kleine pilot en Pk onderzoek en één experiment dat beoogt de effectiviteit aan te tonen. De DEC heeft vragen gesteld over o.a. de achtergrond, de inbedding, het gebruik van alternatieven, de experimentele opzet en verfijning, welke allen naar tevredenheid zijn beantwoord.*

De aanvraag komt het meest overeen met voorbeeld 1 uit de nieuwe Handreiking "Invulling Definitie Project".

2. Voor zover de DEC bekend, is er geen mogelijk tegenstrijdige wetgeving, die het uitvoeren van de dierexperimenten in de weg zou kunnen staan.
3. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorieën, te weten fundamenteel onderzoek en translationeel onderzoek, sluiten aan bij de hoofddoelstellingen.

Belangen en waarden

4. Het directe doel van het project is om *de werkzaamheid van ██████████ ██████████ te testen om de proliferatie van menselijke MIBC-xenografts met ██████████ te blokkeren*. Het uiteindelijke doel van het project is *een levensreddende therapie te ontwikkelen op basis van ██████████ remming, alleen of in combinatie met de huidige standaardzorgchemotherapie voor*

patiënten met gevorderde blaaskanker. De DEC is van mening dat er een duidelijke relatie is tussen het directe en het uiteindelijke doel, en dat het doel gerechtvaardigd is in de context van het onderzoeksveld, de artsen/ behandelaars en de behoeften vanuit patiënt/ maatschappij.

5. De belangrijkste belanghebbenden in dit onderzoeksproject zijn weergegeven in onderstaande tabel:

stakeholders	De morele waarden die worden bevorderd zijn
Patiënten	Hebben baat bij een therapie tegen invasief blaaskanker : verbetering kwaliteit van leven/ verlengen van leven
Onderzoekers	Verkrijgen van kennis over mechanismen, kennis delen dmv publicaties
Farmaceutisch bedrijf	Ontwikkelen therapie, commercieel belang
Maatschappij	Familie van patiënten, kwaliteit van leven/ verlenging leven Gezondheidszorg: kosten besparing indien effectieve behandeling
	De morele waarden die in het geding zijn
Proefdieren/muizen	Worden blootgesteld aan veterinair niet noodzakelijke ingrepen met stress en pijn tot gevolg en beëindigen van het leven

6. De DEC ziet geen aanleiding om de in de aanvraag beschreven effecten op het milieu in twijfel te trekken.

Proefopzet en haalbaarheid

7. De kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven zijn voldoende gewaarborgd en dragen eraan bij dat de doelstellingen behaald kunnen worden, dat aan de 3V-beginselen voldaan kan worden en dat voorkomen kan worden dat mens, dier en milieu negatieve effecten ondervinden als gevolg van de dierproeven. *De onderzoekers gebruiken een bekend en gevalideerd diermodel, ze gebruiken humane blaastumoren en hebben contacten met de kliniek over toepasbaarheid. De onderzoekers hebben ruime ervaring met tumormodellen. Er is voldoende funding om de voorgenomen experimenten te kunnen uitvoeren.*
8. Het project is goed opgezet, de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters sluiten logisch en helder aan bij de aangegeven doelstellingen. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. *Er is een heldere strategie met beslismomenten en criteria waar de uitkomst aan moet voldoen voor de volgende stap. Er wordt eerst in vitro de IC van ██████████ ██████████ vastgesteld. Daarna wordt een pilot uitgevoerd om zeker te zijn dat palpeerbare tumoren zullen groeien en er worden kinetiek studies uitgevoerd voor het onderzoek naar werkzaamheid zodat zeker is dat er*

therapeutische plasmawaarden zijn en dat er bij een samengestelde behandeling geen ernstige bijwerkingen zijn (combinatie ██████████ ██████████ ██████████)

Welzijn dieren

9. Er is geen sprake van de volgende bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren:
- Bedreigde diersoort(en) (10e lid 4)
 - Niet-menselijke primaten (10e)
 - Dieren in/uit het wild (10f)
 - Niet gefokt voor dierproeven (11, bijlage I EU richtlijn)
 - Zwerfdieren (10h)
 - Hergebruik (1e lid 2)
 - Locatie: buiten instelling vergunninghouder (10g)
 - Geen toepassing verdoving/pijnbestrijding (13)
 - Dodingsmethode niet volgens bijlage IV EU richtlijn (13c lid 3)
10. De dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van de EU richtlijn.
11. Het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. *Er is aangegeven welke handelingen de dieren ondergaan en met welk ongerief per handeling en het cumulatieve ongerief is ook volgens de IvD goed ingeschat, de DEC heeft geen reden dit ongerief zelf anders in te schatten.*
12. De integriteit van de dieren wordt *fysiek en gedragsmatig door de immuun gecompromitteerde status, het inoculeren van een humane blaastumor die een solide tumor zal vormen, de behandeling met ██████████ ██████████ bloedafname en uiteindelijk de dood.*
13. De humane eindpunten zijn in de bijlage dierproeven goed gedefinieerd en het percentage dieren dat naar verwachting een humaan eindpunt bereikt is goed ingeschat. *Hoewel niet verwacht, kan een drug-drug interactie ontstaan tussen ██████████ ██████████ die zich o.a. uit in verminderde eetlust, maar daarnaast worden uiterlijke kenmerken van bijwerkingen in houding en gedrag goed geobserveerd. Daarnaast wordt het tumorvolume gemeten en is gemaximeerd op 1000 mm³. Door de pilot met drie muizen verwacht men in de 'hoofdstudie' geen humaan eindpunt te hoeven toepassen. De DEC kan zich vinden in deze opzet.*
- 3V's
14. De aanvrager heeft voldoende aannemelijk gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn. *De onderzoekers hebben eerst in-vitro onderzocht welke concentraties en doseringen ze gaan hebben om heel selectief tumorcellen op te ruimen terwijl normale cellen gespaard worden. De onderzoeken op effectiviteit en bijwerkingen moeten in een*

intact zoogdiersysteem onderzocht worden omdat een volwaardig hemodynamische, immunologisch en metabole omgeving nodig is, het middel zal oraal worden toegediend, ook in de kliniek. De onderzoekers hebben onderbouwd waarom een organoïde geen geschikt alternatief zou zijn.

15. Het aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat en er is een heldere strategie om ervoor te zorgen dat tijdens het project met het kleinst mogelijke aantal dieren wordt gewerkt waarmee nog een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. *Voordat de in-vivo experimenten starten is heel nauwkeurig met gekweekte blaaskankercellen bepaald welke doseringen medicijn nodig zal zijn (IC50), waardoor slechts één dosering zal worden onderzocht in de muizen en kan het aantal groepen beperkt blijven. Daarnaast is ervoor gekozen alleen vrouwelijke muizen te gebruiken, er is geen reden om aan te nemen dat het effect geslachtsafhankelijk is.*

16. Het project is in overeenstemming met de vereiste van verfijning van dierproeven en het project is zodanig opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. *De tumoren zullen niet groter worden dan één kubieke cm, omdat boven dit formaat de muizen gehinderd zouden kunnen worden in hun bewegingsvrijheid. Het medicijn wordt gemixt in het voer, zodat geen dwangvoeding hoeft te worden geven. Er wordt eerst een pilot uitgevoerd op potentiële onverwachte bijwerkingen. Er wordt energierijk voer gegeven om mogelijk gewichtsverlies zo goed mogelijk op te vangen. Er worden alleen vrouwelijke muizen gebruikt die in groepen kunnen worden gehuisvest.*

17. Er is geen sprake van wettelijk vereist onderzoek.

Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef

18. Er zullen in bijlage 1 alleen vrouwelijke dieren gebruikt worden, onderzoekers hebben toegelicht dat verkregen resultaten ook vertaalbaar zullen zijn naar mannelijke patiënten, waardoor het aantal dieren beperkt blijft en solitaire huisvesting (bij mannetjes) niet aan de orde is. De DEC is er van overtuigd dat de aanvrager in voldoende mate wetenschappelijk heeft onderbouwd dat het, om de doelstellingen te bereiken, noodzakelijk is om de proeven met alleen vrouwelijke dieren uit te voeren.

19. De dieren worden in het kader van het project gedood, *omdat na afloop van het experiment tumorweefsel, organen en bloed worden verzameld voor verdere analyse.* De dieren worden op een passende wijze, in overeenstemming met bijlage IV van de EU richtlijn, gedood.

20. De vraag over hergebruik is niet van toepassing omdat de dieren gedood worden in het kader van het experiment.

NTS

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

D. Ethische afweging

1. De morele vraag die de DEC dient te beantwoorden is of het belang van dit onderzoek, namelijk *de werkzaamheid van ██████████ ██████████ te testen om de proliferatie van menselijke MIBC-xenografts met ██████████ te blokkeren*, de onvermijdelijke aantasting van het welzijn en de integriteit van de gebruikte proefdieren kan rechtvaardigen.
2. Er vindt een aanzienlijke aantasting van welzijn en integriteit van de proefdieren plaats, met matig ongerief voor 222 vrouwelijke muizen.
Indien de hierboven genoemde doelstellingen behaald worden, dan zal dit project er toe bijdragen *dat de werkzaamheid van ██████████ al dan niet in combinatie met ██████████ om de proliferatie van menselijke MIBC-xenografts met ██████████ te blokkeren aangetoond kan worden waardoor een levensreddende therapie ontwikkeld kan worden op basis van ██████████ remming, alleen of in combinatie met de huidige ██████████ therapie voor patiënten met gevorderde blaaskanker.*
Het is aannemelijk dat de *fundamentele en translationele* doelstelling behaald zal worden. Daarvoor is de inzet van proefdieren noodzakelijk, maar de onderzoekers doen al het mogelijke om het ongerief voor de dieren en het aantal dieren tot een minimum te beperken.
3. Op grond van het bovenstaande is de DEC van oordeel dat *het aantonen van de werkzaamheid van ██████████ ██████████ ██████████ testen om de proliferatie van menselijke MIBC-xenografts met ██████████ te blokkeren* een essentieel reëel belang vertegenwoordigt en dat dit essentiële belang opweegt tegen de aanzienlijke aantasting van het welzijn en de integriteit van de proefdieren. De relatie tussen het directe en het uiteindelijk doel is voldoende helder. Het is aannemelijk dat de directe doelstelling behaald zal worden. De commissie is overtuigd van de kwaliteit van het werk van de aanvrager. De aanvrager heeft voldoende aannemelijk gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven als organoiden zijn, dat het doel niet met minder dieren behaald kan worden en dat het doel wèl gehaald kan worden met één geslacht, dat de gebruikte aanpak de meest verfijnde is en dat er geen sprake zal zijn van onbedoelde negatieve effecten voor mens, dier en milieu als gevolg van de dierproeven. Het gebruik van de proefdieren zoals beschreven in de aanvraag is daarmee gerechtvaardigd.

E. Advies

1. Advies aan de CCD
 - De DEC adviseert de vergunning te verlenen.
 - De DEC adviseert de vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarden.
 - Op grond van het wettelijk vereiste dient de projectleider bij beëindiging van het project een beoordeling achteraf aan te leveren die is afgestemd met de IvD.
 - Voor de uitvoering van dit project is tevens ministeriële ontheffing vereist
 - Overige door de DEC aan de uitvoering verbonden voorwaarden, te weten...

- De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:
 - De vaststelling dat het project niet vergunningplichtig is om de volgende redenen:...
 - De volgende doorslaggevende ethische bezwaren:...
 - De volgende tekortkomingen in de aanvraag:...

2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.

3. Er zijn geen knelpunten/dilemma's naar voren gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies.



> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag

Universiteit Utrecht

Postbus 12007

3501 AA UTRECHT



**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 93118
2509 AC Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0800 789 0789
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD10800202317083

Bijlagen

2

Datum 1 juni 2023

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 1 juni 2023. Het gaat om uw project "Inventing a new targeted therapy for muscle-invasive bladder cancer". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD10800202317083. 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, stuur een e-mail naar info@zbo-ccd.nl of neem telefonisch contact met ons op: 0800 789 0789.

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Datum:

1 juni 2023

Aanvraagnummer:

AVD10800202317083

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur



Gegevens aanvrager

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 10800
Naam instelling of organisatie: Universiteit Utrecht
Naam portefeuillehouder of diens gemachtigde: [REDACTED]
Postbus: 12007
Postcode en plaats: 3501 AA UTRECHT

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

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

Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

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

Over uw aanvraag

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

Over uw project

Geplande startdatum: 1 september 2023
Geplande einddatum: 31 augustus 2025
Titel project: Inventing a new targeted therapy for muscle-invasive bladder cancer
Titel niet-technische samenvatting: Een nieuwe doelgerichte therapie om de prognose van blaaskankerpatiënten te verbeteren
Naam DEC: DEC Utrecht
Postadres DEC: Postbus 85500 3508 GA Utrecht
E-mailadres DEC: dec-utrecht@umcutrecht.nl

Betaalgegevens

De leges bedragen:

€ 1.540,-

De leges voldoet u:

na ontvangst van de factuur

Checklist bijlagen

Verplichte bijlagen:

 Projectvoorstel Beschrijving Dierproeven Niet-technische samenvatting**Ondertekening**

Naam:

[REDACTED]

Functie:

[REDACTED]

Plaats:

Utrecht

Datum:

25 mei 2023



> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag

UU-ASC



Postbus 80.011

3508 TA UTRECHT



**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 93118
2509 AC Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0800 789 0789
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD10800202317083

Bijlagen

2

Datum 1 juni 2023

Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 1 juni 2023

Vervaldatum: 1 juli 2023

Factuurnummer: 2317083

Ordernummer: CB.841910.3.01.011

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD10800202317083	€ 1.540,00

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 te 's Gravenhage.

From: dec-utrecht
To: [REDACTED]
Cc: Instantie voor Dierenwelzijn Utrecht
Subject: FW: Aanhouden AVD10800202317083
Date: maandag 11 september 2023 15:10:39

Ter informatie

Van: info@zbo-ccd.nl <info@zbo-ccd.nl>

Verzonden: vrijdag 8 september 2023 11:42

Aan: info@ivd-utrecht.nl

[REDACTED] dec-utrecht <dec-utrecht@umcutrecht.nl>

Onderwerp: Aanhouden AVD10800202317083

Geachte [REDACTED]

Op 01-06-2023 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Inventing a new targeted therapy for muscle-invasive bladder cancer" met aanvraagnummer AVD10800202317083. In uw aanvraag zitten voor ons nog enkele onduidelijkheden. In dit bericht leest u wat wij nog nodig hebben en wanneer u een beslissing kunt verwachten.

Welke informatie nog nodig

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

Niet technische samenvatting

- Kunt u onder adverse effects ook in gaan om de mogelijke effecten van de tumoren die de muizen zullen ontwikkelen?

- Onder replacement gaat u vooral in op het in vitro voorwerk dat al gedaan is. Kunt u ook uitleggen waarom het noodzakelijk is om nu met levende diermodellen te werken?

- Kunt u de NTS in het officiële Excel format aanleveren?

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 dit bericht op. U kunt dit aanleveren via NetFTP.

Wanneer een beslissing

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

Mocht u vragen hebben, dan kunt u uiteraard contact met ons opnemen.

Met vriendelijke groet,

Namens de Centrale Commissie Dierproeven



www.centralecommissiedierproeven.nl

.....
Postbus 93118 | 2509 AC | Den Haag
.....

T: 0800 789 0789

E: info@zbo-ccd.nl

Dit bericht kan informatie bevatten die niet voor u is bestemd. Indien u niet de geadresseerde bent of dit bericht abusievelijk aan u is gezonden, wordt u verzocht dat aan de afzender te melden en het bericht te verwijderen.

De Staat aanvaardt geen aansprakelijkheid voor schade, van welke aard ook, die verband houdt met risico's verbonden aan het elektronisch verzenden van berichten.

This message may contain information that is not intended for you. If you are not the addressee or if this message was sent to you by mistake, you are requested to inform the sender and delete the message.

The State accepts no liability for damage of any kind resulting from the risks inherent in the electronic transmission of messages.

De informatie opgenomen in dit bericht kan vertrouwelijk zijn en is uitsluitend bestemd voor de geadresseerde. Indien u dit bericht onterecht ontvangt, wordt u verzocht de inhoud niet te gebruiken en de afzender direct te informeren door het bericht te retourneren. Het Universitair Medisch Centrum Utrecht is een publiekrechtelijke rechtspersoon in de zin van de W.H.W. (Wet Hoger Onderwijs en Wetenschappelijk Onderzoek) en staat geregistreerd bij de Kamer van Koophandel voor Midden-Nederland onder nr. 30244197.

Denk s.v.p aan het milieu voor u deze e-mail afdrukt.

This message may contain confidential information and is intended exclusively for the addressee. If you receive this message unintentionally, please do not use the contents but notify the sender immediately by return e-mail. University Medical Center Utrecht is a legal person by public law and is registered at the Chamber of Commerce for Midden-Nederland under no. 30244197.

Please consider the environment before printing this e-mail.



> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag

Universiteit Utrecht

[Redacted]

Postbus 12007

3501 AA UTRECHT



**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 93118
2509 AC Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0800 789 0789
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD10800202317083

Bijlagen

3

Datum 21 september 2023

Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [Redacted]

Op 1 juni 2023 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Inventing a new targeted therapy for muscle-invasive bladder cancer" met aanvraagnummer AVD10800202317083. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Beslissing

Wij keuren uw aanvraag goed. Uit artikel 10a, eerste lid van de Wet op de dierproeven (hierna: de wet) volgt daarom dat het is toegestaan om uw project uit te voeren binnen de gestelde vergunningsperiode. Deze vergunning wordt afgegeven voor de periode van 21 september 2023 tot en met 31 augustus 2025.

De onderbouwing van deze beslissing vindt u onder 'Overwegingen'.

Procedure

Advies dierexperimentencommissie

Wij hebben advies gevraagd bij de dierexperimentencommissie DEC Utrecht (hierna: DEC). Dit advies is ontvangen op 31 augustus 2023. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, derde lid van de wet.

Nadere vragen aanvrager

Op 8 september 2023 hebben wij u om aanvullingen gevraagd. U heeft tijdig antwoord gegeven. Het verzoek om aanvullingen had betrekking op de NTS. Uw reactie is betrokken bij de behandeling van uw aanvraag.

Overwegingen

Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de DEC, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering.

Datum:

21 september 2023

Aanvraagnummer:

AVD10800202317083

Bezwaar

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

Een bezwaarschrift kunt u sturen naar Centrale Commissie Dierproeven, afdeling Juridische Zaken, postbus 93118, 2509 AC Den Haag.

Bij het indienen van een bezwaarschrift vragen we u in ieder geval de datum van de beslissing waartegen u bezwaar maakt en het aanvraagnummer te vermelden. U vindt deze 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. Nadat u een bezwaarschrift heeft ingediend kunt u een voorlopige voorziening vragen bij de voorzieningenrechter van de rechtbank in de vestigingsplaats van de vergunninghouder. U moet dan wel kunnen aantonen dat er sprake is van een spoedeisende situatie.

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 vergunninghouder valt.

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.centralecommissiedierproeven.nl, stuur een e-mail naar info@zbo-ccd.nl of neem telefonisch contact met ons op: 0800 789 0789.

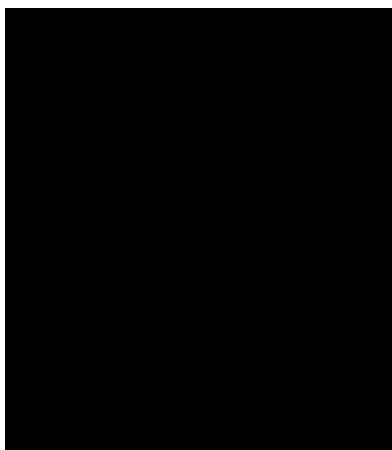
Datum:

21 september 2023

Aanvraagnummer:

AVD10800202317083

Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:

**Bijlagen:**

- Projectvergunning
- DEC-advies
- Weergave wet- en regelgeving



Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de Dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan
Naam: Universiteit Utrecht
Adres: Postbus 12007
Postcode en plaats: 3501 AA UTRECHT
Deelnemersnummer: 10800

deze projectvergunning voor het tijdvak 21 september 2023 tot en met 31 augustus 2025, voor het project "Inventing a new targeted therapy for muscle-invasive bladder cancer" met aanvraagnummer AVD10800202317083, na advies van dierexperimentencommissie DEC Utrecht. De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is [REDACTED]. Het besluit is gebaseerd op de volgende (aangepaste) stukken:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, zoals ontvangen op 1 juni 2023
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen op 31 augustus 2023;
 - b Bijlagen dierproeven
 - 3.4.3.1 Testing effect of an experimental cancer drug on bladder cancer xenografts in immunodeficient mice, zoals ontvangen op 31 augustus 2023;
 - c Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen op 20 september 2023;
 - d Advies van dierexperimentencommissie, zoals ontvangen op 31 augustus 2023
 - e De aanvullingen op uw aanvraag, zoals ontvangen op 20 september 2023.

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ongerief
3.4.3.1 Testing effect of an experimental cancer drug on bladder cancer xenografts in immunodeficient mice			
	Muizen (Mus musculus)	222	100,0% Matig

Geldende voorschriften

Wij wijzen u op onderstaande geldende voorschriften, die volgen uit artikel 1d, vierde lid, artikel 10, eerste lid en/of artikel 10a3 van de wet.

- Go/ no go momenten worden voor aanvang van elk experiment afgestemd met de IvD.
- Het is verboden 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.
- Het is verboden dierproeven te verrichten voor een doel waarvan het belang niet opweegt tegen het ongerief dat aan het proefdier wordt berokkend.
- Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.



Aanvraagnummer:

AVD10800202317083

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, derde lid van de wet. Uit artikel 10b, eerste lid van de wet 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, eerste lid van de wet de wijziging eerst voorgelegd worden en mag deze pas doorgevoerd worden na goedkeuren door de Centrale Commissie Dierproeven. Artikel 10b, tweede en derde lid van de wet schrijven 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 van de wet 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

Aanvraagnummer:
AVD10800202317083

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

Einde van een dierproef

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

Volgens artikel 13b van de wet 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 13c van de wet 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 13d van de wet 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.