

Inventaris Wob-verzoek W21-04		wordt verstrekt				weigeringsgronden			
nr.	document NTS202114486	reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1
1	Projectaanvraag, d.d. 8 februari 2021				x		x	x	
2	Projectvoorstel dierproeven (versie 1)				x		x	x	
3	Bijlage dierproeven (versie 1)				x			x	
4	NTS (versie 1)			x					
5	Ontvangstbevestiging, d.d. 10 februari 2021				x		x	x	
6	Begeleidende e-mail bij DEC-advies, d.d. 25 maart 2021				x		x	x	
7	DEC-advies, d.d. 25 maart, 2021				x		x	x	
8	Projectvoorstel dierproeven (versie 2)				x		x	x	
9	Bijlage dierproeven (versie 2)				x			x	
10	NTS (versie 2)			x					
11	Intern: e-mail met controlevraag, d.d. 30 maart 2021				x		x	x	
12	Intern: e-mail met reactie op controlevraag, d.d. 6 april 2021				x		x	x	
13	Intern: e-mail met reactie, d.d. 6 april 2021				x		x	x	
14	Intern: Adviesnota CCD, d.d. 6 april 2021				x		x	x	x
15	E-mail van CCD aan vergunninghouder met aanvullende vragen (1), d.d. 6 april 2021				x		x	x	
16	Antwoord van vergunninghouder op aanvullende vraag (1), d.d. 12 april 2021				x		x	x	
17	E-mail van CCD aan vergunninghouder met aanvullende vragen (2), d.d. 16 april 2021				x		x	x	
18	Antwoord van vergunninghouder op aanvullende vraag (2), d.d. 19 april 2021				x		x	x	
19	Intern: e-mail met kennisgeving klaar staan nieuwe aanvraag, d.d. 20 april 2021				x		x	x	
20	Intern: e-mail met aflopende termijn, d.d. 21 april 2021				x		x	x	
21	Intern: e-mail met ondertekende beschikking, d.d. 21 april 2021				x		x	x	
22	Begeleidende e-mail van CCD aan vergunninghouder bij beschikking, d.d. 22 april 2021				x		x	x	

23	Beschikking, d.d. 22 april 2021				x		x	x	
24	E-mail van CCD aan DEC met terugkoppeling projectaanvraag, d.d. 18 mei 2021				x		x	x	



Aanvraag Projectvergunning Dierproeven

11 FEB 2021 Administratieve gegevens

14406

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

1 Gegevens aanvrager

<p>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></p>	<p><input checked="" type="checkbox"/> Ja > Vul uw deelnemernummer in 10.2.g</p> <p><input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen</p>
<p>1.2 Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.</p>	<p>Naam instelling of organisatie 10.2.g</p> <p>Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde 10.2.e</p> <p>KvK-nummer</p>
<p>1.3 Vul de gegevens van het postadres in. <i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i></p>	<p>Straat en huisnummer 10.2.g</p> <p>Postbus</p> <p>Postcode en plaats</p> <p>IBAN</p> <p>Tenaamstelling van het rekeningnummer</p>
<p>1.4 Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.</p>	<p>(Titel) Naam en voorletters 10.2.e <input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.</p> <p>Functie 10.2.e</p>
<p>1.4 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.</p>	<p>Afdeling Parasitologie, TB research group</p> <p>Telefoonnummer</p> <p>E-mailadres 10.2.e</p>
<p>1.5 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.</p>	<p>(Titel) Naam en voorletters <input type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.</p> <p>Functie</p> <p>Afdeling</p> <p>Telefoonnummer</p> <p>E-mailadres</p>

- 1.6 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de persoon die er verantwoordelijk voor is dat de uitvoering van het project in overeenstemming is met de projectvergunning.

(Titel) Naam en voorletters
 Functie
 Afdeling
 Telefoonnummer
 E-mailadres

Dhr. Mw.

- 1.7 Is er voor deze projectaanvraag een gemachtigde?

Ja > Stuur dan het ingevulde formulier *Melding Machtiging* mee met deze aanvraag
 Nee

2 Over uw aanvraag

- 2.1 Wat voor aanvraag doet u?

Nieuwe aanvraag > Ga verder met vraag 3
 Wijziging op (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
 Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.2
 Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
 Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.3

- 2.2 Is dit een *wijziging* voor een project of dierproef waar al een vergunning voor verleend is?

Ja > Beantwoord dan in het projectplan en de niet-technische samenvatting alleen de vragen waarop de wijziging betrekking heeft en onderteken het aanvraagformulier
 Nee > Ga verder met vraag 3

- 2.3 Is dit een *melding* voor een project of dierproef waar al een vergunning voor is verleend?

Nee > Ga verder met vraag 3
 Ja > Geef hier onder een toelichting en ga verder met vraag 6

3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?

Startdatum 01 - 05 - 2021

- 3.2 Wat is de titel van het project?

Einddatum 01 - 05 - 2023

Evaluation of pharmacokinetics and immunological activity of MVA-IL7-Fc after a single intravenous administration in macaques

- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?

Pre-klinische evaluatie in makaken van een nieuw geneesmiddel voor het herstellen van een slecht werkend afweersysteem.

- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?

Naam DEC
 Postadres
 E-mailadres

10.2.g

4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het? Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 1397 Lege
 Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.
Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.
- Via een eenmalige incasso
 Na ontvangst van de factuur

11 FEB 2021

5 Checklist bijlagen

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

6 Ondertekening

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

Naam	10.2.e
Functie	
Plaats	10.2.g
Datum	08 - 02 - 2021
Handtekening	10.2.e



Dit is een kopie van het CCD formulier, waarbij de invulvelden niet beveiligd zijn. Voor indiening bij de CCD moet de door de DEC goedgekeurde versie in het CCD formulier worden overgezet.

Versie CCD formulier dd. 2016-03-02

Format

Projectvoorstel dierproeven

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

1 Algemene gegevens

1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.

1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.

1.3 Vul de titel van het project in.

Evaluation of pharmacokinetics and immunological activity of MVA-IL7-Fc after a single intravenous administration in macaques

10.2.g

2 Categorie van het project

2.1 In welke categorie valt het project.

U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.

De verplichte bijlagen verschillen per categorie.

Op het Invloket.nl leest u meer informatie over de verplichte bijlagen per categorie.

Fundamenteel onderzoek

X Translationeel of toegepast onderzoek

Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie

Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier

Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort

Hoger onderwijs of opleiding

Forensisch onderzoek

Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven

3 Algemene projectbeschrijving

3.1 Achtergrond

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

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

Introduction: Different diseases can cause severe suppression of the immune system, either caused by the disease or as a consequence of the treatment. Even after effective treatment many of these patients are confronted with an impaired immune system for a long period of time. Infectious diseases like sepsis and aids and certain forms of cancer are examples of diseases causing severe suppression of the immune system. During HIV infection, important regulator cells of the immune system are destroyed ¹. After the acute phase of sepsis, the majority of patients develop immune suppression². In cancer patients, tumours can suppress the immune system in order to avoid detection and destruction³. After effective treatment of the infection or cancer, the immune system should restore to its normal function. However, even if the infection is under control or the cancer is cured, in many patients the immune system stays impaired, leaving them vulnerable to new infections and/or cancer. So, there is an unmet need for therapies that are aimed at restoring normal immune function in these patients.

Restoring Immune function with cytokine therapy: The novel immunomodulating compound evaluated in the current proposal aims to achieve restoration of immune function by incorporating 3 components. **The first component** constitutes the cytokine interleukin 7 (IL7). IL7 is a non-hematopoietic cell-derived cytokine that mediates adaptive immune homeostasis by enhancing the proliferation and function of T cells⁴. Binding of IL7 to the IL7 receptor on T cells, results in intracellular signalling leading to phosphorylation of signal transducer and activator of transcription 5 (STAT5), mediating proliferation and improved functionality of those T cells⁵. Importantly, the IL7 response network contains an intrinsic regulatory feedback resulting in downregulation of IL7 mediated responses in case of overproduction of IL7⁴. This security net prevents overstimulation of the immune system. Therapy with human IL7 (hIL7) in cynomolgus monkeys has been shown to alter peripheral homeostasis in both T-cell-repleted (healthy) and T-cell-depleted (SIV infected) nonhuman primates⁶. Treatment with hIL7 of lymphopenic HIV-infected patients induced a sustained increase of naive and central memory CD4+ and CD8+ T cells⁷. Treating cancer patients with incurable malignancies with IL7, showed marked increase in peripheral CD3+, CD4+, and CD8+ lymphocytes⁸. Treatment with IL7 was well tolerated in both nonhuman primates and human and resulted in increased T cell counts and improved functionality of the immune system.

The compound we aim to evaluate in the current proposal contains the hIL7 gene fused to **the second component** which consists of the constant region of the human IgG2a antibody the so-called Fc domain (Fc = crystallizable fragment). This Fc domain mediated binding to the so-called neonatal Fc receptor (FcRn) rescuing proteins linked to it from rapid degradation by recycling the fused protein, thereby increasing its half-life and persistent action⁹.

The third component is the viral modified vaccinia Ankara (MVA) vector for the delivery of the hIL7-Fc gene. MVA infects both immune and non-immune cells instructing those cells to produce the protein included in the MVA, in this case the hIL7-Fc. The infected cells will provide a prolonged production of hIL7-Fc protein and as a consequence a prolonged activity of hIL7-Fc. MVA has the added advantage that it contributes to the immune potentiating effect by stimulating the innate immune system. The replication-deficient MVA was used to vaccinate over 100.000 people against smallpox with an excellent safety record¹⁰. MVA is also widely used as a delivery vector for vaccines against infectious disease. MVA, carrying TB antigens, have been evaluated as vaccines against TB in nonhuman primates by our group^{11,12} and in human by others¹³.

In summary, the current compound MVA-hIL7-Fc aims to restore function in both the innate and adaptive immune system by combining for the first time a cytokine (hIL7) enhancing both proliferation and function of T cells, linked to an Fc tail prolonging its action, with a delivery platform (MVA) displaying the capacity to stimulate the innate immune system and prolonged production of the hIL7-Fc fusion protein.

A final dimension to the program is the use of the intravenous (iv) route for administration of the MVA-hIL7-Fc. In a recent study, intravenous administration of MVA, in human, was found to be safe when it was used as a vaccine vector carrying malaria proteins¹⁴.

Aim of the study: In this exploratory proof of concept study we want study pharmacokinetics of MVA-hIL7-Fc in macaque monkeys and establish the immunological activity of MVA-hIL7-Fc after intravenous injection of a single dose. Human IL7 is bioactive in macaque monkeys¹⁵ and binding of hIL7 to its receptor on T cells leads to increased numbers of those T cells and improved functionality, which will be measured by flowcytometry. It is important to establish that, after intravenous administration with the highest expected dose of MVA-hIL7-Fc in an animal species closest to humans, we can show safety and that it regulates the immune-pathways it is expected to. The dose to be used in this experiment is the maximum expected dose MVA-hIL7-Fc to be produced under GMP conditions for clinical use, which was calculated on the basis of FDA Guidelines¹⁶. Preliminary data in mice provided by the collaborator (personal communication) show that administration of MVA-hIL7-Fc through different routes (intravenous, intramuscular and subcutaneous) is safe in healthy mice with the iv-route providing the most optimal pharmacokinetics. In addition, they show improved survival in an infection mouse model of sepsis after treatment with MVA-hIL7-Fc as compared to mice treated with MVA alone.

Why in nonhuman primates: New treatments, especially biopharmaceutical compounds, that have an effect on the immune system need to be tested in a relevant non-rodent species before it can be used in human. This species has to be sensitive for the intended action of the therapy as well as the possible side-effects. With regard to the evaluation of Fc based therapies, nonhuman primates represent the ideal animal model due to their highly homologous Fc-receptor repertoire and function¹⁷. With regard to IL7, human and NHP CD4+ and CD8+ cells show a similar STAT-5 phosphorylation pattern in response to IL-7¹⁸, the functional readout for immunological activity we are determining in this study. Macaque monkeys are a nonhuman primate species that is commonly used to explore new biopharmaceuticals modulating the immune system. The immune system of macaque monkeys is very similar to the human immune system with a similar complexity.

3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

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

The ultimate goal of this project is to obtain a new therapeutic compound stimulating both the adaptive and innate part of the immune system thereby restoring immune function in patients who, as a consequence of infection or treatment, had an impaired immune system.

The direct aim of the current study is to determine the pharmacokinetics of hIL7-Fc after intravenous injection of a single dose of MVA-hIL7-Fc with a follow-up of 2 weeks after injection. In addition, we want to analyse the biological effect of the hIL7-Fc production on the proliferation of T cells and other immune cell types in the blood and determine the effect on the functionality of T cells.

Our institute has extensive and long-standing expertise in conducting studies using nonhuman primates ¹⁹. Different immunomodulatory therapies have been evaluated in the context of organ transplantation ²⁰ and autoimmune diseases ²¹. There is also extensive experience with PK studies that were performed in nonhuman primates in the context of these therapy evaluation studies ²², ²³. The investigators involved have extensive experience with analysis of immune responses, immune-cell phenotyping with particular knowledge on T cell responses ¹², analysis of cytokine responses and monitoring of well-being of the animals, including clinical chemistry and haematology evaluation.

3.3 Belang






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

Scientific/Translational impact: Treatment with IL7 have been found effective and safe in different patient groups. However, the new mode of delivery (IL7-Fc fusion gene with MVA) which adds to the therapeutic effect of the compound (MVA-IL7-Fc) and providing prolonged production of IL7-Fc can open up a new therapeutic strategy in delivering other immunomodulatory compounds with a short half-life. The current study will provide information on the levels of hIL7-Fc after administration of MVA-IL7-Fc and on the immunological activity of the MVA-IL7-Fc compound, that will inform further clinical development of this compound for the treatment of patients with an impaired immune system.

Societal impact: Different diseases, like infectious diseases and cancer can cause severe immune suppression, either caused by the disease or as a consequence of the treatment. Moreover, even after effective treatment, many of these patients are confronted with an impaired immune system for a long period of time. Resulting in increased susceptibility for common infections and a greater chance of recurring cancer. For this reason, these patients would benefit from strategies/therapies restoring immune function. MVA-IL7-Fc evaluated in the current proposal, has the potential to restore immune function of both the adaptive and innate immune system.

References

1. Okoye AA and Picker LJ. (2013). CD4(+) T-cell depletion in HIV infection: mechanisms of immunological failure. *Immunol Rev* 254, 54-64. 2013/06/19.
2. Hotchkiss RS, Monneret G and Payen D. (2013). Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. *Nat Rev Immunol* 13, 862-874. 2013/11/16.

3. Hanahan D and Weinberg RA. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 144, 646-674. 2011/03/08.
4. Mackall CL, Fry TJ and Gress RE. (2011). Harnessing the biology of IL-7 for therapeutic application. *Nat Rev Immunol* 11, 330-342. 2011/04/22.
5. Gao J, Zhao L, Wan YY and Zhu B. (2015). Mechanism of Action of IL-7 and Its Potential Applications and Limitations in Cancer Immunotherapy. *Int J Mol Sci* 16, 10267-10280. 2015/05/09.
6. Fry TJ, Moniuszko M, Creekmore S, Donohue SJ, Douek DC, Giardina S, Hecht TT, Hill BJ, Komschlies K, Tomaszewski J, et al. (2003). IL-7 therapy dramatically alters peripheral T-cell homeostasis in normal and SIV-infected nonhuman primates. *Blood* 101, 2294-2299. 2002/11/02.
7. Levy Y, Lacabaratz C, Weiss L, Viard JP, Goujard C, Lelievre JD, Boue F, Molina JM, Rouzioux C, Avettand-Fenoel V, et al. (2009). Enhanced T cell recovery in HIV-1-infected adults through IL-7 treatment. *J Clin Invest* 119, 997-1007. 2009/03/17.
8. Sportes C, Babb RR, Krumlauf MC, Hakim FT, Steinberg SM, Chow CK, Brown MR, Fleisher TA, Noel P, Maric I, et al. (2010). Phase I study of recombinant human interleukin-7 administration in subjects with refractory malignancy. *Clin Cancer Res* 16, 727-735. 2010/01/14.
9. Pyzik M, Sand KMK, Hubbard JJ, Andersen JT, Sandlie I and Blumberg RS. (2019). The Neonatal Fc Receptor (FcRn): A Misnomer? *Front Immunol* 10, 1540. 2019/07/30.
10. Gilbert SC. (2013). Clinical development of Modified Vaccinia virus Ankara vaccines. *Vaccine* 31, 4241-4246. 2013/03/26.
11. 10.2.e

12. 10.2.e

13. Satti I, Meyer J, Harris SA, Thomas Z-RM, Griffiths K, Antrobus RD, Rowland R, Ramon RL, Smith M, Sheehan S, et al. (2014). Safety and immunogenicity of a candidate tuberculosis vaccine MVA85A delivered by aerosol in BCG-vaccinated healthy adults: a phase 1, double-blind, randomised controlled trial. *The Lancet Infectious Diseases* 14, 939-946.
14. Rampling T, Ewer KJ, Bowyer G, Edwards NJ, Wright D, Sridhar S, Payne R, Powlson J, Bliss C, Venkatraman N, et al. (2018). Safety and efficacy of novel malaria vaccine regimens of RTS,S/AS01B alone, or with concomitant ChAd63-MVA-vectored vaccines expressing ME-TRAP. *NPJ Vaccines* 3, 49. 2018/10/17.
15. Morre MC, Assouline B and Cortez P. (2005). IL-7 DRUG SUBSTANCE, COMPOSITION, PREPARATION AND USES. United States Patent Application Publication.
16. Center_for_Drug_Evaluation_and_Research. (2005). Estimating the Maximum Safe Starting-Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers.
17. Hogarth PM, Anania JC and Wines BD. (2014). The FcγR of humans and non-human primates and their interaction with IgG: implications for induction of inflammation, resistance to infection and the use of therapeutic monoclonal antibodies. *Curr Top Microbiol Immunol* 382, 321-352. 2014/08/15.
18. Magalhaes I, Vudattu NK, Ahmed RK, Kuhlmann-Berenzon S, Ngo Y, Sizemore DR, Wehlin L, Weichold F, Andersson J, Skeiky YA, et al. (2010). High content cellular immune profiling reveals differences between rhesus monkeys and men. *Immunology* 131, 128-140. 2010/05/15.
19. 10.2.e

20. 10.2.e

21. 10.2.e


22. 10.2.e

23. 10.2.e

3.4 Onderzoeksstrategie

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

In this project proposal a novel strategy to restore immune function by expanding and enhancing the function of T cells (by hIL7-Fc) and stimulate innate immunity (by MVA vector) *in vivo*, will be evaluated in nonhuman primates as part of the pre-clinical development of MVA-hIL7-Fc.

Preliminary data of MVA-hIL7-Fc has shown:

- The compound hIL7-Fc is immunologically active and has been shown to activate T cells in short term *in vitro* stimulation cultures of macaque blood cell resulting in phosphorylation of STAT5 (pSTAT5). In addition, we will measure the expression of the Ki67 marker in T cells, which is associated with proliferation. Expression of both markers constitute functional activity of the expressed hIL7-Fc.
- The compound that is being developed, MVA-hIL7-Fc, has been shown to mediate beneficial immunomodulatory effects in mice with no adverse effects.
- The evaluation of MVA-hIL7-Fc in nonhuman primates is part of its pre-clinical development.

Animals will receive a single intravenous injection with MVA-hIL7-Fc. Blood will be collected before and at selected timepoints over a 2-week period after injection to assess hIL7-Fc levels, changes in immune cell activity, number and phenotype and clinical chemistry and hematology parameters. Based on the calculation of the human equivalent dose (HED) used in the mouse experiments (3.3×10^6 , 3.3×10^7 and 3.3×10^8 pfu MVA-IL7-Fc/kg respectively) and the calculated HED selected for the current experiment (5×10^7 pfu MVA-IL7-Fc/kg for macaque monkeys) a 2-week follow-up period should provide sufficient time to obtain relevant pharmacokinetic data in macaque monkeys and establish immunological activity. In the experiments performed in mice, the peak hIL7-Fc concentration in blood was detected between 6 and 24h post-injection of MVA-hIL7-Fc and still detectable up to 96 hours post-injection for the highest MVA-hIL7-Fc dose. In addition, the immune potentiating effects related to the MVA-expressed hIL7-Fc were detected for the 3 tested doses in mice and detectable 2 weeks after the injection.

The primary study goal is to obtain information on the pharmacokinetics of hIL7-Fc and establish its immunoregulatory potential by measuring the expansion and activation of T cells in the absence of adverse events.

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

This proof of concept study consists of one type of experiment, namely the evaluation of MVA-hIL7-Fc in a pharmacokinetic study as described under 3.4.1.

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

The proposal describes only one type of experiment. In this application we use a pharmacokinetic approach determining the levels of hIL7-Fc after intravenous injection of the MVA-IL7-Fc construct and its biological effect on the immune system.

This experiment has been formulated as a pivotal prerequisite for the further development of the compound: When failing to demonstrate that the product is active, the MVA-hIL7-Fc will not be further developed.

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Pharmacokinetic evaluation of a therapeutic compound in nonhuman primates aimed at restoring immune function
2	
3	
4	
5	



Bijlage

Beschrijving dierproeven

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

1 Algemene gegevens

1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.

1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.

1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

10.2.g

Volgnummer	Type dierproef
1	Evaluation of pharmacokinetics and immunological activity of MVA-IL7-Fc after a single intravenous administration in macaques

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

In the current proposal a novel therapeutic modality that aims to expand and improve the function of T cells and stimulate innate immune cells will be evaluated in macaques as a mandatory step for further clinical development as a treatment for patients that have an impaired immune system. In the experimental design we selected we want to determine the pharmacokinetic profile and study the immunoregulatory effect of the compound in the absence of adverse events. Animals will receive a single dose of the therapeutic compound by intravenous administration. Blood is taken before and at multiple time points on the day of the first injection, daily until day 7 and on day 14 (the last day) until the end of the study (for PK analysis) for: a) pk-analysis of the compound (hIL7-Fc), b) study the immune activation of T cells and leucocyte subset numbers, c) hematology and d) clinical chemistry. The clinical chemistry and hematology analysis will serve to monitor unforeseen side effects, like changes in liver, kidney function etc. The study duration will be maximum 2 weeks after an intravenous injection of a single dose of the compound. There is only one experimental group receiving a single bolus injection of the compound MVA-hIL7-Fc. The dose selected for this experiment is the maximum expected dose MVA-hIL7-Fc to be produced under GMP conditions for clinical use, which was calculated on the basis of FDA Guidelines ("Guidance for Industry: Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers"; "Table 1: Conversion of Animal Doses to Human Equivalent Doses Based on Body Surface Area").

Criteria to select this compound for further testing:

- The test compound hIL-7-Fc has been shown to activate T cells in short term in vitro stimulation cultures with whole blood of macaques.
- Preliminary data provided by the collaborator have shown beneficial effects of administration of MVA-hIL7-Fc in a rodent (murine) model of sepsis.
- The evaluation in non-human primates is part of the pre-clinical evaluation of the therapeutic agent and constitutes a go/no-go decision.

The primary outcome parameters are:

- Detectable blood-levels of hIL7-Fc in the 2-week follow-up after intravenous injection of MVA-hIL7-Fc to establish a pharmacokinetic profile.
- Establish immunoregulatory activity of hIL7-Fc by measuring T cell activation by pSTAT5 expression (hIL7-Fc binding to the IL7 receptor on T cells results in phosphorylation of STAT5 – pSTAT5 – signifying T cells activation) and T cell proliferation by expression of Ki67 (Ki67 is upregulated in proliferating T cells). In addition, we will analyse changes in leukocyte subset composition of immune cells in blood.
- The general immunoregulatory effect of injection of the compound on peripheral blood will be analysed by transcriptomics (Paxgene tubes)

The secondary outcome parameters are:

- Clinical behavioural symptoms as indicators of animal well-being.
- Clinical chemistry and haematology parameters will inform us on any unforeseen adverse events after administration of MVA-hIL7-Fc.

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

The animals will be injected intravenously with a single bolus injection of the compound (injection time < 5 min). Venous blood will be collected from the groin before and at multiple time points on the day of the first injection, daily until day 7 and on day 14 (the last day). The blood collected at selected timepoint will be used for pharmacokinetic analysis of hIL7-Fc in serum, to establish the immunoregulatory potential of the compound and its effect on different leucocyte subsets by flowcytometry analysis, transcriptome analysis (Paxgene tubes) and hematology and clinical chemistry (as described above). In general, the maximum blood volume collected will not exceed 1% of the body weight per 2 weeks of this study (and 0.7% max per bleeding). Both injections of the compound and blood collection will be performed under sedation. During daily blood collection in the first week the animals will receive supplementary nutritious and calorie-rich diet by gavage to minimize the possible negative effects of fasting for the purpose of frequent sedation.

The study will be performed in a stacked manner. To forestall on unforeseen acute adverse responses, first 1 animal will receive a dose of the compound. This animal will be monitored for any acute adverse reactions to the administration of the MVA-hIL7-Fc for 24 hrs. In consultation with the veterinarian we will decide to proceed with the remaining three animals.

The animals will be monitored for clinical well-being on the basis of behaviour signs like alertness, posture, breathing pattern and body temperature. This will be recorded digitally in the clinical observation forms.

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

For investigating pharmacokinetics, a group of 3 animals may suffice, depending on the drug and the read-outs. To forestall on the variation of the immunoregulatory effect of MVA-hIL7-Fc between animals, this study requires a group size of 4.

The effect is determined by comparing results post-dosing with pre-dosing values of healthy animals included in this study. According to 'van Zutphen', with an alpha of 0.05, two-sided testing and a 90% power, with an effect size of 2.5 times standard deviation a group size of 4 is needed. This is the number of animals that is indicated for these types of studies.

B. De dieren

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

Macaques (adult; single sex), 4 animals. As this is a proof of concept study we will perform the study in a single sex group thereby minimizing the number of animals.

Macaques are the animals of choice to evaluate cytokine based immunomodulatory therapies. The reason is that macaques are phylogenetically closely related to humans to allow sufficient cross recognition of therapeutic agents that are specifically designed to bind human target molecules. Furthermore, the similarity in the cellular composition and functional characteristics of the immune system and physiological responses allows adequate evaluation of pharmacokinetics, expected therapeutic effects as well as potential adverse events. Especially, with regard to the response to product hIL7¹ and the linked constant region Fc region of an antibody macaques are highly similar to the human immune system². Only one dose of the compound will be tested in a group of 4 adult animals. This experiment will be performed in a period of 2 weeks.

References

1. Magalhaes I, Vudattu NK, Ahmed RK, Kuhlmann-Berenzon S, Ngo Y, Sizemore DR, Wehlin L, Weichold F, Andersson J, Skeiky YA, et al. (2010). High content cellular immune profiling reveals differences between rhesus monkeys and men. *Immunology* 131, 128-140. 2010/05/15.
2. Hogarth PM, Anania JC and Wines BD. (2014). The Fcγ₂R of humans and non-human primates and their interaction with IgG: implications for induction of inflammation, resistance to infection and the use of therapeutic monoclonal antibodies. *Curr Top Microbiol Immunol* 382, 321-352. 2014/08/15.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

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

Animals to be used in these experiments may have been used in other studies provided that they did not previously receive an immunomodulatory compound (like IL7) or human antibody (responding to the Fc part of the compound). The procedures performed in the experiment are classified as mild discomfort and allows for reuse of these animals. Given the long lifespan of this species reuse will take place in the legal framework described in art. 1 of the law on animal testing.

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

Nee

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

nvt

D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

Replacement: We have first tested *in vitro* that the compound mediates the expected immunoregulatory effect on blood cells by flowcytometry. In mice, the equivalent dose of MVA-IL7-Fc injected in this experiment was found to be safe and effective in a mouse model of sepsis after treatment with MVA-hIL7-Fc as compared to mice treated with MVA alone.

However, further *in vivo* studies are needed for new drugs (i.e. MVA-hIL7-Fc), especially biopharmaceutical compounds, that have an effect on the immune system in a relevant non-rodent species before it can be used in human. This species has to be sensitive for the intended action of the therapy as well as the possible side-effects. In this way we can obtain relevant information on safety after intravenous administration of this compound, actual serum levels of hIL7-Fc that will be produced after administration of MVA-hIL7-Fc and what the effect of MVA-IL7-Fc on the immune system will be. The immune system in macaques display a similar complexity as the human immune system, is well characterized and has the required immunological tools for a good analysis of the immunological activity of MVA-IL7-Fc. Currently, there are no alternatives *in vitro* or *in silico* for pk studies of these new compounds.

Reduction: The study will be performed in a stacked manner. To forestall on unforeseen acute adverse responses, first 1 animal will receive a dose of the compound. This animal will be monitored for any acute adverse reaction to the administration of the MVA-hIL7-Fc for 24 hrs. In consultation with the veterinarian we will decide to proceed with the remaining three animals. Only the minimum number of animals needed will be used. As this is a proof of concept study the study will be performed in a single sex thereby minimizing the number of animals. To obtain relevant pharmacokinetics and allow for possible variation of the effect of the compound on the immune system the study will be carried out in 4 animals.

Refinement: Supplementary nutritious and calorie-rich diet is administered (via gavage) when animals are sedated daily for blood sampling. The gavage is given during the sedation for a period of seven days. This reduces the possible negative effects of fasting for the purpose of frequent sedation. The number of blood samplings, and the collected volumes of blood are reduced to a minimum. All observations will be documented and registered in a clinical scoring form which is part of the digital database at the institute. In the context of this pharmacokinetic study we would like to introduce the remote monitoring of the behaviour of the animals by placing video cameras in the stable.

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

To minimize the discomfort to the animals they will be sedated to facilitate animal handling and performance of the technical procedures. Each time an animal is sedated, the animal will be weighed, the body temperature will be taken, and the animal will be closely examined. Our institute uses a customized database that documents all individual animals in the institute. General observations like behaviour, appetite and stool are part of this database. This database therefore facilitates early recognition of minor changes in these general parameters. During the study, care will be taken to avoid pain. In case an animal suffers from pain, a veterinarian will be informed, and the animal will receive analgesics to relieve the pain. Regular analysis of haematological and clinical chemistry parameters is part of the experiment. If necessary, judged by the veterinarian, measures will then be taken to treat the animal. The studies will be performed according to the guidelines of the "Wet Milieubeheer", and will cause no adverse effects on the environment.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

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

Using IL7 and MVA as search terms in Pubmed no match was found.

Preliminary data in mice provided by the collaborator demonstrate that administration of MVA-IL7 through different routes (intravenous, intramuscular and subcutaneous) is safe in healthy mice with the iv route providing the most optimal pharmacokinetics. In addition, they show improved survival in an infection mouse model of sepsis after treatment with MVA-IL7 compared to mice treated with MVA alone.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

Nee

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

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

Nee > Ga verder met vraag H.

NEE

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

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

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

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

Nee > Ga verder met vraag I.

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

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

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

The procedures will be performed on fully sedated animals and pain is not anticipated. However, pain relieve will be applied if there are any circumstances that indicate that pain can reasonably be expected to occur or animals show signs of illness indicative of pain. Analgesics known not to interfere with the experiment will then be used.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

1. Response to the injection of the MVA-hIL7-Fc. Although only minimal reaction have been described for both individual components there might be an unanticipated response.
2. Discomfort as a consequence of the sedation

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Ad1) Although minimal adverse reactions have been reported for each individual component MVA or IL-7 in both human and nonhuman primates and while no adverse reaction were observed in mice for MVA-hIL7-Fc we will stay alert for unanticipated effects.

Ad2) Disorientation and nausea when recovering from the sedation.

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

Ad 1) Animals will be monitored closely by the veterinarian during and after administration of MVA-hIL7-Fc to act quickly on unforeseen events.

Ad 2) Although disorientation cannot be prevented, animals will be fasted overnight before sedation to prevent vomiting.

J. Humane eindpunten

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

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

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

Based on the type of experiment a human endpoint is not expected. Though when severe adverse symptoms are observed, directly the veterinarian will be consulted and appropriate action will be taken. Based on experience, we anticipate a drop out of <1%.

K. Classificatie van ongerief

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

Sedation, injection with MVA-IL7-Fc and blood collection in the context of this pharmacokinetic study are considered mild levels of discomfort. The frequency of blood sampling is sufficient for the information we seek and the amount of blood is within the limit set our institute.

Einde experiment

L. Wijze van doden

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

Nee

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

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

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja

NIET-TECHNISCHE PROJECTSAMENVATTING

Naam van het project	2 Pre-klinische evaluatie in makaken van een nieuw geneesmiddel voor het herstellen van een slecht werkend afweersysteem	
NTS-identificatiecode	NTS-NL-293712 v.1	4
Nationale identificatiecode van de NTS <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>		
Land	Nederland	
Taal	nl	
Indiening bij EU <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	nee	
Duur van het project, uitgedrukt in maanden.	24	
Trefwoorden	Niet humane primaten afweersysteem MVA IL7	
Doel(en) van het project	Omzettinggericht en toegepast onderzoek: Verstoringen van het immuunstelsel bij de mens	

DOELSTELLINGEN EN VERWACHTE VOORDELEN VAN HET PROJECT

<p>Beschrijf de doelstellingen van het project (bijvoorbeeld het aanpakken van bepaalde wetenschappelijke onduidelijkheden, of wetenschappelijke of klinische behoeften).</p>	<p>Infectieziekten zoals aids en sepsis en bepaalde vormen van kanker kunnen als gevolg van de ziekte zelf of als gevolg van de behandeling gepaard gaan met een onderdrukking van het afweersysteem. Na een effectieve behandeling van de infectie of kanker zou het afweersysteem zich moeten herstellen en weer normaal moeten gaan werken. Echter, zelfs als de infectie onder controle is en kanker genezen is blijven veel van deze patiënten problemen houden met een slecht werkend afweersysteem, waardoor ze gevoelig blijven voor infecties en het ontwikkelen van kanker. Hoewel er onderzoek gedaan wordt naar therapieën om de werking van het immuunsysteem te herstellen, blijft er een grote behoefte aan nieuwe strategieën om patiënten beter bestand te maken tegen veel voorkomende infecties en de kans op het terugkeren van kanker te verminderen.</p> <p>Een belangrijk eiwit in het immuunsysteem dat zorgt voor het op peil houden van ons immuunsysteem is interleukine 7 (IL7). Dit eiwit stimuleert de aanmaak en activiteit van belangrijke cellen in het immuunsysteem (T-cellen). IL7 eiwit is werkzaam en veilig gebleken bij aidspatiënten en patiënten met kanker. De behandeling leidde tot de aanmaak en verbeterde werking van belangrijke afweercellen in de afwezigheid van bijwerkingen.</p> <p>In de huidige studie willen we het menselijke IL7 gen (hIL7), gekoppeld aan een stukje van een antilichaam (Fc) voor langere werkzaamheid, met behulp van het veilige MVA-virus (MVA-hIL7-Fc) via het bloed inspuiten bij 4 makaken. Het gemodificeerde vaccinia Ankara virus (MVA-virus) infecteert cellen die voor een bepaalde tijd het hIL7-Fc eiwit produceren. Het MVA-virus draagt ook bij aan het afweer stimulerende effect van dit product. De werking van dit nieuwe middel is vooraf getest in knaagdieren en veilig en werkzaam bevonden.</p> <p>In het huidige "proof of concept" studie willen we het verloop van de productie van hIL7-Fc in het bloed vaststellen over een periode van 2 weken (farmacokinetiek) na het inspuiten van de maximaal mogelijke dosis MVA-hIL7-Fc en bestuderen of de toediening het verwachte effect heeft op het afweersysteem. Toediening van MVA-hIL7-Fc via de bloedbaan in niet humane primaten is onderdeel van de preklinische ontwikkeling van dit product om uiteindelijk mensen te kunnen behandelen die last hebben van een slecht werkend afweersysteem.</p>
<p>Welke potentiële voordelen kan dit project opleveren? Leg uit hoe de wetenschap vooruit kan worden geholpen of mensen,</p>	<p>Het maatschappelijk belang en uiteindelijke doel van dit project is om een nieuwe therapie te ontwikkelen die de afweer op een veilige manier herstelt van mensen die, als gevolg van infectie of behandeling, last hebben van een slecht werkend immuunsysteem.</p> <p>Het directe wetenschappelijke belang van dit project is het verkrijgen van informatie over de</p>

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).

hoeveelheid hIL7-Fc dat gemaakt zal worden (farmacokinetiek) na toediening van MVA-hIL7-Fc via het bloed waarbij op gezette tijden, tijdens het experiment, bloed zal worden afgenomen om te meten of het geproduceerde hIL7-Fc leidt tot de gewenste vermeerdering en activering van bepaalde cellen (T-cellen) van het afweersysteem (binding van het hIL7-Fc aan T-cellen leidt tot het actief maken van deze cellen en dat kunnen we meten).

Deze therapie met MVA-hIL7-Fc kan mensen helpen die na effectieve behandeling van een infectie of kanker last blijven houden van een slecht werkend afweersysteem. De behandeling met behulp van dit middel zou dan kunnen leiden tot herstel van de balans in het afweersysteem en dientengevolge een betere kwaliteit van leven. Het immunologische netwerk dat gereguleerd wordt door IL7 bevat een interne beveiliging waardoor via biologische terugkoppeling de T-cellen niet overactief kunnen worden. Dit draagt bij aan de veiligheid en de bruikbaarheid van het product.

VOORSPELDE SCHADE

In welke procedures worden de dieren gewoonlijk gebruikt (bijvoorbeeld injecties, chirurgische procedures)? Vermeld het aantal en de duur van deze procedures.

De dieren zullen via een injectie in de bloedbaan een enkele dosis van MVA-hIL7-Fc in het bloed ontvangen (< 5 minuten). Voor en na de toediening zal op gezette tijden bloed worden afgenomen. Zowel injectie van MVA-hIL7-Fc als bloedafnames zal onder sedatie worden uitgevoerd.

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?

Toediening van het hIL7-Fc gen met behulp van MVA, is nog niet eerder onderzocht in niet humane primaten en daarom weten we niet of er bijwerkingen van MVA-hIL7-Fc in makaken zullen zijn. Echter bij mensen gaf toediening van het hIL7 eiwit in verschillende patiëntengroepen kortdurende klachten als een lichte koorts, een gevoel van onbehagen, een toename in levereiwitten en roodheid en verharding op de plaats van injectie. Toediening van MVA in het bloed bij mensen gaf tijdelijke klachten van lichte koorts, een gevoel van onbehagen en er werd wat spierpijn op de plaats van injectie vastgesteld.

Welke soorten en aantallen dieren zullen naar verwachting worden gebruikt? Wat zijn de verwachte ernstgraden en de aantallen dieren in elke ernstcategorie (per soort)?

Soort:	Totaal aantal	Geraamde aantallen naar ernstgraad			
		Terminaal	Licht	Matig	Ernstig
Java-apen (Macaca fascicularis)	4	0	4	0	0

Wat gebeurt er met de dieren die aan het einde van de procedure in leven worden gehouden?

Soort:	Geraamd aantal te hergebruiken, in het habitat-/houderijsysteem terug te plaatsen of voor adoptie vrij te geven dieren		
	Hergebruikt	Teruggeplaatst	Geadopteerd
Java-apen (Macaca fascicularis)	4	0	0

Geef de redenen voor het geplande lot van de dieren na de procedure.

In de huidige studie zullen de dieren een eenmalige toediening van MVA-hIL7-Fc krijgen waarna er een tijdelijke productie (< 2 weken) van het hIL7-Fc eiwit zal plaatsvinden. Er zal slecht op gezette tijdstippen bloed worden afgenomen voor het bepalen van hIL7-Fc concentraties in het bloed en het stimulerende effect op cellen van het afweersysteem. Dit valt onder mild ongerief en dientengevolge kunnen de dieren nog worden ingezet in een ander experiment.

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.

Er is geen proefdier vrij alternatief om de complexe interactie van deze therapie met de verschillende afweercellen goed te kunnen bestuderen. Daarvoor is een intact afweersysteem in een dier noodzakelijk. Het huidige middel (MVA-hIL7-Fc) is alleen nog maar getest in muizen waar het veilig en effectief is bevonden. Nieuwe behandelingen die een effect hebben op het afweersysteem dienen, voor dat ze gebruikt gaan worden bij mensen en naast dat ze getest zijn in knaagdieren, ook in een ander (niet een knaagdier) relevante diersoort getest te worden. Deze soort moet zowel gevoelig zijn voor het effect van de nieuwe therapie als voor de mogelijke bijwerking. Omdat het afweersysteem van makaak apen heel erg lijkt op dat van mensen worden deze niet humane apensoort vaak ingezet om naar behandelingen te kijken die een effect hebben op het afweersysteem. Speciaal in relatie tot de effecten van IL7 en het daaraan gekoppelde Fc eiwit is de makaak aap erg gelijkend op die van de mens. Om een goede indruk te krijgen wat inspuiten van MVA-hIL7-Fc voor effect heeft in de mens, zowel bedoelde effecten als bijwerkingen, is de makaak, qua complexiteit, immunologie en genetica een zeer relevant model voor de mens.

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.

In het huidige experiment zal één dosis worden gebruikt. Om de variatie tussen verschillende dieren te ondervangen om zo een realistische inschatting te maken van hoeveelheden IL7-Fc die gemaakt gaan worden en het effect wat dit zal hebben op het immuunsysteem zullen 4 gezonde makaak apen worden ingezet. Daar dit een studie is waarbij we het principe willen aantonen ('Proof of Concept' studie) dat toediening van MVA-hIL7-Fc de bedoelde effecten laat zien in afwezigheid van onverwachte bijwerkingen, zal in het huidige experiment in makaak apen worden ingezet van één geslacht, wat het gebruik van het aantal dieren vermindert.

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.

De dieren zullen bij de toediening van MVA-hIL7-Fc goed in de gaten worden gehouden om tijdig te kunnen ingrijpen bij onverwachte acute verschijnselen. Het aantal bloedafnames en de hoeveelheid afgenomen bloed wordt tot een minimum beperkt. Pijnstilling, welke geen invloed heeft op de werking van het MVA-hIL7-Fc, wordt toegepast bij afwijkingen op de plek van injectie en in alle andere gevallen waar nodig. Welzijn: Tijdens de studie zullen de dieren dagelijks worden geobserveerd door gekwalificeerde en ervaren diervverzorgers met behulp van een digitale scorelijst. Mochten er veranderingen optreden in gedrag, eetlust, of ontlasting, dan worden de dierenarts en de onderzoeker hiervan op de hoogte gesteld, waarna de dieren adequaat zullen worden behandeld.

Licht de keuze van de soorten en de bijbehorende levensstadia toe

De werking van dit nieuwe middel is vooraf getest in knaagdieren en veilig en werkzaam bevonden. Echter, alleen het afweersysteem van niet humane primaten zoals makaken, bezit een complexiteit die vergelijkbaar is aan die van de mens. Speciaal in relatie tot de beoogde effecten van IL7 en het daaraan gekoppelde Fc eiwit is de makaak aap erg gelijkend op die van de mens. Daardoor is de

makaak het meest relevante diermodel om werking en bijwerking na inspuiten van MVA-hIL7-Fc te testen, voorafgaand aan toepassing in de mens.

VOOR EEN BEOORDELING ACHTERAF GESELECTEERD PROJECT

Project geselecteerd voor BA?	ja
Termijn voor BA	31-12-2022
Reden voor de beoordeling achteraf	
Bevat ernstige procedures	
Maakt gebruik van niet-menselijke primaten	ja
Andere reden	
Toelichting van de andere reden voor de beoordeling achteraf	

AANVULLENDE VELDEN

Nationaal veld 1 <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
Nationaal veld 2 <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
Nationaal veld 3 <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
Nationaal veld 4 <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
Nationaal veld 5 <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
Startdatum project <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
Einddatum project <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
Goedkeuringsdatum project <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
ICD-code 1 <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
ICD-code 2 <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
ICD-code 3 <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
Link naar de eerdere versie van de NTS buiten het EC-systeem	



> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag

10.2.e en 10.2.g

**Centrale Commissie
Dierproeven**
Postbus 93118
2509 AC Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD 10.2.g 202114486
Bijlagen
2

Datum 10 februari 2021
Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte 10.2.e

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 9 februari 2021. Het gaat om uw project "Evaluation of pharmacokinetics and immunological activity of MVA-IL7-Fc after a single intravenous administration in macaques". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD 10.2.g 202114486. 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: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Datum:

10 februari 2021

Aanvraagnummer:

AVD 10.2.19 202114486

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur



Gegevens aanvrager

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA:

10.2.g

Naam instelling of organisatie:

Naam portefeuillehouder of diens gemachtigde:

10.2.e

Straat en huisnummer:

10.2.g

Postbus:

Postcode en plaats:

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

Naam:

10.2.e

Functie:

10.2.e

Afdeling:

Parasitologie, TB research group

Telefoonnummer:

10.2.e

E-mailadres:

10.2.e

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 mei 2021

Geplande einddatum:

1 mei 2023

Titel project:

Evaluation of pharmacokinetics and immunological activity of MVA-IL7-Fc after a single intravenous administration in macaques

Titel niet-technische samenvatting:

Pre-klinische evaluatie in makaken van een nieuw geneesmiddel voor het herstellen van een slecht werkend afweersysteem.

Naam DEC:

Postadres DEC:

E-mailadres DEC:

10.2.g

Betaalgegevens

De leges bedragen:

€ 1.397,-

De leges voldoet u:

na ontvangst van de factuur

Checklist bijlagen

Verplichte bijlagen:

- Projectvoorstel
- Beschrijving Dierproeven
- Niet-technische samenvatting

Ondertekening

Naam:

10.2.e

Functie:

Plaats:

10.2.g

Datum:

8 februari 2021



Centrale Commissie Dierproeven

> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag

10.2.e en 10.2.g

**Centrale Commissie
Dierproeven**
Postbus 93118
2509 AC Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD10.2.g 202114486
Bijlagen
2

Datum 10 februari 2021
Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 10 februari 2021
Vervaldatum: 12 maart 2021
Factuurnummer: 2114486

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD10.2.g 202114486	€ 1.397,00

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.

10.2.e

Van: DEC 10.2.g
Verzonden: donderdag 25 maart 2021 10:04
Aan: info@zbo-ccd.nl
Onderwerp: AVD 10.2.g 2021144486

6

Categorieën: DEC adviezen

Geachte CCD

Zojuist heeft u het advies ontvangen voor project AVD 10.2.g 2021144486. Alle documenten zijn beschermd en kunnen worden geopend met 10.2.g

Secretaris 10.2.g

10.2.g

10.2.g

10.2.g

Format DEC-advies

Maak bij de toepassing van dit format gebruik van de bijbehorende toelichting, waarin elke stap in het beoordelingsproces wordt toegelicht

A. Algemene gegevens over de procedure

Aanvraagnummer: AVD^{10.2.g}2021144486

1. Titel van het project: Evaluation of pharmacokinetics and immunological activity of MVA-IL7-Fc after a single intravenous administration in cynomolgus monkeys
2. Titel van de NTS: Pre-klinische evaluatie in Java apen van een nieuw geneesmiddel voor het herstellen van een slecht werkend afweersysteem.
3. Type aanvraag:
 - X nieuwe aanvraag projectvergunning
4. Contactgegevens DEC:
 - naam DEC: ^{10.2.g}
 - telefoonnummer contactpersoon: ^{10.2.e}
 - mailadres contactpersoon: ^{10.2.g}
5. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
 - ontvangen door DEC: 04-02-2021 (10-02-2021: Verzoek om advies van CCD)
 - aanvraag compleet: 19-03-2021
 - in vergadering besproken: 11-02-2021, 11-03-2021
 - anderszins behandeld
 - termijnonderbreking(en) van/tot 15-02-2021 tot 01-03-2021 en van 13-03-2021 tot 19-03-2021
 - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen nvt
 - aanpassing aanvraag 01-03-2021, 19-03-2021
 - advies aan CCD: 25-03-2021

6. Geef aan of de aanvraag is afgestemd met de IvD en deze de instemming heeft van de IvD. De aanvrager heeft het projectvoorstel afgestemd met de IvD en het met instemming van de IvD ingediend.

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

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

8. Correspondentie met de aanvrager

- Datum: 15-02-2021
- De gestelde vragen betroffen de volgende onderwerpen:
 - Doelgroep van MVA-hIL7-Fc
 - Effecten bij het gebruik van MVA-hIL7-Fc dieren waarbij geen sprake is van een verstoord immuunsysteem
 - Onderbouwing duur van de studie
 - Positionering van de studie in het ontwikkeltraject van MVA-hIL7-Fc
 - Onderbouwing keuze voor dieren met normaal immuunsysteem
 - Onderbouwing keuze voor niet human primaten
 - Relevantie sepsis model bij muizen onderzoek
 - Herhaling
 - Frequentie bloedafnames
 - Statistische onderbouwing aantallen dieren
 - Onderbouwing gebruikt java apen
 - Welzijnsmonitoring
 - Beschrijving pijn en andere bronnen van ongerief
 - Ongeriefsinschatting
 - Aanpassingen aan de NTS
- Datum antwoord: 01-03-2021

- Verstrek(e) antwoord(en): De antwoorden ware grotendeels naar tevredenheid beantwoord. Echter een aantal antwoorden waren niet verwerkt in de aanvraag en een enkel antwoord behoefte nog een extra toelichting.
- Datum additionele vragen: 13-03-2021
- Datum antwoord: 19-03-2021
- De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag.
- Verstrekte antwoorden: Alle vragen/opmerkingen zijn naar tevredenheid beantwoord en verwerkt in de bijgestelde projectaanvraag

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

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Het project is vergunning-plichtig (dierproeven in de zin der wet).
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.
3. De DEC is competent om hierover te adviseren: De commissie heeft voldoende expertise, inbegrepen kennis over farmacokinetiek/-dynamiek, immunologie, onderzoek met niet-humane primaten en toepassing van alternatieven op deze gebieden. Ook is er voldoende expertise op het gebied van ontwerp van proeven, statistiek, de proefdiergeneeskundige praktijk, het houden en verzorgen van dieren, de ethiek en van proefdieren en hun bescherming.
4. Geef aan of DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, zijn uitgesloten van de behandeling van de aanvraag en het opstellen van het advies. Indien van toepassing, licht toe waarom. Er waren geen conflicterende belangen bij de beoordeling van dit voorstel.

C. Beoordeling (inhoud)

1. Beoordeel of de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft.
Dit project betreft een preklinische studie naar de farmacokinetiek (PK) en de biologische effecten van MVA-hIL7-Fc, een stof die ervoor moet zorgen dat bij patiënten met een verlaagd en niet goed functionerend immuunsysteem dit weer wordt verbeterd. MVA-hIL7-Fc is het cytokine IL7 gekoppeld aan een Fc gedeelte van een immuunglobuline construct dat via een virale vector (MVA) tot expressie gebracht wordt. IL7 is reeds gebruikt om de immuunfunctie bij patiënten te verbeteren. Echter IL7 heeft een korte halfwaardetijd en het gebruik van MVA-hIL7-Fc zou dit aanzienlijk kunnen

verbeteren. Voordat MVA-hIL7-Fc in klinische studies getest kan worden is het noodzakelijk de farmacokinetiek en farmacodynamisch eigenschappen in een relevant proefdier te onderzoeken. Naast het gebruik van kleine proefdieren dient een farmacon ook in een groot proefdier op veiligheid getest te worden. Wegens de sterke overeenkomst tussen mens en niet-human primaten wat betreft het immuunsysteem is de keuze daarvoor de Java aap. Deze veiligheidsstudies worden elders uitgevoerd. Daarmee is de keuze voor de hier voorgestelde PF/PD studie ook in deze soort bepaald als onderdeel van de pre-klinische studies die noodzakelijk zijn voordat dit middel bij de mens kan worden toegepast. Het betreft een enkel experiment om de Pk/PD karakteristieken van MVA-hIL7-Fc te bepalen. De aanvraag heeft een duidelijk omschreven en concrete doelstelling en kan getypeerd worden als een project. Het is helder welke handelingen individuele dieren zullen ondergaan. Hierdoor is het ook duidelijk met welk ongerief individuele dieren zullen worden geconfronteerd. De DEC vindt dat het project toetsbaar is en voldoende samenhang heeft om aangemerkt te worden als een project.

2. Signaleer of er mogelijk tegenstrijdige wetgeving is die het uitvoeren van de proef in de weg zou kunnen staan. Het gaat hier om wetgeving die gericht is op de gezondheid en welzijn van het dier of het voortbestaan van de soort (bijvoorbeeld Wet dieren en Wet Natuurbescherming).

Er is, zover de DEC kan overzien, geen tegenstrijdige wetgeving die het uitvoeren van de proef in de weg zou kunnen staan.

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

De aangegeven doelcategorieën, te weten 'translationeel of toegepast onderzoek' sluiten aan bij het projectvoorstel. In dit projectvoorstel zal de PK/PD karakteristieken van MVA-hIL7-Fc worden onderzocht als onderdeel van pre-klinische studies voordat dit middel kan worden toegepast in de kliniek.

Belangen en waarden

4. Benoem zowel het directe doel als het uiteindelijke doel en geef aan of er een directe en reële relatie is tussen beide doelstellingen. Beoordeel of het directe doel gerechtvaardigd is binnen de context van het onderzoeksveld.

Bij een aantal ziektes is het gevolg dat de patiënten naderhand langere tijd een sterk verlaagde afweer hebben. IL7 is een cytokine dat het immuunsysteem in deze patiënten kan stimuleren. Echter de

halfwaardetijd van het cytokine is erg kort. Er is een andere vorm van het cytokine ontwikkeld dat als doel heeft de halfwaardetijd significant te verlengen: MVA-hIL7-Fc. Het directe doel van dit project is de farmacokinetiek en effecten op immuun parameters te bestuderen van MVA-hIL7-Fc in Java apen. Het uiteindelijke doel is het op de markt brengen van MVA-hIL7-Fc voor de behandeling van patiënten met een verstoord immuunsysteem met name ten gevolge van sepsis.

Er is binnen dit onderzoek een reële relatie tussen het directe doel en het uiteindelijke doel.

5. Benoem de belanghebbenden in het project en beschrijf voor elk van de belanghebbenden welke morele waarden in het geding zijn of bevorderd worden (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 2.B en tabel 1; zie bijlage I voor voorbeeld*). De belangrijkste belanghebbenden in deze projectaanvraag zijn de proefdieren, patiënten, de aanvragende onderzoeksinstituten, het bedrijf dat MVA-hIL7-Fc ontwikkelt voor klinische toepassing en de wetenschap.

Voor de proefdieren geldt dat hun welzijn en integriteit worden aangetast. Er is sprake van instrumenteel gebruik, de dieren zullen door de huisvesting in een onderzoeksfaciliteit beperkt worden in hun natuurlijke gedrag. De dieren zullen stress ondervinden door biotechnische handelingen. Het belang voor de patiënten is dat er uiteindelijk een effectief middel komt om een verstoord immuunsysteem te verbeteren. Dit kan resulteren in verbeterde kwaliteit van leven voor de patiënten en beperking van de uitgaven voor verpleging, medicatie en zorg.

Het onderzoeksveld krijgt nieuwe informatie hoe deze methode om een cytokine te koppelen aan een Fc gedeelte en tot expressie te brengen in een MVA de halfwaardetijd kan verbeteren. Dit kan van waarde zijn voor vergelijkbare middelen die een korte halfwaardetijd hebben. Ook zal de studie informatie opleveren over de immunologische effecten van MVA-hIL7-Fc. Voor het bedrijf dat MVA-hIL7-Fc ontwikkelt voor klinische toepassing is dit een economisch belang. Het is evident dat dit onderzoek belangrijke maatschappelijke en wetenschappelijke doelen dient (gezondheid, kennis).

6. Is er aanleiding voor de DEC om de in de aanvraag beschreven effecten op het milieu in twijfel te trekken? Er zijn geen substantiële milieueffecten te verwachten binnen de kaders of ten gevolge van dit project.

Proefopzet en haalbaarheid

7. Beoordeel of de kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven voldoende gewaarborgd zijn. Licht uw beoordeling toe.

De onderzoeksgroep heeft een ruime ervaring met het evalueren van immunomodulerende stoffen bij apen en uitgebreide ervaring met het verrichten van PK/PD studies in niet-humane primaten.

8. Beoordeel of het project goed is opgezet, de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen en of de gekozen strategie en experimentele aanpak kan leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Licht uw beoordeling toe.

De doelstellingen van het project zijn realistisch en de voorgestelde experimentele opzet sluit hier logisch op aan. Het betreft een enkel experiment met 4 dieren waarbij na toediening van MVA-hIL7-Fc het niveau van MVA-hIL7-Fc en immunologische parameters zullen worden bepaald. De commissie is ervan overtuigd dat met de voorgestelde aanpak de doelen gehaald kunnen worden.

Welzijn dieren

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

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

De keuze voor deze diersoort is gebaseerd op de overeenkomsten van het (zeer complexe) immuunsysteem van mens en niet human primaten. MVA-hIL7-Fc is een virale vector die het humane IL7 produceert gekoppeld aan een humaan Fc eiwit. Door de gelijkenissen tussen het humane en makaak immuunsysteem zal het experiment in Java apen de meest betrouwbare voorspelling opleveren voor hoe MVA-hIL7-Fc zich in de mens zal gedragen. Een toxiciteits studie zal eveneens in Java apen worden uitgevoerd, maar valt buiten het kader van deze aanvraag.

Hergebruik is mogelijk en wenselijk vanwege de lange levensduur van de dieren, het feit dat ze met oog op gebruik in onderzoek zijn gefokt, en hun adaptatie aan de plaatselijke omstandigheden.

Hergebruik zal plaatsvinden binnen de wettelijke kaders beschreven in de Wet op de Dierproeven. Het gebruik van de MVA-vector staat hergebruik niet in de weg aangezien dit een niet replicerend

virus is dan na korte tijd niet meer aanwezig in de dieren. De DEC is het eens met hergebruik van de dieren om deze redenen.

10. Geef aan of de dieren gehuisvest en verzorgd worden op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU. Indien niet aan deze minimale eisen kan worden voldaan, omdat het, om redenen van dierenwelzijn of diergezondheid of om wetenschappelijke redenen, noodzakelijk is hiervan af te wijken, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht uw beoordeling toe. De huisvesting en verzorging voldoet ten volle aan de vereisten in bijlage III van de richtlijn.
11. Beoordeel of het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven voor elk dier realistisch is ingeschat en geclassificeerd. Licht uw beoordeling toe.
Het ongerief voor de dieren is correct als matig ingeschat. Het ongerief zal vooral veroorzaakt worden door het veelvuldig afnemen van bloed onder sedatie.
12. Het uitvoeren van dierproeven zal naast het ongerief vaak gepaard gaan met aantasting van de integriteit van het dier. Beschrijf op welke wijze er sprake is van aantasting van integriteit.
De integriteit van de dieren wordt aangetast door het instrumentele gebruik. De experimentele procedures geven geen blijvende lichamelijke veranderingen.
13. Beoordeel of de criteria voor humane eindpunten goed zijn gedefinieerd en of goed is ingeschat welk percentage dieren naar verwachting een humaan eindpunt zal bereiken. Licht uw beoordeling toe.
Er worden geen bijwerkingen van MVA-hIL7-Fc verwacht. Mochten er toch klinische symptomen zijn, dan zal er worden ingegrepen. Het instituut heeft veel ervaring op het gebied van het testen van immunomodulerende stoffen bij apen en de commissie acht het waarschijnlijk dat bij geen van de dieren het humane eindpunt bereikt zal worden.
14. Beoordeel of de aanvrager voldoende aannemelijk heeft gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn. De aanvrager heeft voldoende aannemelijk gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn. PK/PD karakteristieken kunnen alleen in een intact dier worden onderzocht. De keuze voor de Java aap is gebaseerd op de grote gelijkenis van het immuunsysteem tussen aap en mens (zie ook C9) en op het feit dat (wettelijk vereiste) toxiciteitsstudie in dezelfde apensoort worden uitgevoerd.
15. Beoordeel of het aantal te gebruiken dieren realistisch is ingeschat en of er een heldere strategie is om ervoor te zorgen dat tijdens het project met zo min mogelijk dieren wordt

gewerkt waarmee een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. Licht uw beoordeling toe. Er zullen in dit project 4 dieren worden gebruikt. Dit is het minimum aantal dieren om zowel de PK karakteristieken als de effecten op het immuunsysteem te kunnen beoordelen. De dieren zullen hun eigen controle zijn en resultaten van de uitleesparameters voor en na toediening van MVA-hIL7-Fc zullen vergeleken worden. De commissie is het eens met de keuze van 4 dieren omdat met dit aantal dieren de uitkomsten betrouwbaarder maken dan wanneer er minder dieren worden gebruikt.

16. Beoordeel of het project in overeenstemming is met de vereiste van verfijning van dierproeven en het project zodanig is opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. Licht uw beoordeling toe.

De uitvoering is verfijnd door gebruik te maken van goed geadapteerde en sociaal gehuisveste dieren. Er zal sedatie worden toegepast tijdens de onderzoeksprocedures. Dieren worden gedurende de gehele studie gemonitord door ervaren diervverzorgers en een klinische scorelijst wordt bijgehouden. De dieren staan onder veterinaire begeleiding.

17. Beoordeel, indien het wettelijk vereist onderzoek betreft, of voldoende aannemelijk is gemaakt dat er geen duplicatie plaats zal vinden en of de aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om tijdens de uitvoering van het project te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt. Licht uw beoordeling toe.

N.v.t.

Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef

18. Geef aan of dieren van beide geslachten in gelijke mate ingezet zullen worden. Indien alleen dieren van één geslacht gebruikt worden, beoordeel of de aanvrager dat in voldoende mate wetenschappelijk heeft onderbouwd.

In onderhavige projectaanvraag worden dieren van één geslacht gebruikt. De onderzoeker geeft aan dat gebruik van beide geslachten binnen één proef de betrouwbaarheid van de resultaten doet verminderen. Door dieren van hetzelfde geslacht te nemen zal de variatie in de uitkomsten tussen de dieren zo klein mogelijk zijn en dit zal de variatie in de uitkomst parameters verkleinen. Er is geen sprake van overschotten.

19. Geef aan of dieren gedood worden in kader van het project (tijdens of na afloop van de dierproef). Indien dieren gedood worden, geef aan of en waarom dit noodzakelijk is voor het behalen van de doelstellingen van het project. Indien dieren gedood worden, geef aan

of er een voor de diersoort passende dodingsmethode gebruikt wordt die vermeld staat in bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU. Zo niet, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht uw beoordeling toe. Indien van toepassing, geeft ook aan of er door de aanvrager ontheffing is aangevraagd.

De dieren zullen niet worden gedood aan het einde van de studie.

20. Indien niet-humane primaten, honden, katten of landbouwhuisdieren worden gedood om niet-wetenschappelijke redenen, is herplaatsing of hergebruik overwogen? Licht toe waarom dit wel/niet mogelijk is. De dieren kunnen eerder in onderzoek zijn gebruikt en kunnen na afloop voor hergebruik bestemd worden, dit alles met inachtneming van overwegingen rond dierenwelzijn.

NTS

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

D. Ethische afweging

1. Benoem de centrale morele vraag. Rechtvaardigt het belang van het testen MVA-hIL7-Fc op PK/PD karakteristieken in apen, het ongerief dat de dieren daardoor wordt aangedaan en is bij de uitvoering van deze experimenten aan alle zorgvuldigheidseisen (3V's) voldaan? Is het gebruik van niet-humane primaten in dit geval gerechtvaardigd of kan de gewenste informatie ook verkregen worden door het inzetten van andersoortige proefdieren, andere onderzoek modellen of patiënten?
2. Weeg voor de verschillende belanghebbenden, zoals beschreven onder C5, de sociale en morele waarden waaraan tegemoet gekomen wordt of die juist in het geding zijn, ten opzichte van elkaar af. Om dit proces te vereenvoudigen, kunt u de belangrijkste belanghebbenden en de belangrijkste waarden die in het geding zijn waarderen. U kunt dit verwoorden in termen van gering, matig of veel/ernstig voordeel of nadeel. Geef aan waarom de DEC bevordering van waarden (baten) voor de ene belanghebbende prevaleert boven de aantasting van waarden (kosten) voor de andere belanghebbende.

Vier (4) Java apen zullen matig ongerief ondergaan. Voor de proefdieren zijn integriteit, welzijn en de

autonomie in het geding, door de dieren handelingen met een wetenschappelijk doel te laten ondergaan. Het betreft dieren waarbij MVA-hIL7-Fc wordt toegediend en waarbij regelmatig bloed wordt afgenomen. De welzijnsaantasting kan resulteren in ongerief door het bijkomen uit narcose na elke handeling. Ongerief en lijden zal zo veel mogelijk worden beperkt. De herhaalde bloedafnames in kort tijd resulteren in matig ongerief voor de dieren.

De waarde voor de patiënten en de samenleving is het op termijn beschikbaar komen van een middel dat het immuunsysteem stimuleert bij patiënten die door hun onderliggende ziekte een verzwakt immuunsysteem hebben. IL7 is al gebleken een effectief middel hiervoor te zijn. Echter de halfwaardetijd van dit cytokine is relatief kort waardoor herhaalde toedieningen noodzakelijk zullen zijn. Door dit cytokine te koppelen aan een Fc gedeelte van een immuunglobuline en het via de MVA-vector in het lichaam tot expressie te brengen kan deze halfwaardetijd aanzienlijk vergroot worden. Hierdoor kan het effect van het stimuleren van het immuunsysteem beter worden. De patiënten zullen hier veel baat bij hebben. Voor de producent van MVA-hIL7-Fc is het op de markt brengen van een geneesmiddel van economisch belang. Echter het belang voor de patiënten overstijgt dit belang.

3. Beantwoord de centrale morele vraag. Maak voor het beantwoorden van deze vraag gebruik van bovenstaande afweging van morele waarden. Maak daarnaast gebruik van de volgende moreel relevante feiten: belang onderzoek (C4), kennis en kunde van betrokkenen (C7), haalbaarheid doelstellingen (C8), categorieën en herkomst dieren (C9), 3V's (C14-C18), ongerief (C10-13 en C19) en relevante wet en regelgeving (C2). Onderbouw hoe al deze elementen zijn meegewogen bij de beantwoording van de centrale morele vraag, zodanig dat het navolgbaar is zonder gedetailleerde kennis te hebben van het projectvoorstel (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 3.C; zie bijlage I voor voorbeeld*).

De DEC is overtuigd van het belang van de doelstelling: het testen MVA-hIL7-Fc op PK/PD karakteristieken in apen. Het uiteindelijke doel is het ontwikkelen van een werkzame farmacologische behandeling voor patiënten met ziekten waarbij het immuunsysteem verzwakt is. Deze patiënten zijn zeer bevattelijk voor infecties waardoor ze gedurende lange periodes daarvoor behandeld moeten worden. Voordat MVA-hIL7-Fc toegepast kan worden bij patiënten dient bekend te zijn hoe lang dit middel in het lichaam aantoonbaar is en of het inderdaad een effect heeft op het immuunsysteem. Het ongerief voor de proefdieren is beperkt tot een aantal bloedafnames na toediening van het middel en er zullen voor deze dieren geen lange termijn effecten zijn. Doordat de dieren hun eigen controle zijn (ten opzichte van de bloedwaarden voordat het middel wordt gegeven) kan met een klein aantal dieren voldoende informatie worden verkregen. De commissie is overtuigd van de kwaliteit van het onderzoek en de uitvoering hiervan. De aanvrager heeft voldoende aannemelijk gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn, dat het doel niet met minder dieren behaald kan worden, dat de gebruikte aanpak de meest verfijnde is en dat voorkomen wordt dat mens, dier en milieu onbedoelde negatieve

effecten zullen ondervinden als gevolg van de dierproeven. De DEC is samenvattend van mening dat aan alle zorgvuldigheidseisen omtrent de 3 V's en de kwaliteit van het onderzoek is voldaan en dat het hierboven genoemde belang voor de samenleving als geheel het schaden van de belangen van de proefdieren (om gevrijwaard te blijven van een aantasting van welzijn en integriteit) rechtvaardigt.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

X De DEC adviseert de vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarden

X 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. Het betreft hier niet-humane primaten.

Overige door de DEC aan de uitvoering verbonden voorwaarden, te weten:
geen De mate van ongerief moet als "matig" worden ingeschaald.

2. Het uitgebrachte advies kan unaniem tot stand zijn gekomen dan wel gebaseerd zijn op een meerderheidsstandpunt in de DEC. Indien gebaseerd op een meerderheidsstandpunt, specificeer het minderheidsstandpunt op het niveau van verschillende belanghebbenden en de waarden die in het geding zijn.

Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.

3. Omschrijf de knelpunten/dilemma's die naar voren zijn gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies zowel binnen als buiten de context van het project.

Er zijn bij de beoordeling van dit project geen knelpunten ondervonden; de inherente ethische dilemma's zijn hierboven uitgebreid uiteengezet.



Dit is een kopie van het CCD formulier, waarbij de invulvelden niet beveiligd zijn. Voor indiening bij de CCD moet de door de DEC goedgekeurde versie in het CCD formulier worden overgezet.

Versie CCD formulier dd. 2016-03-02

Format

Projectvoorstel dierproeven

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

1 Algemene gegevens

1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.

1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.

1.3 Vul de titel van het project in.

Evaluation of pharmacokinetics and immunological activity of MVA-IL7-Fc after a single intravenous administration in cynomolgus monkeys

10.2.g

2 Categorie van het project

2.1 In welke categorie valt het project.

U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.

De verplichte bijlagen verschillen per categorie.

Op hetInvloket.nl leest u meer informatie over de verplichte bijlagen per categorie.

Fundamenteel onderzoek

X Translationeel of toegepast onderzoek

Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie

Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier

Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort

Hoger onderwijs of opleiding

Forensisch onderzoek

Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven

3 Algemene projectbeschrijving

3.1 Achtergrond

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

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

Introduction: Different diseases can cause severe suppression of the immune system, either caused by the disease or as a consequence of the treatment. Even after effective treatment many of these patients are confronted with an impaired immune system for a long period of time. Infectious diseases like sepsis and AIDS and certain forms of cancer are examples of diseases causing severe suppression of the immune system. During HIV infection, important regulator cells of the immune system are destroyed¹. After the acute phase of sepsis, the majority of patients develop immune suppression². In cancer patients, tumours can suppress the immune system in order to avoid detection and destruction³. After effective treatment of the infection or cancer, the immune system should restore to its normal function. However, even if the infection is under control or the cancer is cured, in many patients the immune system stays impaired, leaving them vulnerable to new infections and/or cancer. The MVA-hIL7-Fc compound that is evaluated in the current study is developed for a clinical trial of established immune-depression characterizing a majority of sepsis patients who survive the acute phase of the disease. The treatment with MVA-hIL7-Fc aims to restore immune function of both the innate and adaptive system after established immune-depression in sepsis patients.² In particular, lymphopenia has been linked to poor clinical outcome. We anticipate and are aiming for a limited number of injections of the MVA-products (perhaps 2) in the clinic. Patients targeted in the clinic typically will stay in ICU for 2-3 weeks at most. So, a single injection needs to demonstrate a good activity (as we have seen in murine models at an equivalent dose) in this timeframe and this is what is expected to be achieved in the proposed study. A Protocol for First-In-Man study (phase 1) is currently being drafted, based on the assumption that the current study in NHP will demonstrate adequate pharmacokinetics and activity of the product.

Restoring Immune function with cytokine therapy: The novel immunomodulating compound evaluated in the current proposal aims to achieve restoration of immune function by incorporating 3 components. **The first component** constitutes the cytokine interleukin 7 (IL7). IL7 is a non-hematopoietic cell-derived cytokine that mediates adaptive immune homeostasis by enhancing the proliferation and function of T cells⁴. Binding of IL7 to the IL7 receptor on T cells, results in intracellular signalling leading to phosphorylation of signal transducer and activator of transcription 5 (STAT5), mediating proliferation and improved functionality of those T cells.⁵ Importantly, the IL7 response network contains an intrinsic regulatory feedback resulting in downregulation of IL7 mediated responses in case of overproduction of IL7⁴. This security net prevents overstimulation of the immune system. When MVA-hIL7-Fc is injected in healthy immunocompetent mice (hIL7 is active in mice since it is cross-reactive with the murine IL7 receptor – CD127), the safety biological feedback is observed by a decrease in the number and percentage of T cells expressing CD127 as well as a decrease in the overall expression of the CD127 for a few days after injection. Then T cell numbers and proportions of CD127 expressing T cells and overall expression of CD127 returns to normal levels. In conclusion, the hIL7-Fc does not alter the safety biological feedback of IL7 and we did not observe any abnormal effects. The expected biological activities of the product were observed, as demonstrated by the induction of some immune cells due to MVA and increase in the overall T cell numbers due to hIL7. **Therapy**

with human IL7 (hIL7) in cynomolgus monkeys has been shown to alter peripheral homeostasis in both T-cell-repleted (healthy) and T-cell-depleted (SIV infected) nonhuman primates.⁶ Treatment with hIL7 of lymphopenic HIV-infected patients induced a sustained increase of naive and central memory CD4+ and CD8+ T cells.⁷ Treating cancer patients with incurable malignancies with IL7, showed marked increase in peripheral CD3+, CD4+, and CD8+ lymphocytes.⁸ Treatment with IL7 was well tolerated in both nonhuman primates and human and resulted in increased T cell counts and improved functionality of the immune system.

The compound we aim to evaluate in the current proposal contains the hIL7 gene fused to the **second component** which consists of the constant region of the human IgG2a antibody the so-called Fc domain (Fc = crystallizable fragment). This Fc domain mediated binding to the so-called neonatal Fc receptor (FcRn) rescuing proteins linked to it from rapid degradation by recycling the fused protein, thereby increasing its half-life and persistent action.⁹

The third component is the viral modified vaccinia Ankara (MVA) vector for the delivery of the hIL7-Fc gene. MVA infects both immune and non-immune cells instructing those cells to produce the protein included in the MVA, in this case the hIL7-Fc. The infected cells will provide a prolonged production of hIL7-Fc protein and as a consequence a prolonged activity of hIL7-Fc. MVA has the added advantage that it contributes to the immune potentiating effect by stimulating the innate immune system. The replication-deficient MVA was used to vaccinate over 100.000 people against smallpox with an excellent safety record¹⁰. MVA is also widely used as a delivery vector for vaccines against infectious disease. MVA, carrying TB antigens, have been evaluated as vaccines against TB in nonhuman primates by our group^{11,12} and in human by others.¹³

In summary, the current compound MVA-hIL7-Fc aims to restore function in both the innate and adaptive immune system by combining for the first time a cytokine (hIL7) enhancing both proliferation and function of T cells, linked to an Fc tail prolonging its action, with a delivery platform (MVA) displaying the capacity to stimulate the innate immune system and prolonged production of the hIL7-Fc fusion protein.

A final dimension to the program is the use of the intravenous (iv) route for administration of the MVA-hIL7-Fc. In a recent study, intravenous administration of MVA, in human, was found to be safe when it was used as a vaccine vector carrying malaria proteins.¹⁴

Aim of the study: In this exploratory proof of concept study we want evaluate pharmacokinetics of MVA-hIL7-Fc in cynomolgus monkeys and establish the immunological activity of MVA-hIL7-Fc after intravenous injection of a single dose. IL-7 is required for T cell development and for maintaining and restoring homeostasis of mature T cells. IL-7 is a limiting resource under *normal* conditions, but it accumulates during lymphopoiesis, leading to increased T cell proliferation. The administration of recombinant human IL-7 to *normal/naïve* non-human primates and humans has been shown to result in widespread T cell proliferation, increased T cell numbers, modulation of peripheral T cell subsets and increased T cell receptor repertoire diversity.^{4,15} As such healthy immunocompetent animals will provide a relevant model to evaluate both the pharmacokinetic parameter as its immunoregulatory potential that we analyze by flowcytometry. In addition, data generated in naïve/normal mice and sepsis-CLP mice, have shown comparable levels of MVA-produced hIL7-Fc. It is important to establish that, after intravenous administration with the highest expected dose of MVA-hIL7-Fc in an animal species closest to humans, we can show safety and that it regulates the immune-pathways it is expected to. The dose to be used in this experiment is the maximum expected dose MVA-hIL7-Fc to be produced under GMP conditions for clinical use, which was calculated on the basis of FDA Guidelines¹⁶. Preliminary data in mice provided by the collaborator (personal communication) show that administration of MVA-hIL7-Fc through different routes (intravenous, intramuscular and subcutaneous) is safe in healthy mice with the iv-route providing the most optimal pharmacokinetics. The Cecal Ligation and Puncture (CLP) model of sepsis; that was used is for the evaluation of MVA-hIL7-Fc, is a major reference mouse sepsis model.¹⁷⁻²⁰ The activities of MVA-hIL7-Fc have been characterized for the treatment of the immune-suppressed status after the induction of sepsis, resulting in restoration of immune functions but also increase survival post-CLP.

Why in nonhuman primates: New treatments, especially biopharmaceutical compounds, that have an effect on the immune system need to be tested in a relevant non-rodent species before it can be used in human.

This species has to be sensitive for the intended action of the therapy as well as the possible side-effects. The close evolutionary proximity of nonhuman primates, including cynomolgus monkeys, translates to a similar immunological complexity and regulation, making this species a highly relevant model for the evaluation of new therapies targeting the immune system. Especially with regard to components included in the current compound, the hIL7 and the linked Fc-protein, nonhuman primate models are of particular relevance. Nonhuman primates have a highly similar Fc-receptor repertoire and function²¹ compared to humans and show comparable effects on STAT5 phosphorylation in response to stimulation of CD4+ and CD8+ T cells with IL-7,²² the functional readout for immunological activity we are determining in this study. In addition, the phylogenetically proximity of nonhuman primates to humans allows us to use the vast array of immunological reagents, like antibodies, that also bind to analogous targets on cells of the nonhuman primate immune system required, for the analysis of the effect of the MVA-hIL7-Fc treatment. Cynomolgus monkeys are the species of choice in the current study for the effect of hIL7 is better detected in cynomolgus monkeys than in rhesus monkeys and secondly, the formal regulatory toxicity studies (not performed at this institute) planned after successful completion of the current study, will be performed in cynomolgus monkeys.

The information obtained in the experiment will provide us with sufficient information for further development for clinical use. The current protocol is a scientific, exploratory, proof-of-concept study that does not aim at replacing a Regulatory Study also to be performed in NHP. The generated data from the NHP study is necessary and will instill confidence on the use of the expected highest dose of MVA-hIL7-Fc in human.

3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

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

The ultimate goal of this project is to obtain a new therapeutic compound stimulating both the adaptive and innate part of the immune system thereby restoring immune function in patients who, as a consequence of infection or treatment, had an impaired immune system.

The direct aim of the current study is to determine the pharmacokinetics of hIL7-Fc after intravenous injection of a single dose of MVA-hIL7-Fc with a follow-up of 2 weeks after injection. In addition, we want to analyse the biological effect of the hIL7-Fc production on the proliferation of T cells and other immune cell types in the blood and determine the effect on the functionality of T cells.

Our institute has extensive and long-standing expertise in conducting studies using nonhuman primates.²³ Different immunomodulatory therapies have been evaluated in the context of organ transplantation²⁴ and autoimmune diseases.²⁵ There is also extensive experience with PK studies that were performed in nonhuman primates in the context of these therapy evaluation studies.^{26,27} The investigators involved have extensive experience with analysis of immune responses, immune-cell phenotyping with particular knowledge on T cell responses¹² analysis of cytokine responses and monitoring of well-being of the animals, including clinical chemistry and haematology evaluation.

3.3 Belang

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

Scientific/Translational impact: Treatment with IL7 have been found effective and safe in different patient groups. However, the new mode of delivery (IL7-Fc fusion gene with MVA) which adds to the therapeutic effect of the compound (MVA-IL7-Fc) and providing prolonged production of IL7-Fc can open up a new therapeutic strategy in delivering other immunomodulatory compounds with a short half-life. The current study will provide information on the levels of hIL7-Fc after administration of MVA-IL7-Fc and on the immunological activity of the MVA-IL7-Fc compound, that will inform further clinical development of this compound for the treatment of patients with an impaired immune system.

Societal impact: Different diseases, like infectious diseases and cancer can cause severe immune suppression, either caused by the disease or as a consequence of the treatment. Moreover, even after effective treatment, many of these patients are confronted with an impaired immune system for a long period of time. Resulting in increased susceptibility for common infections and a greater chance of recurring cancer. For this reason, these patients would benefit from strategies/therapies restoring immune function. MVA-IL7-Fc evaluated in the current proposal, has the potential to restore immune function of both the adaptive and innate immune system.

References

1. Okoye AA and Picker LJ. (2013). CD4(+) T-cell depletion in HIV infection: mechanisms of immunological failure. *Immunol Rev* 254, 54-64. 2013/06/19.
2. Hotchkiss RS, Monneret G and Payen D. (2013). Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. *Nat Rev Immunol* 13, 862-874. 2013/11/16.
3. Hanahan D and Weinberg RA. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 144, 646-674. 2011/03/08.
4. Mackall CL, Fry TJ and Gress RE. (2011). Harnessing the biology of IL-7 for therapeutic application. *Nat Rev Immunol* 11, 330-342. 2011/04/22.
5. Gao J, Zhao L, Wan YY and Zhu B. (2015). Mechanism of Action of IL-7 and Its Potential Applications and Limitations in Cancer Immunotherapy. *Int J Mol Sci* 16, 10267-10280. 2015/05/09.
6. Fry TJ, Moniuszko M, Creekmore S, Donohue SJ, Douek DC, Giardina S, Hecht TT, Hill BJ, Komschlies K, Tomaszewski J, et al. (2003). IL-7 therapy dramatically alters peripheral T-cell homeostasis in normal and SIV-infected nonhuman primates. *Blood* 101, 2294-2299. 2002/11/02.
7. Levy Y, Lacabaratz C, Weiss L, Viard JP, Goujard C, Lelievre JD, Boue F, Molina JM, Rouzioux C, Avettand-Fenoel V, et al. (2009). Enhanced T cell recovery in HIV-1-infected adults through IL-7 treatment. *J Clin Invest* 119, 997-1007. 2009/03/17.
8. Sportes C, Babb RR, Krumlauf MC, Hakim FT, Steinberg SM, Chow CK, Brown MR, Fleisher TA, Noel P, Maric I, et al. (2010). Phase I study of recombinant human interleukin-7 administration in subjects with refractory malignancy. *Clin Cancer Res* 16, 727-735. 2010/01/14.
9. Pyzik M, Sand KMK, Hubbard JJ, Andersen JT, Sandlie I and Blumberg RS. (2019). The Neonatal Fc Receptor (FcRn): A Misnomer? *Front Immunol* 10, 1540. 2019/07/30.
10. Gilbert SC. (2013). Clinical development of Modified Vaccinia virus Ankara vaccines. *Vaccine* 31, 4241-4246. 2013/03/26.
11. 10.2.e

12. 10.2.e

13. Satti I, Meyer J, Harris SA, Thomas Z-RM, Griffiths K, Antrobus RD, Rowland R, Ramon RL, Smith M, Sheehan S, et al. (2014). Safety and immunogenicity of a candidate tuberculosis vaccine MVA85A delivered by aerosol in BCG-vaccinated healthy adults: a phase 1, double-blind, randomised controlled trial. *The Lancet Infectious Diseases* 14, 939-946.
14. Rampling T, Ewer KJ, Bowyer G, Edwards NJ, Wright D, Sridhar S, Payne R, Powlson J, Bliss C, Venkatraman N, et al. (2018). Safety and efficacy of novel malaria vaccine regimens of RTS,S/AS01B alone, or with concomitant ChAd63-MVA-vectored vaccines expressing ME-TRAP. *NPJ Vaccines* 3, 49. 2018/10/17.
15. Morre MC, Assouline B and Cortez P. (2005). IL-7 DRUG SUBSTANCE, COMPOSITION, PREPARATION AND USES. United States Patent Application Publication.
16. Center_for_Drug_Evaluation_and_Research. (2005). Estimating the Maximum Safe Starting-Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers.
17. Buras JA, Holzmann B and Sitkovsky M. (2005). Animal models of sepsis: setting the stage. *Nat Rev Drug Discov* 4, 854-865. 2005/10/15.
18. Dejager L, Pinheiro I, Dejonckheere E and Libert C. (2011). Cecal ligation and puncture: the gold standard model for polymicrobial sepsis? *Trends Microbiol* 19, 198-208. 2011/02/08.
19. Kingsley SM and Bhat BV. (2016). Differential Paradigms in Animal Models of Sepsis. *Curr Infect Dis Rep* 18, 26. 2016/07/20.
20. Stortz JA, Raymond SL, Mira JC, Moldawer LL, Mohr AM and Efron PA. (2017). Murine Models of Sepsis and Trauma: Can We Bridge the Gap? *ILAR J* 58, 90-105. 2017/04/27.
21. Hogarth PM, Anania JC and Wines BD. (2014). The FcγR of humans and non-human primates and their interaction with IgG: implications for induction of inflammation, resistance to infection and the use of therapeutic monoclonal antibodies. *Curr Top Microbiol Immunol* 382, 321-352. 2014/08/15.
22. Magalhaes I, Vudattu NK, Ahmed RK, Kuhlmann-Berenzon S, Ngo Y, Sizemore DR, Wehlin L, Weichold F, Andersson J, Skeiky YA, et al. (2010). High content cellular immune profiling reveals differences between rhesus monkeys and men. *Immunology* 131, 128-140. 2010/05/15.
23. 10.2.e [REDACTED]
24. 10.2.e [REDACTED]
25. 10.2.e [REDACTED]
26. 10.2.e [REDACTED]
27. 10.2.e [REDACTED]

3.4 Onderzoeksstrategie

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

In this project proposal a novel strategy to restore immune function by expanding and enhancing the function of T cells (by hIL7-Fc) and stimulate innate immunity (by MVA vector) *in vivo*, will be evaluated in nonhuman primates as part of the pre-clinical development of MVA-hIL7-Fc.

Preliminary data of MVA-hIL7-Fc has shown:

- The compound hIL7-Fc is immunologically active and has been shown to activate T cells in short term *in vitro* stimulation cultures of cynomolgus monkey blood cells resulting in phosphorylation of STAT5 (pSTAT5). In addition, we will measure the expression of the Ki67 marker in T cells, which is associated with proliferation. Expression of both markers constitute functional activity of the expressed hIL7-Fc.
- The compound that is being developed, MVA-hIL7-Fc, has been shown to mediate beneficial immunomodulatory effects in mice with no adverse effects.
- The evaluation of MVA-hIL7-Fc in nonhuman primates is part of its pre-clinical development.

Animals will receive a single intravenous injection with MVA-hIL7-Fc. Blood will be collected before and at selected timepoints over a 2-week period after injection to assess hIL7-Fc levels, changes in immune cell activity, number and phenotype and clinical chemistry and hematology parameters. Based on the calculation of the human equivalent dose (HED) used in the mouse experiments (3.3×10^6 , 3.3×10^7 and 3.3×10^8 pfu MVA-IL7-Fc/kg respectively) and the calculated HED selected for the current experiment (5×10^7 pfu MVA-IL7-Fc/kg for cynomolgus monkeys) a 2-week follow-up period should provide sufficient time to obtain relevant pharmacokinetic data in cynomolgus monkeys and establish immunological activity. In the experiments performed in mice, the peak hIL7-Fc concentration in blood was detected between 6 and 24h post-injection of MVA-hIL7-Fc and still detectable up to 96 hours post-injection for the highest MVA-hIL7-Fc dose. Pharmacokinetics between mice and monkeys might differ. An ELISA will be performed after day 7 to determine the hIL7-Fc levels. 1) If no detectable levels of hIL7-Fc ($< 1\text{ng/mL}$) are found at day 7 or earlier, a follow-up period of 14 days will suffice to provide for a good estimation of the hIL7-Fc production. 2) If detectable levels of hIL7-Fc ($< 1\text{ng/mL}$) are still found at day 7 the follow-up period will be extended with an extra 7 days with an extra blood collection, for analysis, on the final day 21.”

In addition, the immune potentiating effects related to the MVA-expressed hIL7-Fc were detected for the 3 tested doses in mice and detectable 2 weeks after the injection.

The primary study goal is to obtain information on the pharmacokinetics of hIL7-Fc and establish its immunoregulatory potential by measuring the expansion and activation of T cells in the absence of adverse events.

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

This proof of concept study consists of one type of experiment, namely the evaluation of MVA-hIL7-Fc in a pharmacokinetic study as described under 3.4.1.

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

The proposal describes only one type of experiment. In this application we use a pharmacokinetic approach determining the levels of hIL7-Fc after intravenous injection of the MVA-IL7-Fc construct and its biological effect on the immune system.

This experiment has been formulated as a pivotal prerequisite for the further development of the compound: When failing to demonstrate that the product is active, the MVA-hIL7-Fc will not be further developed.

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Evaluation of pharmacokinetics and immunological activity of MVA-IL7-Fc after a single intravenous administration in cynomolgus monkeys
2	
3	
4	
5	



Bijlage

Beschrijving dierproeven

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

1 Algemene gegevens

1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.

1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.

1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

10.2.g

Volgnummer	Type dierproef
1	Evaluation of pharmacokinetics and immunological activity of MVA-IL7-Fc after a single intravenous administration in cynomolgus monkeys

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

In the current proposal a novel therapeutic modality that aims to expand and improve the function of T cells and stimulate innate immune cells will be evaluated in cynomolgus monkeys as a mandatory step for further clinical development as a treatment for sepsis patients, with an impaired immune system, after surviving the acute phase of the disease. In the experimental design we selected we want to determine the pharmacokinetic profile and study the immunoregulatory effect of the compound in the absence of adverse events. Animals will receive a single dose of the therapeutic compound by intravenous administration. Venous blood will be collected from the groin before and at 4 timepoints after injection of MVA-hIL7-Fc in the first 24 hours, daily until day 7 and on day 14 (the last day) of the study (for PK analysis) for: a) pk-analysis of the compound (hIL7-Fc), b) study the immune activation of T cells and leucocyte subset numbers, c) hematology and d) clinical chemistry. The clinical chemistry and hematology analysis will serve to monitor unforeseen side effects, like changes in liver, kidney function etc. The study duration will be maximum 2 weeks after an intravenous injection of a single dose of the compound. There is only one experimental group receiving a single bolus injection of the compound MVA-hIL7-Fc. The dose selected for this experiment is the maximum expected dose MVA-hIL7-Fc to be produced under GMP conditions for clinical use, which was calculated on the basis of FDA Guidelines ("Guidance for Industry: Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers"; "Table 1: Conversion of Animal Doses to Human Equivalent Doses Based on Body Surface Area").

Criteria to select this compound for further testing:

- The test compound hIL-7-Fc has been shown to activate T cells in short term in vitro stimulation cultures with whole blood of cynomolgus monkeys.
- Preliminary data provided by the collaborator have shown beneficial effects of administration of MVA-hIL7-Fc in a rodent (murine) model of sepsis.
- The evaluation in non-human primates is part of the pre-clinical evaluation of the therapeutic agent and constitutes a go/no-go decision.

The primary outcome parameters are:

- Detectable blood-levels of hIL7-Fc in the 2-week follow-up after intravenous injection of MVA-hIL7-Fc to establish a pharmacokinetic profile.
- Establish immunoregulatory activity of hIL7-Fc by measuring T cell activation by pSTAT5 expression (hIL7-Fc binding to the IL7 receptor on T cells results in phosphorylation of STAT5 – pSTAT5 – signifying T cells activation) and T cell proliferation by expression of Ki67 (Ki67 is upregulated in proliferating T cells). In addition, we will analyse changes in leukocyte subset composition of immune cells in blood.
- The general immunoregulatory effect of injection of the compound on peripheral blood will be analysed by transcriptomics (Paxgene tubes)

The secondary outcome parameters are:

- Clinical behavioural symptoms as indicators of animal well-being.
- Clinical chemistry and haematology parameters will inform us on any unforeseen adverse events after administration of MVA-hIL7-Fc.

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

The animals will be injected intravenously with a single bolus injection of the compound (injection time < 5 min). Venous blood will be collected from the groin before and at 4 timepoints after injection of MVA-hIL7-Fc in the first 24 hours, daily until day 7 and on day 14 (the last day). The blood collected at selected timepoint will be used for pharmacokinetic analysis of hIL7-Fc in serum, to establish the immunoregulatory potential of the compound and its effect on different leucocyte subsets by flowcytometry analysis, transcriptome analysis (Paxgene tubes) and hematology and clinical chemistry (as described above). In general, the maximum blood volume collected will not exceed 1% of the body weight per 2 weeks of this study (and 0.7% max per bleeding). Both injections of the compound and blood collection will be performed under sedation. During daily blood collection in the first week the animals will receive supplementary nutritious and calorie-rich diet by gavage to minimize the possible negative effects of fasting for the purpose of frequent sedation.

The study will be performed in a stacked manner. To forestall on unforeseen acute adverse responses, first 1 animal will receive a dose of the compound. Administration of the compound will be performed under sedation, by a veterinarian. Acute reactions will be observed by the veterinarian. Both heart rate and breathing rate will be monitored. After every blood collection the animals will be allowed to recover from the sedation and monitored by the animal caretaker/biotechnician on behavior, alertness and posture which will be recorded digitally in the clinical observation forms. In addition, camera surveillance will be installed during the 1st 24 hours after administration of the compound, for regular observation during the night. In consultation with the veterinarian we will decide to proceed with the remaining three animals.

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

In order to provide a reliable estimator for the production levels of hIL7-Fc (pharmacokinetics) 3 animals (N=3; see table in blue) would be the minimal number. Performing a **Paired t-test** (every animal is its own control; see table) comparing hIL7-Fc levels *before* and *after* administration of MVA-hIL7-Fc with a power of 0.8 (= 1- β) and significance (p-value = α) of 0.05 we would require an effect size of at least 3 x standard deviation (SD; d = the number of SD). Adding one extra animal (n=4; in green), with a power of 0.8 and p-value of 0.05 would reduce effect size to 2 x SD and in addition increase the reliability of the parameter estimates of hIL7-Fc production levels.

Paired t-test

α	0,05
1 - β (= Power)	0,80

d values for N					
N =	1	2	3	4	5
2 to 9	-	9,958	3,097	2,080	1,662
11 to 20	0,937	0,888	0,846	0,810	0,778

B. De dieren

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

Cynomolgus monkeys (adult; single sex), 4 animals. As this is a proof of concept study we will perform the study in a single sex group thereby minimizing the number of animals.

Cynomolgus monkeys are the animals of choice to evaluate cytokine based immunomodulatory therapies. The reason is that *cynomolgus monkeys* are phylogenetically closely related to humans to allow sufficient cross recognition of therapeutic agents that are specifically designed to bind human target molecules. The phylogenetic proximity of nonhuman primates to humans also allows us to use the vast array of immunological reagents, like antibodies, for the analysis of the effect of the MVA-hIL7-Fc treatment. Furthermore, the similarity in the cellular composition and functional characteristics of the immune system and physiological responses allows adequate evaluation of pharmacokinetics, expected therapeutic effects as well as potential adverse events. Especially, with regard to the response to product hIL7¹ and the linked constant region Fc region of an antibody nonhuman primates, including *cynomolgus monkeys*, are highly similar to the human immune system.² *Cynomolgus monkeys* are the species of choice in the current study for the effect of hIL7 is better detected in *cynomolgus monkeys* and secondly, the formal regulatory toxicity studies (not performed at this institute) planned after successful completion of the current study, will be performed in *cynomolgus monkeys*.

References

- Magalhaes I, Vudattu NK, Ahmed RK, Kuhlmann-Berenzon S, Ngo Y, Sizemore DR, Wehlin L, Weichold F, Andersson J, Skeiky YA, et al. (2010). High content cellular immune profiling reveals differences between rhesus monkeys and men. *Immunology* 131, 128-140. 2010/05/15.
- Hogarth PM, Anania JC and Wines BD. (2014). The Fc γ R of humans and non-human primates and their interaction with IgG: implications for induction of inflammation, resistance to infection and the use of therapeutic monoclonal antibodies. *Curr Top Microbiol Immunol* 382, 321-352. 2014/08/15.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

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

Animals to be used in these experiments may have been used in other studies provided that they did not previously receive the viral vector MVA, an immunomodulatory compound (like IL7) or human antibody (responding to the Fc part of the compound). The current MVA-hIL7-Fc construct has been graded by the GMO office as being level "DM-I" and "ML-I". It is a non-replicative virus and after 6 months the system will be cleared from the virus. The expression of hIL7-Fc is transitory. However, the discomfort classification of moderate, might interfere with the reuse of those animals. I would not recommend to reuse these animals for an experiment in which MVA is involved. Given the long lifespan of this species reuse will take place in the legal framework described in art. 1 of the law on animal testing.

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

Nee

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

nvt

D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

Replacement: We have first tested *in vitro* that the compound mediates the expected immunoregulatory effect on blood cells by flowcytometry. In mice, the equivalent dose of MVA-IL7-Fc injected in this experiment was found to be safe and effective in a mouse model of sepsis after treatment with MVA-hIL7-Fc as compared to mice treated with MVA alone.

However, further *in vivo* studies are needed for new drugs (i.c. MVA-hIL7-Fc), especially biopharmaceutical compounds, that have an effect on the immune system in a relevant non-rodent species before it can be used in human. This species has to be sensitive for the intended action of the therapy as well as the possible side-effects. In this way we can obtain relevant information on safety after intravenous administration of this compound, actual serum levels of hIL7-Fc that will be produced after administration of MVA-hIL7-Fc and what the effect of MVA-IL7-Fc on the immune system will be. The immune system in nonhuman primates display a similar complexity as the human immune system, is well characterized and has the required immunological tools for a good analysis of the immunological activity of MVA-IL7-Fc. Currently, there are no alternatives *in vitro* or *in silico* for pk studies of these new compounds.

Reduction: The study will be performed in a stacked manner. To forestall on unforeseen acute adverse responses, first 1 animal will receive a dose of the compound. This animal will be monitored for any acute adverse reaction to the administration of the MVA-hIL7-Fc for 24 hrs. In consultation with the veterinarian we will decide to proceed with the remaining three animals. Only the minimum number of animals needed will be used. As this is a proof of concept study the study will be performed in a single sex thereby minimizing the number of animals. To obtain relevant pharmacokinetics and allow for possible variation of the effect of the compound on the immune system the study will be carried out in 4 animals.

Refinement: Supplementary nutritious and calorie-rich diet is administered (via gavage) when animals are sedated daily for blood sampling. The gavage is given during the sedation for a period of seven days. This reduces the possible negative effects of fasting for the purpose of frequent sedation. The number of blood samplings, and the collected volumes of blood are reduced to a minimum. All observations will be documented and registered in a clinical scoring form which is part of the digital database at the institute. In the context of this pharmacokinetic study we would like to introduce the remote monitoring of the behaviour of the animals, in the first 24 hrs and on indication of abnormal behaviour, by placing video cameras in the stable.

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

To minimize the discomfort to the animals they will be sedated to facilitate animal handling and performance of the technical procedures. Each time an animal is sedated, the animal will be weighed, the body temperature will be taken, and the animal will be closely examined. Our institute uses a customized database that documents all individual animals in the institute. General observations like behaviour, appetite and stool are part of this database. This database therefore facilitates early recognition of minor changes in these general parameters. The procedures will be performed on fully sedated animals and pain is not anticipated. Regular analysis of haematological and clinical chemistry parameters is part of the experiment. If necessary, judged by the veterinarian, measures will then be taken to treat the animal. The studies will be performed according the guidelines of the "Wet Milieubeheer", and will cause no adverse effects on the environment.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

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

n.v.t.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

Nee

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

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

Nee > Ga verder met vraag H.
NEE

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

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

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

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

Nee > Ga verder met vraag I.

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

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

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

The procedures will be performed on fully sedated animals and pain is not anticipated.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

1. Response to the injection of the MVA-hIL7-Fc. Although only minimal reaction have been described for both individual components there might be an unanticipated response.
2. Discomfort as a consequence of the sedation

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Ad1) Although minimal adverse reactions have been reported for each individual component MVA or IL-7 in both human and nonhuman primates and while no adverse reaction were observed in mice for MVA-hIL7-Fc we will stay alert for unanticipated effects.

Ad2) Disorientation and nausea when recovering from the sedation.

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

Ad 1) Animals will be monitored closely by the veterinarian during and after administration of MVA-hIL7-Fc to act quickly on unforeseen events.

Ad 2) Although disorientation cannot be prevented, animals will be fasted overnight before sedation to prevent vomiting.

J. Humane eindpunten

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

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

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

Based on the type of experiment a human endpoint is not expected. Though when severe adverse symptoms are observed, directly the veterinarian will be consulted and appropriate action will be taken. Based on experience, we anticipate a drop out of <1%.

K. Classificatie van ongerief

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

Sedation, injection with MVA-IL7-Fc and blood collection in the context of this pharmacokinetic study are considered mild levels of discomfort. However, the frequency of blood sampling/sedation in the first 24 hrs is considered moderate discomfort. So overall, the level of discomfort will be classified as moderate.

Einde experiment

L. Wijze van doden

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

Nee

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

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

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja

NIET-TECHNISCHE PROJECTSAMENVATTING

Naam van het project	2 Pre-klinische evaluatie in Java apen van een nieuw geneesmiddel voor het herstellen van een slecht werkend afweersysteem.	10
NTS-identificatiecode	NTS-NL-157704 v.1	
Nationale identificatiecode van de NTS <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>		
Land	Nederland	
Taal	nl	
Indiening bij EU <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	ja	
Duur van het project, uitgedrukt in maanden.	24	
Trefwoorden	Niet humane primaten afweersysteem MVA IL7	
Doel(en) van het project	Omzettinggericht en toegepast onderzoek: Verstoringen van het immuunstelsel bij de mens	

DOELSTELLINGEN EN VERWACHTE VOORDELEN VAN HET PROJECT

<p>Beschrijf de doelstellingen van het project (bijvoorbeeld het aanpakken van bepaalde wetenschappelijke onduidelijkheden, of wetenschappelijke of klinische behoeften).</p>	<p>Infectieziekten zoals aids en sepsis en bepaalde vormen van kanker kunnen als gevolg van de ziekte zelf of als gevolg van de behandeling gepaard gaan met een onderdrukking van het afweersysteem. Na een effectieve behandeling van de infectie of kanker zou het afweersysteem zich moeten herstellen en weer normaal moeten gaan werken. Echter, zelfs als de infectie onder controle is en kanker genezen is blijven veel van deze patiënten problemen houden met een slecht werkend afweersysteem, waardoor ze gevoelig blijven voor infecties en het ontwikkelen van kanker. Er blijft er een grote behoefte aan nieuwe strategieën om het slecht werkend immuunsysteem van deze groep patiënten te herstellen. Het middel wat in de huidige studie wordt getest zal in de eerste plaats worden ingezet voor de behandeling van patiënten die de acute fase van een sepsis hebben overleefd. De behandeling is erop gericht om de slechtere werking van het afweersysteem weer te herstellen.</p> <p>Een belangrijk eiwit in het immuunsysteem dat zorgt voor het op peil houden van ons immuunsysteem is interleukine 7 (IL7). Dit eiwit stimuleert de aanmaak en activiteit van belangrijke cellen in het immuunsysteem (T-cellen). IL7 eiwit is werkzaam en veilig gebleken bij aidspatiënten en patiënten met kanker. De behandeling leidde tot de aanmaak en verbeterde werking van belangrijke afweercellen in de afwezigheid van bijwerkingen.</p> <p>In de huidige studie willen we het menselijke IL7 gen (hIL7), gekoppeld aan een stukje van een antilichaam (Fc) voor langere werkzaamheid, met behulp van het veilige MVA-virus (MVA-hIL7-Fc) via het bloed inspuiten bij 4 Java apen. Het gemodificeerde vaccinia Ankara virus (MVA-virus) infecteert cellen die voor een bepaalde tijd het hIL7-Fc eiwit produceren. Het MVA-virus draagt ook bij aan het afweer stimulerende effect van dit product. De werking van dit nieuwe middel is vooraf getest in knaagdieren en veilig en werkzaam bevonden.</p> <p>In het huidige "proof of concept" studie willen we het verloop van de productie van hIL7-Fc in het bloed vaststellen over een periode van 2 weken (farmacokinetiek) na het inspuiten van de maximaal mogelijke dosis MVA-hIL7-Fc en bestuderen of de toediening het verwachte effect heeft op het afweersysteem. Toediening van MVA-hIL7-Fc via de bloedbaan in niet humane primaten is onderdeel van de preklinische ontwikkeling. Deze studie zal, bij voldoende productie van het MVA-hIL7-Fc en gewenste activiteit, gevolgd worden door een Fase-I studie bij mensen.</p>
<p>Welke potentiële voordelen kan dit project opleveren? Leg uit</p>	<p>Het maatschappelijk belang en uiteindelijke doel van dit project is om een nieuwe therapie te ontwikkelen die de afweer op een veilige manier herstelt van mensen die, als gevolg van infectie of</p>

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).

behandeling, last hebben van een slecht werkend immuunsysteem.

Het directe wetenschappelijke belang van dit project is het verkrijgen van informatie over de hoeveelheid hIL7-Fc dat gemaakt zal worden (farmacokinetiek) na toediening van MVA-hIL7-Fc via het bloed waarbij op gezette tijden, tijdens het experiment, bloed zal worden afgenomen om te meten of het geproduceerde hIL7-Fc leidt tot de gewenste vermeerdering en activering van bepaalde cellen (T-cellen) van het afweersysteem (binding van het hIL7-Fc aan T-cellen leidt tot het actief maken van deze cellen en dat kunnen we meten).

Deze therapie met MVA-hIL7-Fc zal in de eerste plaats worden ingezet om mensen te behandelen die de acute fase van een sepsis hebben overleefd en last blijven houden van een slecht werkend afweersysteem. De behandeling met behulp van dit middel moet dan leiden tot herstel van de balans in het afweersysteem en dientengevolge een betere kwaliteit van leven. Het immunologische netwerk dat gereguleerd wordt door IL7 bevat een interne beveiliging waardoor via biologische terugkoppeling de T-cellen niet overactief kunnen worden. Dit draagt bij aan de veiligheid en de bruikbaarheid van het product.

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>De dieren zullen via een injectie in de bloedbaan een enkele dosis van MVA-hIL7-Fc in het bloed ontvangen (< 5 minuten). Voor en na de toediening zal op gezette tijden bloed worden afgenomen. Zowel injectie van MVA-hIL7-Fc als bloedafnames zal onder sedatie worden uitgevoerd.</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>Toediening van het hIL7-Fc gen met behulp van MVA, is nog niet eerder onderzocht in niet humane primaten . De volgende bronnen van ongerief kunnen aanwezig zijn: 1) Reactie op de toediening van MVA-hIL7-Fc. Hoewel er minimale bijwerkingen van tijdelijke aard voor de individuele componenten zijn beschreven in mens en niet humane primaten en er geen bijwerkingen van het MVA-hIL7-Fc is beschreven bij muizen geen kan er toch een onverwachte response zijn waarop we alert moeten zijn. 2) Er kunnen bijwerkingen van de sedatie zoals desoriëntatie en misselijkheid. Om aspiratie na overgeven te voorkomen worden de dieren overnacht gevast.</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>Java-apen (Macaca fascicularis)</td> <td>4</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>4</td> <td>0</td> </tr> </tbody> </table>	Soort:	Totaal aantal	Geraamde aantallen naar ernstgraad				Terminaal	Licht	Matig	Ernstig	Java-apen (Macaca fascicularis)	4	0	0	4	0
Soort:	Totaal aantal			Geraamde aantallen naar ernstgraad													
		Terminaal	Licht	Matig	Ernstig												
Java-apen (Macaca fascicularis)	4	0	0	4	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> <tr> <td>Java-apen (Macaca fascicularis)</td> <td>4</td> <td>0</td> <td>0</td> </tr> </tbody> </table>	Soort:	Geraamd aantal te hergebruiken, in het habitat-/houderijsysteem terug te plaatsen of voor adoptie vrij te geven dieren			Hergebruikt	Teruggeplaatst	Geadopteerd	Java-apen (Macaca fascicularis)	4	0	0					
Soort:	Geraamd aantal te hergebruiken, in het habitat-/houderijsysteem terug te plaatsen of voor adoptie vrij te geven dieren																
	Hergebruikt	Teruggeplaatst	Geadopteerd														
Java-apen (Macaca fascicularis)	4	0	0														
<p>Geef de redenen voor het geplande lot van de dieren na de procedure.</p>	<p>In de huidige studie zullen 4 Java apen een eenmalige toediening van MVA-hIL7-Fc krijgen waarna er een tijdelijke productie (< 2 weken) van het hIL7-Fc eiwit zal plaatsvinden. Er zal slecht op gezette tijdstippen bloed worden afgenomen voor het bepalen van hIL7-Fc concentraties in het bloed en het stimulerende effect op cellen van het afweersysteem. Deze procedures, het toedienen van het nieuwe middel en het op zette tijden bloed afnemen, valt onder licht ongerief. Echter de frequentie van bloedafnames (5x) in de eerste 24 uur wordt ingeschaald als matig ongerief. Dus de mate van ongerief wordt ingeschaald op matig. Tevens is dit middel, MVA-hIL7-Fc, als zeer veilig geregistreerd bij het bureau voor genetisch gemodificeerde organismen (GGO; classificatie van DM-I, de laagste, meest veilige GGO-classificatie). Op basis van deze twee overwegingen kunnen de dieren mogelijk na dit experiment nog worden ingezet in een ander experiment.</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.

Er is geen proefdiervrij alternatief om de complexe interactie van deze therapie met de verschillende afweercellen goed te kunnen bestuderen. Daarvoor is een intact afweersysteem in een dier noodzakelijk. Het huidige middel (MVA-hIL7-Fc) is alleen nog maar getest in muizen waar het veilig en effectief is bevonden. Nieuwe behandelingen die een effect hebben op het afweersysteem dienen, voor dat ze gebruikt gaan worden bij mensen en naast dat ze getest zijn in knaagdieren, ook in een ander (niet een knaagdier) relevante diersoort getest te worden. Deze soort moet zowel gevoelig zijn voor het effect van de nieuwe therapie als voor de mogelijke bijwerking. Niet humane primaten, waaronder de Java apen, zijn qua complexiteit, immunologie en genetische opmaak vergelijkbaar met de mens en zeer relevant om behandelingen te testen die een effect hebben op het afweersysteem. Speciaal in relatie tot de componenten die in het huidige middel worden gebruikt om het afweersysteem te herstellen, het hIL7 en het daaraan gekoppelde Fc eiwit, is de niet humane primate, waaronder de Java aap, erg gelijkend op die van de mens. Een ander argument is dat de middelen die wij nodig hebben om het effect van de behandeling te analyseren, zowel voor het bepalen van de concentratie van het hIL7-Fc in het bloed (farmacokinetiek) als voor de effecten op het immuunsysteem (proliferatie en activatie van afweercellen), vooral zijn ontwikkeld voor de analyse bij mensen. Door de evolutionaire verwantschap met mensen kunnen wij juist deze stoffen ook inzetten bij de analyse van de effecten op het afweersysteem van niet humane primaten. Er wordt specifiek voor de Java aap gekozen omdat het effect van hIL7 in Java apen een beter effect hadden dan in resus apen. Daarbij kan ook nog vermeld worden dat de verplichte toxicologische proeven die uitgevoerd worden (niet bij ons instituut) om de veiligheid van dit middel te onderbouwen zal worden uitgevoerd in Java apen en het daarom relevant is de huidige pilotstudie in dezelfde soort uit te voeren.

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.

In het huidige experiment zal één dosis worden gebruikt. Om de variatie tussen verschillende dieren te ondervangen om zo een realistische inschatting te maken van hoeveelheden IL7-Fc die gemaakt gaan worden en het effect wat dit zal hebben op het immuunsysteem zullen 4 gezonde Java apen worden ingezet. Daar dit een studie is waarbij we het principe willen aantonen ("Proof of Concept" studie) dat toediening van MVA-hIL7-Fc de bedoelde effecten laat zien in afwezigheid van onverwachte bijwerkingen, zal in het huidige experiment in Java apen worden ingezet van één geslacht, wat het gebruik van het aantal dieren vermindert.

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 dieren zullen bij de toediening van MVA-hIL7-Fc goed in de gaten worden gehouden om tijdig te kunnen ingrijpen bij onverwachte acute verschijnselen. Het aantal bloedafnames en de hoeveelheid afgenomen bloed wordt tot een minimum beperkt. Pijnstilling, welke geen invloed heeft op de werking van het MVA-hIL7-Fc, wordt toegepast bij afwijkingen op de plek van injectie en in alle andere gevallen waar nodig. Welzijn: Tijdens de studie zullen de dieren dagelijks worden geobserveerd door gekwalificeerde en ervaren diervverzorgers met behulp van een digitale scorelijst. Mochten er veranderingen optreden in gedrag, eetlust, of ontlasting, dan worden de dierenarts en de onderzoeker hiervan op de hoogte gesteld, waarna de dieren adequaat zullen worden behandeld.

de mechanismen om gedurende de looptijd van het project nieuwe verfijningstechnieken in gebruik te nemen.

Licht de keuze van de soorten en de bijbehorende levensstadia toe

De werking van dit nieuwe middel is vooraf getest in knaagdieren en veilig en werkzaam bevonden. Echter, alleen het afweersysteem van niet humane primaten, waaronder de Java apen, bezit een complexiteit en bijbehorende regulatie, die vergelijkbaar is aan die van de mens waardoor het een zeer relevant model is om behandelingen te testen die een effect hebben op het afweersysteem. Speciaal in relatie tot de componenten die in het huidige middel worden gebruikt om het afweersysteem te herstellen, het hIL7 en het daaraan gekoppelde Fc eiwit, is de niet humane primate, waaronder de Java aap, erg gelijkend op die van de mens. Een ander argument is dat de middelen die wij nodig hebben om het effect van de behandeling te analyseren, zowel voor het bepalen van de concentratie van het hIL7-Fc in het bloed (farmacokinetiek) als voor de effecten op het immuunsysteem (proliferatie en activatie van afweercellen), vooral zijn ontwikkeld voor de analyse bij mensen. Door de evolutionaire verwantschap met mensen kunnen wij juist deze stoffen ook inzetten bij de analyse van de effecten op het afweersysteem van niet humane primaten. Er wordt specifiek voor de Java aap gekozen omdat het effect van hIL7 in Java apen een beter effect hadden dan in resus apen. Daarbij kan ook nog vermeld worden dat de verplichte toxicologische proeven die uitgevoerd worden (niet bij ons instituut) om de veiligheid van dit middel te onderbouwen zal worden uitgevoerd in Java apen en het daarom relevant is de huidige pilotstudie in dezelfde soort uit te voeren.

VOOR EEN BEOORDELING ACHTERAF GESELECTEERD PROJECT

Project geselecteerd voor BA?	ja
Termijn voor BA	31-12-2022
Reden voor de beoordeling achteraf	
Bevat ernstige procedures	
Maakt gebruik van niet-menselijke primaten	ja
Andere reden	
Toelichting van de andere reden voor de beoordeling achteraf	

AANVULLENDE VELDEN

Nationaal veld 1 <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
Nationaal veld 2 <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
Nationaal veld 3 <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
Nationaal veld 4 <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
Nationaal veld 5 <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
Startdatum project <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
Einddatum project <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
Goedkeuringsdatum project <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
ICD-code 1 <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
ICD-code 2 <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
ICD-code 3 <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
Link naar de eerdere versie van de NTS buiten het EC-systeem	

10.2.e

Van: 10.2.e
Verzonden: dinsdag 6 april 2021 15:03
Aan: 10.2.e
Onderwerp: RE: 2de controle 10.2.g 2021 14486

13

Held ben je.

Van: 10.2.e @rvo.nl>
Verzonden: dinsdag 6 april 2021 15:02
Aan: 10.2.e @rvo.nl>
Onderwerp: RE: 2de controle 10.2.g 2021 14486

12

Gedaan. Ik heb de NTS als PDF bijgevoegd.

Van: 10.2.e @rvo.nl>
Verzonden: dinsdag 30 maart 2021 14:11
Aan: 10.2.e @rvo.nl>
Onderwerp: 2de controle 10.2.g 2021 14486

11

Wil je 14486 controleren? Ik heb het wachtwoord van de PDF documenten afgehaald. Bij dat rottige Excel bestand van de NTS lukt het me dus gewoon niet. Ik heb zelfs filmpjes gekeken hoe dat dan moet maar dan komen ze met opties waar ik niet uit kan kiezen. Dus dat moet je, als ware ICT girl, maar eens aan me laten zien. Het wachtwoord is 10.2.g.

10.2.g



Advies aan CCD

Datum 06 april 2021
Betreft Advies Secretariaat over Aanvraag projectvergunning Dierproeven AVD202114486

Instelling: 10.2.g
Onderzoeker: 10.2.e
Project: Evaluation of pharmacokinetics and immunological activity of MVA-IL7-Fc after a single intravenous administration in macaques
Aanvraagnummer: AVD202114486
Betreft: Nieuwe aanvraag
Categorieën: Translationeel of toegepast onderzoek

1 Inzicht in aanvraag en de eventuele knelpunten en risico's

Proces	Er zijn geen vragen gesteld aan de DEC. Aan de aanvrager is gevraagd over de NTS: U spreekt bij the reasons of the planned fate of the animals over mild ongerief. Kunt u dit aanpassen in licht ongerief? Daarnaast is bij de een na laatste zin onder dit kopje (tevens is dit middel... de laatste GGO classificatie) niet helder navolgbaar voor een leek waarom de dieren dan kunnen worden hergebruikt. Kunt u dit beter uitleggen? Bij het kopje replacement zegt u 'verdere specifieke rechtvaardiging voor het gebruik van NHP en Java apen in het bijzonder vindt plaats onder 4.3'. Het is niet helder waar 4.3 naar verwijst in deze zin. Kunt u dit uitleggen?			
Naam proef	Diersoort	Stam	Aantal dieren	Herkomst
3.4.4.1. Evaluation of pharmacokinetics and immunological activity of MVA-IL7-Fc after a single intravenous administration in cynomolgus monkeys				
	Java-apen (Macaca fascicularis)		4	Niet menselijke primaten

Gebruik van mannelijke en vrouwelijke dieren

3.4.4.1. Evaluation of pharmacokinetics and immunological activity of MVA-IL7-Fc after a single intravenous administration in cynomolgus monkeys

Java-apen (Macaca fascicularis)

Citaat: As this is a proof of concept study we will perform the study in a single sex group thereby minimizing the number of animals.

Locatie uitvoering experimenten	- Alle proeven vinden plaats in een instelling van een vergunninghouder. - Er zijn geen problemen bekend met de vergunninghouder.
Maatschappij	11.1

2 DEC advies

DEC-advies	<p>Het DEC advies is volledig en kan als grondslag dienen voor het besluit.</p> <p>Citaat C9: Gebruik van niet menselijke primaten en hergebruik van de dieren. De keuze voor deze diersoort is gebaseerd op de overeenkomsten van het (zeer complexe) immuunsysteem van mens en niet human primaten. MVA-hIL7-Fc is een virale vector die het humane IL7 produceert gekoppeld aan een humaan Fc eiwit. Door de gelijkenissen tussen het humane en makaak immuunsysteem zal het experiment in Java apen de meest betrouwbare voorspelling opleveren voor hoe MVA-hIL7-Fc zich in de mens zal gedragen. Een toxiciteits studie zal eveneens in Java apen worden uitgevoerd, maar valt buiten het kader van deze aanvraag.</p> <p>Hergebruik is mogelijk en wenselijk vanwege de lange levensduur van de dieren, het feit dat ze met oog op gebruik in onderzoek zijn gefokt, en hun adaptatie aan de plaatselijke omstandigheden. Hergebruik zal plaatsvinden binnen de wettelijke kaders beschreven in de Wet op de Dierproeven. Het gebruik van de MVA-vector staat hergebruik niet in de weg aangezien dit een niet replicerend virus is dan na korte tijd niet meer aanwezig is in de dieren. De DEC is het eens met hergebruik van de dieren om deze redenen.</p> <p>Citaat C14: De aanvrager heeft voldoende aannemelijk gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn. PK/PD karakteristieken kunnen alleen in een intact dier worden onderzocht. De keuze voor de Java aap is gebaseerd op de grote gelijkenis van het immuunsysteem tussen aap en mens (zie ook C9) en op het feit dat (wettelijk vereiste) toxiciteitsstudie in dezelfde apensoort worden uitgevoerd.</p>
-------------------	--

Citaat C18: In onderhavige projectaanvraag worden dieren van één geslacht gebruikt. De onderzoeker geeft aan dat gebruik van beide geslachten binnen één proef de betrouwbaarheid van de resultaten doet verminderen. Door dieren van hetzelfde geslacht te nemen zal de variatie in de uitkomsten tussen de dieren zo klein mogelijk zijn en dit zal de variatie in de uitkomst parameters verkleinen. Er is geen sprake van overschotten.

Ethische afweging van de DEC:

Citaat:

1. Rechtvaardigt het belang van het testen MVA-hIL7-Fc op PK/PD karakteristieken in apen, het ongerief dat de dieren daardoor wordt aangedaan en is bij de uitvoering van deze experimenten aan alle zorgvuldigheidseisen (3V's) voldaan? Is het gebruik van niethumane primaten in dit geval gerechtvaardigd of kan de gewenste informatie ook verkregen worden door het inzetten van andersoortige proefdieren, andere onderzoek modellen of patiënten?

2. Vier (4) Java apen zullen matig ongerief ondergaan. Voor de proefdieren zijn integriteit, welzijn en de autonomie in het geding, door de dieren handelingen met een wetenschappelijk doel te laten ondergaan. Het betreft dieren waarbij MVA-hIL7-Fc wordt toegediend en waarbij regelmatig bloed wordt afgenomen. De welzijnsaantasting kan resulteren in ongerief door het bijkomen uit narcose na elke handeling. Ongerief en lijden zal zo veel mogelijk worden beperkt. De herhaalde bloedafnames in kort tijd resulteren in matig ongerief voor de dieren.

De waarde voor de patiënten en de samenleving is het op termijn beschikbaar komen van een middel dat het immuunsysteem stimuleert bij patiënten die door hun onderliggende ziekte een verzwakt immuunsysteem hebben. IL7 is al gebleken een effectief middel hiervoor te zijn. Echter de halfwaardetijd van dit cytokine is relatief kort waardoor herhaalde toedieningen noodzakelijk zullen zijn. Door dit cytokine te koppelen aan een Fc gedeelte van een immuunglobuline en het via de MVAvector in het lichaam tot expressie te brengen kan deze halfwaardetijd aanzienlijk vergroot worden. Hierdoor kan het effect van het stimuleren van het immuunsysteem beter worden. De patiënten zullen hier veel baat bij hebben. Voor de producent van MVA-hIL7-Fc is het op de markt brengen van een geneesmiddel van economisch belang. Echter het belang voor de patiënten overstijgt dit belang.

3. De DEC is overtuigd van het belang van de doelstelling: het testen

MVA-hIL7-Fc op PK/PD karakteristieken in apen. Het uiteindelijke doel is het ontwikkelen van een werkzame farmacologische behandeling voor patiënten met ziekten waarbij het immuunsysteem verzwakt is. Deze patiënten zijn zeer bevattelijk voor infecties waardoor ze gedurende lange periodes daarvoor behandeld moeten worden. Voordat MVA-hIL7-Fc toegepast kan worden bij patiënten dient bekend te zijn hoe lang dit middel in het lichaam aantoonbaar is en of het inderdaad een effect heeft op het immuunsysteem. Het ongerief voor de proefdieren is beperkt tot een aantal bloedafnames na toediening van het middel en er zullen voor deze dieren geen lange termijn effecten zijn. Doordat de dieren hun eigen controle zijn (ten op zichte van de bloedwaarden voordat het middel wordt gegeven) kan met een klein aantal dieren voldoende informatie worden verkregen. De commissie is overtuigd van de kwaliteit van het onderzoek en de uitvoering hiervan. De aanvrager heeft voldoende aannemelijk gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn, dat het doel niet met minder dieren behaald kan worden, dat de gebruikte aanpak de meest verfijnde is en dat voorkomen wordt dat mens, dier en milieu onbedoelde negatieve effecten zullen ondervinden als gevolg van de dierproeven. De DEC is samenvattend van mening dat aan alle zorgvuldigheidseisen omtrent de 3 V's en de kwaliteit van het onderzoek is voldaan en dat het hierboven genoemde belang voor de samenleving als geheel het schaden van de belangen van de proefdieren (om gevrijwaard te blijven van een aantasting van welzijn en integriteit) rechtvaardigt.

De DEC heeft extern advies ingewonnen bij

- de aanvrager is om aanvullingen gevraagd

Er zijn vragen gesteld over:

- Doelgroep van MVA-hIL7-Fc
- Effecten bij het gebruik van MVA-hIL7-Fc dieren waarbij geen sprake is van een verstoord immuunsysteem
- Onderbouwing duur van de studie
- Positionering van de studie in het ontwikkeltraject van MVA-hIL7-Fc
- Onderbouwing keuze voor dieren met normaal immuunsysteem
- Onderbouwing keuze voor niet human primaten
- Relevantie sepsis model bij muizen onderzoek
- Herhaling
- Frequentie bloedafnames
- Statistische onderbouwing aantallen dieren
- Onderbouwing gebruikt java apen

	<ul style="list-style-type: none"> • Welzijnsmonitoring • Beschrijving pijn en andere bronnen van ongerief • Ongeriefsinschatting • Aanpassingen aan de NTS <p>Het DEC advies is Positief</p> <p>Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.</p>
--	---

3 Kwaliteit DEC advies

Kwaliteit DEC-advies	
<p>Het DEC advies is helder en navolgbaar. In het DEC advies is op heldere wijze inzicht gegeven in de vragen die aan de aanvrager zijn gesteld.</p> <p>U benoemt bij vraag C18 het gebruik van 1 geslacht, maar geeft hierin niet de mening van de DEC weer. De ethische afweging volgt op logische wijze uit de beantwoording van de C vragen.</p>	

4 Inhoudelijke beoordeling

Doelstelling	
Doelstelling	<p>Citaat: The ultimate goal of this project is to obtain a new therapeutic compound stimulating both the adaptive and innate part of the immune system thereby restoring immune function in patients who, as a consequence of infection or treatment, had an impaired immune system. The direct aim of the current study is to determine the pharmacokinetics of hIL7-Fc after intravenous injection of a single dose of MVA-hIL7-Fc with a follow-up of 2 weeks after injection. In addition, we want to analyse the biological effect of the hIL7-Fc production on the proliferation of T cells and other immune cell types in the blood and determine the effect on the functionality of T cells.</p>

Wetenschappelijk en maatschappelijk belang	<p>Citaat: Scientific/Translational impact: Treatment with IL7 have been found effective and safe in different patient groups. However, the new mode of delivery (IL7-Fc fusion gene with MVA) which adds to the therapeutic effect of the compound (MVA-IL7-Fc) and providing prolonged production of IL7-Fc can open up a new therapeutic strategy in delivering other immunomodulatory compounds with a short half-life. The current study will provide information on the levels of hIL7-Fc after administration of MVA-IL7-Fc and on the immunological activity of the MVA-IL7-Fc compound, that will inform further clinical development of this compound for the treatment of patients with an impaired immune system.</p> <p>Societal impact: Different diseases, like infectious diseases and cancer can cause severe immune suppression, either caused by the disease or as a consequence of the treatment. Moreover, even after effective treatment, many of these patients are confronted with an impaired immune system for a long period of time. Resulting in increased susceptibility for common infections and a greater chance of recurring cancer. For this reason, these patients would benefit from strategies/therapies restoring immune function. MVA-IL7-Fc evaluated in the current proposal, has the potential to restore immune function of both the adaptive and innate immune system.</p>
Onderbouwing wetenschappelijk en maatschappelijk belang	11.1
Wetenschappelijke kwaliteit Kwaliteit aanvrager/onderzoeksgroep en onderzoek	Citaat C7 uit het DEC advies: De onderzoeksgroep heeft een ruime ervaring met het evalueren van immunomodulerende stoffen bij apen en uitgebreide ervaring met het verrichten van PK/PD studies in niet-humane primaten. Het Secretariaat 11.1

3V's

Vervanging	<p>3.4.4.1. Evaluation of pharmacokinetics and immunological activity of MVA-IL7-Fc after a single intravenous administration in cynomolgus monkeys: Citaat: We have first tested in vitro that the compound mediates the expected immunoregulatory effect on blood cells by flowcytometry. In mice, the equivalent dose of MVA-IL7-Fc injected in this experiment was found to be safe and effective in a mouse model of sepsis after treatment with MVA-hIL7-Fc as compared to mice treated with MVA alone.</p> <p>However, further in vivo studies are needed for new drugs (i.c. MVA-hIL7-Fc), especially biopharmaceutical compounds, that have an effect on the immune system in a relevant non-rodent species before it can be used in human. This species has to be sensitive for the intended action of the therapy as well as the possible sideeffects. In this way we can obtain relevant information on safety after intravenous administration of this compound, actual serum levels of hIL7-Fc that will be produced after administration of MVA-hIL7-Fc and what the effect of MVA-IL7-Fc on the immune system will be. The immune system in nonhuman primates display a similar complexity as the human immune system, is well characterized and has the required immunological tools for a good analysis of the immunological activity of MVA-IL7-Fc. Currently, there are no alternatives in vitro or in silico for pk studies of these new compounds.</p>
Verminderen	<p>3.4.4.1. Evaluation of pharmacokinetics and immunological activity of MVA-IL7-Fc after a single intravenous administration in cynomolgus monkeys: Citaat: The study will be performed in a stacked manner. To forestall on unforeseen acute adverse responses, first 1 animal will receive a dose of the compound This animal will be monitored for any acute adverse reaction to the administration of the MVA-hIL7-Fc for 24 hrs. In consultation with the veterinarian we will decide to proceed with the remaining three animals. Only the minimum number of animals needed will be used. As this is a proof of concept study the study will be performed in a single sex thereby minimizing the number of animals. To obtain relevant pharmacokinetics and allow for possible variation of the effect of the compound on the immune system the study will be carried out in 4 animals.</p>

Verfijnen	
	<p>3.4.4.1. Evaluation of pharmacokinetics and immunological activity of MVA-IL7-Fc after a single intravenous administration in cynomolgus monkeys: Citaat: Supplementary nutritious and calorie-rich diet is administered (via gavage) when animals are sedated daily for blood sampling. The gavage is given during the sedation for a period of seven days. This reduces the possible negative effects of fasting for the purpose of frequent sedation. The number of blood samplings, and the collected volumes of blood are reduced to a minimum. All observations will be documented and registered in a clinical scoring form which is part of the digital database at the institute. In the context of this pharmacokinetic study we would like to introduce the remote monitoring of the behaviour of the animals, in the first 24 hrs and on indication of abnormal behaviour, by placing video cameras in the stable.</p>

Hergebruik	Er is sprake van hergebruik van dieren.
<p>3.4.4.1. Evaluation of pharmacokinetics and immunological activity of MVA-IL7-Fc after a single intravenous administration in cynomolgus monkeys: Citaat: Animals to be used in these experiments may have been used in other studies provided that they did not previously receive the viral vector MVA, an immunomodulatory compound (like IL7) or human antibody (responding to the Fc part of the compound). The current MVA-hIL7-Fc construct has been graded by the GMO office as being level "DM-I" and "ML-I". It is a non-replicative virus and after 6 months the system will be cleared from the virus. The expression of hIL7-Fc is transitory. However, the discomfort classification of moderate, might interfere with the reuse of those animals. I would not recommend to reuse these animals for an experiment in which MVA is involved. Given the long lifespan of this species reuse will take place in the legal framework described in art. 1 of the law on animal testing.</p>	

Naam proef	Worden de dieren gedood?	Doden volgens richtlijn?
3.4.4.1. Evaluation of pharmacokinetics and immunological activity of MVA-IL7-Fc after a single intravenous administration in cynomolgus monkeys	Nee	

Naam proef		
3.4.4.1. Evaluation of pharmacokinetics and immunological activity of MVA-IL7-Fc after a single intravenous administration in cynomolgus monkeys	HEP: Worden niet verwacht	
Java-apen (Macaca fascicularis)	Ongerief: 100,0% Matig	

5 Samenvatting

Het projectvoorstel bevat voldoende informatie over het belang van het onderzoek, de strategie, de 3V's en het ongerief om tot een oordeel te kunnen komen. Het advies van de DEC kan hieraan ten grondslag liggen.

Dit onderzoek is een deel van een pre-klinische evaluatie bij de toediening van MVA-hIL7-Fc , en zal een go/no-go moment vormen.

In de aanvraag zal gebruik worden gemaakt van niet humane primaten. De DEC vindt de keuze voor het diermodel voldoende onderbouwd 11.1

De aanvrager zal gebruik maken van maar 1 geslacht dieren. 11.1
Er is geen sprake van een fokoverschot.

De dieren kunnen in een eerder onderzoek zijn gebruikt, en kunnen na afloop voor hergebruik bestemd worden. De DEC vindt dit voldoende onderbouwd 11.1

6 Voorstel besluit incl. voorstel geldigheidsduur van de vergunning

11.1

Beoordeling achteraf

In dit project worden dierproeven toegepast waarbij niet-menselijke primaten worden gebruikt. Daarom bent u verplicht om na afloop van de vergunning in een Beoordeling achteraf over uw project te rapporteren. Deze beoordeling zal uiterlijk mei 2024 plaatsvinden. Er zal dan conform artikel 10a2, derde lid van de wet, beoordeeld worden of de doelstellingen van het project werden bereikt.

De ingangsdatum van de vergunning kan niet voor de verzenddatum van de beschikking zijn en zal indien van toepassing aangepast worden. Dit is ook het geval bij een voorgenomen besluit.

7 Concept beschikking voor akkoord CCD

10.2.e

Van: info@zbo-ccd.nl
Verzonden: dinsdag 6 april 2021 15:46
Aan: 10.2.e en 10.2.g
CC:
Onderwerp: Aanhouden AVD 10.2.g 202114486

15

Geachte 10.2.e

Op 09-02-2021 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Evaluation of pharmacokinetics and immunological activity of MVA-IL7-Fc after a single intravenous administration in macaques" met aanvraagnummer AVD 10.2.g 202114486. 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

U spreekt bij the reasons of the planned fate of the animals over mild ongerief. Kunt u dit aanpassen in licht ongerief? Daarnaast is bij de een na laatste zin onder dit kopje (tevens is dit middel... de laatste GGO classificatie) niet helder navolgbaar voor een leek waarom de dieren dan kunnen worden hergebruikt. Kunt u dit beter uitleggen?

Bij het kopje replacement zegt u 'verdere specifieke rechtvaardiging voor het gebruik van NHP en Java apen in het bijzonder vindt plaats onder 4.3'. Het is niet helder waar 4.3 naar verwijst in deze zin. Kunt u dit uitleggen?

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

10.2.e

www.centralecommissiedierproeven.nl

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

T: 0900 2800028
E: info@zbo-ccd.nl

Onderwerp: Respons op de vragen van CCD behorende bij de aanvraag projectvergunning
dierproeven AVD 10.2.g 202114486
Datum: 12-04-2021

Beste CCD,

Bijgevoegd vindt U een puntsgewijze beantwoording van uw vragen/opmerkingen.

- In antwoord op de opmerking van de CCD is "mild" in "licht" gecorrigeerd: "Deze procedures, het toedienen van het nieuwe middel en het op zette tijden bloed afnemen, valt onder *licht* ongerief. Echter de frequentie van bloedafnames (5x) in de eerste 24 uur wordt ingeschaald als matig ongerief. Dus de mate van ongerief wordt ingeschaald op matig."

- Ter verduidelijking is de volgende tekst toegevoegd: "Omdat er een virus gebruikt wordt (het MVA-virus) voor het toedienen van de actieve stof hIL7-Fc zou dat mogelijk hergebruik in de weg kunnen staan. Echter, dit virus is een aangepast virus wat zich niet kan vermeerderen en maar korte tijd in het dier aanwezig is. Het middel, MVA-hIL7-Fc, wordt daarom als zeer veilig beschouwd door het bureau voor genetisch gemodificeerde organismen (GGO; classificatie DM-I, de laagste, meest veilige GGO-classificatie). Op basis van het matige ongerief en de veiligheid van het gebruikte middel kunnen de dieren mogelijk na dit experiment nog worden ingezet in een ander experiment."

- De zinsnede "Verdere specifieke rechtvaardiging voor het gebruik van niet humane primaten en Java apen in het bijzonder vindt plaats onder 4.3." is een slordigheid mijnerzijds.

Ik heb de volgende sectie ingevoegd ter verduidelijking: "Speciaal in relatie tot de componenten die in het huidige middel worden gebruikt om het afweersysteem te herstellen, het hIL7 en het daaraan gekoppelde Fc eiwit, is de niet humane primate, waaronder de Java aap, erg gelijkend op die van de mens. Een ander argument is dat de middelen die wij nodig hebben om het effect van de behandeling te analyseren, zowel voor het bepalen van de concentratie van het hIL7-Fc in het bloed (farmacokinetiek) als voor de effecten op het immuunsysteem (proliferatie en activatie van afweercellen), vooral zijn ontwikkeld voor de analyse bij mensen. Door de evolutionaire verwantschap met mensen kunnen wij juist deze stoffen ook inzetten bij de analyse van de effecten op het afweersysteem van niet humane primaten. Er wordt specifiek voor de Java aap gekozen omdat het effect van hIL7 in Java apen een beter effect hadden dan in resus apen. Daarbij kan ook nog vermeld worden dat de verplichte toxicologische proeven die uitgevoerd worden (niet bij ons instituut) om de veiligheid van dit middel te onderbouwen zal worden uitgevoerd in Java apen en het daarom relevant is de huidige pilotstudie in dezelfde soort uit te voeren."

Deze verdere specifieke rechtvaardiging voor het gebruik van niet humane primaten en Java apen is ook beschreven in de sectie "Explain the choice of species and the related life stages."

Ik hoop hiermee voldoende verduidelijking te hebben gegeven

Met vriendelijke groet

10.2.e

10.2.e

10.2.e

Van: info@zbo-ccd.nl
Verzonden: vrijdag 16 april 2021 15:49
Aan: 10.2.e en 10.2.g
CC:
Onderwerp: Aanhouden AVD^{10.2.g}202114486

17

Geachte 10.2.e

Op 09-02-2021 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Evaluation of pharmacokinetics and immunological activity of MVA-IL7-Fc after a single intravenous administration in macaques" met aanvraagnummer AVD^{10.2.g}202114486. 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:

Onduidelijkheden

U geeft in uw onderzoek aan enkel gebruik van mannelijke dieren te maken om zo te voorkomen dat er meer aantallen dieren nodig zijn. U geeft hierbij aan dat de dieren in uw onderzoek worden hergebruikt. Hierdoor zal het aantal dieren in totaal bij uw instituut niet groter worden wanneer u ook vrouwelijke dieren inzet. Daarbij is uw onderzoek translationeel van aard. Kunt u, afgezien van de dierenaantallen wat omlaag gaat door het gebruik van 1 geslacht, onderbouwen waarom er geen vrouwen zullen worden ingezet?

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

10.2.e
www.centralecommissiedierproeven.nl

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

T: 0900 2800028
E: info@zbo-ccd.nl

Onderwerp: Respons op de vraag van CCD behorende bij de aanvraag projectvergunning
dierproeven AVD 10.2.g 202114486
Datum: 19-04-2021

Beste CCD,

Bijgevoegd vindt U een puntsgewijze beantwoording van uw vraag/opmerking.

Onduidelijkheden

Opmerking CCD: U geeft in uw onderzoek aan enkel gebruik van mannelijke dieren te maken om zo te voorkomen dat er meer aantallen dieren nodig zijn. U geeft hierbij aan dat de dieren in uw onderzoek worden hergebruikt. Hierdoor zal het aantal dieren in totaal bij uw instituut niet groter worden wanneer u ook vrouwelijke dieren inzet. Daarbij is uw onderzoek translationeel van aard. Kunt u, afgezien van de dieraantallen wat omlaag gaat door het gebruik van 1 geslacht, onderbouwen waarom er geen vrouwen zullen worden ingezet?

• U geeft aan dat er in de aanvraag sprake is van het gebruik van mannelijke dieren. En vervolgt met de vraag waarom er geen vrouwelijke dieren zullen worden ingezet.

Antwoord: Ik ben nog eens door mijn aanvraag heengegaan maar ik heb nergens aangegeven dat ik specifiek mannelijke dieren wil inzetten. Ik heb aangegeven dat ik dieren van een enkel geslacht (single sex) wil inzetten (vrouwen of mannen). In deze "proof of concept" studie willen we vaststellen dat er een detecteerbare productie van het hL7-Fc eiwit is met een bijbehorende immuun regulerende activiteit. Daarbij zijn beschikbaarheid van de dieren (man of vrouw) en voldoende gewicht, voor de opgevoerde bloedafnames, belangrijke voorwaarden.

Ik hoop hiermee voldoende verduidelijking te hebben gegeven

Met vriendelijke groet

10.2.e

10.2.e

10.2.e

Van: 10.2.e @rvo.nl> namens
Info-zbo <info@zbo-ccd.nl>
Verzonden: woensdag 21 april 2021 10:56
Aan: 'info@zbo-ccd.nl'; Braunstahl, drs. F. (Ferry); 10.2.e
Onderwerp: RE: Ondertekening AVD 10.2.g 202114486

20

Als 1 van jullie toevallig nog een blik in het systeem werpt op zijn vrije dag (je weet maar nooit), deze aanvraag zit vandaag aan de 40 werkdagen, morgen is hij er 1 dag overheen. Dus als een van jullie nog kan tekenen dan zou dat leuk zijn. Anders is het pech.

Groetjes 10.2.g

Van: info@zbo-ccd.nl
Verzonden: dinsdag 20 april 2021 10:51
Aan: Braunstahl, drs. F. (Ferry); 10.2.e
CC: 10.2.e
Onderwerp: Ondertekening AVD 10.2.g 202114486

19

Aanvraag AVD 10.2.g 202114486 staat klaar ter ondertekening.
Het betreft een nieuwe aanvraag.

10.2.e

De Rijksdienst voor Ondernemend Nederland (RVO.nl) stimuleert Duurzaam, Agrarisch, Innovatief en Internationaal ondernemen.

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.

10.2.e

Van: info@zbo-ccd.nl
Verzonden: woensdag 21 april 2021 18:14
Aan: Secretariaat OBDA
CC: 10.2.e
Onderwerp: Ondertekening AVD 10.2.g 202114486 akkoord
Categorieën: 10.2.e

21

Beste 10.2.e,

De beschikking van aanvraag AVD 10.2.g 202114486 is ondertekend.
Het betreft een nieuwe aanvraag.

Ferry Braunstahl

10.2.e

Van: 10.2.e namens Info-zbo
Verzonden: donderdag 22 april 2021 10:06
Aan: 10.2.e en 10.2.g
CC:
Onderwerp: Beschikking en DEC advies AVD^{10.2.g}2021144486
Bijlagen: AVD^{10.2.g}2021144486 Advies (25-03-2021).pdf; Beschikking AVD^{10.2.g}2021144486.pdf

22

Geachte 10.2.e

In de bijlage treft u het besluit op uw digitaal ontvangen aanvraag voor een projectvergunning.

Gedurende de behandeling van uw aanvraag hebben wij hierover met u per e-mail gecorrespondeerd. Op uw verzoek hebben wij de verantwoordelijk onderzoeker uit uw organisatie in de CC gezet.

Met vriendelijke groet,

10.2.e

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

.....
Postbus 93118
2509 AC Den Haag
T: 0800-7890789
E: info@zbo-ccd.nl



> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag

10.2.e en 10.2.g

**Centrale Commissie
Dierproeven**
Postbus 93118
2509 AC Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD10.2.g202114486
Bijlagen
3

Datum 22 april 2021

Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte 10.2.e

Op 9 februari 2021 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Evaluation of pharmacokinetics and immunological activity of MVA-IL7-Fc after a single intravenous administration in macaques" met aanvraagnummer AVD10.2.g202114486. 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 1 mei 2021 tot en met 1 mei 2023. Aan de vergunning hebben wij de volgende voorwaarde verbonden op grond van artikel 10a1, tweede lid van de wet.

Beoordeling achteraf

In dit project worden dierproeven toegepast waarbij niet-menselijke primaten worden gebruikt. Daarom bent u verplicht om na afloop van de vergunning in een Beoordeling achteraf over uw project te rapporteren. Deze beoordeling zal uiterlijk mei 2024 plaatsvinden. Er zal dan conform artikel 10a2, derde lid van de wet, beoordeeld worden of de doelstellingen van het project werden bereikt.

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

Procedure

Datum:
22 april 2021
Aanvraagnummer:
AVC10.2.g.202114486

Advies dierexperimentencommissie

Wij hebben advies gevraagd bij de dierexperimentencommissie 10.2.g (hierna: DEC). Dit advies is ontvangen op 25 maart 2021. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, derde lid van de wet.

Nadere vragen aanvrager

Op 6 april 2021 en 16 april 2021 hebben wij u om aanvullingen gevraagd. U heeft tijdig antwoord gegeven. Het verzoek om aanvullingen had betrekking op het aanpassen van de Niet Technische Samenvatting en een onderbouwing van het gebruik van de geslachten. 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.

Beoordeling achteraf

Na afloop van het project moet er een beoordeling plaatsvinden zoals bedoeld in artikel 10a1, eerste lid, onder d van de wet. Deze beoordeling zal uiterlijk mei 2024 plaatsvinden. Meer informatie over de eisen die gesteld worden bij de beoordeling achteraf vindt u in de bijlage 'Weergave wet- en regelgeving'.

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.

Datum:
22 april 2021
Aanvraagnummer:
AVD 10.2.g 202114486

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: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:

10.2.g

drs. F. Braunstahl
Algemeen Secretaris

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:

Adres:

Postcode en plaats:

Deelnemersnummer:

10.2.g

deze projectvergunning voor het tijdvak 1 mei 2021 tot en met 1 mei 2023, voor het project "Evaluation of pharmacokinetics and immunological activity of MVA-IL7-Fc after a single intravenous administration in macaques" met aanvraagnummer AVD 10.2.g 202114486, na advies van dierexperimentencommissie 10.2.g

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is 10.2.e Het besluit is gebaseerd op de volgende (aangepaste) stukken:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, zoals ontvangen op 9 februari 2021
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen op 25 maart 2021;
 - b Bijlagen dierproeven
 - 3.4.4.1. Evaluation of pharmacokinetics and immunological activity of MVA-IL7-Fc after a single intravenous administration in cynomolgus monkeys, zoals ontvangen op 25 maart 2021;
 - c Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen op 12 april 2021;
 - d Advies van dierexperimentencommissie, zoals ontvangen op 25 maart 2021
 - e De aanvullingen op uw aanvraag, zoals ontvangen op 12 april 2021, 19 april 2021.

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ongerief
3.4.4.1. Evaluation of pharmacokinetics and immunological activity of MVA-IL7-Fc after a single intravenous administration in cynomolgus monkeys			
	Java-apen (Macaca fascicularis)	4	100,0% Matig

Voorwaarden

Beoordeling achteraf

In dit project worden dierproeven toegepast waarbij niet-menselijke primaten worden gebruikt. Daarom bent u verplicht om na afloop van de vergunning in een Beoordeling achteraf over uw project te rapporteren. Deze beoordeling zal uiterlijk mei 2024 plaatsvinden. Er zal dan conform artikel 10a2, derde lid van de wet, beoordeeld worden of de doelstellingen van het project werden bereikt.

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.

Aanvraagnummer: AVD10.2.g 202114486

- 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:

AVD **10.2.g** 202114486

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:

AVD10.2.g 202114486

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.

Levensloofdossier

Voor iedere hond, kat en niet-menselijke primate moet volgens artikel 15a van de wet een levensloofdossier bijgehouden worden.

Niet-menselijke primaten

De Minister heeft een ontheffing verleend volgens artikel 10e, zevende lid van de wet, die het gebruik van niet-menselijke primaten toestaat voor een periode van maximaal vijf jaar.

Beoordeling achteraf

Volgens artikel 10a1, eerste lid onder d en derde lid van de wet worden projecten waarbij niet-menselijke primaten worden gebruikt, projecten die als ernstig ingedeelde dierproeven omvatten of een dierproef die

Aanvraagnummer:

AVD 10.2.3 202114486

leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, achteraf beoordeeld.

10.2.e

24

Van: info@zbo-ccd.nl
Verzonden: dinsdag 18 mei 2021 11:08
Aan: 10.2.g
Onderwerp: Terugkoppeling over projectvergunningsaanvraag AVD10.2.g 202114486

Geachte 10.2.g

Op 09-02-2021 hebben wij een aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen waarover uw DEC advies heeft uitgebracht. Het gaat om het project 'Evaluation of pharmacokinetics and immunological activity of MVA-IL7-Fc after a single intravenous administration in macaques' met aanvraagnummer AVD10.2.g 202114486.

De CCD heeft de aanvrager aanvullende vragen gesteld. De aanvullingen hadden betrekking op het aanpassen van de Niet Technische Samenvatting en een onderbouwing van het gebruik van de geslachten.

De CCD heeft besloten de vergunning toe te wijzen. De aanvrager en verantwoordelijk onderzoeker zijn hierover ingelicht. De beschikking is verstuurd op 22-4-2021.

Het DEC advies is helder en navolgbaar. In het DEC advies is op heldere wijze inzicht gegeven in de vragen die aan de aanvrager zijn gesteld.

Bij de beantwoording van de beoordelingsvragen verstrekt u een heldere onderbouwing. De ethische afweging volgt op logische wijze uit de beantwoording van de C vragen.

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

Met vriendelijke groet,
Namens de Centrale Commissie Dierproeven

10.2.e

www.centralecommissiedierproeven.nl

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

T: 0900 2800028

E: info@zbo-ccd.nl