

Konferensrapport Vetenskapsrådets årliga seminarium om aktuella djurförsöksfrågor 1 december 2017, Stockholm

Vetenskapsrådet arrangerar årligen ett seminarium om aktuella djurförsöksfrågor. Syftet med dagen är att ge myndigheter, forskare och andra intressenter tillfälle att presentera och diskutera aktuella frågor inom området. Seminariet är också ett tillfälle för de forskare som har fått forskningsbidrag från vetenskapsrådet att presentera sina resultat.

Möjligheter att ersätta djurförsök och förbättring av försöksmodeller var i fokus under årets seminarium. Dessutom informerades näringsdepartementet om arbetet med direktivet 2010/63/EU om skydd av djur som används för vetenskapliga ändamål på EU-nivå och den centrala djurförsöksetiska nämnden om sin verksamhet. Sveriges 3R-center fick även möjlighet att presentera sitt arbete under det gångna året. Seminariet avslutades med en etisk diskussion om forskning över landsgränser särskild utanför Europa.

Drygt 80 personer från forskning, myndigheter och etiska nämnder deltog. Från det svenska 3R-centret deltog Cecilia Bornestaf, Karen Erlbacher, Anna Heimersson och Josefina Zidar. Från den nationella kommittén för skydd av djur som används för vetenskapliga ändamål deltog Michael Axelsson, Viveka Hillegaart, Karin Gabrielsson Morton, Mats Sjöquist, Leif Carlsson, Anders Forslid och Katarina Cvek.

Program

1. Forskarpresentation 3R: Modeller av normal och kronisk bronkit-lik luftvägsslemhinna, som med nya metoder exponeras för partikulära och gasformiga luftföroreningskomponenter
Lena Palmberg, Karolinska Institutet
2. Forskarpresentation 3R: 3D-printade och patientbaserade bröstcancermatrix som surrogat till djurexperiment
Göran Landberg, Göteborgs Universitet
3. Xenograph modeller för humana cancer- och infektionssjukdomar
Jörg Cammenga, Linköpings Universitet
4. Kompetenscenter för 3R frågor
Cecilia Bornestaf, *utredare*, Jordbruksverket
5. Key note speaker: Pain in Mice and Man: Ironic Adventures in Translation
Jeffrey Mogil, McGill University
6. Aktuellt från Näringsdepartementet
Lena Odland, *ämnesråd*, Näringsdepartementet

7. Information från centrala djurförsöksetiska nämnden
Mats Sjöquist, vetenskaplig sekreterare, CDFN
8. Sammanfattning från EFVs seminarium "Forskning över gränser-etiska frågeställningar"
Michael Axelsson, ordförande EFV
9. "Forskning över gränser-etiska frågeställningar"
Paneldebatt med representanter från olika myndigheter och intresseorganisationer.
Moderator Michael Axelsson

Sammanfattning

Lena Palmberg från Karolinska institutet presenterade en djurfri modell för normal och kronisk bronkit-lik luftvägsslemhinna. Modellen är betydelsefull eftersom kronisk obstruktiv lungsjukdom (KOL) är den fjärde vanligaste dödsorsaken i världen idag och kommer troligen snart att vara den tredje vanligaste dödsorsaken i världen. Modeller för bronkit har tidigare haft en del begränsningar. Exempelvis finns äldre modeller som endast innehåller en typ av celler eller där cellinjen befinner sig helt i ett kulturmedium så att exponering med skadliga gaser eller partiklar inte kan efterlikna den exponeringen via luft och gaser som sker i verkligheten. De nya modellerna som forskningsgruppen har utvecklat består av flera olika celltyper framodlade från patient-celler (50-70 % cilierade celler, upp till 30 % basala celler, 25% bägarceller och 10% klaraceller). Modellen gör det möjligt att exponera cellkulturen med både gas och partiklar eftersom cellerna sitter på undersidan i ett näringsmedium och utsätts för luft eller gas från ovan. Den nya modellen efterliknar därför de verkliga förhållandena i människan på ett bättre sätt. Fler modeller kommer att utvecklas av forskargruppen. Från odling av cellerna till färdig modell som kan testas tar det 6 veckor. Hittills har de endast använt modeller för akut exponering men vill utöka försöken till upprepade exponering och kombinerad exponering av gas och partiklar.

Göran Landberg från Göteborgs universitet presenterade en ny bröstcancer-matrix som kan användas för att bedöma vilken typ av behandling som är lämplig för en cancerpatient och som kan användas inom utveckling av läkemedel mot cancer. Bröstcancer är egentligen ett samlingsnamn på flera olika sjukdomar därför behövs bättre modeller och modellsystem för att studera de olika sjukdomarna. Matrixen som forskargruppen har tagit fram kan skrivas ut med 3D-skrivare och tar hänsyn till bröstcancer-cellerna men intressant nog även till andra celler i omgivningen av tumören såsom inflammationsceller, fibroblaster och blodkärlsceller. På samma sätt som jordmånens kvalitet påverkar växtkraften hos ett frö är mikromiljön runt tumören viktig och påverkar tumörens beteende, därför är det ett viktigt framsteg att kunna analysera omgivande celler med modellen. Grundmatrixen som används för odling av bröstcancer-celler kommer från riktiga tumörer och på så vis blir varje system unikt. Genom att ta en bit av en tumör och skrapa bort celler skapas en cellfri yta, en "Scaffold". Bröstcancer-cellerna får sedan växa på ytan. "Scaffolds" är ett kraftfullt tumörbiologiskt verktyg för studier av hur mikromiljön påverkar cancer-celler. De ger en bättre diagnostisk precision och funkar som ett fullgott alternativ till djurförsök, visar forskargruppens resultat. Med metoden kan forskarna visa hur aktiva cellerna i omgivningen av tumören är och förstå hur omgivningen påverkar tumörerna. Metoden kan även användas för att bedöma hur stor återfallsrisken är för en patient. Plattformen kan användas för screening av läkemedel för att se läkemedlets effektivitet för en viss typ av tumör. Patientens behandling kan på så sätt

anpassas till patientens behov. Med metoden kan man också identifiera nyckelproteiner och markörer.

Jörg Cammenga från Linköpings universitet pratade om förbättrade xenografmodeller för humana cancer- och infektionssjukdomar. Xenografer är celler, vävnader eller organ från en art som inplanteras i en annan art. För vissa försök är det inte alltid lämpligt att använda möss som modelldjur. Ett exempel är försök där tarmfloran har ett stort inflytande eftersom möss och människor har väldigt olika tarmfloran. Att överföra celler från människor till möss är ett sätt att förbättra deras lämplighet som modell för olika sjukdomar hos människan. För studier av vissa sjukdomar är användning av xenograf-modeller nödvändigt för att kunna använda möss istället för primater. Exempel för sådana forskningsområden är human blodbildning och test av vacciner mot HIV, EBV eller hepatit. Befintliga xenograf-modeller för att studera t.ex. akut myeloid leukemi har begränsningar eftersom endast 50% av cellerna växer fast, vilket även betyder att hälften av djuren inte används. Det innebär att forskningsresultat baseras på ett urval djur där cellerna inte blev frånstötta av värdjuren vilket kan ge en skev bild av verkligheten. Det är angeläget att förbättra modellen för att kunna minska antalet djur som används i försök utan att bidra till resultatet. Modellen behöver också förfinas eftersom överföring av främmande celler gör det nödvändigt att dämpa mottagardjurets immunsystem genom strålning, vilket betyder en stor belastning för djuren. Forskargruppen arbetar med förbättring av xenograf-modeller för human blodbildning och störningar i den såsom leukemi. Gruppen fokuserar på en bättre acceptans av de inplanterade cellerna hos mottagardjuret och har bland annat utvecklat en modell som inte kräver strålning för att slå ut immunsystemet. Dessutom har forskargruppen lyckats att göra en knock-in av humana cytokiner och implantering av embryonala stamceller, vilket förbättrar mottagningen av de främmande cellerna.

Cecilia Bornestaf från Sveriges 3R-center presenterade vilka personer som utgör 3R-centret och vad centret genomfört under året. Sveriges 3R-center är ett kompetenscentrum för 3R-frågor (alternativa metoder till djurförsök) som regeringen gett Jordbruksverket i uppdrag att inrätta. Centrets uppgift är att samla och sprida information om alternativa metoder till djurförsök. Nationella kommittén för skydd av djur som används för vetenskapliga ändamål utgör centrets styrgrupp och har under året ombildats. På uppdrag av den nationella kommittén och med hjälp av expertgrupper ska centret ta fram rekommendationer och riktlinjer för arbete med försöksdjur för att främja implementering av 3R. Centret ska också ge råd och vägledning till djurskyddsorganen, de djurförsöksetiska nämnderna med flera. Riksdagen beslutade att finansiera 3R-centret med 15 miljoner kronor per år 2017-2020. Under året har centret skapat rättsliga förutsättningar för arbetet på centret, exempelvis genom att initiera reglering av 3R-centret i förordning (SFS 2009:1464) med instruktion för Statens jordbruksverk samt att ta fram föreskrifter för den nationella kommittén och 3R-centrets verksamhet. Under året har centret anordnat kommittémöten, haft möte med några av landets djurskyddsorgan, anordnat den årliga utbildningen i djurförsöksetisk prövning för ledamöter i de regionala djurförsöksetiska nämnderna, arbetat med sammanställning och analys av 3R-strategierna hos en del myndigheter, däribland Kemikalieinspektionen, Läkemedelsverket, Naturvårdsverket och Statens veterinärmedicinska anstalt. Personal från 3R-centret har också deltagit i internationella och nationella möten, bland annat världskongressen om alternativa metoder i Seattle, Norecopas 10-års jubileum och det

danska 3R-centrets årliga symposium. 3R-centrets har uppdaterat sin hemsida, tagit fram en symbol och en vision ” Djurens välfärd i fokus och färre djur i försök”. I slutet av året invigdes 3R-centret. Under invigningen anordnade 3R-centret föreläsningar inom området. Under nästa år går centret över i aktiv förvaltning men har redan nu identifierat några inledande projekt. Dessa projekt handlar om gruppållning av han-möss och märkning av fisk.

Jeffrey Mogil från McGill University i Canada pratade om problem med översättbarheten från djurmodeller till människa. Problem som han identifierade var bland andra, val av fel djurslag för studien. Möss och råttor är fortfarande den allra vanligaste djurmodellen och används ibland även där andra djurslag kanske skulle ha varit bättre lämpade. Ett annat problem är för liten variation inom de använda arterna. Ofta används specifika djurstammar och dessutom ofta bara ett kön från en stam. Arter som vanligtvis betraktas som nära besläktade kan skilja sig markant i vissa avseenden, det gäller t.ex. smärta och smärtreceptorer. Gener som kan relateras till smärta i en musstam behöver inte förutse smärta hos en råtta. Även mellan stammar inom samma art kan smärta upplevas väldigt olika, därför är valet av rätt stam för den undersökta frågeställningen avgörande för resultatet. Mogil kunde visa att gener som uppreglas vid smärta i en mus kan nedregleras i en råtta. Han ställer sig därför frågande till hur man kan överföra resultat från smärtförsök i möss eller råttor till människor. Människor skiljer sig mer från möss än vad råttor gör och redan denna översättning är tveksam. Ett annat problem som identifierats är att 75 % av de studier som genomförs för att hitta smärtlindring till människor görs på han-möss medan de allra vanligaste smärtpatienterna är kvinnor. Mogil anser att det inte är förvånansvärt att vissa mediciner avsedda att lindra smärta har visat sig verkningslösa på kvinnor. Kvinnors biologi skiljer sig nämligen från männens i vissa avseenden. Som exempel nämnde han att vid förmedling av smärtupplevelser spelar mer celltyper roll än endast neuroner och att det skiljer sig mellan könen. Ett annat problem som Mogil belyste var att smärtstudier på djur ofta fokuserar på symptom som är lätta att studera men som inte är relevanta för människan. Man använder t.ex. termisk smärtekänslighet, och spontan smärta som inte är av stor betydelse hos människor och där det stora problemet egentligen är kronisk smärta vilket dock är svårt att studera i djur. Därtill glömmer man ibland att bytesdjur som mus och råttor inte vill visa smärta. Det finns också studier som visar att beteendet förändras beroende på om djuret är ensamt eller om djuret befinner sig i samma rum som den som bedömer djurets välbefinnande och även vilket kön denna person har. När personen som genomför försöket är en man och är närvarande visar djuret inte smärtrelaterade beteenden i lika hög grad som när det är en kvinna eller djuret är ensamt i rummet. Ett annat problem är att det inte är helt lätt att bedöma smärta hos djur. Det finns en del studier där nya metoder visat sig fungera bra vid smärtbedömning t.ex. grimasskala eller ultraljudsmätningar. Mogil har också visat i studier att möss som utsätts för smärta, upplever mer smärta om de är tillsammans med en burkompis till skillnad mot en främling. Vidare berörde Mogil problem med små provstorlekar, saknad av statistisk power, brist på rapportering av negativa resultat och brist på randomiserade och blinda försök. Mogil menade att djurmodeller kan användas i försök men man behöver vara försiktig och tänka igenom försöket noggrant.

Lena Odland från näringsdepartementet rapporterade från kommissionen om vad som har hänt angående direktiv 2010/63/EU om skydd av djur som används för vetenskapliga

ändamål. Bland annat gav hon en tillbakablick på direktivets införlivningshistoria och berättade om återrapportering från EU om implementeringen. Kommissionen har granskat alla medlemsstaternas lagstiftning noggrant för att kontrollera om direktivet är korrekt införlivat. Sverige fick bara få anmärkningar. Kommissionen gjorde dessutom en översyn av direktivet enligt artikel 58 som bland annat hade som mål att utvärdera om huvudsyftena med direktivet har uppnåtts, nämligen harmonisering inom EU, ökat djurskydd och större öppenhet mot allmänheten. Detta har gjorts med hjälp av en enkät som skickades till samtliga medlemsstater. Av 900 svar stod Frankrike, Tyskland och Italien för 55 % av svaren. Sverige hade bidragit med 22 svar vilket motsvarar 4 %.

Utvärderingen av direktivet visade att direktivet är nödvändigt och relevant. Kommissionen drog slutsatsen att den lagstiftning som fanns på plats i landet innan direktivet var avgörande för effekten av direktivet, att djurskyddsorganen i stort bidrar till en förbättrad praxis, att det överlag har blivit en högre standard för hållande av försöksdjur inom EU, att medvetenheten om de 3R:en har ökat samt att direktivet har bidragit till att främja en omsorgskultur och ökat medvetenheten inom forskarvärlden om sammanhanget mellan god djurvälstånd och bra vetenskap. Inga förändringar i direktivet föreslås av kommissionen men vissa bilagor om hållande och avlivningsmetoder kommer att uppdateras. Detta gäller bland annat avlivningsmetoder för fisk i bilaga IV och införande av hållandekrav för bläckfiskar och vissa fiskarter i bilaga III. Kommissionen utvärderade dessutom om kravet i artikel 10 i direktivet behöver revideras. I artikel 10 är det bestämt att alla icke-mänskliga primater som används i försök ska vara andra generation eller högre från och med år 2022, dvs. avkomor från primater som har föddes upp i fångenskap. Det är 10 medlemsstater som använder primater idag och det beslutades att tidsplanen inte behöver ändras.

Hela rapporten finns på kommissionens hemsida

http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/related_topics_en.htm

Mats Sjöquist, vetenskaplig sekreterare i den centrala djurförsöksetiska nämnden, presenterade statistik från den centrala nämnden. Nämnden jobbar både med att bedöma överklaganden och att utvärdera försök i efterhand. Mats informerade att det endast är negativa beslut som kan överklagas och dessa kan endast överklagas av den sökande. Överklaganden har hittills omfattat villkor i beslutet av den regionala djurförsöksetiska nämnden, avslag, bordläggning, svårhetsgraden och giltighetstiden. Antalet överklaganden har sjunkit de senaste åren från ca 10 de tre första åren till två per år de senaste åren. Av de beslut som har tagits vid överklaganden har det varit en jämn fördelning mellan avslag och bifall. Några beslut har återförvisats till den regionala nämnden på grund av otillräcklig beredning. Den centrala nämnden har än så länge gjort 25 utvärderingar i efterhand och 60 stycken återstår för det kommande året. Den centrala djurförsöksetiska nämnden ser ett behov av att de regionala etiska nämnderna gör sina bedömningar i enlighet med lagstiftningen genom att utreda och motivera sina beslut. Likaså behöver forskarna bli mer insatta i lagstiftningen så att deras överklaganden är väl underbyggda och motiverade. Det är också viktigt att universiteten ger stöd åt de djurförsöksetiska nämnderna. Den centrala nämnden skulle önska flera avslag och överklaganden så att fler frågor skulle bli belysta och utredda genom den centrala nämnden.

Dagen avslutades med en gruppdiskussion där det diskuterades vilket ansvar svenska forskare eller universiteten och företag har för den forskning som inom sina projekt bedrivs utomlands. Detta är en viktig etisk fråga eftersom de djurförsöksetiska nämnderna i Sverige endast bedömer försök som genomförs i Sverige. Försök som svenska forskare genomför utomlands bedöms inte av nämnderna och det finns således ingen bedömning om denna forskning följer svenska etiska regler. Ett annat problem är att de flesta tidskrifter kräver ett etiskt godkännande av försök innan resultaten får publiceras. Särskilt svårt är det om forskning bedrivs i områden som inte tillhör något land såsom Antarktis så att det inte finns någon möjlighet att få forskningen etiskt prövat i något land. Under diskussionen framfördes att det finns länder som endast tillåter forskning utomlands som hade varit tillåten i hemlandet. För att garantera detta har det i vissa länder tagits fram riktlinjer eller skaffats överenskommelser mellan forskarna att följa de samma reglerna som gäller i det egna landet. Det framkom också att det finns djurskyddsorgan på svenska universitet som prövar om projektet ligger i linje med svensk lagstiftning, dock är det ingen riktig etisk prövning. På EU-nivå har frågan inte kommit upp hittills så att det inte finns någon gemensam syn på saken.

Karen Erlbacher och Josefina Zidar

