

Advies betreffende: **Ontwikkeling van vaccins tegen virale infecties**

Kennisgever: **Rijksuniversiteit Groningen**

COGEM kenmerk
CGM/010829-04

BGGO nummer
GGO 01-048/1

Datum advies
29 augustus 2001

Inleiding

Doel van het onderzoek is de ontwikkeling van vaccins gebaseerd op het gebruik van virosomen (membraanomhulsels van het influenza A virus). Virosomen zullen worden beladen met virale antigenen of met DNA coderend voor virale antigenen. De op deze wijze gegenereerde vaccins zullen in combinatie met een adjuvans worden gebruikt in proefdierexperimenten (muizen). Als adjuvans worden de LT toxines gebruikt waar het hier om gaat. In deze proefdieren zal vervolgens karakterisatie van de immuunrespons plaatsvinden.

Het toxische holotoxine LT bestaat uit een A keten en een pentameer bestaande uit 5 B ketens. LT ontleent de toxiciteit aan de A keten. De B5 pentameer bezit geen toxische activiteit (LTB mutant). De toxische activiteit van LT berust op de ADP-ribosylerende activiteit van dit eiwit. Deze activiteit kan in vitro worden getest in een zogenaamde ADP-ribosylerings DEABAG assay. De aanvrager stuurt een artikel mee waarin gebruikmakende van deze assay de activiteit van de LT mutant E112K (Glu112->Lys) wordt gemeten [1]. Volgens de aanvrager was de ADP ribosyleringsactiviteit van E112K slechts 4,6% van die van het holotoxine LT, terwijl de relatieve activiteit van een negatieve controle (met PBS) 7,0% bedroeg. Hieruit blijkt de E112K mutant geen DEABAG conversie stimuleert. In proefdierexperimenten gebruikte muizen vertoonden geen (zichtbare) bijwerkingen bij gebruik van de mutanten. Verdere in vivo toxiciteitsstudies met de mutanten zijn niet uitgevoerd [2].

Overweging en inschaling

De van het hittelabele enterotoxine LT afgeleide mutanten LT E112K/G33D en LTB zijn negatief in de DEABAG-assay. Hieruit kan geconcludeerd worden dat de mutanten in vitro geen ADP-ribosyleringsactiviteit vertonen.

De experimentele onderbouwing aangaande de in vivo effecten van de mutanten in de bijgevoegde publicatie van Haan et al. Laat geen conclusies toe over de toxiciteit. De in het artikel gebruikte dosering en wijze van toediening (intranasaal) zijn namelijk niet geschikt om dat aan te tonen. Bovendien tolereerden de muizen ook het ongemodificeerde LT.

Er dient echter opgemerkt te worden dat het werkingsmechanisme van LT toxinen uitgebreid bestudeerd en voldoende opgehelderd is. Het is voor de COGEM dan ook

voldoende aannemelijk dat uitgaande van het ontbreken van ADP-ribosyleringsactiviteit de gebruikte mutanten hun toxiciteit in de darm hebben verloren.

Mede gezien de aangetoonde detoxificatie van de LT mutanten in vitro en het gebruik van de E. coli stammen K12 en E. coli B, die het vermogen om de darm te koloniseren hebben verloren, besluit de COGEM om het gebruik van het hittelabele enterotoxine LT afgeleide mutanten LT E112K/G33D en LTB in te schalen op VMT niveau (artikel 5.2.j van de Regeling [3]).

[1] de Haan et al., Infect. Immun. 64, 5413-5416, 1996

[2] de Haan, aanvullende informatie d.d. 8 mei 2001

[3] Regeling Genetisch Gemodificeerde Organismen en Richtlijnen van de COGEM bij deze regeling (1998)