

Advies betreffende: **Toxiciteits analyse van HIV-1 remmende genprodukten welke tot expressie worden gebracht in autologe T-lymfocyten m.b.v. een retrovirale vector**

Kennisgever: **Stichting Biomedical Primate Research Centre**

COGEM kenmerk
CGM/011220-02

BGGO nummer
GGO 01-191

Datum advies
20 december 2001

Inleiding

De voorgenomen experimenten zullen plaats vinden in het kader van onderzoek naar HIV-1 remmende (gen)therapeutica. Hiertoe wil de aanvrager rhesusapen behandelen met autologe T-lymfocyten die getransduceerd zijn met een retrovirale vector die een chimeer peptide (T20) tot expressie brengt. Het idee achter deze benadering is dat expressie van dit chimere T20 eiwit zou interfereren met het fusieproces tussen het HIV-1 virion en de T-helper doelwitcel, dat wordt gemedieerd door de membraaneiwwitten gp120 en gp41 van HIV.

Het gaat binnen deze aanvraag in eerste instantie om een toxiciteitsanalyse van de te gebruiken getransduceerde cellen bij onbehandelde rhesusapen. De apen zullen binnen deze aanvraag niet worden gebruikt voor infectie/challenge experimenten met SHIV isolaten.

Voor de toepassing zullen PBMC's worden geïsoleerd en getransduceerd met defectieve retrovirale vectoren. De isolatie van PBMC's zal plaatsvinden bij het BPRC, terwijl de productie van retrovirale partikels en de transductie van PBMC's vervolgens zal plaatsvinden aan de Universiteit van Frankfurt, Duitsland. Voor de productie van replicatie-defectieve retrovirale partikels wordt gebruik gemaakt van de packaging cellijn PG13 die gag-pol eiwwitten en het GaLV env eiwit vanaf gescheiden stabiel getransfecteerde plasmiden tot expressie brengt. Hierdoor worden geproduceerde retrovirale virusdeeltjes gepseudotypeerd met het GaLV env eiwit (xenotroop). In verband met het voorkomen van complementatie wordt opgemerkt dat er mogelijk een verwantschap bestaat tussen Gibbon ape leukeamia virus (GaLV) en Murine leukeamia virussen (MuLV).

Middels de retrovirale vector wordt een fusieeiwit, de zgn. STHM sequentie, tot expressie gebracht. Dit eiwit is opgebouwd uit de volgende functionele domeinen: het signaalpeptide van het humane low-affinity nerve growth factor (LNGFR), een (van het HIV gp41 afgeleide) T20 peptide sequentie, een membraananker bestaande uit het transmembraandeel van het CD34 molecuul en een verbindingsequentie (gelegen tussen het T20 en membraananker domein) die afkomstig is van het humane IgG2 heavy chain molecuul. Autologe PBMC's zullen vervolgens worden getransduceerd met recombinant retrovirus. De getransduceerde cellen zullen uiteindelijk worden teruggespoten bij de rhesusapen (deze handeling vindt plaats op het BPRC). Bij deze dieren zal op gezette tijden bloed worden afgenomen en worden gebruikt voor toxiciteits-

en immunologische testen en analyse van hematologische parameters. Na afloop van het experiment zullen de dieren worden gedood en zal autopsie worden verricht.

Overwegingen en inschaling

De in te schalen handelingen die bij het BPRC plaatsvinden beperken zich tot het toedienen van getransduceerde autologe T-lymfocyten aan apen, gevolgd door de analyse van bloedmonsters van de behandelde dieren.

Hoewel de mogelijkheid dat er replicatie-competente retrovirussen (RCR) in de elders geproduceerde preparaten aanwezig zijn niet geheel kan worden uitgesloten, acht de COGEM de kans hierop uitermate klein afgaande op de literatuur gegevens betreffende de packaging cellijn. Toch is de COGEM van mening dat de vorming van RCR niet is uit te sluiten en daarom wordt geadviseerd om zowel de handelingen met getransduceerde PBMC's alsook de analyse van bloedmonsters van de proefdieren die zijn behandeld met getransduceerde PBMC's uit te voeren op C-I niveau (artikel 6.5.6.c van de Regeling [1]).

Bij de handelingen met getransduceerde PBMC's in associatie met proefdieren (rhesusapen) wordt eveneens gewerkt met retrovirale partikels geproduceerd met een niet-veilig amfotroop (in dit geval xenotroop) productiesysteem. De COGEM adviseert hierbij dan ook om deze handelingen met proefdieren uit te voeren op D-II niveau (artikel 6.8.2.b van de Regeling [1]).

De COGEM acht het uitvoeren van een proef met een aap besmet met een aan GaLV verwant MuLV-related virus met het oog op complementatie en mobilisatie en dus vanwege het risico op vector verspreiding niet wenselijk. De COGEM is dit van mening ondanks het feit dat de apen na afloop van de proef niet in de kolonie worden teruggeplaatst. Indien er een infectie met een MuLV-related virus in rhesusaapkolonie is vastgesteld, dient iedere rhesusaap die in de proef meegenomen gaat worden, te worden getest op afwezigheid van MuLV-related virus. De COGEM adviseert daarom om als aanvullend voorschrift op te nemen dat de te gebruiken proefdieren geen actieve viremie mogen hebben met een MuLV-related virus.

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