

Advies betreffende: **Development of an angiogenic gene therapy product for coronary artery disease**

Kennisgever: **Academisch Ziekenhuis Rotterdam**

COGEM kenmerk  
**CGM/020823-07**

BGGO nummer  
**BGGO 02/02**

Datum advies  
**3 september 2002**

## Inleiding

Het doel van de studie is de ontwikkeling van een methode om de doorbloeding te stimuleren in patiënten met chronische angina. Er wordt gebruik gemaakt van een replicatie incompetent recombinante adenovirale vector, Ad5 (humaan serotype 5), waarbij de E1 regio van het adenovirale genoom gedeleteerd is. In deze vector is de humane fibroblast growth factor 4 (FGF-4) gekloneerd welke onder controle staat van een cytomegalovirus (CMV) promoter. De uiteindelijke vector bestaat uit het FGF-4 gen, CMV promoter, een polylinker, SV40 polyadenyleringssequenties en wordt geflankeerd door gedeeltelijke adenovirus 5 sequenties. De productie van dit construct (Ad5FGF-4) door middel van een HEK 293 packaging cellijn, dat een functioneel E1 gen bevat, vindt niet plaats in Nederland. Het Ad5FGF-4 construct wordt in de kransslagader van het hart geïnjecteerd als een enkele dosis van ten hoogste  $10^{10}$  virale partikels. Expressie van FGF-4 in het hart zou moeten leiden tot een nieuwvorming van bloedvaten in de hartstreek, waardoor de doorbloeding ter plaatse verbetert en leidt tot verminderde symptomen van angina (1; 2).

Voorheen heeft de COGEM een algemeen advies (CGM/000330-01) opgesteld met als doel een richtsnoer te geven voor de beoordeling van de veiligheid van genetisch gemodificeerde adenovirussen bij ingeperkt gebruik. Bij het tot stand komen van het huidige advies waarbij introductie in het milieu aan de orde is, zijn de overwegingen van het algemene advies betrokken. Daarnaast zijn er al eerder studies uitgevoerd met naakt DNA dat codeert voor de aanmaak van vascular endothelial growth factor (VEGF) om doorbloeding te verbeteren in hart en benen (BGGO 99/10, 99/12 en 01/09). Destijds concludeerde de COGEM (CGM/990927-01, CGM/010917-04 en CGM/010713-01) dat tegen de uitvoering van het in de genoemde aanvragen beschreven protocollen geen bezwaar bestaat uit het oogpunt van de veiligheid voor mens en milieu.

## Overwegingen en advies

De productie van het virale partikel Ad5FGF-4 vindt niet in Nederland plaats, maar dit wil niet zeggen dat er geen vorming van replicatie competente adenovirussen (RCA) tijdens de productie in HEK 293 cellen heeft plaatsgevonden. De detectielimiet voor het vaststellen van vorming van RCA is volgens de aanvrager in de orde van één RCA per  $3.2 \times 10^{12}$  virale partikels. Aangezien er een enkele dosis van ten hoogste  $10^{10}$  virus virale

partikels in de halskransslagader van de patiënten wordt geïnjecteerd, betekent dit dat de kans op aanwezigheid van één (of meer) RCA per dosis verwaarloosbaar klein is. De COGEM is dan ook van mening dat het optreden van RCA in de patiënt verwaarloosbaar klein is. Gezien de overlap in sequenties tussen de vector en de producercellijn acht de COGEM het toch wenselijk dat de test op RCA's uitgevoerd dient te worden.

Van de toegediende virale partikels in de kransslagader van het hart kan volgens de aanvrager 1.3% in de algemene circulatie belanden. De vector is infectieus en kan vanuit de bloedbaan andere weefsels dan de beoogde infecteren. Deze cellen zouden dan transiënt FGF-4 kunnen gaan produceren. Theoretisch kan dit leiden tot nieuwvorming van bloedvaten. De kans op integratie van vector DNA in het genomische DNA is zeer klein, en zelfs al zou integratie plaatsvinden, dan leidt dit niet automatisch tot tumorvorming door een wildgroei van bloedvaten (3; 4). De in de circulatie gebrachte vector zou ook kunnen worden uitgescheiden in het milieu. De COGEM is van mening dat de uitscheiding zeer gering zal zijn, aangezien het kleine percentage virale partikels dat in de bloedbaan terecht komt al voor een groot deel opgenomen worden door lichaamscellen die met het virus geïnfecteerd geraakt zijn. Hierdoor wordt er veel minder uitgescheiden dan daadwerkelijk in de bloedbaan terecht komt. In dierproeven met varkens waarbij recombinant adenovirus met FGF-5 in het hart werd geïnjecteerd, kon twee weken na toediening alleen in het hart transgeen virus DNA of eiwit aangetoond worden en niet in andere weefsels. Met behulp van de PCR techniek kon in de urine geen viraal DNA aangetoond worden 2 tot 24 uur na toediening (1). Infectie van een mens met adenovirus vergt veel virale partikels, in de grootte orde van enkele duizenden. De COGEM acht het dan ook zeer onwaarschijnlijk dat dergelijke virus partikels na uitscheiding door de patiënt zich nog verder effectief kunnen verspreiden en daardoor een onacceptabel risico vormen voor mens en milieu. De COGEM vindt het verder wel gewenst om meer te weten te komen over het al dan niet optreden van uitscheiding en de mate daarvan.

Voorts is de COGEM van mening dat patiënten met een actieve adenovirus infectie uitgesloten dienen te worden in verband met mogelijke RCA vorming. Tevens dient er een exclusie plaats te vinden van alle patiënten die een gestoord immuunsysteem hebben. Concluderend kan de COGEM positief adviseren over deze studie waarin recombinant adenovirus met FGF-4 coderende sequentie toegediend worden aan patiënten. Daarnaast acht de COGEM het wenselijk dat de test op RCA's uitgevoerd wordt.

1. Giordano, F. J., Ping, P., McKirnan, M. D., Nozaki, S., DeMaria, A. N., Dillmann, W. H., Mathieu-Costello, O., and Hammond, H. K. (96). *Nat Med* 2, blz. 534-9
2. Grines, C. L., Watkins, M. W., Helmer, G., Penny, W., Brinker, J., Marmur, J. D., West, A., Rade, J. J., Marrott, P., Hammond, H. K., and Engler, R. L. (2002). *Circulation* 105, blz. 1291-7
3. Harui, A., Suzuki, S., Kochanek, S., and Mitani, K. (99). *J Virol* 73, blz. 6141-6
4. Harvey, B. G., Maroni, J., O'Donoghue, K. A., Chu, K. W., Muscat, J. C., Pippo, A. L., Wright, C. E., Hollmann, C., Wisnivesky, J. P., Kessler, P. D., Rasmussen, H. S., Rosengart, T. K., and Crystal, R. G. (2002). *Hum Gene Ther* 13, blz. 15-63