

Advies betreffende: **Onderzoek naar humaan metapneumovirus (hMPV)**

Kennisgever: **Erasmus Universiteit Rotterdam**

COGEM kenmerk
CGM/030205-01

BGGO nummer
GGO 01-154/2

Datum advies
10 februari 2003

Inleiding

Humaan metapneumovirus (hMPV) is een niet-gesegmenteerd negatief-strengig RNA virus met membraan. Het hMPV behoort tot de *Pneumovirinae* die worden onderverdeeld in de genera *Pneumovirus* en *Metapneumovirus*. Verwante virussen zijn *Respiratory Syncytial Virus* (RSV), *Avian Pneumovirus* (APV) en *Parainfluenzavirus* (PIV). Al deze virussen behoren tot de familie van de paramyxovirussen. Zowel RSV, APV en PIV zijn virussen ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2 (5).

De klinische symptomen van infectie met hMPV zijn vergelijkbaar met de symptomen die veroorzaakt worden door RSV (1; 6; 8). Deze variëren van milde klachten van de bovenste luchtwegen tot ernstige bronchiolitis en pneumonie, vaak gepaard gaand met ernstig hoesten, spierpijn en braken.

Studies hebben aangetoond dat vrijwel alle kinderen in Nederland seropositief zijn daar zij reeds geïnfecteerd zijn door hMPV als zij de leeftijd van 5 jaar bereiken (8). Herinfecties komen regelmatig voor en kunnen gepaard gaan met ziekteverschijnselen. Het virus infecteert met name kinderen op jonge leeftijd (0-2 jaar), immuungecompromitteerde individuen en bejaarden. Daarnaast is bekend dat het hMPV in de menselijke populatie al minstens 50 jaar circuleert (8).

De aanvraag betreft een verzoek tot wijziging op een reeds bestaande vergunning, GGO 01-154. Het doel van de aanvraag is het ontwikkelen van een levend geattenuëerd vaccin tegen hMPV. De COGEM heeft destijds een advies uitgebracht (CGM/011212-01) over handelingen met hMPV. Hierin werden de werkzaamheden één inperkingsniveau hoger ingeschaald dan op basis van de pathogeniteitsklasse van de uitgangsvirussen verwacht mocht worden. De reden hiervoor was dat het destijds een relatief onbekend virus betrof waardoor de mogelijke risico's van handelingen met het virus moeilijk in te schatten waren. De werkzaamheden in de initiële aanvraag omvatten onder meer de karakterisatie van individuele hMPV producten en kloneringswerkzaamheden in *Escherichia coli* van hMPV, RSV, APV en PIV, en het creëren van chimere virussen waarbij structurele genen van deze virussen worden uitgewisseld. Daarnaast betrof de initiële aanvraag de productie van bovengenoemde wildtype en chimere virussen, en het testen van de geproduceerde virussen in diermodellen.

Inmiddels is meer informatie bekend geworden met betrekking tot de genomsequentie en de prevalentie en klinische impact van hMPV (7; 8). Het humane metapneumovirus kan beschouwd worden als een regulier verkoudheidsvirus dat vrijwel dezelfde ziekteverschijnselen als RSV veroorzaakt (1; 6; 8). Het b/hPIV3 zal gebruikt worden voor

de productie van chimere virussen die als vaccin getest zullen worden. Het b/hPIV3 is afgeleid van bovine (b) PIV waarin een tweetal puntmutaties zijn aangebracht en waarin de bovine F en HN genen zijn vervangen door homologe genen van een humaan PIV. Deze humane F en HN eiwitten leiden tot een verbeterde antistofrespons. Momenteel zijn er klinische trials met bovine PIV3 bij mensen als een geattenuëerd levend vaccin. Hierbij is aangetoond dat het gebruik veilig is gebleken in kinderen, volwassenen en kleuters en dat het vaccin goed verdragen wordt (4). Uit de klinische trial komen ook *in vitro* en *in vivo* gegevens met betrekking tot groeigegevens van b/hPIV3. Daarnaast vertoont b/hPIV een verlaagde replicatie in de longen van hamsters ten opzichte van bPIV (3).

Overwegingen en Advies

Over het hMPV zijn recent gegevens beschikbaar gekomen (1; 5; 7). Het blijkt een veel voorkomend verkoudheidsvirus van de bovenste en onderste luchtwegen te zijn. Een drietal onderdelen van de inschaling zoals destijds werd geadviseerd (CGM/011212-01) kan op basis van de nieuwe gegevens herzien worden.

Onderdeel 1

Het kloneren van volledige wildtype recombinant (chimere) paramyxovirussen, zoals beschreven in onderdeel 1 van de aanvraag, heeft de COGEM deze werkzaamheden destijds ingeschaald op C-I niveau. De onderliggende reden hiervoor was om verspreiding van de chimere virussen met een onbekend virulentie fenotype en transmissieroute via lucht te voorkomen. Op basis van de recente gegevens acht de COGEM het onwaarschijnlijk dat infectieus virus zal ontstaan als gevolg van de kloneringswerkzaamheden in *E. coli*. Daarbij staat het gebruikte vectorsysteem onder controle van een T7 promotor en is gebaseerd op een vaccinia MVA T7 polymerase systeem. In *E. coli* is T7 polymerase afwezig en zijn de individuele polymerase componenten ook afwezig. Daarnaast zijn posttranslationele modificaties zoals fosforylering en glycosylering niet mogelijk. De COGEM acht, op basis van bovenstaande argumentatie en de recente gegevens, omlaagschaling van de kloneringswerkzaamheden in *E. coli* naar VMT niveau gerechtvaardigd.

Onderdeel 2

In onderdeel 2 worden wildtype hMPV en APV in zoogdiercellen geproduceerd. Het relatief meer bekende RSV is evenals hMPV een verkoudheidsvirus. Beide infecties zijn endemisch en verspreiden zich voornamelijk door de lucht. RSV infecties bij kinderen leiden regelmatig tot ziekenhuisopname. Het is niet bekend of dit vergelijkbaar is voor hMPV. Daarbij zijn er uit de literatuur aanwijzingen om therapeutisch in te grijpen bij RSV infecties (2). Op grond van de beschikbare gegevens is de COGEM van mening dat hMPV geclassificeerd dient te worden als een pathogeniteitsklasse 2 virus. Voorts is de COGEM van mening dat de productie van wildtype hMPV en APV in zoogdiercellen ingeschaald kan worden op C-I niveau met in acht neming van de aanvullende voorschriften om transmissie via de lucht te voorkomen.

Onderdeel 3

In onderdeel 3 van de aanvraag worden chimere paramyxovirussen vervaardigd in zoogdiercellen. Hiertoe worden onder andere b/hPIV3 sequenties gebruikt voor de productie van chimere virussen. Voorheen heeft de COGEM het gebruik van b/hPIV3 op C-II ingeschaald (CGM/011212-01) op basis van onbekend virulentie fenotype en het ontbreken van specifieke gegevens. Van bPIV3 is aangetoond dat het gebruik veilig is in mensen (4). Daarbij vindt er een verdere attenuering van het b/hPIV3 virus plaats als gevolg van inserties van de goed gekarakteriseerde immuunstimulerende G of F genen van hMPV en RSV. De COGEM is van mening dat op basis van de aangeleverde gegevens voldoende aannemelijk gemaakt is dat de gevormde chimeren geen verhoogde virulentie zullen vertonen. Op grond van bovenstaande gegevens adviseert de COGEM tot een omlaagschaling van de werkzaamheden zoals beschreven in onderdeel 3 naar C-I niveau.

Met het oog op toekomstige advisering door de COGEM wordt de aanvragers verzocht de virulentie gegevens welke uit de dierproeven worden verkregen, aan de COGEM te verstrekken.

1. Boivin, G., Abed, Y., Pelletier, G., Ruel, L., Moisan, D., Cote, S., Peret, T. C., Erdman, D. D., and Anderson, L. J. (2002). *J Infect Dis* **186**, blz. 1330-4
2. Bonville, C. A., Easton, A. J., Rosenberg, H. F., and Domachowske, J. B. (2003). *J Virol* **77**, blz. 1237-44
3. Haller, A. A., Miller, T., Mitiku, M., and Coelingh, K. (2000). *J Virol* **74**, blz. 11626-35
4. Lee, M. S., Greenberg, D. P., Yeh, S. H., Yogev, R., Reisinger, K. S., Ward, J. I., Blatter, M. M., Cho, I., Holmes, S. J., Cordova, J. M., August, M. J., Chen, W., Mehta, H. B., Coelingh, K. L., and Mendelman, P. M. (2001). *J Infect Dis* **184**, blz. 909-13
5. Regeling Genetisch Gemodificeerde Organismen en Richtlijnen van de COGEM bij deze Regeling (1998).
6. Stockton, J., Stephenson, I., Fleming, D., and Zambon, M. (2002). *Emerg Infect Dis* **8**, blz. 897-901
7. van den Hoogen, B. G., Bestebroer, T. M., Osterhaus, A. D., and Fouchier, R. A. (2002). *Virology* **295**, blz. 119-32
8. van den Hoogen, B. G., de Jong, J. C., Groen, J., Kuiken, T., de Groot, R., Fouchier, R. A., and Osterhaus, A. D. (2001). *Nat Med* **7**, blz. 719-24