

Advies betreffende: **Hergebruik van adenovirale vectoren geïmmuniseerde rhesusapen**

Kennisgever:

COGEM kenmerk
CGM/030918-01

BGGO nummer

Datum advies
1 oktober 2003

Inleiding

Ten behoeve van studies voor de ontwikkeling van vaccins worden proefdieren, zoals rhesusapen, geïmmuniseerd met diverse typen vectoren waaronder adenovirale vectoren, 'modified vaccinia virus Ankara' (MVA) vectoren, DNA vectoren en *Semliki forest virus* (SFV) vectoren. Adenovirussen komen van nature voor in rhesusapen en bezitten de eigenschap om latent in hun gastheer aanwezig te blijven. Bij het gebruik van adenovirale vectoren in apen kunnen risico's ontstaan met betrekking tot reactivatie, mobilisatie en uiteindelijk verspreiding in het milieu. Op 16 december 2002 heeft de COGEM een algemeen advies (CGM/021216-03) uitgebracht inzake de risico's voor mens en milieu door het gebruik van adenovirale vectoren in apen. De COGEM is in het betreffende advies van mening dat de risico's bij deze experimenten verwaarloosbaar klein zijn, mits inperkende maatregelen in acht worden genomen zoals het monitoren op uitscheiding van adenovirussen. Daarnaast mogen deze dieren niet meer gebruikt worden voor andere experimenten of voor fokdoeleinden.

In kennisgeving GGO 03-012 worden experimenten beschreven met rhesusapen die geïmmuniseerd worden met SFV vectoren met daarin genen gekloneerd van het *Human immunodeficiency virus* (HIV) of het *Simian immunodeficiency virus* (SIV). Deze studie zal bijdragen aan de ontwikkeling van een vaccin tegen HIV. De COGEM heeft op 7 juni jl. over deze kennisgeving positief geadviseerd (CGM/030604-02). In een schrijven naar Bureau GGO heeft de desbetreffende aanvrager een verzoek ingediend om deze experimenten uit te voeren met rhesusapen die al eerder zijn gebruikt voor immunisatiestudies met adenovirale vectoren. De aanvrager stelt een aantal maatregelen voor om het mogelijke risico, dat als gevolg van het experiment een recombinant adenovirus wordt geactiveerd en uitgescheiden, te minimaliseren. Het experiment zal derhalve plaats vinden onder minimaal D-I condities, na afloop worden de rhesusapen ge-euthaniseerd en materialen afkomstig van deze dieren worden minimaal onder C-I condities behandeld.

De COGEM is verzocht om met betrekking tot het bovenstaande een toelichting te geven op betreffende passage van het COGEM advies (CGM/021216-03) waarin wordt gesteld

dat met adenovirale vectoren behandelde apen niet meer voor andere experimenten gebruikt kunnen worden. Hierbij is gevraagd aan te geven wat de aard en risico's voor mens en milieu kunnen zijn indien hergebruik wel wordt toegestaan.

Overwegingen en Advies

Adenovirale vectoren zijn afgeleid uit adenovirussen welke behoren tot de DNA virussen zonder membraan (1, 2). Adenovirussen komen endemisch voor bij apen en mensen. Het virus verspreid zich onder apen volgens dezelfde routes als bij mensen, zoals faecaal-oraal, via de luchtwegen en door direct of indirect contact (2). Adenovirussen kunnen lang in het lichaam aanwezig blijven, waarbij het niet duidelijk is of er sprake is van een echte latentie of dat op een laag niveau replicatie plaatsvindt (3, 4). Latente virussen kunnen door verschillende omstandigheden gereactiveerd worden, zoals stress en een verminderde functie of suppressie van het immuunsysteem (5, 6). Gezien het feit dat adenovirussen aanwezig zijn in apen, kan de introductie van adenovirale vectoren zorgen voor reactivatie en mobilisatie van adenovirussen (3, 7-9). Mobilisatie van een replicatie-deficiënte vector door een trans-complementierend adenovirus is theoretisch mogelijk. Complementatie kan echter alleen optreden wanneer een replicatie-competent adenovirus (RCA) en een adenovirale vector dezelfde cel infecteren. Om het risico op complementatie en vorming van RCA's te minimaliseren heeft de COGEM destijds geadviseerd (CGM/021216-03) dat het proefdier ten tijde van de toediening van de adenovirale vector een goed functionerend immuunsysteem heeft en géén acute infectie doormaakt van het orgaansysteem waarin de adenovirale vector wordt toegediend. Daarbij adviseerde de COGEM om de apen vóór de proef te monitoren en apart te huisvesten om het risico van een acute infectie te verkleinen. Indien na het experiment geen 'shedding' meer is aangetoond kunnen de dieren naar een lager inschalingsniveau dan D-II teruggeplaatst worden, waarbij vermeden dient te worden dat dieren uit de kolonie in contact komen met andere kolonies. Andere soortgenoten kunnen wel in de kolonie worden toegelaten, maar mogen deze niet meer apart verlaten om eventuele transmissie van adenovirussen te beperken. De COGEM is van mening dat met inachtneming van de inperkende maatregelen, zoals beschreven in het advies CGM/021216-03, de risico's voor mens en milieu van het gebruik van adenovirale vectoren in associatie met apen aanvaardbaar zijn.

Het betreffende algemene advies (CGM/021216-03) dient als een richtsnoer om de case-by-case benadering te ondersteunen, mede gezien de diversiteit van de gebruikte adenovirale vectoren en geninserties. In het advies is de eis gesteld dat in principe geïnfecteerde dieren niet meer gebruikt mogen worden voor andere experimenten of voor fokdoeleinden. Experimenten met apen zullen onherroepelijk stress bij de dieren tot gevolg hebben. Hierdoor kan het immuunsysteem verzwakt worden waardoor latente virussen geactiveerd kunnen worden (5, 6). Latente replicatiecompetente adenovirussen

kunnen dan geactiveerd worden met als gevolg mobilisatie en 'shedding' van de vector (3, 7-9). De dieren dienen bij 'shedding' minimaal op D-II niveau geïsoleerd te worden. Daarbij zullen de gevolgen van een vervolggexperiment mede afhankelijk zijn van het gebruikte vectorsysteem als ook van de adenovirale vector en de geninsertie uit het initiële experiment.

Vooruitlopend op een algemeen advies betreffende het hergebruik van virale vectoren geïnfekteerde proefdieren, is de COGEM van mening dat adenovirale vectoren geïnfekteerde apen niet hergebruikt mogen worden, tenzij de vervolggexperimenten afdoende ingeperkt worden. Gezien de diversiteit van de gebruikte adenovirale vectoren, geninserties en vervolggexperimenten, dient een case-by-case benadering gevolgd te worden, waarbij specifieke aanvullende eisen en voorwaarden gesteld kunnen worden. De COGEM is voorts van mening dat adenovirale vectoren geïnfekteerde apen nooit teruggeplaatst kunnen worden in een open kolonie, maar minimaal op D-I niveau gehouden dienen te worden.

Referenties

1. Van Regenmortel, M. H. V. (2000). Seventh report of the international committee on taxonomy of viruses. Academic Press, San Diego.
2. Flint, S. J. (2000). Principles of Virology. Molecular Biology, Pathogenesis and Control. ASM Press, Washington D.C.
3. Imler, J. L., Bout, A., Dreyer, D., Dieterle, A., Schultz, H., Valerio, D., Mehtali, M., and Pavirani, A. (1995). Trans-complementation of E1-deleted adenovirus: a new vector to reduce the possibility of codissemination of wild-type and recombinant adenoviruses. *Hum Gene Ther* **6**, blz. 711-21.
4. Vorburger, S. A. and Hunt, K. K. (2002). Adenoviral gene therapy. *Oncologist* **7**, blz. 46-59.
5. Hierholzer, J. C. (1992). Adenoviruses in the immunocompromised host. *Clin Microbiol Rev* **5**, blz. 262-74.
6. Smith, K., Brown, C. C., and Spindler, K. R. (1998). The role of mouse adenovirus type 1 early region 1A in acute and persistent infections in mice. *J Virol* **72**, blz. 5699-706.
7. Rademaker, H. J., Abou El Hassan, M. A., Versteeg, G. A., Rabelink, M. J., and Hoeben, R. C. (2002). Efficient mobilization of E1-deleted adenovirus type 5 vectors by wild-type adenoviruses of other serotypes. *J Gen Virol* **83**, blz. 1311-4.
8. Zheng, B., Mittal, S. K., Graham, F. L., and Prevec, L. (1994). The E1 sequence of

bovine adenovirus type 3 and complementation of human adenovirus type 5 E1A function in bovine cells. *Virus Res* **31**, blz. 163-86.

9. Griscelli, F., Opolon, P., Saulnier, P., Mami-Chouaib, F., Gautier, E., Echchakir, H., Angevin, E., Le Chevalier, T., Bataille, V., Squiban, P., Tursz, T., and Escudier, B. (2003). Recombinant adenovirus shedding after intratumoral gene transfer in lung cancer patients. *Gene Ther* **10**, blz. 386-95.