

Aan de Staatssecretaris van  
Volkshuisvesting, Ruimtelijke  
Ordening en Milieubeheer  
De heer drs. P.L.B.A. van Geel  
Postbus 30945  
2500 GX Den Haag

datum 12 mei 2006  
kenmerk CGM/060512-01  
onderwerp Advies IM 05-006

Geachte heer Van Geel,

Naar aanleiding van de adviesvraag betreffende de ontwerpbeschikking IM 05-006, getiteld "Immuno-gentherapie met een niet-replicerende adenovirale vector coderend voor humaan interleukine-12 als adjuvant voor de behandeling van patiënten met prostaatkanker" van het Erasmus MC, adviseert de COGEM als volgt.

**Samenvatting:**

De COGEM is gevraagd te adviseren over een gentherapiestudie voor de behandeling van prostaatkanker. Hiertoe wordt een genetisch gemodificeerd verkoudheidsvirus (adenovirus) gebruikt waarin het gen gekloneerd is dat codeert voor het humane interleukine-12. Het gentherapeutikum zal lokaal toegediend worden in de prostaattumor bij patiënten bij wie lokale radiotherapie heeft gefaald. Het doel van deze klinische fase I/II studie is het ontwikkelen van een gentherapiestrategie voor de behandeling van patiënten met prostaattumoren.

Het interleukine-12 eiwit is een krachtige stimulator van het afweersysteem. Toediening van het adenovirus met het IL-12 gen in de prostaattumor zal ertoe leiden dat het immuunsysteem geactiveerd worden, zodat de tumorcellen opgeruimd worden.

Het recombinante adenovirus is zodanig aangepast dat het zich niet meer zelfstandig kan vermenigvuldigen. Aangezien het kreupele virus in de prostaat geïnjecteerd wordt, kan verwacht worden dat het uitgescheiden wordt in urine en sperma. Hierdoor zouden mogelijk andere personen onbedoeld besmet kunnen raken. Hoewel de kans hierop klein is, is de COGEM van mening dat risicomanagementmaatregelen voorgeschreven dienen te worden om de verspreiding van het recombinante adenovirus verder te beperken. Concluderend adviseert de COGEM positief over de wijze van uitvoering van het beschreven onderzoek en acht de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein, mits aanvullende voorschriften gehanteerd worden.

De door de COGEM gehanteerde overwegingen en het hieruit voortvloeiende advies treft u hierbij aan als bijlage.

Hoogachtend,

A handwritten signature in black ink, consisting of a large loop on the left and a long horizontal stroke extending to the right.

Prof. dr. ir. Bastiaan C.J. Zoeteman  
Voorzitter COGEM

c.c. Dr. ir. B.P. Loos  
Dr. R. C. Zwart

# **Toediening van een adenovirale vector coderend voor interleukine-12 aan patiënten met prostaattumoren**

**COGEM advies CGM/060512-01**

## **Inleiding**

De COGEM is gevraagd te adviseren over de mogelijk risico's voor mens en milieu van een klinisch genterapeutisch onderzoek met een adenovirale vector, waarin een gen gekloneerd is dat codeert voor het interleukine 12. De genetisch gemodificeerde adenovirale vector (Ad5/IL12) zal lokaal toegediend worden in de prostaattumor bij patiënten bij wie lokale radiotherapie heeft gefaald.

In Nederland komen er jaarlijks ongeveer 6.500 nieuwe patiënten met prostaatkanker bij. Prostaatkanker komt vooral voor bij mannen van 70 jaar of ouder. De prostaat is een klier die om de urinebuis heen ligt en prostaatvocht produceert dat bij de zaadlozing samen met de zaadcellen naar buiten komt. Prostaatkanker ontstaat in de cellen van de klierbuisjes van de prostaat. Een duidelijke oorzaak van prostaatkanker is onbekend, maar het is waarschijnlijk dat een verandering in de hormonale regeling van de prostaat een rol speelt in het ontstaan van prostaatkanker.

Het merendeel van de patiënten die gediagnostiseerd worden met prostaatkanker kunnen behandeld worden met standaardbehandelingen zoals prostatectomie (verwijdering van de prostaat) en radiotherapie. Echter, bij een aanzienlijk aantal patiënten (34%) falen deze behandelingen waardoor de tumor kan gaan uitzaaien met vaak een fatale afloop (20).

Het doel van deze genterapiestudie is het ontwikkelen van een genterapiestrategie voor de behandeling van patiënten met prostaattumoren.

In deze klinische fase I/II studie wordt gebruik gemaakt van een immuno-genterapie die erop gericht is om het afweersysteem van de patiënt met prostaattumor te stimuleren, zodat de tumorcellen opgeruimd worden. Patiënten zullen worden geïnjecteerd met een virale vector waarin het humane interleukine 12 (IL-12) gen gekloneerd is. De virale vector is afgeleid van een humaan adenovirus serotype 5 en is zodanig genetisch gemodificeerd dat het virus zich niet zelfstandig kan vermeerderen (replicatiedeficiënt). IL-12 is een cytokine met belangrijke immuunregulerende eigenschappen. Toediening van het adenovirus met het IL-12 gen in de prostaattumor zal ertoe leiden dat het immuunsysteem geactiveerd wordt.

### *Eerder COGEM advies*

De COGEM heeft eerder geadviseerd over genterapiestudies met replicatiedeficiënte adenovirale vectoren (2; 4). In de adviezen CGM/990924-10 en CGM/030528-01 wordt geadviseerd over een adenovirale vector met het thymidine kinase gen van het Herpes simplex virus (HSV-tk gen). In deze klinische studie werden maximaal  $9 \times 10^{11}$  vectordeeltjes (VP) in de prostaat van patiënten met prostaatkanker toegediend. Destijds concludeerde de COGEM, op grond van een analyse van de mogelijke risico's, dat onder voorwaarden geen bezwaar bestaat tegen de toepassing van deze adenovirale vector.

In een andere klinische studie heeft de COGEM geadviseerd (CGM/030804-01) over de toediening van een zogenaamde prodrug in combinatie met een adenovirale vector met daarin het nitroreductase gen gekloneerd (3). Het nitroreductase enzym wordt gebruikt om de prodrug om te zetten in een toxische stof. Deze therapie wordt toegepast in patiënten met loszittende heupprothesen om weefsel bij de heup te verwijderen. De ruimte die hierdoor ontstaat tussen de heupprothese en het bot wordt opgevuld met botcement, zodat de heupprothese gestabiliseerd wordt. De COGEM heeft ook over deze genterapiestudie, onder voorwaarden, positief geadviseerd en acht de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein.

### **Milieurisicoanalyse**

Bij de risicobeoordeling van introductie in het milieu van genetisch gemodificeerde organismen (ggo's), zoals die door de COGEM wordt uitgevoerd, worden de effecten beoordeeld die het ggo kan hebben op mens en milieu (waarbij de mens als integraal onderdeel van het milieu wordt beschouwd).

Onder risico wordt verstaan de combinatie van de gevolgen van een gevaar en de kans dat deze gevolgen zich kunnen voordoen. Hierbij worden de mogelijke schadelijke effecten van (toepassing van) een ggo vergeleken met die van het ongemodificeerde organisme (de zogenaamde basislijn) waaruit het ggo is afgeleid.

De uitgangspunten en de methodiek van de milieurisicobeoordeling is in de EU richtlijn 2001/18 en de bijbehorende bijlagen beschreven. Hierin is vastgelegd dat bij de milieurisicobeoordeling zowel gekeken wordt naar mogelijk directe als indirecte schadelijke effecten van het ggo. Om tot een risico-inschatting te komen worden de volgende stappen doorlopen: de identificatie van kenmerken die schadelijke effecten kunnen hebben; de evaluatie van mogelijke gevolgen van het mogelijk optreden van schadelijke effecten; evaluatie van de kans op het optreden van mogelijke schadelijke effecten; schatting van het risico dat aan elk bepaald kenmerk van het ggo is verbonden; bepaling risicomanagementmaatregelen; en bepaling algehele risico van het ggo.

In het kader van onderhavige aanvraag analyseert de COGEM de risico's die zijn verbonden aan het introduceren van een genetisch gemodificeerde adenovirale vector in het milieu. De mogelijke nadelige effecten van deze introductie worden bestudeerd waarbij de effecten van het wildtype adenovirus als basislijn genomen wordt. Concreet betekent dit dat gekeken wordt naar de mogelijke schadelijke effecten van het ggo (waarbij onder meer de mogelijkheid van recombinatie en de gevolgen daarvan wordt bekeken), de kans op verspreiding in het milieu en de effecten die door de mogelijke verspreiding teweeg gebracht kunnen worden. Om deze aspecten te kunnen beoordelen wordt een aantal factoren in ogenschouw genomen: de eigenschappen van het gastheerorganisme waarin het transgen is ingebracht, de eigenschappen van het organisme waaruit de ingebrachte genen afkomstig zijn (donororganisme), de kenmerken van de ingebrachte transgenen, de mogelijke effecten van deze genen, en de kenmerken van het ggo.

### ***Het gastheerorganisme***

In de studie wordt gebruik gemaakt van een door genetische modificatie verkregen adenovirus van serotype 5. Humane adenovirussen behoren tot de *Adenoviridae*, genus *Mastadenovirus*, en komen endemisch voor in de meeste delen van de wereld. Tenminste 51 humane adenovirus subtypen zijn bekend die variëren in pathogeniteit. Alle adenovirussen zijn gecategoriseerd als pathogeniteitsklasse 2 virussen. Serotype 5 adenovirussen behoren tot de subgroep C adenovirussen en kunnen alleen mensen infecteren (11; 22).

De normale infectieroute van serotype 5 adenovirussen verloopt via de luchtwegen door overdracht van aërosolen. De meeste mensen worden tijdens hun jeugd blootgesteld aan adenovirussen. De immuniteit tegen adenovirussen is levenslang en daardoor is het merendeel van de mensen seropositief voor adenovirus serotype 5. Een infectie bij immunocompetente personen verloopt meestal asymptomatisch of met lichte verkoudheidssymptomen waarvoor normaal gesproken geen noodzaak is voor medische behandeling. Adenovirussen kunnen in personen met een verzwakt immuunsysteem complicaties veroorzaken met symptomen zoals koorts, verkoudheid, keelontsteking, hoesten of ontstekingen (conjunctivitis) (8; 12). Geïnfecteerde mensen kunnen het virus over langere tijd uitscheiden ('shedding').

De genen van het DNA genoom van adenovirussen zijn onderverdeeld in vroege ('early') en late ('late') genen. De vroege genen komen onmiddellijk na infectie tot expressie. Dit leidt tot replicatie van het virale genoom en vervolgens tot expressie van de late genen die coderen voor de eiwitten van de virusmantel. In een lytische cyclus kunnen meer dan 10.000 virusdeeltjes per cel geproduceerd worden. De vroege genen worden afgelezen van vier regio's in het genoom. De twee transcriptie eenheden van de 'early region 1' (E1a en E1b) verstoren de cel cyclus, terwijl de E3 genen een rol spelen bij de onderdrukking van de immunologische afweer (9; 11; 22).

### ***De donorsequentie***

De insertie van de genetisch gemodificeerde adenovirale vector bestaat uit een expressiecassette met daarin het gen dat codeert voor het humane interleukine 12 (IL-12). IL-12 behoort tot de

cytokines. Dit zijn kleine eiwitten die door het immuunsysteem gebruikt worden voor de communicatie tussen cellen. IL-12 kan beschouwd worden als een krachtige stimulator van het immuunsysteem doordat het de cellulaire immunrespons bevordert (19). Expressie van IL-12 in de prostaattumor kan de afweerreactie tegen tumorcellen stimuleren (14).

De IL-12 expressiecassette in de adenovirale vector staat onder controle van een humaan cytomegalovirus (CMV) promotor. In de expressiecassette is tevens een poly-adenyleringssignaal afkomstig van *Simian virus 40* (SV40) opgenomen. De CMV promotor is actief in een groot aantal celtypen en is noodzakelijk voor de expressie van het transgen.

IL-12 bestaat uit twee subunits (p35 en p40). In de expressiecassette zijn de sequenties voor beide subunits aanwezig gescheiden door een 'Internal Ribosome Entry Site' (IRES). Deze IRES sequentie is afkomstig van het *Encephalomyocarditis virus* (ECMV). Beide IL-12 subunit sequenties worden in gelijke hoeveelheden geproduceerd.

De pathogeniteit van het humane *Cytomegalovirus* en het *Encephalomyocarditis virus* zijn niet relevant voor de milieurisicoanalyse aangezien alleen de CMV promotor en de IRES sequentie in het ggo aanwezig zijn. In de literatuur zijn diverse studies beschreven met IL-12 in combinatie met adenovirale vectoren (10; 14; 17). Tot dusver zijn er geen aanwijzingen dat IL-12 effect heeft op het gastheerbereik, de infectiviteit, de pathogeniteit, of de virulentie van de recombinante adenovirale vector.

### ***Aspecten van het ggo***

In de te gebruiken adenovirale vector is het E1 gen uit het virale genoom verwijderd. Hierdoor is de vector niet meer in staat om zelfstandig te vermenigvuldigen (replicatiedeficiënt). De E1 regio is vervangen door de IL-12 expressiecassette. Expressie van IL-12 kan de afwezigheid van E1 niet complementeren waardoor de vector replicatiedeficiënt zal blijven. De adenovirale vector mist tevens een gedeelte van het E3 gen zodat geen functioneel E3 eiwit tot expressie kan komen. Het E3 codeert voor het gp19K eiwit welke de presentatie van virale genen op de geïnfecteerde cel hindert. Hierdoor worden geïnfecteerde cellen moeilijker door het immuunsysteem herkend en opgeruimd. De afwezigheid van het E3 eiwit maakt cellen waarin het virus zich bevindt dus gevoeliger voor de immunologische afweer (9). Het E3 domein van de adenovirale vector bevat tevens een insertie van een sequentie ter grootte van 646 base paren (bp). Deze sequentie vertoont sterke homologie met sequenties afkomstig uit het genoom van zalm. Dit zalm DNA is waarschijnlijk geïnserteerd tijdens de vervaardiging van de vector (5). De sequentie is gedeeltelijk homoloog aan het 3' gedeelte van het zalm prolactine II gen. Echter, de adenovirale vector kan geen functioneel prolactine II eiwit produceren.

Adenovirussen die het E1 gen missen zijn sterk geattenuëerd en kunnen niet zelfstandig in cellen repliceren, behalve in cellen die de gedeleteerde genen kunnen complementeren. Voor de productie van Ad5/IL12 wordt een genetisch gemodificeerde humane embryonale niercellijn (HEK293) gebruikt. Deze cellen bevatten de E1 regio van het adenovirus dat nodig is voor complementatie van de replicatiedeficiënte vector. De Ad5/IL12 vector wordt geproduceerd in de

Verenigde Staten. De productie van de vector is geen onderdeel van de onderhavige aanvraag, maar de kwaliteit van de virusbatch wordt wel door de COGEM in de overwegingen betrokken.

### ***Overwegingen***

De in de onderhavige klinische studie te gebruiken Ad5/IL-12 vector is niet in staat om zelfstandig te repliceren. De vector kan buiten de prostaattumorcellen ook andere cellen infecteren, maar zal door het replicatiedeficiënte karakter na infectie niet verder kunnen verspreiden. Vermenigvuldiging en verspreiding (shedding) van het ggo kan echter wel plaatsvinden als behalve de vector ook wildtype adenovirussen of replicatiecompetente adenovirussen (RCA's) in dezelfde cel aanwezig zijn.

### **RCA's in de virusbatch**

Tijdens de productie van de recombinante virusdeeltjes kan niet worden uitgesloten dat er replicatiecompetente adenovirussen (RCA's) gevormd worden. Het ontstaan van RCA's in de productiecellijn treedt op wanneer er overlap is tussen de virale E1 sequenties in de productiecellijn en het DNA van de vector. Door recombinatie tussen de overlappende (homologe) delen kunnen de verschillende stukken genetisch materiaal zodanig aan elkaar gekoppeld worden dat een RCA ontstaat. Als gevolg van homologe recombinatie zal de IL-12 expressiecassette vervangen worden door de E1 sequentie. Het virusdeeltje dat hierdoor ontstaat zal geen transgen in zich dragen en vergelijkbaar zijn met in de natuur voorkomende adenovirussen. Omdat adenovirussen veelvuldig voorkomen in de humane populatie zal hierdoor geen nieuwe situatie ontstaan in het kader van risico's voor mens en milieu. Daarbij zal een RCA, die ontstaan is tijdens de productie van de virusdeeltjes, geen functioneel E3 eiwit tot expressie brengen waardoor het virus gevoeliger is voor het afweersysteem van de gastheer dan een wildtype adenovirus.

Indien door recombinatie een vector gevormd wordt die behalve de IL-12 expressiecassette ook een functionele E1 sequentie bevat zou dit wel kunnen leiden tot een potentieel risico. De vorming van RCA's met een IL-12 expressiecassette kan ontstaan door recombinatie tussen twee verschillende niet-homologe DNA moleculen. Dit is een zeer onwaarschijnlijke gebeurtenis in vergelijking met homologe recombinatie waarbij twee identieke DNA sequenties betrokken zijn. De frequentie van de vorming van deze RCA's zal daarom vele malen lager zijn dan het ontstaan van RCA's waarbij de IL-12 expressiecassette verloren is gegaan. Tevens is de grootte van het ontstane vectordeeltje beperkend. Een adenovirale vector die zowel de IL-12 expressiecassette als een volledig E1 domein bevat, is te groot om efficiënt en stabiel ingepakt te kunnen worden in een functioneel virusdeeltje (1). De COGEM is van mening dat de kans verwaarloosbaar klein is dat een RCA ontstaat die naast het E1 gen ook de IL-12 expressiecassette bevat.

De aanvragers geven aan dat de geproduceerde batch alleen wordt vrijgegeven als deze vrij is van RCA's. De test die hiervoor gebruikt wordt kan 1 RCA deeltje detecteren per  $3 \times 10^{10}$  vectordeeltjes. Dit betekent dat in het geval dat de patiënt de hoogste dosis van  $1 \times 10^{12}$

vectordeeltjes toegediend krijgt, er maximaal 33 RCA's aan een patiënt kunnen worden toegediend. Op grond van bovengenoemde overwegingen zullen deze RCA's vergelijkbaar zijn met wildtype adenovirussen en gezien het kleine aantal RCA's is de kans bovendien uitermate klein dat hierdoor symptomen van een adenovirale infectie ontstaan.

#### Complementatie en recombinatie in de patiënt

In deze klinische studie zullen maximaal 40 patiënten met prostaatkanker worden behandeld met Ad5/IL-12. Verschillende doses van  $1 \times 10^{10}$ ,  $1 \times 10^{11}$  en  $1 \times 10^{12}$  vectordeeltjes worden eenmalig in de tumor van de patiënten toegediend.

Door complementatie kan het replicatiedeficiënte karakter van de vector opgeheven worden zodat replicatie van Ad5/IL-12 in de patiënt optreedt. Voorwaarde voor dit scenario is dat een lichaamscel tegelijkertijd geïnfecteerd dient te zijn met de Ad5/IL-12 vector als met een wildtype adenovirus of een RCA die een functioneel E1 gen bevat. De recombinante Ad5/IL-12 vector zal hierdoor kunnen repliceren, waardoor een virusdeeltje gevormd wordt dat vervolgens een andere cel kan infecteren. In de nieuw geïnfecteerde cel zal alleen replicatie op kunnen treden als deze vervolgens ook geïnfecteerd is met een complementierend wildtype adenovirus of RCA. Zodra Ad5/IL-12 zich niet in dezelfde cel bevindt als een complementierend adenovirus zal de infectie en verspreiding van het virus uitdoven.

Tevens kan er recombinatie optreden tussen de replicatiedeficiënte Ad5/IL-12 vector en wildtype adenovirussen of RCA's. Ook hierbij geldt als voorwaarde dat het Ad5/IL-12 en het wildtype adenovirus of RCA zich in dezelfde cel bevinden. Als gevolg van homologe recombinatie kan de IL-12 expressiecassette vervangen worden door de E1 sequentie, waardoor een virusdeeltje ontstaat dat vergelijkbaar is met in de natuur voorkomende adenovirussen.

#### Biodistributie en shedding

De vector kan buiten de prostaattumorcellen ook andere cellen zelfstandig infecteren. Door het replicatiedeficiënte karakter van de vector zal dit echter een uitdovend effect zijn.

Het is waarschijnlijk dat Ad5/IL-12 zich in het lichaam kan verspreiden en via excreta in het milieu terecht komt ('shedding'). In een eerdere klinische studie met een lagere dosis adenovirale vector (Ad5-HSV-tk,  $9 \times 10^9$  of  $9 \times 10^{10}$  vectordeeltjes) die lokaal in de prostaat is toegediend, is door middel van viruskweek in een complementerende cellijn geen vector aangetoond in urine, keeluitstrijkje en prostaatweefsel (20). De in de huidige studie te gebruiken dosis is echter hoger, waardoor mede op basis van dierexperimenten verwacht kan worden dat de vector zich in het lichaam verspreidt (18).

Recente literatuurstudies tonen aan dat toegediende adenovirussen snel door het lichaam opgeruimd worden (6; 15). Daarbij is de adenovirale vector vanwege het ontbreken van het E3 genproduct gevoeliger voor het afweersysteem en zal de tijdsduur dat de vector in de patiënt aanwezig is verder beperkt worden (9). De COGEM is van mening dat de hoeveelheid Ad5/IL-12



die door shedding een ander persoon zou kunnen besmetten veel lager is dan de dosis die de patiënt heeft ontvangen.

Daar het ggo in de prostaat wordt toegediend is de mogelijkheid aanwezig dat de vector in het sperma terechtkomt. In een klinische studie met een vergelijkbare adenovirale vector die toegediend werd in de prostaat is bij één patiënt de aanwezigheid van vectorsequenties in een spermamonster aangetoond 14 dagen na infectie (7). Het is niet bekend of dit infectieus virus was. Gezien het gegeven dat adenovirussen niet integreren in het genoom, zal er geen effect op de kiembaan zijn.

### Blootstelling en milieueffecten

Het vrijkomen van de recombinante adenovirale vector uit de patiënt zal mogelijk via sperma of urine optreden. De kans op blootstelling en infectie van derden zal volgens de COGEM het grootst zijn tijdens de handelingen door verplegend personeel voorafgaand aan en tijdens de toediening van de vector. De dosis die in het milieu terechtkomt en waarmee derden geïnfecteerd kunnen raken, zal vele malen kleiner zijn dan de therapeutische dosis. Personen die blootgesteld worden kunnen met name via aërosolen een infectie van de longen oplopen. Alleen wanneer deze persoon een acute adenovirale infectie ondergaat kan complementatie van het E1 domein plaatsvinden. In dat geval kan replicatie van Ad5/IL-12 in de epitheelcellen van de luchtwegen optreden. Indien complementatie door wildtype adenovirussen of RCA's wegvalt, zal Ad5/IL-12 niet verder verspreiden.

Expressie van IL-12 in geïnfecteerde personen kan mogelijk nadelige effecten tot gevolg hebben. Dagelijkse systemische toediening van een hoge concentratie IL-12 eiwitten heeft een toxische werking op de mens. Het immuunsysteem wordt door de aanwezigheid van hoge concentraties IL-12 ontregeld waardoor een toxisch effect op kan treden voor de werking van verschillende organen zoals hart, nieren, bloed, lever en het zenuwstelsel. Bij een eenmalige intraveneuze toediening van 500 ng/kg IL-12 worden deze effecten niet waargenomen (13). De COGEM merkt op dat deze beschreven effecten alleen verwacht worden indien mensen dagelijks intraveneus blootgesteld worden aan een extreem hoge dosis van Ad/IL-12 (17; 21). Deze situatie is in de onderhavige klinische studie echter hoogst onwaarschijnlijk. De dosis Ad5/IL-12 die door shedding in het milieu vrijkomt en die andere personen infecteert is laag (6; 15). Hierdoor zal de hoeveelheid IL-12 die door de vector geproduceerd wordt in blootgestelde personen zeer gering zijn (16). Eventuele expressie van IL-12 zal in blootgestelde mensen steeds minder worden vanwege het replicatiedeficiënte karakter van de vector. Daarom is de COGEM van mening dat het effect van een infectie van derden met Ad/IL-12 zeer klein zal zijn.

### Risicomanagementmaatregelen

Om de kans op complementatie of recombinatie van Ad/IL-12 met wildtype adenovirussen of RCA's verder te reduceren is de COGEM van mening dat patiënten uitgesloten dienen te worden

die symptomen hebben die kunnen wijzen op een acute adenovirale infectie. Tevens adviseert de COGEM om ernstig immuun-gecompromiteerde patiënten uit te sluiten van deelname aan de studie, zoals HIV- en beenmergtransplantatiepatiënten en personen die medicatie krijgen waarvan bekend is dat die leidt tot een specifieke aantasting van het immuunsysteem. Dergelijke patiënten zouden na behandeling langer virus kunnen uitscheiden.

Teneinde de kans op verspreiding van het ggo via urine of sperma verder te reduceren is de COGEM van mening dat een aantal aanvullende voorschriften gehanteerd dienen te worden, zoals voorgesteld door de aanvrager. Patiënten dienen gebruik te maken van op barrière beruste anticonceptie en mogelijk besmette urine van patiënten dient geïnactiveerd te worden met behulp van chloortabletten. De aanvrager geeft aan dat patiënten gedurende tenminste drie weken na injectie een condoom dienen te gebruiken bij handelingen waarbij sperma vrij kan komen. Tevens dient urine tot tenminste drie weken na de vector toediening geïnactiveerd te worden. Daarna dienen deze procedures voortgezet te worden totdat twee opeenvolgende meetpunten in urinemonsters negatief zijn voor vector DNA.

## **Conclusie en Advies**

De huidige aanvraag betreft een genterapiestudie voor de behandeling van patiënten met prostaattumoren met een genetisch gemodificeerde adenovirale vector waarin een gen geplaatst is dat codeert voor het humane IL-12. Op grond van bovengenoemde overwegingen is de COGEM van mening dat, met inachtneming van de voorgestelde maatregelen, de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn.

## **Referenties**

1. Bett, A. J., Prevec, L., and Graham, F. L. (1993). Packaging capacity and stability of human adenovirus type 5 vectors. *J Virol* **67**, blz. 5911-21
2. COGEM advies CGM/030528-01, Wijziging dosis in project Neoadjuvant pre-radical prostatectomy gene therapy in patients with poor prognostic indicators.
3. COGEM advies CGM/030804-01, Gene-Directed Enzyme Prodrug Therapy.
4. COGEM advies CGM/990924-10, Neoadjuvant pre-radical prostatectomy gene therapy in patients with poor prognostic indicators.
5. Gingras, M. C., Arevalo, P., and Aguilar-Cordova, E. (1996). Potential salmon sperm origin of the E3 region insert of the adenovirus 5 dl309 mutant. *Cancer Gene Ther* **3**, blz. 151-4
6. Green, N. K., Herbert, C. W., Hale, S. J., Hale, A. B., Mautner, V., Harkins, R., Hermiston, T., *COGEM advies: CGM/060512-01*

Ulbrich, K., Fisher, K. D., and Seymour, L. W. (2004). Extended plasma circulation time and decreased toxicity of polymer-coated adenovirus. *Gene Ther* **11**, blz. 1256-63

7. Herman, J. R., Adler, H. L., Aguilar-Cordova, E., Rojas-Martinez, A., Woo, S., Timme, T. L., Wheeler, T. M., Thompson, T. C., and Scardino, P. T. (1999). In situ gene therapy for adenocarcinoma of the prostate: a phase I clinical trial. *Hum Gene Ther* **10**, blz. 1239-49

8. Hierholzer, J. C. (1992). Adenoviruses in the immunocompromised host. *Clin Microbiol Rev* **5**, blz. 262-74

9. Horwitz, M. S. (2004). Function of adenovirus E3 proteins and their interactions with immunoregulatory cell proteins. *J Gene Med* **6** Suppl 1, blz. S172-83

10. Hwang, K. S., Cho, W. K., Yoo, J., Yun, H. J., Kim, S., and Im, D. S. (2005). Adenovirus-mediated interleukin-12 gene transfer combined with cytosine deaminase followed by 5-fluorocytosine treatment exerts potent antitumor activity in Renca tumor-bearing mice. *BMC Cancer* **5**, blz. 51

11. Knipe, M. D. and Howley, P. M. (2001). *Fields Virology*. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia.

12. Kojaoghlanian, T., Flomenberg, P., and Horwitz, M. S. (2003). The impact of adenovirus infection on the immunocompromised host. *Rev Med Virol* **13**, blz. 155-71

13. Leonard, J. P., Sherman, M. L., Fisher, G. L., Buchanan, L. J., Larsen, G., Atkins, M. B., Sosman, J. A., Dutcher, J. P., Vogelzang, N. J., and Ryan, J. L. (1997). Effects of single-dose interleukin-12 exposure on interleukin-12-associated toxicity and interferon-gamma production. *Blood* **90**, blz. 2541-8

14. Nasu, Y., Bangma, C. H., Hull, G. W., Lee, H. M., Hu, J., Wang, J., McCurdy, M. A., Shimura, S., Yang, G., Timme, T. L., and Thompson, T. C. (1999). Adenovirus-mediated interleukin-12 gene therapy for prostate cancer: suppression of orthotopic tumor growth and pre-established lung metastases in an orthotopic model. *Gene Ther* **6**, blz. 338-49

15. Palmer, D. H., Mautner, V., Mirza, D., Oliff, S., Gerritsen, W., van der Sijp, J. R., Hubscher, S., Reynolds, G., Bonney, S., Rajaratnam, R., Hull, D., Horne, M., Ellis, J., Mountain, A., Hill, S., Harris, P. A., Searle, P. F., Young, L. S., James, N. D., and Kerr, D. J. (2004). Virus-directed enzyme prodrug therapy: intratumoral administration of a replication-deficient adenovirus encoding nitroreductase to patients with resectable liver cancer. *J Clin Oncol* **22**, blz. 1546-52

16. Sangro, B., Mazzolini, G., Ruiz, J., Herraiz, M., Quiroga, J., Herrero, I., Benito, A., Larrache, J., Pueyo, J., Subtil, J. C., Olague, C., Sola, J., Sadaba, B., Lacasa, C., Melero, I., Qian, C., and Prieto, J. (2004). Phase I trial of intratumoral injection of an adenovirus encoding interleukin-12 for advanced digestive tumors. *J Clin Oncol* **22**, blz. 1389-97

17. Sangro, B., Mazzolini, G., Ruiz, J., Herraiz, M., Quiroga, J., Herrero, I., Benito, A., Larrache, J., Pueyo, J., Subtil, J. C., Olague, C., Sola, J., Sadaba, B., Lacasa, C., Melero, I., Qian, C., and Prieto, J. (2004). Phase I trial of intratumoral injection of an adenovirus encoding interleukin-12 for advanced digestive tumors. *J Clin Oncol* **22**, blz. 1389-97

18. Timme, T. L., Hall, S. J., Barrios, R., Woo, S. L., Aguilar-Cordova, E., and Thompson, T. C. (1998). Local inflammatory response and vector spread after direct intraprostatic injection of a recombinant adenovirus containing the herpes simplex virus thymidine kinase gene and ganciclovir therapy in mice. *Cancer Gene Ther* **5**, blz. 74-82
19. Trinchieri, G. (2003). Interleukin-12 and the regulation of innate resistance and adaptive immunity. *Nat Rev Immunol* **3**, blz. 133-46
20. van der Linden, R. R., Haagmans, B. L., Mongiat-Artus, P., van Doornum, G. J., Kraaij, R., Kadmon, D., Aguilar-Cordova, E., Osterhaus, A. D., van der Kwast, T. H., and Bangma, C. H. (2005). Virus specific immune responses after human neoadjuvant adenovirus-mediated suicide gene therapy for prostate cancer. *Eur Urol* **48**, blz. 153-61
21. van Herpen, C. M., Looman, M., Zonneveld, M., Scharenborg, N., de Wilde, P. C., van de Locht, L., Merkx, M. A., Adema, G. J., and de Mulder, P. H. (2004). Intratumoral administration of recombinant human interleukin 12 in head and neck squamous cell carcinoma patients elicits a T-helper 1 profile in the locoregional lymph nodes. *Clin Cancer Res* **10**, blz. 2626-35
22. Van Regenmortel, M. H. V. (2000). Seventh report of the international committee on taxonomy of viruses. Academic Press, San Diego.