

Aan de staatssecretaris van Openbaar Vervoer en Milieu
Ministerie van Infrastructuur en Waterstaat
De heer A.A. Aartsen
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 28 november 2025

KENMERK CGM/251128-01

ONDERWERP Advies Klinische studie met conditioneel-replicerende adenovirale vector bij patiënten met hersentumoren

Geachte heer Aartsen,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende de vergunningaanvraag IM-MV 250018_001 met de titel 'Single or repetitive intratumor infusions of DNX-2401 in pediatric and young adult patients with different types of high-grade brain tumors' van het Prinses Máxima Centrum te Utrecht, deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is gevraagd te adviseren over een klinische studie met DNX-2401, een genetisch gemodificeerd virus (gg-virus) voor de behandeling van hersentumoren bij kinderen en jongvolwassenen. DNX-2401 is een adenovirale vector die direct in de hersentumor zal worden geïnjecteerd. Het gg-virus is zo aangepast dat het zich voornamelijk kan vermenigvuldigen in delende kankercellen, een eigenschap die 'conditioneel-replicerend' wordt genoemd. Het doel van de studie is het onderzoeken van de veiligheid en effectiviteit van deze behandeling.

Doordat DNX-2401 alleen actief is in delende cellen, beschouwt de COGEM het gg-virus als verzwakt ten opzichte van het oorspronkelijke adenovirus. De kans dat DNX-2401 zich buiten de tumor verspreidt of derden bereikt, acht de COGEM verwaarloosbaar. Dit komt door het verzwakte karakter van het virus, de directe toediening in de hersenen en de getroffen voorzorgsmaatregelen. Theoretisch zou DNX-2401 genetisch materiaal kunnen uitwisselen met een wildtype adenovirus, maar daarvoor moeten beide virussen gelijktijdig dezelfde cel infecteren. De kans hierop wordt door de COGEM verwaarloosbaar klein geacht.

Op basis van alle beschikbare informatie concludeert de COGEM dat de risico's voor mens en milieu van deze klinische studie met DNX-2401 verwaarloosbaar klein zijn.



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

Hoogachtend,

Prof. dr. ing. Sybe Schaap
Voorzitter COGEM

c.c.

- Drs. Y. de Keulenaar, Hoofd Bureau ggo
- Ministerie van IenW, Directie Omgevingsveiligheid en milieurisico's, DG Milieu en Internationaal
- Dr. ir. M.M.C. Gielkens, Loket Gentherapie
- Dr. K.R.J. Vanmolkot, Centrale Commissie Mensgebonden Onderzoek
- Drs. K.E. Kok, Ministerie van VWS
- Drs. W.T. Leijs, Ministerie van VWS

Advies Klinische studie met conditioneel-replicerende adenovirale vector bij patiënten met hersentumoren

COGEM-advies CGM/251128-01

1. Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over een vergunningaanvraag van het Prinses Máxima Centrum te Utrecht (IM 250018_001). Deze aanvraag betreft een klinische studie waarbij gebruik wordt gemaakt van de genetisch gemodificeerde, conditioneel-replicerende adenovirale vector DNX-2401. Deze vector is afgeleid van het humaan adenovirus 5 (HAdV-5, soort *Mastadenovirus caesari*, voorheen Human mastadenovirus C, type 5) en zal worden toegediend als behandeling voor kinderen en jongvolwassenen met verschillende typen hersentumoren. In de vector zijn twee modificaties aangebracht, waardoor deze alleen replicateert in delende cellen en daarnaast kankercellen beter infecteert. Het doel van de studie is om de veiligheid en werkzaamheid te onderzoeken van één of meerdere intratumorale injecties met DNX-2401.

2. Achtergrondinformatie adenovirussen

Adenovirussen behoren tot de familie van de *Adenoviridae* en komen voor bij gewervelde dieren. De familie *Adenoviridae* omvat zes genera (*Aviadenovirus*, *Barthadenovirus*, *Ichtadenovirus*, *Mastadenovirus*, *Siadenovirus* en *Testadenovirus*) en 125 soorten.¹ Humane adenovirussen (HAdV's) behoren samen met adenovirussen van andere zoogdieren tot het genus *Mastadenovirus*. Dit genus omvat 63 species, waaronder *Mastadenovirus caesari* waartoe verschillende HAdV's behoren.¹ Binnen de species worden adenovirussen verder onderverdeeld in serotypen of typen, die met een nummer worden aangegeven. Er worden meer dan 100 verschillende typen HAdV's onderscheiden.² Adenovirussen hebben een gastheerbereik dat beperkt is tot één of enkele nauw verwante soorten.^{3,4} Adenovirussen kunnen de luchtwegen, het maag-darmstelsel en soms de ogen infecteren.⁴ Een infectie verloopt meestal asymptomatisch of met lichte verkoudheidssymptomen, zonder noodzaak tot medische behandeling en is doorgaans zelflimiterend.⁵ Bij patiënten met een sterk verzwakt afweersysteem kunnen echter ontstekingen aan de nieren en longen ontstaan met mogelijk fatale gevolgen.⁵

In de onderhavige adviesvraag wordt het genoom van HAdV-5 als basis gebruikt voor de adenovirale vector. Infectie met dit type adenovirus kan leiden tot verkoudheidsverschijnselen.

2.1 Immuniteit tegen HAdV-5 onder de bevolking

Een groot deel van de bevolking is ooit (over het algemeen al tijdens de jeugd) geïnfecteerd geweest met een adenovirus.⁶ Hierdoor hebben veel mensen antilichamen ontwikkeld tegen adenovirussen (humorale immuniteit).⁷ Een deel van deze antilichamen neutraliseert het virus, maar ook niet-neutraliserende antilichamen helpen bij het opruimen van het virus. In Europa bedraagt de mediane prevalentie van neutraliserende antilichamen tegen HAdV-5 onder de bevolking 58%.⁷ Dit betekent niet dat de overige mensen helemaal geen antilichamen hebben, maar dat deze niet zijn gedetecteerd. Waarschijnlijk beschikt iedereen over een induceerbare B-geheugencelrespons tegen humane adenovirussen. Naast de humorale immuniteit hebben de meeste mensen ook een cellulaire immuniteit. De immuniteit tegen adenovirussen is levenslang en als gevolg van de opgebouwde immuniteit zijn bij mensen op latere leeftijd vrijwel uitsluitend subklinische herinfecties te zien. Dit

houdt in dat de afweer voldoende is om heftige virusreproductie (en bijkomende symptomen) te voorkomen.

2.2 Genoom van en reproductie adenovirussen

Het genoom van adenovirussen is een lineair dubbelstrengs DNA-molecuul dat wordt omgeven door een eiwitmantel.^{3,4} Het genoom is onderverdeeld in een vroege (Early) en een late (Late) regio. De vroege regio komt kort na binnenkomst van het virus in de cel tot expressie. De late regio komt pas tot expressie als de DNA-reproductie gestart is. De transcriptie van de vroege genen leidt tot de synthese van ongeveer 17 vroege eiwitten, waaronder E1A, E1B en E3. De E1A-eiwitten zijn betrokken bij de inductie van virale reproductie en de E1B-eiwitten voorkomen geprogrammeerde celdood in de gastheercel. De E3-eiwitten spelen een rol in het blokkeren van de afweerreactie tegen het virus.^{3,4,8}

3. Voorgenomen werkzaamheden

3.1 Doel en opzet van het onderzoek

Het doel van deze klinische studie is het onderzoeken van de toxiciteit en effectiviteit van een behandeling met een adenovirale vector bij kinderen en jongvolwassenen met een hersentumor. In totaal zullen maximaal 100 proefpersonen deelnemen. Bij elke proefpersoon wordt de genetisch gemodificeerde, conditioneel-replicerende adenovirale vector tot zes keer toegediend, met intervallen van vier tot zes weken. De vector wordt via een intratumorale infusie met een pomp in maximaal 90 minuten rechtstreeks in de hersentumor toegediend. Na de toediening worden het hersenvlies en de huid gesloten.

3.2 De adenovirale vector DNX-2401

De aanvragers gebruiken een genetisch gemodificeerd organisme (ggo), het conditioneel-replicerende adenovirus DNX-2401. Dit virus is geproduceerd via homologe recombinatie tussen twee plasmiden die elk het HAdV-5-genoom bevatten, met ieder één van de twee specifieke modificaties die kenmerkend zijn voor DNX-2401. Door deze aanpassingen ten opzichte van het oudervirus HAdV-5 is DNX-2401 zo ontworpen dat reproductie in principe alleen kan plaatsvinden in delende tumorcellen.

De eerste modificatie betreft een deletie van 24 baseparen in het E1A-gen, waardoor DNX-2401 niet in staat is te repliceren in gezonde, rustende cellen, maar wel in delende tumorcellen. In rustende cellen bindt het retinoblastoma-eiwit (Rb) aan het eiwit E2F, waardoor de DNA-reproductie wordt geremd. Bij infectie met een wildtype adenovirus remt het virale E1A-eiwit de functie van Rb, waardoor E2F vrijkomt. Dit leidt ertoe dat DNA-reproductie wordt gestart, celdeling optreedt en dat virusreproductie mogelijk wordt. Door de deletie in DNX-2401 kan het E1A-eiwit echter niet langer aan Rb binden, waardoor E2F niet vrijkomt en het virus zich niet kan vermenigvuldigen in gezonde, rustende cellen. In veel tumorcellen is Rb echter gemuteerd, waardoor E2F niet wordt gebonden en deze cellen continu delen. De Rb-remmende functie van het adenovirale E1A-eiwit is in deze tumorcellen dus overbodig. Hierdoor kan DNX-2401 wel repliceren in tumorcellen, maar niet in gezonde, niet-delende cellen.

De tweede modificatie betreft een insertie van 27 nucleotiden in het open leesraam van het fibercapside-gen, waardoor DNX-2401 tumorcellen met een hogere efficiëntie kan infecteren. Deze insertie codeert voor een extra RGD-motief (het arginine-glycine-asparagine-4C-peptide), dat in de fiber aan de buitenkant van het virusdeeltje is geplaatst. De fiber speelt een belangrijke rol bij de

herkenning van cellen die door het virus geïnfecteerd kunnen worden. Door toevoeging van het extra RGD-motief is DNX-2401 in staat om cellen te infecteren die bepaalde integrines (met name $\alpha\beta3$ en $\alpha\beta5$) op hun celmembraan tot expressie brengen, zelfs als deze cellen niet beschikken over de natuurlijke coxsackie-adenovirusreceptoren (CAR) voor HAdV-5. Dit betekent dat DNX-2401 een grotere verscheidenheid aan celtypen kan binnendringen dan wildtype HAdV-5 en dus een vergroot celtropisme heeft. Overigens beschikt HAdV-5 van nature ook over een RGD-motief.⁹ Hoewel dit motief een rol speelt bij de infectie van cellen, is het nauwelijks betrokken bij de primaire interactie van het virus met de CAR.

4. Eerder COGEM advies

De COGEM heeft alle adenovirussen waarover zij tot op heden heeft geadviseerd ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2.¹⁰ De COGEM heeft meerdere keren geadviseerd over klinische studies met replicatie-deficiënte adenovirale vectoren.^{11,12,13,14} In 2021 heeft de COGEM in een advies een generieke milieurisicobeoordeling opgesteld voor klinische toepassingen met replicatie-deficiënte adenovirale vectoren.¹⁵

De COGEM heeft ook meerdere keren geadviseerd over klinische studies met conditioneel-replicerende adenovirale vectoren als aanvullende behandeling voor hersentumoren^{16,17,18}, prostaatcancer¹⁹ en slokdarmkanker.²⁰

In 2009 heeft de COGEM voor het eerst geadviseerd over een klinische studie met een genetische gemodificeerde, conditioneel-replicerende adenovirus vector identiek aan DNX-2401, genaamd Ad5-Delta24-RGD.^{16,17} Deze vector heeft ten opzichte van het oudevirus HAdV-5 een vergroot celtropisme, maar kan alleen in tumorcellen effectief repliceren. De COGEM was in dit geval van oordeel dat het ggo verzwakt was ten opzichte van het oudevirus. Er kon echter niet uitgesloten worden dat het ggo zich na toediening vanuit de hersenen zou verspreiden naar andere delen van het lichaam en via lichaamsvloeistoffen uitgescheiden zou worden. In het 'worst-case' scenario zou recombinatie van DNX-2401 met een wildtype adenovirus kunnen leiden tot een virus met een wildtype replicatieprofiel en een vergroot celtropisme.

Om de milieurisico's van de bovenstaande klinische studie in te perken, heeft de COGEM geadviseerd verschillende risicomanagementmaatregelen toe te passen. Deze maatregelen hadden betrekking op de inclusiecriteria voor de patiënten (geen adenovirusinfectie, goed functionerend immuunsysteem), het monitoren van uitscheiding van de adenovirale vector en het beschermen van de patiënt en de medewerkers of bezoekers. Mede omdat een patiënt mogelijk het ziekenhuis voor beëindiging van het experiment zou kunnen verlaten, achtte de COGEM de risico's van de klinische studie aanvankelijk niet verwaarloosbaar klein.¹⁶

Naar aanleiding van het COGEM-advies heeft de aanvrager destijds aanvullende informatie verstrekt over de conditie van de patiënten, de kans op het voortijdig verlaten van het ziekenhuis en het handhaven van risicobeheersmaatregelen in een andere omgeving (thuis) dan het ziekenhuis. Op basis van deze aanvullende informatie achtte de COGEM de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein.¹⁷ In een later stadium verzocht de aanvrager om de periode waarin de patiënt in een isolatiekamer moet verblijven te verkorten. De COGEM stemde hiermee in, op voorwaarde dat de hoofdwonden op de plaats van toediening van de adenovirale vector bij drie opeenvolgende inspecties van de verbanden geen vocht afscheidde.¹⁸

In 2013 heeft de aanvrager een ernstige bijwerking (serious adverse event; SAE) gemeld in de klinische studie naar de behandeling van hersentumoren met de conditioneel-replicerende adenovirale vector Ad5-Delta24-RGD. Bij één van de patiënten uit de studie ontstond twee weken na de behandeling hersenvliesontsteking. Deze patiënt heeft gedurende enkele dagen DNA van de toegediende adenovirale vector uitgescheiden, waarbij geen infectieuze virusdeeltjes zijn aangetoond.^{21,22} Op basis van de beschikbare gegevens oordeelde de COGEM dat de risico's voor mens en milieu als gevolg van de gemelde SAE verwaarloosbaar klein zijn geweest. Naar aanleiding van deze SAE heeft de aanvrager voorgesteld om bij toekomstige studies de maatregelen bij lekkage van hoofdwonden in de thuissituatie te optimaliseren. In haar aanvullende advies heeft de COGEM benadrukt dat het van groot belang is dat een patiënt bij wondlekkage direct in het ziekenhuis wordt opgenomen.²² Daarnaast onderstreepte de COGEM dat, voor de veiligheid van zowel patiënt als voor de veiligheid van mens en milieu, relevante analyses van patiëntmateriaal mogelijk moeten zijn. De COGEM adviseert daarom om voorafgaand aan een klinische studie met ggo's te controleren of de aanvrager of een samenwerkende partij beschikt over de benodigde faciliteiten en IG-vergunningen om patiëntmateriaal te analyseren.²²

5. Milieurisicobeoordeling

Als onderdeel van de milieurisicobeoordeling worden de risico's van mogelijke blootstelling van derden in ogenschouw genomen. Risico's voor proefpersonen en patiënten, en risico's voor werknemers betrokken bij onderzoek vallen buiten de reikwijdte van de wettelijke adviestaak van de COGEM.^a

6. Overweging

In de onderhavige aanvraag wordt een conditioneel-replicerende adenovirale vector intratumoraal toegediend aan kinderen en jongvolwassenen met een hersentumor. Risico's die hierbij kunnen optreden hebben betrekking op de pathogeniteit van het ggo, de eventuele vorming van nieuwe recombinante virussen en de mogelijke verspreiding van het ggo in het milieu. Door deze verspreiding zouden andere personen dan de deelnemende patiënten geïnfecteerd kunnen worden met het ggo of met een nieuw recombinant virus. Hieronder wordt op deze aspecten ingegaan.

6.1 Moleculaire karakterisering van de vector DNX-2401

De aanvrager heeft het volledige genoom van DNX-2401 gesequenced en daarmee bevestigd dat de sequentie van DNX-2401 identiek is aan HAdV-5, met uitzondering van de twee aangebrachte modificaties. De stabiliteit van DNX-2401 is aangetoond door de 'working virus bank' na 12 viruspassages te controleren met behulp van 'next generation sequencing'. Hierbij zijn door de aanvrager geen genetische veranderingen in de aangebrachte modificaties waargenomen. Ter vergelijking meldt de aanvrager dat voor de productie van DNX-2401 maximaal twee viruspassages nodig zijn, en dat op basis van eerdere klinische studies wordt verwacht dat in de klinische setting nog maximaal vier passages plaatsvinden.²³

De COGEM is van oordeel dat de aanvrager de moleculaire karakterisering van DNX-2401 adequaat heeft uitgevoerd.

^a Het toetsen van eventuele risico's voor onderzoeksdeelnemers valt onder de Wet medisch-wetenschappelijk onderzoek met mensen, en wordt uitgevoerd door de CCMO. Het toetsen van eventuele risico's voor werknemers valt onder de Arbeidsomstandighedenwet (Arbowet, Arbobesluit en Arboregeling).

6.2 Pathogeniteit van DNX-2401

DNX-2401 is door de deletie van 24 nucleotiden in het E1A-gen niet meer in staat effectief te repliceren in niet-delende cellen. Onderzoek toont aan dat HAdV-5 met deze deletie van 24 nucleotiden niet efficiënt kan repliceren in rustende longepitheelcellen, microvasculaire endotheelcellen en longfibroblasten.^{24,25}

Naast rustende cellen, komen in het lichaam ook delende cellen voor, zoals darmcellen. Uit onderzoek blijkt dat HAdV-5 met de deletie in E1A in enige mate kan repliceren in delende longepitheelcellen en microvasculaire endotheelcellen. Replicatie is echter vele malen lager dan in delende tumorcellen.²⁴ Hierbij moet worden opgemerkt dat in gezonde delende cellen het E2F-eiwit slechts gedurende enkele uren vrij in de cel aanwezig is, waardoor eventuele virusreplicatie tot deze periode beperkt is. Hierna wordt E2F weer gebonden en zal replicatie van DNX-2401 niet meer plaatsvinden.

Door toevoeging van het extra RGD-motief is DNX-2401 in staat om effectief cellen te infecteren die bepaalde integrines (met name $\alpha\beta 3$ en $\alpha\beta 5$) op hun celmembraan tot expressie brengen, ook als deze cellen geen CAR-eiwit, de natuurlijke receptor van HAdV-5, op hun membraan tot expressie brengen. Door deze modificatie kunnen bepaalde tumorcellen, die de integrines verhoogd tot expressie brengen, effectiever worden geïnfecteerd. Behalve tumorcellen, brengen onder meer geactiveerde endotheelcellen, fibroblasten en epitheelcellen deze integrines op hun celmembraan tot expressie. Deze cellen zijn te vinden in onder meer de luchtwegen, ogen en de darmen.^{26,27,28,29,30} De COGEM wijst erop dat daardoor het celtropisme, dat wil zeggen de celtypes die gevoelig zijn voor het binnendringen van het ggo, van DNX-2401 is uitgebreid ten opzichte van wildtype HAdV-5. Echter, hoewel het extra RGD-motief ervoor zorgt dat meer cellen kunnen worden geïnfecteerd, zal er in deze cellen geen efficiënte replicatie kunnen plaatsvinden.

Gezien het bovenstaande is de COGEM van oordeel dat DNX-2401 in staat is om efficiënt celtypes te infecteren die normaliter niet efficiënt door HAdV-5 geïnfecteerd kunnen worden. Daarentegen kan DNX-2401 zich niet efficiënt in gezonde cellen vermenigvuldigen vanwege de deletie van 24 basenparen in het E1A-gen. Daarom is de COGEM van oordeel dat het virus geattenuëerd is ten opzichte van het oudervirus.

6.3 Uitscheiding en verspreiding in het milieu van DNX-2401

6.3.1 Kans op uitscheiding van DNX-2401

DNX-2401 wordt intratumoraal in de hersenen toegediend. Uitscheiding van het gg-virus is alleen mogelijk als DNX-2401 de bloed-hersenbarrière passeert. In een eerdere fase I-studie werd na intratumorale toediening geen DNX-2401-DNA aangetroffen in urine, keel- of anale uitstrijkjes van proefpersonen.³¹

Immuungecompromitteerde patiënten zijn uitgesloten van deelname aan de klinische studie met DNX-2401. De meeste personen hebben immuniteit tegen HAdV-5, waardoor, indien DNX-2401 de bloed-hersenbarrière passeert, het immuunsysteem direct zal worden geactiveerd en het virus snel geïnactiveerd wordt. Bovendien wordt een adenovirale vector in de bloedbaan efficiënt door Kupffercellen in de lever opgenomen en uit de circulatie verwijderd.^{32,33,34}

Mocht DNX-2401 zich toch in het lichaam verspreiden, dan kan uitscheiding naar andere personen niet volledig worden uitgesloten. Uit studies met zowel replicatie-deficiënte als conditioneel-replicerende adenovirale vectoren blijkt dat uitscheiding kan optreden.³⁵ Indien uitscheiding plaatsvindt, gebeurt dit waarschijnlijk kort na de toediening van DNX-2401, voordat het immuunsysteem is geactiveerd. Daarnaast zou uitscheiding kunnen optreden nadat DNX-2401 zich in tumorcellen heeft vermeerderd, maar dit is onwaarschijnlijker omdat het immuunsysteem dan al actief is.

Adenovirussen kunnen zich in het algemeen verspreiden via aerosolen. De kans op aerosolvorming is volgens de COGEM echter verwaarloosbaar klein, vanwege de intratumorale toediening in de hersenen en de specifieke wijze van toediening. Handelingen met en de toediening van DNX-2401 vinden plaats conform standaard ziekenhuis hygiëne-maatregelen. Personeel dat handelingen met DNX-2401 uitvoert draagt beschermende wegwerpkleding, handschoenen en een FFP2-gezichtsmasker. Personeel dat het medisch product toedient draagt beschermende wegwerpkleding, dubbele handschoenen, een FFP2-gezichtsmasker en een veiligheidsbril. Proefpersonen worden geïnstrueerd om strikte persoonlijke hygiënemaatregelen te volgen, waaronder regelmatig handen wassen na toediening van het medisch product. Daarnaast worden zij geïnstrueerd om geen contact te hebben met kwetsbare personen, waaronder immuungecompromitteerde personen. Indien in het uitzonderlijke geval de wond opengaat en er vloeistof uit de wond lekt, worden proefpersonen geïnstrueerd de wond af te dekken en medische hulp te zoeken. De wondvloeistof wordt vervolgens getest op de aanwezigheid van viraal DNA en infectieus virus.

De COGEM is van oordeel dat de kans op en de duur van eventuele uitscheiding van DNX-2401 beperkt zullen zijn, vanwege de toediening in de hersenen, de te verwachten immuunreactie bij de proefpersoon en de aanvullende veiligheidsmaatregelen.

6.3.2 Risico van uitscheiding van DNX-2401

De COGEM acht het risico op infectie van derden met DNX-2401 indien het gg-virus wordt uitgescheiden zeer klein. Dit komt doordat DNX-2401 verzwakt is ten opzichte van wildtype HAdV-5. Door de aangebrachte genetische modificaties kan het virus zich slechts in een beperkt aantal cellen vermenigvuldigen. Bovendien wordt bij blootstelling aan het virus bij derden een immuunreactie verwacht, deze zal het virus opruimen en verdere verspreiding voorkomen.

Op basis van alle bovenstaande overwegingen concludeert de COGEM dat het risico van uitscheiding van DNX-2401 verwaarloosbaar klein is.

6.4 Recombinatie

Indien een patiënt tijdens de behandeling met DNX-2401 een infectie heeft met HAdV-5, kan recombinatie optreden. Deze mogelijkheid tot recombinatie beperkt zich niet alleen tot de patiënt zelf; ook wanneer DNX-2401 door een patiënt wordt uitgescheiden en andere personen besmet die een HAdV-5-infectie hebben, kan recombinatie plaatsvinden.

6.4.1 Mogelijke risico's van recombinanten

Eén van de potentiële recombinanten die kan ontstaan is die waarbij een wildtype HAdV-5 de deletie in het E1A-gen overneemt. Recombinanten met de E1A-modificatie zijn niet meer in staat om te repliceren in cellen met een functioneel Rb-pathway, zoals aanwezig in 'gezonde' cellen. De COGEM is

van oordeel dat potentiële risico's van recombinant HAdV-5 met de E1A-modificatie verwaarloosbaar klein zijn, omdat deze recombinant sterk verzwakt is ten opzichte van HAdV-5.

De andere potentiële recombinant is een HAdV-5-RGD variant; een adenovirus met een uitgebreid celtropisme. De COGEM beschouwt het ontstaan van deze recombinant als een 'worst-case' scenario. HAdV-5-RGD zou in staat kunnen zijn om vele celtypes te infecteren, zowel gezonde cellen als tumorcellen. Gegevens over de eigenschappen van een dergelijke recombinant ontbreken en zijn niet eenvoudig te verkrijgen. Eventuele experimenten met een geconstrueerde recombinant in proefdiermodellen zijn weinigzeggend, omdat HAdV-5 een humaan pathogeen is. De COGEM is van oordeel dat een RGD-variant hoogstwaarschijnlijk niet minder pathogeen is dan het wildtype adenovirus en dat immuungecompromitteerde individuen mogelijk meer risico lopen. Of risico's van een infectie met de recombinant groter zijn dan bij een infectie met HAdV-5 is lastig te voorspellen.

6.4.2 De kans op recombinatie

Voorwaarde voor recombinatie is dat DNX-2401 en HAdV-5 zich gelijktijdig in dezelfde cel bevinden (co-infectie). Infecties met HAdV-5 komen voornamelijk voor in de luchtwegen. HAdV-5 infecteert uitsluitend cellen die het CAR-eiwit tot expressie brengen. Deze receptor bevindt zich aan de basolaterale en de apicale membraankant van luchtwegepitheelcellen.^{36,37}

Door de toediening van DNX-2401 in de hersenen is het zeer onwaarschijnlijk dat co-infectie met HAdV-5 kan plaatsvinden. Daarnaast is in eerdere fase I klinische studies met DNX-2401 geen uitscheiding gedetecteerd.³¹ Om de kans op co-infectie verder te reduceren, worden proefpersonen twee dagen voor de behandeling met DNX-2401 getest op de afwezigheid van een actieve adenovirale infectie. Hierdoor wordt de kans dat DNX-2401 en HAdV-5 gelijktijdig aanwezig zijn in dezelfde cel, en daarmee de kans op recombinatie, verder gereduceerd.

In een eerder advies over een klinische studie met een genetisch gemodificeerde, conditioneel-replicerende adenovirale vector als aanvullende behandeling van slokdarmtumoren, heeft de COGEM geadviseerd om na toediening van de vector te monitoren op klinische verschijnselen van een adenovirale infectie.²⁰ Deze aanvullende maatregel was bedoeld om uit te sluiten dat er bij de patiënt een late, eerder niet gedetecteerde adenovirale infectie optreedt. Indien een adenovirale infectie zou worden vastgesteld, diende het virus te worden geanalyseerd om vast te stellen of recombinatie heeft plaatsgevonden. In de huidige studie met DNX-2401 is de COGEM van oordeel dat deze aanvullende maatregel niet noodzakelijk is, omdat de kans op co-infectie met HAdV-5 en DNX-2401 door de toediening in de hersenen en de voorafgaande screening op een actieve adenovirale infectie al verwaarloosbaar is. Samengevat is de COGEM van oordeel dat de kans op recombinatie in een patiënt verwaarloosbaar klein is.

Recombinatie zou ook mogelijk kunnen zijn wanneer een patiënt DNX-2401 uitscheidt en andere personen besmet die een infectie met HAdV-5 hebben. De kans op uitscheiding van DNX-2401 door de patiënt is zeer klein. DNX-2401 is geattenuëerd, hierdoor wordt de kans zeer klein geacht dat derden besmet raken met DNX-2401. Voor recombinatie in derden moet deze persoon daarnaast ook een adenovirale infectie doormaken. Gezien de snelle inactivatie door het immuunsysteem en de daarnaast zeer kleine kans op co-infectie acht de COGEM de kans dat recombinatie in derden optreedt, verwaarloosbaar klein.

7. Advies

De aanvrager is voornemens een klinische studie uit te voeren waarbij kinderen en jongvolwassenen met hersentumoren worden behandeld met een conditioneel-replicerende gg-HAdV-5, DNX-2401. Risico's die hierbij kunnen optreden hebben betrekking op de pathogeniteit van het ggo, de eventuele vorming van nieuwe recombinante virussen en de mogelijke verspreiding van het ggo in het milieu. In de vector zijn twee modificaties aangebracht waardoor de vector alleen replicateert in delende cellen en kankercellen effectiever geïnfecteerd worden.

De COGEM is van oordeel dat DNX-2401 verzwakt is ten opzichte van het wildtype virus vanwege een deletie van 24 nucleotiden in het E1A-gen. Daardoor is de vector niet meer in staat effectief te repliceren in niet-delende cellen. Gezien de intratumorale toediening, de genomen voorzorgsmaatregelen tijdens en na toediening om verspreiding van DNX-2401 te voorkomen en de beschikbare gegevens over biodistributie van DNX-2401 en vergelijkbare vectoren, acht de COGEM de risico's van uitscheiding verwaarloosbaar klein. Indien DNX-2401 vanuit de patiënt vrijkomt, zijn de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein, omdat DNX-2401 geattenuëerd is, adenovirale infecties zelflimiterend zijn en nagenoeg de gehele bevolking immuniteit tegen adenovirale infecties bezit. Hierdoor zal een eventuele infectie na verspreiding in de patiënt of in derden snel uitdoven.

De COGEM acht het onwaarschijnlijk dat het toegediende DNX-2401 en een wildtype virus tegelijkertijd dezelfde cel in de patiënt infecteren en hierna recombinatie optreedt. Door recombinatie zou een HAdV-5 met het RGD-motief kunnen ontstaan. Deze recombinant is mogelijk meer pathogeen door een uitgebreid celtropisme. Terwijl wildtype HAdV-5 veelal longepitheelcellen infecteert, zou de theoretische recombinant mogelijk meerdere celtypen kunnen infecteren. Of de risico's van een infectie met een dergelijk virus groter zijn dan van een infectie met een wildtype adenovirus, is moeilijk te voorspellen. Om de kans op recombinatie te verminderen, wordt twee dagen vóór toediening getest op de aanwezigheid van een actieve adenovirus infectie. Daarnaast worden immuungecompromitteerde patiënten uitgesloten van deelname aan de studie. Het bovenstaande in overweging nemende, acht de COGEM de risico's van het ontstaan van een recombinant virus verwaarloosbaar klein.

Concluderend is de COGEM van oordeel dat de risico's voor mens en milieu verbonden aan deze voorgenomen klinische studie met een conditioneel-replicerend humaan adenovirus verwaarloosbaar klein zijn.

Referenties

1. International Committee on Taxonomy of Viruses. Virus Taxonomy: 2024 Release. <https://ictv.global/taxonomy> (bezocht: 22 oktober 2025)
2. Human Adenovirus Workgroup. <http://hadvvg.gmu.edu/> (bezocht: 22 oktober 2025)
3. McConnell MJ & Imperiale MJ (2004). Biology of adenovirus and its use as a vector for gene therapy. Hum. Gene Ther. 15: 1022-1033
4. Knipe DM & Howley PM (2001). Fields virology, volume two, fourth edition. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia
5. Lenaerts L et al. (2008). Clinical features and treatment of adenovirus infections. Rev. Med. Virol. 18: 357-374
6. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu. Adenovirusinfecties. <https://www.rivm.nl/adenovirusinfecties> (bezocht: 29 oktober 2025)
7. Hong L et al. (2025). The seroprevalence of adenoviruses since 2000. Emerg. Microbes Infect. 14: 2475831
8. Miller DL et al. (2007). Adenovirus type 5 exerts genome-wide control over cellular programs governing proliferation, quiescence, and survival. Genome Biol. 8: R58

9. Shayakhmetov DM *et al.* (2005). Deletion of penton RGD motif affects the efficiency of both internalization and the endosome escape of viral particles containing adenovirus serotype 5 or 35 fiber knobs. *J. Virol.* 79: 1053-1061
10. COGEM (2024). Actualisatie van de pathogeniteitsclassificatielijsten van virussen. COGEM-advies CGM/241210-02
11. COGEM (2006). Toediening van een adenovirale vector coderend voor interleukine-12 aan patiënten met prostaattumoren. COGEM-advies CGM/060512-01
12. COGEM (2019). Advies klinische studie met gg-adenovirale vector (rAd-INF) bij patiënten met kwaadaardige pleurale mesothelioom. COGEM-advies CGM/191017-03
13. COGEM (2020). Klinische studie met een adenovirale vector (Ad26COVS1) ter preventie van COVID-19. COGEM-advies CGM/200710-02
14. COGEM (2021). Brede vergunningaanvraag voor klinische studies met adenovirale en MVA-vectoren. COGEM-advies CGM/210324-03
15. COGEM (2021). Generieke milieuristicobeoordeling van replicatie-deficiënte adenovirale vectoren in klinische studies. COGEM-advies CGM/210324-02
16. COGEM (2009). Klinische studie met een conditioneel-replicerende adenovirale vector. COGEM-advies CGM/090429-04
17. COGEM (2009). Aanvullende informatie over een klinische studie met conditioneel-replicerende adenovirussen. COGEM-advies CGM/091021-02
18. COGEM (2011). Verzoek tot wijziging vergunning fase I/II klinische studie met conditioneel-replicerende adenovirussen. COGEM-advies CGM/110112-01
19. COGEM (2012). Klinische studie met een conditioneel-replicerende adenovirale vector als aanvullende behandeling van prostaatkanker. COGEM-advies CGM/120710-01
20. COGEM (2024). Klinische studie met een conditioneel-replicerende adenovirale vector als aanvullende behandeling van slokdarmkanker. COGEM-advies CGM/240529-02
21. COGEM (2013). Melding SAE in klinische studie met CRAd. COGEM-advies CGM/130410-01
22. COGEM (2013). Aanvullende informatie over bijwerking in klinische studie met conditioneel replicerende adenovirusvector. COGEM-advies CGM/130715-01
23. Lang F *et al.* (2018). Phase I study of DNX-2401 (delta-24-RGD) oncolytic adenovirus: replication and immunotherapeutic effects in recurrent malignant glioma. *J. Clin. Oncol.* 36: 1419-1427
24. Heise C *et al.* (2000). An adenovirus E1A mutant that demonstrates potent and selective systemic anti-tumoral efficacy. *Nature Med.* 6: 1134-1139
25. Fueyo J *et al.* (2000). A mutant oncolytic adenovirus targeting the Rb pathway produces anti-glioma effects *in vivo*. *Oncogene* 19: 2-12
26. Beer AJ & Schwaiger M (2008). Imaging of integrin $\alpha v \beta 3$ expression. *Cancer Metas Rev* 27: 631-644
27. Rayner SA *et al.* (1998). Distribution of integrins alpha v beta 5, alpha v beta 3 and alpha v in normal human cornea: possible implications in clinical and therapeutic adenoviral infection. *Eye* 12: 273-277
28. Pechkovsky DV *et al.* (2008). Transforming growth factor $\beta 1$ induces $\alpha v \beta 3$ integrin expression in human lung fibroblasts via a β -, c-Src, and p38 MAPK-dependent pathway. *J. Biol. Chem.* 283: 12898-12908
29. Wilder RL (2002). Integrin alpha v beta 3 as a target for treatment of rheumatoid arthritis and related rheumatic diseases. *Ann. Rheum. Dis.* 61: 96-99
30. Goldman MJ & Wilson JM (1995). Expression of $\alpha v \beta 5$ integrin is necessary for efficient adenovirus-mediated gene transfer in the human airway. *J. Virol.* 69: 5951-5958
31. Van Putten EHP *et al.* (2022). Convection enhanced delivery of the oncolytic adenovirus Delta24-RGD in patients with recurrent GBM: a phase I clinical trial including correlative studies. *Clin. Cancer Res.* 28: 1572-1585
32. Xu Z *et al.* (2008). Clearance of adenovirus by Kupffer cells is mediated by scavenger receptors, natural antibodies and complement. *J. Virol.* 82:11705-11713
33. Smith J *et al.* (2008). A quantitative assay for measuring clearance of adenovirus vectors by Kupffer cells. *J. Virol. Methods* 147: 54-60
34. Worgall S *et al.* (1997). Innate immune mechanisms dominate elimination of adenoviral vectors following *in vivo* administration. *Hum. Gene Ther.* 8: 37-44
35. Schenk-Braat EAM *et al.* (2006). Inventarisatie van shedding data en analyses: mogelijkheden voor standaardisering. COGEM onderzoeksrapport CGM 2006-04
36. Excoffon KJDA *et al.* (2010). Isoform-specific regulation and localization of the coxsackie and adenovirus receptor in human airway epithelia. *PLoS One* 5: e9909
37. Kotha PLN *et al.* (2015). Adenovirus entry from the apical surface of polarized epithelia is facilitated by the host innate immune response. *PLoS One* 11: e1004696