

**Empfehlung der ZKBS zur Risikobewertung von
Talimogen laherparepvec (Imlygic®)
und JS1/34.5-/47-/mGM-CSF
als Spender- oder Empfängerorganismen
gemäß § 5 Absatz 1 GenTSV**

Allgemeines

Das *Human alphaherpesvirus 1* (auch Herpes simplex virus 1, HSV-1) ist ein Vertreter der Familie *Herpesviridae* und ein global verbreitetes obligates Pathogen des Menschen. Experimentell können jedoch auch andere Spezies wie Hasen und Nagetiere infiziert werden.

Das Virus hat ein doppelsträngiges DNA-Genom mit einer Länge von 152 kbp mit einer langen und einer kurzen einmalig vorkommenden Region (*unique long*, U_L, und *unique short*, U_S), die jeweils von invertierten Einheiten wiederholter Sequenzen (*repeat*) flankiert sind [1].

Das Virus wird gewöhnlich in der Kindheit oder durch sexuelle Kontakte bei jungen Erwachsenen übertragen. Die Seroprävalenz für HSV-1 in Deutschland liegt bei etwa 80 % [2]. Die Infektion erfolgt über direkten Kontakt [1], auch eine Übertragung über Tröpfchen ist möglich [3]. Bei einer Schwangerschaft kann eine Übertragung über die Plazentaschranke oder während der Geburt stattfinden. Das Virus verbleibt nach der Erstinfektion latent in den dorsalen Hinterwurzelganglien und kann reaktiviert werden. In seltenen Fällen kann es zu einer systemischen Ausbreitung kommen, wobei eine Replikation im Zentralnervensystem schwere neurologische Schädigungen wie die seltene HSV-Enzephalitis zur Folge haben kann [1]. Häufigere klinische Symptome einer HSV-1-Infektion stellen Infektionen der Schleimhäute, anderer Hautpartien (z. B. der Finger), der Augen sowie der Genitalien dar. Bei Neugeborenen kann es zu einer disseminierten Herpesinfektion oder einer Herpesinfektion des Zentralnervensystems kommen. Diese Erkrankungen gehen auch bei Behandlung mit hoch dosiertem Aciclovir mit einer Letalität von 29 bzw. 4 % einher [4]. Gemäß § 5 Abs. 6 i. V. m. Anhang I GenTSV ist HSV-1 als Spender- und Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten in die **Risikogruppe 2** eingestuft.

Talimogen laherparepvec (JS1/ICP34.5-/ICP47-/hGM-CSF, früher bekannt als OncoVEX^{GM-CSF}) basiert auf dem HSV-1-Stamm JS1 (ECACC Nr. 01010209), der aus einem Fieberbläschenabstrich einer ansonsten gesunden Person isoliert wurde. Das Genom von JS1 ist noch nicht sequenziert, sein Restriktionsmuster stimmt jedoch weitgehend mit dem des HSV-1-Wildtypstamms 17syn+ überein [5].

Talimogen laherparepvec ist durch Deletionen des Neurovirulenzfaktors ICP34.5 und des Immunevasionsproteins ICP47 attenuiert [5]. Talimogen laherparepvec repliziert fast ausschließlich in Tumorzellen. In diesen Zellen ist die Funktion der zellulären Proteine eIF2α und Beclin-1 gestört, sodass ICP34.5 nicht benötigt wird, um deren antivirale Funktionen zu kompensieren. In nicht entarteten Zellen ist die Replikation von Talimogen laherparepvec durch das Fehlen von ICP34.5 vermindert [6–9]. Eine tumorspezifische Replikation ICP34.5-defizienter HSV konnte in Zelllinien verschiedener Tumorarten (u. a. Hepatom, Pankreas-

Mamma-, Prostata- und Kolorektalkarzinom) gezeigt werden [10–12]. ICP34.5-deletierte Viren zeigen eine geringe Etablierung der Latenz und entsprechend eine geringere Reaktivierungsrate [13].

Als weitere Veränderung wurde in das Genom von Talimogen laherparepvec das Gen für den humanen *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor* (hGM-CSF) inseriert. hGM-CSF ist an der Proliferation und Differenzierung der Vorläuferzellen von Granulozyten und Makrophagen beteiligt (zusammengefasst in [14]) und in den USA unter dem Namen Leukine® als Medikament zugelassen. hGM-CSF in Form von Leukine® kann in deutlich höheren Dosen verabreicht werden, als sie bei einer Infektion mit Talimogen laherparepvec zu erwarten sind. Das Gen ist nicht als Nukleinsäure mit neoplastisch transformierendem Potenzial eingestuft.

Talimogen laherparepvec ist genetisch stabil, auftretende Variationen im Vergleich zu den HSV-1-Wildtypstämmen 17_{syn+}, H129, KOS, McKrae und Strain F sind hauptsächlich natürlich auftretende Variationen oder Mutationen in nicht-kodierenden Regionen des Genoms. Eine Reversion zum virulenteren Wildtyp, die nur bei gleichzeitiger Infektion einer Zelle mit Talimogen laherparepvec und einem Wildtypvirus vorkommen kann, ist als sehr unwahrscheinlich einzustufen.

HSV-1 wird über eine Bindung der viralen Glykoproteine an zelluläre Rezeptoren in die Wirtszelle aufgenommen. Durch die Veränderungen in Talimogen laherparepvec wird die Expression und Struktur der viralen Glykoproteine nicht verändert, weswegen nicht von einer Veränderung von Wirts- oder Zelltropismus auszugehen ist. Übereinstimmend damit replizierte Talimogen laherparepvec nicht in den Zelllinien CHO und U937, die für HSV-1 nicht permissiv sind. In permissiven Zelllinien wie der humanen Plattenepithelkarzinomzelllinie FaDu replizieren das Wildtypvirus und Talimogen laherparepvec.

JS1/34.5-/47-/mGM-CSF ist eine Variante von Talimogen laherparepvec, die anstelle des humanen GM-CSF die murine Variante dieses Gens enthält (mGM-CSF). Dieses Virus ist auch unter dem Namen OncoVEX^{mGM-CSF} bekannt. JS1/34.5-/47-/mGM-CSF wurde entwickelt, um die Wirkung von Talimogen laherparepvec *in vivo* in Mäusen untersuchen zu können [15]. Humanes und murines GM-CSF weisen eine Nukleinsäuresequenzidentität von 70 % und eine Aminosäuresequenzidentität von 54 % auf und sind jeweils artspezifisch, da sie nicht an den GM-CSF-Rezeptor der jeweils anderen Art binden können.

Pathogenität

Talimogen laherparepvec wurde am 16. Dezember 2015 in der EU (IMLYGIC®, Zulassungsnummer: EU/1/15/1064/001-002) als Arzneimittel zur Behandlung von Melanomen bei Erwachsenen zugelassen und wurde zuvor in mehreren präklinischen und klinischen Studien erprobt.

In der Präklinik erwies sich Talimogen laherparepvec bei Verabreichung von einer bis zu 60-fachen Humandosis an Mäuse, Ratten und Hunde als sicher [16]. Einige der präklinischen Daten wurden dabei mithilfe von JS1/34.5-/47-/mGM-CSF in Mäusen erhoben. In Studien zur Toxizität bei wiederholter Verabreichung verhielten sich Talimogen laherparepvec und JS1/34.5-/47-/mGM-CSF ähnlich. Es wurden leichte transiente Effekte wie Entzündungen der Injektionsstelle, eine Erhöhung der Anzahl an Lymphozyten und Neutrophilen und eine Immunaktivierung (Vergrößerung der Milz, lymphoide Hyperplasie in Milz und Knochenmark) beobachtet. In Wirksamkeitsstudien führte JS1/34.5-/47-/mGM-CSF ebenso wie Talimogen laherparepvec bei immunkompetenten Mäusen, die syngeneische A20-Tumore aufwiesen, zu einer teilweisen oder vollständigen Regression [15].

In klinischen Studien wurde Talimogen laherparepvec mit insgesamt 430 Prüfungsteilnehmern in Dosierungen von 10⁴ bis 10⁸ *plaque forming units* (PFU)/ml getestet, wobei bis zu 4 ml pro Tumor verabreicht wurden [17–19]. Die häufigsten Nebenwirkungen bestanden in Übelkeit, Erbrechen, Durchfall, Fieber, Müdigkeit, Influenza-ähnlichen Symptomen, Schmerzen oder Reaktionen an der Einstichstelle sowie Muskelschmerzen, die teilweise bei zuvor für HSV-1 seronegativen Probanden häufiger waren. Bei einigen Prüfungsteilnehmern (14 von 292 einer

Phase 3-Studie) traten herpetische Läsionen auf. Es wurde jedoch nicht untersucht, ob diese durch Talimogen laherparepvec oder ein Wildtypvirus hervorgerufen wurden. Keiner dieser Prüfungsteilnehmer entwickelte eine Enzephalitis und eine Replikation in nicht-Tumorgewebe konnte nicht festgestellt werden.

In der Studie mit den meisten Prüfungsteilnehmern, einer Phase 3-Studie mit 292 Melanompatienten, wurden folgende schwere Nebenwirkungen identifiziert: 6,2 % entwickelten eine Cellulitis, die durch den Eintritt von Bakterien über die Einstichstelle verursacht wurde. 5,5 % der Behandelten zeigten eine verlangsamte Wundheilung an der Einstichstelle im Tumorgewebe. 2 % der Probanden entwickelten Immunreaktionen wie Glomerulonephritis, Vaskulitis, Pneumonitis oder eine sich verschlimmernde Schuppenflechte. Diese immunassoziierten Erkrankungen können nicht eindeutig mit Talimogen laherparepvec in Verbindung gebracht werden, da weitere Faktoren wie eine vorliegende immunassoziierte Erkrankung, eine gleichzeitige Behandlung mit anderen Arzneimitteln oder andere zwischenzeitlich aufgetretene Erkrankungen vorlagen. Bei 5,1 % der mit Talimogen laherparepvec behandelten Personen trat die Weißfleckenkrankheit auf, eine vermutlich autoimmuninduzierte Pigmentstörung. 2,1 % der Probanden entwickelten eine tiefe Venenthrombose, die jedoch generell bei Krebspatienten mit einer Inzidenz von 2-20 % auftritt. Bei einem Patienten wurde ein Plasmazytom neben der Einstichstelle festgestellt; eine zugrundeliegende Erkrankung (multiples Myelom) wurde jedoch bereits vor der Gabe von Talimogen laherparepvec diagnostiziert. Bei einem anderen Probanden trat bei der Behandlung von Melanomen in der Nähe der Atemwege eine obstruktive Atemwegserkrankung auf.

Theoretisch besteht das Risiko, dass Antikörper gegen das endogene GM-CSF gebildet werden, was in Fallberichten mit einer Kryptokokkenmeningitis und pulmonaler Alveolarproteinose assoziiert wurde [20]. In den klinischen Studien wurde dies nicht beobachtet, und es ist nicht klar, ob die durch Talimogen laherparepvec exprimierte Menge an hGM-CSF eine Bildung von anti-GM-CSF-Antikörpern auslösen könnte. Zudem sind Kryptokokkenmeningitis und pulmonale Alveolarproteinose bei der Behandlung mit Leukine®, dem in den USA als Arzneimittel zugelassenen hGM-CSF, nicht als Nebenwirkung aufgetreten [21].

Infektiöse virale Partikel konnten bei den Prüfungsteilnehmern der klinischen Studien nur an der Einstichstelle detektiert werden; eine Übertragung von Talimogen laherparepvec auf Kontaktpersonen der Prüfungsteilnehmer wurde nicht beobachtet. Es sind jedoch vier akzidentelle Expositionen mit Talimogen laherparepvec (drei Nadelstichverletzungen, ein Spritzer ins Auge) bei medizinischem Personal bekannt. Bis auf eine Nadelstichverletzung wurden alle mit einer antiviralen Therapie behandelt. Einer der Nadelstiche zog eine Läsion nach sich, die Talimogen laherparepvec-positiv war und sich nach antiviraler Behandlung mit Aciclovir auflöste.

Talimogen laherparepvec ist bei Melanompatienten mit einer schweren Immunsuppression oder Immunschwäche nicht indiziert, da es bei diesen Patienten zu einer disseminierten HSV-Infektion kommen kann. Klinische Daten liegen dazu nicht vor. Daten aus präklinischen Studien an immundefizienten Mäusen zeigen keine eindeutigen Ergebnisse. Auch für Föten oder Neugeborene gibt es keine klinischen Daten. In präklinischen Studien an BALB/cAnNCrI-Mäusen wurden allerdings keine Auswirkungen auf die embryo-fötale Entwicklung festgestellt.

Empfehlung

Nach § 5 Absatz 1 GenTSV i. V. m. den Kriterien im Anhang I GenTSV werden HSV-1 Talimogen laherparepvec und JS1/34.5-/47-/mGM-CSF als Spender- und Empfängerorganismen für gentechnische Arbeiten der **Risikogruppe 1** zugeordnet.

Begründung

Bei immunkompetenten Personen ist aufgrund der in den klinischen und präklinischen Studien gewonnenen Daten sowie der Daten aus weiteren Studien für ICP34.5-defiziente HSV-1 nicht von einer Gefährdung auszugehen. Insbesondere die virale Replikation und die dadurch vermittelte hGM-CSF-Expression sind bei gesunden Menschen deutlich geringer als bei Tumorpatienten. Die Neurovirulenz des Virus ist stark attenuiert. Schwere Nebenwirkungen sind vom Immunstatus der jeweiligen Person abhängig. Beim Umgang mit dem Virus durch geschultes Personal im Labor ist nicht von einer Gefährdung auszugehen.

Literatur

1. **Roizman B** (2013). Herpes Simplex Viruses. p. 1823–97. In Knipe DM, Howley PM (ed), *Fields Virology*. Sixth edition, 6th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
2. **Korr G, Thamm M, Czogiel I, Poethko-Mueller C, Bremer V, Jansen K** (2017). Decreasing seroprevalence of herpes simplex virus type 1 and type 2 in Germany leaves many people susceptible to genital infection: time to raise awareness and enhance control. *BMC Infect Dis* **17**(1):471.
3. **Whitley RJ** (2006). Herpes simplex encephalitis: adolescents and adults. *Antiviral Res* **71**(2-3):141–8.
4. **Kimberlin DW** (2004). Neonatal herpes simplex infection. *Clin Microbiol Rev* **17**(1):1–13.
5. **Liu BL, Robinson M, Han ZQ, Branston RH, English C, Reay P, McGrath Y, Thomas SK, Thornton M, Bullock P, Love CA, Coffin RS** (2003). ICP34.5 deleted herpes simplex virus with enhanced oncolytic, immune stimulating, and anti-tumour properties. *Gene Ther* **10**(4).
6. **Farassati F, Yang AD, Lee PW** (2001). Oncogenes in Ras signalling pathway dictate host-cell permissiveness to herpes simplex virus 1. *Nat Cell Biol* **3**(8):745–50.
7. **Mohr I** (2005). To replicate or not to replicate: achieving selective oncolytic virus replication in cancer cells through translational control. *Oncogene* **24**(52):7697–709.
8. **Aita VM, Liang XH, Murty VV, Pincus DL, Yu W, Cayanis E, Kalachikov S, Gilliam TC, Levine B** (1999). Cloning and genomic organization of beclin 1, a candidate tumor suppressor gene on chromosome 17q21. *Genomics* **59**(1):59–65.
9. **Liang XH, Jackson S, Seaman M, Brown K, Kempkes B, Hibshoosh H, Levine B** (1999). Induction of autophagy and inhibition of tumorigenesis by beclin 1. *Nature* **402**(6762):672–6.
10. **Mahller YY, Rangwala F, Ratner N, Cripe TP** (2006). Malignant peripheral nerve sheath tumors with high and low Ras-GTP are permissive for oncolytic herpes simplex virus mutants. *Pediatr blood cancer* **46**(7):745-54.
11. **Sarinella F, Calistri A, Sette P, Palù G, Parolin C** (2006). Oncolysis of pancreatic tumour cells by a gamma34.5-deleted HSV-1 does not rely upon Ras-activation, but on the PI 3-kinase pathway. *Gene Ther* **13**(14):1080–7.
12. **Smith KD, Mezhir JJ, Bickenbach K, Veerapong J, Charron J, Posner MC, Roizman B, Weichselbaum RR** (2006). Activated MEK suppresses activation of PKR and enables efficient replication and in vivo oncolysis by Deltagamma(1)34.5 mutants of herpes simplex virus 1. *J Virol* **80**(3):1110–20.
13. **Perng GC, Ghiasi H, Slanina SM, Nesburn AB, Wechsler SL** (1996). High-dose ocular infection with a herpes simplex virus type 1 ICP34.5 deletion mutant produces no corneal disease or neurovirulence yet results in wild-type levels of spontaneous reactivation. *J Virol* **70**(5):2883–93.
14. **Kaufman HL, Ruby CE, Hughes T, Slingluff CL** (2014). Current status of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in the immunotherapy of melanoma. *J immunother cancer* **13**(2):11.
15. **European Medicines Agency** (2015). Assessment report Imlygic. International non-proprietary name: talimogene laherparepvec. Procedure No. EMEA/H/C/002771/0000. https://www.ema.europa.eu/documents/assessment-report/imlygic-epar-public-assessment-report_en.pdf. Besucht am 20. Januar 2021.

16. **Amgen** (2016). European Union Risk Management Plan Talimogene Laherparepvec (Imlygic). Interne Information.
17. **Hu JCC, Coffin RS, Davis CJ, Graham NJ, Groves N, Guest PJ, Harrington KJ, James ND, Love CA, McNeish I, Medley LC, Michael A, Nutting CM, Pandha HS, Shorrock CA, Simpson J, Steiner J, Steven NM, Wright D, Coombes RC** (2006). A phase I study of OncoVEXGM-CSF, a second-generation oncolytic herpes simplex virus expressing granulocyte macrophage colony-stimulating factor. *Clin Cancer Res* **12**(22):6737–47.
18. **Senzer NN, Kaufman HL, Amatruda T, Nemunaitis M, Reid T, Daniels G, Gonzalez R, Glaspy J, Whitman E, Harrington K, Goldsweig H, Marshall T, Love C, Coffin R, Nemunaitis JJ** (2009). Phase II clinical trial of a granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-encoding, second-generation oncolytic herpesvirus in patients with unresectable metastatic melanoma. *J Clin Oncol* **27**(34):5763–71.
19. **Harrington KJ, Hingorani M, Tanay MA, Hickey J, Bhide SA, Clarke PM, Renouf LC, Thway K, Sibtain A, McNeish IA, Newbold KL, Goldsweig H, Coffin R, Nutting CM** (2010). Phase I/II study of oncolytic HSV GM-CSF in combination with radiotherapy and cisplatin in untreated stage III/IV squamous cell cancer of the head and neck. *Clin Cancer Res* **16**(15):4005–15.
20. **Rosen LB, Freeman AF, Yang LM, Jutivorakool K, Olivier KN, Angkasekwinai N, Suputtamongkol Y, Bennett JE, Pyrgos V, Williamson PR, Ding L, Holland SM, Browne SK** (2013). Anti-GM-CSF autoantibodies in patients with cryptococcal meningitis. *J Immunol* **190**(8):3959–66.
21. **Sanofi-aventis** (2017). Prescribing information Leukine® (sargramostim). <http://products.sanofi.us/leukine/leukine.html>. Besucht am 20. Januar 2021.