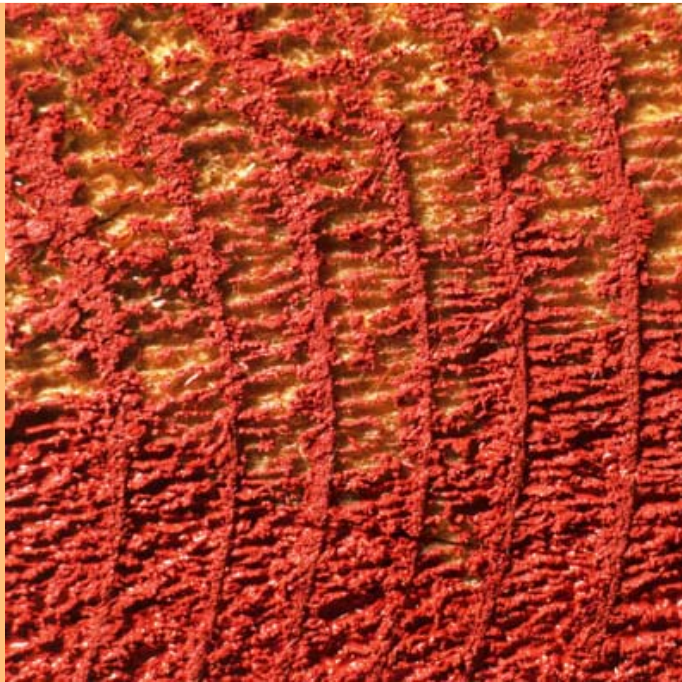


Lääkelaitoksen julkaisusarja 5/2003

Ihmisalkuperää olevat biomateriaalit



Veikko Viljanen



LÄÄKELAITOS
LÄKEMEDELSVERKET
NATIONAL AGENCY
FOR MEDICINES

**TERVEYDENHUOLLON LAITTEISSA JA TARVIKKEISSA
KÄYTETYT IHMISALKUPERÄÄ OLEVAT BIOMATERIAALIT**

Osa 3

Kirjoittaja:
Veikko Viljanen, LT, TYKS, Kirurgian klinikka

Kuva:
Suomen Kuvapalvelu Oy

Julkaisija:
Lääkelaitos
PI 55
00301 Helsinki
Puh. (09) 47334 242
Fax (09) 47334 266
www.nam.fi

ISBN 952-5099-58-X
ISSN 1238-8777

Sisällysluettelo

Johdanto	4
Ihmisperäisen biomateriaalin käsite ja luokittelu	5
Luokittelu lähtömateriaalin mukaan	5
Luokittelu lainsäädännön mukaan	6
Luokittelu käyttötarkoituksen mukaan	7
Luokittelu prosessoinnin asteen ja tuotteen rakenteen mukaan	7
1) Perinteiset kudossiirteet (auto- ja allograftit)	7
2) Verituotteet ja reproduktiiviset solut	8
3) Kudos- ja solupohjaiset bioteknologiset tuotteet:	8
Luokittelu viabiliteetin mukaan	9
Ihmiskuperäisten biomateriaalien kehittäminen kudosteknologian (tissue engineering) keinoin	10
Kudosteknologian määrittely ja tavoitteet	10
Kudosteknologian sovellusesimerkkejä	10
Antiromboottisen ominaisuuden omaava kudos	10
Ruuansulatuskanava ja siihen liittyvät elimet	10
Neuraalinen kudos	11
Peitekudos	11
Sarveiskalvo	11
Tukikudokset	11
Hematopoeettisen systeemin korvikkeet	11
Endokriininen kudos	12
Kardiovaskulaarinen kudos	12
Munuainen ja genitourinaarisysteemi	12
Periodontaaliset ja dentaaliset sovellukset	12
Solutason tapahtumien monitorointi ja säätely	12
Rokotteet	12
Soluterapiat	12
Diagnostiset tuotteet	13
Transgeenisten eläinten käyttö ihmiselle tarpeellisten terapeuttisten tuotteiden tuottamistekniikkana	13
DNA ja RNA biomateriaaleina	14
Peruskäsitteitä	14
Geeniterapian luokittelu tarkoituksen mukaan	15
Geeniterapian perusvaiheet	16
Geeniterapian perusmateriaalit ja -tekniikat	16
Geeniterapian lääketieteellisten ja sosiaalisten seuraamusten evaluointi sekä geeniterapiasta käytävä julkinen keskustelu	17
Kliiniset geeniterapiakoesarjat	19
Yhdysvallat	19
Eurooppa	21
Muu maailma:	21
Suomi	21
Geeniterapiajärjestöt	22
Geeniterapiat ja EU-lainsäädäntö	22
Ihmiskudoksen kliinistä käyttöä koskevat pääperiaatteet ja laatuvaatimukset	24
Eettiset:	24
Sosiaaliset	24

Yleiset terveydenhuollon periaatteet	24
Lailliset.....	24
Eettiset ja turvallisuuskysymykset	25
Todettuja eettisiä ongelmia	26
Mahdollisia biologisperäisten biomateriaalien turvallisuusriskejä	27
Sairauksien välittyminen.....	27
Immunologiset riskitekijät ja niiden ehkäiseminen.....	31
Yhteenveto ihmisperäisistä biomateriaaleista	32
Kirjallisuutta.....	33
Liitteet.....	43
Liite 1: Regulatory Principles for Somatic Cell and Gene Therapy: U.S. FDA Perspective (1998).....	43
Liite 2 . Esimerkki RCA kokouksen aiheuettelosta	46

Johdanto

Ihmiskudoksilla ja soluilla sekä erilaisilla niistä johdetuilla tuotteilla on viimeaikaisen kehityksen perusteella arvioiden nopeasti lisääntyvä merkitys lääketieteessä ja biologiassa. Jo vakiintunut käytäntö on *tuoreiden tai kudospankissa säilytettyjen elinten ja kudosten* (Taulukko 1) *samoin kuin veren ja sen johdannaistuotteiden käyttö siirteenä* erilaisiin tarkoituksiin. Samoin voidaan sanoa erilaisista ihmiskudosperäisistä *bioproteeseista*. Näiden käytössä on saavutettu ja toistaiseksi pystytty säilyttämään riittäväksi katsottu mahdollisten etujen ja haittojen välinen suhde sekä myös kattava kansainvälinen konsensus sekä suurimmalta osin myös lainsäädäntö. Toisin on laita uusimman teknologian tarjoaman, nopeasti kasvavan joukon erilaisia tekniikoita biologisalkuperäisten materiaalien hyödyntämistä varten. Tässä samoja periaatteita sovelletaan sekä ihmis- että eläinalkuperää oleviin materiaaleihin. Ehkä hieman rohkeiden arvioiden mukaan kolme erilaista teknologian haaraa tulee todennäköisesti dominoimaan lääketieteellisiä hoitotapoja seuraavalla vuosisadalla. Yksi näistä on *soluterapia*, jolla tarkoitetaan elävien solujen implantoimista tuottamaan luonnollisia aineita, joita potilaalta puuttuu erilaisten kliinisten tilanteiden ja vaurioiden johdosta. Erytropoetiinisoluterapia on esimerkki tällaisesta sovelluksesta; sillä korvataan kriittinen hormonineritys vajaus loppuvaiheen munuaissairaudessa. Toinen tulevaisuuden hoitomuoto on *kudosteknologia (tissue engineering)*, jossa viljeltyjä soluja käytetään korvaamaan normaalisti koordinoitusti toimivien solumassojen (esim parenkyymielinten) toimintaa. Tässä voidaan konstruoida vaikkapa munuaisen suodatus- ja tubulusreabsorptio toimintaa suorittava keinotekoinen elin kombinoimalla sopivasti soluja ja synteettisiä biomateriaaleja. Kolmas, jo nyt sadoissa kliinisissäkin koesarjoissa testauksessa oleva teknologian muoto on *geeniterapia*, jossa geenejä siirretään eläviin soluihin joko aikaansaamaan solulta puuttuva geenituote tai jokin solulle aikaisemmin vieras tuote, tarkoituksena aikaansaada jokin aivan uusi toiminto. Esimerkkinä kelpaa antikoagulanttiproteiineja koodaavat geenit, joiden tuotto voidaan suunnata tapahtuvaksi paikallisesti esimerkiksi kudosteknologisesti valmistetun verusuodattimen hemokompatibiliteetin ylläpitämiseksi. *Raja näiden teknologioiden välillä on keinotekoinen ja tällä hetkellä näyttää siltä, että kaikki kolme kehittyvät käsi kädessä – samojen tutkijoiden soveltaessa usein kaikkia kolmea samanaikaisesti riippuen siitä, millainen toiminto halutaan saada aikaan.* Voidaan esimerkiksi viljellä humaanisoluja elimistön ulkopuolella rokotteen, lääkkeiden, uusien kudosten tai peräti elimien tuottamiseksi ja käyttää geenimanipulaatiota solujen saamiseksi toivotunkaltaisiksi sekä kudosteknologian biomateriaalisovelluksia solujen kasvuympäristön saamiseksi tarkoituksenmukaiseksi.

Lainsäädäntö ja viranomaisvalvonta ovat auttamattomasti jääneet jälkeen paitsi itse teknologian kehitysvauhdista, myös sen mukanaan tuomista uusista turvallisuushaasteista sekä uuteen teknologiaan liittyvistä eettisistä ja poliittisistä kysymyksistä.

Tässä luvussa on mahdollisuus tarjota (vain) yleisluontoinen katsaus erilaisiin humaanikudoksen sovellusmahdollisuuksiin, niiden turvallisuuskysymyksiin ja riskeihin, eettisiin kysymyksiin sekä lainsäädäntöön. Luvussa keskitytään tarkastelemaan pääasiassa vain viimeaikaisen bioteknologisen kehityksen mahdollistamia

humaaniperäisiä materiaaleja, mutta kyllä sivutaan myös perinteisiä, lähinnä kudospankeissa säilytettyjä materiaaleja.

Taulukko 1. Esimerkkejä kudospankissa säilytetetyistä, siirrettäväksi soveltuvista elimistä ja kudoksista

Iho (ja ihosolut)

Luu

Rusto(solut)

Jätteet

Faskia

Nivelet

Sydänläpät

Verisuonet

Sarveiskalvo

Tärykalvo-kuuloluukombinaatiot

Aivokalvot

Fetaalikalvorakenteet (amnion ja korionkalvo)

Ihmisperäisen biomateriaalin käsite ja luokittelu

Biologista alkuperää olevat biomateriaalit voidaan määritellä ja luokitella usealla eri tavalla riippuen luokitteluperusteesta.

Alkuperän mukaan voidaan tässä kategoriassa erottaa ihmisperäiset, eläinperäiset ja muut luontoperäiset materiaalit.

Luokittelu lähtömateriaalin mukaan

Recommendation No R (94) I on human tissue banks (Council of Europe) määrittelee *humaanikudoksen* sisältävän kaikki ihmisruumiin osat mukaanluettuna kirurgiset jätteet, mutta kuitenkin poissulkee elimet, veren ja verituotteet, reproduktiivisen kudoksen (sperma, munasolu, embryot), samoin kuin hiukset, kynnet, plasentan ja eritteet.

Ajatuksena edellä mainitussa suosituksessa on ollut määritellä erilaiset siirtokelpoiset elimet ja kudokset kudospankkitoiminnan kannalta tarpeellisten säännösten ja toimintaperiaatteiden näkökulmasta katsottuna. Kuitenkin ihmisperäisistä *biomateriaaleista* puhuttaessa mukaan tulee erilaisia prosessoituneita (*FDA: "biotechnology-derived human products"*), jotka laajentavat tätä "tuotepiiriä" kauas yli sen mitä perinteisessä kudospankkitoiminnassa on totuttu ajattelemaan.

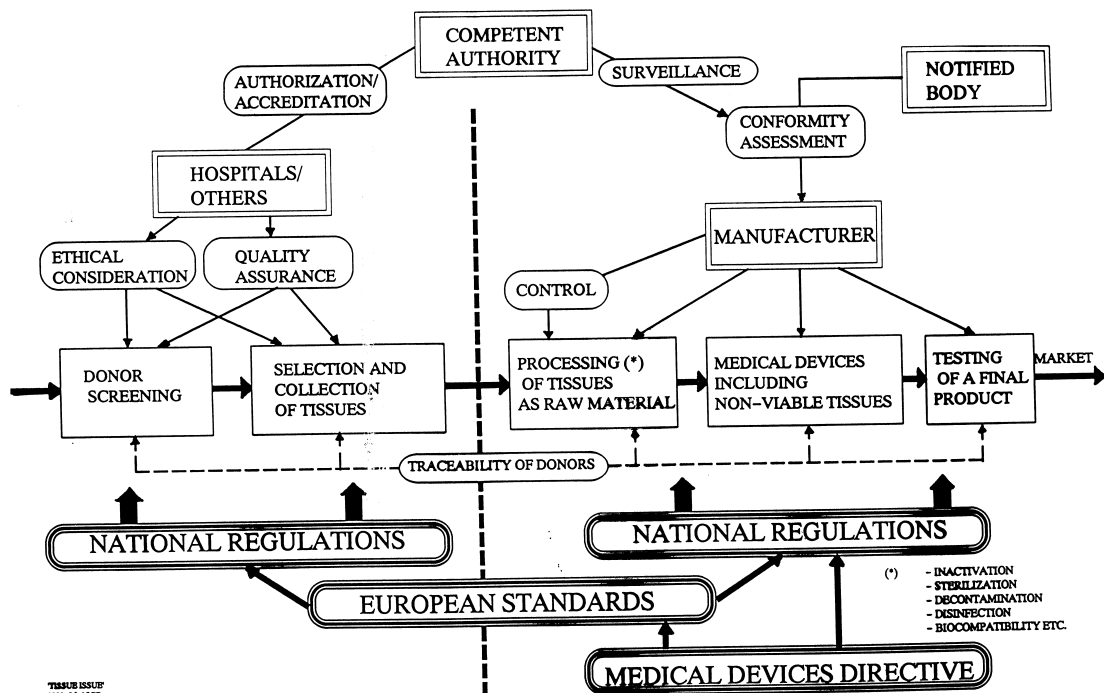
Lähtömateriaalina saattaa olla mikä tahansa edellä mainituista humaanikudoksista, mutta yhtä hyvin molekyylibiologisesti tai kemiallisesti niistä saatu alkumateriaali (esim. peptidihormooni, DNA tai lähetti-RNA). Lopputuote taas voi olla erilaisten prosessien seurauksena hyvinkin kaukana siitä mitä on totuttu kutsumaan nimityksellä kudossiirre (esim. erilaiset geeniterapiasovellukset tai "tissue-engineered islets of Langerhans"). Tässä yhteydessä on todettava ilmeinen määrittelyvaikeus. Raja

käsitteiden biomateriaali ja kudosisirre välillä on ilmeisen keinotekoinen eikä mitenkään tarkasti määriteltävissä.

Luokittelu lainsäädännön mukaan

Lainsäädännön mukaan humaanikudosperäiset tuotteet voivat kuulua siirteisiin, laitteisiin tai lääkkeenomaisiin tuotteisiin. EU:n ja Suomen näkökulmasta katsottuna on todettavissa ilmeinen puute kattavasta lainsäädännöstä, jonka puitteissa monet jo markkinoille ehtineet ja tulossa olevat tuotteet voitaisiin arvioida, sijoittaa oikeaan ryhmään ja lisensoida. Kuitenkin vakiintuneeksi käytännöksi näyttää muodostuneen se, että implantoitavista tuotteista laitekategoriaan katsotaan riskikysymysten suhteen vain varsin selväpiirteiset tuotteet. Mikäli tuote taas näyttää sisältävän monimutkaisemmin arvioitavissa olevia riskitekijöitä, joutuu se arvioitavaksi kuten lääkkeet. Suomessa asiaa arvioi lääkelaitos, joka puolestaan saattaa uudet lääkekriteerein arvioitaviksi määräämänsä tuotteet Euroopan lääkearviointiviraston (EMA, European Medicines Evaluation Agency) arvioitavaksi. Tätä hallinnollista organisaatiota avustaa CPMP:n (Committee for Propriety Medicinal Products; <http://www.eudra.org/about/emea.htm>) biotekniikasta vastaava tieteellinen ryhmä, joka on laatinut mm. erilaisia ohjeita mm. geeniterapioista ja soluterapioista sekä suorittaa rajanvetoja lääke – laitekategorioiden välillä. Tällä hetkellä lääkekategoriaan katsotaan kuuluviksi mm. bioteknisesti valmistetut lääkkeet, verituotteet, joissa on käytetty rekombinanttitekniikkaa, geeniterapiat, soluterapiat sekä myös xenogeenisten elinten transplantaatio. Lääkkeeksi luokittelussa oleellisia seikkoja ovat *tuotteen käyttötarkoitus* (hoito, preventio, diagnostiikka, fysiologian modifiointi tai palauttaminen) sekä *tuotteen vaikutus* (farmakologinen, immunologinen, metabolinen). - Valvonnan kannalta ns. harmaalle alueelle joudutaan edelleen mm. tilanteissa, joissa laitteen osana on verivalmistetta tai rekombinantti DNA:ta. USAssa tilanne on viimeksi mainittujen osalta selkeytyneempi: rekombinantti-DNA-tuotteet luokitellaan siellä kuuluviksi *investigational drugs* – säädösten alaisuuteen.

Mm. seuraavanlaisia perusvaiheita ja tahoja joudutaan ottamaan huomioon, kun valmistellaan kliiniseen käyttöön tarkoitettujen kudospäisten tuotteiden valvontaa (kaavakuva 1).



Luokittelu käyttötarkoituksen mukaan

Ihmisperäisiä tuotteita tai materiaaleja voidaan käyttää

- 1) hoitoon
- 2) preventioon
- 3) diagnostiikkaan
- 4) fysiologian modifointiin
- 5) fysiologian palauttamiseen

Sovelluksia edellisistä voivat olla mm.

- elimen korvaaminen (esim. bioläppäproteesi)
- elimen tai kudoksen rakenteen ja/tai toiminnan korjaaminen (esim luuta indusoivat proteiinit tai geeniterapia keuhkojen kystiseen fibroosiin)
- elimen rakenteellinen tai toiminnallinen avustaminen (esim. rustosolusiiirreperäinen inkontinenssin hoito) (Näistä lisää esimerkkejä myöhemmin).

Luokittelu prosessoinnin asteen ja tuotteen rakenteen mukaan

Prosessoinnin asteen ja tuotteen rakenteen mukaan (ilman että tehdään rajaa käsitteiden "kudos", "solutuote" ja "biomateriaali" välille tai "lääke vai laite" erottelua) (Loty 1998, modifioinut Viljanen 1998) ihmisperäiset tuotteet voidaan jaotella esim. seuraavasti:

1) Perinteiset kudossiirteet (auto- ja allografit)

- a) Autografit: siirto yhden kirurgisen operaation puitteissa (luu, rusto, iho, verisuonet, hermot...)
- b) Allografit: varastointi ± prosessointi kudospankissa: sarveiskalvot, luu (± rusto, ligamentit, jänteet, aponeuroosi), iho, verisuonet, sydänläpät, lyodura, kuuloluut, perifeeriset hermot

2) Verituotteet ja reproduktiiviset solut

3) Kudos- ja solupohjaiset bioteknologiset tuotteet:

a) Bioproteesit

Kudoksen perusarkkitehtuuri ja perustoiminta jäljellä, esim. verisuoni- ja läppäbioproteesit, nämä sijoittuvat useimmiten myös myöhemmin selostettuun hybridituotteiden kategoriaan). Suuri osa tällä hetkellä kliinisessä käytössä olevista humaaniperäisistä tuotteista kuuluu tähän kategoriaan.

b) Viljellyt autologiset tai allogeeniset rakenteelliset solutuotteet

Esim. rusto-, luu- tai ihosoluekspansiotuotteet. Näissä eristetään haluttu solupopulaatio potilaalta itseltään tai luovuttajalta, expandoidaan soluviljelytekniikoilla, yhdistetään sopivaan kantajamateriaaliin ja siirretään takaisin potilaaseen

f) Soluterapiat ja metabolisiin tarkoituksiin valmistetut toiminnalliset solutuotteet,

Eivät rakenteellisesti välttämättä noudata kohde-elimensä mallia: esim. maksa-, haima-, lisäkilpirauhas-, lisämunuais-, hermo- ja hematopoettiset solutuotteet

c) Ainakin osan alkuperäisestä struktuuristaan säilyttäneet tuotteet joiden uusi tehtävä ei välttämättä ole sama kuin alkuperäinen

Esim demineralisoitu luumatrix tai kollageeni

d) Kudosalkuperää olevat proteiinit

Nämä voivat olla kudoksesta eristämällä saatuja tai rekombinanttitekniikalla lähdemateriaalista (=mRNA tai eristetty proteiini) saadun mallin mukaan tuotettuja [esim. kasvutekijät, BMP, kalsitoniini, insuliini]

e) Kudosalkuperää olevat DNA/ geeninsiirtotuotteet

Haluttua DNA-sekvenssiä ("geeniä") voidaan käyttää hoidollisesti joko (myös DNAta olevaan) plasmidiin tai johonkin virusvektoriin liitettynä tai sellaisenaan. Sen avulla voidaan saada aikaan jonkin halutun geenin proteiinituotteen ekspressio tai (ns. antisense sekvenssin omaavien oligonukleotidien avulla) haitallisen proteiinin ekspression estyminen. Viime aikojen havaintojen mukaan myös RNA:ta voidaan käyttää samaan tarkoitukseen.

4) Hybridituotteet

Esim. proteiini ja sen kantaja-aine; expandoitu soluviljelmä ja sen kantajastruktuuri; kollageenilla tai albumiinilla päällystetty läppäproteesi

5) Kudospankissa säilytettyjen kudosten käyttö alkuperäisestä poikkeavaan tarkoitukseen

Esim. embryonaalisen kudoksen käyttö neuraalisen regeneraation aikaan saamiseksi keskus- tai perifeerisen hermoston alueella esim. aivovaurion, degeneraation tai selkäydinvaurion jälkeen tai halutun biokemiallisen tuotteen muodostumisen elvyttämiseksi esim. parkinsonismissa tai Alzheimerin taudissa)

(Luokittelu: Viljanen VV, julkaisematon 1998)

Luokittelu viabiliteetin mukaan

Perinteistä ajattelutapaa edustaa käsitys, että biologista alkuperää oleva materiaali voitaisiin katsoa "biomateriaaliksi" vasta, kun se on saatettu elottomaan, non-viabeliin tilaan. Kuitenkin uusi teknologia on mahdollistanut sen, että tuote voi olla myös viabeli ja silti sitä voidaan siirtää, varastoida ym kuten non-viabeleja materiaaleja. Lisäksi sama tuote voi sisältää viabiliteetin suhteen useita eriasteisesti "viabeleja" biologisalkuperäisiä komponentteja, kuviteltuna esimerkkinä pakastetuotteena säilytettävä tuote, joka sisältää kollageeniverkoston kasvatettuja mesenkymaalisia kantasoluja, rakenteen sisältäessä lisäksi luuta indusoivaa rekombinanttiproteiinia sekä jotakin muuta kasvutekijää kohde-elimistön soluissa koodaamaan tarkoitettua DNA:ta.

Ihmiskuperäisten biomateriaalien kehittäminen kudosteknologian (tissue engineering) keinoin

Kudosteknologian määrittely ja tavoitteet

Keinotekkoisten kudosten ja elinten kehittelyn yhteydessä lääketieteellisessä kirjallisuudessa käytetään yleisesti käsitettä "tissue engineering" (suom. kudosteknologia), josta on muodostunut uusi itsenäinen, useita bioteknisiä aloja hyödyntävä ja myös yhdistävä tieteenhaara. Tällöin biomateriaalilla laajasti tarkastellen tarkoitetaan

1. humaanikudosten suunnittelua ja kasvatusta elimistön ulkopuolella *in vitro* ("lab-grown human tissue"), tarkoituksena myöhempi implantointi korjaamaan tai korvaamaan sairastuneita tai vaurioituneita kudoksia
2. soluja sisältävien tai sisältämättömien laitteiden implantointia aikaansaamaan toimivien humaanikudosten regeneraatiota *in vivo* joko hoidettavassa kohteessa tai muussa sopivassa kudossympäristössä
3. humaanikudosta sisältävien *ulkoisten*, sairaiden kudosten toimintaa korvaavien laitteiden kehittämistä.

(*Center for Biotechnology and Bioengineering, University of Pittsburgh*).

Kudosteknologian sovellusesimerkkejä

Kudosteknologisista tuotteista suurin osa on vielä kokeellisella asteella, mutta nopeasti lisääntyvä määrä näitä on yltänyt jo kliinisiin kokeisiin asti ja osa jopa saanut USAssa FDA:lta jo varsinaisen käyttöluvan.

Kaikkien mainittujen kudosteknologian päämäärien saavuttaminen riippuu siitä kuinka onnistutaan suunnittelemaan materiaaleja, joilla on tietyn biologisen systeemin rakenteellisia ja ennen kaikkea toiminnallisia ominaisuuksia.

Tällaisten tuotteiden synteesin ja implantaation tuloksena tulee olla elävän kudoksen rakenne ja fysiologiset ominaisuudet sekä sillä tulee olla hyvin määritellyt ja ennustettavissa olevat interaktiot ympäröivään elävään kudokseen nähden.

Käytännöllisesti katsoen kaikkia mahdollisia ihmisen elimiä ja kudoksia ollaan tällä hetkellä suunnittelemassa erilaisia strategioita käyttäen. Kudossuunnitteluteknologiaa on käytetty tähän mennessä ainakin seuraavanlaisten päämäärien ja esimerkkien puitteissa joko kokeellisesti tai joissakin tapauksissa kliinisesti:

Antiromboottisen ominaisuuden omaava kudosis

-Esim. erytropoetiinisoluterapia kriittisen hormoonineritysvajauksen korvaamiseksi loppuvaiheen munuaissairaudessa.

Ruuansulatuskanava ja siihen liittyvät elimet

-“Neointestine”: enterosyyttien (EC) eristystekniikoiden kehittäminen, EC-polymeerikonstruktioiden muodostaminen ja implantointi sekä histologinen arviointi – toistaiseksi vain koe-eläinmalleilla

-Liver assist devices (LAD): esim. onttokuitubioreaktori, jossa hepatosyyttejä (alkuperä: ihmisen hepatooma, sika, kani) kiinnittyneenä keinotekoiisiin kapillaareihin ja ylläpidettynä seerumilla täytetyssä ympäristössä potilaan veren kulkiessa keinotekkoisten kapillaarien läpi ja detoksifioituessa olematta varsinaisesti kontaktissa

maksasoluihin. FDA on hyväksynyt useita LAD-systeemeitä kliinisiin kokeiluihin niiden turvallisuuden ja biologisen aktiivisuuden arvioimiseksi ja uusia on kehitteillä yrittäen mm. hyödyntää humaaneja maksasolujen kantasolumuotoja.

Neuraalinen kudosis

-Aivokudosis: tiettyjä hermoston tarvitsemissä yhdisteitä tuottava kudosis (esim. dopamiini Parkinsonin tautiin) on pyritty aikaansaamaan sekä *ex vivo* että *in vivo* aivokudoksen kantasolupopulaatiosta (glia) tai muista sopivista soluista soveltamalla geeninsiirtotekniikoita ja kudosteknologisia solukon tukirakenteita

-Selkäydinkudosis ja embryonaaliset allograftipreparaatit: spinaali-implanteja on käytetty kokeellisesti mm. aksonaalisltoina, korvaamaan spesifejä solupopulaatioita, krooniseen kipuun, tuottamaan neurotransmittereita ja neurotrooppisia faktoreita

-Perifeerinen hermokudosis: eril. tubulisaatiomenetelmät yhdistettynä neurotrooppisiin tekijöihin, täydennettynä regeneraatiota edistävillä soluilla ja mahdollisesti hermon kasvutekijöitä koodaavalla geeniterapialla

- Sisäkorva: hiussolujen ja kuulohermosäikeiden regeneraation indusoiminen ja tukisolujen transdifferentiaation edesauttaminen hiussoluiksi, gliasolukuoleman ehkäiseminen sekä transmittereiden kontrolli, keinoina mm. neurotropiinit ja geeniterapia – yhdistettynä kudosteknologisiin sovelluksiin (Miller et al 1997)

Peitekudosis

Iho- ja sidekudosiskonstrukteja on käytetty menestyksellä jo kliinisestikin mm. laajojen palovammojen ja kroonisten haavaumien hoidossa. FDA on hyväksynyt useita tämän alan kudosteknologisia tuotteita kliiniseen käyttöön ja myöntänyt myyntiluvan useille tuotteille.

Sarveiskalvo

Kudosteknologisesti kehitetyt keratoproteesit (mm. ns. Cardona device)

Tukikudosis

-BMPn (luun morfogeneettinen proteiini) ja ohjatun kudosisregeneraation avulla avulla avulla indusoitu, halutun muotoinen, verisuonitettu uudisluu (Khoury et. al. 1991)

kasvutekijöitä, kantasoluja ja sopivia kasvukehikoita käyttäen muodostettu uudisluu

-Rusto-, jänne- ja ligamenttikudosis on tuotettu vastaavanlaisin keinoin hyödyntäen ns mesengeenistä prosessia (kudosisregeneraatiota), jossa mesenkymaalisisä kantasoluista olosuhteita ja käytettyjä differentiaatiotekijöitä (morfogeenit ja kasvutekijät) säätelämällä voidaan saada erilaistumaan erityyppisiä tukikudosisrakenteita

Hematopoeetisen systeemin korvikkeet

-Allogeeninen hematopoeettinen kantasoluviljelmä esim. synteettisessä polymeerikehikossa – hyödyttää mm. kongenitaalisen entsyymipuutoksen takia esim. osteopetroosia tai Gaucherin tautia sairastavia tai hankittuja kantasolupuutoksia potevia ---vaihtoehtona allogeeniselle transplantaatiolle: geneettisesti modifioidut kantasolut

-Keinotekoinen luuydin: kantasolujen viljely ja erilaistuminen kolmiulotteisessa nailonverkossa – kokeellisesti *in vivo* saavutettu hemopoesi ad 110 pv

-BMPn (luun morfogeneettinen proteiini) avulla indusoitu hematopoeettinen luuydinkudosis (esim. solusalpaaja ja/tai sädehoidon jälkeen)

-Kantasoluja hyödyntävät kudosteknologiset sovellukset, esim. verisolujen kehittäminen primitiivisistä embryonaalisista kantasoluista (Sprangrude 1998)

-Modifioituun hemoglobiiniin perustuvat punasolusubstituuatit, keinotekoiset kapseloituun hemoglobiiniin perustuvat punasolut

-Immuunisysteemin soluja moduloivat geeniterapiat esim. adenosiinideaminaasipuute(ADA) ja siitä seuraava SCID (severe combined immunodeficiency disease) tai esim. geeniterapiat AIDSissa.

-Lymfopoesin eri vaiheiden hallinta ja halutunlaisien antigeenispesifisten muistisolujen kehittäminen hyödyntäen mm. solun pintamarkkereiden identifikaatiota ja

puhdistusta, rekombinanttikasvutekijöitä, geeniteknologiaa, sopivia stroomasoluja, kasvua/erilaistumista sopivassa suhteessa ohjaavia kasvatusolosuhteita jne
 -Keinotekoinen thymus

Endokriininen kudus

-Haiman saarekkeiden valmistus uusia polymeereja ja viljeltyjä saarekesoluja käyttäen
 -Lisäkilpirauhanen (paratyroideasolujen mikroenkapsulaatio)
 -Lisämunuainen

Kardiovaskulaarinen kudus

-Esim. verisuonen endoteelin korvaaminen geneettisesti modifioiduilla endoteelisoluilla tai synteettiseen poroosiin putkikehikkoon kasvatettu luonnonmukainen seinämäkudos
 -Kapillaarisolujen kudosteknologinen kehittäminen (

Munuainen ja genitourinaarisysteemi

-Glomeruluksen filtraatio toimintaa ja tubulusta korvaava soluista, biomateriaaleista ja synteettisistä polymeereista koostuva munuaisen erityis- ja säätelytoimia suorittava laite
 -Erytropoetiinia tuottava soluterapia
 -Muiden genitourinaarisysteemin kudosten tuottaminen: kokeelliset tubulaariset uroteliaaliset rakenteet, joissa viljeltyjä uroepiteelisoluja ja sileälihassoluja PGA-matriksissa

Periodontaaliset ja dentaaliset sovellukset

-Ohjattua kudosten regeneraatiota, erilaisia kasvutekijöitä ja plasmaproteiineja on käytetty mm ohjaamaan ligamentinkaltaisen kudoksen muodostumista implanttien ympärille, ohjaamaan dentiiniin ja luun regeneraatiota tai mandibulaarihermon paranemista, samoin soluviljelytekniikoita edesauttamaan ienkudoksen paranemista

Solutason tapahtumien monitorointi ja säätely

-Avainasemassa olevien, esim. tiettyjen geenien transkriptiota ohjaavien solusäätelyproteiinien tuotannon aikaansaaminen (tavoitteena uusia lääkkeitä, joilla voidaan hallita inflammatiota, syövän kasvua ja muita sairauksia)
 -Luuta indusoivien BMP-proteiinien tutkimuksissa on löydetty uusia välittäjäproteiineja ja niitä koodaavia genejä, mm. BMP-reseptorijärjestelmään kuuluvat SMAD-proteiinit, joita tunnetaan tähän mennessä ainakin 9 erilaista. Myös nämä reseptoriproteiinit sekä niitä koodaava DNA, samoin kuin BMP-proteiineja koodaavat DNA-sekvenssit saattavat osoittautua geeniterapiatekniikoita hyväksikäyttäen käyttökelpoisiksi uudisluun aikaansaamisessa (Wrana et al 1997, Padgett et al. 1998, Fang et al. 1996, Viljanen et al. 1997).
 -Kolmantena, konstruktioltaan varsin yksinkertaisena esimerkkinä tässä yhteydessä on syytä mainita kolmen aminohaposta (arginiini-glysiini-aspartaamihappo) muodostetun ns RGD-sekvenssin käyttö synteettisissä materiaalikehikoissa uuden kudoksen aikaansaamiseksi halutunlaisista soluista. Mainittu sekvenssi on osa tavallista solun pintareseptoriproteiinia ja saa solut tehokkaammin liimautumaan toisiinsa ja ympäröivään kudokseen, samalla vaikuttaen tehokkaasti solun kasvuun ja uuden kudoksen rakenteeseen.

Rokotteet

-Uuden sukupolven rokotteissa on kyse siitä, että halutun sekvenssin omaavaa, puhdistettua DNAta tuodaan soluihin ja saadaan ne tuottamaan ko DNA:n koodaamia haluttuja proteiineja, joiden avulla voidaan saada aikaan kestävä immuniteetti kohteena olevaa sairautta vastaan. Sovellusmahdollisuudet ovat erittäin laajat ulottuen HIV:stä, hepatiitista ja influenssasta syöpäsairauksiin.

Soluterapiat

-Perustuvat mahdollisuuteen immunoisoloida allogeenisia ja xenogeenisiä soluja semipermeaabeleilla membraaneilla ja implantoida näin kapsuloituja soluja elimistöön

kohdennettua ja säädeltyä ennalta valitun molekyylin tuottamista varten (esim. insuliini, neurotransmitterit, erytropoetiini tai hyytymisfaktorit) – vaihtoehtona toistuville vastaavien rekombinanttimolekyylipreparaattien injektioille. Soluterapiatutkimusta pidetään myös kudosteknologiaan rinnastettavana omana tieteenalana, mutta ero on lähinnä akateeminen.

Diagnostiset tuotteet

-Monoklonaaliset vasta-aineet esim. virusten toteamiseksi, esim. rotavirus
 -Oligonukleotidikoettimet halutunlaisten solujen tai diagnostisesti merkittävien nukleiinihapposekvenssien toteamiseksi eri kudoksista (esim osana PCR-diagnostiikkaa)

Transgeenisten eläinten käyttö ihmiselle tarpeellisten terapeuttisten tuotteiden tuottamistekniikkana

-Kyseessä on geeniterapian erikoismuoto, jossa ihmisestä alunperin peräisin olevan DNA-, RNA- tai proteiini templaattin mukaista “geeniä” käyttäen saadaan eläin tuottamaan esim. haluttua proteiini- tai peptidituotetta, jota sitten käytetään sellaisenaan lääkkeellisesti ihmiselle tai osana soluterapiaa tai kudosteknologisen tuotteen valmistuksen yhtenä komponenttina.

Myös voidaan siirtää transgeenistä kudosta tai siitä tehtyjä elementtejä xenogeenisenä siirteen ihmiseen, mahdollisesti erilaisiin kapselointitekniikoihin liittäen immunogeenisyyden vähentämiseksi.

Monet näistä tekniikoista ovat vielä kokeellisia, mutta kymmeniä tai satoja sovellutuksia on aivan lähitulevaisuudessa tulossa klinisiin kokeiluihin. Mahdolliset hyödyt ovat toistaiseksi monen menetelmän osalta enemmänkin lupauksia ja ylioptimismia on syytä välttää. Kliinisiä koelupia myönnettäessä joudutaan kunkin tuotteen kohdalla erikseen tekemään riskianalyysiä itse lopputuotteen lisäksi myös kaikista valmistukseen liittyvistä vaiheista, kemikaaleista, välineistä jne. Koska menetelmät ovat usein kullekin tuotteelle spesifejä, on täysin mahdotonta edes yrittää luetella tässä yhteydessä mitkä kaikki vaiheet eri tuotteiden valmistuksessa voivat mahdollisesti aiheuttaa minkäkinlaisia riskejä. Kuitenkin myös esim. säännösten laadinnassa tällaiseen yksityiskohtaiseen tuote- ja tuotantovaihekohtaiseen riskianalyysiin on välttämätöntä mennä. Jo tuotteen kehittälyvaiheessa tarvitaan paitsi yhteistyötä tutkijaryhmien ja viranomaisten välillä, myös kummankin tahon saamaa palautetta tutkija- ja viranomaiskollegoilta. Monimutkaisuudesta johtuen kudosteknologian valmistusprotokollien tulisi olla jatkuvasti päivitettyjä sekä julkisesti tiedeyhteisön ja eri viranomaistahojen arvioitavissa (kuten on laita USAssa esim geeniterapiahankeissa). Ainoastaan tällä tavoin pystytään takaamaan edes jonkinlaiset takeet näiden hoitomuotojen turvallisuudesta.

Kudosteknologian “pelisääntöjen” aikaansaamiseksi on vasta hiljattain, Italiassa S. Margheritassa 18-23.9.1998 olleen the Euroconference Tissue and Cell Engineering yhteydessä perustettu European Steering Committee for Tissue Engineering, joka on Euroopan komission Training and Mobility of Researchers Programme –ohjelman puitteissa tuettu. Sen tavoitteina on regulatoristen suuntaviivojen luominen kudosteknologisten tuotteiden tuottamiselle ja klinisille sovelluksille sekä toimia alan Euroopan konferenssien organisaationa.

DNA ja RNA biomateriaaleina

Geeniterapioiden sisällyttäminen humaani-alkuperää olevien biomateriaalien (*FDA: "biotechnology-derived human products"*) joukkoon on perusteltua, koska humanin geeniterapian perusmateriaalina yleensä tarvitaan humaanin kudosta ja siitä eristettyä RNA:ta.

Peruskäsitteitä

Geeniterapian periaatteiden ymmärtäminen edellyttää luonnollisesti geenien rakenteen ja geneettinen koodin peruskäsitteiden ymmärtämistä. Geenit ovat palasia DNA-molekyylissä. Kukin geeni sisältää informaation spesifiä proteiinia varten. Tämä informaatio ilmaistaan DNA-molekyylin rakenteesta johtuen (vain) neljästä kirjaimesta muodostuvilla "aakkosilla", joista kukin edustaa DNAn *nukleotideiksi* kutsuttuja alayksiköitä. Kukin nukleotidi muodostuu jostakin neljästä tyypipitoisesta *emäksestä*, adeniini(A), tymiini (T), guaniini (G), tai sytosiini (C), jotka ovat liittyneenä sokerimolekyyliin ja fosfaattiryhmään. *Nukleotidien järjestys* määrää geenin sisältämän "sanoman", mutta geenin tarkka translaatio vastaavaksi proteiinimolekyyliseksi edellyttää, että kirjaimet on ryhmitetty "sanoiksi". Tällainen informaation perusyksikkö on *kodoni*, joka muodostuu kolmesta vierekkäisestä nukleotidista. Kukin kodoni vastaa yhtä tunnetuista 20 *aminohaposta* (proteiinin perusrakennusyksikkö) tai signaalia, joka aloittaa tai lopettaa aminohappoketjun rakentamisen. Esimerkiksi kodoni adeniini-guaaniini-sytosiini (AGC) koodaa aminohappoa nimeltä seriini. Kodoni TAA puolestaan on yksi tunnetuista pysäytysignaaleista. On 64 mahdollista koodonia ja vain 20 aminohappoa, mikä tarkoittaa, että enemmän kuin yksi kodoni voi transloitua samaksi proteiinin rakennusosaseksi. Jotta solun tumassa olevien geenien sisältämä informaatio voisi muuttua tuman ja useimmiten solun ulkopuolella toimiviksi proteiineiksi, tarvitsee informaatio kopioida DNA-ketjusta vastaavaksi RNA:ksi (lähetti-RNA, mRNA), joka kuljettaa informaation mekanismiin, joka sitten muodostaa kyseisen geenin koodaaman proteiinin. Näiden periaatteiden tarkempien yksityiskohtien kertaamiseksi ja seuraavaksi esitettävien periaatteiden ja tekniikoiden ymmärtämiseksi suositellaan lukijan tarpeiden ja tietotason mukaan biologian ja biokemian kirjallisuutta esim seuraavasta luettelosta:

Lewin: *Genes VI*. Oxford University Press.

Alberts et al. (eds): *Molecular Biology of the Cell*. Garland Publishing Inc, New York.

Campbell: *Biochemistry*. Saunders.

Vielä 1980-luvun loppupuolella geeniterapiaa ajateltiin voitavan soveltaa ensisijaisesti vain geenivirheisiin, joissa jokin oleellinen geenituote puuttuu, mutta sittemmin sen käyttömahdollisuuksia on tutkittu suuressa joukossa erilaisia sairauksia, kuten syöpätaudit, perifeeriset verisuonisairaudet, artriitit, neurodegeneratiiviset sairaudet sekä lukuisa joukko muita hankittuja sairauksia. On olemassa myös tilanteita, joissa kirurgisesti tai traumaattisesti puuttuvan kudoksen (esim. luu) uudelleen muodostumista voitaisiin edesauttaa geeniterapian keinoin paikallisesti. Periaatteessa jälkimmäisen kategorian tilanteita voidaan hoitaa joko suoraan geenituotteella (=proteiini tai peptidi) tai sitten synnyttää kyseistä tuotetta paikanpäällä jotakin geenisiirtotekniikka käyttäen. Mahdollisesti geeninsiirtotekniikkaan joudutaan yhdistämään ns. kudosteknologian (tissue engineering) keinoja, jotta saataisiin aikaan haluttuja geenituotteita tuottava uusi, halutunlaisia soluja sopivassa kasvukehikossa sisältävä elin (esim. haimasaareke). Kudosteknologian ja geenitekniikoiden kehittäminen kulkeekin paljolti tällä hetkellä rinnakkain ja toisiaan täydentäen.

Geeniterapian luokittelu tarkoituksen mukaan

Periaatteessa geeniterapiat voidaan jakaa neljään kategoriaan:

1. Somaattisiin soluihin (muut kuin sukusolut) kohdistuva geeniterapia (somatic cell gene therapy)
2. Sukusoluihin kohdistuva geeniterapia (germ line gene therapy)
3. Paranteleva geeniteknologia (enhancement genetic engineering)
4. Eugeeninen geeniteknologia (eugenic genetic engineering)

Somaattisiin soluihin kohdistuva geeniterapia on tällä hetkellä ainoa ajateltavissa oleva humaanikäyttöön soveltuva geeniterapian muoto ja muodostaa keskeisimmän osan kehitteillä olevista geeniterapiastrategioista. Siinä on kysymys siitä, että haluttua tuotetta koodaava geeni tuotetaan rekombinantti DNA –teknologian keinoin ja kiinnitetään ennalta määriteltyyn kudokseen elimistössä eikä se siirry vertikaalisesti (=saajan jälkeläisiin). Päämäärä tällaisessa geeninsirrossa on samanlainen kuin missä tahansa lääkehoidossa: inhimillisen kärsimyksen vähentäminen ja terveyden palauttaminen. Tällainen geeniterapia eroaa huomattavasti muista geeniterapiamuodoista, joihin liittyy erilaisia teknisiä ongelmia sekä myös aivan eri luokkaa olevia eettisiä huolenaiheita, kuten esimerkiksi humaaniembryoiden käyttöä vaativia kokeita tai lajin geenipoolin muuttumisesta johtuvia pitkäaikaisseurauksia.

Sukusolulinjoihin kohdistuvia geeniterapiakokeita on menestyksellisesti suoritettu eläimille joihinkin perinnöllisten sairauksien kokeellisiin malleihin. Periaatteena on insertoida terve geeni geenipuutoksen omaavan eläimen hedelmöitettyyn munasoluun. Tämän seurauksena elimistön jokainen solu, mukaanluettuna sukusolut, saa uuden geenin. Esim perinnöllinen verisairaus beta-thalassemia on kokeellisesti pystytty hoitamaan näin. Normalisoituneiden geenien todettiin sittemmin siirtyneen seuraaviin sukupolviin.

Kolme ylipääsemätöntä teknistä ongelmaa estää tämän tekniikan käytön ihmisillä. Ensimmäinen on se, että toistaiseksi ei kyetä diagnosoimaan millään järkevällä tavalla geneettisiä sairauksia munasoluista erilaisten ominaisuuksien periytyvyysmallit huomioon ottaen. Toinen ongelma on se, että mikroinjektio tekniikoissa geenien saatamiseksi munasolun sisään on toistaiseksi varsin suuri epäonnistumisriski – tekniikoiden tosin koko ajan parantuessa. Kuitenkin varsin suuresta osasta näin käsitellyjä munasoluja ei koskaan tule elävää jälkeläistä. Kolmas eikä mitenkään vähäpätöisin ongelma on se, ettei pystytä kontrolloimaan minne geeni embryon geenistössä tulee lopulta kiinnittymään. Silloin kun geeni joutuu elimistön jokaiseen soluun, mahdolliset seuraamukset voivat olla aivan eri luokkaa kuin geenin esiintyessä vain määrättyssä solupopulaatiossa. Sukusolulinjoihin kohdituissa terapiayrityksissä on todettu useita esimerkkejä siitä, että geenituotteita ilmenee aivan väärissä kudoksissa (kuten hemoglobiinia lihas- tai testiskudoksessa). Mikroinjektioilla on saatu aikaan terveiden geenien vaurioitumista manipulaation seurauksena halutun tuotteen aikaansaamisen lisäksi.

Suorituskykyä parantava geeniteknologia ei tähtää geneettisen sairauden hoitoon, vaan siinä yritetään muuttaa jotain yksilön ominaisuutta haluttuun suuntaan. Ristiriita mahdollisten hyötyjen ja haittojen välillä on tällaisessa teknologiassa vielä suurempi kuin edellä mainitussa. Useimmin siteerattu esimerkki tässä yhteydessä on kasvuhormoonigeenin insertio terveeseen lapsen pituuskasvun lisäämiseksi. Mahdollisesti näin aikaansaatavaan liialliseen hormoonintuotantoon liittyvät riskit ovat luonnollisesti valtavat. Useimmiten samaan lopputulokseen, mutta huomattavasti paremmin hallittavassa muodossa päästäisiin antamalla itse hormonia. Lääkkeen antamisen voi aina tarvittaessa lopettaa, mutta insertoidun geenin toimintaa välttämättä ei.

Eugeeninen geeniteknologia viittaa rekombinantti DNA –teknologian käyttöön perinnöllisten ominaisuuksien kuten älykkyyden, persoonallisuuden tai rakenneominaisuuksien muuttamiseen.

Tällaisiin ominaisuuksiin vaikuttavia geenejä on satoja tai tuhansia sekä lisäksi erilaiset ympäristötekijät. Mahdollisia geeniterapioita ajatellen erilaisia ominaisuuksia tuottavien geeniyhdistelmien tuntemuksen vaatimustaso on niin korkea ja tietämys niin heikkoa ettei mahdollisuuksia onnistuneisiin manipulaatioihin liene tulevaisuudessakaan. Tällaisen toiminnan kehittäminen tai yrittäminen on yleisten eettisten mittapuiden mukaan sitä paitsi myös tuomittavaa. Tämä geeniterapian muoto on syytä mainita vain siitä syystä että se tuntuu jostain syystä herättävän yllättävän suurta pelkoa maallikkojen keskuudessa. Tutkimuksen tähänastisten saavutusten valossa tuollaiset pelot ovat täysin epärealistisia ja aiheettomia. Kuitenkin keskustelu potentiaalisista väärinkäyttömahdollisuuksista muodostaa nyky-yhteiskunnassa tärkeän osan päätöksentekoprosessia. Eugeneiselle geeniteknologialle ei tulisi tässä keskustelussa antaa merkittävää sijaa, koska sellaisen soveltaminen on epätodennäköistä ja systeemit joihin mahdollisesti puututtaisiin, ovat ylipääsemättömän monimutkaisia millekään näköpiirissä olevalle tekniselle osaamiselle.

Geeniterapian perusvaiheet

Perustehtävät geeniterapian valmistelussa ovat yksinkertaistettuna seuraavat:

1. halutun geenin (esim. geneettisen sairauden aiheuttajageeni) tunnistaminen ja sen normaalin variantin monistaminen (kloonaus)
2. elimistön kohdesolujen valinta, joihin geeni on tarkoitus toimittaa
3. geenin siirto kohdesoluihin (transduktio, transfektio)
4. insertoidun geenin riittävän ekspressiotason saavuttamisen (s.o. riittävän proteiinin määrän tuottamisen) varmistaminen

Geeniterapian perusmateriaalit ja -tekniikat

Humaanin geeniterapian lähtömateriaalina tarvitaan periaatteessa humaanikudoksesta peräisin olevaa *lähetti-RNAta* (*mRNA*), jonka sisältämä geneettinen informaatio sitten muutetaan komplementaarisen DNA:n (*cDNA*) muotoon tavallisesti RT-PCR-tekniikkaa käyttäen. Tästä edelleen, joko jo tiedossa olevan geenin rakenteen tai halutun proteiinien aminohappojärjestyksen mukaan valmistetuilla koettimilla tunnistetaan ja poimitaan halutut nukleotidisekvenssit ja niitä yhdistelemällä muodostetaan haluttua proteiinituotetta koodaava DNA-sekvenssi eli "geeni". Haluttuun kudokseen tai solukkaan saattamiseksi (*transfektio*) tämä joudutaan yhdistämään johonkin kuljettimeen, *vektoriin*, joka voi olla viraalinen tai nonviraalinen. Virusvektoreina käytetään yleisimmin retro-, adeno-, adeno-associated, herpes simplex ja vaccinia-viruksia. Nonviraalisina vektoreina taas plasmideja (sirkulaarisessa muodossa esiintyvä DNA) ja liposomeja (keinotekoinen fosfolipidivesikkeli). Myös paljasta DNAta voidaan viedä erilaisin tekniikoin soluihin (mikroinjektio, elektroporaatio, ballistinen DNA-injektio). Edelleen voidaan suorittaa DNA-pohjaista immunisaatiota ("rokottamista"), jota on kokeiltu suorana intramuskulaarisena plasmidi-DNA-injektiona, jonka kohteina on ollut mm HIV, hepatiitti B ja C, HSV, influenssa, papilloma, tuberkuloosi, RSV, CMV, Lymen tauti, *Helicobacter pylori* ja keuhkomykoplasma. Riippuen vektorin laadusta ja antotavasta geenin leviämialueena voi olla jokin hyvin rajoitettu alue (plasmidi- tai liposomivektoria käytettäessä) tai jopa koko elimistö (adeno- tai retroviruksia käytettäessä). Hoidon tehoon vaikuttaa oleellisesti halutun geenin ekspressiotaso (so kuinka paljon proteiinia geeni kohdesolukko pystyy geenin vaikutuksesta tuottamaan), kohdesolujen jakautuminen tai jakautumattomuus (esim. retrovirusvektori tarvitsee jakautuvia soluja), itse kohdesolukko (plasmidi-DNA-injektio näyttää toimivan lähinnä vain lihaksessa ja luussa), mahdollinen immuunivasteen herättäminen (haittaa esim. adenovirusten käyttöä), tapahtuuko transfektio suoraan (*in vivo*) vai epäsuorasti (*ex vivo* – retrovirukset toimivat kunnolla vain näin), geenin

ekspression kesto (adenoviruksilla lyhytaikainen). Myös vektorin koodaamien mahdollisten ei-toivottujen virusproteiinien merkitystä ei saa aliarvioida.

Ideaalisen geeninsiirtovektorin ominaisuuksiksi on tähän mennessä todettu seuraavanlaisia:

- Inserttikoko: voi kuljettaa tarvittaessa useampia geenejä samalla kertaa
- Kohdehakuisuus: voidaan ohjata vain spesifiin solutyyppiin tai niin, että ekspresio tapahtuu vain halutuissa soluissa
- Immuuniresponssin puuttuminen niin että geenikonstruktin on turvallinen vastaanottajalle ja ympäristölle
- Stabiilius: geeni ei aiheuta insertiomutageneesiä
- Tiitteri: korkea konsentraatio ja stabiili lopputuote
- Säädeltävyys: geenin ekspressiota voidaan tarvittaessa säätää suuremmaksi (up-regulation) tai pienemmäksi (down-regulation)

In vivo geeniterapiasta puhutaan, kun haluttu DNA-sekvenssi saatetaan suoraan haluttuun kudokseen tai solukkuon elimistössä

Ex vivo geeniterapialla tarkoitetaan tekniikoita, joissa rekombinantitekniikalla tuotettua DNA:ta, mahdollisesti viruksen tai muun vektorin avulla *elimistön ulkopuolella* saatetaan halutunlaisiin soluihin tuottamaan haluttua proteiinia tai kun sitä transfektoidaan johonkin kudosteknologian keinoin soluista ja sopivasta kantajamateriaalista valmistettuun konstruktiin, joka sitten siirretään elimistöön

Geeniterapian lääketieteellisten ja sosiaalisten seuraamusten evaluointi sekä geeniterapiasta käytävä julkinen keskustelu

Yhdysvalloissa on tehty huolellisia analyysejä geeniterapian mahdollisista lääketieteellisistä ja sosiaalisista seuraamuksista enemmän kuin muualla. Näitä ovat jo 80-luvulla suorittaneet mm. *the President's Commission for the Study of Ethical Problems in Medicine and Biomedical and Behavioral Research* sekä *the Congressional Office of Technology Assessment (OTA)*. Näiden suorittama työ on auttanut lievittämään suuren yleisön pelkoja mahdollisesta uuden teknologian väärinkäytöstä.

Yleistä vastakkainasettelua geeniterapiasta keskusteltaessa ovat ylläpitäneet useat tekijät. Sinänsä geeniterapian valtavat mahdollisuudet näyttävät ymmärtävän sekä maallikoiden että tutkijoiden keskuudessa, mutta maallikoiden on luonnollisesti vaikeampi havaita todellisia huolenaiheita ja sudenkuoppia, joita kokeiluihin käytännössä ja teoriassa liittyy. Bioteknologisten yritysten taloudelliset intressit sekä joidenkin geeniterapeuttien uraintressit ovat olleet aiheena ylioptimistisiin julkisiin lausuntoihin tämänhetkisen geeniterapian mahdollisuuksista. Huolimatta hoitoprotokollien runsaasta kehittelystä, käytännössä hoidettujen potilaiden määrä on toistaiseksi jäänyt varsin pieneksi ja tietävästi ainoastaan yksi kunnolla kontrolloitu tutkimus humaanigeeniterapiasta on vasta julkaistu.

Huoli yleisen keskustelun esiintuomista ongelmista johti NIH:n nimittämään erityisen komitean (Stuart Orkin ja Arno Motulsky) arvioimaan tämänhetkistä geeniterapian tutkimusta ja tekemään suosituksia. Tämä komitea otti rohkeasti geeniterapiaa kannattavan kannan, mutta toisaalta korosti tämän alan lisäperustutkimuksen tarvetta.

Eettisiin kysymyksiin erikoistunut Leroy Walters on arvioinut, että jos somaattisiin soluihin kohdistuva geeniterapia osoittautuu sekä turvalliseksi että tehokkaaksi, voisi vähitellen olla mahdollista hajauttaa arviointiprosessia ja samanaikaisesti pyrkiä vähentämään regulaatiota. Tässä vaiheessa somaattisiin soluihin kohdistuvien geeniterapioiden tulisi täyttää samat

kriteerit kuin mikä tahansa muu lääketieteellinen tai kirurginen tekniikka: arviointiryöryhmien tulisi etsiä ennenkaikkea näyttöä siitä, että mahdollinen hyöty potilaalle, arvioituna mm. riittäväillä laboratoriotesteillä ja pitkäaikaisseurannalla, ylittää mahdolliset riskit. *Toistaiseksi kuitenkin esiintunut tutkimustieto pikemminkin näyttää lisäävän kuin vähentävän geeniterapian ja muiden uusien bioteknologisten menetelmien keskitetyn regulaation tarvetta.*

Sekä em. presidentin komissio että OTA ovat korostaneet, että saavutettu konsensus somaattisiin soluihin kohdistuvasta geeniterapiasta ei millään muotoa ylety sukusoluihin kohdistuvaan geeniterapiaan tai geneettisiin manipulaatioihin, joiden tarkoituksena on muuttaa terveiden yksilöiden ominaisuuksia. Laajaa julkista keskustelua turvallisuuskysymyksistä ja eettisistä kysymyksistä (tärkein eettinen kysymys on turvallisuus) tarvitaan ennen kuin voidaan päättää, ovatko nämä muut geeniteknologian muodot mahdollisesti yhteiskunnassamme hyväksyttäviä.

Hiljattain (1/99) pidetyssä RAC:n kokouksessa otettiin voimakkaasti kantaa prenataalisen geeniterapian mahdollisuuteen ja todettiin että on ainakin 26 tieteellistä, eettistä, sosiaalista ja laillista osa-aluetta, jotka tulee selvittää ennen kuin tällaisiin kokeiluihin voidaan antaa lupaa.

Mielikuvan saamiseksi kliinisiin kokeisiin liittyvien huomioonotettavien asioiden moninaisuudesta on tässä yhteydessä referoida FDA:n somaattisiin soluihin kohdistuvaan ja geeniterapiaan sekä liittyviä säätelyperiaatteita (taulukko 2). Listasta voi pikaisesti lähinnä todeta vain erilaisten turvallisuuskysymysten valtavan määrän. Lisäksi on mm. geeniterapiatekniikoihin liittyville apu- ja lisätuotteille (ancillary products) vähintään yhtä pitkiä ja perusteellisia varmistuslistoja. Suunniteltaessa säätelyjärjestelmää ja lainasäädäntöä geeniterapioille ja muille rekombinantti-DNA-tuotteille Suomessa ja EU-maissa tulisi ottaa myös huomioon erityisesti seuraavat dokumentit:

Pilaro AM, Cavagnaro JA: Preclinical safety and activity testing of cellular and gene therapies. FDA/CBER. Forum'96: Gene Therapy, <http://www.fda.gov/cber/summaries/gtfor96.pdf>, 1996

Wilde D: Considerations in clinical trial design for gene therapy phase I trials. Division of Clinical trial Design & Analysis, OTRR/CBER/FDA. Forum'96: Gene Therapy, <http://www.fda.gov/cber/summaries/gtfor96.pdf>, 1996

Esber EC: International regulatory considerations, export and import issues. Forum'96: Gene Therapy, <http://www.fda.gov/cber/summaries/gtfor96.pdf>, 1996 sekä

Eltermann J: Regulatory and CGMP considerations for gene therapy facilities. Division of Establishment Licencing, CBER/FDA. Forum'96: Gene Therapy, <http://www.fda.gov/cber/summaries/gtfor96.pdf>, 1996

Office of Recombinant DNA Activities (ORDA): Guidelines for research involving recombinant DNA molecules (NIH guidelines). Documents – Recombinant DNA, <http://www.nih.gov/od/orda/docs.htm>, May 1998

Office of Recombinant DNA Activities (ORDA): Human gene therapy protocols. Documents – Recombinant DNA, <http://www.nih.gov/od/orda/docs.htm>, Last updated: 2-10-99

Office of Recombinant DNA Activities (ORDA): Summaries of the Gene Therapy Policy Conferences (1998-Present). Documents – Recombinant DNA, <http://www.nih.gov/od/orda/docs.htm>, 1999

Office of Recombinant DNA Activities (ORDA): Minutes of the Recombinant DNA Advisory Committee Meetings (1990-Present). Documents – Recombinant DNA, <http://www.nih.gov/od/orda/docs.htm> , 1999

Esimerkkinä Yhdysvalloissa geeniterapioiden suhteen vallitsevasta asioiden käsittelyn pieteetistä ja pikkutarkkuudesta viimeksimainitun linkin takaa löytyvästä luettelosta umpimähkäisesti poimitun kokouksen aihelista (Liite 2), joka luonnollisesti edustaa vain pientä yksityiskohtaa siitä valtavasta prosessista, jonka tuo käsittely kokonaisuudessaan muodostaa.

Kliiniset geeniterapiakoesarjat

Seuraavaksi esiteltävät geeniterapiakoesarjat eri maista on otettu mukaan esimerkkeinä havainnollistamaan sitä, miten nopeasti uusi teknologia mahdollistaa eteen päin menon, kun ensin “on saatu pää auki” jossakin asiassa. Geeniterapiat tarjoavat myös erinomaisen esimerkin siitä, miten protokollien julkisuus ja jatkuvan päivityksen mahdollisuus tarjoavat tutkijamaailmassakin ainutlaatuisen tilaisuuden koko tutkijayhteisön osallistumiseen kehittämis- ja evaluaatioprosessiin sekä pahimpien haittojen jo ennalta tapahtuvan havaitsemisen ja ehkäisyn mahdollisuuden

Geeninsiirtotekniikoiden periaatteiden tultua 80-luvulla tutkijapiireissä tutuksi uskottiin yleisesti, että uuden teknologian tulokset olisivat piankin käytettävissä kliinisesti. Kuitenkin normaaligeenien toimittaminen vastaanottavan kudoksen soluihin ja riittävän halutun tuotteen ekspression saavuttaminen (geenin koodaaman tuotteen kliinisesti merkittävän suuruisen määrän tuottamisen saavuttaminen) on osoittautunut paljon odotettua vaikeammaksi. Monet tekniikat, jotka osoittautuivat toimiviksi soluviljelmissä, ovat epäonnistuneet eläinkokeissa – osoittaen että aikaisempaa suurempaa ymmärtämytä tarvitaan sen suhteen, kuinka geenien säätely elimistössä tapahtuu.

Kuitenkin tutkimus on 90-luvulla edennyt vilkkaasti ja lukuisia kliinisiä geeniterapiakokeiluja on viranomaisten valvonnassa käynnistetty eri puolilla maailmaa. Monien sairauksien geeniterapiaan on tällä hetkellä hyväksytyt protokollat, joita on maailmanlaajuisesti noin 200. Koska protokollat eivät (turvallisuuskysymysten kannalta valitettavasti) muissa maissa kuin Yhdysvalloista ole välttämättä julkisia asiakirjoja, on hankalaa saada tarkkaa tietoa hyväksytyistä kokeiluista.

Tähän mennessä USAssa on hyväksytty 130 (taulukko 2), Euroopassa noin 60 ja muualla yksittäisiä protokollia. 1998 loppuun mennessä noin 3100 potilasta oli hoidettu jonkin joko geeninsiirto- tai geeniterapiaprotokollan mukaisesti. Paljon keskustelua on käyty siitä, kuinka moni näistä potilaista on hyötynyt hoidostaan. Toistaiseksi kenenkään ei ole havaittu kokonaan parantuneen. Hyvin vähän esim. immunologisia sivuvaikutuksia on havaittu, toistaiseksi ei ole ollut viitteitä siirrettyjen geenien vertikaalisesta (perinnöllisestä) siirtymisestä, mutta kyllä vektoreiden sisältämän DNA:n löytymistä PCR-tekniikoilla paikoista, joissa sitä ei kuuluisi olla (esim. scrotum – soluja, joista DNA on löytynyt ei toistaiseksi ole tarkemmin määritelty).

Yhdysvallat

Taulukko 2. Hyväksytyt kliiniset geeniterapiaprotokollat USAssa (tilanne 10.02.99)

Yhteensä 130 hyväksyttyä terapiaprotokollaa ja 27 geenimerkkausprotokollaa

Terapiaprotokollat syyryhmittäin (lukumäärä)

<u>Syöpä (89)</u>	<u>n</u>	<u>Infektio (17)</u>	<u>n</u>	<u>Geneettinen (25)</u>	<u>n</u>	<u>Muu (3)</u>	<u>n</u>
melanoma	14	HIV	17	CF	13	Reuma	1
useita. t. ei-spesifioitu	14						

CNS	13			SCID	2	Perif. art. sair.	1
munuaissolu	7			Fam.hyperkol.emia	1	Art. restenoosi	1
colon	6			Gaucher	3		
ovario	6			Alfa-1-antitryp.puute	1		
rinta	6			Fanconi anemia	1		
keuhko	4			Mukopolysakkaridoosi	1		
levyepiteeli	3			Kr.granulomat.sairaus	1		
prostata	3			Pur.nukl.phos.puute	1		
leukemia	2						
vitsarakko	1						
adeno							
hematologinen							
lymfoma							
maksametastaasit							
myeloma							
Tarkoitus							
Immunoterapia	38	Immunoterapia	5	Puuteellisen korvaaminen	geenin	Akt.sytokiinigeeni	1
"Pro-drug"	19	Antisense	2			Angiogeneesi/re-endotelisaatio	2
Kemoprotektio	5	Muu	3				
Tuum.suppr.gene	5	Replikaation inhibitio	7				
Antisense	5						
Single-chain antibody	2						
Rokotus	1						
Onkogeenisäätely	1						

NIH:n Recombinant DNA Advisory Committeeen (RAC) hyväksymistä protokollista 27 on markkereihin liittyviä ja 130 varsinaisia hoitoprotokollia. Markkeriprotokollalla tarkoitetaan sitä että soluihin siirretään jokin geeni, jonka avulla sen vastaanottaneet solut voidaan tunnistaa. Hoitoprotokollalla tarkoitetaan geenin siirtoa soluun varsinaisessa hoitotarkoituksessa. Suurin osa hoitoprotokollista tähtää hankittujen sairauksien hoitoon, esim. syöpä tai AIDS. Perinnöllisiä sairauksia varten on 25 hyväksyttyä protokollaa, jotka ovat keskittyneet 9 erilaiseen genettiseen sairauteen. Myös kolme "muuta syytä" erottuu 130 protokollan listasta, näitä ovat perifeeriset verenkiertosairaudet, reuma ja arteriellinen restenoosi.

Syövänhoitoprotokollat sisältävät monia erilaisia strategioita ja voidaan ryhmitellä seuraavasti:

- *in vitro* tapahtuva sytokiinigeenin insertio tuumorisoluihin
- *in situ* tapahtuva HLA-geenin injektio
- *in situ* suisidigeenin insertio tuumorisoluihin
- *tuumorisuppressorigeenien* ja *antionkogeenien* käyttö
- *resistenssigeenin* käyttö lääkeyhdistelmien sietokykyä parantamaan

Geeniterapiavektorit

- *retroviraaliset vektorit* ovat käytössä enemmistössä hyväksytyistä ohjelmista (63%) halutun geenin viemiseksi kohdesoluihin
- *adenovirusvektorit* (16%)
- *liposomit* (13%)
- "*adenoassociated*" vektorit (2%)
- *muut vektorit* ovat käytössä 6%:ssa sisältäen mm. pelkkää DNA:ta sisältävän plasman injektion

Kaikenkaikkiaan Yhdysvalloissa on em. hyväksytyjen protokollien mukaisesti käynnissä 278 kliinistä hoitokokeilua.

Likimain ajan tasalla olevan tilanteen kokeiluista maailmanlaajuisesti saa Wiley's Genetic Medicine Clinical Trials Databasesta:

http://www.wiley.co.uk/genetherapy/clinical/DATABASE/db/genesearch.cgi?investigator=&country=.*&category=.*&x=14&y=15

Yhteensä kokeiluja on menossa tällä hetkellä 22 maassa, kunkin koesarjan sisältäessä yleensä vain muutaman potilaan aineistoja. Tämän vuoksi kunnolla kontrolloituja tutkimustuloksia ole julkaistu kuin yksi. Vain yhdessä sarjassa USAssa (Parenti D, HIV, 216pot.) ja yhdessä sarjassa Euroopassa (Maria B/monikeskus, glioblastoma, 251pot.) on yli 200 potilasta ja yhdessä sarjassa USAssa yli 100 (Hersh EM, melanooma, 102pot.). Yhdysvaltain ulkopuolella kliinisiä geeniterapiakokeiluja on käynnissä 92 ja näissä ilmoitettuja potilaita 904.

Eurooppa

Englannissa kokeiluja on käynnissä 18, Ranskassa 14, Italiassa 8, Itävallassa 2, Ruotsissa 2 kokeiden jakautuessa erityyppisissä syöpäsairauksien ja perinnöllisten sairauksien hoitoon. Sveitsissä menossa olevat 7 koesarjaa jakautuvat kaikille neljälle perusindikaatioalueelle, mukana on mm. ALS-taudin hoitokokeilu 12 potilaalla CNTF-geeniä käyttäen. Espanjassa 1 (glioblastoma), Puolassa 1. Hollannissa on 5 syöpiin keskittyvää koesarjaa (glioblastoma, melanoma, metast.syöpä)

Saksassa on tällä hetkellä 8 kliinistä geeniterapiakokeilua, joihin kuuluvien ilmoitettujen potilaiden määrä on noin 70 ja jotka kaikki liittyvät eri syöpätyyppien hoitoon (melanoma 5, myeloma 1, munuaissolusyöpä 1, yhdessä kokeilussa kohteena on useampi syöpälaji).

Muu maailma:

Kanada 7 (kaikki syöpää), Monikansalliset 6 (glioblastoma 5, SCID 1), Japani 3 (HIV, SCID, glioblastoma), Kiina 2 (hemofilia, keuhkoca), Australia 2 (HIV, mesotelioma), Singapore 2 (metastasoitunut syöpä), Egypti 1 (hepatiitin jälkeinen maksasyöpä), Israel 1 (malignit veritaudit), Korea 1 (Rintasyöpä, pään ja kaulan syöpä, ihon T-solulymfooma), Uusi-Seelanti 1 (Canavan disease).

Suomi

Suomessa on menossa kolme kliinistä geeniterapiakokeilua Kuopion yliopistossa (Ylä-Herttua, kohteina glioblastooman, perifeerisen arteriasairauden ja koronaaritaudin hoito, vektoreina "retrovirus vector producing cells", lipofectio ja adenovirus).

Suomessa tällaisesta toiminnasta on säädetty *geenitekniikkalaki*, jonka tavoitteena on edistää geenitekniikan turvallista käyttöä ja kehittymistä eettisesti hyväksyttävällä tavalla sekä ehkäistä ja torjua haittoja, joita geenitekniikalla muunnettujen organismien käyttö voi aiheuttaa ihmisten terveydelle, eläimille, omaisuudelle ja ympäristölle. Laki koskee geenitekniikalla muunnettujen organismien ja niitä sisältävien tuotteiden käyttöä, valmistusta, maahantuontia, myyntiä ja muuta markkinoille luovuttamista sekä geenitekniikkaa käyttävien laitosten ja toimitilojen käyttöönottoa ja toimintaa. Geenitekniikkalain ja siihen perustuvien määräysten noudattamista valvoo ja ohjaa yleisesti sekä eritvisesti terveyteen liittyvissä asioissa *sosiaali- ja terveysministeriö*. Geenitekniikkalain mukaisia tehtäviä suorittaa sosiaali- ja terveysministeriön yhteydessä toimiva *geenitekniikan lautakunta*.

Geeniterapiajärjestöt

Amerikan geeniterapiajärjestöllä (American Society for Gene Therapy, ASGT) on tällä hetkellä tieteelliset komiteat seuraavilla geeniterapian sovellusaloilla:

- AIDS, infektiosairaudet ja immunologia
- Syöpägeeniterapia
- Kystinen fibroosi ja keuhkojen geeniterapia
- Geneettisten sairauksien geeniterapia
- Hemopoeettisten solujen geeniterapia
- Neuromuskulaaristen sairauksien geeniterapia
- Nonviraalinen geeniterapia
- Viraaliset geeniterapiavektorit

Euroopassa toimii vastaava järjestö, European Society for Gene Therapy (ESGT), jolla yllämainittujen kaltaisten työryhmien lisäksi on geeniterapian regulaatiokysymyksiin keskittynyt työryhmä. Järjestö on ehtinyt tähän mennessä järjestää kuusi vuosikongressia seuraavan ollessa Münchenissä 26-28.11.1999

Geeniterapiat ja EU-lainsäädäntö

EU standardeja geeniterapioista ollaan vasta laatimassa eikä ole vielä täysin selvää kuuluisivatko geeniterapiat laitteiden, lääkkeiden vai kudossiirteiden kategoriaan. Tällä hetkellä ne arvioidaan EU:n piirissä lääkkeille asetettavien vaatimusten mukaisesti keskitetyksi Euroopan lääkearviointiviraston (EMA, vsta 1995) alaisuudessa. Tällainen keskitetty proseduurin on pakollinen kaikille lääkinnällisille tuotteille, jotka on tuotettu jollakin seuraavista bioteknisistä prosesseista:

- -rekombinantti DNA teknologia
- -biologisesti aktiivisia proteiineja koodaavien geenien kontrolloitu ekspressio prokaryooteissa ja eukaryooteissa
- -hybridoma ja monoklonaalivasta-ainemenetelmät
(Commission Communication on the Community Marketing Authorisation Procedures for Medicinal Products, C98/2016)

Yhdysvalloissa FDA määräsi v.1986, että geeniterapiat kuuluvat biologisiin tuotteisiin, jotka kuuluvat FDA:n lisensoinnin alaisuuteen ja FDA:n alainen CBER (Center for Biologics Evaluation and Research) vastaa nykyään biologisten tuotteiden valmistuksen ja leimaamisen säätelystä. Kliiniset geeniterapiakokeilut ovat yleisten lääkkeille ja biologisille tuotteille asetettujen säädösten alaisia ja kokeiluihin sovelletaan IND (Investigational New Drug) hakemusmenettelyä ja lääkkeisiin kohdistuvaa turvallisuuden, puhtauden, tehon ym vaatimuksia. Yleiset toimintaperiaatteet rekombinantti-DNA:lla suoritettavia kokeiluja varten on luonut neuvonantava komitea RAC (Recombinant DNA Advisory Committee). Viime vuosina FDA:n ja NIH:n välinen säännöllinen keskustelu geeniterapioista on lisääntynyt ja tähän liittyvät RAC:n järjestämät säännölliset julkiset kokoukset edesauttavat julkista keskustelua sekä geeniterapian suoritustavoista, saavutuksista että mahdollisista haitoista. Kokousten, niiden aiheiden sekä geeniterapiaprotokollien julkisuus mahdollistaa sen, että keskustelut turvallisuuskysymyksistä ja protokollien muutostarpeesta voidaan välittömästi saattaa koko asiaan liittyvän tuotantoalan tietoisuuteen ja konsensus saavutetaan nopeammin kuin jos liikesalaisuudet pääsisivät haittaamaan tämän alan tiedonkulkua.

Geeniterapiasovelluksissa joudutaan helposti varsin monimutkaisiin konstrukteihin, joiden riskianalyyseissä otettavien tekijöiden määrä on hyvin suuri. Tästä syystä geeniterapiat ovat paremmin soveltuvia lääkkeille kuin laitteille tarkoitettujen säännösten alaisiksi samoin kuin jo

nyt markkinoilla olevat *rekombinanttiproteiinivalmisteet* (esim. erytropoetiini tai FSH) ovat. EU-lainsäädäntöä valmisteltaessa geeniterapiaan tarkoitetun *alkumateriaalin hankinnan* kaikki vaiheet on ilmeisesti tarkoitus saattaa kudospankkeja valvovien elinten kontrollin ja säätelyn alaisiksi (Etablissement francais des greffes: Meeting on Tissue and Cell Allografts Regulation in Europe. Ministere charge de la Sante, Paris, 8 June 1998), mutta *prosessoinnin, tuotevalmistuksen, testauksen, markkinoinnin ym seikkojen* valvontaan tarvitaan kutakin vaihetta paremmin tuntevia asiantuntijaelimiä sekä EU:n että kansallisella tasolla. *Suomen olosuhteissa ilmeinen ongelma on kyseeseen tulevia tekniikoita riittävän hyvin tuntevien asiantuntijoiden vähälukuisuus ja ilmeinen vaikeus rekrytoida usein pääasiassa tutkimuksellisesti orientoituneita henkilöitä valvontatehtäviin.*

Aivan erityishuomion ja erityisjärjestelyt ansaitsee tarve pitää jokainen geeniterapiaa saanut potilas elinikäisessä seurannassa mahdollisten haittojen ilmaantumisen toteamiseksi.

Geeniterapioiden lukuisiin toteutusmuotoihin ja niiden yksityiskohtiin ei tämän artikkelin puitteissa ole mahdollisuus mennä ja niiden osalta viitataan oheisiin kirjallisuusviitteisiin.

Ihmiskudoksen kliinistä käyttöä koskevat pääperiaatteet ja laatuvaatimukset

Olivatpa ihmisperäiset materiaalit luokiteltu minkä kriteerin mukaan tahansa, on niiden tuottamisessa joitain vakiona säilyviä peruskäsitteitä, jotka tässä esitetään luettelonomaisesti. Lisää tietoja tästä aihepiiristä ja esitetyistä käsitteistä on löydettävistä lukuista kudospankkitoimintaa käsittelevistä kirjoista ja muista dokumenteista.

On olemassa useaan erilaiseen kategoriaan kuuluvia ihmiskudosten kliinistä käyttöä koskevia pääperiaatteita:

Eettiset:

- ehdoton luovuttajan toivomusten noudattaminen
- altruismi - non-profit -periaate
- luotettavuus potilastietojen suhteen

Sosiaaliset

-mm potentiaalisten vastaanottajien yhdenvertaisuus

Yleiset terveydenhuollon periaatteet

Lailliset

- kudospankkien akkreditaatio ja regulaatio
- implantaatiokeskusten määrittely ja säätely
- vaatimus luovuttajan/kudoksen/vastaanottajan jäljitettävyydestä
- prosessin kontrollointivaatimus
- tekijän kontrollivaatimus

Ihmisperäisiin materiaaleihin liittyvä toimintavaiheet ja laadunvarmistuksen pääaiheet (Issues of quality & assurance) sisältyvät käsitteketjuun: Luovuttaja - ID - Evaluaatio - Luovutus - Irroitus - Prosessointi - Säilytys - Varastointi - Jakelu - Kuljetus - Valmistelu - Grafting - Vastaanottaja

Prosessiin osallistuvat päätahot ovat

- Luovuttaja
- ID ja evaluaatioryhmä
- Irroitusryhmä
- Preparaatioryhmä
- Implantaatioyksikkö
- Vastaanottaja

Pääasialliset biologisperäisiä tuotteita koskevat *laadunvarmistusjärjestelmät* (QMS, quality management systems) ilmenevät seuraavasta luettelosta, jossa on mainittu myös tärkeimpiä tehtäviä valikoiduilta osin:

- Kansainväliset suositukset (WHO, IAEA etc)
- Eurooppalaiset suositukset, konventiot ja direktiivit
 - mm kolme ISO9000-järjestelmän kansainvälistä standardia: ISO9001, 9002, 9003
- Sisäiset laadunvarmistusjärjestelmät
- Kansainvälisten tieteellisten seurojen standardit (EATB ym)
 - European Association of Tissue Banks (EATB)

- 300 edustajaa, 45 maasta maailmanlaajuisesti
- Joint meetings
- Standardit, eettiset ja lailliset näkökohdat koskien:
 - muskuloskeltaalikudospankkeja
 - ihopankkeja
 - silmäpankkeja
 - sydänläppäpankkeja
 - spermapankkeja
 - yleiset kudospankkistandardit

European Tissue Bank Network (ETBN)

- Sopimus: kudospankkitoiminnasta, tarkoituksista, saatavuudesta, laadunvarmistuksesta, tutkimus- ja kehitystoiminnasta, koulutuksesta ja harjoittelusta, kielestä, validiteettisopimus
- Kansalliset lait ja säädökset
- Kansallisten tieteellisten seurojen standardit ja suositukset
- Kudospankkistandardit
- Kudospankkien tekniset ja laatukäsikirjat
- Kudospankkitoimintaa koskeva eettinen periaatteisto (ethical code)

Tällä hetkellä tilanne Euroopassa on se, että on olemassa lukuisa joukko non-profit periaatteella toimivia kaupallisia kudospankkeja. Yleistäen voidaan sanoa, että ihmisperäisille materiaaleille ei ole asetettu toistaiseksi selkeitä käyttöindikaatioita. Monet yllä luetelluista periaatteista eivät toistaiseksi kunnolla toteudu, kuten jäljitettävyyseriaate eikä valtioiden välillä ole yksimielisyyttä, kuinka prosessia tai tekijöitä voitaisiin kontrolloida asianmukaisesti ja ennen kaikkea asiantuntevasti. Tämän tilanteen huomioon ottaen teknologian nopea kehitys antaa toiveikkuuden lisäksi myös paljon huolen aiheita.

Eettiset ja turvallisuuskysymykset

Ihmisperäisiä biomateriaaleja käsiteltäessä joudutaan tekemisiin aivan eri kertaluokkaa olevien eettisten kysymysten kanssa kuin muiden biomateriaalien kohdalla. Tärkeimmät biomateriaaleihin liittyvät *eettiset kysymykset* ovat seuraavat:

- 1 turvallisuus on ylivoimaisesti tärkein biomateriaaliin kuten kaikkeen muuhunkin hoitoon liittyvistä eettisistä kysymyksistä
- 2 materiaalin luovuttajan oikeudet
- 3 materiaalin vastaanottajan oikeudet
- 4 tasapuolisuuden turvaaminen esim. eri varallisuusluokista olevien tarvitsijoiden välillä
- 5 materiaalin alkuperän jäljitettävyyden ja toisaalta anonymiteetin varmistus
- 6 kaupalliset näkökohdat (ei-kaupallisuuden vaatimus, lähtömateriaalin luovuttajalle tulee korvata vain luovuttamiseen liittyvät kohtuulliset kulut, biomateriaalia tuottavan yrityksen tulee tyytyä non-profit –periaatteella toimintaan).

European body urges safeguards on human tissue use

Reuters World Report Tue, Jul 21, 1998 By Marcel Michelson

PARIS - A European ethics group on Tuesday proposed strict rules on the uses of human tissue as a way of preventing the spread through transplants of such conditions as Creutzfeldt-Jakob disease and AIDS.

The European Commission's Group of Advisers on the ethical implications of biotechnology proposed privacy and hygienic guidelines for tissue banks, which preserve skin, bone, cornea and other human material for later medical use. It also recommended the creation of a European Union hygiene security body to check and evaluate the use of tissue.

"We found that there are regulations for the use of organs and the use of blood, but there is a void concerning the use of human tissue," Noelle Lenoir, president of the group, told a news conference. Lenoir, a member of France's constitutional court and president of UNESCO's international bioethics committee, said the group thought tissue banks should not be run for a profit.

Tissue banks should be able to check, and would be responsible for verifying, the medical history of donors -- either alive or deceased -- and would have to guarantee the privacy of donors and patients. The donor, or the family of a dead donor, must give authorisation for the use of tissue, including after-birth and umbilical cords, the blood from which could be used to treat leukaemia and other blood cancers.

The hygiene checks are vital to avoid the spread of illnesses such as the debilitating Creutzfeldt-Jacob disease, which is the human equivalent of mad cow disease, or AIDS. Lenoir stressed the need for tests for Creutzfeldt-Jacob disease and said that while these could not be performed on the donor, they can be performed on tissue.

Creutzfeldt-Jacob is also at the heart of the mad cow disease scare with the risk that products of affected cows can transmit the disease to humans. Octavi Quintana Trias, a Spanish doctor who is vice-president of the group, said that more than a million patients a year received human tissue as part of their medical treatment.

Lenoir said that, if all tissue banks observed the same rules, a Europe-wide exchange in tissue supplies could be possible. The group's recommendations will be presented to the European Commission, the EU's Council of Ministers and the European Parliament. It is up to the Commission to turn it into a directive -- a European law.

Tärkein biomateriaalien käyttöön liittyvä kysymys on turvallisuus. Ihmisperäisten materiaalien kyseessä ollessa tärkeimmäksi asiaksi nousee sen asian varmistaminen, ettei humanoidustuotteita käytettäessä siirrettäisi vastaanottajalle jotakin luovuttajalla ollutta sairautta. Siirrettävien elinten ja verituotteiden osalta asia on säädelty pitkälti ainakin kansallisella tasolla vallitsevin säädöksin ja laeilla, mutta kun puhutaan humanoiduksesta raaka-aineena, ei humanoiduksen keräämistä ja käyttöä koskevia sääntöjä toistaiseksi riittävässä määrin ole olemassa. Ellei tähän saada pian korjausta, voi näiden tuotteiden käyttö muodostua terveysuhkaksi. Erityisuhkan muodostaa EU:n ulkopuolisista maista peräisin oleva lähtömateriaali, jonka kauppaa ja kuljetusta maasta toiseen ei toistaiseksi ole saatu riittävän kontrollin alaiseksi, alkuperän muusta varmistamisesta puhumattakaan.

Lisäksi tulevat muut varmistusaiheet, kuten mm se, että kudosten käytön ja prosessoinnin tulee tapahtua eettisesti hyväksyttävällä tavalla ja ns. GMP (good manufacture practise) –periaatteiden mukaan.

Todettuja eettisiä ongelmia

Luovuttajan suostumuksen puuttuminen

Kudoksen käytön tulee tapahtua *vapaaehtoisuuden pohjalla*, lupa kudoksen käyttöön tulee aina saada luovuttajalta sekä luovuttajan anonyymius tulee varmistaa. Useimmissa tapauksissa kyseeseen tulevat kudokset, joita kerätään kirurgisten poistotoimenpiteiden yhteydessä. Joissakin maissa kirurgeilla ei ole tapana kysyä minkäänlaista lupaa poistettujen kudosten edelleenkäytölle. Aivan viime aikoihin asti on vallinnut käsitys, ettei potilas enää omistaisi kudosta sen jälkeen, kun se on poistettu. (Gottlieb S: Call for better regulation of tissue products. BMJ 1998; 316:1928)

Lähtömateriaalin alkuperä tuntematon

Erityisesti ongelmia syntyy silloin, kun kudosten alkuperää ei tiedetä. Vaikka kudoksia tai kudostuotteita olisi monipuolisestikin testattu, ainoa tapa poissulkea sairausriski on *luovuttajan kliinisen taustan mahdollisimman tarkka tunteminen*. On välttämätöntä, että humanoidukseen liittyvä kliininen tieto kulkee kudoksen ja siitä tehdyn tuotteen mukana luovuttajalta vastaanottajalle saakka. Kaikkien kudoksen vaiheisiin liittyvien prosessien tulisi tapahtua julkisen kudospankkijärjestelmän valvonnassa. Tullilaitoksen tietojen mukaan Suomenkin rajoilta on käännytetty pois kuljetuksia, jotka ovat sisältäneet EU:n ulkopuolelta hankittuja, ilmeisen tuntemattoman taustan omaavia humanoidiperäisiä tuotteita

Kudoskauppa

Esimerkki

BMJ 1998;316:645 (28 February)

News

Tissue trade in Hungary is investigated

Carl Kovac, Budapest

A law suit by a Hungarian woman who alleges that tissue and bone were illegally removed from her dead mother's leg without her consent or that of her family has resulted in an investigation by police and customs officials.

In her suit, filed after the woman and her family discovered that part of her mother's leg had been amputated, she contends that a second necropsy had shown that the procedure was not medically necessary, and that the missing tissue and bone had been replaced by cloth rags and wood. The removals were not mentioned in the original necropsy report.

To date, police have confiscated 65 packages of human tissue from the Semmelweis Hospital in Miskolc, where the body was held. The packages were scheduled to be shipped by airfreight to a German firm near Nuremberg, Biodynamics International, which would then sell them to hospitals in Europe and the United States for research and medical use. The company sending the packages, Medic Consult Alapítvány, has contracts with two Hungarian hospitals and has been shipping tissue and body parts to Biodynamics since early last year. Medic Consult said it has received 10 million forints (approximately £2.9m) since 1995 for such exports. Investigators said that Biodynamics has received thousands of body parts from Semmelweis and four or five other hospitals, including some in Budapest, over the past two years.

"According to our investigations, organs have been removed from at least 139 bodies," reported István Solymosi, head of the Borsod County Police criminal investigation unit.

Dr Lajos Koleszár, the director of Semmelweis Hospital, said: "We've done nothing illegal. According to Hungarian law, hospitals may use part of the skin, bones, liver, heart, and kidneys for scientific research unless the person specifically asked the hospital not to do so."

Mahdollisia biologisperäisten biomateriaalien turvallisuusriskejä

Sairauksien välittyminen

Erilaisten tarttuvien tautien leviäminen biologisperäisestä tuotteesta vastaanottajaan voi tapahtua kahdella tavalla: infektio voi olla peräisin luovuttajalta tai tuote on infektoitunut käsittelyprosessin kuluessa. Molemmat luonnollisesti pyritään poissulkemaan käsittelyprosessien standardoinnilla ja GMP-käytännöillä. Todellisia luovuttajasta peräisin olevia taudinaiheuttajia on raportoitu lukuisia: HIV, CMV (sytomegalovirus), herpes simplex, EB-virus, rabies, Creutzfeldt-Jacobin tautia aiheuttavat prionit ja eri tyyppien hepatiittivirukset ja bakteerit. Nämä yleensä kuitenkin ovat olleet kuitenkin peräisin jostain tuotteen käsittelyvaiheesta, kuten sienet ja hiivat. Joisakin tapauksissa tunnetaan toksoplasmooisien, mykobakteriuminfektion, malarian, trypanosomiaasin ja strongyloidiaasin välittyminen. Suurin osa näistä kuitenkin koskee välittymistä elinsiirtojen välityksellä, mutta ilman asianmukaisia varotoimia niiden välittyminen myös kudospankkituotteiden välityksellä on mahdollinen (Gottesdiener 1989). Seuraavassa on esimerkinluonteisesti poimittu joitain tärkeimmistä kudospankkituotteisiin liittyvistä riskitekijöistä ja selvitetty, minkä tapaisten ongelmien kanssa kussakin tapauksessa ollaan tekemisissä.

CJD ja muut prionitaudit

Creutzfeldt-Jacobin taudin tai varianttityyppisen spongiformisen enkefalopatian on voitu kliinisesti todeta siirtyneen vastaanottajiin erilaisten humaniperäisten tuotteiden mukana, tällaisia ovat taudinkantajilta siirretyt allograftituotteet, kuten lyodura (Suomessakin myynnissä ollut kauppanimike) ja kornea), taudinkantajien kudoksista valmistetut tuotteet, kuten kasvuhormooni sekä myös verituotteet. Riski kehittää tämän sairauden varianttimuotoja liittyy periaatteessa mihin tahansa eläinkunnasta peräisin olevaan implantoitavaan tuotteeseen. Nautaeläinten BSE ja lampaiden scrapie ovat tämän ryhmän eläinsairauksista tunnetuimmat, mutta vastaava spongiforminen enkefalopatia on kuvattu myös peuroilla, hirvillä, minkeillä, kissoilla, ainakin viidellä erilaisella villieläinpuistossa tai eläintarhassa kasvatetulla antilooppilajilla (greater kudu, arabian oryx, eland, nyala, gemsbock) sekä laboratorio-olosuhteissa myös sialla. Lisäksi jo 1950-luvulla voitiin osoittaa ihmisillä todetun kuru-taudin olevan

siirrettävissä simpansseihin. On ilmeistä että taudin aiheuttavana tekijänä tunnettu, mutaation seurauksena modifioitunut prioniproteiini voi periaatteessa siirtyä mille tahansa eläimelle esim. teurasjätteillä ruokinnan kautta ja niistä peräisin olevien tuotteiden kautta myös ihmiseen. Myös taudinaiheuttajan siirtyminen vahingossa esim. ihonaarmujen kautta on mahdollinen esim. teurasjätteitä käsiteltäessä, mutta esim. maatalous- tai teurastamotyöntekijöillä ei ole havaittu sen suurempaa CJD esiintyvyyttä kuin muillakaan.

Taudinaiheuttajan luotettava biokemiallinen toteaminen ja eliminointi on osoittautunut erittäin hankalaksi. Periaatteessa on olemassa koettimia (esim. PrP Monoklonaalinen PrP-vasta-aine 3F4), joilla prioniproteiini voidaan tunnistaa potilasdiagnostiikassa (esim. tonsillabiospiasta), mutta kun on kyse biologisen materiaalin prionivapauden testaamisesta, menetelmän epäherkkyydestä johtuen minkäänlaista varmuutta tuotteen prioninegatiivisuudesta tällaisella testauksella ei voida saavuttaa. Voidaan myös suorittaa bioassay, jossa testattavaa tuotetta istutetaan esim. hiiren aivoihin ja katsotaan riittävän pitkän ajan kuluttua, syntykö spongiforminen enkefalopatia. Tämä menetelmä on herkkä, mutta erittäin aikaavievä ja samalla kallis. Lisäksi luotettavuuden edellytys on että *jokainen* tuote-erä erikseen testataan. (Aguzzi, henk.koht. tiedonanto 1997). Lisäksi tulee tuntea luovuttajan perusteellinen sairaushistoria riittävän pitkältä ajalta, oli sitten kyse ihmis- tai eläin alkuperäisestä tuotteesta. Ihmisperäisissä tuotteissa viimeksi mainittu on usein suhteellisen luotettavasti, mutta ei täysin varmasti selvitettävissä. Eläinkunnan tuotteiden kysessä ollessa asia on vaikeampi, varsinkin jos käytetään teurastamoista hankittua materiaalia. Joidenkin CJD/BSE asiantuntijoiden mukaan Euroopassa ei tällä hetkellä ole yhtään sellaista maata, jonka eläimistä peräisin olevia kudospaaleja voitaisiin käyttää täysin turvallisesti (Aguzzi, Brown, Taylor henk. koht. tiedonannot 1997).

Mainittakoon tässä yhteydessä, että 80%:lla CJD:een sairastuneista ei todeta PrP-prionigeenissä minkäänlaista mutaatiota eikä heillä ole tautiin aikaisemmin sairastuneita sukulaisia ja näitä tapauksia pidetään tautiin sporadisesti sairastuneina. CJD sairaudesta tunnetaan myös familiaalinen muoto, jossa PRNP-geeniin liittyy pistemutaatio kodonissa no200 (E200K). tällaisen sairauden esiintymiä on Chilessä, Slovakiassa, Libyan juutalaisten keskuudessa Israelissa sekä Calabriassa Italiassa. Huolestuttavin asia humaaniperäisen kudospaalein hankinnan kannalta on se, että E200K-mutaation penetranssi vaihtelee ja suurin osa tämän mutaation kantajista on tutkimishetkellä ollut terveitä, kun todennäköisyys sairastua CJDhen heillä kuitenkin on 60% luokkaa vaihdellen jossakin määrin alueellisesti. Toinen familiaalinen PrP-geenin mutaatio (kodonissa 178) aiheuttaa familiaalisen fataalin insomni -sairauden.

HIV

HI-virus voi tarttua esim. pankkiluun kautta, mikäli potilaiden tausta näiltä osin ei ole asianmukaisesti selvitetty. Erään tutkimuksen mukaan (Buck et al. 1989) mahdollisuus saada luunsiirre HI-viruksen infektoimelta luovuttajalta on häviävän pieni (alle 1:1 milj.), jos käytetään luovuttajakriteerien määrittelyssä ankan valinnan ja poissulun periaatetta, HI-viruksen ja vasta-aineen systemaattista määrittystä sekä luovutettujen kudosten histopatologista tutkimista. Toisaalta ilman tällaisten varotoimenpiteiden noudattamista riski saattaa olla jopa niinkin korkea kuin 1:160 (Buck et al. 1989). Pelkillä kudoksen prosessointitoimilla kuten luuytimen poistolla luupankkituotteista tai tuotteiden sädetyksellä ei pystytä HIV välittymisen riskiä poistamaan (Nemzek et al 1996, Hernigou et al 1998).

CMV

Sytomegaloviruksen on raportoitu levinneen mm. palovamman hoitoon käytetyn pankki-ihon välityksellä (Kealey et al 1996)

Hepatiitit

Eri tyyppien hepatiitteja on kuvattu lähinnä elinsiirtopotilailta, mutta myös kudospankkituotteiden yhteydessä (Corbi et al. 1997). Standardien mukaisten kudospankkivarotoimien vallitessa eri hepatiittityyppien välittymisriski on kuitenkin häviävän pieni (Aho et al. 1998, Thijssen et al. 1993)

Zonoosit

Zonoosiriskit ovat ilmeisiä, kun käytetään eläinperäisiä tuotteita. Kaksi aihetta nousee tällöin erityisesti esiin, hyvin tavalliseksi käynyt, tilapäisten xenograftien käyttö (esim. palovammojen hoidossa) sekä toisaalta uusiin kudosteknologioihin yleistyvästi liittyvät transgeeniset tekniikat (esim. jonkin tuotteen valmistuksen välivaiheena). Seuraavaavassa kappaleessa on kuvattu ainakin osa niistä ongelmista joita tässä yhteydessä tulisi ottaa huomioon.

Zonoosiriskit transgeenisissä tekniikoissa

Transgeenisten eläinten käyttö ihmiselle tarpeellisten terapeuttisten tuotteiden tuottamistekniikkana on varsin houkutteleva ja tulee lähivuosina yleistymään. Periaatteena on siirtää ihmiseltä tarvittavaa tuotetta koodaava geeni eläimeen ja sen jälkeen joko käyttää transgeenisen eläimen tuottamaa tuotetta lääkkeenä tai siirtää transgeenistä kudosta takaisin ihmiseen –xenogeenisena siirteenä - toteuttamaan toivottua tuotantotehtävää (esim. tuottamaan jotakin entsyymiä tai muuta proteiinia). Tällöin nousee riskitekijänä esille zonoosien mahdollisuus, erilaisten eläimelle tyypillisten virusten mahdollinen osuus taudinaiheuttajina vastaanottajaelimistöissä. Periaatteessa voisi ajatella, että ihminen esim sian kanssa tapahtuneen rinnakkaiselon aikana olisi altistunut kaikille mahdollisille ko eläimen taudinaiheuttajille. Kuitenkin tuon humaanituotteen ihmiselimistöissä aikaansaamiseksi tarvittava xenotransplantaatio aiheuttaa useita ongelmia. Ensinnäkin normaalit fysikaaliset barrierit ylitetään tällaisessa transplantaatiossa. Toiseksi, tarvittava immunosuppressio auttaa eläinperäisten virusten asettumista uuteen isäntäelimiinsä. Kolmanneksi, prosessin alkuvaiheessa tapahtunut ihmisen geenien siirto transgeeniseksi tehtyyn eläimeen saattaa edesauttaa eläinviruksia edeltäkin adaptoitumaan humaaniinfektiota aiheuttaviksi. Monet eläinvirukset eivät itse ko eläimissä aiheuta minkäänlaista sairautta, mutta tällä tavoin ihmiseen siirrettynä saattavat olla kohtalokkaita. Tämä merkitsee sitä, että edes eläimen sairaushistoriasta ei voida tehdä kunnollisia johtopäätöksiä, sen suhteen, onko tällainen toiminta ihmisen kannalta turvallista. Esimerkkejä tällaisista eläinviruksista ovat mm sian kalikivirus, joka on läheistä sukua ihmisen hepatiitti E virukselle, tai macaca-äpinoitten herpesvirus B, joka ko eläimille aiheuttaa vain haavaumia, mutta ihmiselle fataalin enkefaliitin. Periaatteessa eläimiä voidaan näissä yhteyksissä modifioida geneettisesti siten, ettei merkittävää rejektiota ihmisessä syntyisi elimen tai solukon takaisin siirron yhteydessä, mutta myös tämä voi altistaa ihmisen eläimen viruksien aiheuttamille sairauksille entistä helpommin. Myös suunnitellut ko eläimen soluissa ekspressoitavat humaaniproteiinit itsessään voivat yllättäen toimia reseptoreina viruksille. Esim. CD55 on ihmisen myokardiittia aiheuttavien Cocksackie B ja ECHO virusten reseptori. CD46 voi toimia tuhkarokkoviruksen reseptorina ja on mahdollista, että sille sukua olevat eläinten morbillivirukset (kuten distemper ja rinderpest virukset voisivat edeltäkin adaptoitua transgeenisissä, ko proteiinia tuottavissa eläimissä aiheuttamaan humaani-infektion. Jotkut virukset ovat ilman edelläkuvattuja modifikaatioitakin kykeneviä toimimaan taudinaiheuttajina useissa eri lajeissa, mm morbillivirusten on todettu siirtyneen lepakosta hevosiin tai sikoihin ja edelleen ihmisiin. Transgeenisten tekniikoiden ilmeisenä vaarana on alunperin sinänsä vaarattomien

eläinvirusten tahaton muunto vaaralliseksi tarjoamalla tahattomasti niille sopivia humaanireseptoreita "tuotteen" valmistusvaiheessa. Toinen transgeenisten tekniikoiden vaara, joka liittyy virusten lipidikuoren muodostamisominaisuuteen. Siirtyessään (eläin)solun sisään viruksen ympärille muodostuu lipidikuori. Solun ollessa siirrettynä uuteen (humaani)ympäristöön voi käydä niin, ettei ihmisen komplementtijärjestelmä kykene inaktivoimaan tällaisella "vääränlaisella" kuorella varustettuja viruksia normaalilla tavalla. Herää siis kysymys, mikä voisi olla keino torjua mahdollisia virusinfektioita tilanteessa, jossa alunperin humaanialkuperäistä materiaalia (DNA/geeni) on käytetty tuottamaan eläimen kudostuotteissa haluttuja kudostuotteita (esim. hormooni tai entsyymi) ja tämä hyödyllinen ominaisuus (transgeenisen kudoksen takaisin ihmiseen siirtämisen muodossa) halutaan hyödyntää. Tunnettujen virusten lisäksi olisi pystyttävä ottamaan huomioon sellaiset, joita ei vielä tunneta. Edelleen eläinten (esim. sika) genomiin sisältyy retroviruksen tyyppisiä, normaalisti periytyviä sekvenssejä, joita ei millään keinolla pystytä poistamaan. Tällaiset viraaliset sekvenssit ko solujen DNAssa voivat periaatteessa aktivoitua tuottamaan infektiöosetta viruksia, jotka ovat läheistä sukua leukemiaviruksille ja periaatteessa ovat myös HI-viruksille sukua. Kokeellisesti onkin osoitettu sian tämäntyyppisten retrovirusten pystyvän infektoimaan soluviljelmässä kasvatettuja humaanisoluja (Le Tissier et al. 1997, Wilson et al. 1998). Pelottavinta tässä on se, että tuollaisia retroviruksia tuottavat aivan normaalit terveiden sikojen lymfosyytit ja endoteelisolut. Näiden havaintojen johdosta, jotkut asiantuntijat ovat olleet valmiita kokonaan toistaiseksi julistamaan pannaan tekniikat, joissa ihmiseläimistöön siirretään eläinkudoksia tai soluja, kunnes varmasti tiedetään voivatko eläinperäiset virukset todella infektoida ja aiheuttaa ihmiselle sairastumisen (Bach et al. 1998). Kliinisissä xenotransplantaatiokokeissa, joita on tähän mennessä tehty sian Langerhansin solusaarekesiirteillä tai aivosoluilla (ilman mitään kuvaturkultaista transgeenitekniikkaa) sekä dialyysipotilailla, joiden dialyysiletkuusto oli tilapäisesti yhdistetty sian munuaisiin ekstrakorporealisesti, ei ole osoitettu viitteitä retrovirusinfektioista (Heineine et al 1998, Patience et al 1998). Tällaisissa tapauksissa joudutaan punnitsemaan vastakkain riski, joka on saada eläinperäinen virusinfektio ja kuolemanvaara, joka aiheutuu itse sairaudesta ja siitä, ettei mahdollisesti muita hoitokeinoja siihen tunneta. Lisäksi joudutaan ottamaan huomioon mahdollinen yleiselle terveystilanteelle aiheutunut riski, lähinnä vaara aiheuttaa jokin aikaisemmin ihmisessä tuntematon, epidemiana leviävä sairaus. Iso-Britanniassa on näiden vaarojen tiedostamisen johdosta asetettu kontrollielimeksi xenotransplantaatiota varten UK Xenotransplantation Interim Regulatory Authority sekä USAssa FDA on hiljattain päättänyt että xenotransplantaatiota edellyttävissä kliinisissä kokeiluissa ei harkinta- ja päätöksentekovaltaa voida enää jättää paikallisille eettisille komiteoille. Lisäksi on aloitettu valmistelut uusien ohjeistojen laatimiseksi. Ilmeiseksi on käynyt, että xenotransplantaatiopotilaat tai ylipäättänsä xenogeenisiä tuotteita saaneet tarvitsevat pitkäaikaisseuranta, mikä kuitenkin aiheuttaa lisää eettisiä ongelmia. Potilasta ei voitane velvoittaa antamaan sellaista täydellistä informaatiota tilastaan, minkä perusteella vasta olisi pääteltävissä, onko hän mahdollisesti kehittänyt zoonosin. Myöskin on epäselvää, kuinka kontaktit potilaan ja lääkärin kesken pitäisi järjestää.mahdollisesti tällöin esim kirurgien tulisi omata nykyistä huomattavasti paremmat tiedot esim. seksuaalisesti välittyvistä sairauksista (jollaisia nuo pelätyt uudet sairaudet esim. saattaisivat olla). Lääketieteellisenä toimenpiteenä xenotransplantaatio saattaa hyödyttää yksittäisiä potilaita, mutta samalla muodostaa riskitekijän koko yhteisölle. Kuitenkaan tämä ongelma ei välttämättä poikkea kovin paljoa siitä, minkä kanssa joudutaan tekemisiin esim. aivan tavallisen antibiootihoidon kanssa: välittömän hyödyn hintana on pitkäaikaishaitta (antibiootiresistenttien kantojen vähittäinen syntyminen). Periaatteessa tällaisten xenotransplantaatioita välivaiheena käyttävien tissue engineering tekniikoiden haittoja voitaneen parhaiten vähentää käyttämällä sellaisia tekniikoita, joissa mahdollisimman paljon turvaututaan allogeenisiin ja vielä mieluummin autogeenisiin lähtömateriaaleihin sekä niiden kehittelyyn esim. kloonaustekniikoita käyttäen. Kuitenkin toimivat kliiniset sovellukset näin ovat

mahdollisesti vielä kauempana kuin xenogeenisiä tekniikoita ja välivaiheita hyödyntävillä tekniikoilla.
(Weiss 1998)

Immunologiset riskitekijät ja niiden ehkäiseminen

Xenograftiperäisillä materiaaleilla tuotteen immunologisperäinen tuhoutuminen voi tapahtua kolmella tavalla: *hyperakuutin, akuutin tai soluvälitteisen hylkimisreaktion* pohjalta. *Humaanialkuperää* olevilla materiaaleilla tällainen riski on vähäisempi ongelma kuin xenograftiperäisillä materiaaleilla. *Hyperakuutti ja akuutti rejektio* ei yleensä ole suuri ongelma, solu- ja kudostuotteissa, joiden mukana ei siirretä vastaanottajalle intaktia verisuonitusta. Tällaisia sovelluksia voivat olla esim. insuliinia tuottavat haiman saarekesolukonstruktit tai neurotrooppisia tekijöitä tuottavan fetaaalin aivokudoksen käyttö Parkinsonin taudin tai Huntingtonin chorean hoitoon. *Soluvälitteisessä rejektiossa* kyseessä on HLA epäsojivuudesta aiheutuva reaktio, jossa siirrettyjen solujen pinnassa olevien antigeenien vierasperäisyys tulee tunnistetuksi ja solut joutuvat spesifisten sytotoksisten T-lymfosyyttien hyökkäyksen kohteeksi. Tämä on "de novo" immuunireaktio, jossa rejektio alkaa 1-2 viikkoa transplantaation jälkeen. Allograftien ja muiden humaaniperäisten soluja sisältävien tuotteiden kyseessä ollessa tämä reaktio voidaan osittain ehkäistä immunosuppressiivisilla lääkkeillä, kuten steroideilla tai syklosporiini A:lla. Jotkut tavalliset virukset, kuten cytomegalovirus, säilyvät ihmiselimistössä koko eliniän ollen tänä aikana T-solu immuniteetin valvomina. Humaaniperäisissä tuotteissa nämä virukset voivat siirtyä tuotteiden mukana ja immunosuppressoituilla vastaanottajilla tai AIDS potilailla nämä virukset voivat osoittautua letaaleiksi. Profylaktinen antiviraalinen hoito voi auttaa näiden riskien kontrolloinnissa, mutta ei ole olemassa minkäänlaista tietoa esim. siitä, kuinka kauan tällainen profylaksia olisi välttämätöntä.

Immunologisten haittojen ehkäisemiseksi on olemassa periaatteessa kaksi toimintastrategiaa allogeenisia ja xenogeenisiä solu- ja kudoselementtejä käytettäessä: immunomodulaatio ja immunoisolaatio. Edellisellä tarkoitetaan immuunijärjestelmään puuttumista esim. lääkkeiden avulla, jälkimmäisessä hyödynnetään (esim soluterapian yhteydessä) puoliläpäisevien kalvojen käyttöä ja kapselointitekniikoita.

Yhteenveto ihmisperäisistä biomateriaaleista

Ihmiskudoksilla ja soluilla sekä erilaisilla niistä johdetuilla tuotteilla on viimeaikaisen kehityksen perusteella arvioiden nopeasti lisääntyvä merkitys lääketieteessä ja biologiassa. Biologisperäiset tuotteet voidaan luokitella monin eri tavoin. Tässä artikkelissa pääjaotteluna on vanhat ja uudet biologisperäiset tuotteet käsittelyn painopisteen ollessa tarkoituksellisesti lähes kokonaan uusimman bioteknologian tuotteissa ja osittain nyt vielä tutkijoiden ajatusasolla olevissa, mutta jo aivan lähitulevaisuudessa käytännön toteutustasolla olevissa asioissa..

Tuoreiden tai kudospankissa säilytettyjen elinten ja kudosten sekä varsinkin veren ja sen johdannaistuotteiden käytöstä siirteenä erilaisiin tarkoituksiin on jo vuosikymmenien kokemukset ja suurelta osin vakiintuneet standardit ja käytännöt. Samoin voidaan sanoa erilaisista ihmiskudospersäisistä bioproteeseista. Toisin on laita uuden bioteknologian mahdollistamien hoitomuotojen suhteen. Näistä erityisesti soluterapiat, kudosteknologia ja geeniterapiat ovat kehittyneet erittäin nopeasti kokeelliselta tasolta kliinisiin kokeiluihin. Teknologia on mahdollistanut siinä määrin perusteellisen tekniikoiden yhdistelyn, että esitetty uusien tekniikoiden jaottelu on jo heti syntyessään vanhentunut. Uusi bioteknologia on tieteiden välistä ja uusien biomateriaalien kehittäminen tarvitsee tavallisesti usean erikoisalan osaamista.

Erytisesti geeniterapian alueella on pystytty luomaan myös käytännössä toimivia periaatteita ja tätä aihepiiriä on käsitelty muita uuden teknologian alueita enemmän sen tarjoaman, myös muilla alueilla noudattamisen arvoisen käytännön vuoksi. Tällä tarkoitetaan erityisesti Yhdysvalloissa vallitsevaa protokollien julkisuuden ja jatkuvan päivityksen vaatimusta, joka tarjoaa tutkijamaailmassakin ainutlaatuisen tilaisuuden koko tutkijayhteisön osallistumiseen kehittämisen- ja evaluaatioprosessiin sekä pahimpien haittojen jo ennalta tapahtuvan havaitsemisen ja ehkäisyn mahdollisuuden. Tällainen tietojen vaihto ja vaaratilanteiden systemaattinen kerääminen on täydellinen vastakohta muuten niin yleisen kaupallisuuden ja patenttisalaisuuksien sanelemalle peittelylle ja niistä johtuville haitoille.

Tuotteille asetettujen vaatimusten suhteen erityisesti biologiset sopivuustekijät ja turvallisuusriskit ovat saaneet erityishuomion, samoin kuin kentän monimuotoisuuden ja dynaamisen tieteidenvälisyyden aiheuttamat ongelmat lainsäädäntö- ja valvontatyössä. Biologisalkuperäisiin tuotteisiin liittyviä eettisiä periaatteita on käsitelty muistaen, että niistä ylivoimaisesti tärkein on turvallisuus kuten muidenkin biomateriaalien suhteen on laita.

Uusien teknologioiden tarjoamat hoitomuodot ovat useimmiten pyrkimyksiä vastata todelliseen tarpeeseen ja tämä lienee pääsyitä siihen, miksi tungos bioteknologisille tutkimus- ja tuotantoaloille on nykyään niin voimakasta. Toistaiseksi useimmat kehitteillä olevista menetelmistä ovat pikemminkin vielä valmistelutasolla olevia ideoita kuin varsinaisia hoitomuotoja hoitokokeilujen vaikuttavuuden jäädessä useimmiten varsin vaatimattomaksi. Toistaiseksi nämä menetelmät ovat myös huippukalliita eivätkä sen vuoksi sovellu vielä pitkään aikaan valtamenetelmiksi.

Kirjallisuutta

- Aguzzi A, Collinge J. Post-exposure prophylaxis after accidental prion inoculation. *Lancet* 1997; **350**: 1519-20
- Aho AJ, Hirn M, Aro HT, Heikkila JT, Meurman O: Bone bank service in Finland. Experience of bacteriologic, serologic and clinical results of the Turku Bone Bank 1972-1995. *Acta Orthop Scand* 1998, 69(6):559-65
- Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD (eds): *Molecular biology of the cell*. Garland Publishing Inc, New York, 1994.
- Alden TD, Hankins GR, Beres EJ, Kallmes DF, Helm GA: Bone morphogenetic protein gene therapy for the induction of spinal arthrodesis. *Neurosurgical Focus* Vol 4, Number 2, 1998. http://www.neurosurgery.org/journals/online_j/feb98/4-2-12.html
- Allan B, Tuft S: Transmission of Creutzfeldt-Jakob disease in corneal grafts. *BMJ* 1997; 315: 1553-1554
- August JT, Coyle J, Anders MW: *Gene therapy*. Academic Press Inc, 1997
- Ausubel FM, Brent R, Kingston R, Moore D: *Short Protocols in Molecular Biology*. John Wiley & Sons, 1995
- Barry MA, Johnston SA: Production of monoclonal antibodies by genetic immunization. *Biotechniques* 1994; 16 : 616-618
- Bramson JL, Graham FL, Gauldie J: The use of adenoviral vectors for gene therapy and gene transfer *in vivo*. *Curr Opin Biotechnol* 1995; 6: 590-595
- Brenner MK: Human somatic gene therapy: progress and problems. *J Intern Med* 1995; 237: 229-239
- Brown P, Preece MA, Will RG. "Friendly fire" in medicine: hormones, homografts, and CJD disease. *Lancet* 1992; **340**: 24-27
- Buck BE, Malinin TI, Brown MD: Bone transplantation and human immunodeficiency virus. An estimate of risk of acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Clin Orthop* 1989, 240:129-36
- Campbell MK: *Biochemistry*. Saunders, 1995.
- Caplan AI, Bruder SP: Cell and molecular engineering of bone regeneration. In Lanza RP, Langer R, Chick WL (eds): *Principles of tissue engineering*. Landes Bioscience 1997, pp. 603-618
- Celeste AJ, Iannazzi JA, Taylor RC, Hewick RM, Rosen V, Wang EA, Wozney JM (1990): Identification of transforming growth factor beta family members present in bone-inductive protein purified from bovine bone. *Proc Natl Acad Sci USA* 87(24): 9843-9847
- Celeste AJ, Wozney JM (1994): BMP-11 compositions. Genetics Inst Inc. ID patent fast alert: 1994, WO-09426892 (9448); (Accessed 5 Aug 1997)
- Celis JE (ed): *Cell biology. A laboratory handbook*. Academic Press Inc., 1997

- Chang TMS: Red blood cell substitutes based on modified hemoglobin. In Lanza RP, Langer R, Chick WL (eds): Principles of tissue engineering. Landes Bioscience 1997, pp. 517-526
- Charette MF, Rutherford B: Regeneration of dentin. In Lanza RP, Langer R, Chick WL (eds): Principles of tissue engineering. Landes Bioscience 1997, pp.727-734
- Chen U: Lymphocyte engineering, its status of art and its future. In Lanza RP, Langer R, Chick WL (eds): Principles of tissue engineering. Landes Bioscience 1997, pp. 527-561
- Clark RAF: Wound repair: lessons for tissue engineering. In Lanza RP, Langer R, Chick WL (eds): Principles of tissue engineering. Landes Bioscience 1997, pp.737-768
- Cohen-Haguenaer O: Overview of regulation of gene therapy in Europe: a current statement including reference to US regulation. *Hum Gene Ther* 1995; 6 : 773-785
- Cohen-Haguenaer O: Safety and regulation at the leading edge of biomedical biotechnology. *Curr Opin Biotechnol* 1996; 7: 265-272
- Cole PA: Chaperone-assisted protein expression. *Structure* 1996; 4: 239-242
- Coovert DD, Burghes AHM: Gene therapy for muscle diseases. *Curr Opin Neurol* 1994; 7: 463-470
- Corbi C, Traineau R, Esperou H, Ravera N, Portelet E, Benbunan M, Gluckman E, Loiseau P: Prevalence and clinical features of hepatitis G virus infection in bone marrow allograft recipients. *Bone Marrow Transplant* 1997, 20(11):965-8
- D'Alessandro et al.: High incidence of Creutzfeldt-Jacob disease in rural Calabria, Italy. *Lancet* 1998; 352 (9145): 1989
- Danko I, Fritz JD, Jiao S, Hogan K, Latendresse JS, Wolff JA: Pharmacological enhancement of *in vivo* foreign gene expression in muscle. *Gene Ther* 1994; 1: 114-121
- Davis HL, Michel ML, Whalen RG: Use of plasmid DNA for direct gene transfer and immunization. *Ann NY Acad Sci.* 1995; 772: 21-9
- Davis HL, Whalen RG, Demeneix BA: Direct gene transfer into skeletal muscle *in vivo*: factors affecting efficiency of transfer and stability of expression. *Hum Gene Ther* 1993; 4: 151-159
- Dyer C: Trial begins into victims of CJD growth hormone. *BMJ.* 1996; 312(7038):1057
- Eckart MR, Bussineau CM: Quality and authenticity of heterologous proteins synthesized in yeast. *Curr Opin Biotechnol* 1996; 7: 525-530
- Eltermann J*: Regulatory and CGMP considerations for gene therapy facilities. Division of Establishment Licencing, CBER/FDA. Forum'96: Gene Therapy, <http://www.fda.gov/cber/summaries/gtfor96.pdf> , 1996
- Esber EC*: International regulatory considerations, export and import issues. Forum'96: Gene Therapy, <http://www.fda.gov/cber/summaries/gtfor96.pdf> , 1996
- Etablissement Francais des Greffes: Meeting on Tissue and Cell Allografts Regulation in Europe. Ministere charge de la Sante, Paris, 8 June 1998

Evans CH, Robbins PD: Pathways to gene therapy in rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 1996; 8: 230-234

Fang J, Zhu YY, Smiley E, Bonadio J, Rouleau JP, Goldstein SA, McCauley LK, Davidson BL, Roessler BJ (1996): Stimulation of new bone formation by direct transfer of osteogenic plasmid genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996, 93(12): 5753-5758

Forni G, Foa R, Santoni A (eds.): Cytokine-induced tumor immunogenicity; from exogenous molecules to gene therapy. Academic Press Inc, 1994

Freed LE, Vunjak-Novakovic G: Tissue culture bioreactors: chondrogenesis as a model system. In Lanza RP, Langer R, Chick WL (eds): Principles of tissue engineering. Landes Bioscience 1997 ,pp. 151-165

Friedmann T: The promise and overpromise of human gene therapy. *Gene Ther* 1994; 1: 217-218

Geissler EK, Wang J, Fechner JH , Jr, Burlingham WJ, Knechtle SJ: Immunity to MHC class I antigen after direct DNA transfer into skeletal muscle. *J Immunol* 1994; 152: 413-421

Gibbs DJ Jr, Amyx HL, Bacote A, Masters C, Gajdusek DC. Oral transmission of kuru, Creutzfeldt-Jakob disease, and scrapie to nonhuman primates. *J Infect Dis* 1980; 142: 205-08

Gitelman SE, Kobrin MS, Ye JQ, Lopez AR, Lee A, Derynck R: Recombinant Vgr-1/BMP-6-expressing tumors induce fibrosis and endochondral bone formation in vivo. *J Cell Biol* 1994; 126: 1595-1609

Gottesdiener KM: Transplanted infections: donor-to-host transmission with the allograft. *Ann Intern Med.* 1989, 110(12):1001-16

Gottlieb S: Call for better regulation of tissue products. *BMJ* 1998; 316:1928

Goulet F, Germain L, Rancourt D, Caron C, Normand A, Auger FA: Tendons and ligaments. In Lanza RP, Langer R, Chick WL (eds): Principles of tissue engineering. Landes Bioscience 1997, pp. 633-644

Hazama M, Aono A, Ueno N, Fujisawa Y: Efficient expression of a heterodimer of bone morphogenetic protein subunits using a baculovirus expression system. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 209: 859-866

Herman WA, Marlowe DE, Rudolph H: Future trends in medical device technology: results of an expert survey. Center for Devices and Radiological Health, 12725 Twinbrook Parkway, Rockville, MD 20852, April 8, 1998 Accessed 3 July 1998

Hernigou P, Marinello G, Dormont D: [Influence of irradiation on the risk of HIV virus transmission by bone allograft]. *Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot* 1998, 84(6):493-500

Hino J, Takao M, Takeshita N, Konno Y, Nishizawa T, Matsuo H, Kangawa K: cDNA cloning and genomic structure of human bone morphogenetic protein-3B (BMP-3b). *Biochem Biophys Res Commun.* 1996; 223: 304-310

Humes DH: Application of cell and gene therapies in the tissue engineering of renal replacement

devices. In Lanza RP, Langer R, Chick WL (eds): Principles of tissue engineering. Landes Bioscience 1997, pp. 577-589

Ikada Y: Tissue engineering in Kyoto. Int Symp Tissue Engineering, Kyoto 20-21 Oct, 1998

Jauregui HO, Mullon CJ-P, Solomon BA: Extracorporeal artificial liver support. In Lanza RP, Langer R, Chick WL (eds): Principles of tissue engineering. Landes Bioscience 1997, pp. 463-479

Jiao S, Williams P, Berg RK, Hodgeman BA, Liu I, Repetto G, Wolff JA: Direct gene transfer into nonhuman primate myofibers in vivo. Hum Gene Ther 1992; 3: 21-33

Johnson EE, Urist MR, Finerman GA: Bone morphogenetic protein augmentation grafting of resistant femoral nonunions. A preliminary report. Clin Orthop 230: 257-65, 1988

Johnson EE, Urist MR: One-stage lengthening of femoral nonunion augmented with human bone morphogenetic protein. Clin Orthop 347:105-116, 1998

Johnson EE, Urist MR: Distal metaphyseal tibial nonunions associated with significant bowing deformity and cortical bone loss: treatment with human bone morphogenetic protein (h-BMP) and internal fixation. Nippon Seikeigeka Gakkai Zasshi. 63(5): 613-20, 1989

Kawamata T, Charette MF, Finkelstein SP (1997): Osteogenic protein-1 accelerates the rate and extent of motor skill recovery following focal cerebral infarction. Proc 2nd Int Conf on Bone Morphogenetic Proteins, June 4-8, 1997, Sacramento, California, p. 127, 1997

Kealey GP, Aguiar J, Lewis RW 2nd, Rosenquist MD, Strauss RG, Bale JF Jr: Cadaver skin allografts and transmission of human cytomegalovirus to burn patients. J Am Coll Surg 1996, 182(3):201-5

Kessinger A, Sharp JG: Tissue engineering of the hematopoietic stem cell. In Lanza RP, Langer R, Chick WL (eds): Principles of tissue engineering. Landes Bioscience 1997, pp. 563-573

Kessler DA, Siegel JP, Nogushi PD, Zoon KC, Feiden KL, Woodcock J: Regulation of somatic-cell therapy and gene therapy by the Food and Drug Administration. N Engl J Med 1993; 329: 1169-1173

Lanza RP, Chick WL: Endocrinology: pancreas. In Lanza RP, Langer R, Chick WL (eds): Principles of tissue engineering. Landes Bioscience 1997, pp.405-425

Ledley FD: Non-viral gene therapy. Curr Opin Biotechnol 1994; 5:626-636

Ledley FD: Pharmacokinetic considerations in the use of genes as pharmaceuticals. In Wolff JA (ed): Direct gene therapy. New York: Birkhauser. 1994; 235-244

Lewin: Genes VI. Oxford University Press, 1998.

Lewis R: Tissue engineering now coming into its own as a scientific field. The Scientist 1995 9 (15): 12

Lin H, Parmacek MS, Morle G, Bolling S, Leiden JM: Expression of recombinant genes in myocardium in vivo after direct injection of DNA. Circulation 1990; 82: 2217-2221

Loty B: Tissue allografts regulation in Europe. A review of expectations, perspectives. In:

Etablissement francais des greffes (ed): Proceedings of the Meeting on Tissue and Cell Allografts Regulation in Europe. Ministere charge de la Sante, Paris, 8 June 1998 (unpublished)

Love JW: Cardiac prostheses. In Lanza RP, Langer R, Chick WL (eds): Principles of tissue engineering. Landes Bioscience 1997, pp.365-379

Lunel J: Biotechnology regulations and guidelines in Europe. *Curr Opin Biotechnol* 1995; 6: 267-272

Madigan MT, Martinko JM, Parker J: Brock biology of microorganisms. Prentice-Hall Inc., 1997.

Manthorpe M, Cornefert-Jensen F, Hartikka J, Felgner J, Rundell A, Margalith M, Dwarki V: Gene therapy by intramuscular injection of plasmid DNA: Studies on firefly luciferase gene expression in mice. *Hum Gene Ther* 1993; 4: 419-431

Maruoka Y, Oida S, Imura T, Takeda K, Asahina I, Enomoto, Sasaki S: Production of functional human bone morphogenetic protein-2 using a baculovirus/Sf-9 insect cell system. *Biochem Mol Biol Int* 1995; 35: 957-963

Matsuda T: Cardiovascular tissue engineering. *Int Symp Tissue Engineering*, Kyoto 20-21 Oct, 1998

Maxwell A: EU discussion on regulating devices containing human tissues becomes embroiled in ethics, definitions and scope. *PJB Publications Ltd. Clinica* 812 June 15th, 1998

McPherron AC, Lawler AM, Lee SJ: Novel members of the transforming growth factor- β (TGF- β) superfamily. *Proc 2nd Int Conf on Bone Morphogenetic Proteins*, June 4-8, 1997, Sacramento, California, p.7

McPherron AC, Lee SJ: Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 12457-12461, 1997

Miller J, Altschuler R, Henny GC: Hearing assistance. In Lanza RP, Langer R, Chick WL (eds): Principles of tissue engineering. Landes Bioscience 1997, pp.663-670

Miller NA, Béné MC, Ambrosini P, Penaud J, Faure GC: Tissue engineering: periodontal applications. In Lanza RP, Langer R, Chick WL (eds): Principles of tissue engineering. Landes Bioscience 1997, pp. 709-725

Montgomery DL, Donnelly JJ, Shiver JW, Liu MA, Ulmer JB: Protein expression in vivo by injection of polynucleotides. *Curr Opin Biotechnol* 1994; 5: 505-510

Montgomery DL, Shiver JW, Leander KR, Perry HC, Friedman A, Martinez D, Ulmer JB, Donnelly JJ, Liu MA: Heterologous and homologous protection against influenza A by DNA vaccination: Optimization of DNA vectors. *DNA Cell Biol* 1993; 12: 777-783

Mooney DJ, Kim B-S, Vacanti JP, Langer R, atala A: Tissue engineering: genitourinary system. In Lanza RP, Langer R, Chick WL (eds): Principles of tissue engineering. Landes Bioscience 1997, pp. 591-600

Morstyn G, Sheridan V (eds.): Cell therapy; stem cell transplantation, gene therapy, and cellular immunotherapy. Cambridge University Press, 1996

Mulligan RC: The basic science of gene therapy. *Science* 1993; 260: 926-932

Nabel EG, Gordon D, Yang ZY, Xu L, San H, Plautz GE, Wu BY, Gao X, Huang L, Nabel GJ: Gene transfer *in vivo* with DNA-liposome complexes: lack of autoimmunity and gonadal localization. *Hum Gene Ther* 1992; 3: 649-656

Nabel EG, Shum L, Pompili VJ, Yang ZY, San H, Shu HB, Liptay S, Gold L, Gordon D, Derynck R, Nabel GJ: Direct transfer of transforming growth factor β 1 gene into arteries stimulates fibrocellular hyperplasia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 10759-10763

Nabel EG, Yang Z, Muller D, Chjang AE, Gao X, Huang L, Cho K, Nabel GJ: Safety and toxicity of catheter gene delivery to the pulmonary vasculature in a patient with metastatic melanoma. *Hum Gen Ther* 5: 1089-1094.

Nabel GJ, Nabel EG, Yang ZY, Fox BA, Plautz GE, Gao X, Huang L, Shu S, Gordon D, Chang AE: Direct gene transfer with DNA- liposome complexes in melanoma: expression, biologic activity, and lack of toxicity in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 11307-11311

Naughton GK: Skin and epithelia. In Lanza RP, Langer R, Chick WL (eds): *Principles of tissue engineering*. Landes Bioscience 1997, pp. 769-782

Nemzek JA, Arnoczky SP, Swenson CL: Retroviral transmission in bone allotransplantation. The effects of tissue processing. *Clin Orthop*. 1996, 324:275-82

Nichols EK: *Human gene therapy. The facts, the hopes, the ethical concerns surrounding a revolutionary treatment of inherited disease*. Institute of Medicine, National Academy of Sciences. Harvard University Press, 1988

Office of Recombinant DNA Activities (ORDA): Guidelines for research involving recombinant DNA molecules (NIH guidelines). Documents – Recombinant DNA, <http://www.nih.gov/od/orda/docs.htm> , 1998

Office of Recombinant DNA Activities (ORDA): Human gene therapy protocols. Documents – Recombinant DNA, <http://www.nih.gov/od/orda/docs.htm> , 1999

Office of Recombinant DNA Activities (ORDA): Minutes of the Recombinant DNA Advisory Committee Meetings (1990-Present). Documents – Recombinant DNA, <http://www.nih.gov/od/orda/docs.htm> , 1999

Office of Recombinant DNA Activities (ORDA): Summaries of the Gene Therapy Policy Conferences (1998-Present). Documents – Recombinant DNA, <http://www.nih.gov/od/orda/docs.htm> , 1999

Organ GM, Vacanti JP: Tissue engineering neointestine. In Lanza RP, Langer R, Chick WL (eds): *Principles of tissue engineering*. Landes Bioscience 1997, pp.441-462

Padgett RW, Cho SH, Evangelista C: Smads are the central component in transforming growth factor-beta signaling. *Pharmacol Ther* 78: 47-52, 1998

Pilaro AM, Cavagnaro JA: Preclinical safety and activity testing of cellular and gene therapies. FDA/CBER. Forum'96: Gene Therapy, <http://www.fda.gov/cber/summaries/gtfor96.pdf> , 1996

Plautz GE, Yang ZY, Wu BY, Gao X, Huang L, Nabel GJ: Immunotherapy of malignancy by *in vivo* gene transfer into tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 4645-4649

Raz E, Watanabe A, Baird SM, Eisenberg RA, Parr TB, Lotz M, Kipps TJ, Carson DA: Systemic immunologic effects of cytokine genes injected into skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 4523-4527

Reid LM, Brill S, Zvibel I, Sigal S, Holst P, Gupta S: Cell biological variables governing the success of bioartificial organs. *Int Symp Tissue Engineering*, Kyoto 20-21 Oct, 1998

Reid LM: Stem cell/lineage biology and lineage-dependent extracellular matrix chemistry: keys to tissue engineering of quiescent tissues such as liver. In Lanza RP, Langer R, Chick WL (eds): *Principles of tissue engineering*. Landes Bioscience 1997, pp. 481-514

Rigby PWJ: Gene therapy: a long and winding road. *Curr Opin Genet Dev* 1995; 5: 397-398

Robinson HL, Hunt LA, Webster RG: Protection against a lethal influenza virus. Challenge by immunization with a haemagglutinin-expressing plasmid DNA. *Vaccine* 1993; 11: 957- 960

Ruoslahti E, Yamaguchi Y: Proteoglycans as modulators of growth factor activities. *Cell* 64: 864-869, 1991

Sagen J: Transplantation in the spinal cord. In Lanza RP, Langer R, Chick WL (eds): *Principles of tissue engineering*. Landes Bioscience 1997, pp.685-705

Saiki RK, Scharf S, Faloona F, Mullis KB, Horn GT, Erlich HA, Arnheim-N: Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*. 1985; 230(4732): 1350-4

Sailer HF, Kolb E: Application of purified bone morphogenetic protein (BMP) in cranio-maxillo-facial surgery. BMP in comprised surgical reconstructions using titanium implants. *J Craniomaxillofac Surg* 22: 2-11, 1994

Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T: *Molecular cloning*. Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1989

Sampath TK.: Biology of BMPs. *Proc 2nd Int Conf on Bone Morphogenetic Proteins*, June 4-8, 1997, Sacramento, California, p. 18, 1997

San H, Yang ZY, Pompili VJ, Jaffe ML, Plautz GE, Xu L, Felgner JH, Wheeler CJ, Felgner PL, Gao X et al.: Safety and short-term toxicity of a novel cationic lipid formulation for human gene therapy. *Hum Gene Ther* 1993; 4: 781-788

Shamie AN, Johnson EE, Gerald AM, Finerman.: The UCLA experience: Safety and efficacy of hBMP in treatment of resistant non-unions. *Proc 2nd Int Conf on Bone Morphogenetic Proteins*, June 4-8, 1997, Sacramento, California, p. 135, 1997

Shatzman AR: Expression systems. *Curr Opin Biotechnol* 1995; 6: 491-493

Sikes M, O'Malley BW Jr, Finegold MJ, Ledley FD: *In vivo* gene transfer into rabbit thyroid follicular cells by direct DNA injection. *Hum Gene Ther* 1994; 5: 837-834

Spangrude GJ: Transplantation of lymphoid precursors. Int Symp Tissue Engineering, Kyoto 20-21 Oct, 1998

Stankovics J, Crane AM, Andrews E, Wu CT, Wu GY, Ledley FD: Overexpression of human methylmalonyl CoA mutase in mice after *in vivo* gene transfer with asialoglycoprotein/polylysine/plasmid complexes. Hum Gen Ther 1994; 5: 1095-1104

Stewart MJ, Plautz GE, Del Buono L, Yang ZY, Xu L, Gao X, Huang L, Nabel EG, Nabel GJ: Gene transfer in vivo with DNA- liposome complexes: Safety and acute toxicity in mice. Hum Gene Ther 1992; 3 : 267-275

Sun AM: Parathyroid. In Lanza RP, Langer R, Chick WL (eds): Principles of tissue engineering. Landes Bioscience 1997, pp. 429-437

Takaoka K, Yoshikawa H, Hashimoto J, Ono K, Matsu M, Nakazato H: Transfilter bone induction by Chinese hamster ovary (CHO) cells transfected by DNA encoding bone morphogenetic protein-4. Clin Orthop 1994; 300: 269-73

Takaoka K, Yoshikawa H, Hashimoto J, Masuhara K, Miyamoto S, Suzuki S, Ono K, Matsui M, Oikawa S, Tsuruoka N, et al : Gene cloning and expression of a bone morphogenetic protein derived from a murine osteosarcoma. Clin Orthop 1993; 294: 344-352

Takashima S, Tateishi J, Taguchi Y, Inoue H: Creutzfeldt-Jakob disease with florid plaques after cadaveric dural graft in a Japanese woman. Lancet

Tang D-C, Devit M, Johnston SA: Genetic immunization is a simple method for eliciting an immune response. Nature 1992; 356: 152-154

Taylor DM, McConnell I, Fraser H: Scrapie infection can be established readily through skin scarification in immunocompetent but not immunodeficient mice. J Gen Virol 1996; 77(Pt 7): 1595-1599

Taylor DM: Exposure to, and inactivation of, the unconventional agents that cause transmissible degenerative encephalopathies. In: Baker HF, Ridley RM, eds. Prion Diseases. Totowa, New Jersey: Humana Press, 1996: 105-18

Thijssen EJ, Kroes AC, Bos E, Persijn GG, Rothbarth PH: The significance of complete serological testing for hepatitis B in heart valve banking. Transplantation 1993, 56(1):82-4

Thomas FT, Thomas JM: immunomodulation of islet transplantation: future prospects. In Lanza RP, Langer R, Chick WL (eds): Principles of tissue engineering. Landes Bioscience 1997, pp. 309-322

Trinkaus-Randall V: Cornea. In Lanza RP, Langer R, Chick WL (eds): Principles of tissue engineering. Landes Bioscience 1997, pp. 383-402

Ulmer JB, Donnelly JJ, Liu MA: Toward the development of DNA vaccines. Curr Opin Biotechnol 1996; 7: 653-658

United Kingdom Haemophilia Centre Organisation. Guidelines on therapeutic products to treat haemophilia and other hereditary coagulation disorders. *Haemophilia* 1997; 3: 63-77

Urist MR (1965): Bone: formation by autoinduction. Science 150, 893-899

Urist MR (1994): The Search for and Discovery of Bone Morphogenetic Protein (BMP). In Urist MR, O'Conner BT, Burwell RG (eds): Bone Grafts, Derivatives and Substitutes. London: Butterworth Heinemann, pp315-362

Vacanti CA, Vacanti JP: Bone and cartilage reconstruction. In Lanza RP, Langer R, Chick WL (eds): Principles of tissue engineering. Landes Bioscience 1997, pp.619-631

Wainwright D, et al. Clinical evaluation of an acellular allograft dermal matrix in full-thickness burns. J Burn Care Rehabil. In press

Wainwright DJ. Use of an acellular allograft dermal matrix (AlloDerm) in the management of full-thickness burns. Burns 1995;21(4):243-8

Valentini RF, Aebischer P: Strategies for the engineering of peripheral nervous tissue regeneration. In Lanza RP, Langer R, Chick WL (eds): Principles of tissue engineering. Landes Bioscience 1997, pp. 671-684

Walters L: Ethics of human gene therapy. Oxford University Press, 1996

Wang EA, Rosen V, D'Alessandro JS, Bauduy M, Cordes P, Harada T, Israel DI, Hewick RM, Kerns KM, LaPan P et al.: Recombinant human bone morphogenetic protein induces bone formation. Proc Natl Acad Sci USA 1990; 87: 2220-4

Weis J, Kretschmar HA, Windl O, Podoll K, Schwarz M: Fatal spongiform encephalopathy in a patient who had handled animal feed. Lancet 1996;348(9036):1240

Weiss RA: Science, medicine, and the future: Xenotransplantation. BMJ 1998; 317: 931-934

Wilde D: Considerations in clinical trial design for gene therapy phase I trials. Division of Clinical trial Design & Analysis, OTRR/CBER/FDA. Forum'96: Gene Therapy, <http://www.fda.gov/cber/summaries/gtfor96.pdf>, 1996

Vile RG: Understanding gene therapy. BIOS Scientific Publishers, 1998

Viljanen VV, Lindholm TS: The search for new members of the BMP/TGF- β family: Genbank/Genpept accession numbers and selected references. In Lindholm TS (ed.), Skeletal reconstruction and bioimplantation. Medical Intelligence Unit, Landes Bioscience, Chapman&Hall, 1997, pp. 241-247

Viljanen VV, Lu ZH, Anttila PP, Lindholm TS. Osteoinduction *in vivo* by gene transfer. In Lindholm TS (ed.), Skeletal reconstruction and bioimplantation. Medical Intelligence Unit, Landes Bioscience, Chapman&Hall, 1997, pp. 223-233

Viljanen VV: Allogeneic and Xenogeneic Bone Morphogenetic Protein in Skeletal Reconstruction. Doctoral thesis. Acta Universitatis Tamperensis 562, 1997

Wilson JM, Grossman M, Cabrera JA, Wu CH, Wu GY: A novel mechanism for achieving transgene persistence *in vivo* after somatic gene transfer into hepatocytes. J Biol Chem 1992; 267: 11483-11489

Wise J: New variant CJD and BSE are linked. BMJ 1996; 313: 1100

- Wolf JA, Ludtke JJ, Ascadi G, Williams P, Jani A: Long-term persistence of plasmid DNA and foreign gene expression in mouse muscle. *Hum Mol Genet* 1992; 1: 363-369
- Wolff JA, Malone RW, Williams P, Chong W, Ascadi G, Jani A, Felgner PL: Direct gene transfer into mouse muscle *in vivo*. *Science* 1990; 247 : 1465-1468
- Wolff JA, Williams P, Ascadi G, Jiao S, Jani A, Chong W: Conditions affecting direct gene transfer into rodent muscle *in vivo*. *Biotechniques* 1991; 11: 474-485
- Wood WI, Gitschier J, Lasky LA, Lawn RM: Base composition-independent hybridization in tetramethylammonium chloride: a method for oligonucleotide screening of highly complex gene libraries. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82(6): 1585-8
- Wozney JM, Rosen V, Celeste AJ, Mitsock LM, Whitters MJ, Kriz RW, Hewick RM, Wang EA: Novel regulators of bone formation: molecular clones and activities. *Science* 1988; 242: 1528-1534
- Wozney JM, Rosen V: Bone morphogenetic proteins and their gene expression. In M. Noda (ed.): *Cellular and Molecular Biology of Bone*, Academic Press, San Diego, pp 131-167, 1993
- Wozney JM: Bone morphogenetic proteins. *Prog Growth Factor Res* 1989; 1: 267-280
- Wrana J: BMP receptors and Smads. *Proc 2nd Int Conf on Bone Morphogenetic Proteins*, June 4-8, 1997, Sacramento, California, p.64, 1997
- Vukicevic S, Basic V, Basic N, Shepard A, Jin D, Shih MS, Ryan S, Griffiths D, Norton K, Drager D, Costa D, Rogic D, Bosukonda M, Jelic M, Maliakal J, Jones B, Dorai H, Stavljenic A, sampath TK: Osteogenic protein-1 (BMP-7) protects against renal injury following ischemia in rats. *Proc 2nd Int Conf on Bone Morphogenetic Proteins*, June 4-8, 1997, Sacramento, California, p. 124, 1997
- Xiang ZQ, Spitalnik S, Tran M, Wunner WH, Cheng J, Ertl HC: Vaccination with a plasmid vector carrying the rabies virus glycoprotein gene induces protective immunity against rabies virus. *Virology* 1994; 199:132-140
- Zarge JI, Huang P, Greisler PH: Blood vessels. In Lanza RP, Langer R, Chick WL (eds): *Principles of tissue engineering*. Landes Bioscience 1997, pp.349-364
- Zhu N, Liggitt D, Liu Y, Debs R: Systemic gene expression after intravenous DNA delivery into adult mice. *Science* 1993; 261: 209-211
- Zielinski BA, Goddard MB, Lysagh J: Immunoisolation. In Lanza RP, Langer R, Chick WL (eds): *Principles of tissue engineering*. Landes Bioscience 1997, pp. 323-332

Litteet

Liite 1: Regulatory Principles for Somatic Cell and Gene Therapy: U.S. FDA Perspective (1998)

Dr. Robert W. Anderson
 Cytokine and Gene Therapy Branch
 Division of Application Review and Policy
 Center for Biologics Evaluation and Research
 Food and Drug Administration

REGULATORY CONCERNS COMMON TO ALL BIOLOGICALS

F Safety, identity, purity, potency
 F Regulation of both the final product and the manufacturing process
 F Reproducibility/consistency of product lots

CONCERNS RELEVANT FOR SOMATIC CELL AND GENE THERAPY PRODUCTS

F Product issues
 A Characterization of cells/cell lines
 A Adventitious agent testing
 A Replication competent virus
 F Pre-clinical/clinical issues
 A Toxicity secondary to exogenous gene expression
 A Insertional mutagenesis
 A Effects on germ cells
 A In vivo recombination and pseudotyping

CONTROL OF PRODUCTION PROCESS

A Vector development
 A Cell and virus bank establishment and characterization
 A Final product characterization and lot release
 A Products used in manufacture (Ancillary Products)

VECTOR DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION

F Derivation of vector
 A Source, modifications and function of component parts
 A Description of regulatory elements
 F Molecular characterization of the final vector
 A All components of the vector required for its biological function should be verified by molecular methods of analysis
 A Sequence analysis may be limited to the insert, flanking regions and any regions of the vector which are modified is acceptable for early phases of clinical development

MASTER VIRUS BANK CHARACTERIZATION

F History-generated from molecularly cloned and characterized constructs
 A Identity
 5 Genetic stability and integrity
 A Potency
 5 Expression of gene product
 5 Biological activity
 A Safety-freedom from adventitious agents
 5 Bacteria
 5 Fungi
 5 Mycoplasma
 5 Virus, including RCV (Replication Competent Virus)

VECTOR MODIFICATIONS

F Previously
 A Change in vector = New Product = New IND
 F Presently
 A Related vectors New Product New IND
 F Minor Modifications
 A IND amendment
 F Abbreviated testing-focusing on specific safety concerns
 F Case by case

MASTER CELL BANK CHARACTERIZATION

F History
 F Culture and storage conditions
 F Identity testing
 A Genetic stability and integrity
 A Protein product
 A Cellular Morphology/Phenotype

- A Cellular Isoenzymes
- F Safety testing-freedom from adventitious agents
- A Bacteria
- A Fungi
- A Mycoplasma
- A Virus, including RCV

WORKING CELL BANK CHARACTERIZATION

- F Freedom from adventitious agents
- F Limited testing for RCV
- F Limited routine identity testing
- F Validation that aliquots can consistently be used for final product production

VECTOR-CONTAINING SUPERNATANTS

- F Purity
- A Residual cellular DNA, RNA, protein
- A Non-infectious virus (particle/PFU [IU])
- A Production materials
- A Endotoxin
- F Potency
- A Biological activity
- A Rate and regulation of gene expression
- F Identity
- A Genetic stability and integrity
- F Safety
- A Sterility (bacterial and fungal)
- A Mycoplasma
- A General Safety
- A Tests for Adventitious Virus (vector system dependent)

EX VIVO TRANSDUCED CELLS

- F Description of cell source, isolation and culture conditions
- F Purity
- A Viability
- A Endotoxin
- F Potency
- A Biological activity
- A Rate and regulation of gene expression
- F Identity
- A Patient's identity label
- A Phenotypic and genetic markers
- F Safety
- A Sterility (bacterial and fungal)
- A Mycoplasma
- A General Safety
- A Tests for Production Organisms

PRODUCT-SPECIFIC SAFETY CONSIDERATIONS

- F Retroviral vectors
- A Primarily ex vivo gene transfer
- F Adenoviral vectors
- A Primarily in vivo gene transfer
- F Plasmid vectors
- A Both ex vivo and in vivo
- A Often in the presence of liposomes

RETROVIRAL VECTOR SAFETY CONSIDERATIONS

- F Replication competent retrovirus (RCR)
- A Can arise from recombination events in retroviral vector packaging cell lines used during production
- F Presence of RCR is a safety concern:
- A Retroviruses integrate into the genome
- A Murine retroviruses can pseudotype HIV, resulting in expanded host range
- A Immunosuppressed monkeys exposed to RCR develop lymphomas within 200 days

RCR TESTING

- F Testing performed during production and for each lot:
- A Analysis of cells and supernatant
- 5 Master Cell Bank
 - Cells (1% or 10%) and supernatant (5%)
- 5 Production Lot
- 5 Ex vivo transduced cells (preferable to have results before patient administration)
- A Analysis of cells or supernatant
- 5 Working Cell Bank

RCR ASSAY DESIGN

- F STEP 1: Amplification
- A Culture cells or supernatant with permissive cell line, e.g., Mus dunni cells for 18-20 days
- F STEP 2: Viral detection
- A PG4 S+L- focus forming assay

F Validated alternative assays are acceptable (marker rescue)

PATIENT MONITORING

F Perform periodic monitoring for evidence of RCR infection

A Assays

5 Serological assays for evidence of antibody to retroviral envelope protein

5 Direct assays for viral nucleic acid in peripheral blood leukocytes using PCR

5 Assays for reverse transcriptase

A Frequency

5 Monthly during treatment

5 Monthly for the first three months following completion of treatment

5 Every three months for the remainder of the year following treatment

5 Yearly thereafter

F Identification of RCR via direct culture of patient PBL should be attempted

F Submit written IND safety report

F Submit results of monitoring in annual progress report

ADENOVIRAL VECTOR SAFETY CONSIDERATIONS

F Administration of high doses of adenoviral vector to humans can result in both an acute viral toxicity and a vigorous immune response resulting in inflammation.

F It has been suggested that viral toxicity may be due to induction of a cytokine cascade. Animal testing of adenoviral vectors has shown that the immune response is CD8+ T cell mediated (CTL response).

F For some applications, target cells may have a rapid turnover requiring repeat administrations, resulting in potentially greater immune response each time.

R ADENOVIRAL VECTOR SAFETY CONSIDERATIONS

F Patient dose based on particle to infectious unit ratio

A Specification < 100:1 particle: PFU (IU)

F Detection of replication competent adenovirus

A Specification < 1 RCA/ patient dose

F Demonstration of prior immunity to adenoviruses

F Consent form should reflect risk of adenovirus infection

F Shedding of RCA as well as vector should be determined

F If RCA present, culture and characterize

F Risks of adenoviral vector administration may differ for different populations (e.g. cystic fibrosis vs cancer patients)

PLASMID VECTOR SAFETY CONSIDERATIONS

F Removal of potential contaminants:

A Bacterial RNA, Protein and DNA

F Avoid use of CsCl and EtBr

F Liposome preparations

A Residual solvents used in production

A Potential toxicity of liposome preparation

PRODUCT MANUFACTURE AND CHARACTERIZATION

AN EVOLVING PROCESS

F The method of product manufacture should be appropriate for the investigational phase of the study

A cGMP continuum

A Consult DEL (301-827-3031) concerning facilities issues

F The degree of product characterization should be appropriate for the investigational phase of the study

A Safety, identity, purity and potency

A Phase I

5 Safety (Product Specific)

A Consult Product Reviewer

COMMENTS AND QUESTIONS

Robert W. Anderson, Ph.D.

Cytokine and Gene Therapy Branch, Division of Application Review and Policy

Center for Biologics Evaluation and Research (HFM-591)

Food and Drug Administration

1401 Rockville Pike

Rockville, MD 20852-1448

594-0525 (FAX)

Liite 2 . Esimerkki RCA kokouksen aiheuettelosta

**DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES
NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH
RECOMBINANT DNA ADVISORY COMMITTEE
MINUTES OF MEETING
September 24-25, 1998**

TABLE OF CONTENTS

Call to Order and Opening Remarks/Mickelson
Introductory Remarks/Skirboll
III. Minutes of the June 18-19, 1998 Meeting/Macklin, Ando
Chair's Statement Regarding *In Utero* Gene Transfer Discussion/Mickelson
Development of the Human Fetal Immune System—Overview/Buckley
In Utero Hematopoietic Stem Cell Transplantation- Experience to Date/Buckley
Risk Assessment - General/Ando
Preclinical Sheep Studies/Zanjani
Preclinical Research Design Issues - General/Chow
Clinical Research Design Issues - General/Markert
Ethical, Legal, and Social Issues (ELSI) in Prenatal Gene Transfer - Overview/Walters
Informed Consent Issues/Zallen, Macklin, Juengst
Data Management Update/Greenblatt
Chair Opening Remarks for September 25, 1998, Discussion/Mickelson
Pre-Protocol Candidate Diseases - Clinical Overview/Buckley, Cohen
Preclinical Research Design Issues — Specific Clinical Indications/McIvor
Clinical Research Design Issues - Specific Clinical Indications/Markert
Ethical, Legal, and Social Issues (ELSI) - Specific Clinical Indications/Macklin
Chair's Closing Remarks/Mickelson
Future Meeting Dates, Announcements/Mickelson
Adjournment/Mickelson