

# **OncoMouse™**

**Eine Recherche zur medizinischen und kommerziellen  
Bedeutung der Harvard-Krebsmäuse**

**GREENPEACE**

Greenpeace e.V.  
22745 Hamburg  
Tel. 040-30618-0  
e-mail: [mail@greenpeace.de](mailto:mail@greenpeace.de)  
Internet: [www.greenpeace.de](http://www.greenpeace.de)

# **OncoMouse™**

Eine Recherche zur medizinischen und kommerziellen Bedeutung der Harvard-Krebsmäuse.

Erstellt von Benno Vogel, Büro für Umweltchemie.

Zürich, 2. November 2001

Benno Vogel  
Büro für Umweltchemie  
Hottingerstrasse 32  
CH-8032 Zürich

[b.vogel@umweltchemie.ch](mailto:b.vogel@umweltchemie.ch)

*«This is not about curing cancer, this is about making money.»*

Paul Muldoon, Executive Director of Canadian Environmental Law Association (CELA)

*«Die Onkomaus ist ein sehr armseliges, ein wertloses Modell für Krebs beim Menschen.»*

Richard Strohman, emeritierter Professor, University of California

## Inhalt

1. Auftrag und Vorgehen .....	5
2. Zusammenfassung .....	7
3. Das OncoMouse™-Patent und die Forschung .....	9
Patente – doch kein Segen für den biomedizinischen Fortschritt? .....	9
Mäuse bringen selten viel Geld .....	10
«Wir gingen auf den Kriegspfad» .....	11
Thou shalt patent and exclusively licence .....	11
Cre-loxP und wie es auch anders geht .....	12
Die OncoMouse™-Vereinbarung .....	13
4. OnkoMouse™ und Grundlagenforschung .....	15
myc-Maus – die erste OncoMouse™ .....	15
Neue Mäuse lösen die erste Generation ab .....	15
OncoMouse™ in der Datenbank medline .....	16
5. OnkoMouse™ und Gentherapie .....	18
Grosse Erwartungen und unerfüllte Versprechen .....	18
Gentherapie bei Krebs - noch keine etablierte Methoden .....	18
Transgene Mäuse für die Gentherapie bei Krebs .....	19
Medline-Suche nach OncoMouse™ und Gentherapie .....	20
Heilungserfolg dank OncoMouse™? – Einschätzung eines Klinikers .....	20
6. OnkoMouse™ und Krebsmedikamente .....	22
Lieber nackt als transgen .....	22
Geringes Interesse der Industrie .....	22
Kurzes Gespräch mit einer Klinikerin .....	23
7. OncoMouse™ und Toxikologie .....	25
Gentechnisch veränderte Mäuse als Alternative zu bestehenden Verfahren .....	25
OncoMouse™ und der «2-year rodent bioassay» .....	25
Reges Interesse der Industrie .....	26
Transgene Bioassays – ein Schritt in die richtige Richtung? .....	27
8. Literatur .....	28
9. Anhang .....	33

Adressen der kontaktierten Personen und Firmen.....	33
Web-Adressen.....	34
NIH / DuPont OncoMouse™-Agreement.....	35
Abstracts der Artikel zur OncoMouse™ und Gentherapie.....	39

## 1. Auftrag und Vorgehen

Greenpeace Deutschland hat Benno Vogel, Büro für Umweltchemie, beauftragt, eine Recherche zum bisherigen medizinischen und kommerziellen Nutzen der OncoMouse™ durchzuführen und die Frage abzuklären, inwieweit das Harvard-Patent mögliche Nutzerinnen und Nutzer der OncoMouse™ abgeschreckt hat.

Philip Leder und sein Team haben Anfang der achtziger Jahre an der Harvard University die ersten Krebsmäuse, die c-myc, v-Ha-ras und c-neu Mäuse, gentechnisch hergestellt. Das Patent, das Harvard für diese gentechnischen Arbeiten erhielt, umfasst jedoch nicht nur diese Mäuse. Die eine OncoMouse gibt es nicht. Es gibt vielmehr eine Reihe von transgenen Krebsmäusen, welche die Trademark OncoMouse™ tragen und deren Verwendung eine Lizenz von DuPont voraussetzt. In der Tabelle 1 sind einige dieser transgenen Krebsmäuse aufgelistet. Der Grund für die vielen OncoMouse™-Mäuse liegt in der grossen Reichweite des Patents. Denn mit einer grosszügigen Auslegung der Patentschrift fallen all diejenigen Nagetiere unter das Patent der Harvard University, die ein rekombinantes und aktiviertes Onkogen in ihrem Erbgut tragen. Der Patentantrag an das Europäische Patentamt listet denn auch 34 Onkogene auf, die – eingesetzt in das Erbgut – ein Nagetier zum Patentfall machen.

Um die medizinische Bedeutung der OncoMouse™ abzuschätzen, wurde einerseits die Literatur kontaktiert und andererseits Gespräche mit Fachleuten aus der Praxis geführt. Die Bedeutung der OncoMouse™ wurde für folgende Bereiche abgeschätzt: Grundlagenforschung, präklinische Erprobung von Krebsmedikamenten, Toxikologie und Gentherapie. Im letzteren Bereich ging es vor allem darum, die Richtigkeit folgenden Aussage abzuschätzen: Dank der OncoMouse™ sind bereits krebskranke Menschen gentherapeutisch geheilt worden. Zusätzlich zur Sichtung der Literatur und zu den Gesprächen mit den Fachleuten wurde mit Recherchen in der Datenbank *medline* die Anzahl der Publikationen zur OncoMouse™ eruiert, welche ebenfalls Rückschlüsse auf die Bedeutung der transgenen Krebsmäuse erlauben. Die Datenbank *medline* bietet einen umfassenden Zugang zur weltweit wichtigsten biomedizinischen Literatur und deckt mehr als 3'800 Zeitschriften ab. *Medline* ist eine Referenz-Datenbank, die für die meisten Artikel auch einen Abstract enthält.

Um die Frage abzuklären, ob das Harvard-Patent die Industrie und die öffentliche Forschung davon abhielt, OncoMouse™-Mäuse zu benutzen, wurde die Literatur kontaktiert.

Um die wirtschaftliche Bedeutung abzuklären wurden einerseits die Einsatzgebiete der OncoMouse™ abgeklärt und andererseits Anfragen an DuPont sowie Charles River Laboratories, The Jackson Laboratory und Taconic durchgeführt. Die letzten drei Firmen stellen OncoMouse™-Mäuse her und vertreiben diese auch. Taconic und The Jackson Laboratory haben auf die Anfrage reagiert. Charles River Laboratories und DuPont haben bis Redaktionsschluss nicht geantwortet.

In den nachfolgenden Kapiteln sind die Resultate zuerst zusammengefasst und dann ausführlicher dargestellt.

OncoMouse-Linie	Vertreiber	Primärreferenz
MMTV/v-Ha-ras	Charles River	Sinn et al. 1987
Ig enh/c-myc	Charles River	Schmidt et al. 1988
MMTV/c-neu	Charles River	Muller et al. 1988
MMTV/c-myc	Charles River	Stewart et al. 1984
v-HA-ras (TG.AC)	Charles River, Taconic	Leder et al. 1990
rasH2	Taconic	Saitoh et al. 1990
SJL-TgN(WapHRAS)69LIn YSJL	The Jackson Laboratory	Andres et al. 1987
C57BL/6J-TgN(IghMyc)22Bri	The Jackson Laboratory	Adams et al. 1985
FVB-TgN(MMTVneu)202Mul TgN(Trp53R172H)8512Jmr	The Jackson Laboratory	Li et al. 1997
FVB/N-TgN(MMTVneu)202Mul	The Jackson Laboratory	Guy et al. 1992
FVB/N-TgN(WapMyc)212Bri	The Jackson Laboratory	Sandgren et al. 1995
TgN(MMTV-Cdc37)1Stp	The Jackson Laboratory	Stepanova et al. 2000
FVB/N-TgN(WapHRAS)69LIn	The Jackson Laboratory	Andres et al. 1987
B6D2-TgN(MMTVTGFA)254Rjc	The Jackson Laboratory	Matsui et al. 1990
FVB/N-TgN(MtTGFA)100Lmb	The Jackson Laboratory	Jhappan et al. 1990
B6D2-TgN(MMTVTGFA)29Rjc	The Jackson Laboratory	Matsui et al. 1990

**Tabelle 1:** Beispiele von transgenen Mäusen, deren Verwendung eine Lizenz von DuPont benötigt (Angaben gemäss Websites von Charles River, Taconic und The Jackson Laboratory).

## 2. Zusammenfassung

### **Das OncoMouse™-Patent und die Forschung**

Die Firma DuPont hat mit der Lizenz auf dem Harvard-Patent den nicht-kommerziellen Nutzen aller Krebsmäuse behindert und den freien Austausch dieser Mäuse in der Grundlagenforschung gehemmt. Damit hat DuPont ausgerechnet den Bereich stark eingeschränkt, in dem die OncoMouse™-Mäuse wertvoll sind und etwas zum Wohl der Allgemeinheit beitragen könnten. Das Harvard-Patent schützt die Interessen der Inhaber und das auf Kosten der Allgemeinheit.

### **OnkoMouse™ und Grundlagenforschung**

Die erstmalige Herstellung einer transgenen Maus mit einem aktivierten Onkogen hat eine Erkenntnis gebracht: Es wurde erstmals an einem biologischen System bestätigt, dass ein Onkogen allein nicht genügt, Tumore entstehen zu lassen. Es braucht eine weitere Mutation in einer Zelle, um diese entarten zu lassen. Damit war noch keine qualitativ neue Art von Erkenntnissen für die Erforschung einer Krebstherapie gewonnen. Was die ersten OncoMouse™-Mäuse, hergestellt und patentiert von der Harvard University, aber zeigten, war ein Weg, das molekulare Geschehen der Krebsentstehung an ganzen Organismen zu untersuchen. Eine neue Forschungsarena tat sich auf, in der transgene Mäuse die genetischen Pfade der Tumorgenese beleuchten sollten. So sind seit 1987 mehr als 2400 wissenschaftliche Publikationen erschienen, die in ihrem Titel oder in ihrem Abstract die Worte «cancer» und «transgenic mice» enthalten. Ein Teil dieser Publikationen handelt auch von denjenigen OncoMouse™-Mäusen, welche auf die Arbeiten von Philip Leder zurückgehen. Sie sind mehrfach auch mit anderen transgenen oder knock-out Krebsmäusen gekreuzt und dann für die Grundlagenforschung verwendet worden. Die OncoMouse™-Mäuse haben damit dazu beigetragen, dass das Wissen um die genetischen Pfade, die zu Krebs führen, gewachsen ist.

### **OnkoMouse™ und Gentherapie**

Seit zehn Jahren fliessen grosse Bemühungen in die Entwicklung von Gentherapien bei Krebs. Zahlreiche klinische Versuche sind bereits an Krebspatientinnen und -patienten durchgeführt worden. Trotzdem steht bis heute keine etablierte Gentherapie zur Behandlung von Krebs zur Verfügung. Auch wenn einzelne Patientinnen oder Patienten in gewissen klinischen Versuchen positiv auf Gentherapien reagiert haben, so ist bis heute noch keine gentherapeutische Heilung von Krebs bekannt geworden. Da die bisherigen Leistungen der Gentherapie bei Krebs enttäuschend waren und der heutige Forschungsbetrieb sehr medienorientiert funktioniert, ist davon auszugehen, dass eine erfolgreiche Heilung einer krebskranken Person sehr schnell für Schlagzeilen sorgen dürfte – auch vor der Veröffentlichung der Resultate in einer wissenschaftlichen Zeitschrift. In diesem Sinn und mit den Worten von Christoph Rochlitz: Der Aussage, dank der OncoMouse™ seien krebskranke Personen gentherapeutisch geheilt worden, ist sehr viel Skepsis entgegenzubringen.

### **OnkoMouse™ und das Testen von Krebsmedikamenten**

Wer in einer Substanz ein potentielles Krebsmittel zu erkennen glaubt, geht damit nicht direkt in die klinischen Versuche, sondern testet die krebsheilende Wirkung der

Substanz erst in präklinischen Versuchen aus. Damit diese präklinischen Tests möglichst aussagekräftige Resultate bringen, sind geeignete Modellsysteme gefragt. Als die ersten OncoMouse™-Mäuse hergestellt waren, versprach man, jetzt ein geeignetes Modell gefunden zu haben. Wenn die OncoMouse™-Mäuse wirklich so geeignet sind, sollte sich dies am Interesse der pharmazeutischen Firmen wider spiegeln. Diese sind nun aber nur mässig daran interessiert, ihre potentiellen Krebsmedikamente an OncoMouse™-Mäusen zu testen. Das Interesse liegt nicht allein wegen dem Harvard-Patent tief, es ist auch der technische Standard der OncoMouse™-Mäuse, welcher die pharmazeutischen Firmen andere Systeme wählen lässt. Damit erleiden die OncoMouse™-Mäuse das gleiche Schicksal wie ihre anderen transgenen Artgenossen. Denn in den präklinischen Versuchen der Krebsforschung konnten sich gentechnisch veränderte Nager bisher allgemein nicht durchsetzen. Es gibt zwar Fälle, wo potentielle Krebsmedikamente an OncoMouse™-Mäusen erprobt werden, doch sind dies Ausnahmen.

### **OnkoMouse™ und Toxikologie**

Mit einem Patent auf transgenen Mäusen lässt sich in den wenigsten Fällen Geld verdienen. Möglich ist es aber zum Beispiel dann, wenn eine patentierte Maus als Standard in toxikologischen Prüfverfahren anerkannt und eingesetzt wird. Genau dies will man mit den beiden OncoMouse™-Mäusen Tg.AC und rasH2 erreichen. Beide Mäuse gelten als aussichtsreiche Kandidaten, den «2-year rodent bioassay» in den Kanzerogenitätstests zu ersetzen. Die dazu notwendigen Validierungsverfahren sind am Laufen. Erste Resultate aus diesen Verfahren werden unterschiedlich bewertet. Die einen sprechen von Erfolg, andere üben Kritik. Eine abschliessende Bewertung lässt sich nicht machen; weitere Abklärungen sind notwendig.

Das Harvard-Patent scheint die Forschungsarbeiten mit den Tg.AC- und rasH2-Mäusen bisher nicht behindert zu haben. Das hat einerseits damit zu tun, dass die involvierten Fachleute persönliche Kontakte zur Harvard University haben. Andererseits könnte es auch zur Strategie von DuPont gehören, die Entwicklungs- und Validierungsarbeiten ohne Gebühren laufen zu lassen, und dann erst finanzielle Forderungen zu stellen, wenn die transgenen Tiere als Standardmodelle in der Toxikologie anerkannt sind.

Nach Angaben der Firma Taconic, die eine exklusive Unterlizenz von DuPont für das Herstellen und Vertreiben der Tg.AC- und rasH2-Mäuse besitzt, sind sowohl die pharmazeutische Industrie als auch die kommerziellen Toxikologie-Labors rege an den beiden OncoMouse™-Modellen interessiert.

Transgene Mäuse sind nicht die einzige mögliche Alternative zum «2-year rodent bioassay». Es gibt auch *in vitro*-Systeme, die als Kanzerogenitätstests in Frage kommen. Zumindest aus tierschützerischer Sicht sind diese *in vitro*-Systeme gegenüber den transgenen Mäusen vorzuziehen.

### 3. Das OncoMouse™-Patent und die Forschung

«*There are several reasons to believe that patent law is not, in fact, the best way to deal with biomedical innovations.»*

Gold 1999

«*The free exchange of strains and reagents is a prerequisite, was a prerequisite, and will continue to be a prerequisite for the continued growth of biomedical science.»*

PH.D. Gerald Fink, Director, Whitehead Institute for Biomedical Research<sup>1</sup>

«*Another important component in reducing animal use is the sharing of results and animals between scientists. This will help to reduce duplication, but it is, perhaps, a little utopian given the commercial concerns – patent and intellectual property rights – often associated with such research.»*

Moore 2001

«*Many scientists, as users of these tools, worry that the tendency to patent every new increment of genetic discovery, including every new mouse, if not resisted, could impede genetic medicine.»*

Eliot Marshall, Science magazine

#### **Patente – doch kein Segen für den biomedizinischen Fortschritt?**

«The big question is: Does the patent system, as it is configured and operates, really serve the purpose of promoting innovation without inhibiting research?» Stephen Merrill, Exekutivdirektor des Science, Technology and Economic Board der Nationalen Akademien der USA, stellt in Frage (zitiert in Cavanaugh 2001), was seit einigen Jahren schon beinahe als naturgesetzliche Gegebenheit propagiert wird: Patente fördern den Fortschritt. Und das ohne Behinderung der Forschung. Dass dem nicht immer so ist, dafür mehren sich die Hinweise.

Anfang der achtziger Jahre begann der US-amerikanische Kongress den Technologietransfer zu fördern. So öffnete der Bayh-Dole-Act von 1980 den Universitäten und anderen öffentlich finanzierten Forschungsinstitutionen den Weg, ihre Forschung zu kapitalisieren. Seither sind zahlreiche Entdeckungen aus den mit Steuergeldern finanzierten Projekten patentiert und in den privaten Sektor transferiert worden. Diese Kommerzialisierung und Privatisierung hat in der biomedizinischen Forschung sicherlich mehr private Forschungsgelder angezogen. Sie haben aber auch Entwicklungen hervorgerufen, welche die biomedizinische Forschung behindern. So haben Wissenschaftler und Wissenschaftlerinnen begonnen, ihre finanziellen Interessen zu schützen. Sie weigern sich, ihre Ideen, Daten und Ressourcen – wie zum Beispiel Gene, Sequenzinformationen, Reagenzien oder transgene Tiere – mit der Forschungsgemeinschaft zu teilen, wenn dies ihre hängenden Patentanmeldungen gefährden könnte (Marshall 2000a). Diejenigen Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler, die private Mittel für ihre Forschung erhalten, unterzeichnen häufig Verträge, die es ihnen untersagen, Daten, Werkzeuge und Ressourcen aus ihren Arbeiten ohne die Erlaubnis der sponsernden Firma öffentlich zu machen (Friedberg et al. 1999, Resnik 1998, Krimsky 1996). Zudem

---

<sup>1</sup> Zitat aus NAS (1994).

bestimmen die Firmen den Zeitpunkt der Veröffentlichung mit. So verpflichten gewisse Geldgeber die Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler dazu, ihre Forschungsergebnisse lange geheimzuhalten oder sie sogar nicht zu veröffentlichen (Blumenthal et al. 1997, Wadman 1996). Schliesslich führen die finanziellen Motivationen der Forschenden auch zu Interessenkonflikten, die wiederum in Fehlern, Unterdrückung von Resultaten, Missbrauch von vertraulichen Daten und Betrug münden können (Flanagin 2000). So befürchten viele Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler, dass private Interessen die Offenheit in der Forschungsgemeinschaft unterminieren (Harris 1999, Wadman 1999, Nadis 1999, Gibbs 1996). Dabei ist die Offenheit eine der wichtigsten, ethischen Normen der Wissenschaft, steigert sie doch das Vertrauen, die Zusammenarbeit, die Kollegialität sowie die Peer Review (Munthe & Wellin 1996).

Die Privatisierung der biomedizinischen Forschung hat mittlerweile eine Situation geschaffen, in der die zahlreiche Vermehrung von Eigentumsrechten in der Grundlagenforschung die Entwicklung von lebensrettenden Innovationen unterdrücken könnte (Heller & Eisenberg 1998). Grund genug, die Entwicklung zu hinterfragen. Das finden zumindest die Nationalen Akademien der Wissenschaften in den USA. Sie lassen nun «the big question» untersuchen: Fördert das Patentsystem, so wie es zur Zeit funktioniert und konzipiert ist, wirklich die Innovation, ohne dass es die Forschung behindert? Die Antworten dürften nächstes Jahr vorgestellt werden (Cavanaugh 2001).

Die Nationalen Akademien der Wissenschaften hatten sich bereits Anfang der neunziger Jahre mit dem Thema Patentierung beschäftigt. Damals ging es um den freien Austausch von gentechnisch veränderten Tieren.

### **Mäuse bringen selten viel Geld**

«Most of our strains are money-loosers», sagt Ken Paigen, Direktor von The Jackson Laboratory, das jährlich rund zwei Millionen Mäuse vertreibt (Malakoff 2000). Wenn The Jackson Laboratory die Mäuse trotzdem hält, so erfolgt dies aus öffentlichem Interesse. Denn die Mäuse mögen zwar kein Geld bringen, für die biomedizinische Forschung können sie aber trotzdem wertvoll sein. Dass sich mit Mäusen nur selten Geld verdienen lässt, gilt auch für die gentechnisch veränderten Mäuse. «Wir bekommen zwar die ganze Zeit Anrufe von Forschenden, die glauben, die grosse Maus hergestellt zu haben. Aber in der Realität haben nur sehr wenige Modelle ein so breites Einsatzgebiet, dass sie kommerziell attraktiv werden», sagt Donna Gulezian von Taconic (Malakoff 2000). Wenn transgene Mäuse keine breite Anwendung finden, so reichen gewöhnlich auch die Tantiemen aus den Lizenzverkäufen nicht aus, um die Ausgaben für das Patent zu rechtfertigen (Abrams & Kaiser 2000). Und trotzdem: seit die Harvard University ihr Patent für die OncoMouse erhielt, sind Reihen von gentechnisch veränderten Mäusen patentiert worden (Marshall 2000a). Eine Entwicklung, die vor allem eins gebracht hat: Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler, die sich laut über die hohen Preise und die geringe Verfügbarkeit von gentechnisch veränderten Mäusen beklagen. So haben jüngst zwei Fälle den Kampf der Forschenden gegen die Kommerzialisierung der gentechnisch veränderten Mäuse neu aufflammen lassen. Im ersten Fall hat ein Patentstreit um eine Alzheimer-Maus die Forschungsgemeinde für mehr als ein Jahr stark verunsichert (siehe hierzu Cavanaugh 2001, Marshall 2000a, Dalton 2000a/b). Im zweiten Fall haben sich

Forschende laut über die strengen Lizenzbedingungen und hohen Preise für eine transgene Maus der Firma Lexocin Genetics Inc. (Texas) beklagt (Marshall 2000a). Die beiden Fälle wecken nun die Bemühungen wieder, Forschungswerkzeuge, vor allem Mäuse, von der Kommerzialisierung zu befreien. Begonnen haben diese Bemühungen schon früh; zuerst waren es einzelne Wissenschaftler und Wissenschaftlerinnen, die sich engagierten, dann schloss sich das NIH an und schliesslich macht mit Merck & Co jetzt auch eine der grossen pharmazeutischen Firmen mit.

### **«Wir gingen auf den Kriegspfad»**

Die Harvard University startete 1988 den Kampf um das genetische Eigentum der Maus. Damals erhielt die Universität das erste Patent auf einem transgenen Tier. Das Patent war sehr weit gefasst und umschloss – mit einer grosszügigen Interpretation – jedes Nagetier, das genetisch so verändert wird, dass es Tumore entwickelt (Marshall 2000a). Dieser Wahnsinn hat die Forschungsgemeinde erst nicht verärgert. Schliesslich hatte sie ihn ja auch gestartet. Aber nach und nach empörten sich immer mehr Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler über die Patente auf Mäusen, erlebten sie doch nun die bitteren Konsequenzen im Forschungsalltag – allen voran die hohen Preise und die Nutzungseinschränkungen.

Ein Wissenschaftler, der sich nicht nur ärgerte, sondern auch zu handeln begann, war Nobelpreisträger Harold Varmus. Er half anfangs der neunziger Jahre die Unzufriedenheit zu organisieren (Marshall 2000a). So rief er an einem Mausgenetik-Kongress in Cold Spring Harbor die Anwesenden spontan zu einem Treffen auf, an dem schliesslich über 300 Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler teilnahmen. «Wir gingen auf den Kriegspfad», erinnert sich Harold Varmus in der Zeitschrift *Science* (Marshall 2000a).

Das spontane Meeting in Cold Spring Harbor veranlasste die Nationalen Akademien der Wissenschaften dazu, das Problem unter die Lupe zu nehmen. 1994 veröffentlichte sie einen Bericht über die Behinderungen, die einem freien Austausch von Mäusen entgegen stehen (NAS 1994). Auch das NIH reagierte auf das spontane Treffen. 1993, kurz bevor Harold Varmus Direktor des NIH wurde, finanzierte die nationale Gesundheitsbehörde eine neue Einrichtung, um Mäuse zu verteilen (Marshall 2000a). Damit war noch nicht genug getan. Harold Varmus setzte sein Engagement auch als Direktor des NIH fort.

### **Thou shalt patent and exclusively licence**

Der freie Austausch von Forschungswerkzeugen beschäftigte Harold Varmus auch nach dem Treffen in Cold Spring Harbor. 1997 setzte er als Direktor des NIH eine Arbeitsgruppe ein, um die noch immer bestehenden Probleme untersuchen zu lassen. Als die Mitglieder der Arbeitsgruppe 1998 ihre Resultate vorstellten, war ihre Warnung deutlich: Die gegenwärtigen Trends seien eine ernsthafte Bedrohung für die Interessen der biomedizinischen Forschung (Wadman 1998b). Die Arbeitsgruppe empfahl dem NIH schliesslich, Richtlinien für den Austausch von Forschungswerkzeugen zu erstellen. Varmus nahm die Empfehlung auf und beauftragte das Office of Technology Transfer Richtlinien zu entwickeln. 1999 sind die Richtlinien, die nur für vom NIH finanziell unterstützte Forschende gelten, vorgestellt worden. Der

Inhalt: Das NIH drängt die Institutionen, Patente auf Forschungswerkzeuge zu vermeiden (Wadman 1999). Begründet wird dies folgendermassen: Forschungswerkzeuge benötigen selten Patentschutz, da es keine weitere Forschung, Entwicklung und private Investitionen braucht, um ihren Nutzen zu realisieren. Zudem sei die Patentierung von Forschungswerkzeugen antithetisch zum Ziel, mit Steuergeldern finanzierte Innovationen in die Öffentlichkeit zu bringen (Wadman 1999). Wie einer der NIH-Mitarbeiter sagte: Der Bayh-Dole-Act sollte nicht als elftes Gebot gelesen werden – «thou shalt patent and exclusively licence» –, das den freien Austausch von Forschungswerkzeugen behindert (Wadman 1999).

### **Cre-loxP und wie es auch anders geht**

Die NIH-Richtlinien gelten nicht für die Industrie. Doch auch gegen diese wusste sich Harold Varmus zu wehren. Allen voran gegen DuPont – zuerst wegen Cre-loxP, dann wegen der OncoMouse™.

DuPont hatte 1990 ein Patent für Mäuse erhalten, die mit der sogenannten Cre-loxP-Technik hergestellt werden. Die Technik gilt als sehr wertvoll und wird entsprechend von vielen Forschenden angewandt. So wertvoll die Technik ist, so unbeliebt hat sich DuPont unter der Wissenschaftsgemeinde gemacht. DuPont begann nämlich, nach dem Erhalt des Patents, von den Forschenden zu verlangen, die Technik nicht mit anderen zu teilen, ohne vorher das Einverständnis von DuPont eingeholt zu haben (Marshall 2000a, Marshall 1997). Zudem kontaktierte DuPont Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler, die Daten von Cre-loxP-Mäusen veröffentlicht hatten. Sie sollten eine Vereinbarung unterschreiben, die es DuPont erlaubt hätte, zukünftige Daten vor der Publikation einzusehen. Noch nicht fertig: DuPont suchte auch nach «reach-through»-Rechten auf Erfindungen, die mit den Cre-loxP-Mäusen gemacht werden. Unter diesen Umständen war schliesslich niemand mehr fähig, Cre-loxP-Materialien frei auszutauschen (Marshall 2000a). DuPont stellte schlicht unhaltbare Forderungen. Das fand auch Harold Varmus. Als Direktor des NIH weigerte er sich 1997, eine Vereinbarung mit DuPont zu unterzeichnen. Damit blieben tausende NIH-Angestellte von der Cre-loxP-Technik abgeschnitten (Marshall 2000a). Ein Ärgernis für die Forschenden, eine Beschämung für DuPont. Doch es brachte eine Veränderung. Nachdem Varmus an DuPont geschrieben hatte, dass die restriktiven Bedingungen die Grundlagenforschung ernsthaft behindern könnten (Marshall 2000a), begannen die Verhandlungen. Ein Jahr später unterzeichneten DuPont und das NIH eine gemeinsame Vereinbarung, die den NIH-Forschenden einen freieren Zugang zur Cre-loxP-Technik ermöglicht (Marshall 1998, Wadman 1998a). Eine vergleichbare Vereinbarung ist dann zwei Jahre später auch für die OncoMouse™ zu Stande gekommen (siehe unten).

Das NIH hat aus den schlechten Erfahrungen mit Patenten auf gentechnisch veränderten Mäusen gelernt. Das zeigt sich auch beim Mausgenom-Projekt. Im Rahmen dieses Projekts soll nicht nur das ganze Erbgut der Maus entschlüsselt werden, sondern es sollen auch tausende neue transgene Mäuse entstehen (Marshall 2000a). Das NIH insistiert nun darauf, dass die Forschenden, die vom NIH finanziert werden, keine Patente auf diesen Mäusen ausfüllen. Damit ist klar: Die Regierung will die Mäuse, die sie herstellen lässt, patentfrei haben (Marshall 2000a).

Nicht nur das NIH hat gelernt, auch die pharmazeutische Firma Merck & Co will die Fehler der Vergangenheit nicht wiederholen. Sie finanziert mit acht Millionen US-Dollar die Herstellung von 150 transgenen Mäuse, will aber für keine ein Patent einreichen (Marshall 2000a). Merck ist dabei jedoch nicht von Altruismus getrieben. Denn «minimizing such property claims will benefit the company as well.» (Marshall 2000a).

### **Die OncoMouse™-Vereinbarung**

*«Key to this agreement is the recognition that science is better served by making research tools broadly available to the academic sector. This enables scientists to carry out research for the benefit of medicine and the public.»*

Maria Freire, Director, NIH Office of Technology Transfer

Nachdem Harold Varmus der öffentlichen Forschung einen freieren Zugang zu den Cre-loxP-Mäusen verschafft hatte, nahm er das nächste Patent in Angriff: das Harvard-OncoMouse™-Patent. Gegner war wiederum DuPont, besitzt die Firma doch die exklusive Lizenz auf den OncoMouse™-Mäusen. Und wie beim Cre-loxP-Fall lag der Grund für Varmus' Angriff in der blockierenden Wirkung des Patents. Denn so stark DuPont die transgenen Krebsmäuse für die Grundlagenforschung und die pharmazeutische Industrie anpries, so schwer machte es DuPont den Forschenden und den Firmen, die Mäuse zu verwenden. Die Gebühren, die DuPont anfänglich von den pharmazeutischen Firmen einforderte, waren derart «unverschämt» (Fox 1993), dass die potentiellen Nutzer auf die OncoMouse™-Mäuse verzichteten (Then & Schweiger 1999, Studer & Surbeck 1998). Auch die Grundlagenforschung boykottierte die Harvard-Mäuse (Kräußlich 1994, Fox 1993). Sie verzichtete entweder ganz auf die Forschung mit OncoMouse™-Mäusen oder begann ihre eigenen Krebsmäuse herzustellen. Letzteres war jedoch mit grosser Unsicherheit behaftet. Denn die Forschenden mussten immer damit rechnen, dass sie mit der Herstellung ihrer eigenen Krebsmäuse das Harvard-Patent verletzten.

DuPont begann dann Mitte der neunziger Jahre ihre Rechte energisch einzufordern (Marshall 2000b). Bis zu diesem Zeitpunkt war die OncoMouse-Technik weit verbreitet. Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler hatten nicht nur Artikel über Krebsmäuse publiziert, sie züchteten die Mäuse auch und teilten sie mit Kollegen. Dann kamen die Forderungen. DuPont verlangte, dass die Forschenden ihre Artikel an DuPont zur Übersicht schicken. Zudem wollte die Firma auch, dass der freie Austausch der Krebsmäuse zwischen Arbeitsgruppen aufhört (Marshall 2000b). Der Ärger in der Wissenschaftsgemeinde war gross, die Verunsicherung ebenso. Das NIH reagierte. Harold Varmus erklärte das OncoMouse™-Problem zur Chefsache und intervenierte persönlich bei DuPont Chef Chad Holliday (Marshall 2000b). Die Verhandlungen währten lange vier Jahre. Doch dann war es soweit: Im Januar 2000 unterschrieben DuPont und das NIH eine Vereinbarung, die den vom NIH finanzierten Forschern und Forscherinnen einen freieren Zugang zu den Onco-Mouse™-Mäusen brachte (Smaglik 2000, Marshall 2000b, NIH 2000). Die Vereinbarung gilt nur für die öffentliche Forschung. Sie erlaubt ihr, die OncoMouse™-Mäuse in non-profit Projekten einzusetzen, ohne eine Lizenz von DuPont einholen zu müssen. Zudem dürfen die Forschenden die OncoMouse™-Mäuse frei untereinander austauschen. Ein weiterer Fortschritt: Die Begrenzungen von wissenschaftlichen

Publikationen und die «reach-through»-Ansprüche fallen mit der Vereinbarung weg (NIH 2000). Was bleibt, sind folgende Ansprüche von DuPont (Abrams & Kaiser 2000): Auf Verlangen müssen die Forschenden eine vernünftige Anzahl an Mäusen an DuPont liefern. Zudem dürfen die non-profit Institutionen die OncoMouse™-Mäuse nicht verwenden, um Substanzen zu testen, die für irgendwelche kommerziellen Zwecke eingesetzt werden könnten. Untersagt bleibt auch, die OncoMouse™-Mäuse in Projekten zu verwenden, die von der Industrie finanziert werden.

«The free exchange of strains and reagents is a prerequisite, was a prerequisite, and will continue to be a prerequisite for the continued growth of biomedical science», sagt Gerald Fink vom Whitehead Institute for Biomedical Research (NAS 1994). Mit der OncoMouse™-Vereinbarung kann nun das Wachstum der biomedizinischen Forschung ein Stück weiter gehen. Und – wie Harold Varmus die Vereinbarung kommentiert: «It will be a great relief for many people to know that they are not violating the law by sharing animals with a colleague down the hall.» (Marshall 2000b).

DuPont hat mit der Lizenz auf dem Harvard-Patent den nicht-kommerziellen Nutzen aller Krebsmäuse behindert und den freien Austausch dieser Mäuse gehemmt (Abrams & Kaiser 2000). Damit hat DuPont ausgerechnet denjenigen Bereich stark eingeschränkt, in dem die OncoMouse™-Mäuse wertvoll sind und etwas zum Wohl der Allgemeinheit beitragen könnten. Das Harvard-Patent schützt die Interessen der Inhaber – und das auf Kosten der Allgemeinheit.

## 4. OnkoMouse™ und Grundlagenforschung

*«Mouse models for tumorigenesis have come a long way since the first oncomouse was described.»*

Meuwissen et al. 2001

*«Die Bedeutung der Onkomaus als Tiermodell hebt sich nicht ab von der Bedeutung anderer transgener oder konventionell gezüchteter Stämme für die Erforschung der Krebsentstehung und -therapie.»*

Professor R.R. Fries, Universität Bern, und Dr. Anne-Catherine Andres, Tiefenauhspital Bern<sup>2</sup>

«We are only at the beginning of the road to replicating human cancer in mice», schreibt Lothar Hennighausen vom National Institute of Diabetes in Bethesda, Maryland (Hennighausen 2000a). Sechzehn Jahre nach der Geburt der ersten transgenen Krebsmaus beginnt die Forschung damit, menschliche Krebserkrankungen an Mäusen zu replizieren. Gelingen soll die mit neuen transgenen und knock-out Mäusen. Denn sie weisen die Schwächen der ersten Generation der Krebsmäuse nicht mehr auf.

### **myc-Maus – die erste OncoMouse™**

1984 gelang es Philip Leder und seinem Team eine Maus so gentechnisch zu verändern, dass diese dazu neigt, Tumore zu entwickeln (Stewart et al. 1984). Die erste transgene Krebsmaus, die myc-Maus, war geboren. Sie bildet in ihren Brustzellen ein menschliches myc-Protein und erkrankt deshalb mit hoher Wahrscheinlichkeit an Brustkrebs. Die myc-Maus blieb nicht lange allein mit ihrem Leiden. Philip Leder und sein Team fügten in den Jahren danach auch noch andere, Krebs verursachende Gene – sogenannte Onkogene – in das Erbgut von Mäusen ein (Sinn et al. 1987, Muller et al. 1988, Leder et al. 1990).

Auch das Philip-Leder-Team blieb nicht allein mit ihrem Tun. Eine ganze Gilde von Forscherinnen und Forschern begann nun Krebsmäuse herzustellen und mit ihnen zu forschen. So sind in den letzten 16 Jahren allein für die Erforschung von Brustkrebs rund hundert verschiedene Krebsmäuse entstanden, an denen die Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler spezifische Aspekte der Krebsentstehung untersuchen können (Hennighausen 2000b). Doch auch wenn seit der myc-Maus Fortschritte gemacht worden sind, bis heute deckt keine einzige der Krebsmäuse das ganze Spektrum von Brustkrebs ab (Hennighausen 2000a).

### **Neue Mäuse lösen die erste Generation ab**

Die Herstellung der ersten OncoMouse™-Mäuse liess Mitte der achtziger Jahre eine neue Forschungsarena entstehen, in der transgene Mäuse Einblick in das molekulare Krebsgeschehen geben sollten (Hennighausen 2000a/b). So haben die ersten OncoMouse™-Mäuse zwar viel bewegt, aber an Erkenntnissen nur wenig

---

<sup>2</sup> Zitiert in: Küng, V. (1995). Gutachten zur Bedeutung der Harvard-Onkomaus für die Krebsforschung und zur Reproduzierbarkeit des patentierten Verfahrens. Im Auftrag des Vereins «Keine Patente auf Leben». Bern.

geliefert. Denn die erstmalige Herstellung einer transgenen Maus mit einem aktivierten Onkogen hat nur eine Erkenntnis gebracht (Küng 1995): «Es wurde erstmals an einem biologischen System bestätigt, dass ein Onkogen allein nicht genügt, Tumore entstehen zu lassen. Es braucht eine weitere Mutation in einer Zelle, um diese entarten zu lassen.» Damit war noch keine qualitativ neue Art von Erkenntnissen für die Erforschung einer Krebstherapie gewonnen. Denn Tiermodelle, welche genetisch so disponiert sind, dass sie mit einer grossen Wahrscheinlichkeit Tumore entwickeln, gibt es seit den dreissiger Jahren (Küng 1995). Im Unterschied zu diesen anderen Tiermodellen entwickeln die ersten OncoMouse™-Mäuse Tumore schneller und homogener. Kurze Latenzzeit und Homogenität sind jedoch nicht nur eine Stärke, sondern zugleich auch eine Schwäche. So sind die homogenen Tumore experimentell ein Vorteil, zeigen gleichzeitig aber auch die Künstlichkeit des Systems auf. Die kurze Latenzzeit ist in gewissen Fällen ebenfalls ein Nachteil. So unterscheidet sich die myc-Maus in diesem Punkt fundamental vom Menschen: Die Aktivierung des Onkogens geschieht bei der Maus früh in der Pubertät, wohingegen beim Menschen genetische Veränderungen meist erst spät im Leben eintreten (Hennighausen 2000a). Ein weiterer Nachteil der ersten Krebsmäuse: Sie widerspiegeln zwar gut die Situation, wie sie bei vererbten Krebserkrankungen beim Menschen auftreten, sind aber für die anderen Krebsarten schlechte Modelle (Berns 2001). Der Grund liegt darin, dass bei einer Krebsmaus alle Zellen eines Gewebes ein aktiviertes Onkogen besitzen, die Tumorentwicklung beim Menschen aber meist von einer Mutation in einer Zelle ausgeht. «Classical mouse models do not incorporate this transition from a single mutant cell to a field of cells, because fields already exist. New models are therefore urgently needed», schreibt Anton Berns vom niederländischen Krebsinstitut im *Nature* (Berns 2001). Dass es neue Modelle braucht, ist schon länger erkannt worden. So sind in den letzten Jahren neue transgene wie auch knock-out Mäuse entstanden, die viel besser regulier- und konditionierbar sind als die erste Generation der Krebsmäuse. Die neuen Modelle erlauben nun, hoch spezifische Tumore zu generieren und das in einem engen Zeitfenster und mit einer hohen Häufigkeit (Meuwissen et al. 2001).

### **OncoMouse™ in der Datenbank medline**

Die ersten Krebsmäuse, die das Philip Leder-Team an der Harvard University entwickelt hat, haben den Startschuss gegeben, das molekulare Geschehen der Krebsentstehung an transgenen Mäusen zu untersuchen. Seither sind viele Forschungsarbeiten mit transgenen Krebsmäusen durchgeführt worden. Die Datenbank *medline* liefert für die Periode von 1987 bis heute mehr als 2400 Publikationen, wenn man sie mit den Stichworten «transgene Mäuse» und «Krebs» abfragt. Entsprechend ist das Wissen um die genetischen Pfade, die zu einem Tumor führen, stetig gewachsen. Auch die ersten Krebsmäuse haben zu diesem Wissenswachstum beigetragen, sind sie doch wiederholt mit anderen transgenen Krebsmäusen gekreuzt und anschliessend in Untersuchungen benutzt worden. Sucht man die Datenbank *medline* mit den für die ersten OncoMouse™-Mäuse typischen Eigenschaften ab, so ergeben sich für die Zeitspanne zwischen 1987 und heute folgende Resultate: Die Kombination des Onkogens «v-Ha-ras» mit Promotor «MMTV» und «transgenic» ergibt 16 Treffer, für das Onkogen «neu» mit Promotor «MMTV» und «transgenic» erhält man 47 Publikationen und bei «myc» sind es wiederum mit den entsprechend gleichen Stichworten 33 Veröffentlichungen.

Spitzenreiter der ersten OncoMouse™-Modelle ist die Tg.AC-Maus. Sie kann man in mindestens 61 Publikationen antreffen. Verwendet wird sie aber weniger in der Grundlagenforschung, sondern als mögliches Standardmodell für die Toxikologie. Die Angaben aus der Datenbank geben einen ungefähren Einblick in die Bedeutung der ersten OncoMouse™-Mäuse, die an der Harvard University entwickelt worden sind. Auch wenn die Anzahl der tatsächlichen Arbeiten mit diesen OncoMouse™-Modellen höher liegen dürfte, so nehmen sich die obigen Daten doch bescheiden aus gegenüber den mehr als 2400 Publikationen, die sich mit den Stichworten «Krebs» und «transgene Mäuse» finden lassen.

## 5. OnkoMouse™ und Gentherapie

«The available technology is far from optimal to achieve the desired clinical benefits in the field of solid tumors and their metastasis».

Rubanyi 2001

«Despite anecdotal reports of therapeutic response in some patients, unequivocal proof of clinical efficacy is still lacking for most of the varied approaches to gene therapy in humans.»

Rochlitz 2001

### **Grosse Erwartungen und unerfüllte Versprechen**

In den letzten zehn Jahren hat sich das Feld der Gentherapie rasant entwickelt. Aus dem kleinen akademischen Zirkel, der das Heilen mit Genen erforschte, ist eine Industrie geworden, die mit Gentherapien Krankheiten wie Krebs, Hämophilie oder Zystische Fibrose behandeln und heilen will. Die anfänglich geweckten, grossen Erwartungen in die Gentherapie sind zwar immer noch wach, aber die frühen Versprechen, Krankheiten sicher und wirksam behandeln oder sogar heilen zu können, haben sich nicht erfüllt (Rubanyi 2001).

Bisher haben weltweit mehr als fünftausend Patienten und Patientinnen an klinischen Gentherapie-Versuchen teilgenommen (Rochlitz 2001). Doch die Resultate aus den über vierhundert Versuchen sind ernüchternd. Trotz anekdotenhafter Berichte über Patientinnen oder Patienten, die auf Gentherapien reagiert haben, fehlen bei den meisten der vierhundert Versuche die eindeutigen Beweise, dass die Therapien klinisch wirksam sind. Das gilt auch für die Gentherapie-Ansätze, die an Krebspatientinnen und -patienten erprobt werden (Rochlitz 2001). Die Krankheiten, bei denen heute die Gentherapie am meisten Erfolg verspricht, sind Hämophilie bei den monogenetischen Krankheiten und kardiovaskuläre Erkrankungen bei den multi-genen Krankheiten. Für die anderen Krankheiten – inklusive Krebs – braucht es verbesserte Vektoren und Genexpressionssysteme (Rubanyi 2001).

### **Gentherapie bei Krebs - noch keine etablierte Methoden**

Krebs ist diejenige Krankheit, an der Gentherapien am häufigsten erprobt werden. So hatten rund 65 Prozent der bisherigen klinischen Gentherapieversuche die Behandlung von Krebs zum Ziel (Rochlitz 2001, Anderson 2000). Wie die Erfahrungen aus diesen Versuchen zeigen, werden die existierenden Technologien den praktischen Ansprüchen der Klinik nicht gerecht (Rubanyi 2001). So erlaubt keiner der vorhandenen Vektoren, die therapeutischen Gene effektiv und selektiv ins Tumorgewebe zu liefern. Und selbst wenn die Vektoren am Ziel ankommen, mangelt es dort häufig an einer ausreichenden Expression der therapeutischen Gene (Rubanyi 2001, Rochlitz 2001). Zudem schmälert auch das ungenügende Wissen über die molekulare Tumorphäologie die Erfolgsaussichten einer Gentherapie bei Krebs (Rochlitz 2001). Alles in allem: Einzelne Krebspatientinnen und -patienten haben zwar in gewissen klinischen Versuchen auf Gentherapien reagiert und auch davon profitiert, aber der grosse Durchbruch ist bisher nicht geeglückt. Trotz intensivster Bemühungen fehlt bis heute eine etablierte Gentherapie bei Krebs.

## Transgene Mäuse für die Gentherapie bei Krebs

«Wir lernen, dass es schwierig ist, Gentherapien an Tieren zu erproben», sagte James Wilson, einer der Gentherapie-Pioniere (Hillman 1996). Dass es nicht möglich ist, Resultate von der Maus direkt auf den Menschen zu extrapolieren, müssen somit auch die Gentherapeutinnen und Gentherapeuten erfahren (Anderson 1996, Strauss 1996). Da aber andere Methoden fehlen oder als unzureichend taxiert werden, gehören Tierversuche bei der Entwicklung von Gentherapien zum Forschungsalltag - trotz der grundsätzlichen Schwierigkeit, Gentherapien an Tieren zu modellieren.

Bei der Entwicklung von Gentherapien kommen auch transgene Mäuse zum Einsatz (Vogel 1997). Ob diese jedoch wirklich die äusserst wertvollen Versuchsobjekte sind, wie Fachleute glauben lassen, darf in Frage gestellt werden. So lassen sich in der Datenbank *medline* gerade mal 90 Treffer finden, wenn man mit der Stichwortkombination «Krebs, Gentherapie und transgene Mäuse» nach Publikationen aus der Zeit zwischen Januar 1990 und Oktober 2001 sucht. Zum Vergleich: Sucht man dieselbe Zeitspanne mit der Stichwortkombination «Krebs, Gentherapie und Nacktmäuse» ab, so zeigt das Resultat 585 Publikationen an (siehe Tabelle 2). Dass Nacktmäuse auch heute noch höher im Kurs liegen als die Transgenen, zeigt die Datenbank *medline* ebenfalls. Im Jahr 2000 wurden 132 Publikationen veröffentlicht, welche die Stichworte «Krebs, Gentherapie und Nacktmäuse» im Titel oder Abstract haben. Für die Kombination «Krebs, Gentherapie und transgene Mäuse» listet die Datenbank hingegen nur 17 Veröffentlichungen auf. Der Vergleich für das Jahr 1999: 92 Publikationen mit Nacktmäusen gegen 13 mit transgenen Mäusen. Auch wenn diese Resultate nur einen quantitativen Aspekt wiedergeben, so zeigen sie dennoch, dass transgene Mäuse nicht die Supermodelle sind, als die sie angepriesen wurden. Es mag zwar durchaus sein, dass einzelne transgene Mäuse sich als wertvoll für die präklinische Prüfung von Gentherapien bei Krebs erwiesen haben, aber alles in allem ist die Bedeutung der transgenen Mäuse für die Gentherapie bei Krebs nicht sehr gross. Das widerspiegelt sich auch in der Aussage von Christoph Rochlitz, Professor an der Abteilung für Onkologie des Kantonsspitals Basel. Aus seiner Sicht werden Gentherapien meistens an Nacktmäusen getestet und nur in Ausnahmefällen an transgenen Mäusen (siehe unten).

Stichwort 1	Stichwort 2	Stichwort 3	Anzahl Treffer
cancer	gene therapy		4572
cancer	gene therapy	transgenic mice	90
cancer	gene therapy	nude mice	585

**Tabelle 2:** Resultate einer *medline*-Suche mit den angegebenen Stichworten für die Zeitspanne zwischen Januar 1990 und Oktober 2001.

Transgene Tiere sind nicht die einzigen Modelle für präklinische Gentherapieversuche. Und die Modelle für präklinische Versuche sind wiederum nicht die einzige Voraussetzung, die für eine erfolgreiche Gentherapie erfüllt sein muss. Dazu gehört mehr. Rubanyi (2001) nennt folgende Voraussetzungen für eine erfolgreiche Krebstherapie: therapeutisch geeignete Gene, gute Genlieferungssysteme (virale und

nicht-virale Vektoren), der Beweis der Wirksamkeit und Sicherheit an geeigneten präklinischen Modellen und die Bereitstellung von klar definierten und gut präparierten Gentherapieprodukten für die klinische Forschung.

### Medline-Suche nach OncoMouse™ und Gentherapie

Welche Rolle spielen transgene Mäuse der Handelsmarke OncoMouse™ für die Entwicklungen von Gentherapien bei Krebs? Eine ungefähre Antwort erhält man in der Datenbank *medline*. Sucht man hier nach Publikationen, die Forschungsarbeiten mit OncoMouse™-Mäusen und Gentherapien beinhalten, so zeigt sich folgendes Bild: Seit 1990 sind 90 Publikationen veröffentlicht worden, die in ihrem Abstract oder ihrem Titel die Stichworte «Krebs, Gentherapie und transgene Mäuse» enthalten. In der selben Zeitspanne findet man acht Publikationen, wenn die Suche mit den für OncoMouse™-Mäuse typischen Gene durchführt wird (siehe Tabelle 3). Fünf dieser acht Veröffentlichungen stammen von einer Arbeitsgruppe in Italien, die Gentherapien an MMTV/c-neu-Mäusen erprobt. Die Abstracts aller acht Publikationen sind im Anhang wiedergegeben.

Stichwort 1	Stichwort 2	Stichwort 3	Stichwort 4	Anzahl Treffer
cancer	gene therapy			4572
cancer	gene therapy	transgenic	mice	90
cancer	gene therapy	v-Ha-ras	transgenic	0
cancer	gene therapy	neu	transgenic	7
cancer	gene therapy	c-myc	transgenic	1
cancer	gene therapy	c-myc	transgenic	0

**Tabelle 3:** Resultate einer medline Suche mit den angegebenen Stichworten für die Zeitspanne zwischen Januar 1990 und Oktober 2001.

Wie die Resultate der Datenbanksuche zeigen, fällt die quantitative Bedeutung von OncoMouse™-Mäusen für die Gentherapie bei Krebs eher bescheiden aus. Ob die OncoMouse™-Mäuse zu einem Heilungserfolg bei Krebspatientinnen und Krebspatienten beigetragen haben, beantwortet im Folgenden ein Kliniker.

### Heilungserfolg dank OncoMouse™? – Einschätzung eines Klinikers

Dank der Verwendung von OncoMouse™-Mäusen seien schon Krebspatientinnen oder Krebspatienten geheilt worden. Ob diese Aussage zutrifft? Ich habe dazu Christoph Rochlitz befragt. Christoph Rochlitz ist Professor an der Abteilung für Onkologie am Kantonspitals Basel.

B.V.: Wie schätzen Sie folgende Aussage ein: Dank der OncoMouse™ gelang es eine Gentherapie zu entwickeln, mit der krebskranke Menschen erfolgreich geheilt werden konnten?

Christoph Rochlitz: Es gibt bis heute keine etablierte Gentherapie bei Krebs. Einzelne Patienten haben zwar in gewissen klinischen Versuchen auf Gentherapien reagiert und sicherlich auch davon profitiert; mir ist aber kein Fall bekannt, in dem ein Krebspatient geheilt werden konnte. Es ist natürlich nicht ganz auszuschliessen,

dass in bisher unveröffentlichten klinischen Versuchen eine Heilung erzielt werden konnte. Doch das halte ich für wenig wahrscheinlich. Aus meiner Sicht ist der obigen Aussage sehr viel Skepsis entgegenzubringen. Zudem lässt sich nicht einfach sagen, dass sich eine erfolgreiche Gentherapie dank einer OncoMouse entwickeln lässt. Die OnkoMouse hat zwar viele Erkenntnisse gebracht, aber die Wahl der richtigen Vektoren ist letztendlich viel entscheidender für den Erfolg einer Gentherapie bei Krebs als die Verwendung von Onkomäusen.

B.V.: Welche Rolle spielen Onkomäuse für die präklinische Prüfung von Gentherapien bei Krebs?

Christoph Rochlitz: Onkomäuse haben sehr viele Erkenntnisse gebracht und zum besseren Verständnis der Krebsentstehung beigetragen. Die transgenen Mäuse sind deshalb sehr wertvoll und aus der heutigen Grundlagenforschung nicht mehr wegzudenken. Was ihre Anwendung in präklinischen Versuchen betrifft, so werden sie dort selten eingesetzt. Viel häufiger werden Gentherapien an Nacktmäusen getestet, denen man menschliches Krebsgewebe implantiert hat. Das hat den Vorteil, dass die Therapien an menschlichen Geweben erprobt werden können. Es kann sein, dass gewisse Arbeitsgruppen auch an Onkomäusen präklinische Tests durchführen, aber das sind eher Ausnahmen.

## 6. OnkoMouse™ und Krebsmedikamente

«It is argued that transplantable tumor models, with various modifications, might be made significantly more predictive than current models, and would thus constitute a more economic alternative to the use of large numbers of transgenic oncomice.»

Kerbel 1999

«Auch die Harvard-Maus hat für die Firma DuPont keine wirtschaftliche Bedeutung mehr. Sie ist vom technischen Standpunkt aus längst überholt (...).»

Studer & Surbeck 1998

### Lieber nackt als transgen

Wer in einer Substanz ein potentielles Krebsmittel zu erkennen glaubt, geht damit nicht direkt in die klinischen Versuche, sondern testet die krebsheilende Wirkung der Substanz erst in präklinischen Versuchen aus. Damit diese präklinischen Tests möglichst aussagekräftige Resultate bringen, sind geeignete Modellsysteme gefragt. Als die ersten transgenen Krebsmäuse hergestellt waren, hoffte man, ein geeignetes Modell gefunden zu haben. Bis heute haben sich die Hoffnungen aber selten erfüllt. Es gibt zwar Fälle, wo die Tumor hemmende Wirkung einer Substanz an transgenen Krebsmäusen getestet wird, aber es sind Ausnahmefälle. Transgene Mäuse sind teuer, schwer zu halten und liefern auch nicht bessere Resultate als andere Systeme – wie zum Beispiel Nacktmäuse. Wie eine Suche in der Datenbank *medline* zeigt, lassen sich denn auch weit aus mehr Publikationen zu Nacktmäusen und Krebs finden als zu transgenen Mäusen (siehe Tabelle 4). Dass Nacktmäuse in der präklinischen Forschung von Krebsmedikamenten viel häufiger verwendet werden als transgene Mäuse, bestätigt auch Doriano Fabbro von der Novartis Pharma AG. Laut ihm haben sich transgene Mäuse in der präklinischen Testung von Krebsmedikamenten nicht durchsetzen können.

Stichwort 1	Stichwort 2	subhead	Anzahl Treffer
cancer			382'458
cancer	transgenic mice		2476
"	"	therapeutic-use	117
"	"	drug-therapy	82
"	"	pharmacology	382
cancer	nude mice		8646
		therapeutic-use	2101
		drug-therapy	2057
		pharmacology	2343

**Tabelle 4:** Resultate einer *medline*-Suche mit den angegebenen Stichworten und Subheads für die Zeitspanne zwischen Januar 1987 und Oktober 2001.

### Geringes Interesse der Industrie

Als die ersten OncoMouse™-Mäuse hergestellt waren, wollte DuPont diese auch an die pharmazeutische Industrie verkaufen. Die zeigte aber kein Interesse daran, die patentierten Krebsmäuse einzusetzen. Schuld daran waren die hohen Gebühren, die DuPont anfänglich von den pharmazeutischen Firmen einforderte (siehe Kapitel 2). Doch auch nachdem DuPont die Gebührenklausel fallen liess, stieg das Interesse nicht an. So liegt der Grund für den Verzicht nicht länger in den hohen Preisen,

sondern im geringen Nutzen der OncoMouse™-Mäuse. So liefert The Jackson Laboratory zum Beispiel nur sehr selten OncoMouse™-Mäuse an die pharmazeutische Industrie (Joyce Peterson, Public Information Manager, The Jackson Laboratory, perönlische Kommunikation). Mit dem geringen Interesse der Chemie sind auch die Hoffnungen von DuPont verflogen, mit der OncoMouse™ als präklinisches Testmodell satte Gewinne zu machen. So schreiben Sonja Studer und Adrian Surbeck in einer Studie für die Fachstelle für Biosicherheitsforschung und Abschätzung von Technikfolgen in Basel (Studer & Surbeck 1998): Auch die Harvard-Maus hat für die Firma DuPont keine wirtschaftliche Bedeutung mehr. Sie ist vom technischen Standpunkt aus längst überholt.»

Es gibt Ausnahmen: Die Firma Merck zum Beispiel testet ein potentielles Krebsmittel an einer OncoMouse™ aus. Und Anne-Catherine Andres weiss im folgenden Abschnitt von einem an OncoMouse™-Mäusen getesteten Antikörper zu berichten, der zur Zeit in klinischen Versuchen getestet wird.

### **Kurzes Gespräch mit einer Klinikerin**

Welche Rolle spielen OncoMouse™-Mäuse für die Entwicklung von Krebsmedikamenten? Eine Antwort gibt im Folgenden Privatdozentin Dr. Anne-Catherine Andres. Sie ist an der Abteilung für Klinisch-Experimentelle Forschung am Tiefenausspital in Bern tätig und arbeitet seit mehreren Jahren auf dem Gebiet der Tumorforschung, im speziellen im Bereich von Onkogenen und transgenen Tiermodellen.

B.V.: In einem Interview mit Valentin Künig<sup>3</sup> machten Sie folgende Aussage: «Für die Krebstherapie gibt es bei der OncoMouse keine publizierte Anwendung.» Gilt diese Aussage auch heute noch?

Anne-Catherine Andres: Das Interview mit Valentin Künig fand vor sechs Jahren statt. Seither hat sich einiges geändert. Eine der Philip Leder Mäuse hat indirekt zu einem Therapie-Ansatz bei Brustkrebs geführt. Es ist die cerb-B2-Maus. Sie überexprimiert ein Onkogen, das auch bei dreissig Prozent der primären Brusstumore beim Menschen überexprimiert wird. An dieser cerb-B2-Maus hat man nun eine Therapie mit Antikörpern erprobt. Zur Zeit werden die Antikörper in klinischen Versuchen am Menschen getestet. Ob die Antikörper die erhofften Wirkungen zeigen werden, ist aber noch unklar.

Auch wenn die Antikörper an der cerb-B2-Maus getestet worden sind, so lässt sich nicht sagen, dass diese Maus unersetztlich gewesen wäre. Man hätte das durchaus auch anders machen können. So hat man die Tumor hemmende Wirkung der Antikörper auch an Nacktmäusen untersucht, denen zuvor menschliche Brustzellen eingespritzt worden sind. Die cerb-B2-Maus war an der Entwicklung des Therapie-Ansatzes beteiligt, sie ist aber nicht ausschlaggebend gewesen.

B.V.: Da das OncoMouse-Patent nicht nur die Krebsmäuse umfasst, die von Philip Leder an der Harvard University entwickelt wurden, sondern auch eine ganze Reihe

---

<sup>3</sup> Künig, V. (1995). Gutachten zur Bedeutung der Harvard-Onkomaus für die Krebsforschung und zur Reproduzierbarkeit des patentierten Verfahrens. Im Auftrag des Vereins «Keine Patente auf Leben». Bern.

anderer Mäuse, möchte ich die obige Frage auch in allgemeiner Art stellen: Kennen Sie Krebstherapien, die dank oder mit transgenen Krebsmäusen entwickelt worden sind?

Anne-Catherine Andres: Transgene Mäuse sind sehr gute und sehr effiziente Systeme für die Grundlagenforschung. In präklinischen Versuchen werden sie aber sehr selten eingesetzt. Da benutzt man eher immundefizite Mäuse, denen man menschliche Krebszellen einspritzt. Dies hat den Vorteil, dass man die Tumor hemmende Wirkung der Substanzen direkt an menschlichen Zellen untersuchen kann. Die cerb-B2-Maus ist die einzige OncoMouse die zu einem Therapieansatz geführt hat. Transgene Krebsmäuse sind wichtig für die Grundlagenforschung, haben aber keine direkte Anwendung für die Krebstherapie. Deshalb sind Patente auf Krebsmäuse auch nicht gerechtfertigt. Sie beschränken die Freiheit der Grundlagenforschung, weil sie den Zugang zu diesen Mäusen erschweren und die Preise für die Mäuse erhöhen.

## 7. OncoMouse™ und Toxikologie

«If the mouse model could serve as a standard toxicology test for the pharmaceutical industry, the model is likely to have significant sales, and a patent might be worthwhile.»

Abrams & Kaiser 2000

«Major advances to the use of the Tg:AC mouse include the ability to use less than 50% of the animals needed for a conventional study and the potential for documented results being available in approximately 6 month.»

Brusick 1999

«There should be a concerted effort to replace in vivo rodent carcinogenicity assays with more-relevant mechanistic approaches to ensure that history is not repeated.»

Zeller & Robert 1999

### **Gentechnisch veränderte Mäuse als Alternative zu bestehenden Verfahren**

Chemische Substanzen werden vor ihrer Vermarktung – sei es zum Beispiel als Medikament oder als Kosmetika – toxikologischen Prüfungen unterzogen. Diese Prüfungen werden unter anderem an Mäusen und Ratten durchgeführt. Da die Tests einige Schwächen aufweisen, sucht man nach besseren Alternativen. Gefunden haben will man sie in transgenen und knock-out Mäusen. Mit der Verwendung dieser Tiere wollen die Forschung und die Industrie drei Ziele erreichen: (1) die Resultate sollen schneller und ökonomischer erzielt werden; (2) die Resultate sollen aussagekräftiger werden; (3) die neuen Tests sollen – im Sinne des tierschützerischen 3R-Prinzips – die Anzahl der verwendeten Tiere vermindern (Donna Gulezian, Product Manager, Taconic Transgenic Division; persönliche Kommunikation). Bei den Kanzerogenitätstests scheinen Forschung und Industrie diesen drei Zielen nahe zu sein.

### **OncoMouse™ und der «2-year rodent bioassay»**

Ob Substanzen karzinogen wirken, wird heute in einem zweijährigen Verfahren an Mäusen und Ratten untersucht. Das Verfahren ist nicht nur langwierig, sondern auch mit unsicheren Resultaten behaftet; Verbesserungen sind gefragt. Eine mögliche Alternative sollen nun gentechnisch veränderte Mäuse bieten – darunter auch zwei, welche die Trademark OncoMouse™ tragen.

Der heutige wissenschaftliche Standard für Kanzerogenitätstests ist der sogenannte «2-year rodent bioassay»: Mäuse und Ratten werden zuerst während 104 Wochen den zu testenden Substanzen ausgesetzt, dann wird geprüft, ob die Substanzen in den Tieren neoplastische Wirkungen hatten. Obwohl der «2-year rodent bioassay» das Rückgrat der Kanzerogenitätstest bildet, weist er einige Mängel auf. Er ist nicht nur teuer (etwa eine Million US-\$ pro Substanz) und braucht viel Zeit, er liefert auch mit Fehlern behaftete Resultate (Zeller & Combes 1999, Taconic 1997). Denn trotz den mehrjährigen Erfahrungen und den wissenschaftlichen Fortschritten bleiben viele Zweifel und Fragen, wenn es darum geht, die Resultate aus dem Verfahren auf den Menschen zu übertragen. Doch nicht nur die Fehlerquelle wird als zu hoch taxiert, auch der Tierverschleiss wird es. Zwischen 400 und 600 Tiere müssen pro zu testende Substanz eingesetzt werden (Zeller & Combes 1999).

In den frühen 90er Jahren initiierte die International Conference on Harmonization (ICH) ein Projekt, das die Verwendung neuer Modelle für die Karzinogenitätstests zum Ziel hat (Sills et al. 2001). Seither sind zahlreiche Untersuchungen durchgeführt worden, wobei vier gentechnisch veränderte Mäuse besondere Berücksichtigung fanden: die beiden transgenen Mäuse Tg.AC und rasH2 sowie die beiden knock-out Mäuse p53+/- und XPA+/- (Gulezian et al. 2000, Tennant et al. 1995). Der mögliche Nutzen dieser vier Modelle wird in einem breit angelegten Validierungsprozess geprüft (Sils et al. 2001, Zeller & Combes 1999). Geleitet wird dieser Prozess vom International Life Science Institute (ILSI), das sich aus Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftlern aus der Regierung, der Industrie sowie aus der öffentlichen Forschung zusammen setzt.

Tg.AC und rasH2 sind OncoMouse™-Mäuse; Tg.AC wurde ursprünglich von Philip Leder an der Harvard University hergestellt, rasH2 stammt aus einer japanischen Forschungsgruppe. Beide OncoMouse™-Mäuse werden als vielversprechende Modelle für Kanzerogenitätstests gehandelt (Sils et al. 2001, Gulezian et al. 2000). Die Food and Drug Administration (FDA) soll die Tg.AC-Maus in gewissen Fällen bereits als Alternative zum «2-year rodent bioassay» anerkennen (Brusick 1998).

### **Reges Interesse der Industrie**

Die Firma Taconic hat eine exklusive Unterlizenz von DuPont, um die beiden Tg.AC und rasH2 OncoMouse™-Mäuse zu produzieren und zu vertreiben. Laut Angaben von Taconic sind sowohl die pharmazeutische Industrie als auch kommerzielle Toxikologie-Labors rege am Einsatz der Tg.AC und rasH2 Mäuse interessiert (Donna Gulezian, Product Manager, Taconic Transgenic Division; persönliche Kommunikation). So nehmen zum Beispiel mehrere, grosse pharmazeutische Unternehmen am Validierungsprozess der beiden Mausmodelle teil. Das Interesse ist gross, da die Industrie mit der Verwendung der transgenen Mäuse im Vergleich zum «2-year rodent bioassay» Geld und Zeit einsparen könnte. Sollten sich die beiden OncoMouse™-Modelle Tg.AC und rasH2 wirklich durchsetzen, so könnte sich das auch für DuPont lohnen. Laut Irene Abrams und Martine Kaiser vom Technology Licensing Office des Massachusetts Institute of Technology (MIT) ist die Verwendung als Standardmodell in toxikologischen Tests eine der wenigen Möglichkeiten, mit der sich mit einem Patent auf transgenen Mäusen überhaupt Geld verdienen lässt (Abrams & Kaiser 2000). Ob DuPont schon an den Tg.AC- und rasH2-Mäusen verdient hat, ist unklar. Ray Tennant von den National Institutes of Environmental Health Sciences (NIEH), der massgeblich für die Entwicklung der Tg.AC-Maus verantwortlich ist, hat gute Verbindung zu Philip Leder (Harvard University) und besitzt deshalb eine Tantiemen freie Lizenz für die Tg.AC Maus. Und auch die japanische Forschungsgruppe, welche die rasH2-Maus entwickelt hat, soll keine Probleme mit dem Patent gehabt haben, da DuPont keine Gebühren erhoben habe (NTP 1998). Sollten sich die beiden OncoMouse™-Mäuse in Zukunft als Standardmodelle durchsetzen, so dürfte dies DuPont Profit bringen. Ob es soweit kommen wird, ist unklar. Der Validierungsprozess sei bisher zwar insofern erfolgreich verlaufen, als dass er die Schwächen und Stärken der beiden OncoMouse™-Mäuse aufgedeckt habe, er sei aber noch nicht endgültig abgeschlossen worden (Donna Gulezian, Product Manager, Taconic Transgenic Division; persönliche Kommunikation). Was die

Schwächen der OncoMouse™-Mäuse betrifft, so stellt sich die Frage, ob die transgenen Bioassays wirklich der Schritt in die richtige Richtung sind.

### **Transgene Bioassays – ein Schritt in die richtige Richtung?**

Angesichts der rund 1000 Substanzen, die pro Jahr neu auf den Markt kommen, sind die 400 bis 600 Mäuse und Ratten unhaltbar, die heute für den Kanzerogenitätstest einer einzelnen Substanz eingesetzt werden. Und wenn die Tests zudem oft noch falsche Daten liefern, sollte der «2-year rodent bioassay» endgültig durch bessere Methoden ersetzt werden. Ursprünglich sind die transgenen Tg.AC- und rash2-Mäuse genau mit diesem Ziel gefördert worden. Zeit- und Kosteneinsprungen, bessere Resultate und verminderte Tierzahl – so lautet die Werbung, mit der die transgenen Mäuse propagiert werden. Was die Zeiteinsparungen betrifft, so hat sich im Validierungsprozess aber nun gezeigt, dass sie nicht so gross sind, da man die Versuche immer länger machen musste. Und auch die Anzahl der eingesetzten Tiere musste gegenüber dem Anfang erhöht werden (Zeller & Combes 1999). Bleibt die Verbesserung der Datenqualität. Doch auch hier scheinen die anfänglichen Hoffnungen zu hoch gewesen zu sein. So wird befürchtet, dass die transgenen Mäuse konstant übersensitiv reagieren, womit das Risiko für den Menschen überschätzt würde (Mepham et al. 1998). Zudem produzieren die transgenen Mäuse unvorhersehbare Resultate. Weshalb sie das tun, weiss man nicht genau. Auf jeden Fall sei es schwierig, mit den transgenen Mäusen reproduzierbare Daten zu erhalten (Zeller & Combes 1999). Reproduzierbare Daten gehören aber zu den Voraussetzungen eines Bioassays. Wie auch immer. Eine Befragung der Industrie zeigte 1999 folgendes Bild (CMR 1999): Etwa die Hälfte der befragten Firmen glaubt, dass die neuen Verfahren wissenschaftlich relevantere Daten liefern als der alte Bioassay. Die andere Hälfte schätzt die Datenqualität der neuen Verfahren als gleich oder schlechter ein.

Transgene Mäuse sind nicht die einzige mögliche Alternative zum «2-year rodent bioassay». Es gibt auch *in vitro*-Systeme, die als Kanzerogenitätstests in Frage kommen. So evaluiert das International Life Science Institute (ILSI) neben den transgenen Mäusen auch ein *in vitro* System, den sogenannten «SHE cell transformation assay» (Combes et al. 1999). Neben diesem Nagerzellensystem wird zudem auch an Assays gearbeitet, die auf menschlichen Zellen beruhen (Zeller & Combes 1999). Wie die transgenen Mäuse weisen auch die *in vitro*-Systeme Schwächen und Stärken auf. Aus Sicht von Anne-Marie Zeller und Robert D. Combes (beide FRAME) verdienen die *in vitro*-Ansätze aber mehr Aufmerksamkeit. Denn sie könnten nicht nur einen Tierversuch ersetzen, sondern auch karzinogene Substanzen identifizieren, die für den Menschen relevant sind. Die transgenen Mäuse hingegen dürften nur die Resultate des «2-year rodent bioassay» duplizieren (Zeller & Combes 1999). Alles in allem und in den Worten von Zeller und Combes: «There should be a concerted effort to replace *in vivo* rodent carcinogenicity assays with more relevant mechanistic approaches to ensure that history is not repeated.» (Zeller & Combes 1999).

## 8. Literatur

- Abrams, I. & Kaiser, M. (2000). Licensing transgenic mice. *The Journal of the Association of University Technology Managers* [www.autm.net/pubs/journal/00/transgenicmice.html](http://www.autm.net/pubs/journal/00/transgenicmice.html).
- Adams, J.M., Harris, A.W., Pinkert, C.A., Corcoran, L.M., Alexander, W.S., Cory, S., Plamiter, R.D. & Brinster, R.L. (1985). The c-myc oncogene driven by immunoglobulin enhancers induces lymphoid malignancy in transgenic mice. *Nature* **318**: 533 – 538.
- Anderson, W.F. (2000). Gene therapy scores against cancer. *Nature Medicine* **6(8)**: 862.
- Anderson, W.F. (1996). End-of-the-year-potpourri-1996. *Human Gene Therapy* **7**: 2201 – 2202.
- Andres, A., Schonenberger, C., Groner, B., Hennighausen, L., LeMeur, M. & Gerlinger, P. (1987). Ha-ras oncogene expression directed by a milk protein gene promoter: tissue specificity, hormonal regulation, and tumor induction in transgenic mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* **84**: 1299 – 1303.
- Berns, A. (2001). Improved mouse models. *Nature* **410**: 1043 – 1044.
- Blumenthal, D., Causino, N. & Campell, E.G. (1997). Academic industry research relationships in genetics: A field apart. *Nature Genetics* **16**: 104 – 108.
- Brusick, D. (1998). Transgenics in pharmaceutical development: an evolving role. *Biopharmaceutical Focus* **3(1)**: [www.biotech.wisc.edu/Education/transgenics.pdf](http://www.biotech.wisc.edu/Education/transgenics.pdf)
- Cavanaugh, J. (2001). Golden opportunity – or overwhelming obstacle? John Hopkins Magazine, February 2001. [www.jhu.edu/~jhumag/0201web/patent.html](http://www.jhu.edu/~jhumag/0201web/patent.html)
- CMR (1999). Industry strategies for Carcinogenicity testing. CMR International, R&D Briefing **19**: <http://www.cmr.org/pdfs/rd19.pdf>
- Combes, R., Balls, M., Curren, R., Fischbach, M., Fusenig, N., Kirkland, D., Lasne, C., Landolph, J., LeBoeuf, R., Marquardt, H., McCormick, J., Müller, L., Rivedal, E., Sabbioni, E., Tanaka, N., Vasseur, P. & Yamasaki, H. (1999). Cell transformation assays as predictors of human carcinogenicity. *ATLA* **27**: 745 – 767.
- Dalton, R. (2000a). Researchers caught in dispute over transgenic mice patents. *Nature* **404**: 319 – 320.
- Dalton, R. (2000b). Patent suit on Alzheimer's mouse rejected... *Nature* **405**: 989.
- Flanagin, A. (2000). Conflict of interest. In: Jones, A. & McLellan, F. (eds.), *Ethical issues in biomedical publication*. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, MD, pp. 137 – 165.
- Friedberg, M., Saffran, B., Stinson, T.J., Nelson, W. & Bennett, C.L. (1999). Evaluation of conflict of interest in new drugs used in oncology. *Journal of the American Medical Association* **282**: 1453 – 1457.

- Fox, J.L. (1993). Transgenic mice fall far short. *Bio/Technology* **11**: 663.
- Gibbs, W. (1996). The price of silence: does profit-minded secrecy retard scientific progress? *Scientific American* **275**: 15 – 16.
- Gold, E.R. (1999). Making room: reintegrating basic research, health policy, and ethics into patent law. In: Caulfield, T.A. & Williams-Jones, B. (eds.), *The commercialization of genetic research*. Kluver Academic/Plenum Publishers, New York, pp. 63 – 78.
- Gulezian, D., Jacobson-Ram, D., McCullough, C.B., Olson, H., Recio, L., Robinson, D., Storer, R., Tennant, R., Ward, J.M. & Neumann, D.A. (2000). Use of transgenic animals for carcinogenicity testing: considerations and implications for risk assessment. *Toxicologic Pathology* **28(3)**: 482 – 499.
- Guy, C.T., Webster, M.A., Schaller, M., Parsons, T.J., Cardiff, R.D., Muller, W.J.. (1992). Expression of the neu protooncogene in the mammary epithelium of transgenic mice induces metastatic disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* **89**: 10578 – 10582.
- Harris, N. (1999). It's time to "out" the selfish researchers. *Nature* **398**: 102.
- Heller, M.A. & Eisenberg, R.S. (1998). Can patents deter innovation? The anticommons in biomedical research. *Science* **280**: 698 – 701.
- Hennighausen, L. (2000a). Mouse models for breast cancer. *Breast Cancer Research* **2**: 2 – 7.
- Hennighausen, L. (2000b). Mouse models for breast cancer. *Oncogene* **19**: 966 – 967.
- Hillman, A.L. (1996). Gene therapy: socioeconomic and ethical issues. A roundtable discussion. *Human Gene Therapy* **7**: 1139 – 1144.
- Jhappan, C., Stahle, C., Harkins, R.N., Fausto, N., Smith, G.H. & Merlino, G.T. (1990). TGF-alpha overexpression in transgenic mice induces liver neoplasia and abnormal development of the mammary gland and pancreas. *Cell* **61**: 1137 – 1146.
- Kerbel, R.S. (1999). What is the optimal rodent model for anti-tumor drug testing? *Cancer and Metastasis Reviews* **17(3)**: 301 – 304.
- Kräusslich, H. (1994). legal protection of living organisms from the point of view of scientists in animal breeding. In: Vogel, F. & Grunwald, R. (eds.), *Patenting of human genes and living organisms*. Springer, Heidelberg, p. 65 – 75.
- Krimsky, S. et al. (1996). Financial interests of authors in scientific publications. *Science and Engineering Ethics* **2/4**: 396 – 410.
- Küng, V. (1995). Gutachten zur Bedeutung der Harvard-Onkomaus für die Krebsforschung und zur Reproduzierbarkeit des patentierten Verfahrens. Im Auftrag des Vereins «Keine Patente auf Leben». Bern.
- Leder, A., Kuo, A., Cardiff, E., Sinn, E. & Leder, P. (1990). V-Ha-ras transgene abrogates the initiation step in mouse skin tumorigenesis: Effects of phorbol esters and retinoic acid. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* **87**: 9178 – 9182.

- Li, B., Rosen, J.M., McMenamin-Balano, J., Muller, W.J. & Perkins, A.S. (1997). neu/ERBB2 cooperate with p53-172H during mammary tumorigenesis in transgenic mice. *Molecular and Cellular Biology* **17**: 3155 – 3163.
- Malakoff, D. (2000). The rise of the mouse, biomedicine's model mammal. *Science* **288**: 248 – 253.
- Marshall, E. (2000a). A deluge of patents creates legal hassles for research. *Science* **288**: 255 – 257.
- Marshall, E. (2000b). NIH cuts deal on the use of OncoMouse. *Science* **287**: 567.
- Marshall, E. (1998). NIH, DuPont declare truce in mouse war. *Science* **281**: 1261 – 1262
- Marshall, E. (1997). The mouse that prompted a roar. *Science* **277**: 24 – 25.
- Marshall, E. (1996). Secretiveness found widespread in life science. *Science* **276**: 523 – 525.
- Matsui, Y., Halter, S.A., Holt, J.T., Hogan, B.L.M., Coffey, R.J. (1990). Development of mammary hyperplasia and neoplasia in MMTV-TGF $\alpha$  transgenic. *Cell* **61**: 1147 – 1155.
- Mepham, T.B., Combes, R.D., Balls, M., Barbieri, O., Blokhuis, H.J., Costa, P., Crilly, R.E., de Cock Buning, T., Delpire, V.C., O'Hare, M.J., Houdebine, L.-M., van Kreijl, C.F., van der Meer, M., Reinhardt, C.A., Wolf, E. & van Zeller, A.-M. (1998). The use of transgenic animals in the European Union. *ATLA* **26**: 21 – 43.
- Meuwissen, R., Jonkers, J. & Berns, A. (2001). Mouse models for sporadic cancer. *Experimental Cell Research* **264**: 100 – 110.
- Moore, A. (2001). Of mice and mendel. *EMBO Reports* **21(7)**: 554 – 558.
- Muller, W.J., Sinn, E., Pattengale, P.K., Wallace, R. & Leder, P. (1988). Single-step induction of mammary adenocarcinoma in transgenic mice bearing the activated c-neu oncogene. *Cell* **54**: 105 – 115.
- Munthe, C. & Wellin, S. (1996). The morality of scientific openness. *Science and Engineering Ethics* **2/4**: 411 – 428.
- Nadis, S. (1999). US concern grows over secrecy clauses. *Nature* **284**: 359.
- NAS (1994). Sharing laboratory resources: genetically altered mice. National Research Council. National Academy Press, Washington, D.C.
- NIH (2000). NIH and E.I. DuPont sign OncoMouse agreement. *NIH News Release* 01/19/2000. [www.nih.gov/news/pr/jan2000/od-19.htm](http://www.nih.gov/news/pr/jan2000/od-19.htm)
- NTP (1998). National Toxicology Program Board of Scientific Counselors, February 5-6, 1998 Summary Minutes. [http://ntp-server.niehs.nih.gov/htdocs/Liason/BSC\\_Feb5.html](http://ntp-server.niehs.nih.gov/htdocs/Liason/BSC_Feb5.html)
- Resnik, D. (1998). Conflicts of interest in science. *Perspectives on Science* **6/4**: 381 – 408.
- Rochlitz, C.F. (2001). Gene therapy for cancer. *Swiss Medical Weekly* **131**: 4 – 9.
- Rubanyi, G.M. (2001). The future of human gene therapy. *Molecular Aspects of Medicine* **22**: 113 – 142.

Saitoh, A., Kimura, M., Takahashi, R., Yokoyama, M., Nomura, T., Izawa, M., Sekiya, T., Nishimura, S., & Katsuki, M. (1990). Most tumors in transgenic mice with human c-Ha-ras gene contained somatically activated transgenes. *Oncogene* **5**: 1195 – 12000.

Sandgren, E.P., Schroeder, J.A., Qui, T.H., Palmiter, R.D., Brinster, R.L. & Lee, D.C. (1995). Inhibition of mammary gland involution is associated with transforming growth factor alpha but not c-myc-induced tumorigenesis in transgenic mice. *Cancer Research* **55**: 3915 – 3927.

E.V. Schmidt et al., 1988. Transgenic mice bearing the human c-myc gene activated by an immunoglobulin enhancer: A pre-B-cell lymphoma model. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* **85**: 6047 – 6051.

Sills, R.C., French, J.E. & Cunningham, M.L. (2001). New models for assessing carcinogenesis: an ongoing process. *Toxicology Letters* **120**: 187 – 198.

Sinn, E., Muller, W., Pattengale, P., Tepler, I., Wallace, R. & Leder, P. (1987). Coexpression of MMTV/v-Ha-ras and MMTV/c-myc genes in transgenic mice: Synergistic action of oncogenes in vivo. *Cell* **49**: 465 – 475.

Smaglik, P. (2000). NIH cancer researchers to get free access to OncoMouse. *Nature* **403**: 350.

Stepanova, L., Finegold, M., DeMayo, F., Schmidt, E.V., Harper, J.W. (2000). The oncoprotein kinase chaperone CDC37 functions as an oncogene in mice and collaborates with both c-myc and cyclin D1 in transformation of multiple tissues. *Molecular and Cellular Biology* **20**: 4462 – 4473.

Stewart, T.A., Pattengale, P.K. & Leder, P. (1984). Spontaneous mammary adenocarcinomas in transgenic mice that carry and express MTV/myc fusion genes. *Cell* **38**: 627 – 637.

Strauss, M. (1996). Gene transfer on ist long path to therapeutic application. *Journal of Molecular Medicine* **74**: 167 – 169.

Studer, S. & Surbeck, A. (1998). Patente auf gentechnisch veränderten Organismen. *BATS-Report 2/98*, Fachstelle für Biosicherheitsforschung und Abschätzung von Technikfolgen des Schwerpunktprogrammes Biotechnologie, Basel.

Taconic (1997). 2-Tier transgenic bioassays studied to improve carcinogenesis testing. *Research Review Animal* **1(4)**: [www.taconic.com/newsltrs/march97/march97a.htm](http://www.taconic.com/newsltrs/march97/march97a.htm).

Tenant, R.W., French, J.E. & Spalding, J.W. (1995) Identifying chemical carcinogens and assessing potential risk in short-term bioassays using transgenic mouse models. *Environmental Health Perspectives* **103(10)**: 942 – 950.

Then, C. & Schweiger, T. (1999). Gene, Monopole und „Life-Industry“. Greenpeace Deutschland, [www.greenpeace.de/GP\\_DOK\\_3P/HINTERGR/C05HI54.HTM](http://www.greenpeace.de/GP_DOK_3P/HINTERGR/C05HI54.HTM).

Vogel, F. & Grunwald, R. (eds.) (1994). Patenting of human genes and living organisms. Springer, Heidelberg.

Vogel, B. (1997). Tappt die medizinische Forschung in die Mausefalle? WWF Schweiz und Ärzte und Ärztinnen gegen Tierversuche.

Wadman, M. (1999). NIH strives to keep resource sharing alive. *Nature* **399**: 291

- Wadman, M. (1998a). DuPont opens up access to genetics tool. *Nature* **394**: 819.
- Wadman, M. (1998b). NIH 'should help sharing of research tools'. *Nature* **393**: 505.
- Wadman, M. (1996). Commercial interests delay publications. *Nature* **379**: 574.
- Zeller van, A.-M. & Combes, R.D. (1999). Transgenic mouse bioassays for carcinogenicity testing: a step in the right direction? *ATLA* **27**: 839 – 846.

## **9. Anhang**

### **Adressen der kontaktierten Personen und Firmen**

Doriano Fabbro  
Novartis Pharma AG  
4002 Basel  
Tel: 0041-61-324 11 11  
doriano.fabbro@pharma.novartis.com

Konrad Becker  
Leiter Patent- und Marketingabteilung  
Novartis Services AG  
Lichtstrasse 35  
4002 Basel  
Tel 0041-61-324 11 11

Prof. Dr.med. Christoph Rochlitz  
Abteilung für Onkologie  
Kantonsspital  
Petersgraben 4  
4031 Basel  
Tel: 0041-61-265 50 74  
Fax: 0041-61-265 53 16  
Christoph.Rochlitz@unibas.ch

PD Dr. Anne-Catherine Andres  
Dept. Klinische Forschung Tiefenau  
Tiefenaustrasse 120  
3004 Bern  
Tel 0041-31-308 80 17  
Fax 0041-31-308 80 28  
andres@dkf3.unibe.ch

The Jackson Laboratory  
Office of Public Information  
600 Main Street  
Bar Harbor, Maine 04609-1500  
Tel 001-207-288 60 51  
Fax 001-207-288 60 76  
pubinfo@jax.org

Joyce Peterson  
Public Information Manager  
The Jackson Laboratory  
600 Main Street  
Bar Harbor, ME 04609-1500  
Tel. 207-288-6058  
Fax 207-288-6076  
joyce@jax.org

Donna Gulezian  
Product Manager  
Taconic Transgenic Division  
Tel 001-203-245 39 70  
Fax 001-203-245 57 59  
dgul@taconic.com

Taconic  
273 Hover Avenue  
Germantown, NY 12526  
Tel 001-518-537 62 08  
Fax 001-518-537 33 16  
custserv@taconic.com

J. Gregory Townsend  
Associate Director, Commercial Development  
DuPont Intellectual Assets Business  
P O Box 80708  
Wilmington, Delaware 19880-0708  
Fax 001-302-999 41 48  
j-gregory.townsend@usa.dupont.com

Charles River Laboratories, Inc.  
Customer Service Department:  
251 Ballardvale Street  
Wilmington, MA 01887-1000  
Fax 001-978-658 71 32

John P. Walsh  
Associate Professor  
Department of Sociology  
1007 W. Harrison St, 4112BSB  
University of Illinois at Chicago  
Chicago, IL 60607-7140  
Tel: 001-312-996 46 63  
Fax: 001-312-996 51 04  
JWalsh@uic.edu

Sheldon Krimsky  
Dept. of Urban and Env. Policy  
Tufts University  
sheldon.krimsky@tufts.edu

### **Web-Adressen**

Charels River	<a href="http://www.criver.com">www.criver.com</a>
International Life Science Institute	<a href="http://www.ilsi.org/">www.ilsi.org/</a>
National Cancer Institute	<a href="http://www.nci.nih.gov">www.nci.nih.gov</a>
National Center for Toxicological Research	<a href="http://www.fda.gov/nctr/">www.fda.gov/nctr/</a>
National Institutes of Environmental Health Sciences	<a href="http://www.niehs.nih.gov/">www.niehs.nih.gov/</a>
National Institute of Health	<a href="http://www.nih.gov">www.nih.gov</a>
Taconic	<a href="http://www.taconic.com">www.taconic.com</a>
The Jackson Laboratory	<a href="http://www.jax.org">www.jax.org</a>

**NIH / DuPont OncoMouse™-Agreement**

Die Vereinbarung zwischen dem National Institute of Health und DuPont ist im Folgenden im Wortlaut wiedergegeben. Die Vereinbarung ist abrufbar unter: <http://ott.od.nih.gov/textonly/oncomous.htm>.

**Memorandum of Understanding**  
between  
**E.I. DuPont de Nemours and Company**  
and  
**Public Health Service**  
U.S. Department of Health and Human Services

This Memorandum Of Understanding (hereinafter "Agreement"), effective July 1, 1999, by and between the Public Health Service of the U.S. Department of Health and Human Services as represented by the Office of Technology Transfer, having an address at National Institutes of Health, 6011 Executive Boulevard, Suite 325, Rockville, Maryland 20852 ("PHS") and E.I. DuPont de Nemours and Company, a Delaware corporation having a principal place of business at 1008 Market Street, Wilmington, Delaware 19898 ("DuPont"). PHS and DuPont are referred to herein as the "Parties".

WHEREAS certain technologies claimed in U.S. Patents 4,736,866, 5,087,571 and 5,925,803, and corresponding foreign patents, concerning transgenic non-human mammals and cells derived therefrom containing a recombinant activated oncogene sequence, that have usefulness in basic research conducted or funded by PHS as well as utility for commercial applications; and

WHEREAS PHS has a basic mission on behalf of the U.S. government for the conduct and support of health research performed at its own facilities or through funding agreements to other institutions ("Recipient Institutions"); and

WHEREAS U.S. Patents 4,736,866, 5,087,571 and 5,925,803, and corresponding foreign patents, and any patents granted on any divisional and continuation applications thereof ("Harvard Patent Rights") have been exclusively licensed to DuPont by Harvard University.

NOW, THEREFORE, the Parties hereby agree to the following terms and conditions regarding use of Harvard Patent Rights for research conducted by PHS or Recipient Institutions.

(1) DuPont agrees that PHS can use without cost the Harvard Patent Rights for its biomedical research purposes, provided however, that such research purposes specifically excludes the use of any transgenic non-human mammals (or cells derived therefrom) which are covered by the Harvard Patent Rights ("Material") for any commercial purpose or for the direct benefit of any for-profit institution. Accordingly and without limitation, PHS is not permitted under this Agreement to use any Material to test compounds for any commercial purpose or for the direct benefit of any for-profit institution or use the Materials for the production of products for any commercial purpose or for the direct benefit of any for-profit institution. Any such use is outside the scope of this Agreement and shall only be permitted by DuPont under the terms

of a separate written agreement between PHS and DuPont or as otherwise permitted to PHS under its authorities as a U.S. government agency.

(2) If in the course of its research program PHS makes a Material that it wishes to transfer to a non-profit institution, PHS agrees that it may do so only under a Material Transfer Agreement incorporating at least the following conditions:

- (a) The non-profit institution may use the Material for its internal noncommercial research purposes only. The Material will not be used for any commercial purpose or for the direct benefit of any for-profit institution (except as may be permitted under a written agreement between the non-profit institution and DuPont). Accordingly and without limitation, the recipient non-profit institution is not permitted under this Material Transfer Agreement to use any Material to test compounds for any commercial purpose or for the direct benefit of any for-profit institution or use the Materials for the production of products for any commercial purpose or for the direct benefit of any for-profit institution.
- (b) The Material may not be transferred by the non-profit institution to any third parties (except as may be permitted under a written agreement between the non-profit institution and DuPont).
- (c) The non-profit institution is notified by PHS of the existence of Harvard Patent Rights and the exclusive license thereof to DuPont, and that the restrictions set forth under (a) and (b) above shall exist only during the term of the Harvard Patent Rights.
- (d) With respect to further license rights under the Harvard Patent Rights, the non-profit institution should contact:

Director, Corporate Technology Transfer  
E.I. DuPont de Nemours and Company  
Chestnut Run Plaza, 708/138B  
Wilmington, Delaware 19807-0708  
telephone: 302-999-3249  
fax number: 302-999-3254

with copy to:

Vice President, Product Planning & Acquisition  
DuPont Pharmaceuticals Company  
974 Centre Road, Chestnut Run Plaza, WR722  
Wilmington, Delaware 19807-2802  
fax number: 302-992-3040

(3) If in the course of its research program PHS makes a Material that it wishes to transfer to a for-profit institution, PHS agrees that it may do so only under a License or Material Transfer Agreement incorporating at least the following conditions:

- (a) The for-profit institution is notified by PHS of the existence of Harvard Patent Rights and the exclusive license thereof to DuPont.
- (b) The for-profit institution is notified by PHS that upon its application for a License or Material Transfer Agreement, PHS will be providing notice to

DuPont of the identity of both the for-profit institution and the Material to be transferred.

(c) The for-profit institution is notified by PHS that use of the Material requires a license from DuPont and that a fee (in addition to any fee or royalty payable to PHS) will be payable to DuPont by the for-profit institution in consideration of transfer of the Material to the for-profit institution (except as may be otherwise permitted under a written agreement between the for-profit institution and DuPont).

(d) No license is granted either expressly or by implication to the for-profit institution by PHS to Harvard Patent Rights.

(e) With respect to license rights under the Harvard Patent Rights, the for-profit institution should contact:

Director, Corporate Technology Transfer  
E.I. DuPont de Nemours and Company  
Chestnut Run Plaza, 708/138B  
Wilmington, Delaware 19807-0708  
telephone: 302-999-3249  
fax number: 302-999-3254

with copy to:

Vice President, Product Planning & Acquisition  
DuPont Pharmaceuticals Company  
974 Centre Road, Chestnut Run Plaza, WR722  
Wilmington, Delaware 19807-2802  
fax number: 302-992-3040

PHS agrees to provide DuPont prompt notification of the identity of the for-profit institution and the Material to be transferred in accordance with (b) above.

(4) Upon DuPont's written request, PHS agrees to provide without cost reasonable quantities of any Material that it makes in the course of its research program to DuPont for research purposes.

(5) DuPont agrees that it shall make Harvard Patent Rights available for use by non-profit Recipient Institutions under separate written agreements in accordance with the terms and conditions outlined above. DuPont agrees that any non-profit Recipient Institutions currently licensed under the Harvard Patent Rights may amend its license, in a separate written agreement, in accordance with the terms and conditions outlined above.

(6) This Agreement and the obligations hereunder shall be in effect only during the term of the Harvard Patent Rights.

IN WITNESS WHEREOF, the Parties agree to the foregoing and have caused this Agreement to be executed by their duly authorized representatives.

**E.I. DuPont de Nemours  
and Company**

By: /s/

Name: Dr. Randolph J. Guschl

Title: Director, Corporate Technology Transfer

**Public Health Service**

By: /s/ 18 January 2000

Name: Dr. Maria C. Freire

Title: Director, Office of  
Technology Transfer,  
National Institutes of Health

## Abstracts der Artikel zur OncoMouse™ und Gentherapie

Die folgenden acht Artikel wurden in der Datenbank *medline* gefunden – und zwar mit den Stichworten «cancer and gene therapy and neu and transgenic» bzw. «cancer and gene therapy and c-myc and transgenic».

TI: Retrovirus-mediated IL-4 gene therapy in spontaneous adenocarcinomas from MMTV-neu transgenic mice.

AU: Sacco M, Benedetti S, Cato EM, Caniatti M, Ceruti R, Scanziani E, Pirola B, Villa A, Finocchiaro G, Vezzoni P.

AD: Department of Human Genome and Multifactorial Diseases, Istituto di Tecnologie Biomediche Avanzate, CNR, Segrate (MI), Italy.

SO: Gene Ther 1999 Nov;6(11):1893-7

JN: Gene Therapy

AB: Gene therapy approaches to the treatment of experimental cancer are usually based on established neoplastic cell lines which are manipulated *in vitro* and subsequently transplanted in host animals. However, the relevance of these artificial models to the biology and therapy of human tumors is uncertain. We have previously validated an experimental model based on MMTV-neu transgenic mice in which breast tumors arise spontaneously in 100% of animals and have many features in common with their human counterpart, including the involvement of the *neu* oncogene and the ability to metastasize. In this article we report the effect of intratumoral, retrovirus-mediated, IL-4 expression on the growth of breast tumors arising in these mice. The size of IL-4 inoculated tumors on the right side was significantly smaller than that of contralateral untreated tumors, suggesting a local effect of IL-4. In addition, the non-injected tumors on the left side of treated animals were significantly smaller than those arising in control transgenic mice, suggesting that IL-4 can also inhibit tumor growth systemically. These findings suggest that IL-4 gene transfer can significantly reduce the growth rate of spontaneously arising breast tumors and that immune-based gene therapy could efficiently complement other approaches based on different mechanisms, such as suicide gene transfer or antisense technology.

TI: Local regression of breast tumors following intramammary ganciclovir administration in double transgenic mice expressing *neu* oncogene and herpes simplex virus thymidine kinase.

AU: Sacco MG, Mangiarini L, Villa A, Macchi P, Barbieri O, Sacchi MC, Monteggia E, Fasolo V, Vezzoni P, Clerici L.

AD: Istituto di Tecnologie Biomediche Avanzate, CNR, Milano, Italy.

SO: Gene Ther 1995 Sep;2(7):493-7

JN: Gene Therapy

AB: Females from a mouse lineage transgenic for the activated rat *neu* oncogene under the control of the mouse mammary tumor virus (MMTV) long terminal repeat (LTR) all develop breast tumors with high reproducibility within the first 2-3 months of life. These animals were crossed with mice from a lineage transgenic for the herpes simplex virus thymidine kinase gene (HSVtk) under the control of its own promoter and polyoma enhancer. Double transgenic mice (for both *neu* and tk) developed breast neoplasias with the same kinetics as the *neu*-only mice. Tumor-bearing double transgenic mice, treated intratumorally with the antiviral agent ganciclovir (GCV), showed an inhibiting effect on tumor growth. However, this effect was not seen either on GCV-treated *neu*-only transgenic mice or on saline-injected controls. This suggests that tk-engineered breast tumors are susceptible to GCV administered locally, and implies that *neu*-mice could be a useful model for testing the effectiveness of HSVtk-bearing vectors followed by systemic GCV on breast cancer cells.

TI: In vitro and in vivo antisense-mediated growth inhibition of a mammary adenocarcinoma from MMTV-neu transgenic mice.

AU: Sacco MG, Barbieri O, Piccini D, Noviello E, Zoppe M, Zucchi I, Frattini A, Villa A, Vezzoni P.

AD: Istituto di Tecnologie Biomediche Avanzate, CNR, Milan, Italy.

SO: Gene Ther 1998 Mar;5(3):388-93

JN: Gene Therapy

AB: Oncogene-bearing transgenic mice develop various kinds of tumors depending on both the regulatory sequences and the specific oncogene used. These mice not only help to clarify the pathogenetic pathways leading to tumor formation, but can also be useful as models to test novel therapeutic strategies, including gene therapy. We have previously reported the establishment of an MMTV-neu (ErbB-2) transgenic mouse lineage, in which 100% of females develop breast tumors with many features similar to their human counterparts; these tumors are due to the over-expression of the activated rat *neu* oncogene in the mammary gland. From one such mouse we established a cell line of mammary adenocarcinoma named MG1361. We report here that the growth of this cell line can be inhibited *in vitro* and *in vivo* by transfection of a plasmid vector carrying an antisense anti-*neu* construct. This inhibitory effect is specific, as it is related to the expression of the antisense transgene (determined by RT-PCR), and to a reduction in *neu* mRNA and protein, as determined by Northern and Western blot analyses. Moreover, inoculation of cells carrying the antisense or the control vector in nude mice

demonstrated that the morphological and biochemical effects elicited by the antisense construct resulted in a significantly slower rate of *in vivo* growth of tumor xenografts. Finally, significant mammary tumor growth inhibition was obtained after liposome-mediated direct inoculation of the same antisense vector in tumors spontaneously arising in MMTV-neu mice. Taken together, these findings suggest that targeting neu expression by an integrated large anti-neu antisense segment affects the *in vivo* growth of these tumors.

TI: Establishment and characterization of a new mammary adenocarcinoma cell line derived from MMTV neu transgenic mice.

AU: Sacco MG, Gribaldo L, Barbieri O, Turchi G, Zucchi I, Collotta A, Bagnasco L, Barone D, Montagna C, Villa A, Marafante E, Vezzoni P.

AD: Istituto di Tecnologie Biomediche Avanzate, CNR, Milano, Italy.

SO: Breast Cancer Res Treat 1998 Jan;47(2):171-80

JN: Breast Cancer Research and Treatment

AB: A new murine cell line, named MG1361, was established from mammary adenocarcinomas arising in a MMTV-neu transgenic mouse lineage where breast tumors develop in 100% of females, due to the overexpression of the activated rat neu oncogene in the mammary gland. The MG1361 cell line shows an epithelial-like morphology, has a poor plating efficiency, low clonogenic capacity, and a doubling time of 23.8 hours. Karyotype and flow cytometry analysis revealed a hypotetraploid number of chromosomes, whereas cell cycle analysis showed 31.2% of cells to be in the G1 phase, 21.4% in S and 47.4% in G2 + M. This cell line maintains a high level of neu expression *in vitro*. The MG1361 cell line was tumorigenic when inoculated in immunodeficient (nude) mice and the derived tumors showed the same histological features as the primary tumors from which they were isolated. MG1361 cells were positive for specific ER and PgR binding which was competed by tamoxifen, making this cell line useful for the evaluation of endocrine therapy. Moreover, they were sensitive to etoposide treatment, suggesting that they could be a model for the study of chemotherapy-induced apoptosis. As the tumors arising in MMTV-neu transgenic mice have many features in common with human mammary adenocarcinomas (Sacco et al., Gene Therapy 1995; 2: 493-497), this cell line can be utilized to perform basic studies on the role of the neu oncogene in the maintenance of the transformed phenotype, and to test novel protocols of therapeutic strategies.

TI: Partial regression, yet incomplete eradication of mammary tumors in transgenic mice by retrovirally mediated HSVtk transfer 'in vivo'.

AU: Sacco MG, Benedetti S, Duflot-Dancer A, Mesnil M, Bagnasco L, Strina D, Fasolo V, Villa A, Macchi P, Faranda S, Vezzoni P, Finocchiaro G.

AD: Istituto di Tecnologie Biomediche Avanzate, CNR, Milan, Italy.

SO: Gene Ther 1996 Dec;3(12):1151-6

JN: Gene Therapy

AB: Mice transgenic for the activated rat neu oncogene under the control of the mouse mammary tumor virus long terminal repeat (MMTV-LTR) (neu+ mice), develop breast tumors in 100% of cases. We have previously reported that double transgenic mice obtained from crossing neu+ mice with mice transgenic for the herpes simplex virus thymidine kinase (HSVtk) gene can be used as a suitable model to test the 'suicide gene' strategy for mammary tumor gene therapy *in vivo*. In the present study, we evaluated the efficacy of the HSVtk/ganciclovir (GCV) system in the neu+ mice by inoculating cells producing a retroviral vector bearing the HSVtk gene in the mammary tumors on one side of the animals, and comparing their weight with that of the contralateral tumors, after systemic GCV administration. A statistically significant effect of this therapy was clearly seen ( $P < 0.001$ ) but complete eradication of the tumors could not be achieved. This was not due to the inefficient delivery of GCV, as no HSVtk expression was detected in the residual tumors, but could be related to the low transduction efficiency (< 10%) and to inability of the 'bystander effect' (probably due to the absence of functional gap-junctions among mammary tumor cells) to kill nontransduced neoplastic cells. These data suggest that results obtained by *in vivo* models using transplanted tumor cell lines as targets for gene therapy might not be immediately transferable to spontaneously arising tumors in animals or humans.

TI: DNA vaccination with full-length or truncated neu induces protective immunity against the development of spontaneous mammary tumors in HER-2/neu transgenic mice.

AU: Amici A, Smorlesi A, Noce G, Santoni G, Cappelletti P, Capparuccia L, Coppari R, Lucciarini R, Petrelli C, Provinciali M.

AD: General Physiology (Laboratory of Genetic Immunization), Department of Biology MCA, University of Camerino, Camerino, Italy.

SO: Gene Ther 2000 Apr;7(8):703-6

JN: Gene Therapy

AB: Genetic immunization against tumor antigens is an effective way to induce an immune response able to oppose cancer progression. Overexpression of HER-2/neu can lead to neoplastic transformation and has been found in many human primary breast cancers. We constructed DNA expression vectors encoding the full-length neu oncogene of rat cDNA (pCMV-NeuNT), the neu extracellular domain (pCMV-ECD), or the neu extracellular

and transmembrane domains (pCMV-ECD-TM). We evaluated whether i.m. injection of these plasmids induces protection against the development of mammary tumors occurring spontaneously in FVB/N neu-transgenic mice. We found that pCMV-ECD-TM induced the best protection, whereas both pCMV-ECD and pCMV-NeuNT were less effective. The coinjection with a bicistronic vector for murine IL-12 increased the efficacy of pCMV-ECD and pCMV-NeuNT plasmids, and led to the same protection obtained with pCMV-ECD-TM alone. Anti-neuECD antibodies were detected in pCMV-ECD-TM vaccinated mice and, after coinjection with pCMV-IL12 plasmids, they appeared also in animals immunized with pCMV-ECD. Our data demonstrate the effectiveness of DNA vaccination using truncated Neu plasmids in inducing antitumor protection in a spontaneous mammary tumor model.

TI: Antisense c-myc retroviral vector suppresses established human prostate cancer.

AU: Steiner,-M-S; Anthony,-C-T; Lu,-Y; Holt,-J-T

AD: Department of Urology, Vanderbilt University School of Medicine, Nashville, TN 37235, USA.

SO: Hum-Gene-Ther. 1998 Mar 20; 9(5): 747-55

JN: Human-gene-therapy

AB: Prostate cancer eventually becomes androgen resistant, resumes growth, and kills the patient.

Characterization of genetic events that lead to androgen refractory prostatic neoplasia has revealed the frequent overexpression of c-myc and uncontrolled prostate cancer proliferation. A novel strategy to combat advanced prostate cancer utilized a replication incompetent retrovirus that contained the mouse mammary tumor virus (MMTV) promoter within the retroviral vector to allow transcription of antisense c-myc gene within target prostate tumor cells. The transduction of cultured DU145 cells by XM6:MMTV-antisense c-myc RNA retrovirus did not affect cell proliferation in culture, yet a single direct injection of MMTV-antisense c-myc viral media into established DU145 tumors in nude mice produced a 94.5% reduction in tumor size compared to tumors treated with control virus MTMV sense fos and untreated tumor by 70 days. Two animals in the antisense c-myc-treated group had complete regression of their tumors. Histopathological examination of the tumors revealed that MMTV-antisense c-myc-transduced DU145 tumors had increased tumor cell differentiation, decreased invasion, and a marked stromal response. The mechanism for the antitumor effect of MMTV-antisense c-myc retrovirus appears to be suppression of c-myc mRNA and protein, and decreased bcl-2 protein. The in vivo transduction of prostate cancer cells with MMTV-antisense c-myc retroviruses reduced tumor growth by suppressing c-myc, resulting in the down-regulation of bcl-2 protein. Consequently, the MMTV-antisense c-myc retrovirus may be useful for gene therapy against advanced, hormone-refractory prostate cancer.

TI: Insertion of the DNA for the 163-171 peptide of IL1beta enables a DNA vaccine encoding p185(neu) to inhibit mammary carcinogenesis in Her-2/neu transgenic BALB/c mice.

AU: Rovero S, Boggio K, Carlo ED, Amici A, Quaglino E, Porcedda P, Musiani P, Forni G.

AD: Department of Clinical and Biological Sciences, University of Turin, Orbassano, Italy.

SO: Gene Ther 2001 Mar;8(6):447-52

JN: Gene Therapy

AB: An assessment was made of the effectiveness of DNA vaccination in prevention of the mammary adenocarcinomas of BALB/c female mice transgenic for the activated rat Her-2/neu oncogene. Atypical hyperplasia is evident in their mammary glands when they are 6 weeks old and in situ carcinoma by the 13th week. Palpable invasive carcinomas appear around the 17th week and are always evident in all 10 glands by the 33rd week. Intramuscular vaccinations with 100 microg plasmid DNA encoding the extracellular domain of the Her-2/neu p185 (ECD) performed at the 6th, 12th, 18th and 24th week provided no significant protection, whereas those ECD plasmids in which the DNA coding for the immunomodulatory 163-171 (VQGEESNDK) nonapeptide of human IL1beta (ECD-IL1betap) had been inserted both delayed carcinogenesis and reduced tumor multiplicity. This reduction was associated with a marked immune-inflammatory reaction and a conspicuous leukocyte infiltrate located in the stroma surrounding the hyperplastic mammary ductal-alveolar structures. It was also directly correlated with a high anti-p185(neu) antibody production and an immunoglobulin switch to IgG2a and IgA. No anti-p185(neu) cytotoxic response was found. No significant protection was obtained when the DNA coding for the non-active peptide 189-197 of IL1beta was inserted.