

Aan de staatssecretaris van
Infrastructuur en Milieu
Mevrouw S.A.M. Dijkma
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 13 oktober 2017

KENMERK CGM/171013-02

ONDERWERP Advies klinische studie met TEG001 ter behandeling van hematologische en solide tumoren

Geachte mevrouw Dijkma,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende de vergunningaanvraag IM-MV 16-011 met de titel: 'TEG001 – T cells retrovirally engineered to express a gamma-delta T cell receptor (gamma-deltaTCR) (clone 5)' van het Universitair Medisch Centrum Utrecht, deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is gevraagd om te adviseren over een klinische studie met TEG001 in patiënten met hematologische of solide tumoren. TEG001 zijn lichaamseigen T-cellen die door genetische modificatie een $\gamma\delta$ T-cel receptor ($\gamma\delta$ TCR) tot expressie brengen. Deze genetisch gemodificeerde (gg-)T-cellen worden vervolgens teruggeplaatst in de patiënt om een effectieve afweerreactie tegen tumoren te bewerkstelligen. Het doel van de klinische studie is om de veiligheid en effectiviteit van TEG001 te bepalen.

Mogelijke risico's die bij deze klinische studie kunnen optreden, hebben vooral betrekking op de eventuele vorming en verspreiding van replicatiecompetent retrovirus (RCR), de aanwezigheid van vrije virusdeeltjes in het medisch product en de eventuele verspreiding van de gg-T-cellen in het milieu.

De COGEM kan niet uitsluiten dat er bij de productie van de retrovirale vector RCR gevormd wordt. De aanvrager voert meerdere testen uit om de aanwezigheid van RCR in de virale vector uit te sluiten. De COGEM acht deze testen toereikend en de kans op de aanwezigheid van RCR in de virale vector verwaarloosbaar klein. Door de kweek- en wasprocedures tijdens de productie van de gg-T-cellen, worden eventueel aanwezige infectieuze virusdeeltjes zodanig verdund, dat er nauwelijks tot geen infectieuze virusdeeltjes in het medisch product zitten wanneer het aan de patiënt wordt toegediend. Indien de gg-T-cellen door een incident in derden terecht komen, acht de COGEM de kans op nadelige effecten verwaarloosbaar klein. De patiënt-specifieke T-cellen worden bij andere mensen direct door het immuunsysteem afgestoten en kunnen buiten het lichaam niet overleven. Wel wil de COGEM de aanvrager adviseren om patiënten die met TEG001 behandeld zijn, af te laten zien van het geven van borstvoeding.

Op basis van bovenstaande gegevens is de COGEM van mening dat met in achtneming van een aantal genoemde voorwaarden, de risico's voor mens en milieu verbonden aan deze klinische studie met TEG001 verwaarloosbaar klein zijn.



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

Hoogachtend,

Prof. dr. ing. Sybe Schaap
Voorzitter COGEM

c.c. Drs. H.P. de Wijs, Hoofd Bureau ggo
 Mr. J.K.B.H. Kwisthout, Ministerie van IenM

Klinische studie met TEG001 – retroviraal getransduceerde T-cellen met een $\gamma\delta$ T-cel receptor

COGEM advies CGM/171013-02

1. Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over een vergunningaanvraag (IM-MV 16-011) met betrekking tot een klinische studie waarbij TEG001 aan patiënten met hematologische of solide tumoren worden toegediend. TEG001 zijn lichaamseigen T-cellen die, na *ex vivo* retrovirale transductie, een $\gamma\delta$ T-cel receptor ($\gamma\delta$ TCR) tot expressie brengen. De genetische gemodificeerde (gg-)T-cellen worden vervolgens teruggeplaatst in de patiënt om een anti-tumor respons te bewerkstelligen. Het doel van de klinische studie is om de veiligheid en effectiviteit van TEG001 te bepalen. De werkzaamheden voor deze studie zullen worden uitgevoerd in het Universitair Medisch Centrum Utrecht (UMCU).

1.1 $\gamma\delta$ T-cel receptoren ($\gamma\delta$ TCR)

T-cellen vormen een onderdeel van het adaptieve immuunsysteem en zijn in staat om een breed onderscheid te maken tussen antigenen afkomstig van lichaamseigen eiwitten en niet-lichaamseigen eiwitten. De brede antigeen-herkenning door T-cellen is te danken aan de aanwezigheid van een T-cel receptor (TCR) op de celmembraan. Een TCR bestaat uit een heterodimeer van ofwel een α - en β -keten ($\alpha\beta$ TCR) óf een γ - en δ -keten ($\gamma\delta$ TCR). Zowel $\alpha\beta$ T-cellen als $\gamma\delta$ T-cellen ontwikkelen zich vanuit eenzelfde voorloper T-cel. Deze voorloper T-cel differentieert in de thymus (zwezerik) waarbij één van beide type TCRs tot expressie komt. $\alpha\beta$ T-cellen kunnen geen $\gamma\delta$ TCR tot expressie brengen en *vice versa*. Een $\alpha\beta$ TCR herkent 'major histocompatibility complex' (MHC)-moleculen die peptiden van lichaamseigen of lichaamsvreemde eiwitten presenteren. In tegenstelling tot $\alpha\beta$ TCRs functioneren $\gamma\delta$ TCRs voornamelijk onafhankelijk van MHC-moleculen.¹

Hoewel $\gamma\delta$ T-cellen gerekend worden tot het adaptieve immuunsysteem vanwege de aanwezigheid van een TCR en de vorming van 'memory'-cellen na activatie, hebben ze ook eigenschappen die toe te schrijven zijn aan het aangeboren immuunsysteem, zoals het vermogen tot fagocytose en een snelle activatie en proliferatie in de acute fase van een infectie.² In bloed en lymfe komen nauwelijks $\gamma\delta$ T-cellen voor (0.5%-5% van de T-cellen), maar in de darmmucosa bevinden zich hogere $\gamma\delta$ T-celaantallen. Het is nog niet volledig duidelijk welke antigenen door $\gamma\delta$ T-cellen worden herkend, maar het is beschreven dat $\gamma\delta$ TCRs van het type V γ 9V δ 2TCR onder andere (E)-4-hydroxy-3-methyl-but-2-enyl pyrofosfaat (HMB-PP) herkennen.³ Deze microbiële metaboliet is een natuurlijke 'intermediate' van de 'non-mevalonaat pathway' in de biosynthese van isopentenyl pyrofosfaat (IPP). Daarnaast is bekend dat $\gamma\delta$ T-cellen met een V γ 9V δ 2TCR een gewijzigde conformatie van het eiwit 'butyrophilin subfamily 3 member A1' (BTN3A1) op de celmembraan van tumorcellen kunnen herkennen, wat leidt tot een anti-tumorrespons door dit type $\gamma\delta$ T-cellen. De gewijzigde conformatie van BTN3A1 wordt veroorzaakt door een gewijzigd metabolisme in de tumorcel.⁴ Doordat $\gamma\delta$ T-cellen met een V γ 9V δ 2TCR in lage aantallen voorkomen in het menselijk lichaam, is een natuurlijke anti-tumorrespons door deze T-cellen doorgaans niet effectief.

De aanvrager wil de herkenning van BTN3A1 door T-cellen met een V γ 9V δ 2TCR aangrijpen als immunotherapie ter bestrijding van zowel hematologische als solide tumoren. Om dit te bereiken wil de aanvrager het aantal T-cellen met een V γ 9V δ 2TCR verhogen door op $\alpha\beta$ T-cellen van kankerpatiënten een $\gamma\delta$ TCR (V γ 9V δ 2) tot expressie te brengen. De aanvrager is voornemens om T-cellen uit het bloed van patiënten met hematologische of solide tumoren te isoleren en $\gamma\delta$ TCR (V γ 9V δ 2) in deze cellen tot expressie te brengen middels retrovirale transductie door een 'TEG001 virale vector'. De gg-T-cellen (TEG001) worden vervolgens teruggeplaatst in de patiënt en de aanvrager hoopt op deze wijze een effectieve anti-tumor respons in de patiënten te bewerkstelligen.

1.2 Retrovirussen

Retrovirussen (*Retroviridae*) zijn RNA virussen die veelvuldig worden toegepast als genoverdrachtsysteem. Een dergelijk systeem zorgt voor een stabiele integratie in het genoom van een geïnfecteerde cel. Er kunnen diverse retrovirale vectoren voor dit doel gebruikt worden, waaronder lentivirale vectoren die afgeleid zijn van het *Human immunodeficiency virus* type 1 (HIV-1) en vectoren gebaseerd op het gammaretrovirus *Murine leukemia virus* (MLV). MLV bevat maar enkele genen die coderen voor eiwitten betrokken bij de productie van nieuwe virusdeeltjes, namelijk *gag*, *pro*, *pol* en *env*. Het *gag* gen codeert voor verscheidene structurele eiwitten, terwijl het *pro* gen codeert voor het eiwit protease. Het *pol* gen codeert voor de eiwitten reverse transcriptase, die het virale RNA omzet naar DNA bij infectie van een gastheercel, en integrase die het DNA in het chromosomale DNA van de gastheercel inbrengt. Het *env* gen codeert voor een oppervlakte- en transmembraaneiwit, dat ervoor zorgt dat het virale membraan fuseert met het membraan van de gastheercel waardoor het virus de cel kan infecteren.^{5,6}

1.3 De retrovirale vector

In deze vergunningaanvraag wordt een hybride retrovirale vector beschreven die gebaseerd is op het Moloney Murine leukemia virus (MoMLV; een stam van de soort MLV). Het MoMLV is een ecotroop muizenvirus dat leukemie kan veroorzaken bij muizen. Het virus is echter alleen pathogeen wanneer de infectie optreedt in pasgeboren muizen en er sprake is van meerdere integraties en persisterende viremie.⁷ Tot op heden is er geen bewijs gevonden dat MoMLVs en andere gammaretrovirussen infecties in mensen kunnen veroorzaken en ook zijn er geen causale verbanden tussen blootstelling aan MoMLV virussen en ziekte bij mensen aangetoond.^{7,8} Het virus infecteert alleen delende cellen, is niet-lytisch en integreert in het genoom van een geïnfecteerde cel waar het aanwezig blijft als een DNA provirus. De extracellulaire halfwaardetijd van MoMLV wordt geschat op 6 à 8 uur.⁹

De aanvrager is voornemens om met behulp van een virale vector (de TEG001 virale vector) de gg-T-cellen (TEG001) te genereren die een $\gamma\delta$ TCR (V γ 9V δ 2) tot expressie brengen. Voor de productie van deze TEG001 virale vector is een replicatie-deficiënte gammaretrovirale vector genaamd MP71 als uitgangspunt genomen. MP71 is afgeleid van de dl587rev mutant van het MoMLV.

De productie van TEG001 vindt plaats door derden en is reeds vergund. Zodoende maakt de productie van TEG001 geen onderdeel uit van de onderhavige vergunningaanvraag. Ter informatie volgt

hieronder een beschrijving van de productie van de replicatie-deficiënte TEG001 virale vector en TEG001.

1.4 Productie van de replicatie-deficiënte TEG001 virale vector

De aanvrager gebruikt als startpunt een pMP71:TCR γ -T2A-TCR δ plasmide. Dit plasmide codeert voor een MP71 virale vector die replicatie-deficiënt is omdat de *gag*, *pol* en *env* sequenties uit het genoom verwijderd zijn. In dit plasmide is een TCR γ -T2A-TCR δ gen-cassette geplaatst. De 5' en 3' long terminal repeats (LTRs) van de MP71 virale vector zijn niet zelf-inactiverend (niet-SIN) en zijn samengesteld uit sequenties van verschillende gammaretrovirussen. De backbone van het plasmide dat codeert voor de MP71 virale vector wijkt op 2 nucleotide posities af van de beschreven referentiesequentie van het MP71 plasmide. Aangezien beide afwijkingen gelegen zijn in een niet-coderend deel van het plasmide, beargumenteert de aanvrager dat deze afwijkingen geen milieurisico vormen.

De gen-cassette in het pMP71:TCR γ -T2A-TCR δ plasmide codeert voor één transcript met zowel de γ - als δ -keten van de TCR waartussen zich een T2A sequentie, afkomstig van *Thosea asigna virus*, bevindt. De T2A sequentie is een '2A ribosomal skipping sequence' waarvan de aanwezigheid in het gevormde mRNA resulteert in excisie van dit fragment tijdens de eiwittranslatie, waardoor de TCR γ -keten en TCR δ -keten als twee aparte eiwitten in de cel tot expressie komen.

De TEG001 virale vector die wordt gebruikt om TEG001 te produceren, wordt in twee stappen gegenereerd. Eerst wordt de pMP71:TCR γ -T2A-TCR δ plasmide in HEK293T cellen getransfecteerd samen met plasmiden coderend voor MLV *gag/pol* en VSV-G *env* (G-envelop gen van *Vesicular stomatitis virus*). Als gevolg hiervan wordt replicatie-deficiënt virus geproduceerd dat gepseudotypeerd is met VSV-G. In een tweede stap worden 293Vec-RD114 'packaging cells' getransduceerd met het VSV-G gepseudotypeerde virus uit stap 1. De 293Vec-RD114 'packaging cells' betreft een stabiele cellijn waarin MLV *gag/pol* en RD114 tot expressie komen. Als gevolg van deze tweede stap ontstaat replicatie-deficiënt virus dat gepseudotypeerd is met RD114. Expressie van RD114 zorgt voor een breder tropisme van de MP71 virale vector, zodat het onder andere humane T-cellen kan infecteren die de receptor voor RD114, genaamd ASCT, tot expressie brengen.¹⁰

Vervolgens wordt de 'cell clone' met de hoogste virustiter vastgesteld en geselecteerd als 'Master Cell Bank' (MCB). De MCB produceert dus de TEG001 virale vector: RD114-gepseudotypeerde retrovirale virusdeeltjes die het virale RNA coderend voor het transgen (TCR γ -T2A-TCR δ) bevatten.

In de MCB is het 'TEG001 insert' (provirale DNA met TCR γ -T2A-TCR δ expressie cassette) geïncorporeerd in het genoom. De aanvrager heeft met behulp van 'targeted locus identification' (TLA) en 'next generation sequencing' (NGS) de exacte sequentie van het 'TEG001 insert' in de MCB vastgesteld. Er zijn door de aanvrager vijf sequentievarianten van het 'TEG001 insert' geïdentificeerd. Het betreft vier puntmutaties en één insertie waarvan de aanvrager stelt dat ze geen milieurisico vormen, omdat ze zich in niet-coderende delen van het 'TEG001 insert' bevinden. Dezelfde mutaties werden ook geïdentificeerd in TEG001 na transductie van T-cellen met de TEG001 virale vector.

De aanvrager is niet voornemens om van iedere TEG001 batch de exacte sequentie van het 'TEG001 insert' te bepalen. In plaats daarvan zal zij een functionele test uitvoeren waarbij expressie van de $\gamma\delta$ TCR op de celmembraan van TEG001 wordt bepaald.

1.5 Productie van TEG001

Om TEG001 te produceren worden T-cellen na isolatie uit de patiënt met de TEG001 virale vector getransduceerd met een maximale dosis van 3×10^9 virusdeeltjes per batch. De T-cellen worden vervolgens gedurende minstens 7 dagen *in vitro* geactiveerd en geëxpandeerd met behulp van 'beads' die 'gecoat' zijn met anti-CD3 en anti-CD28 antilichamen. Na zuivering van TEG001 wordt er getest op afwezigheid van microbiële groei. Vervolgens is TEG001 gereed om aan de patiënt toegediend te worden.

De aanvrager heeft berekend dat de virus reductiefactor minimaal 123 bedraagt, wat resulteert in gemiddeld 0,008 vrije virusdeeltjes in het TEG001 eindproduct. De aanvrager concludeert hieruit dat het aantal vrije virusdeeltjes voldoende gereduceerd is in de TEG001 producten op het moment van toediening.

2. Voorgenomen werkzaamheden

TEG001 wordt intraveneus toegediend aan maximaal 250 patiënten met verschillende typen hematologische of solide tumoren. TEG001 bevindt zich in een infuuszak en er is geen direct contact van personen met de cellen voor, tijdens en na de toediening, anders dan de proefpersoon. Personeel dat de infuuszak hanteert, draagt beschermende kleding en handschoenen.

De aanvrager is van plan te starten met een enkele dosis van 1×10^7 TEG001/kg lichaamsgewicht. In toekomstige klinische studies is de aanvrager van plan het aantal cellen dat toegediend wordt eventueel te vergroten naar maximaal 1×10^{12} TEG001/kg verspreid over 20 doses. De patiënten blijven na toediening van TEG001 gedurende minstens een week gehospitaliseerd. Dit wordt gedaan uit veiligheidsoverwegingen en niet vanuit het oogpunt van verspreiding van TEG001. Volgens de aanvrager is er namelijk geen sprake van uitscheiding van TEG001 na toediening.

Tijdens de 'follow-up' van de patiënten zullen bloed en één of meerdere beenmerg- en tumorbipten worden afgenomen. De patiënt mag na toediening van de gg-T-cellen levenslang geen organen, bloed of bloedproducten doneren. Tevens stelt de aanvrager dat de getransduceerde T-cellen alleen via bloed of lymfe buiten het lichaam kunnen komen en dat de T-cellen niet kunnen overleven buiten het lichaam. Daarnaast acht de aanvrager het onwaarschijnlijk dat TEG001 in het lichaam van andere individuen dan de patiënt kan komen tijdens of na de toediening. Mocht dit in het uitzonderlijke geval toch gebeuren, dan zal het afweersysteem van de ontvanger, vanwege een allogene immunologische 'mismatch', TEG001 opruimen. De aanvrager hanteert daarnaast het exclusie criterium dat patiënten in deze klinische studie vrij dienen te zijn van infectie met de humane retrovirussen HIV-1, HIV-2, HTLV-1 en HTLV-2, en de hepatitisvirussen HBV en HCV.

3. Eerder COGEM advies

De COGEM heeft eerder geadviseerd over klinische studies met retroviraal getransduceerde humane T-cellen. In 2011 is geadviseerd over een behandelmethode van retroviraal getransduceerde T-cellen tegen huidkanker.¹¹ De COGEM kon in eerste instantie niet positief adviseren over deze studie

aangezien de aangeleverde gegevens ontoereikend bleken. De COGEM kon niet verifiëren dat de vectorbatch vrij was van replicatiecompetent retrovirus (RCR) en tevens niet uitsluiten dat er vrije vectordeeltjes aanwezig waren in het preparaat dat aan de patiënt zou worden toegediend. Nadat de aanvrager aanvullende informatie hieromtrent had aangeleverd was de COGEM in haar tweede advies van oordeel dat de milieurisico's van deze studie verwaarloosbaar klein zijn.¹²

Daarnaast heeft de COGEM geadviseerd over klinische studies met retroviraal of lentiviraal getransduceerde T-cellen waarbij gg-T-cellen werden ingezet als behandelmethode tegen leukemie¹³ en tegen B-cel maligniteiten.^{14,15,16} De COGEM achtte de milieurisico's verbonden aan deze klinische studies verwaarloosbaar klein, hoewel in een enkel geval door de COGEM verzocht werd om een uitgebreidere moleculaire karakterisering.¹⁶

4. Overweging

In de onderhavige aanvraag wordt TEG001 toegediend aan patiënten met hematologische of solide tumoren. Mogelijke risico's die hierbij kunnen optreden hebben betrekking op (1) de eventuele vorming van RCR of recombinant virus, (2) de aanwezigheid van vrije virusdeeltjes en (3) de effecten van mogelijke verspreiding van de gg-T-cellen in het milieu. Door deze verspreiding zouden andere personen dan de deelnemende patiënten geïnfecteerd kunnen raken met de gg-T-cellen of met een recombinant virus. Om eventuele milieurisico's die hieruit voortvloeien te kunnen beoordelen, is een gedegen karakterisering van de gg-T-cellen van belang.

4.1 Moleculaire karakterisering

De COGEM heeft in een eerder advies criteria voor de moleculaire karakterisering van ggo's voor medische toepassingen vastgesteld. Hierin staat vermeld dat het insert in het ggo volledig gesequenced dient te worden. De sequentieanalyse dient het insert met eventueel gebruikte recombinatiesequenties te omvatten en dient aan weerszijden van het insert enkele tientallen nucleotiden door te lopen in het genoom van het acceptororganisme.¹⁷ De COGEM is van mening dat de aanvrager deze informatie betreffende de TEG001 virale vector voldoende heeft overlegd. De aanvrager heeft twee mutaties in de 'backbone' van het MP71 plasmide geïdentificeerd, alsmede vijf sequentievarianten gevonden van het 'TEG001 insert' in de MCB en de TEG001 producten. De COGEM is het eens met het oordeel van de aanvrager dat deze mutaties geen risico vormen voor mens en milieu.

Voor de productie van het medisch product worden de eigen T-cellen van iedere patiënt gebruikt. Hierdoor is het medisch product voor iedere patiënt uniek. De aanvrager geeft aan dat de sequentie van het 'TEG001 insert' niet in elk TEG001 eindproduct gecontroleerd wordt. Wel wordt de expressie van de $\gamma\delta$ TCR op TEG001 bepaald. De moleculaire karakterisering van de gg-T-cellen door de aanvrager is daarom beperkt.

Aangezien de posities waar de retrovirale vector in het gastheergenoom kan integreren tot op zekere hoogte willekeurig zijn, zorgt dit binnen het medisch product voor verschillen tussen de getransduceerde cellen onderling. Ook kan de COGEM niet geheel uitsluiten dat er tijdens het productieproces van het medisch product enkele puntmutaties in het geïntegreerde virale vectorgenoom in de T-cellen ontstaan. Met het oog op de genoemde verschillen tussen de

getransduceerde cellen acht de COGEM een exacte moleculaire karakterisering van het ‘TEG001 insert’ in de TEG001 eindproducten mogelijk, maar praktisch gezien nauwelijks haalbaar. De COGEM is van mening dat de beperkte moleculaire karakterisering van TEG001 door de aanvrager in de onderhavige vergunningaanvraag afdoende is, omdat een willekeurige integratie van het ‘TEG001 insert’ in het genoom van TEG001, en de puntmutaties die zich in het ‘TEG001 insert’ kunnen voordoen, niet zullen leiden tot een milieurisico dat anders is dan verwaarloosbaar klein.

4.2 De kans op vorming van RCR of recombinant virus

Vorming van RCR tijdens de productie van de virale vector

Een mogelijk risico bij de productie van retrovirale vectordeeltjes is het ontstaan van RCR. In theorie zou RCR kunnen ontstaan door recombinatie tussen de verschillende plasmiden benodigd voor de productie van de virale vector, of met endogene retrovirussequenties die in het genoom van de gebruikte cellijn aanwezig zijn.

In deze aanvraag wordt gebruik gemaakt van een retrovirale vector waaruit de genen die essentieel zijn voor de levenscyclus van het virusdeeltje, *gag*, *pro*, *pol* en *env*, zijn verwijderd. De vector is hierdoor niet meer in staat om te repliceren. De genen voor deze virale eiwitten zijn geïntegreerd in een cellijn waardoor de virale eiwitten tot expressie komen, of bevinden zich op helperplasmiden die in de cellijn getransfecteerd worden. Omdat de essentiële genen zich niet in de vector bevinden, zijn er meerdere recombinaties nodig om een replicatiecompetente vector te verkrijgen en wordt de kans op het ontstaan van RCR verminderd.¹⁸ Het risico kan verder verkleind worden door minimalisatie van de sequentiehomologie tussen de vector, helperplasmiden en de ‘packaging’ cellijnen. De COGEM acht de kans op het ontstaan van RCR tijdens de productie van de retrovirale vector door de homologe regio’s groter dan bijvoorbeeld bij derde-generatie lentivirale productiesystemen waarover in 2016 is geadviseerd.¹⁴ Echter, om het hele genoom te reconstrueren zullen twee recombinatie ‘events’ nodig zijn om een infectieus virusdeeltje te construeren. De COGEM is van mening dat theoretisch gezien de kans op het ontstaan van RCR bij de productie van de virale vector zeer klein, maar niet uitgesloten is. De COGEM stelt daarom dat een RCR test ter bevestiging van de theoretische risicoanalyse noodzakelijk is. De aanvrager voert verscheidene testen uit om de eventuele aanwezigheid van RCR te bepalen in de MCB. Hoewel een uitgebreide specificering van deze testen niet is aangeleverd door de aanvrager, is de COGEM bekend met deze testen uit voorgaande vergunningaanvragen. De COGEM acht de testen gevoelig genoeg om RCR te detecteren en oordeelt dat de kans verwaarloosbaar klein is dat met deze uitgevoerde testen RCR wordt gemist.

Recombinatie of complementatie van de vector in het medisch product

In theorie zou recombinatie met of complementatie van de virale vector ook kunnen plaatsvinden in de getransduceerde T-cellen met mogelijk het ontstaan van RCR of recombinant virus tot gevolg, indien een verwant retrovirus in dezelfde cel de verloren functies van de vector kan complementeren. De aanvrager geeft aan dat de patiënten worden getest op de aanwezigheid van onder andere humane retrovirussen HIV-1, HIV-2, HTLV-1 en HTLV-2 en de hepatitisvirussen HBV en HCV. Indien patiënten met één van deze virussen geïnfecteerd zijn, worden ze uitgesloten van deelname aan de

studie. Door het gehanteerde exclusie criterium is de COGEM van mening dat de T-cellen die gebruikt worden voor de productie van het medisch product geen relevante humane retrovirussen zullen bevatten. Hierdoor is de kans op complementatie of recombinitie van de, in de virale vector ontbrekende *gag*, *pro*, *pol* en *env* componenten verwaarloosbaar klein.

Ook bij een mogelijke retrovirale infectie van de patiënt na toediening van TEG001 acht de COGEM de kans op een milieurisico verwaarloosbaar klein, omdat een muizengammaretrovirus vanwege beperkte sequentiehomologie, slecht gecomplementeerd kan worden door humane lentivirussen of endogene retrovirussen.

De aanvrager heeft in verscheidene TEG001 aangetoond dat geen RCR aanwezig was. Mede op grond hiervan is de aanvrager niet voornemens om op de aanwezigheid van RCR te testen voor ieder TEG001 eindproduct.

Op grond van bovenstaande acht de COGEM de kans op de aanwezigheid van RCR of recombinant virus door recombinitie of complementatie in de getransduceerde T-cellen verwaarloosbaar klein. De COGEM acht het daarom niet noodzakelijk om RCR in TEG001 te bepalen.

4.3 Aanwezigheid van vrije virusdeeltjes

Na transductie van de T-cellen kunnen vrije vectordeeltjes in het te testen medisch product achterblijven. In geval van calamiteiten zouden deze vrije vectordeeltjes naar derden kunnen verspreiden, zoals bij een prikincident waardoor de behandelend arts of het verplegend personeel hiermee besmet kan raken. Door de kweek- en wasprocedures die worden gevolgd, voordat het uiteindelijke medisch product wordt verkregen, kan het aantal vrije vectordeeltjes worden gereduceerd.

De COGEM heeft een aantal jaar geleden een formule opgesteld om de reductie van de vectordeeltjes als gevolg van de kweek- en wasprocedures te kunnen berekenen.¹⁹ De aanvrager heeft deze formule toegepast en heeft een virus reductieratio van minimaal 123 gerealiseerd (dat overeenkomt met gemiddeld 0,008 virusdeeltjes per TEG001).

De COGEM is van mening dat de door haar opgestelde formule om het aantal vrije vectordeeltjes in te schatten op correcte wijze door de aanvrager is toegepast. Daarbij wordt met de verkregen reductieratio voldaan aan de door haar gestelde minimale virus reductieratio van 100. Zij acht daarom de kans verwaarloosbaar klein dat er infectieuze vrije virusdeeltjes in de TEG001 producten aanwezig zullen zijn en derden kunnen infecteren via bijvoorbeeld een prikincident tijdens de toediening van het medisch product aan de patiënt.

4.4. Effecten van de mogelijke blootstelling van het milieu aan de getransduceerde T-cellen

De getransduceerde T-cellen worden intraveneus toegediend. Tijdens de toediening en bij de afname van monsters kan niet uitgesloten worden dat gg-T-cellen bij een incident vrijkomen in het milieu. Bovendien is uit eerder onderzoek gebleken dat getransduceerde T-cellen een jaar na toediening nog aanwezig kunnen zijn in patiënten.²⁰ Naïeve T-cellen (die nog niet in aanraking zijn geweest met een lichaamsvreemd antigeen) hebben een levensduur van jaren. 'Memory' T-cellen en (geactiveerde) T-

cellen hebben een kortere levensduur, maar van de 'memory' T-cel populatie is bekend dat deze jarenlang in stand kan worden gehouden door voortdurende celdeling.²¹ In de onderhavige klinische studie worden de lichaamseigen T-cellen van de patiënt *ex vivo* tot proliferatie gebracht om retrovirale transductie te faciliteren. Dit wordt tot stand gebracht door 'cross-linking' van CD3 en CD28 op het T-cel oppervlakte, wat tevens resulteert in activatie van de T-cellen. Welke levensduur geactiveerde gg-T-cellen hebben na toediening is, voor zover bekend bij de COGEM, niet beschreven. Een gemiddeld volwassen individu heeft totaal 1×10^{11} T-cellen in het lichaam. Aangezien de aanvrager voornemens is om maximaal 1×10^{12} TEG001 per kg lichaamsgewicht over meerdere doses toe te dienen, betekent dat dat de patiënten relatief veel gg-T-cellen in hun lichaam zullen hebben.²² Derhalve is het aannemelijk dat, bijvoorbeeld door een verwonding van de patiënt, de getransduceerde T-cellen via bloed of lymfe in het milieu terecht komen. Aangezien de cellen buiten het lichaam echter niet kunnen overleven, acht de COGEM de kans op verspreiding in het milieu verwaarloosbaar klein.

Door incidenten, zoals een prikincident, kan het medische personeel besmet raken met de getransduceerde cellen. Als een gezond individu door een prikaccident aan gemodificeerde T-cellen wordt blootgesteld, is de kans groot dat deze cellen direct worden herkend en geëlimineerd door de afweercellen van de ontvanger. De cellen kunnen alleen overleven wanneer de MHC-moleculen volledig gelijk zijn aan die van de patiënt. De kans dat twee niet-verwante individuen volledig MHC-identiek zijn, is bijzonder klein, omdat er theoretisch gezien meer dan één miljoen verschillende haplotypen zijn. Bovendien heeft ieder individu twee MHC-haplotypen. In het onwaarschijnlijke geval dat de MHC-moleculen identiek zijn, kunnen de getransduceerde T-cellen een vergelijkbaar anti-tumor effect laten zien als in de beoogde patiënt.

Er is een theoretische mogelijkheid dat bij bijvoorbeeld een prikincident met een immunogecompromitteerd persoon geen eliminatie van de gg-T-cellen plaatsvindt. In dit geval zullen de effecten gelijk zijn aan die van de beoogde patiënt. Bij een prikincident zullen echter beduidend minder gg-T-cellen geïnjecteerd worden dan bij een normale toediening bij een patiënt.

Het is niet uitgesloten dat T-cellen via borstvoeding kunnen worden overgedragen van moeder op kind. Het is, voor zover bekend bij de COGEM, niet beschreven of overdracht van gg-T-cellen via borstvoeding plaats vindt, hoe lang (geactiveerde) gg-T-cellen in het kind kunnen persisteren en of ze een risico vormen voor het kind. Vooralsnog kan de COGEM niet uitsluiten dat overdracht van TEG001 door borstvoeding naar derden plaats zou kunnen vinden. Met het oog op het voorzichtigheidsprincipe wil zij daarom adviseren om patiënten aan wie TEG001 wordt toegediend, af te laten zien van het geven van borstvoeding. De COGEM zal, na nader onderzoek, in een later stadium terugkomen op de levensduur van gg-T-cellen, de mogelijke overdracht van gg-T-cellen van moeder op kind, en eventuele risico's van gg-T-cellen voor het kind.

De aanvrager wil dat patiënten aan wie TEG001 is toegediend gedurende een levenslange termijn afzien van donatie van bloed, bloedproducten en organen. Hiermee zou verspreiding van TEG001 naar derden worden voorkomen. Zoals eerder gememoreerd in het onderhavige advies, is niet bekend welke levensduur (geactiveerde) gg-T-cellen hebben. Daarom kan de COGEM niet oordelen of de levenslange termijn die de aanvrager wil hanteren, gerechtvaardigd is. Met het oog op het

voorzichtigheidsprincipe, kan de COGEM vooralsnog instemmen met het voorstel van de aanvrager dat patiënten aan wie TEG001 is toegediend, gedurende een levenslange termijn afzien van donatie van organen, bloed of bloedproducten. Zodra bij de COGEM concrete aanwijzingen beschikbaar zijn over de levensduur van (geactiveerde) gg-T-cellen, zal zij in een later stadium hierop terugkomen.

5. Conclusie

De aanvrager is van plan een klinische studie uit te voeren waarin retroviraal getransduceerde T-cellen worden gebruikt die een $\gamma\delta$ TCR tot expressie brengen. Risico's die hierbij kunnen optreden, hebben betrekking op de eventuele vorming en de verspreiding van RCR of recombinant virus, de aanwezigheid van vrije virusdeeltjes in TEG001 en de effecten van de mogelijke verspreiding van de getransduceerde T-cellen in het milieu.

Op basis van de aangeleverde informatie acht de COGEM de moleculaire karakterisering afdoende en het aantal vrije vectordeeltjes in TEG001 voldoende gereduceerd. Daarnaast beschouwt zij de kans op de aanwezigheid van RCR of recombinant virus in TEG001 verwaarloosbaar klein. Tevens acht zij de kans op nadelige effecten bij blootstelling van derden aan TEG001 verwaarloosbaar klein.

De COGEM is daarom van mening dat de milieurisico's verbonden aan deze klinische studie met retrovirale-vector getransduceerde T-cellen verwaarloosbaar klein zijn, met inachtneming van de volgende voorschriften:

- Patiënten aan wie TEG001 wordt toegediend, dienen gecontroleerd te zijn op afwezigheid van de humane retrovirussen HTLV-1, HTLV-2, HIV-1 en HIV-2
- Patiënten aan wie TEG001 wordt toegediend, zien af van donatie van organen, bloed of bloedproducten
- Patiënten aan wie TEG001 wordt toegediend, zien af van het geven van borstvoeding

Referenties

1. Murphy K & Weaver C (2017). *Janeway's Immunobiology*, 9th edition. Garland Sciences, New York
2. Born WK *et al.* (2006). The function of gammadelta T cells in innate immunity. *Curr. Opin. Immunol.* 18: 31-38
3. Eberl M *et al.* (2003). Microbial isoprenoid biosynthesis and human gammadelta T cell activation. *FEBS Lett.* 544: 4-10
4. Sebestyen Z *et al.* (2016). RhoB Mediates Phosphoantigen Recognition by V γ 9V δ 2 T Cell Receptor. *Cell Rep.* 15: 1973-1985
5. Stoye JP *et al.* (2012). Family Retroviridae. In *Virus Taxonomy, Classification and Nomenclature of Viruses: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Ed. King AMQ *et al.*, Elsevier Academic Press, Amsterdam
6. Rein A (2011). Murine Leukemia Viruses: objects and organisms. *Adv. Virol.* 2011: 1-14
7. Molony murine leukemia virus safety data sheet.
<https://healthsciences.ucsd.edu/som/pediatrics/research/labs/miyano-hara-lab/safety/Pages/moloney-murine.aspx> (bezocht: 5-10-2017)

8. Brooks J *et al.* (2012). No evidence of cross-species transmission of mouse retroviruses to animal workers exposed to mice. *Transfusion* 52: 317-325
9. Ghani K *et al.* (2009). Efficient human hematopoietic cell transduction using RD114- and GALV-pseudotyped retroviral vectors produced in suspension and serum-free media. *Hum. Gene Ther.* 20: 966-974
10. Genecards. 2017. SL1A5 Gene (protein coding). <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=slc1a5> (bezoekt 5-10-2017)
11. COGEM (2011). Klinische studie met retroviraal getransduceerde humane T-lymfocyten. COGEM advies CGM/110831-01
12. COGEM (2011). Aanvullende informatie over de klinische studie met retroviraal getransduceerde humane T-lymfocyten. COGEM advies CGM/111012-03
13. COGEM (2011). Klinische studie met retroviraal getransduceerde T-cellen tegen leukemie. COGEM advies CGM/110913-01
14. COGEM (2016). Klinische studie met lentiviraal getransduceerde T-cellen tegen B-cel maligniteiten. COGEM advies CGM/160229-01
15. COGEM (2016). Klinische studie met getransduceerde T-cellen tegen B-cel maligniteiten. COGEM advies CGM/161130-01
16. COGEM (2017). Aanvullende informatie klinische studie met KTE-C19. COGEM advies CGM/170224-04
17. COGEM (2013). Criteria voor moleculaire karakterisering van ggo's voor medische en veterinaire toepassing. COGEM advies CGM/130227-05
18. Bear AS *et al.* (2012). Replication-competent retroviruses in gene-modified T cells used in clinical trials: is it time to revise the testing requirements? *Mol. Ther.* 20: 246-249
19. COGEM (2009). Inschaling van laboratoriumwerkzaamheden met lentivirale vectoren. COGEM advies CGM/090331-03
20. Morgan RA *et al.* (2006). Cancer regression in patients after transfer of genetically engineered lymphocytes. *Science* 314: 126-129
21. Vrisekoop N *et al.* (2008). Sparse production but preferential incorporation of recently produced naive T cells in the human peripheral pool. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 105: 6115-6120
22. Hazenberg MD *et al.* (2004). Establishment of the CD4+ T-cell pool in healthy children and untreated children infected with HIV-1. *Blood* 104: 3513-3519