

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


DATUM 24 februari 2017
KENMERK CGM/170224-04
ONDERWERP Advies aanvullende informatie klinische studie met KTE-C19

Geachte mevrouw Dijkma,

In 2016 heeft de COGEM advies uitgebracht over een vergunningaanvraag met de titel 'Testing the safety and efficacy of KTE-C19 in patients with refractory or relapsed B-cell malignancies'.¹ Het betrof een multicenter klinische studie, die uitgevoerd zal worden op vijf verschillende locaties (vergunningaanvragen IM-MV 16-003, IM-MV 16-004, IM-MV 16-005, IM-MV 16-006 en IM-MV 16-007). Tijdens deze studie worden van elke patiënt T-cel lymfocyten *ex vivo* getransduceerd met een replicatie-deficiënte retrovirale vector. Deze vector bevat sequenties voor een 'chimere antigeen receptor' (CAR) gericht tegen het CD19 antigeen dat aanwezig is op B-cellen. Het doel van de studie is om de veiligheid en werkzaamheid van de genetisch gemodificeerde (gg-)T-cellen, KTE-C19 genoemd, bij patiënten met bepaalde vormen van leukemie (recidiverende of refractaire B-cel maligniteiten) te onderzoeken.

In haar eerdere advies achtte de COGEM de kans op aanwezigheid van replicatie-competent retrovirus (RCR), recombinant virus en vrije vectordeeltjes in KTE-C19, en de kans op nadelige effecten bij blootstelling van derden of het milieu aan KTE-C19, verwaarloosbaar klein. Wel was zij van oordeel dat de moleculaire karakterisering van de vectoren die nodig waren voor de bereiding van het medicinale product, onvolledig was. De COGEM adviseerde positief over de voorgenomen studie onder het voorbehoud dat de betreffende sequenties geen onverwachte wijzigingen zouden bevatten.

¹ COGEM (2016). Klinische studie met getransduceerde T-cellen tegen B-cel maligniteiten. COGEM advies CGM/161130-01



De aanvrager heeft nieuwe gegevens aangeleverd betreffende de moleculaire karakterisering van het te gebruiken transferplasmide en provirale DNA voor de productie van KTE-C19. De COGEM is gevraagd te beoordelen of de moleculaire karakterisering volledig is.

Transferplasmide en retrovirale vector

Het transferplasmide, pMSGV1-FMC63-CD28z, bevat de coderende sequentie van het provirale DNA van de replicatie-deficiënte retrovirale hybride vector.² De vector is gebaseerd op het Moloney Murine leukemia virus (MoMLV). Hierin zijn de *gag*, *pro*, *pol* en *env* genen van het MoMLV gedeleteerd. Tevens is er een CAR sequentie tussen de 'long terminal repeats' (LTRs) geplaatst. Deze CAR is samengesteld uit een antigeenbindend domein, een transmembraan-domein en een intracellulair signaleringsdomein voor T-cel activatie. De CAR 'herprogrammeert' de T-cel specificiteit, waardoor deze zich op bepaalde B-cellen richt.³

Het antigeen bindende domein van de CAR is gericht tegen het B-cel specifieke oppervlakte-eiwit 'CD19'. CD19 komt vanaf de vroege ontwikkeling tot na de differentiatie in een plasmacel tot expressie, maar komt niet voor op pluripotente bloedstamcellen of andere weefsels. Het intracellulaire signaleringsdomein van de CAR is afkomstig van de T-cel specifieke CD3 'zeta chain', en een deel van het T-cel specifieke co-stimulatorische molecuul CD28.

Met behulp van het transferplasmide pMSGV1-FMC63-CD28z worden verschillende cellijnen in een aantal achtereenvolgende stappen getransfecteerd en replicatie-deficiënte retrovirale vectoren gegenereerd. De uiteindelijke 'PG13-CD19-H3 Vector' wordt gebruikt voor het creëren van de 'master cell bank' (MCB). Deze 'bank' produceert de replicatie-deficiënte retrovirale vector (het genetisch gemodificeerde virusdeeltje) waarmee de T-cellen van de patiënten getransduceerd zullen worden. Het uiteindelijke medicinale product, KTE-C19, bestaat uit getransduceerde T-cellen en is gecontroleerd op de afwezigheid van RCR.¹ KTE-C19 zal teruggeplaatst worden in de patiënt.

Moleculaire karakterisering pMSGV1-FMC63-CD28z en PG13-CD19-H3 Vector

De aanvrager heeft het transferplasmide pMSGV1-FMC63-CD28z door middel van sequentie-analyse moleculair gekarakteriseerd. Tevens is door middel van sequentie-analyse het provirale DNA van 'PG13-CD19-H3 Vector' en de daaraan flankerende sequenties in het acceptorgenoom gekarakteriseerd. De sequenties zijn vergeleken met de referentiesequentie waarop de constructen zijn gebaseerd, en deze analyses zijn aan de COGEM overlegd.

De aanvrager geeft aan dat in het constructieproces van transferplasmide pMSGV1-FMC63-CD28z naar 'PG13-CD19-H3 Vector' in totaal 11 wijzigingen zijn opgetreden. Deze wijzigingen bestaan uit puntmutaties en bevinden zich in de 5' en 3' 'LTR's', de

² Kochenderfer JN *et al.* (2009). Construction and pre-clinical evaluation of an anti-CD19 chimeric antigen receptor. *J. Immunother.*32: 689-702

³ Kalos M & June CH (2013). Adoptive T cell transfer for cancer immunotherapy in the era of synthetic biology. *Immunity* 39: 49-60



'Psi+', en het fragment tussen de 5' LTR en de 'Psi+' sequentie. Een aantal van deze mutaties zijn in de wetenschappelijke literatuur beschreven als natuurlijke variaties binnen wildtype MoMLV. De aanvrager geeft aan dat geen van de mutaties zich in de coderende sequenties van het 'FMC63-CD28z-CAR' bevinden. Ook zijn er geen deleties of inserties op de plek van de integratie in de productiecellijn opgetreden, waardoor er in deze cellijn geen coderende genen zijn onderbroken of alternatieve translatie-initiatie sites zijn geïntroduceerd.

Overwegingen en advies

De aanvrager verwacht dat de waargenomen mutaties geen invloed hebben op de biologie van de vector. Bovendien verwacht de aanvrager niet dat het inpakken van het virusdeeltje, en de integratie en reverse transcriptie door de mutaties zullen worden beïnvloed, en stelt hij dat de aard van de mutaties geen bijdrage levert aan de uitkomst van de milieurisico-beoordeling.

De COGEM kan instemmen met de argumentatie van de aanvrager en acht het transferplasmide en de provirale replicatie-deficiënte retrovirale vector die gebruikt zal worden voor de transductie van de patiënten T-cellen afdoende moleculair gekarakteriseerd.

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