

Aan de staatssecretaris van
Infrastructuur en Milieu
dhr. J.J. Atsma
POSTBUS 30945
2500 GX Den Haag

TEL.: 030 274 2777
FAX: 030 274 4476
INFO@COGEM.NET
WWW.COGEM.NET

DATUM 12 oktober 2011
KENMERK CGM/111012-03
ONDERWERP Advies: Aanvullende informatie over klinische studie met retroviraal
getransduceerde T-cellen

Geachte heer Atsma,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende aanvullende informatie bij de vergunningaanvraag IM 11-001 met de titel 'Ex vivo retrovirale transductie van humane T-lymfocyten met melanoomspecifieke T cel receptorgenen' van het Nederlands Kanker Instituut te Amsterdam, deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting

De COGEM is verzocht te adviseren over een behandelmethodede waarbij genetisch gemodificeerde cellen van het immuunsysteem (T-cellen) worden gebruikt om huidkankercellen te vernietigen. Hiervoor worden de T-cellen van de patiënt met behulp van een retrovirale vector voorzien van een specifieke T-cel receptor die de kankercellen herkent.

Risico's die bij deze studie op kunnen treden hebben betrekking op (1) de eventuele vorming en de verspreiding van replicatiecompetent retrovirus (RCR) of recombinant virus, (2) de aanwezigheid van vrije virusdeeltjes en (3) de effecten van de mogelijke verspreiding van de getransduceerde T-cellen in het milieu.

Onlangs heeft de COGEM negatief geadviseerd over deze klinische studie. Hiervoor had zij twee redenen. Ten eerste ontbraken de meetgegevens om te kunnen concluderen of de vectorbatch al dan niet RCR bevatte. Ten tweede kon de COGEM niet uitsluiten dat er vrije vectordeeltjes aanwezig waren in het preparaat met de gg-T-cellen op het moment dat het aan de patiënt toegediend wordt.

Op basis van de opmerkingen in het eerdere COGEM advies heeft de aanvrager aanvullende informatie aangeleverd. De COGEM is van mening dat in de aanvullende informatie afdoende wordt aangetoond dat er in de vectorbatch geen RCR aanwezig is. Ten aanzien van de tweede opmerking heeft de aanvrager aangegeven de kweekperiode van de gg-T-cellen met een dag te verlengen. De reductie van de vrije vectordeeltjes neemt hierdoor dusdanig toe dat de COGEM de kans verwaarloosbaar klein acht dat er nog infectieuze vrije vectordeeltjes in het preparaat zullen zitten op het moment dat dit aan de patiënt wordt toegediend.

Gebaseerd op bovenstaande overwegingen en de overwegingen in het eerdere COGEM advies over betreffende vergunningaanvraag is de COGEM van mening dat de milieurisico's verbonden aan deze klinische studie met retroviraal getransduceerde T-cellen verwaarloosbaar klein zijn.

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

Hoogachtend,

A handwritten signature in black ink, consisting of a large loop followed by a horizontal line and a small dash.

Prof. dr. ir. Bastiaan C.J. Zoeteman
Voorzitter COGEM

c.c. Drs. H.P. de Wijs
Dr. I. van der Leij

Aanvullende informatie over de klinische studie met retroviraal getransduceerde humane T-lymfocyten

COGEM advies CGM/111012-03

Inleiding

De aanvrager is voornemens een behandelmethodete testen waarbij genetisch gemodificeerde T-cellen worden gebruikt die melanoomcellen kunnen herkennen en vernietigen. In deze studie worden autologe T-cellen van melanoompatiënten *ex vivo* getransduceerd met de retrovirale vector MP71 coderend voor een melanoomspecifieke T-cel receptor (TCR). De transductie van de humane T-cellen vindt plaats op inperkingsniveau ML-II. De getransduceerde T-cellen worden vervolgens een aantal dagen op dit inperkingsniveau gekweekt voordat ze via intraveneuze infusie aan de patiënt worden teruggegeven. De toediening van de gg-T-cellen vindt plaats in een eenpersoonspatiëntenkamer buiten inperking. De aanvrager hoopt met behulp van de getransduceerde T-cellen in de patiënten een melanoomspecifieke immuunrespons te induceren. De gegevens uit deze studie zullen worden gebruikt om de haalbaarheid, veiligheid en immunologische effecten van TCR getransduceerde T-cellen te bepalen.

Onlangs heeft de COGEM een negatief advies uitgebracht over de vergunningaanvraag voor de bovengenoemde klinische studie.¹ Zij had hiervoor twee redenen. Ten eerste had de aanvrager geen gegevens aangeleverd over de (gevoeligheid van de) RCR testen die tijdens de productie van de vectorbatch en op de uiteindelijke vectorbatch door de producent zijn uitgevoerd. Door het ontbreken van deze informatie kon de COGEM niet verifiëren of de vectorbatch vrij was van RCR. Ten tweede voldeed de reductieratio (veiligheidsfactor) van de vrije vectordeeltjes op het moment van toedienen van de gg-T-cellen niet aan de gestelde limiet van 100. Hierdoor kan de COGEM niet uitsluiten dat er op dat moment nog vrije vectordeeltjes aanwezig zijn in het preparaat dat aan de patiënt wordt toegediend.

Naar aanleiding van deze opmerkingen heeft de aanvrager aanvullende informatie aangeleverd. De COGEM is gevraagd op basis van de aanvullende informatie de milieurisico's van de voorgenomen klinische studie opnieuw te beoordelen.

Overweging

In de onderhavige aanvraag worden retroviraal getransduceerde T-cellen toegediend die een transgen bevatten dat codeert voor een melanoomspecifieke TCR. Risico's die hierbij kunnen optreden hebben betrekking op (1) de eventuele vorming en de verspreiding van replicatiecompetent retrovirus of recombinant virus, (2) de aanwezigheid van vrije virusdeeltjes en (3) de effecten van de mogelijke verspreiding van de getransduceerde T-cellen in het milieu.

Gezien de in het voorgaande COGEM advies geuite bezwaren en de aard van de aanvullende informatie wordt hieronder alleen ingegaan op de mogelijkheid dat RCR aanwezig is in de

vectorbatch en de aanwezigheid van vrije vectordeeltjes op het moment van toediening van de getransduceerde T-cellen aan de patiënt.¹

1. Test op afwezigheid van RCR in aangeleverde vectorbatch

Tijdens het productieproces wordt er op verschillende momenten getest op de mogelijke aanwezigheid van RCRs. Gegevens over onder andere de gevoeligheid en het resultaat van deze testen waren aanvankelijk niet door de aanvrager aan het dossier toegevoegd. Hierdoor kon de COGEM niet geheel uitsluiten dat er RCR in de vectorbatch aanwezig was.

De aanvullende informatie die de aanvrager aan het dossier heeft toegevoegd, bevat validatierapporten met onder andere de gevoeligheid van de gebruikte testen. De detectielimiet van de test op retroviraal supernatant wordt gesteld op 10 RCR, de detectielimiet van de test op de vector producerende cellen op 1 RCR. De COGEM acht de gevoeligheid van deze testen afdoende.

De aanvullende informatie bevat tevens de resultaten van de RCR test op het retrovirale supernatant dat gebruikt wordt voor de transductie van de T-cellen en op de cellen die gebruikt zijn om het betreffende retrovirale supernatant te produceren. Uit de aangeleverde gegevens van de uitgevoerde tests blijkt dat in geen van de gevallen RCR aangetoond kon worden.

De COGEM merkt hierbij op dat uit al de testresultaten eenmaal een replicerend virus wordt waargenomen. Zij is echter van mening dat de producent op afdoende wijze duidelijk heeft gemaakt dat deze afwijkende uitkomst in betreffende test het gevolg is van een incidentele laboratoriumcontaminatie en niet het gevolg is van het ontstaan van RCR.

Zoals aangegeven in het vorige COGEM advies over onderhavige aanvraag is de COGEM van mening dat de kans op het ontstaan van RCR tijdens het productieproces zeer klein is.¹ Gezien de zeer kleine kans dat er replicatiecompetent retrovirus tijdens het productieproces gevormd kan worden en op basis van de gevoeligheid en de uitslag van de testen is de COGEM van mening dat de kans verwaarloosbaar klein is dat er in het te gebruiken retrovirale supernatant RCR aanwezig is.

2. Aanwezigheid van vrije virusdeeltjes

Replicatiedeficiënte vrije vectordeeltjes kunnen in het preparaat aanwezig zijn als gevolg van achtergebleven inoculum. In geval van een incident kunnen deze deeltjes in het milieu terecht komen. Laboratoriummedewerkers kunnen bijvoorbeeld besmet raken door prikincidenten. Aangezien de deeltjes replicatiedeficiënt zijn, zullen deze slechts eenmalig een cel infecteren. Geïnfecteerde cellen kunnen geen nieuwe replicatiecompetente virusdeeltjes meer maken, zodat de infectie beperkt blijft tot de plaats van besmetting. Afhankelijk van de insertie in het genoom bestaat er een theoretische kans op het ontstaan van tumoren bij besmette laboratoriummedewerkers.

Door kweek- en wasprocedures neemt het aantal vrije vectordeeltjes dat in het preparaat aanwezig is af. Om de reductie van het oorspronkelijke inoculum te kunnen berekenen, heeft de COGEM de volgende formule opgesteld voor lentivirale vectoren die gepseudotypeerd zijn met het glycoproteïne G van *Vesicular stomatis virus* (VSV-G)²:

$$(20^W * 200^I * 2^{2,4T}) / V \geq 100$$

Hierbij is V het aantal infectieuze vectordeeltjes in het oorspronkelijke inoculum, W het aantal wasstappen en T de kweektijd in dagen. Met I wordt het aantal inactiverende wasstappen bedoeld met trypsine of humaan serum. De COGEM wijst erop dat het effect van de inactiverende wasstap afhankelijk is van de pseudotypering met VSV-G. In onderhavige aanvraag wordt echter gebruik gemaakt van een retrovirale vector die gepseudotypeerd is met het oppervlakte eiwit van het *Gibbon ape leukemia virus*. Doordat de aanvrager niet van plan is deze inactiverende wasstap uit te voeren, kan de betreffende parameter achterwege gelaten worden en is de COGEM van mening dat de resulterende formule gebruikt kan worden in de onderhavige situatie. De reductieratio die uit de formule volgt, is voor de COGEM van belang voor de risicoanalyse. Als de reductiefactor van het aantal vrije infectieuze vectordeeltjes 100 maal hoger is dan de oorspronkelijke inoculumdosis, wat erop neer komt dat het berekende aantal aanwezige infectieuze vectordeeltjes kleiner is dan 0,01, is de COGEM van mening dat de kans op de aanwezigheid van vrije vectordeeltje verwaarloosbaar klein is.

In de aanvullende informatie geeft de aanvrager aan dat het aantal wasstappen drie zal blijven, maar dat de minimale kweekperiode verlengd wordt van acht naar negen dagen. Hoewel uit de aanvullende informatie blijkt dat het inoculum hoger is dan aanvankelijk vermeld, wordt door de verlenging van de kweekperiode een reductieratio verkregen van 195. Hiermee wordt voldaan aan de door de COGEM gestelde minimale reductieratio (veiligheidsfactor) van 100. De COGEM is van mening dat door deze reductie van het inoculum er maximaal een berekend aantal van 0,005 vectordeeltjes in het T-cel preparaat aanwezig zijn. De COGEM acht de kans derhalve verwaarloosbaar klein dat er infectieuze vrije vectordeeltjes aan de patiënt worden toegediend.

Conclusie

Gebaseerd op bovenstaande overwegingen en de overwegingen in het eerdere COGEM advies over betreffende vergunningaanvraag is de COGEM van mening dat de milieurisico's verbonden aan deze klinische studie met retroviraal getransduceerde T-cellen verwaarloosbaar klein zijn. De COGEM heeft daarom geen bezwaar tegen de voorgenomen klinische studie.

Referenties

1. COGEM (2011). Klinische studie met retroviraal getransduceerde humane T-lymfocyten. COGEM advies CGM/110831-01
2. COGEM (2009). Inschaling van laboratoriumwerkzaamheden met lentivirale vectoren. COGEM advies CGM/090331-03