

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

**DATUM** 30 november 2016  
**KENMERK** CGM/161130-01  
**ONDERWERP** Advies klinische studie met getransduceerde T-cellen tegen B-cel maligniteiten

Geachte mevrouw Dijkma,

Naar aanleiding van de vergunningaanvragen (IM-MV 16-003, IM-MV 16-004, IM-MV 16-005, IM-MV 16-006, en IM-MV 16-007) voor een multi-center klinische studie getiteld 'Testing the safety and efficacy of KTE-C19 in patients with refractory or relapsed B-cell malignancies' van het UMCG, UMCU, Erasmus MC, Prinses Maxima Centrum en AMC, deelt de COGEM u het volgende mee.

**Samenvatting:**

De COGEM is gevraagd te adviseren over de milieurisico's van een klinische studie in patiënten met B-cel kanker. De patiënten worden behandeld met eigen T-cellen die in het laboratorium genetisch gemodificeerd zijn met behulp van een verzwakte retrovirale vector. Hierdoor krijgen deze T-cellen een zogenaamde chimere antigeen receptor (CAR) op hun celoppervlak die hun in staat stelt de B-cellen te herkennen en te vernietigen. 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 medische product en de eventuele verspreiding van de gg-T-cellen in het milieu.

Op basis van de aangeleverde informatie kan de COGEM niet uitsluiten dat er bij de productie van de retrovirale vector RCR gevormd wordt. De aanvrager zal echter meerdere malen testen op de aanwezigheid van RCR. De COGEM acht daarmee de kans op de aanwezigheid van RCR tijdens de studie verwaarloosbaar klein.

Door de kweek- en wasprocedures tijdens de productie van de gg-T-cellen, worden eventueel aanwezige infectieuze virusdeeltjes zodanig verdund dat de kans dat er nog infectieuze virusdeeltjes in het preparaat zitten wanneer het aan de patiënt wordt toegediend, verwaarloosbaar klein is.

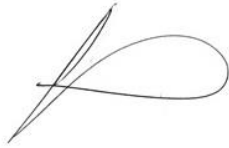
Indien de gg-T-cellen door een incident in derden of in het milieu terecht komen, acht de COGEM de kans op nadelige effecten verwaarloosbaar klein. De patiënt-specifieke T-cellen worden bij andere mensen direct door het immuunsysteem afgestoten en kunnen buiten het lichaam niet overleven.

Onder het voorbehoud dat het uitgangsorganisme geen onverwachte genetische wijzigingen bevat, is de COGEM van mening dat de milieurisico's verbonden aan deze klinische studie met getransduceerde T-cellen 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 getransduceerde T-cellen tegen B-cel maligniteiten

## COGEM advies CGM/161130-01

### 1. Inleiding

De COGEM is gevraagd advies uit te brengen over een vergunningaanvraag met de titel ‘Testing the safety and efficacy of KTE-C19 in patients with refractory or relapsed B-cell malignancies’. Het betreft een multi-center klinische studie (vergunningaanvragen IM-MV 16-003, IM-MV 16-004, IM-MV 16-005, IM-MV 16-006, en IM-MV 16-007), die uitgevoerd zal worden op vijf verschillende locaties; in het Universitair Medisch Centrum Groningen, Universitair Medisch Centrum Utrecht, Erasmus Medisch Centrum, Prinses Maxima Centrum en Amsterdam Medisch Centrum. Voor deze klinische studie worden humane T-cel lymfocyten *ex vivo* getransduceerd met een replicatie-deficiënte retrovirale vector. Deze vector bevat sequenties voor een ‘chimere antigen receptor’ (CAR) gericht tegen het CD19 antigeen van B-cellen. Het doel van de studie is om de veiligheid en werkzaamheid van de genetisch gemodificeerde (gg-)T-cellen, KTE-C19, te onderzoeken in patiënten met refractaire B-cel maligniteiten of een recidief.

#### 1.1. Humoraal immuunsysteem

B-cellen of B-lymfocyten worden in het beenmerg gevormd en zijn onderdeel van het humorale immuunsysteem van gewervelden. In de mens komen verschillende typen B-cellen voor met ieder een unieke B-cel receptor op hun celmembranen.<sup>1</sup> Iedere receptor herkent een specifiek antigeen. Na blootstelling aan een specifiek antigeen worden de B-cellen die dit antigeen herkennen geactiveerd en differentiëren ze in twee verschillende soorten B-cellen. Enerzijds zijn dit plasmacellen, die actief antilichamen produceren en uitscheiden, en anderzijds B-geheugencellen die gedurende lange tijd leven en snel reageren bij een tweede blootstelling aan hetzelfde antigeen.

Het CD19 transmembraan eiwit is betrokken bij de signaaltransductie via de B-cel receptor. CD19 komt tot expressie in de B-cellen vanaf de vroege ontwikkeling tot na de differentiatie in een plasmacel. CD19 komt echter niet voor op pluripotente bloedstamcellen en op andere weefsels. Door dit beperkte expressieprofiel vormt CD19 een relatief veilige ‘target’ voor therapeutische interventie in B-cel maligniteiten.

#### 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). MLVs bevatten 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. Het *pro* gen codeert voor het eiwit protease, die de ontwikkeling van het virusdeeltje faciliteert. 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.<sup>2,3</sup>

### 1.3 De retrovirale vector

In deze vergunningaanvraag wordt een hybride retrovirale vector beschreven die gebaseerd is op het Moloney Murine leukemia virus (MoMLV; stam van het MLV species). 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.<sup>4</sup> 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.<sup>4,5</sup>

De aanvragers willen gebruik maken van de replicatie-deficiënte gammaretrovirale vector PG13-CD19-H3 om de T-cellen te transduceren. In deze vector zijn de *gag*, *pro*, *pol* en *env* genen van het MoMLV gedeleteerd en is een chimeer antigeen receptor (CAR) sequentie tussen de 'long terminal repeats' (LTRs) geplaatst. De CAR is een fusie eiwit met een CD19 antigeen binding domein, een transmembraandomein en een intracellulair signaleringsdomein voor T-cel activatie. Het signaleringsdomein is afkomstig van de CD3 zeta chain en een deel van het co-stimulatorisch molecuul CD28.

### 1.4 Het productiesysteem voor de vervaardiging van het medische product – KTE-C19

Om het medische product te vervaardigen worden verschillende vectoren en cellijnen gebruikt. Eerst wordt het transferplasmide pMSGV1-FMC63-CD28z<sup>6</sup>, waarin zich de CAR sequentie bevindt, gebruikt om Phoenix-ECO cellen te transfecteren. Deze cellen zullen vervolgens een MoMLV retrovirale vector produceren, gepseudotypeerd met een ecotrope envelop. Na enkele dagen wordt het supernatant met het ecotrope retrovirus verzameld en gebruikt om de PG13 cellijn te transduceren. De PG13 cellijn is afkomstig van TK-NIH/3T3 cellen (murine fibroblasten) en hierin zijn de *gag*, *pro*, en *pol* genen van het MoMLV gammaretrovirus geïntegreerd. Om het tropisme te verbreden is het *env* gen van het *Gibbon ape leukemia virus* (GaLV) ook geïntegreerd in de PG13 cellijn. Deze cellijn kan vervolgens de therapeutische vector PG13-CD19-H3 produceren; een retrovirale vector gepseudotypeerd met GaLV envelop waardoor transductie in humane T-cellen mogelijk wordt.<sup>7</sup>

## 2. Voorgenomen werkzaamheden

Non-Hodgkin lymfoom (NHL), mantelcellymfoom (MCL) en B-precursor acute lymfatische leukemie (ALL), diffuus grootcellig B-cel lymfoom (DLBCL) en chronische lymfatische leukemie (CLL) zijn vormen van B-cel maligniteiten. De aanvragers willen maximaal 205 patiënten met verschillende B-cel maligniteiten in deze klinische studie includeren.

Bij iedere te behandelen patiënt met een B-cel maligniteit worden T-cellen geïsoleerd. Dit zal plaatsvinden in Nederland. De cellen worden vervolgens verscheept naar de VS om daar met behulp van de PG13-CD19-H3 vector *ex-vivo* getransduceerd te worden. Voor het genereren van het uiteindelijke medische product vinden verschillende wasstappen, kwaliteitscontroles en assays gericht

op detectie van RCR plaats, voordat de gg-T-cellen (KTE-C19) naar Nederland worden verstuurd om toe te dienen aan de patiënt.

Toediening gebeurt intraveneus, via een centrale katheter. De maximaal toegediende dosering is  $2.0 \times 10^6$  anti-CD19 CAR T-cellen per kilogram lichaamsgewicht. Een tweede dosis wordt alleen toegediend als de patiënt goed gereageerd heeft op de eerste toediening, maar later een terugval heeft. Een tweede dosis zal pas toegediend worden als de meeste KTE-C19 cellen uit het lichaam geklaard zijn. Hierdoor zal er geen accumulatie van het product optreden. De aanvrager verwacht een klaring binnen 3 maanden na de eerste toediening, waardoor een tweede dosering pas na enkele maanden plaatsvindt.

Alle patiënten worden opgenomen in het ziekenhuis voor de behandeling met KTE-C19 en blijven tot 7 dagen na behandeling in het ziekenhuis ter observatie. Gedurende de studie worden op verschillende tijdstippen monsters afgenomen, zoals van bloed, beenmerg, urine, hersenvocht, en weefsel (lymfknoop biopt).

### **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.<sup>8</sup> Op basis van de aangeleverde gegevens kon de COGEM niet verifiëren dat de vectorbatch vrij was van replicatiecompetent retrovirus (RCR). Ook kon er niet uitgesloten worden dat er vrije vectordeeltjes aanwezig waren in het preparaat dat aan de patiënt toegediend zou worden. Hierdoor kon de COGEM aanvankelijk niet positief adviseren over de behandelmethode.

De aanvrager heeft vervolgens aanvullende informatie geleverd waarin aangetoond werd dat er in de vectorbatch geen RCR aanwezig is, en methodologische aanpassingen gemaakt waardoor de kans op infectieuze vrije vectordeeltjes verwaarloosbaar klein is. In haar tweede advies over deze studie<sup>9</sup> adviseerde de COGEM dat de milieurisico's verwaarloosbaar klein zijn.

In 2011 is ook geadviseerd over een behandelmethode met retroviraal getransduceerde T-cellen tegen leukemie.<sup>10</sup> De COGEM achtte de milieurisico's verbonden aan deze klinische studie verwaarloosbaar klein.

In 2016 heeft de COGEM geadviseerd over een behandelmethode met lentiviraal getransduceerde T-cellen tegen B-cel maligniteiten.<sup>11</sup> Ook voor deze studie achtte de COGEM de milieurisico's verwaarloosbaar klein.

### **4. Overweging**

In deze aanvraag worden retroviraal getransduceerde autologe T-cellen aan patiënten met verschillende soorten B-cel maligniteiten toegediend. Risico's die hierbij kunnen optreden 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. Door deze verspreiding zouden andere personen dan de deelnemende patiënten geïnfecteerd kunnen raken met het ggo of met een

recombinant virus. Om eventuele milieurisico's die hieruit voortvloeien te kunnen beoordelen is een gedegen karakterisering van het te testen ggo van belang.

#### *4.1 Moleculaire karakterisering*

##### Transferplasmide pMSGV-FMC63-CAR

De aanvrager stelt dat de complete DNA sequentie van het transferplasmide pMSGV-FMC63-CAR, dat als blauwdruk dient voor het genoom van de therapeutische vector, is bepaald en identiek is aan de virale vector in de 'packaging' cellijn (PG13, de master cell bank). Ook heeft de aanvrager een deel van de sequentie van het CD28 intracellulaire domein van de CAR aangeleverd. 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.<sup>12</sup> De COGEM is van mening dat het dossier weinig inzicht biedt in de moleculaire karakterisering en de grootte van de elementen van de transferplasmide. De aanvrager stelt het transferplasmide te hebben gesequenced, maar geeft geen informatie over eventuele onverwachte mutaties, inserties, e.d. Deze gegevens zijn echter van belang voor de milieurisicoanalyse en de aanvrager dient te bevestigen dat er geen onverwachte wijzigingen naar voren zijn gekomen.

##### KTE-CD19 (gg-T-cellen)

Voor de productie van het medisch product worden de eigen T-cellen van iedere patiënt gebruikt. Hierdoor is het medische product voor iedere patiënt uniek. De aanvrager geeft aan dat de DNA sequentie van de CAR niet gecontroleerd wordt in elke batch van het medische product, KTE-C19, maar wel wordt in elke batch de expressie en functionaliteit van het CAR eiwit beoordeeld. In dit perspectief is het ggo niet exact moleculair gekarakteriseerd.

Aangezien de integratie-sites van de retrovirale vector in het gastheergenoom tot op zekere hoogte willekeurig zijn, zorgt dit binnen het medische product voor verschillen tussen de getransduceerde cellen onderling. Ook kan de COGEM niet geheel uitsluiten dat er tijdens het productieproces van het medische product enkele puntmutaties in het in de T-cellen geïntegreerde virale vector genoom ontstaan. Met het oog op de genoemde verschillen tussen de getransduceerde cellen acht de COGEM een exacte moleculaire karakterisering praktisch gezien dan ook niet relevant en haalbaar. De COGEM is van mening dat de kans verwaarloosbaar klein is dat de beperkte moleculaire karakterisering van de gg-T-cellen tot een misrekening kan leiden in de milieurisicobeoordeling. Op voorwaarde dat de transferplasmide geen onverwachte wijzigingen bevat, acht de COGEM de uitgevoerde moleculaire karakterisering van het medische product in deze situatie afdoende.

#### *4.2 De kans op de vorming van RCR of recombinant virus*

##### Vorming van RCRs 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 de 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. Deze genen zijn geïntegreerd in een cellijn, waardoor deze de virale eiwitten stabiel tot expressie kan brengen. Omdat de essentiële genen zich in de cellijn bevinden en niet in de vector, zijn er meerdere recombinaties nodig om een replicatiecompetente vector te krijgen en wordt de kans op het ontstaan van RCR verminderd.<sup>13</sup> Het risico kan verder verkleind worden door minimalisatie van de sequentiehomologie tussen de vector en de ‘packaging’ cellijnen. De COGEM merkt op dat uit de informatie van de aanvrager blijkt dat de transferplasmide pMSGV-FMC63-CAR de *gag* sequentie bevat, maar dat deze, in combinatie met de *pol* sequentie, ook aanwezig is in de ‘packaging’ cellijn. Op basis van de aangeleverde informatie is niet op te maken hoe groot het homologe gebied is, waardoor niet uitgesloten kan worden dat er homologe recombinatie plaats kan vinden. Om een betere inschatting te kunnen maken over de kans op het ontstaan van RCR is het belangrijk om met behulp van een vectorkaart of sequentiegegevens te zien hoe groot de overlap is tussen de *gag* sequentie van de transferplasmide 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.<sup>11</sup> 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 tot verwaarloosbaar klein is, maar stelt dat een RCR test ter bevestiging van de theoretische risicoanalyse noodzakelijk is.

De aanvrager geeft aan dat de virale vector batch, het medische product (KTE-C19), en het bloed van de patiënten na toediening van KTE-C19 gecontroleerd worden op eventuele aanwezigheid van RCR. De RCR test in de geproduceerde virale vector batch gebeurt door middel van amplificatie in HEK 293 cellen en detectie met behulp van feline S<sup>+</sup>L<sup>-</sup> focus assay. KTE-C19 en het bloed wordt getest op RCR door middel van kwantitatieve PCR op DNA coderend voor het GaLV *env* gen. Gezien het feit dat er op meerdere momenten op RCR wordt getest en gezien de gevoeligheid van de testen acht de COGEM de kans verwaarloosbaar klein dat eventueel gevormd RCR wordt gemist.

Alle punten in overweging nemende, acht de COGEM de kans verwaarloosbaar klein dat gedurende de studie RCR aanwezig is.

#### Recombinatie of complementatie van de vector in het medische 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. Een eerste vereiste hiervoor is de aanwezigheid van een verwant retrovirus in dezelfde cel als de retrovirale vector, die de verloren functies van de vector kan complementeren. De aanvrager geeft aan dat de patiënten worden getest op de aanwezigheid van onder andere *Human immunodeficiency virus* (HIV),

*Hepatitis C virus* (HCV) en *Hepatitis B virus* (HBV) en patiënten die geïnfecteerd zijn, worden 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 medische product geen relevante humane retrovirussen zullen bevatten. Hierdoor is de kans op complementatie of recombinatie 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 KTE-C19 acht de COGEM de kans op een milieurisico verwaarloosbaar klein, omdat een gammaretrovirus slecht gecomplementeerd kan worden door humane lentivirussen of endogene retrovirussen. In het uitzonderlijke geval dat er complementatie van de retrovirale vector plaatsvindt, zal dit alsnog een verwaarloosbaar klein milieurisico geven, aangezien de virale vector replicatiedeficiënt is en zich niet verder kan verspreiden in het milieu.

Op grond van bovenstaande acht de COGEM de kans op de aanwezigheid van RCR of recombinant virus door recombinatie of complementatie in de getransduceerde T-cellen verwaarloosbaar klein.

#### 4.3. Aanwezigheid van vrije virusdeeltjes

Na transductie van de T-cellen kunnen vrije vectordeeltjes in het te testen medische product achterblijven. In geval van calamiteiten kan het milieu aan deze vrije vectordeeltjes blootgesteld worden, zoals bij een prikincident waardoor de behandelend arts of het verplegend personeel hiermee besmet kan raken. Door de kweek- en was-procedures 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.<sup>14</sup> Deze formule is opgesteld voor een lentiviraal productiesysteem met een halfwaardetijd van 10 uur. De aanvrager stelt dat de halfwaardetijd van de retrovirale vector bij een temperatuur van 37°C, en in afwezigheid van stabilisatoren zoals rHSA of 10% FBS, 4 uur bedraagt.<sup>15</sup> Dit leidt tot de volgende formule:

$$\text{reductieratio} = (20^W \times 200^I \times 2^{6T}) / C_i$$

In deze formule is W het aantal wasstappen, I het aantal inactiverende wasstappen met trypsine of humaan serum en T de kweektijd in dagen na de transductie. De factor 6 is gebaseerd op de 4 uur durende halfwaardetijd van de retrovirale vector. Tot slot is C<sub>i</sub> het aantal virusdeeltjes in het oorspronkelijke inoculum. Voor open handelingen met getransduceerde zoogdiercellen heeft de COGEM een reductieratio van minimaal 100 geadviseerd, wat inhoudt dat door verdunning en inactivatie maximaal 0,01 virusdeeltje per kweek over gebleven is.

De aanvrager geeft aan dat de T-cellen met maximaal 1.4x10<sup>9</sup> retrovirale vectordeeltjes wordt getransduceerd. Na de transductie volgt een kweekperiode van minimaal 4 dagen (T) en worden de getransduceerde T-cellen 4 maal gewassen (W) alvorens het uiteindelijke medische product (KTE-



C19) wordt verkregen. Op basis van bovenstaande formule wordt op deze wijze een reductieratio van 1917 gerealiseerd (i.e., 0.0005 aanwezige deeltjes per toe te dienen batch KTE-C19).

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 ruimschoots voldaan aan de door haar gestelde minimale reductieratio van 100. Zij acht daarom de kans verwaarloosbaar klein dat er infectieuze vrije virusdeeltjes in het preparaat aanwezig zullen zijn en derden kunnen infecteren bij prikincident tijdens de toediening van het medische 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 na toediening enkele maanden aanwezig kunnen blijven in patiënten.<sup>16</sup> Derhalve kunnen bijvoorbeeld door een verwonding van de proefpersoon de getransduceerde T-cellen in theorie via bloed of lymfe in het milieu terecht komen. Aangezien de cellen buiten het lichaam niet kunnen overleven, acht de COGEM de kans op verspreiding in het milieu verwaarloosbaar klein.

Ook 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 HLA (Humaan Leukocyten Antigen) moleculen volledig gelijk zijn aan die van de patiënt. De kans dat twee niet verwante individuen volledig HLA-identiek zijn is bijzonder klein, omdat er theoretisch gezien meer dan één miljoen verschillende haplotypen zijn. Bovendien heeft ieder individu twee HLA-haplotypen. In het onwaarschijnlijke geval dat de HLA moleculen volledig gelijk zijn, kunnen de getransduceerde T-cellen een aantal vergelijkbare neveneffecten laten zien als in de beoogde patiënt.

Er is een theoretische mogelijkheid dat bij bijvoorbeeld een prikincident met een immuun-gecompromiteerd persoon geen eliminatie van de gg-T-cellen plaatsvindt. In dit geval zullen de neveneffecten gelijk zijn aan die van de beoogde patiënt. De neveneffecten die in theorie op zouden kunnen treden, zijn onder andere B-cel depletie, T-cel immortalisatie ten gevolge van insertionele mutagenese en ongecontroleerde T-cel proliferatie. De aanvrager geeft hierbij aan dat B-cel depletie van voorbijgaande aard is en immortalisatie van met gammaretrovirusvectoren gemodificeerde T-cellen en ongecontroleerde T-cel proliferatie nog nooit zijn waargenomen.<sup>13,17</sup> Bij een prikincident zullen beduidend minder gg-T-cellen geïnjecteerd worden dan bij een normale toediening bij een patiënt. Dit reduceert de kans op eventuele bijwerkingen. Op basis van bovenstaande overweging acht de COGEM derhalve de kans dat derden in deze studie met deze nadelige effecten geconfronteerd zullen worden verwaarloosbaar klein.

Gebaseerd op het bovenstaande is de COGEM van mening dat de risico's van de blootstelling van mens en milieu aan de getransduceerde T-cellen verwaarloosbaar klein zijn.

#### Genetisch gemodificeerd afval

Afval waarin zich genetisch gemodificeerde organismen bevinden, zoals infuuszakken of buizen, moet apart worden afgevoerd. De COGEM merkt op dat in de aanvraag niet altijd even duidelijk staat aangegeven dat het gg-afval op een specifieke manier wordt afgevoerd. COGEM is van mening dat de uitvoerders al het afval dat mogelijkwijs in contact is geweest met KTE-C19 af moeten voeren volgens de specifieke richtlijnen voor ggo's.

#### **5. Conclusie**

De aanvrager is van plan een klinische studie uit te voeren waarin retroviraal getransduceerde T-cellen worden gebruikt die door de expressie van een chimere antigen receptor B-cellen herkennen. 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 het preparaat 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 kans op de aanwezigheid van RCR, recombinant virus en vrije vectordeeltjes in het preparaat verwaarloosbaar klein. Tevens acht zij de kans op nadelige effecten bij blootstelling van derden of het milieu aan KTE-C19 verwaarloosbaar klein. De COGEM acht de moleculaire karakterisering nog niet volledig.

Onder de voorwaarde dat de ontbrekende sequentiegegevens van de moleculaire karakterisering overlegd worden aan de vergunningverlener en dat de aanvrager bevestigt dat de transferplasmide geen onverwachte wijzigingen bevat, is de COGEM van mening dat de milieurisico's verbonden aan deze klinische studie met retrovirale-vector getransduceerde T-cellen verwaarloosbaar klein zijn.

#### **Referenties**

1. Volk WA *et al.* (1996). B cell Development, Receptors and genes. In: Essentials of Medical Microbiology. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia
2. 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
3. Rein A (2011). Murine Leukemia Viruses: objects and organisms. *Adv. Virol.* 2011: 1-14
4. Molony murine leukemia virus safety data sheet. <https://healthsciences.ucsd.edu/som/pediatrics/research/labs/miyanohara-lab/safety/Pages/moloney-murine.aspx> (bezocht: 16-11-2016)
5. Brooks J *et al.* (2012). No evidence of cross-species transmission of mouse retroviruses to animal workers exposed to mice. *Transfusion* 52: 317-325
6. Kochenderfer JN *et al.* (2009). Construction and pre-clinical evaluation of an anti-CD19 chimeric antigen receptor. *J. Immunother.* 32: 689-702
7. Miller AD *et al.* (1991). Construction and properties of retrovirus packaging cells based on Gibbon ape Leukemia Virus. *J. Virol.* 65: 2220-2224

8. COGEM (2011). Klinische studie met retroviraal getransduceerde humane T-lymfocyten. COGEM advies CGM/110831-01
9. COGEM (2011). Aanvullende informatie over de klinische studie met retroviraal getransduceerde humane T-lymfocyten. COGEM advies CGM/111012-03
10. COGEM (2011). Klinische studie met retroviraal getransduceerde T-cellen tegen leukemie. COGEM advies CGM/110913-01
11. COGEM (2016). Klinische studie met lentiviraal getransduceerde T-cellen tegen B-cel maligniteiten. COGEM advies CGM/160229-01.
12. COGEM (2013). Criteria voor moleculaire karakterisering van ggo's voor medische en veterinaire toepassing. COGEM advies CGM/130227-05
13. 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
14. COGEM (2009). Inschaling van laboratoriumwerkzaamheden met lentivirale vectoren. COGEM advies CGM/090331-03
15. Carmo M *et al.* (2009). Stabilization of gammaretroviral and lentiviral vectors: from production to gene transfer. *J. Gene Med.* 11: 670-678
16. Morgan RA *et al.* (2006). Cancer regression in patients after transfer of genetically engineered lymphocytes. *Science* 314: 126-129
17. Scholler J *et al.* (2012). Decade-long safety and function of retroviral-modified chimeric antigen receptor T cells. *Sci. Transl. Med.* 4: 132ra53.