

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

**DATUM** 20 december 2016  
**KENMERK** CGM/161220-01  
**ONDERWERP** Advies Klinische studie met een ABCA4 transgen bevattende gg-lentivirale vector tegen Stargardt maculaire degeneratie

Geachte mevrouw Dijkma,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende de vergunningsaanvraag (IM-MV 15-013\_000) met de verkorte titel: 'Gene therapy clinical trial using SAR422459, a non-replicating, recombinant lentivirus vector derived from EIAV to express ABCA4 transporter in photoreceptors of patients with Stargardt macular degeneration' van het Radboud Universitair Medisch Centrum te Nijmegen, deelt de COGEM u het volgende mee.

**Samenvatting:**

De COGEM is gevraagd te adviseren over een klinische studie in patiënten met de oogziekte Stargardt maculaire degeneratie (SMD). Deze ziekte wordt veroorzaakt door een defect *ABCA4* gen. In deze studie wordt een genetisch gemodificeerde (gg-) EIAV vector geïnjecteerd in het oog van patiënten. Deze zogenaamde SAR422459 vector infecteert de fotoreceptoren in het oog en brengt hier een functioneel ABCA4 eiwit tot expressie. Dit heeft als doel het functieverlies van fotoreceptoren als gevolg van SMD te voorkomen.

De vector is gebaseerd op een dierpathogeen oudervirus en mist de genen die nodig zijn voor replicatie. Hierdoor kan het gg-EIAV wel cellen infecteren, maar zich hierin niet vermenigvuldigen. Op basis van deze gegevens is de COGEM van mening dat SAR422459 apathogeen is voor mens en dier.

De COGEM acht de kans dat er een replicatiecompetent virus (RCL) in het medisch product aanwezig is verwaarloosbaar klein. Mede omdat er meerdere recombinaties nodig zijn voordat er een RCL kan ontstaan en omdat de aanvrager tijdens de productie controleert op de onbedoelde aanwezigheid van RCL in het product. De kans dat de gg-EIAV vector zich naar derden kan verspreiden acht de COGEM gezien het feit dat het virus replicatiedefectief is, verwaarloosbaar klein. De COGEM adviseert om behandelde patiënten uit te sluiten van donatie van bloed, cellen en weefsels, en om patiënten met een actieve virusinfectie uit te sluiten van deelname aan de studie.

Op basis van bovenstaande gegevens en onder navolging van genoemde voorschriften is de COGEM van mening dat de risico's voor mens en milieu verbonden aan deze klinische studie met gg-EIAV 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 een ABCA4 transgen bevattende gg-lentivirale vector tegen Stargardt maculaire degeneratie

## COGEM advies CGM/161220-01

### 1. Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over een vergunningaanvraag van het Radboud Universitair Medisch Centrum voor een fase I/IIa klinische studie (vergunningaanvraag IM-MV 15-013) met een gg-lentivirale vector in patiënten met Stargardt maculaire degeneratie (SMD) en andere adenosine trifosfaat-binding cassette A4 (ABCA4) transporter geassocieerde retinopathieën. De lentivirale vector die in deze studie wordt gebruikt, bevat een expressiecassette voor de retina-specifieke ABCA4 transporter. Het tot expressie brengen van functioneel ABCA4 in de fotoreceptorcellen van het oog, heeft als doel de degeneratie van fotoreceptoren te voorkomen.

#### 1.1. Stargardt maculaire degeneratie (SMD)

Stargardt maculaire degeneratie (SMD) is een ernstige autosomaal recessieve vorm van netvliesveroudering. Het is de meest voorkomende erfelijke vorm van juveniele maculaire degeneratie. De ziekte veroorzaakt progressief verlies van het centrale zicht wat kan uitmonden in blindheid. De symptomen zijn vergelijkbaar aan leeftijdsgebonden maculaire degeneratie (LMD) wat voorkomt bij ouderen.<sup>1,2</sup>

In het netvlies (de retina), de binnenbekleding van het oog, bevinden zich onder andere neuronen, lichtgevoelige fotoreceptoren (staafjes en kegeltjes) en het retina-pigment-epitheel (RPE) wat overmatig licht absorbeert. In het centrum van het netvlies zit de gele vlek (macula), waarin zich veel kleurgevoelige kegeltjes bevinden.<sup>1</sup>

SMD wordt gekarakteriseerd door atrofische maculaire laesies, met of zonder gele vlekjes in het RPE, die ontstaan als gevolg van ophoping van lipofuscine-achtig materiaal. De ziekte is gelinkt aan mutaties in het *ABCA4* gen, dat codeert voor de retina-specifieke adenosine trifosfaat-binding cassette A4 transporter (*ABCA4*, ook wel *ABCR*). *ABCA4* komt tot expressie in de fotoreceptoren en verwijderd 'all-trans-retinal' uit de fotoreceptoren. Een tekort aan *ABCA4* eiwit leidt tot accumulatie van 'all-trans-retinal' en de afbraakproducten hiervan, waardoor de fotoreceptoren en RPE cellen afsterven.<sup>1,2</sup>

#### 1.2. Equine Infectious Anemia Virus (EIAV)

*Equine infectious anemia virus* (EIAV) is een RNA virus dat behoort tot de lentivirussen en tot de familie van retrovirussen (*Retroviridae*, genus *Lentivirus*).<sup>3</sup> EIAV is een strikt dierpathogeen en veroorzaakt de besmettelijke ziekte equine infectieuze anemie (EIA) bij dieren behorende tot de taxonomische familie *Equidae* (paarden, muil dieren, zebra's en ezels). De ziekteverschijnselen die optreden zijn onder andere koorts en bloedarmoede. Wanneer het dier een eerste infectie met EIAV overleeft, kan het een chronische vorm van EIA ontwikkelen en levenslang drager van het virus worden.

De transmissie van het virus vindt hoofdzakelijk plaats door overdracht van besmet bloed van geïnfecteerde paardachtigen. Ook sperma van geïnfecteerde hengsten is besmettelijk. Het merendeel

van de besmettingen wordt veroorzaakt door bloedzuigende insecten, voornamelijk door dazen (steekvliegen). Het virus kan niet vermeerderen in insecten en het enige reservoir van het virus zijn *Equidae*.<sup>4,6,13</sup>

### **1.3 Genomische organisatie van EIAV**

Het genoom van EIAV heeft aan weerszijden een zogenaamde ‘Long Terminal Repeat’ (LTR) en bevat daarnaast een packagingsignaal ( $\Psi$ ), drie structurele genen (*gag*, *pol* en *env*) en drie regulatorie/accessoire genen (*tat*, *rev* en *S2*).<sup>5,6,7</sup>

De LTR's spelen een belangrijke rol bij de integratie van het virale genoom in het genoom van de gastheer en bij de synthese van het lentivirale RNA. Een LTR bestaat uit een unieke 3' sequentie (U3), een repeat regio (R) en een uniek 5' (U5) domein. Het *gag* gen codeert voor verscheidene structurele eiwitten. Het *env* gen codeert voor het virale membraaneiwit dat verantwoordelijk is voor de binding van het virus aan de gastheercel. Het *pol* gen codeert zowel voor het enzym reverse transcriptase als voor het enzym integrase.<sup>5,6,7</sup>

Het regulatorie/accessoire eiwit Tat is een transcriptiefactor die noodzakelijk is voor de productie van genomisch lentiviraal RNA. Rev is een ‘shuttle’ eiwit voor virale transcripten en reguleert hierdoor de expressie van de virale genen. Het S2 eiwit reguleert de cytokine- en chemokine-respons in macrofagen en speelt daarbij een belangrijke rol in de virale pathogeniteit.<sup>6,7,8</sup>

### **1.4 Het medische product – SAR422459**

Lentivirale vectoren, die afgeleid zijn van lentivirussen, worden veelvuldig toegepast als genoverdrachtsysteem omdat dit vectorsysteem stabiel integreert in het genoom van de geïnfecteerde cel en omdat de vectoren zowel delende als niet-delende cellen kunnen infecteren. Er kunnen diverse lentivirale vectoren voor dit doel gebruikt worden.<sup>7</sup>

In deze vergunningaanvraag wordt een replicatiedefectieve lentivirale vector SAR422459 besproken die gebaseerd is op het genoom van EIAV. De vector bevat de minimale lentivirale sequentie die nodig is voor packaging, reverse transcriptie en integratie. Zo bevat het de LTR R-U5 regio, het packagingsignaal ( $\Psi$ ) en een zelf-inactiverende (SIN) LTR. Een deel van de 3'LTR, het zogenaamde U3 domein, is verwijderd om de kans op mobilisatie van de vector uit het genoom van de gastheer te reduceren.<sup>7,9,10</sup> Daarnaast bevat de vector een neomycine gen, de aanwezigheid hiervan is bedoeld om de titer van de lentivirale vectorbatches te verhogen. Verder is in de vector het gen gekloneerd dat codeert voor ABCA4. De expressie van dit gen staat onder controle van een ‘*Human cytomegalovirus* (CMV) immediate-early enhancer/promoter’. Ook bevat de vector een gemodificeerd ‘*Woodchuck hepatitis virus* post-transcriptional regulatory element’ (WPRE) wat door insertie van een stopcodon is geïnactiveerd. Deze sequentie verhoogt de ABCA4 expressie door middel van stabilisatie van het transcript.

### **1.5 Productie van de lentivirale vector**

De productie van de lentivirale vector SAR422459, die gebruikt wordt voor de transductie van de fotoreceptoren, maakt geen deel uit van de onderhavige vergunningaanvraag. Voor de productie van de vector zijn de verschillende virusgenen verdeeld over drie verschillende plasmiden, een ‘transferplasmide’, een ‘pseudotyping plasmide’ en een ‘packaging plasmide’ die samen in 293T cellen

(humane embryonale niercellen) worden getransfecteerd. Door deze opsplitsing moet de productie van replicatiecompetent lentivirus (RCL) voorkomen worden en kan het transgen of gastheerbereik van de lentivirale vector eenvoudig aangepast worden. De plasmiden moeten gezamenlijk in een gastheercel getransfecteerd worden om virusdeeltjes te kunnen produceren.

De lentivirale transferplasmide pONYKABCA4 bevat het genoom voor SAR422459. De ‘packaging plasmide’ pESGPK bevat genen die coderen voor de virale eiwitten Gag en Pol. De expressie van deze genen staat onder controle van een CMV promoter. Daarnaast bevat het een SV40 polyadenyleringssignaal en een resistentiegen tegen kanamycine. De ‘pseudotyping plasmide’ pHGK codeert voor het glycoproteïne G van het *Vesicular stomatitis Indiana virus* (VSIV), waarvan de expressie van het gen onder controle staat van een CMV promoter. Verder bevat het een intron afkomstig van ‘rabbit beta-globin’, een heteroloog polyadenyleringssignaal en een resistentiegen tegen kanamycine.

## 2. Voorgenomen werkzaamheden

Het doel van de klinische studie is om de veiligheid van, tolerantie voor en biologische werkzaamheid van oplopende doses SAR422459 te testen om zodoende een nieuwe therapie te ontwikkelen tegen SMD. De aanvrager wil maximaal 500 SMD patiënten in deze studie includeren.

Zowel de cellen gebruikt voor virusproductie als de virusbatch worden voorafgaand aan vrijgifte getest op de aanwezigheid van RCL via een op celweek gebaseerde test en onderworpen aan verschillende kwaliteitscontroles. De RCL test gebeurt door middel van amplificatie in HEK293 cellen en detectie met ‘Product enhanced reverse transcriptase’ (PERT). De virusbatch wordt pas vrijgegeven indien de afwezigheid van RCL, de identiteit van de vector, steriliteit en de afwezigheid van endotoxine is bevestigd.

Na vrijgifte wordt het medisch product SAR422459, conform de WIP richtlijnen<sup>11</sup> “gentherapie” en “omstandigheden (kleine) chirurgische en invasieve ingrepen”, via subretinale injectie éénmalig toegediend aan de patiënten. Voorafgaand aan de injectie vindt vitrectomie plaats, waarbij het vocht in het oog vervangen wordt door een fysiologische zoutoplossing. Vervolgens krijgen de patiënten  $10^4$  tot  $10^7$  transducing units (TU) SAR422459 toegediend.

Na de behandeling verblijft de patiënt voor 1 uur ter observatie in een speciale patiëntenkamer. Als er tijdens deze observatieperiode geen bijwerkingen worden geconstateerd mag de patiënt, na afname van bloed en urine, naar huis. Na de injectieprocedure zal het behandelde oog waarin SAR422459 is geïnjecteerd gedurende één dag worden afgedekt.

Gedurende de studie worden monsters van bloed en urine afgenomen van de patiënten om de eventuele aanwezigheid van vectordeeltjes te kunnen bepalen. De patiënten worden tot 15 jaar na behandeling gecontroleerd op mogelijke nadelige effecten van de behandeling.

Bij de selectie van patiënten voor deze studie worden de volgende inclusie- en exclusiecriteria gehanteerd:

- Alleen patiënten die gediagnostiseerd zijn met SMD en op zijn minst één gemuteerd *ABCA4* allel hebben, mogen deelnemen aan de studie;
- Patiënten met een medische geschiedenis van *Hepatitis A virus* (HAV), *Hepatitis B virus* (HBV), *Hepatitis C virus* (HCV) of *Human immunodeficiency virus* (HIV) infectie, worden uitgesloten van deelname aan de studie;

- Tevens worden de behandelde patiënten voor 3 maanden uitgesloten van donatie van bloed, cellen, weefsels en organen.

### 3. Eerder COGEM advies

De COGEM heeft éénmaal eerder geadviseerd over de mogelijke risico's voor mens en milieu van een klinische studie met een lentivirale vector. Het betrof een studie waarin lentiviraal getransduceerde autologe T-cellen aan patiënten met verschillende soorten B-cel maligniteiten werden toegediend. De COGEM achtte de milieurisico's verbonden aan deze klinische studie verwaarloosbaar klein.<sup>12</sup>

Verder heeft de COGEM twee eerdere adviezen uitgebracht over EIAV. In het eerste advies heeft de COGEM op basis van de pathogeniteit van EIAV en de mate van transmissie, EIAV ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2.<sup>13</sup> In het tweede advies heeft de COGEM geadviseerd over de inschaling van werkzaamheden met eieren en sperma van twee transgene kippenlijnen die gegenereerd zijn met lentivirale vectoren gebaseerd op EIAV.<sup>14</sup> De COGEM was van mening dat de wijze waarop de gg-EIAV geproduceerd was, het meest overeenkwam met een tweede generatie productiesysteem voor HIV-gebaseerde SIN-vectoren. In de aangeleverde informatie werd niet vermeld of de virusbatch getest was op de aanwezigheid van RCL. Gebaseerd op de ervaringen met het gebruikte productiesysteem achtte de COGEM voor de eerste generatie transgene kippen de kans klein dat er RCL aanwezig was. Zij kon dit echter niet uitsluiten. Op basis van de indeling van EIAV in pathogeniteitsklasse 2 adviseerde de COGEM daarom de werkzaamheden met de eerste generatie transgene kippen of cellen en weefsels afkomstig van deze kippen in te schalen op DM-II of ML-II niveau. Verder adviseerde zij de voorgenomen werkzaamheden met nakomelingen en eieren of sperma van de nakomelingen van de *in ovo* getransduceerde kippen op respectievelijk D-I en ML-I inperkingsniveau in te schalen.<sup>14</sup>

### 4. Overweging

In de onderhavige aanvraag wordt de replicatiedefectieve lentivirale vector SAR422459 aan SMD patiënten toegediend. Mogelijke risico's die hierbij kunnen optreden, hebben betrekking op de pathogeniteit van het genetisch gemodificeerde organisme (ggo), de mogelijke verspreiding van het ggo in het milieu en de eventuele vorming van nieuwe recombinante virussen. Door de verspreiding zouden andere personen dan de deelnemende patiënten geïnfecteerd kunnen worden met het ggo of met een recombinant virus.

#### 4.1 Pathogeniteit en karakterisatie van het ggo

##### 4.1.1. Pathogeniteit

De in onderhavige studie gebruikte lentivirale vector SAR422459 is gebaseerd op een virus dat pathogeen is voor dieren die behoren tot de taxonomische familie *Equidae* (paardachtigen). Het wildtype EIAV is strikt dierpathogeen en is niet in staat om mensen te infecteren en ziekte te veroorzaken.<sup>4,13</sup> Het tropisme van de genetisch gemodificeerde (gg-) vector is verbreed door de pseudotypering met het oppervlakte-eiwit VSIV-G. Hierdoor kan de vector onder andere humane

fotoreceptoren (de doelcellen) infecteren. In de lentivirale vector zijn alle virale genen verwijderd waardoor het replicatiedefectief is.

Op basis van deze gegevens is de COGEM van mening dat de SAR422459 vector apathogeen is voor mens en dier.

#### *4.1.2 Moleculaire karakterisering*

De aanvrager heeft de sequentie van de transferplasmide pONYKABCA4, dat het genoom voor SAR422459 bevat, volledig bepaald. De genoomsequentie is niet door de aanvrager overlegd, maar hij geeft aan dat er geen afwijkingen ten opzichte van de verwachte sequentie zijn gevonden. Op basis van deze gegevens is de COGEM van mening dat pONYKABCA4 voldoende moleculair gekarakteriseerd is.

De aanvrager heeft de samenstelling van het vectorgenoom SAR422459 met 'reverse' transcriptie van het RNA genoom en restrictie-analyse gecontroleerd. Verder heeft hij met Northern blotting het ingepakte RNA en het interne transcript dat na transductie wordt gemaakt, gekarakteriseerd, en het geïntegreerde genoom door middel van Southern blot analyse op SAR422459 getransduceerde cellen geanalyseerd. De COGEM is van mening dat SAR422459 hiermee afdoende is gekarakteriseerd.

## **4.2 Recombinatie en complementatie**

### *4.2.1 Ontstaan van replicatiecompetent EIAV tijdens productie*

Een mogelijk risico bij de productie van lentivirale vectordeeltjes is het ontstaan van replicatiecompetent lentivirus (RCL). In theorie zou RCL kunnen ontstaan door recombinatie tussen de verschillende plasmiden die benodigd zijn voor de productie van de virale vector. Ook kunnen endogene retrovirussequenties die in het genoom van gebruikte cellijn aanwezig zijn tot RCL leiden. De kans op het ontstaan van RCL is onder andere afhankelijk van het aantal recombinaties dat nodig is om de vector weer alle eigenschappen terug te geven die van belang zijn voor 'zelfstandige' replicatie in cellen.

In onderhavige aanvraag wordt gebruik gemaakt van een lentiviraal productiesysteem waarin de sequenties die nodig zijn voor productie van de vector zijn verdeeld over drie verschillende plasmiden: een 'transferplasmide', een 'pseudotyping plasmide' en een 'packaging plasmide'.<sup>7</sup>

SAR422459 is een replicatiedefectieve virale SIN-vector waaruit de genen die essentieel zijn voor de replicatie van het virusdeeltje zijn verwijderd. De aanvrager stelt dat er minimale sequentieovereenkomst is tussen de verschillende sequenties op de drie gebruikte plasmiden en geeft aan dat dit de kans op homologe recombinatie reduceert. Daarbij zijn de codons in de coderende sequentie voor Gag en Pol geoptimaliseerd en komen niet meer overeen met de wildtype sequentie. Ook wordt er voor de productie van SAR422459 een cellijn gebruikt die vrij is van HIV-1, HIV-2, *Human T-cell lymphotropic virus* (HTLV)-1 en HTLV-2, *Simian immunodeficiency virus* (SIV) en andere niet humane lentivirussen. De aanvrager acht om deze redenen de kans dat tijdens de productie een replicatiecompetent EIAV ontstaat verwaarloosbaar klein.

De COGEM constateert dat uit de informatie van de aanvrager blijkt dat er op verschillende posities sequentieoverlap is tussen de drie gebruikte plasmiden. Op elk van de plasmiden bevinden zich CMV promoters en kanamycine resistentiegenen. De aanwezigheid van het gen coderend voor kanamycine resistentie en de CMV promoters in de transferplasmide kan leiden tot homologe recombinatie met identieke sequenties in de ‘pseudotyping’ en ‘packaging’ plasmiden. De COGEM acht de kans op homologe recombinatie tijdens de productie van de lentivirale vector daarom groter dan door de aanvrager wordt gesteld.

De COGEM constateert echter dat er in het gebruikte productiesysteem twee recombinatie-gebeurtenissen nodig zijn alvorens er een RCL zou kunnen ontstaan. Bovendien wordt op meerdere momenten tijdens de productie op eventueel ontstaan RCL gecontroleerd, en gezien de gevoeligheid van de gebruikte PERT-test acht de COGEM de kans verwaarloosbaar klein dat RCL in de virale vectorbatch aanwezig is. Uit de gegevens van de aanvrager blijkt dat er tot op heden in geen van de geproduceerde virale vectorbatches RCL is aangetroffen.

#### *4.2.2 Ontstaan van een ander EIAV virus dan SAR422459 tijdens productie*

Zoals hierboven aangegeven is er sequentieoverlap aanwezig tussen de plasmiden die tijdens het productieproces worden gebruikt. Op basis van de beschikbare informatie kan de COGEM hierdoor niet uitsluiten dat er tijdens de productie homologe recombinatie tussen deze plasmiden optreedt. In theorie zou dit er toe kunnen leiden dat de coderende sequenties met de virale genen *gag/pol* of *VSIV-G* uit respectievelijk het ‘packaging’ en ‘pseudotyping’ plasmide voorzien worden van LTR en packagingsignaal ( $\Psi$ ). Dit zou kunnen betekenen dat er tijdens de productie naast de beoogde virale vector SAR422459 ook nog andere (replicatiedefectieve) lentivirale vectoren gevormd worden. Aangezien het medische product hier niet specifiek op wordt gecontroleerd, kan de COGEM niet uitsluiten dat het medische product naast SAR422459 ook andere EIAV virale vectoren zal bevatten.

In het ergste geval kan dit ertoe leiden dat eenzelfde fotoreceptor wordt getransduceerd met verschillende virale vectoren die elkaars ontbrekende functies kunnen complementeren. De COGEM wijst er hierbij op dat in deze studie gebruik wordt gemaakt van een zogenaamde SIN-vector. Deze vectoren kunnen na integratie in de gastheer slechts zeer beperkt worden gemobiliseerd. Ook ontbreken meerdere accessoire genen van EIAV. De COGEM is hierdoor van mening dat zelfs in geschetste complementatie situatie de kans op het ontstaan van nieuwe virusdeeltjes verwaarloosbaar klein zal zijn.

Hoewel de COGEM de mogelijke milieurisico's die uit dit productiesysteem voortkomen, verwaarloosbaar klein acht, plaatst zij wel haar vraagtekens bij het ontwerp van dit productiesysteem. Theoretisch is niet uitgesloten dat andere EIAV virale vectoren en virusdeeltjes dan SAR422459 aanwezig zijn in het medisch product. Dit kan leiden tot de situatie waarin een andere dosis van SAR422459 dan beoogd, wordt toegediend aan de patiënten. Om deze reden acht de COGEM een betere karakterisering van het medisch product wenselijk.

#### *4.2.3. Complementatie en recombinatie in de patiënt*



In theorie kunnen er in de patiënt opnieuw SAR422459 deeltjes worden gevormd als gevolg van complementatie. Een vereiste hiervoor is de aanwezigheid van een verwant lentivirus in dezelfde cel als de lentivirale vector die de verloren functies van de vector kan complementeren. De kans dat er in dezelfde cel in het oog zowel SAR422459 als wildtype EIAV aanwezig is, acht de COGEM verwaarloosbaar klein. Dit is gebaseerd op het feit dat het wildtype virus EIAV strikt dierpathogeen is en niet infectieus is voor de mens.<sup>4,13</sup> De aanvrager geeft verder aan dat de patiënten worden getest op de aanwezigheid van HAV, HBV, HCV en HIV, en dat patiënten, die geïnfecteerd zijn van deelname aan de studie worden uitgesloten. Hierdoor kunnen de in de virale vector ontbrekende EIAV componenten niet worden aangevuld. Bovendien wijst de COGEM erop dat de in deze studie te gebruiken SIN vector speciaal is ontworpen om de kans op mobilisatie van de vector te minimaliseren. De COGEM acht de kans op complementatie derhalve verwaarloosbaar klein.

Ook zou er in theorie recombinatie van de virale vector kunnen plaatsvinden in de patiënt met mogelijk het ontstaan van een recombinant virus tot gevolg. Circa 8% van het humane genoom bestaat uit endogene retrovirale sequenties. Deze worden voornamelijk gerelateerd aan beta-retrovirussen en in een enkel geval aan gamma-retrovirussen, en hebben een beperkte homologie met EIAV. Door accumulatie van vele inactiverende mutaties coderen deze sequenties niet voor replicatiecompetente Human endogenous retroviruses (HERVs).<sup>15,16,17</sup> Daarnaast wordt, zoals eerder genoemd, de vector niet toegediend aan een patiënt wanneer er aanwijzingen zijn voor een actieve virale infectie.

Op basis van bovenstaande acht de COGEM de kans op recombinatie in de patiënt verwaarloosbaar klein.

Alles in overweging nemende acht de COGEM de kans op aanwezigheid van een recombinant virus door recombinatie of complementatie in de getransduceerde fotoreceptoren verwaarloosbaar klein.

### **4.3 Shedding**

Na toediening van de virale vector mag de patiënt na 1 uur het ziekenhuis verlaten. Hierdoor bestaat de mogelijkheid dat virusdeeltjes zowel in het ziekenhuis als in de thuissituatie of elders in het milieu worden uitgescheiden.

Volgens de aanvrager wordt de kans op shedding verkleind omdat SAR422459 geïnjecteerd wordt in een gesloten compartiment (het oog). Daarbij wordt opgemerkt dat zelfs als de vector in staat is de bloed-retina barrière te passeren en in de bloedsomloop terecht zou komen, dit zal leiden tot inactivatie van het ggo door het immuunsysteem.

In een pre-klinische studie met konijnen werden tot 3 dagen na injectie zeer kleine hoeveelheden vector gedetecteerd in het bloed/plasma en traanvocht. In een pre-klinische studie met primaten waren er na één dag geen vectordeeltjes meer te detecteren in het traanvocht en werden geen tot zeer lage hoeveelheden in het bloed/plasma gevonden. Het ggo verspreidde zich in beide diersoorten niet naar het andere niet-geïnjecteerde oog en kwam ook niet in de bloedsomloop of in de omgeving terecht via lichaamsvloeistoffen (tranen, urine).

In de klinische studie met patiënten die behandeld zijn met SAR422459 zijn er, tot op heden, in bloed en urine monsters geen vectordeeltjes waargenomen (data tot 36 maanden na behandeling beschikbaar). Deze bevindingen zijn volgens de aanvrager in overeenstemming met resultaten van klinische studies met andere EIAV vectoren, zoals Retinostat (subretinale injectie), SAR421869 (subretinale injectie) en ProSavin (intrastriatale injectie). De aanwezigheid van vectordeeltjes in traanvocht is in deze studies niet onderzocht.

Het is niet geheel uit te sluiten dat derden door uitscheiding via traanvocht of onverhoopte incidenten, zoals prikincidenten, worden blootgesteld aan het ggo. De kans dat de vector zich na blootstelling van derden kan verspreiden, acht de COGEM verwaarloosbaar klein, gezien het feit dat het virus replicatiedefectief is. Aangezien het desondanks onwenselijk is dat derden worden blootgesteld aan het ggo en er niet kan worden uitgesloten dat er kort na toediening van SAR422459 zich mogelijk virusdeeltjes bevinden in het traanvocht van de patiënt, stemt de COGEM in met het door de aanvrager voorgestelde voorschrift om het geïnjecteerde oog na behandeling voor één dag af te dekken.

Gebaseerd op bovenstaande is de COGEM van mening dat de risico's van blootstelling van mens en milieu aan het ggo verwaarloosbaar klein is.

## 5. Conclusie

Op basis van bovenstaande overweging is de COGEM van mening dat de risico's voor mens en milieu verbonden aan deze klinische studie met SAR422459 verwaarloosbaar klein zijn. Hierbij acht zij de volgende maatregelen van belang:

- Patiënten met een actieve infectie HBV of HIV worden uitgesloten van deelname;
- De behandelde patiënten worden voor 3 maanden uitgesloten van donatie van bloed, cellen en weefsels.

## 6. Referenties

1. Oogarten.nl. Erfelijke vormen van macula degeneratie (jonge leeftijd), dystrofie  
[http://www.oogartsen.nl/oogartsen/glasvocht\\_netvlies/macula\\_degeneratie\\_juveniel/#jr](http://www.oogartsen.nl/oogartsen/glasvocht_netvlies/macula_degeneratie_juveniel/#jr)  
(bezoekt: 1 december 2016)
2. Lambertus S. *et al.* (2015). Early-onset stargardt disease: phenotypic and genotypic characteristics. *Ophthalmology*. 122: 335-344
3. 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
4. Mealey RH (2014). Equine infectious anemia. In: *Equine Infectious Diseases (Second Edition)*. Elsevier Inc. 232-238.
5. Desrosiers RC (2001). Nonhuman Lentiviruses. In: *Fields Virology*, Edited by: Knipe DM & Howley PM. Philadelphia: 2095-2121
6. COGEM (2010). Werkzaamheden met gg-EIAV getransduceerde kippen. COGEM advies CGM/100920-01

7. COGEM (2009). Generiek advies: handelingen met lentivirale vectoren. COGEM advies CGM/090331-03
8. Covalada L *et al.* (2010) EIAV S2 enhances pro-inflammatory cytokine and chemokine response in infected macrophages *Virology* 397:217-223
9. Zufferey R *et al.* (1998). Self-inactivating lentivirus vector for safe and efficient in vivo gene delivery. *J. Virol.* 72: 9873-9880
10. Miyoshi H *et al.* (1998). Development of a self-inactivating lentivirus vector. *J. Virol.* 72: 8150-8157
11. Rivm.nl WIP-Richtlijnen.  
[http://www.rivm.nl/Onderwerpen/W/Werkgroep\\_Infectie\\_Preventie\\_WIP/WIP\\_Richtlijnen](http://www.rivm.nl/Onderwerpen/W/Werkgroep_Infectie_Preventie_WIP/WIP_Richtlijnen) (bezoekt: 19 december 2016)
12. COGEM (2016). Advies Klinische studie lentiviraal getransduceerde T-cellen. COGEM advies CGM/160229-01
13. COGEM (2008). Classificatie *Equine infectious anemia virus*. COGEM advies CGM/080205-01
14. COGEM (2010). Werkzaamheden met gg-EIAV getransduceerde kippen. COGEM advies CGM/100920-01
15. Landers ES *et al.* (2001). Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409: 860-892
16. Dewannieux M & Heidmann T (2013). Endogenous retroviruses: acquisition . amplification and taming of genome invaders. *Curr. Opin. Virol.* 3: 646-656
17. Villesen P *et al.* (2004). Identification of endogenous retroviral reading frames in the human genome. *Retrovirology* 1: 32-44