

Aan de staatssecretaris van
Infrastructuur en Waterstaat
Mevrouw drs. S. van Veldhoven-van der Meer
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 31 december 2018
KENMERK CGM/181231-01
ONDERWERP Advies klinische studie gg-T-cellen JCAR017, Princes Máxima Centrum

Geachte mevrouw Van Veldhoven,

Naar aanleiding van de vergunningaanvraag IM-MV 18-010_000 van het Prinses Máxima Centrum, is de COGEM gevraagd te adviseren over een klinische studie bij patiënten met B-cel maligniteiten. De aanvraag is nagenoeg identiek aan een eerdere klinische studie waarover in 2018 geadviseerd is (IM MV 17-005). Ten opzichte van deze eerdere klinische studie heeft een wijziging in de exclusiecriteria plaatsgevonden. De COGEM deelt u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is gevraagd om te adviseren over de milieurisico's van een klinische studie met genetisch gemodificeerde (gg-)T-cellen in patiënten met bloedkanker. De patiënten worden behandeld met lichaamseigen T-cellen die door genetische modificatie een chimere antigen receptor (CAR) tot expressie brengen. Deze gg-T-cellen worden vervolgens teruggeplaatst in de patiënt om een effectieve afweerreactie tegen de ziekte te bewerkstelligen. Deze aanvraag is in essentie een kopie van een eerdere vergunningaanvraag (IM-MV 17-005).

Mogelijke risico's die bij deze klinische studie kunnen optreden, hebben vooral betrekking op de eventuele vorming en verspreiding van replicatiecompetent lentivirus (RCL) en de aanwezigheid van vrije vectordeeltjes in het medisch product.

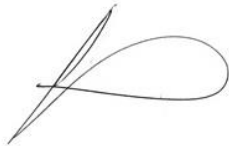
De aanvrager voert meerdere testen uit om de aanwezigheid van RCL in het medische product uit te sluiten. De COGEM acht deze testen toereikend en acht de kans op de aanwezigheid van RCL in het medische eindproduct, mede gezien het gebruikte productiesysteem, verwaarloosbaar klein. Door de kweek- en wasprocedures tijdens de productie van de gg-T-cellen, worden eventueel aanwezige infectieuze vectordeeltjes zodanig verdund, dat de kans op aanwezigheid van infectieuze vectordeeltjes in het medisch product verwaarloosbaar klein is. 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 door het immuunsysteem afgestoten en kunnen buiten het lichaam niet overleven.

Op basis van bovenstaande gegevens is de COGEM van oordeel de risico's voor mens en milieu verbonden aan deze klinische studie met deze gg-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 IenW
 Dr. D. Horst, Loket genterapie

Klinische studie met lentiviraal getransduceerde T-cellen (JCAR017) tegen B-cel maligniteiten (Prinses Máxima Centrum)

COGEM advies CGM/181231-01

1. Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over een vergunningaanvraag (IM-MV 18-010) voor een klinische studie waarbij genetisch gemodificeerde (gg-)T-cellen (JCAR017) aan patiënten met B-cel maligniteiten worden toegediend. JCAR017 wordt vervaardigd door patiëntspecifieke lichaamseigen T-cellen *ex vivo* te transduceren met een replicatie-deficiënte lentivirale SIN vector. Deze vector bevat sequenties voor een ‘chimere antigeen receptor’ (CAR) gericht tegen antigenen (CD19) die aanwezig zijn op het celoppervlak van (maligne) B-cellen. De gg-T-cellen worden vervolgens teruggeplaatst in de patiënt om de B-cel maligniteit te behandelen. De werkzaamheden voor deze studie zullen worden uitgevoerd in het Prinses Máxima Centrum.

De COGEM merkt op dat de onderhavige vergunningaanvraag en voorgenomen klinische studie nagenoeg identiek zijn aan de eerder toegewezen vergunning IM-MV 17-005. Het betreft dezelfde virale vector, maar een andere patiëntenpopulatie en de vergunning is door een ander rechtspersoon aangevraagd. Ten opzichte van de eerder toegewezen vergunning is er een wijziging aangebracht in de gehanteerde exclusiecriteria. In de onderhavige vergunningaanvraag worden patiënten met een actieve HTLV infectie niet meer uitgesloten van deelname, en worden zwangere patiënten of patiënten die borstvoeding geven wél uitgesloten van deelname.

1.1 Het adaptieve 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 celmembraan.¹ 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 geheugen B-cellen die gedurende lange tijd leven en snel reageren bij een tweede blootstelling aan hetzelfde antigeen.²

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 veilig ‘target’ voor therapeutische interventie in B-cel maligniteiten.

1.2. Lentivirale vectoren

Lentivirale vectoren zijn afgeleid van lentivirussen en behoren tot de familie van retrovirussen (*Retroviridae*, genus *Lentivirus*).³ Een lentivirusdeeltje bevat twee enkelstrengs RNA kopieën van het

virale genoom van ieder circa 9.3 kb. Als basis voor de in deze aanvraag beschreven lentivirale vectoren wordt gebruik gemaakt van het genoom van het *Human immunodeficiency virus 1* (HIV-1). Het genoom van HIV-1 heeft aan weerszijden een zogenaamde Long Terminal Repeat (LTR). Daarnaast bevat het genoom een ‘packaging’ signaal (ψ), drie structurele genen (*gag*, *pol* en *env*), vier accessoire genen (*vif*, *vpr*, *vpu* en *nef*) en twee regulatoire genen (*tat* en *rev*).⁴

Voor de productie van de lentivirale vectoren worden de verschillende virusgenen opgesplitst en verdeeld over verschillende plasmiden. Deze plasmiden moeten gezamenlijk in een gastheer cel getransfecteerd worden om virusdeeltjes te kunnen produceren.^{4,5} Door deze opsplitsing wordt de kans op het ontstaan van replicatiecompetent lentivirus (RCL) tijdens de productie van lentivirale vectoren gereduceerd en neemt de bioveiligheid toe. Met het oog op deze bioveiligheid zijn in de loop van de tijd verschillende generaties van productiesystemen (1 t/m 3) ontwikkeld.

Naast de verbeteringen aan het productiesysteem, is de bioveiligheid van het lentivirale vectorsysteem ook verbeterd door de ontwikkeling van zelf-inactiverende (SIN) vectoren.^{6,7} In deze SIN vectoren is een deel van de 3’LTR verwijderd, waardoor de kans op mobilisatie van de vector uit het genoom van de gastheer aanzienlijk gereduceerd wordt.

Van nature infecteert HIV-1 de verschillende cellen van het immuunsysteem zoals T-lymfocyten, macrofagen en monocytten. Voor een bredere toepasbaarheid van lentivirale vectoren wordt het gastheerbereik meestal uitgebreid door pseudotypering van de lentivirale deeltjes met een oppervlakte eiwit (glycoproteïne) van het Vesicular stomatitis virus (VSV, dat volgens de huidige taxonomie bekend staat als *Indiana vesiculovirus*).

1.3 Productie van de replicatie-deficiente lentivirale SIN vector

De lentivirale vector die gebruikt wordt voor de transductie van de autologe T-cellen, wordt geproduceerd met een productiesysteem van de derde generatie. Daarvoor worden een transferplasmide en drie verschillende (helper)plasmiden gezamenlijk getransfecteerd in HEK293T cellen (humane embryonale niercellen). Het transferplasmide levert het genoom voor bovenbeschreven lentivirale vector en bevat de 5’LTR en de SIN 3’LTR, het ‘packaging’ (ψ) signaal, de ‘splice donor’ en ‘acceptor sites’, het ‘Rev Response element’ (RRE), een ‘Woodchuck hepatitis virus post-transcriptional regulatory element’ (WPRE) fragment en de transgene (CAR) sequentie. Het CAR transgen is samengesteld uit een CD19-specifieke muizen ‘single-chain antibody fragment’ (scFv), een humane IgG4 ‘hinge’ regio en de CD28 transmembraan regio, en een humane CD3 ζ cytoplasmatische staart. Het CAR fragment is gelinkt aan een getrunceerd en niet-functioneel ‘human epidermal growth factor receptor’ (EGFRt) fragment. Hierin bevindt zich een cetuximab bindingsdomein waarmee de gg-T-cellen selectief uitgeschakeld kunnen worden. Twee helperplasmiden bevatten de coderende sequentie voor HIV componenten die essentieel zijn voor virusproductie. Dit zijn respectievelijk de eiwitten Gag, Pol en Rev waarbij de coderende sequentie voor Gag en Pol gezamenlijk op één packagingplasmide ligt. Het derde plasmide codeert voor de glycoproteïne afkomstig van VSV (VSV-G). De niet-essentiële accessoire en regulatoire HIV-1 genen zijn uit het vectorsysteem verwijderd. Na co-transfectie van HEK293T cellen met het transferplasmide en de drie helperplasmiden wordt een VSV-G gepseudotyperde lentivirale SIN vector (ZRX-014-LV) geproduceerd waarmee de T-cellen worden getransduceerd.

1.4 Productie van JCAR017

Voor de productie van de gg-T-cellen (JCAR017) worden T-cellen uit het bloed van de patiënt geïsoleerd, en *ex vivo* getransduceerd met de replicatie-deficiente lentivirale SIN vector ZRX-014-LV. Na integratie van het CAR transgen in de gg-T-cellen worden de cellen vermeerderd en gecryopreserveerd. De productie van de gg-T-cellen (vector productie, transductie en vermeerdering van gg-T-cellen) vindt plaats in het buitenland en valt niet onder deze vergunningaanvraag. De gg-T-cellen worden vervolgens naar Nederland verscheept en via infusie teruggebracht in de patiënt.

2. Voorgenomen werkzaamheden

JCAR017 wordt intraveneus toegediend via een centrale veneuze katheter aan maximaal 111 pediatrische patiënten met acute lymfoïde leukemie (ALL) en non-Hodgkinlymfoom (NHL). Personeel dat de flacons met JCAR017 hanteert, draagt beschermende kleding en handschoenen. JCAR017 zal worden toegediend in verschillende doseringen, waarbij de maximale dosering $1,5 \times 10^8$ getransduceerde cellen bedraagt. Tijdens de fase 1b studie wordt de aanbevolen dosering van JCAR017 bepaald, en tijdens de fase 2 studie wordt de werkzaamheid van deze dosering bepaald.

De patiënten worden 15 jaar gevolgd, en op verschillende momenten worden monsters (bloed, tumorweefsel en beenmerg) afgenomen. Deze monsters worden onder andere gecontroleerd op aanwezigheid van sequenties van de virale envelop (door middel van PCR) om aanwezigheid van RCL uit te sluiten. Bij deelname worden de patiënten door de aanvrager geïnstrueerd om na toediening van de gg-T-cellen minstens 12 maanden geen sperma, eicellen, organen, of bloed(producten) te doneren. Deze periode wordt verlengd indien er nog gg-T-cellen aangetoond worden in het bloed. De aanvrager hanteert daarnaast als exclusiecriteria dat patiënten in deze klinische studie vrij dienen te zijn van infecties met lentivirus HIV en de hepatitisvirussen HBV en HCV.

3. Eerder COGEM advies

De afgelopen jaren heeft de COGEM verschillende vergunningaanvragen beoordeeld voor klinische studies waarbij retro- of lentiviraal getransduceerde gg-T-cellen ingezet worden als immunotherapie, voornamelijk tegen B-cel maligniteiten.^{8,9,10,11,12,13}

In juni 2018 heeft de COGEM positief advies uitgebracht over een klinische studie waarbij een identieke SIN lentivirale vector wordt gebruikt als in de onderhavige vergunningaanvraag.¹⁴ Destijds kon niet worden uitgesloten dat er een kleine hoeveelheid vrije vectordeeltjes in het medische product aanwezig zou zijn, omdat de berekende virusreductieratio onder het door de COGEM gestelde minimum uitkwam. De COGEM heeft de vergunningaanvraag positief beoordeeld, mits uit een herberekening van de reductieratio waarin de wasstappen tijdens de expansiefase worden meegenomen zou blijken dat de reductieratio binnen de gehanteerde veiligheidsmarge valt.

Mede naar aanleiding van een aanvullende adviesvraag van Bureau GGO over deze bovengenoemde klinische studie, heeft de COGEM de risico's van vrije vectordeeltjes voor mens en milieu heroverwogen.¹⁵ Met het oog op de voorlopige uitkomsten van een nog lopend onderzoek waarin dit nader onderzocht wordt, heeft de COGEM de veiligheidsmarge van de reductieratio op 1 gesteld.

4. Overweging

In de onderhavige aanvraag worden gg-T-cellen (JCAR017) toegediend aan pediatrische patiënten met B-cel maligniteiten. Mogelijke risico's die hierbij kunnen optreden, hebben betrekking op (1) de eventuele vorming van RCL of recombinant virus, (2) de aanwezigheid van vrije vectordeeltjes 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 karakterisering van de gg-T-cellen van belang.

4.1 Moleculaire karakterisering

De COGEM heeft in 2013 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.¹⁶

Voor de productie van het medisch product worden van iedere patiënt de lichaamseigen T-cellen gebruikt. Hierdoor is het medische product voor iedere patiënt uniek. Aangezien de integratie-sites van de lentivirale 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 vectorgenoom ontstaan. De aanvrager heeft de identiteit van het CAR fragment bevestigd met behulp van Sanger sequencing (hiervoor is gezuiverd vector RNA met behulp van RT-PCR omgezet in een DNA sequentie), welke 100% identiek is aan de referentiesequentie. De aanvrager heeft ook een RNA transcript analyse uitgevoerd op de getransduceerde T-cellen (JCAR017) en er zijn geen 'high confidence' mutaties (>10% van de RNAseq reads) geobserveerd binnen het CAR transgen.

De sequentie van het insert wordt niet in elk JCAR017 eindproduct (de gg-T-cellen) gecontroleerd. Met het oog op de genoemde verschillen tussen de getransduceerde cellen acht de COGEM een exacte moleculaire karakterisering van de gg-T-cellen praktisch gezien niet haalbaar. De COGEM is van mening dat de kans verwaarloosbaar klein is dat deze beperking in de moleculaire karakterisering van de gg-T-cellen tot een misrekening kan leiden in de milieurisicobeoordeling.

De aanvrager stelt dat de vier plasmiden allen volledig zijn gesequenced, met een viervoudige dekking. De resultaten zijn vergeleken met de sequentiegegevens van GenBank databases. Het transferplasmide en de twee helperplasmiden waren 100% identiek aan de referentiesequentie. Het derde helperplasmide was voor 99,98% identiek en bevat een puntmutatie buiten de functionele regio. De COGEM is van oordeel dat deze puntmutatie niet van invloed is op de functie van het helperplasmide en geen gevolgen heeft voor de milieurisicobeoordeling.

De COGEM is van oordeel dat de aanvrager de moleculaire karakterisering afdoende heeft uitgevoerd.

4.2 De kans op vorming van RCL of recombinant virus

Een mogelijk risico bij de productie van lentivirale vectordeeltjes is het ontstaan van RCL. In theorie zou RCL 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.

Vorming van RCL tijdens de productie van de virale vector

De kans op het ontstaan van RCL tijdens de productie van de virale vector is afhankelijk van het aantal recombinatie 'events' dat nodig is om een infectieus virusdeeltje te construeren. Tijdens de productie van lentivirale SIN vectoren met het productiesysteem van de derde generatie moeten drie recombinatie gebeurtenissen plaatsvinden, moeten de ontbrekende accessoire genen worden opgenomen in het genoom van de vector en dient de LTR van het SIN-construct gerepareerd te worden, alvorens er RCL zou kunnen ontstaan. In de wetenschappelijke literatuur zijn nooit meldingen geweest van RCL bij gebruik van een derde generatie productiesysteem.¹⁷

In onderhavige aanvraag wordt gebruik gemaakt van een SIN lentiviraal productiesysteem van de derde generatie. Hierin zijn de sequenties die nodig zijn voor productie van de lentivirale vector verdeeld over vier verschillende plasmiden. Tevens zijn de niet essentiële HIV-1 genen *tat*, *vif*, *vpr*, *vpu*, *env* en *nef* uit het systeem verwijderd. De aanvrager geeft aan dat er enkele homologe regio's zijn tussen de vier plasmiden die gebruikt worden om de lentivirale vector te produceren. Ondanks dat voor de reconstructie van het gehele genoom meerdere recombinatie 'events' nodig zijn om een infectieus virusdeeltje te construeren, is de uitvoerder voornemens om RCL testen uit te voeren ter controle.

De aanvrager stelt dat er op meerdere momenten gedurende de productie van JCAR017 getest wordt op RCL. Voor de RCL test wordt gebruik gemaakt van qPCR (voor detectie van VSV-G sequenties, Limit of Detection/Quantification (LLOQ): 5 kopieën/50ng DNA), of door middel van co-cultivatie met C8166 cellen gevolgd door een p24 ELISA assay (LLOQ: 100 infectieuze units per 2×10^7 cellen). Zowel de 'packaging' cellijn, de vectorbatch als het eindproduct (de gg-T-cellen) worden getest op RCL, en de patiënt wordt na infusie gemonitord en afgenomen monsters zullen ook getest worden op RCL. De RCL test van de 'packaging' cellijn en vectorbatch moeten negatief zijn alvorens het gg-T-cel product geproduceerd kan worden. De COGEM acht de gevoeligheid van de RCL testen afdoende om RCL te detecteren en acht de kans verwaarloosbaar klein dat met deze uitgevoerde testen eventueel gevormd RCL wordt gemist.

Alle punten in overweging nemende acht de COGEM de kans verwaarloosbaar klein dat de vectorbatch, waarmee het medische product wordt gevormd, RCL zal bevatten.

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 RCL of recombinant virus tot gevolg. Een eerste vereiste hiervoor is de aanwezigheid van een verwant retrovirus in dezelfde cel als de lentivirale

vector, die de verloren functies van de vector kan complementeren. De aanvrager geeft aan dat patiënten geïnfecteerd met HIV, of de hepatitisvirussen HBV en HCV uitgesloten worden van deelname. Door uitsluiting van patiënten met een HIV infectie kunnen de in de virale vector ontbrekende HIV componenten niet worden aangevuld. Infectie met een HTLV is niet opgenomen als exclusie criterium. De COGEM is van oordeel dat het niet uitsluiten van patiënten met een HTLV infectie geen invloed heeft op de uitkomst van de milieurisicobeoordeling. De in deze studie te gebruiken SIN vector is namelijk speciaal ontworpen om de kans op mobilisatie van de vector te minimaliseren, zelfs bij aanwezigheid van HIV. Omdat de sequentiehomologie tussen HIV en HTLV zeer beperkt is, is de kans op vector mobilisatie door HTLV nihil. Bovendien is de seroprevalentie van HTLV in Nederland erg laag.¹⁸ Ook wordt het medische product gecontroleerd op RCL voorafgaand aan toediening aan de patiënt.

Tot slot merkt de COGEM op dat ca. 8% van het humane genoom uit endogene retrovirale sequenties bestaat.¹⁹ Deze worden voornamelijk gerelateerd aan beta-retrovirussen en in een enkel geval aan gamma-retrovirussen. Door accumulatie van vele inactiverende mutaties kunnen deze sequenties niet coderen voor replicatiecompetente HERVs.^{19,20,21} Daarbij is de COGEM van oordeel dat het aandeel van HIV sequenties in het genoom van de virale vector tot een minimum is beperkt, wat de kans op homologe recombinatie tussen de endogene retrovirussequenties en de virale vector minimaliseert.

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

4.3 Aanwezigheid van vrije vectordeeltjes

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 in 2009 een formule opgesteld om de reductie van de vectordeeltjes als gevolg van de kweek- en wasprocedures te kunnen berekenen.²² De aanvrager heeft deze formule toegepast en geeft aan dat er een virusreductieratio van 0,2 gerealiseerd wordt (dat overeenkomt met maximaal 5 vectordeeltjes per toe te dienen batch JCAR017), bij een maximaal aantal van 8×10^8 vectordeeltjes in het inoculum. De aanvrager geeft aan dat de berekening conservatief is, omdat in de berekening geen rekening gehouden is met wasstappen tijdens de *ex vivo* expansie van de gg-T-cellen. De aanvrager geeft ook aan dat na toediening van het medische product inactivatie van vectordeeltjes plaatsvindt door aanwezigheid van complement eiwitten in het bloed van de patiënt, die onderdeel uitmaken van het humoraal immuunsysteem. Het complement is in staat om lentivirusdeeltjes met VSV-G envelopeiwit te inactiveren.²³ De COGEM onderschrijft de mening van de aanvrager dat de feitelijke

reductieratio waarschijnlijk hoger zal zijn, omdat de additionele virusreductie tijdens de expansieprocedure niet is meegerekend en de afbraak van virusdeeltjes door de complementeiwitten niet is meegewogen in de formule. De COGEM heeft in een eerder advies aangegeven dat sommige elementen in de formule op theoretische aannames berusten en niet ondersteund worden door experimentele data.¹⁵ Derhalve acht de COGEM een virusreductieratio van 1 acceptabel en is zij van oordeel dat bij deze reductieratio het milieurisico verwaarloosbaar klein is bij klinische studies met gg-T-cellen die getransduceerd zijn met VSV-G gepseudotyperde lentivirale vectordeeltjes, en waarbij het complementsysteem van de proefpersonen niet is aangetast.

Omdat de berekening van de aanvrager in de voorgaande vergunningaanvraag ook onder deze nieuwe veiligheidsmarge viel, heeft de COGEM in het eerdere advies aangegeven dat wanneer bevestigd werd dat er tijdens de expansiefase daadwerkelijk vervanging van medium heeft plaatsgevonden, de milieurisico's verwaarloosbaar klein zijn. In de huidige vergunningaanvraag is bevestigd dat er aanvullende wasstappen zijn uitgevoerd. Derhalve acht de COGEM de kans verwaarloosbaar klein dat er infectieuze vrije vectordeeltjes 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

Uit studies blijkt dat getransduceerde T-cellen enkele maanden na toediening nog aanwezig kunnen zijn in patiënten.²⁴ In verschillende studies zijn gg-T-cellen langer dan 6 maanden na de behandeling aangetoond in patiënten^{25,26}, en in een enkele studie zijn een jaar na infusie gg-T-cellen gedetecteerd in twee van de 17 patiënten.²⁴ Derhalve kunnen bijvoorbeeld door een verwonding van de proefpersoon de getransduceerde T-cellen in theorie via bloed of lymfe in het milieu terecht komen. De gg-T-cellen worden niet uitgescheiden via speeksel, urine of feces. Aangezien de cellen buiten het lichaam 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 bijwerkingen gelijk zijn aan die van de beoogde patiënt. Bij een prikincident zullen echter beduidend minder gg-T-cellen geïnjecteerd worden dan tijdens de toediening aan een patiënt.

Overdracht van T-cellen van moeder op kind

Het is niet uitgesloten dat gg-T-cellen via borstvoeding of placenta kunnen worden overgedragen van moeder op kind. Het is bij de COGEM niet bekend hoe lang dergelijke T-cellen in het kind kunnen persisteren. De COGEM zal, na nader onderzoek, 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 stelt dat zwangere patiënten of patiënten die borstvoeding geven uitgesloten worden van deelname aan de klinische studie, wat eventuele risico's reduceert.

5. Conclusie

De aanvrager is van plan een klinische studie uit te voeren waarin lentiviraal getransduceerde T-cellen worden gebruikt die door de expressie van een chimere antigeen receptor B-cellen herkennen. Risico's die hierbij kunnen optreden, hebben betrekking op de eventuele vorming en de verspreiding van RCL of recombinant virus, de aanwezigheid van vrije vectordeeltjes in het toe te dienen product, 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 JCAR017 voldoende gereduceerd. Daarnaast beschouwt zij de kans op de aanwezigheid van RCL of recombinant virus in JCAR017 verwaarloosbaar klein. Tevens acht zij de kans op nadelige effecten bij blootstelling van derden aan de gg-T-cellen verwaarloosbaar klein. De COGEM is daarom van oordeel dat de milieurisico's verbonden aan deze klinische studie met lentivirale-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. Nutt SL *et al.* (2015). The generation of antibody-secreting plasma cells. *Nat. Rev. Immunol.* 15: 160-171
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. Freed EO & Martin MA (2013), Human Immunodeficient Viruses: Replication. In: *Fields virology*, volume 2, sixth edition. Ed. Knipe DM *et al.* Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia
5. Cockrell AS & Kafri T (2007). Gene delivery by lentivirus vectors. *Mol. Biotechnol.* 36: 184-204
6. Zufferey R *et al.* (1998). Self-inactivating lentivirus vector for safe and efficient in vivo gene delivery. *J. Virol.* 72: 9873-9880
7. Miyoshi H *et al.* (1998). Development of a self-inactivating lentivirus vector. *J. Virol.* 72: 8150-8157
8. COGEM (2018). Klinische studie met retroviraal getransduceerde T-cellen tegen hematologische maligniteiten. COGEM advies CGM/180103-02
9. COGEM (2017). Klinische studie met TEG001 ter behandeling van hematologische en solide tumoren. COGEM advies CGM/171013-02

10. COGEM (2016). Klinische studie met getransduceerde T-cellen tegen B-cel maligniteiten. COGEM advies CGM/161130-01
11. COGEM (2016). Klinische studie met lentiviraal getransduceerde T-cellen tegen B-cel maligniteiten. COGEM advies CGM/160229-01
12. COGEM (2011). Klinische studie met retroviraal getransduceerde T-cellen tegen leukemie. COGEM advies CGM/110913-01
13. COGEM (2011) Klinische studie met retroviraal getransduceerde humane T-lymfocyten. COGEM advies CGM/110831-01
14. COGEM (2018). Klinische studie met lentiviraal getransduceerde T-cellen (JCAR017) tegen B-cel maligniteiten. COGEM advies CGM/180612-01
15. COGEM (2018). Vervolgadvies over vrije virusdeeltjes in klinische studie gg-T-cellen JCAR017 tegen B-cel maligniteiten. COGEM advies CGM/180702-01
16. COGEM (2013). Criteria voor moleculaire karakterisering van ggo's voor medische en veterinaire toepassing. COGEM advies CGM/130227-05
17. Sastry L *et al.* (2003) Certification assays for HIV-1-based vector: frequent passage of gag sequences without evidence of replication-competent viruses. *Mol. Ther.* 8: 830-839
18. Zaaier HL *et al.* (1994). Results of 1-year screening of donors in The Netherlands for human T-lymphotropic virus (HTLV) type I: significance of Western blot patterns for confirmation of HTLV infection. *Transfusion* 34: 877-880
19. Lander ES *et al.* (2001). Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409: 860-921
20. Dewannieux M & Heidmann T (2013). Endogenous retroviruses: acquisition . amplification and taming of genome invaders. *Curr. Opin. Virol.* 3: 646-656
21. Villesen P *et al.* (2004). Identification of endogenous retroviral reading frames in the human genome. *Retrovirology* 1: 32-44
22. COGEM (2009). Inschaling van laboratoriumwerkzaamheden met lentivirale vectoren. COGEM advies CGM/090331-03
23. DePolo NJ *et al.* (2000). VSV-G pseudotyped lentiviral vector particles produced in human cells are inactivated by human serum. *Mol Ther.* 2: 218-222
24. Morgan RA *et al.* (2006). Cancer regression in patients after transfer of genetically engineered lymphocytes. *Science* 314: 126-129
25. Porter DL *et al.* (2011). Chimeric antigen receptor-modified T cells in chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med.* 365: 725-733
26. Kalos M *et al.* (2011). T Cells with Chimeric Antigen Receptors Have Potent Antitumor Effects and Can Establish Memory in Patients with Advanced Leukemia. *Sci Transl Med.* 3: 95ra73