

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

**DATUM** 27 februari 2019  
**KENMERK** CGM/190227-01  
**ONDERWERP** Signalerende aanbiedingsbrief bij onderzoeksrapport milieurisicoanalyse van klinische toepassingen van gg-T-cellen

Geachte mevrouw Van Veldhoven,

De COGEM heeft een onderzoek laten uitvoeren naar de potentiële overdracht van genetisch gemodificeerde (gg-)T-cellen naar derden en de mogelijke effecten waarmee dit gepaard kan gaan. Op grond van het onderzoeksrapport komt de COGEM tot de volgende signalering.

**Samenvatting:**

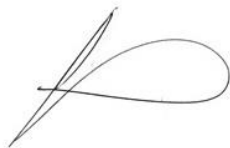
Onderzoek naar genetisch gemodificeerde (gg-)T-cellen als therapie tegen kanker neemt de laatste jaren toe. Hierbij worden T-cellen van de patiënt buiten het lichaam genetisch gemodificeerd zodat zij bij terugplaatsing in de patiënt de kanker kunnen bestrijden. Bij de milieurisicobeoordeling van studies met genterapie worden ook de risico's van mogelijke blootstelling van derden aan het ggo in ogenschouw genomen. Overdracht van gg-T-cellen van de patiënt naar derden kan plaatsvinden bij prikincidenten, donatie van weefsels/organen of bloed, via de placenta (naar het ongeboren kind), via moedermelk, of via semen. Om meer inzicht te krijgen in de mate van blootstelling en de potentiële risico's, heeft de COGEM een literatuuronderzoek laten uitvoeren.

Op basis van de informatie uit het onderzoeksrapport en de wetenschappelijke literatuur signaleert de COGEM dat toepassing van gg-T-cel therapie in specifieke gevallen een potentieel risico voor derden kan vormen. Bij prikincidenten, overdracht via semen, en bloeddonatie acht de COGEM het risico van blootstelling verwaarloosbaar klein. Blootstelling aan gg-T-cellen bij weefsel-/orgaan-/stamceldonatie, via de placenta, of via borstvoeding, kan echter wel leiden tot een potentieel risico. De gevolgen kunnen ernstig zijn, maar zijn voornamelijk lastig in te schatten en afhankelijk van de modificatie van de gg-T-cel. Meer onderzoek is nodig om hier een uitspraak over te doen. Daarnaast moet duidelijkheid komen over welke maatregelen opgelegd kunnen worden om overdracht te voorkomen, en waar de verantwoordelijkheid voor deze maatregelen behoort te liggen. De COGEM signaleert dat betrokken instanties zich bewust moeten zijn van de mogelijke risico's en dat patiënten die in aanmerking komen voor gg-T-cel therapie, geïnformeerd dienen te worden over de mogelijke risico's in het geval van zwangerschap, borstvoeding en donatie.



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. B.J. Bruins, Ministerie van VWS  
                  Mr. J.K.B.H. Kwisthout, Ministerie van IenW  
                  Dr. J. Westra, Waarnemend hoofd Bureau ggo  
                  Drs. J.B. van den Wijngaard, Ministerie van VWS

# **Immunotherapie met genetisch gemodificeerde T-cellen: onbedoelde blootstelling en potentiële risico's**

## **COGEM signalering CGM/190227-01**

### **1. Inleiding**

In de afgelopen jaren wordt er wereldwijd meer onderzoek gedaan naar de toepassing van genetisch gemodificeerde (gg-)T-cel therapie tegen verschillende vormen van kanker. Hierbij worden lichaamseigen T-cellen uit de patiënt buiten het lichaam (*ex vivo*) genetisch gemodificeerd zodat de gg-T-cellen kankercellen kunnen herkennen en bij terugplaatsing in de patiënt de kanker kunnen bestrijden. Als onderdeel van de milieurisicobeoordeling die standaard uitgevoerd wordt bij klinische genterapie studies, worden ook de risico's van mogelijke blootstelling van derden in ogenschouw genomen.

Gg-T-cellen kunnen zich buiten het lichaam niet handhaven en worden niet uitgescheiden via speeksel, urine of feces. Overdracht van gg-T-cellen vanuit de patiënt naar andere personen kan echter wel plaatsvinden door prikincidenten, donatie van weefsels/organen of bloed, overdracht via de placenta (naar ongeboren kind), via moedermelk, of via het semen (seksueel contact). Voor de milieurisicobeoordeling is het van belang om te weten hoe lang gg-T-cellen aanwezig blijven in de patiënt, of de gg-T-cellen op de bovengenoemde manieren daadwerkelijk overgedragen kunnen worden aan derden, en welke risico's er verbonden zijn aan blootstelling aan gg-T-cellen. Om hier meer inzicht over te krijgen, heeft de COGEM een literatuuronderzoek laten uitvoeren, dat samengevat is in het onderzoeksrapport: [Milieurisico-analyse van klinische toepassingen van genetisch gemodificeerde T-cellen](#).

Dit onderzoeksproject is uitgevoerd door H. Bergmans en R. Kleinjans van Ameco Adviesgroep Milieubeleid in samenwerking met J.H. van den Berg van het Nederlands Kanker Instituut. De gegevens die in het rapport beschreven zijn, zijn hoofdzakelijk gebaseerd op overdracht van ongemodificeerde T-cellen, omdat er nauwelijks tot geen experimentele gegevens beschikbaar zijn over de overdracht van gg-T-cellen naar derden. Op basis van de informatie beschreven in het bijgevoegde onderzoeksrapport en aanvullend wetenschappelijk literatuuronderzoek is de COGEM van oordeel dat overdracht van gg-T-cellen naar derden niet uitgesloten kan worden. In de onderhavige signalering wordt verder ingegaan op de transmissieroutes en de mogelijke risico's die hiermee gepaard gaan.

### **2. Genetische modificatie van T-cellen**

Natuurlijke T-cellen bevatten een T-cel receptor die antigenen herkent en daarmee afwijkende cellen (bijvoorbeeld lichaamsvreemde, geïnfecteerde of maligne – kwaadaardige – cellen) kan detecteren. Alleen wanneer de antigenen op een human leukocyte antigeen (HLA) complex gepresenteerd worden door een andere cel kunnen zij herkend worden door de T-cel. Binding van het antigeen met de T-cel receptor zorgt ervoor dat de T-cel wordt geactiveerd en aangezet tot celdeling om een afweerreactie te

bewerkstelligen en de afwijkende cellen te doden. Door de T-cel receptor genetisch te modificeren, of een vergelijkbare, artificiële ‘chimere antigeen receptor’ (CAR) te ontwikkelen die een gewenst antigeen herkent, kan de afweerreactie geredigeerd worden. In tegenstelling tot T-cel receptoren zijn CARs niet afhankelijk van presentatie van het antigeen op het HLA-complex en kunnen zij zich ongelimiteerd richten op vele verschillende oppervlakte eiwitten.<sup>3</sup> Er zijn verschillende methoden om het CAR transgen in de T-cellen van de patiënt tot expressie te brengen (bijvoorbeeld door electroporatie van een plasmide of mRNA), maar een veelgebruikte en effectieve methode is *ex vivo* transductie van de T-cel met behulp van een retro- of lentivirale vector.<sup>1</sup>

### **3. Gg-T-cel therapie**

Toediening van gg-T-cellen biedt een veelbelovende behandelmethode tegen verschillende soorten kanker.<sup>2</sup> De beste resultaten zijn tot dusver geboekt bij bloedgerelateerde (hematologische) kanker-soorten, zoals acute lymfatische leukemie en non-Hodgkin lymfoom. Met name de positieve resultaten van een experimentele gg-T-cel therapie gericht tegen het CD19 aanwezig op (maligne) B-cellen heeft het aantal klinische studies met gg-T-cel therapie doen toenemen.<sup>2,3</sup> De gemiddelde complete remissie van (jonge) patiënten behandeld met anti-CD19 CAR T-cellen tegen acute lymfatische leukemie bleek tussen de 70 en 90% te liggen.<sup>4</sup> Ook tegen solide tumoren (bijvoorbeeld neuroblastomen of sarcomen) zijn gg-T-cel therapieën ontwikkeld, maar deze zijn vooralsnog minder succesvol.<sup>2,5</sup>

Gg-T-cel therapie biedt ook potentie als antivirale therapie. De laatste jaren is onderzoek naar de bestrijding van HIV (humaan immunodeficiëntievirus), dat na infectie latent aanwezig kan blijven in CD4+ T-lymfocyten, in opmars.<sup>6,7,8</sup> Ook voor andere virale ziektes, zoals infectie met Hepatitis B virus, Hepatitis C virus, of Human cytomegalovirus wordt onderzoek gedaan naar de effectiviteit van gg-T-cel therapieën.<sup>9,10,11</sup>

### **4. Milieuristicobeoordeling**

Sinds 2011 heeft de COGEM in toenemende mate vergunningaanvragen beoordeeld voor klinische studies waarbij retro- of lentiviraal getransduceerde gg-T-cellen ingezet worden als immunotherapie tegen verschillende soorten kanker (met name B-cel maligniteiten).<sup>12,13,14,15,16,17,18,19,20</sup> De potentiële schadelijke effecten van de gg-T-cel therapie in de patiënt zijn veelvuldig bestudeerd. Omdat T-cellen buiten het lichaam niet kunnen overleven, is overdracht naar derden beperkt tot situaties waar bloed, of lichaamsvloeistoffen waarin zich T-cellen bevinden, uitgewisseld worden. Prikincidenten, overdracht via de placenta of moedermelk, of transmissie via semen zijn mogelijke manieren waarop blootstelling aan gg-T-cellen plaats kan vinden. De potentiële schadelijke effecten bij onbedoelde blootstelling zijn echter afhankelijk van verschillende factoren, zoals het aantal gg-T-cellen waar een ontvanger aan blootgesteld wordt, de specificiteit van de gg-T-cel, de toepassing van mogelijke behandelstrategieën, en de immunestatus (of HLA-typing) van de ontvanger. In de onderstaande paragrafen wordt verder ingegaan op de levensduur van gg-T-cellen en de potentie tot overdracht van gg-T-cellen.

#### **4.1 Levensduur gg-T-cellen**

Het vaststellen van de levensduur van gg-T-cellen is niet eenvoudig. Gg-T-cellen kunnen na activatie door binding aan het beoogde antigeen vermenigvuldigen. Wanneer herhaalde blootstelling aan het

antigeen plaatsvindt, kunnen de gg-T-cellen langer en in grotere aantallen persisteren. Aanwezigheid van gg-T-cellen kan maanden of zelfs jaren na toediening nog aangetoond worden. Uit verschillende studies blijkt dat gg-T-cellen minstens een jaar na toediening nog gedetecteerd kunnen worden in patiënten.<sup>21,22,23,24,25,26,27</sup> In een enkele studie zijn 11 jaar na toediening nog gg-T-cellen ontdekt, met een geschatte halfwaardetijd van meer dan 16 jaar.<sup>28</sup>

De eigenschappen van de (chimere) antigeen receptor kunnen ook van invloed zijn op de persistentie. Zo kunnen CARs met antilichaamfragmenten afkomstig van de muis sneller vernietigd worden door het eigen immuunsysteem dan wanneer humane antilichaamfragmenten worden gebruikt.<sup>1</sup> Aangezien immunotherapie de afgelopen twee decennia in opkomst is, kan er nog geen definitieve uitspraak gedaan worden over de persistentie van gg-T-cellen gedurende het leven van de patiënt. Ook kan detectie in bloed niet altijd uitsluitend geven over de aanwezigheid van gg-T-cellen in het lichaam, omdat deze cellen - net als reguliere T-cellen - opgeslagen worden in primaire of secundaire lymfoïde organen of andere organen. Er is meer langdurig onderzoek nodig naar de aanwezigheid van gg-T-cellen in bloed en andere weefsels om een definitieve uitspraak te doen over de persistentie. Vooralsnog acht de COGEM het aannemelijk dat gg-T-cellen na toediening langere tijd (meerdere jaren) kunnen persisteren in het lichaam.

## **4.2 Overdracht van autologe gg-T-cellen**

### 4.2.1 Prikincidenten

Door incidenten, zoals een prikincident, kan het medische personeel dat betrokken is bij de behandeling van de patiënt besmet raken met gg-T-cellen. Hoewel er bij een prikincident beduidend minder gg-T-cellen geïnjecteerd worden dan tijdens de toediening aan een patiënt, kan één overgedragen T-cel na activatie door binding aan het antigeen vermenigvuldigen en differentiëren in verschillende T-cel typen.<sup>29</sup> Als een gezond individu door een prikaccident aan gemodificeerde T-cellen wordt blootgesteld, is de kans echter groot dat deze cellen direct worden herkend en geëlimineerd door de afweercellen van de ontvanger. De cellen kunnen alleen overleven wanneer de HLA-moleculen volledig gelijk zijn aan die van de patiënt (dan is er sprake van HLA-compatibiliteit). De kans dat twee niet-verwante individuen volledig HLA-identiek zijn, is bijzonder klein, omdat er meer dan één miljoen verschillende haplotypen zijn. In het onwaarschijnlijke geval dat de HLA-moleculen identiek zijn en de gg-T-cellen getolereerd worden door het slachtoffer van het prikaccident, kunnen de gg-T-cellen een vergelijkbaar effect laten zien als in de patiënt. Aanwezigheid van het antigeen dat dient als activator van de gg-T-cellen speelt hierbij een grote rol. Als het antigeen alleen voorkomt op de afwijkende cellen in de patiënt, dan zal het effect van blootstelling aan derden alsnog verwaarloosbaar klein zijn, omdat de ontvanger deze afwijkende cellen niet heeft. Wanneer het antigeen waartegen de gg-T-cel ingezet wordt ook aanwezig is in gezonde cellen, dan zou er mogelijk een schadelijk effect kunnen ontstaan. Echter, aangezien HLA-compatibiliteit zeer zeldzaam is, acht de COGEM de kans op overleving van gg-T-cellen na overdracht via een prikincident verwaarloosbaar klein.

#### 4.2.2 Overdracht gg-T-cellen via semen

T-cellen bedragen een kleine fractie van de leukocyten aanwezig in semen. In het onderzoeksrapport is beschreven dat overdracht van cel-geassocieerd HIV/SIV of FIV (Human, Simian of Feline immunodeficiency virus) via vaginale, rectale en orale route is waargenomen in dierstudies, waarmee verondersteld kan worden dat de T-cellen in semen via de mucosa of via laesies overgedragen kunnen worden aan derden. Echter, ook voor deze situatie speelt de compatibiliteit van HLA-haplotypen een rol. Omdat HLA-compatibiliteit zeer zeldzaam is, zal de kans op overleving van (gg-)T-cellen na een natuurlijke afweerreactie verwaarloosbaar klein zijn. Derhalve acht de COGEM kans op overleving van gg-T-cellen na overdracht via semen, verwaarloosbaar klein.

#### 4.2.3 Overdracht gg-T-cellen tijdens zwangerschap

Tijdens de zwangerschap worden tussen moeder en foetus bidirectioneel cellen uitgewisseld. Een deel van de cellen die van moeder naar kind overgedragen worden zijn T-cellen.<sup>30</sup> Uit het onderzoeksrapport blijkt dat er naar schatting  $10^6$  T-cellen via de placenta overgedragen kunnen worden aan het ongeboren kind. Omdat er tijdens de zwangerschap een wederzijdse tolerantie optreedt voor cellen afkomstig van moeder of foetus (HLA-incompatibiliteit is niet schadelijk tijdens de zwangerschap) treden er geen afweerreacties op tegen het kind, ondanks dat de (anti)genen van het ongeboren kind voor de helft afkomstig zijn van de vader.<sup>31</sup> Regulatie van maternale immuuncellen speelt een belangrijke rol tijdens de zwangerschap.<sup>32</sup> Maternale cellen die in de foetus terecht komen kunnen lange tijd overleven en zelfs op latere leeftijd (in de volwassenheid) nog aanwezig zijn.<sup>33,34</sup> Het is niet geheel bekend waarom het immuunsysteem van het kind langdurige tolerant is voor maternale leukocyten.<sup>34</sup> Ook is onbekend of gg-T-cellen een vergelijkbare tolerantie kennen. Naar de overdracht van gg-T-cellen van moeder naar kind is nog geen onderzoek gedaan, maar de COGEM acht het zeer waarschijnlijk dat gg-T-cellen via de placenta overgedragen kunnen worden naar het ongeboren kind.

#### 4.2.4 Overdracht gg-T-cellen bij borstvoeding

Moedermelk is een belangrijke voedingsstof voor pasgeborenen, maar speelt ook een belangrijke rol bij de ontwikkeling van de afweer van het kind. Naast antilichamen worden ook leukocyten, waaronder T-cellen, overgedragen via de moedermelk. De hoogste aantallen lymfocyten bevinden zich in het colostrum (de eerste melk na de bevalling), en het aantal neemt in de daaropvolgende weken af.<sup>35,36</sup> In het onderzoeksrapport wordt een opsomming gegeven van verschillende experimentele diermodellen waarbij aangetoond is dat T-cellen overgedragen kunnen worden via moedermelk. De T-cellen kunnen in de pasgeborene opgenomen worden via het darmepitheel, dat tot enkele dagen na de geboorte zeer doorlaatbaar is.<sup>36</sup> Ook als de darm niet meer doorlaatbaar is, kunnen leukocyten middels transcytose het darmepitheel passeren en in de bloedbaan terecht komen. Er kan niet uitgesloten worden dat op deze wijze ook gg-T-cellen overgedragen kunnen worden aan kinderen van behandelde patiënten die borstvoeding geven. In het onderzoeksrapport wordt vermeld dat een baby naar schatting aan  $10^7$  T-cellen wordt blootgesteld via de borstvoeding, maar dat onduidelijk is hoeveel daarvan het darmepitheel passeren. Alle feiten in overweging nemende acht de COGEM het mogelijk dat gg-T-cellen via de borstvoeding overgedragen kunnen worden aan het kind.

#### 4.2.5 Overdracht gg-T-cellen bij solide orgaan- en weefseltransplantatie

Bij eventuele bloed-, orgaan-, of weefseltransplantatie van patiënten die gg-T-cel therapie hebben ondergaan kunnen gg-T-cellen hierbij worden overgedragen. De Nederlandse Transplantatiestichting (NTS) hanteert bepaalde criteria bij donatie van organen (hart, lever, nier, long, pancreas en dunne darm) of weefsels (huid, bloedvaten, oogweefsel, hartkleppen, botweefsel, kraakbeen en pezen). Donatie van organen is in principe uitgesloten voor (voormalige) kankerpatiënten, met uitzondering van enkele niet-metastaserende of curatief behandelde tumoren. Daarnaast worden personen met actieve virale infecties in principe uitgesloten van orgaandonatie.<sup>37</sup> Donatie van weefsels is minder ingeperkt en alleen niet toegestaan na (pre)maligne hematologische aandoening (bij overlijden of in het verleden), of melanoom met bewezen metastasen. Hieruit kan geconcludeerd worden dat niet alle (voormalige) kankerpatiënten zijn uitgesloten van orgaan- en weefseldonatie. Voor patiënten met een virale infectie gelden minder strenge eisen.

Omdat bij solide orgaan- en weefsel transplantaties overdracht van (gg-)T-cellen plaatsvindt en deze overgedragen leukocyten een schadelijke afweerreactie kunnen veroorzaken (*graft vs. host effect*), vindt er tegenwoordig bij weefsel- en orgaandonatie ook wel leukocytendepletie plaats. De methoden die daarvoor gebruikt worden zijn echter niet altijd even effectief om alle T-cellen te verwijderen.<sup>38,39</sup> Standaard wordt perfusie (spoeling van organen) toegepast bij donatie van organen, om het orgaan levensvatbaar te houden. Hierbij zullen leukocyten ook voor een deel weggespoeld worden. Concluderend kan de COGEM niet uitsluiten dat gg-T-cellen via solide orgaan- en weefseltransplantatie overgedragen kunnen worden.

#### 4.2.6 Overdracht gg-T-cellen bij bloeddonoratie

Voor donatie van bloedproducten (vastgelegd door Sanquin) geldt dat (voormalige) kankerpatiënten geen bloed mogen doneren. De enige uitzonderingen op deze regel zijn patiënten met een bepaalde vorm van huidkanker of baarmoederhalskanker. Kandidaten met virale infecties (waaronder HIV, Hepatitis B, C en E, en HTLV), zijn overigens ook uitgesloten voor bloeddonoratie. Ook geldt bij Sanquin sinds 2002 dat alle standaard cellulaire bloedproducten leukocyten-gedepleteerd zijn.<sup>40</sup> Dit wordt gedaan omdat leukocyten afweerreacties kunnen opwekken en als potentiële vector kunnen dienen voor verschillende virussen. Leukocyten, waaronder T-cellen, worden door middel van filtratie verwijderd uit bloedproducten, waardoor er per eenheid minder dan  $5 \times 10^6$  leukocyten aanwezig zijn in het product. Voor immungecompromitteerde ontvangers, of bij HLA-compatibiliteit worden bloedproducten daarnaast ook bestraald om resterende vitale T-cellen te vernietigen. Door de standaardprocedures die plaatsvinden bij bloeddonoratie (leukocytendepletie, en bestraling in het geval van ‘HLA-matching’<sup>a</sup> en immuno-incompetentie) acht de COGEM kans op overleving van gg-T-cellen na overdracht via bloeddonoratie in Nederland verwaarloosbaar klein.

#### 4.2.7 Overdracht gg-T-cellen bij stamceldonoratie

Bij stamceldonoratie bevat het product naast stamcellen ook T-cellen. Bij stamceldonoratie ter behandeling van hematologische maligniteiten, dienen de T-cellen de afwijkende bloedcellen van de patiënt te

---

<sup>a</sup> Hierbij wordt getracht een zo goed mogelijke HLA-compatibiliteit te bereiken.

vernietigen (*graft vs. tumor* effect), en is T-cel depletie daarom ongewenst. Voor stamcelddonatie geldt eveneens dat wanneer ooit een vorm van kanker is vastgesteld, stamcelddonatie niet mogelijk is. Ook hier gelden echter uitzonderingen en worden mensen met een basaalcelcarcinoom, of een voorstadium van baarmoederhalskanker niet uitgesloten van stamcelddonatie.

Om afweerreacties tegen gedoneerde stamcellen, weefsels of organen te beperken, en de kans op *graft vs. host* effect te verminderen, wordt in een aantal gevallen ‘HLA-matching’ toegepast en wordt het immuunsysteem van de ontvanger (soms levenslang) onderdrukt. Overgebleven (gg-)T-cellen die meeliften met de transplantatie zullen in dat geval niet door het afweersysteem van de ontvanger vernietigd worden. Op grond van het bovenstaande is het zeer waarschijnlijk dat gg-T-cellen via stamcelddonatie overgedragen kunnen worden.

### **4.3 Effecten van overdracht**

#### **4.31 Schadelijke effecten gg-T-cellen**

Bij zowel stamcelddonatie, weefsel-, en orgaantransplantatie als placentaire overdracht en borstvoeding vormt overdracht van (gg-)T-cellen een potentieel risico. T-cellen die worden overgedragen kunnen langere tijd persisteren. Vanwege deze lange persistentie kan een behandeling met gg-T-cellen op jonge leeftijd gevolgen hebben voor een zwangerschap op latere leeftijd. Voor vrouwen die op jonge leeftijd behandeld zijn met gg-T-cel therapie bestaat de mogelijkheid dat gg-T-cellen tijdens de zwangerschap overgedragen worden naar het ongeboren kind en hier schadelijke effecten kunnen hebben. Herkenning van het antigeen in het (ongeboren) kind zou tot gg-T-cel activatie kunnen leiden, en mogelijk een grotere immunoreactie kunnen uitlokken. De exacte gevolgen van gg-T-celactivatie op de ontwikkeling van het kind zijn vooralsnog moeilijk in te schatten, omdat onderzoek hiernaar ontbreekt.

Schadelijke effecten die kunnen optreden na blootstelling aan gg-T-cellen zijn vooralsnog alleen beschreven voor de patiënt. Naast het beoogde antitumor of antivirale (*on-target*) effect, kunnen – afhankelijk van het antigeen waartegen de CAR is gericht – ook gezonde cellen vernietigd worden door de gg-T-cellen (het *on-target off-tumor* effect). Een voorbeeld hiervan is de veelgebruikte therapie van gg-T-cellen met een anti-CD19 CAR tegen B-cel maligniteiten. Het CD19 transmembraaneiwit is betrokken bij de signaaltransductie via de B-cel receptor en komt tot expressie in B-cellen vanaf de vroege ontwikkeling tot na de differentiatie in een plasmacel. CD19 komt niet voor op pluripotente bloedstamcellen en op andere weefsels. Anti-CD19 gg-T-cellen zullen geen onderscheid maken tussen maligne en gezonde B-cellen, omdat in beide gevallen het CD19 antigeen aanwezig is. Een potentiële bijwerking die hierdoor kan ontstaan, is B-cel depletie, waarbij het aantal B-cellen in de patiënt sterk afneemt. Een continue depletie van B-cellen gaat gepaard met een verhoogde vatbaarheid voor infecties. Patiënten krijgen dan vaak immunoglobulines toegediend om infectie te voorkomen. In hoeverre deze situatie zich kan afspelen in een ongeboren kind, met als gevolg een onvolledige ontwikkeling van het immuunrepertoire en B-cel-deficiëntie, is moeilijk te voorspellen.



Andere effecten die geassocieerd worden met de werking van de gg-T-cellen zijn onder meer immuunreacties tegen de gg-T-cellen, nadelige effecten ten gevolge van insertionele mutagenese, ongecontroleerde celdeling door antigeen activatie, passagiere neurotoxiciteit, en 'cytokine release syndrome' (CRS), dat ontstaat door de uitgebreide immuunrespons die opgewekt wordt en het hiermee gepaard gaande vrijkomen van cytokines. CRS kan in ernstige gevallen leiden tot shock en (multi)orgaanfalen.

De aanwezigheid van het antigeen waartegen de gg-T-cel is gericht op het gezonde weefsel speelt een grote rol in de bijwerkingen die kunnen ontstaan bij blootstelling aan derden. Veelal worden target-antigenen gekozen die hoger tot expressie komen in tumor weefsel, maar het lijkt vooralsnog lastig te zijn een tumor-specifiek antigeen te ontdekken dat niet op gezond weefsel voorkomt. De receptoren van de gg-T-cel (T-cel receptor of CAR) worden ontwikkeld tegen één specifiek antigeen, maar in uitzonderlijke gevallen kan het voorkomen dat naast het beoogde antigeen ook een ander antigeen aanwezig op gezonde cellen het doelwit wordt van de gg-T-cellen. Dergelijke '*off-target*' effecten worden vaak pas na de behandeling ontdekt, en blijken vooraf lastig te voorspellen.

Voor het ongeboren kind of een pasgeborene die blootgesteld wordt aan gg-T-cellen, kunnen de schadelijke effecten afwijken van de effecten die de patiënt ondervindt. Een aanzienlijk aandeel van de tumorantigenen waartegen gg-T-cellen gericht zijn, betreft een embryonaal eiwit, dat in mindere mate tot expressie komt in gezonde cellen van een volwassene persoon. Wanneer gg-T-cel therapie tegen embryonale eiwitten geen schadelijk (*on-target off-tumor*) effect geeft in de patiënt, kan het alsnog gevolgen hebben voor een ongeboren kind, of een pasgeborene waarbij deze antigenen vroeg in de ontwikkeling wel tot expressie komen. Ook hier geldt dat de gevolgen vaak moeilijk te voorspellen zijn, en meer onderzoek noodzakelijk is.

#### 4.3.2 Effecten van insertionele mutagenese

Transductie van T-cellen met een retro-, of lentivirale vector zorgt ervoor dat het transgen (met de CAR sequentie) stabiel integreert in het DNA van de T-cellen (ook wel insertionele mutagenese genoemd). Zowel retro- als lentivirale vectoren kennen een semi-willekeurig integratiepatroon. Wanneer het transgen integreert in de nabijheid van een ander gen, bestaat de kans dat de activiteit van het andere gen beïnvloed wordt. Zo kan integratie van het transgen nabij een (proto)oncogen de genexpressie verhogen, dat tot ongecontroleerde celdeling kan leiden. Eén van de meest bekende voorbeelden hiervan is de behandeling van patiënten met de ernstige immuunstoornis 'X-linked severe combined immunodeficiency', waarbij hematopoëtische stamcellen getransduceerd zijn met een gammaretrovirale vector. Vijf van de 12 patiënten ontwikkelden twee tot zes jaar na behandeling T-cel leukemie. Nadelige effecten als gevolg van insertionele mutagenese vormen in eerste instantie een risico voor de patiënt. Er kan echter niet uitgesloten worden dat 'ontspoorde' gg-T-cellen overgedragen kunnen worden naar derden, alvorens de effecten bij de patiënt ontdekt worden.

Insertie van het transgen hoeft echter niet altijd gepaard te gaan met veranderingen in de regulatie van genexpressie elders in het genoom. Ook hoeven veranderingen in genexpressie niet altijd biologisch

relevant te zijn, of een negatief effect te hebben. Zo is er in een enkele studie klonale expansie van een *ex vivo* retroviraal getransduceerde beenmergcel waargenomen, waarbij de patiënt baat had van deze bijwerking.<sup>41</sup> Vaak zijn er nog aanvullende mutaties nodig voordat een ongunstige insertie kan leiden tot een maligniteit.<sup>42</sup> Tot dusver zijn nadelige effecten als gevolg van insertionele mutagenese alleen waargenomen in studies met retroviraal getransduceerde cellen. Ook is de kans op nadelige effecten groter wanneer een minder gedifferentieerd celtype wordt gebruikt, zoals hematopoëtische stamcellen, in tegenstelling tot volwassen T-cellen.<sup>42</sup> Er zijn geen negatieve effecten ten gevolge van insertionele mutagenese bekend bij gebruik van lentivirale vectoren, mede omdat de kans op integratie van transgenen in promotor regionen lager is bij lentivirale transductie.<sup>43</sup> Nieuwe ontwikkelingen, zoals toepassing van zelf-inactiverende (SIN) vectoren, verkleinen ook de kans op nadelige effecten.<sup>44</sup> Desalniettemin kan de kans op negatieve effecten als gevolg van insertionele mutagenese, zelfs bij gebruik van lentivirale SIN vectoren, niet geheel uitgesloten worden.

## 5. Beheersingsstrategieën

Om nadelige effecten van gg-T-cellen snel te kunnen onderdrukken, worden in klinische studies ook wel beheersingsstrategieën toegepast. Zo kunnen er modificaties aangebracht worden in het transgen waardoor de gg-T-cellen gericht uitgeschakeld kunnen worden. Door in de CAR sequentie een gen toe te voegen dat kan fungeren als een bindingsdomein voor bepaalde antilichamen, kunnen de gg-T-cellen bij toediening van deze antilichamen selectief uitgeschakeld worden. Deze zogenaamde ‘kill switch’ of ‘suicide switch’ kan niet alleen bij de patiënt, maar ook bij onbedoelde blootstelling uitkomst bieden om gg-T-cellen te vernietigen. Bij dit alles moet wel worden opgemerkt dat het opsporen van nadelige effecten van gg-T-cellen in het ongeboren kind zeer lastig zal zijn, en van het instellen van per acute *switch*-therapie *in utero* nauwelijks sprake kan zijn.

Voor overdracht via borstvoeding zijn er enkele strategieën die in overweging genomen kunnen worden om de overdracht van gg-T-cellen in te perken. Invriezen en pasteuriseren kan de immuuncellen aanwezig in moedermelk geheel of grotendeels vernietigen, en de activiteit van de overgebleven cellen sterk verminderen.<sup>45,46</sup> Pasteurisatie van moedermelk wordt vaak toegepast om de overdracht van bacteriën via de moedermelk te beperken. De meest gebruikte pasteurisatie methode is Holder pasteurisatie (verhitting tot 62,5°C voor 30 minuten), waarbij alle lymfocyten vernietigd worden.<sup>47</sup>

## 6. Signalering

Behandeling met gg-T-cellen is een veelbelovende nieuwe therapie. Er wordt veel onderzoek gedaan naar nieuwe toepassingen, zoals tegen andere kankersoorten of als antivirale therapie. In 2016 zijn twee gg-T-cel therapieën geautoriseerd voor gebruik in de Europese Unie (Yescarta en Kymriah). Beide therapieën zijn gericht tegen het CD19 antigeen en worden vaak succesvol ingezet ter behandeling van acute lymfatische leukemie en diffuus grootcellig B-cellymfoom.

De COGEM signaleert dat overdracht van gg-T-cellen na gg-T-cel therapie in specifieke gevallen een potentieel risico voor derden kan vormen. Bij overdracht via prikincidenten, semen en bloeddonatie is

het verwachte effect verwaarloosbaar klein omdat overgedragen gg-T-cellen door het afweersysteem van de ontvanger vernietigd zullen worden. Bij overdracht via weefsel-/orgaandonatie, borstvoeding of de placenta kan niet uitgesloten worden dat gg-T-cellen een schadelijk effect kunnen veroorzaken in de ontvanger.

Voor veel aandoeningen waar gg-T-cel therapie momenteel in ontwikkeling is (zoals hematologische maligniteiten, solide tumoren, en HIV, hepatitis B en C infecties) gelden exclusiecriteria voor donatie van weefsels, organen, bloed of stamcellen. Er kan echter niet worden uitgesloten dat in de nabije toekomst nieuwe gg-T-cel therapieën ontwikkeld worden voor ziektebeelden waar geen belemmering ligt voor donatie van bloed(producten), weefsels of organen.

De gevolgen van blootstelling aan gg-T-cellen via de placenta (ongeboren kind), borstvoeding (pasgeborenen) of door transplantatie van weefsels, organen of stamcellen zijn vooralsnog lastig te bepalen. Deze kunnen vergelijkbaar zijn met die van de beoogde patiënt, maar zijn mede afhankelijk van de specifieke modificaties van de receptor op de gg-T-cel. Vooralsnog kan niet uitgesloten worden dat een ontvanger een schadelijk effect kan ondervinden, en daarom zal per casus bepaald moeten worden welke aanvullende inperkende maatregelen noodzakelijk zijn om de veiligheid van mens en milieu te waarborgen.

Mogelijk effectieve risicobeheersingsmaatregelen zijn (levenslange) verplichtingen voor patiënten om niet zwanger te worden, geen borstvoeding te geven of doneren, of organen/weefsels te doneren. In hoeverre deze maatregelen opgelegd kunnen worden, of proportioneel zijn ten opzichte van de risico's en de geldende ethiek moet nog nader onderzocht worden. Daarbij moet onder meer duidelijkheid komen over welke maatregelen opgelegd kunnen worden om overdracht te voorkomen, en waar de verantwoordelijkheid voor de aanvullende maatregelen behoort te liggen. Valt dit vraagstuk onder de ggo-regelgeving, ligt de verantwoordelijkheid bij de arts, de patiënt of de instanties betrokken bij donatie en transplantatie? Noodzakelijk is dat betrokken instanties hierover in gesprek gaan.

De COGEM signaleert dat betrokken instanties zich bewust moeten zijn van de mogelijke risico's en deze in hun overwegingen mee moeten nemen. Daarnaast dienen patiënten die in aanmerking komen voor gg-T-cel therapie geïnformeerd te worden over de mogelijke risico's in het geval van zwangerschap, borstvoeding en donatie. Verder is er meer onderzoek nodig om inzicht te krijgen in de gevolgen van blootstelling aan gg-T-cellen, en zou bij onderzoeksprogramma's gericht op de ontwikkeling van gg-T-cellen meer financiën beschikbaar gesteld kunnen worden voor dergelijk veiligheidsonderzoek.

## Referenties

1. Gomes-Silva D & Ramos CA (2018). Cancer Immunotherapy Using CAR-T Cells: From the Research Bench to the Assembly Line. *Biotechnol J.* 13. doi: 10.1002/biot.201700097.
2. Tariq SM *et al.* (2018). Chimeric antigen receptor T-cell therapy: A beacon of hope in the fight against cancer. *Cureus* 10:e3486

3. Sadelain M *et al.* (2013). The basic principles of chimeric antigen receptor (CAR) design. *Cancer Discov.* 3: 388-398
4. Maude S & Barrett DM (2016). Current status of chimeric antigen receptor therapy for haematological malignancies. *Br. J. Haematol.* 172: 11-22
5. Jindal V *et al.* (2018). Challenges and prospects of chimeric antigen receptor T cell therapy in solid tumors. *Med. Oncol.* 35: 87
6. Yang H *et al.* (2018). Therapeutic targeting of HIV reservoirs: how to give T cells a new direction. *Front. Immunol.* 9: 2861
7. Thorlund K *et al.* (2017). Landscape review of current HIV ‘kick and kill’ cure research – some kicking, not enough killing. *BMC Infect. Dis.* 17: 595
8. Liu B. *et al.* (2016). Chimeric antigen receptor T cells guided by the single-chain Fv of a broadly neutralizing antibody specifically and effectively eradicate virus reactivated from latency in CD4+ T lymphocytes isolated from HIV-1-infected individuals receiving suppressive combined antiretroviral therapy. *J. Virol.* 90: 9712-9724
9. Krebs K *et al.* (2013). T cells expressing a chimeric antigen receptor that binds hepatitis B virus envelope proteins control virus replication in mice. *Gastroenterology* 145: 456-465
10. Sautto GA *et al.* (2016). Chimeric antigen receptor (CAR)-engineered T cells redirected against hepatitis C virus (HCV) E2 glycoprotein. *Gut* 65: 512-523
11. Proff J. *et al.* (2018). Turning the tables on cytomegalovirus: targeting viral Fc receptors by CARs containing mutated CH2-CH3 IgG spacer domains. *J. Transl. Med.* 16: 26
12. COGEM (2018). Klinische studie met lentiviraal getransduceerde T-cellen (JCAR017) tegen B-cel maligniteiten (Princes Máxima Centrum). COGEM advies CGM/181231-01
13. COGEM (2018). Klinische studie met lentiviraal getransduceerde T-cellen (KITE-585) tegen B-cel maligniteiten. COGEM advies CGM/181206-01
14. COGEM (2018). Klinische studie met lentiviraal getransduceerde T-cellen (JCAR017) tegen B-cel maligniteiten. COGEM advies CGM/180612-01
15. COGEM (2018). Klinische studie met retroviraal getransduceerde T-cellen tegen hematologische maligniteiten. COGEM advies CGM/180103-02
16. COGEM (2017). Klinische studie met TEG001 ter behandeling van hematologische en solide tumoren. COGEM advies CGM/171013-02
17. COGEM (2016). Klinische studie met getransduceerde T-cellen tegen B-cel maligniteiten. COGEM advies CGM/161130-01
18. COGEM (2016). Klinische studie met lentiviraal getransduceerde T-cellen tegen B-cel maligniteiten. COGEM advies CGM/160229-01
19. COGEM (2011). Klinische studie met retroviraal getransduceerde T-cellen tegen leukemie. COGEM advies CGM/110913-01
20. COGEM (2011). Klinische studie met retroviraal getransduceerde humane T-lymfocyten. COGEM advies CGM/110831-01
21. Morgan RA *et al.* (2006). Cancer regression in patients after transfer of genetically engineered lymphocytes. *Science* 314: 126-129

22. Porter DL *et al.* (2011). Chimeric antigen receptor-modified T cells in chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med.* 365: 725-733
23. 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
24. Maude SL *et al.* (2014). Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia. *N. Engl. J. Med.* 371: 1507-1517
25. Oliveira G *et al.* (2015). Tracking genetically engineered lymphocytes long-term reveals the dynamics of T cell immunological memory. *Sci. Transl. Med.* 7: 317ra198.
26. Walker RE *et al.* (2000). Long-term in vivo survival of receptor-modified syngeneic T cells in patients with human immunodeficiency virus infection. *Blood* 96: 467-474
27. Mitsuyasu RT *et al.* (2000). Prolonged survival and tissue trafficking following adoptive transfer of CD4zeta gene-modified autologous CD4(+) and CD8(+) T cells in human immunodeficiency virus-infected subjects . *Blood* 96: 785-793
28. Scholler J *et al.* (2012). Decade-long safety and function of retroviral-modified chimeric antigen receptor T cells. *Sci. Transl. Med.* 4: 132ra53
29. Graef P *et al.* (2014). Serial transfer of single-cell-derived immunocompetence reveals stemness of CD8(+) central memory T cells. *Immunity* 41: 116-126
30. Kanaan SB *et al.* (2017). Maternal microchimerism is prevalent in cord blood in memory T cells and other cell subsets, and persists post-transplant. *Oncoimmunology* 6: e1311436.
31. Ober C (1998). HLA and Pregnancy: The paradox of the fetal allograft. *Am. J. Hum. Genet.* 62: 1-5
32. Sanguanserm Sri D & Pongcharoen S (2008). Pregnancy immunology: decidual immune cells. *Asian Pac. J. Allergy Immunol.* 26: 171-181
33. Maloney S *et al.* (1999). Microchimerism of maternal origin persists into adult life. *J. Clin. Invest.* 104:41-47
34. Stevens AM (2007). Do maternal cells trigger or perpetuate autoimmune diseases in children? *Pediatr. Rheumatol. Online J.* 5: 9
35. Hassiotou F *et al.* (2013). Maternal and infant infections stimulate a rapid leukocyte response in breastmilk. *Clin. Transl. Immunology* 2: e3
36. Molès JP *et al.* (2018) Breastmilk cell trafficking induces microchimerism-mediated immune system maturation in the infant. *Pediatr. Allergy Immunol.* 29: 133-143
37. Nederlandse Transplantatiestichting. [www.transplantatiestichting.nl](http://www.transplantatiestichting.nl) (bezocht: 14 januari 2019)
38. Espinosa JR *et al.* (2016). Memory T cells in organ transplantation: progress and challenges. *Nat. Rev. Nephrol.* 12: 339–347
39. Page E *et al.* (2013). Lymphodepletional strategies in transplantation. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 3. pii: a015511
40. Sanquin Bloedwijzer (2018). Informatie voor gebruikers van kort houdbare bloedproducten en Omniplasma®. TG001.RL.SQ / versie 003. <https://www.sanquin.org/binaries/content/assets/nl/producten-en-diensten/bloedproducten/sops-en-relevante-documenten/tg001.rl.sq-versie-003---bloedwijzer-010918-110918.pdf> (bezocht: 14 januari 2019)

41. Cavazzana-Calvo M *et al.* (2010). Transfusion independence and HMGA2 activation after gene therapy of human b-thalassaemia. *Nature* 467: 318-322
42. Aiuti A *et al.* (2013). The committee for advanced therapies' of the European Medicines Agency reflection paper on management of clinical risks deriving from insertional mutagenesis. *Hum. Gene Ther. Clin. Dev.* 24: 47-54
43. Sinn PL *et al.* (2005). Gene therapy progress and prospects: development of improved lentiviral and retroviral vectors--design, biosafety, and production. *Gene Ther.* 12: 1089-1098
44. Cartier N *et al.* (2009). Hematopoietic stem cell gene therapy with a lentiviral vector in X-linked adrenoleukodystrophy. *Science* 326: 818-823
45. Lawrence RA (1999). Storage of human milk and the influence of procedures on immunological components of human milk. *Acta Pædiatr.* 88: 14-18
46. Unger S *et al.* (2014). DoMINO: Donor milk for improved neurodevelopmental outcomes. *BMC Pediatr.* 14: 123
47. Heiman H & Schanler RJ (2006). Benefits of maternal and donor human milk for premature infants. *Early Hum. Dev.* 82: 781-787