

Aan de minister van  
Infrastructuur en Waterstaat  
drs. C. van Nieuwenhuizen-Wijbenga  
Postbus 20901  
2500 EX Den Haag

**DATUM** 24 juni 2019  
**KENMERK** CGM/190624-03  
**ONDERWERP** Advies Klinische studie gg-T-cellen JNJ-68284528 tegen B-cel maligniteiten

Geachte mevrouw Van Nieuwenhuizen,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende de vergunningaanvraag IM-MV 19-002\_000 getiteld: 'Clinical testing of JNJ-68284528, composed of autologous T cells genetically modified with a lentiviral vector (LVV) to express a chimeric antigen receptor (CAR) that, upon reinfusion into the patient, recognize and kill B-cell maturation antigen (BCMA)-expressing tumour cells' van het Universitair Medisch Centrum Utrecht, deelt de COGEM 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.

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 virale vectordeeltjes in het medisch product.

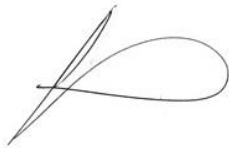
De aanvrager voert meerdere testen uit om de aanwezigheid van RCL tijdens de productie van de virale vector en in het medische product uit te sluiten. De COGEM acht deze testen toereikend en acht de kans op de aanwezigheid van RCL in het medische eindproduct, mede gezien het gebruikte productiesysteem, 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.

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.            Dr. J. Westra, Bureau ggo  
                  Mr. J.K.B.H. Kwisthout, Ministerie van IenW  
                  Dr. B.M. te Riet-Schulte, Loket Gentherapie

# Klinische studie met lentiviraal getransduceerde T-cellen (JNJ-68284528) tegen B-cel maligniteiten

## COGEM advies CGM/190624-03

### 1. Inleiding

De COGEM is gevraagd om te adviseren over een aanvraag (IM-MV 19-002) voor een klinische studie waarbij genetisch gemodificeerde (gg-)T-cellen (JNJ-68284528) worden toegediend aan patiënten met hematologische maligniteiten die 'B-cell maturation antigen' (BCMA) tot expressie brengen. JNJ-68284528 wordt vervaardigd door patiëntspecifieke, lichaamseigen T-cellen *ex vivo* te transduceren met een replicatie-deficiënte lentivirale zelf-inactiverende (SIN) vector. Deze vector bevat sequenties voor een 'chimere antigen receptor' (CAR) gericht tegen BCMA, dat aanwezig is op het celoppervlak van specifieke (maligne) B-cellen. De gg-T-cellen worden vervolgens teruggeplaatst in de patiënt om de ziekte te behandelen. Het doel van de klinische studie is om de veiligheid en verdraagbaarheid van JNJ-68284528 te onderzoeken. De werkzaamheden voor deze studie zullen worden uitgevoerd in het Universitair Medisch Centrum Utrecht.

#### 1.1 Achtergrondinformatie

De afgelopen jaren zijn er verschillende vergunningaanvragen beoordeeld voor klinische studies waarbij retro- of lentiviraal getransduceerde gg-T-cellen ingezet worden als immunotherapie tegen (voornamelijk) B-cel maligniteiten.<sup>o.a. 1,2,3,4,5,6,7</sup> B-cellen (ook wel B-lymfocyten genoemd) 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.<sup>8</sup> Het therapeutische doelwit in de huidige vergunning aanvraag, BCMA, is van nature aanwezig op het celoppervlak van plasmacellen, specifieke B-cellen, en plasmacytoïde dendritische cellen, maar komt in multiple myeloomcellen en bij andere B-cel maligniteiten in hogere mate tot expressie.

Voor de productie van gg-T-cellen worden vaak retro- of lentivirale vectoren gebruikt. In de onderhavige aanvraag wordt gebruik gemaakt van een zelf-inactiverende (SIN) lentivirale vector, afgeleid van het *Human immunodeficiency virus 1* (HIV-1). Het genoom van HIV-1 heeft aan weerszijden een Long Terminal Repeat (LTR). Daarnaast bevat het genoom een 'packaging' signaal ( $\psi$ ), drie structurele genen (*gag*, *pol* en *env*), vier accessoire genen (*vif*, *vpr*, *vpu* en *nef*) en twee regulatoire genen (*tat* en *rev*).<sup>9</sup>

Van nature infecteert HIV-1 de verschillende cellen van het immuunsysteem zoals T-lymfocyten, macrofagen en monocyten. Voor een bredere toepasbaarheid van lentivirale vectoren wordt het gastheerbereik meestal uitgebreid door pseudotypering van de lentivirale deeltjes met een oppervlakte eiwit (glycoproteïne) van Vesicular stomatitis Indiana virus (VSIV) (species: *Indiana vesiculovirus*). Ook in de onderhavige aanvraag is het VSIV glycoproteïne (VSIV-G) gebruikt voor een efficiënte transductie van de T-cellen.

### 1.2 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. Tijdens de productie van de lentivirale vector worden de verschillende virusgenen opgesplitst en verdeeld over vier verschillende plasmiden. Deze plasmiden worden gezamenlijk in HEK293T cellen (humane embryonale niercellen) getransfecteerd om vectordeeltjes te produceren.<sup>9,10</sup> Door deze opsplitsing wordt de kans op het ontstaan van replicatiecompetent lentivirus (RCL) tijdens de productie van lentivirale vectoren gereduceerd. Ook is bij de vector in de huidige aanvraag een deel van de 3'LTR verwijderd (SIN vector),<sup>11,12</sup> waardoor de kans op mobilisatie van de vector uit het genoom van de gastheer aanzienlijk gereduceerd wordt. Verder is de originele 5' LTR vervangen door een chimere getrunceerde 5' LTR met de enhancer/promoter van *Rous sarcoma virus* (RSV).

De transferplasmide codeert voor het genoom van de bovenbeschreven lentivirale vector en bevat onder meer een chimere RSV-getrunceerde 5'LTR, een 3'LTR-SIN, het 'packaging' ( $\psi$ ) signaal, het 'Rev Response element' (RRE), een 'central polypurine tract/central termination sequence' (cPPT/CTS), een 'Woodchuck hepatitis virus post-transcriptional regulatory element' (WPRE) fragment en de transgene (CAR) sequentie. Het anti-BCMA CAR gen is samengesteld uit het signaalpeptide van humaan CD8 $\alpha$ , BCMA 'targeting domains', de 'hinge' en het transmembraan domein van humaan CD8 $\alpha$ , een humaan CD137 cytoplasmatisch domein en een humaan CD3 $\zeta$  cytoplasmatisch domein.

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 plasmide ligt. De derde plasmide codeert voor het glycoproteïne afkomstig van VSIV. De niet-essentiële accessoire en regulatoire HIV-1 genen zijn uit het vectorsysteem verwijderd. Na co-transfectie van HEK293T cellen met de transferplasmide en de drie helperplasmiden wordt een VSIV-G gepseudotyperde lentivirale SIN vector (LCARSIN-B38M) geproduceerd waarmee de T-cellen worden getransduceerd.

### 1.3 Productie van JNJ-68284528

Voor de productie van de gg-T-cellen (JNJ-68284528) worden T-cellen uit het bloed van de patiënt geïsoleerd, en *ex vivo* getransduceerd met de replicatie-deficiente lentivirale SIN vector LCARSIN-B38M. Na integratie van het CAR gen in het genoom van 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

JNJ-68284528 wordt via intraveneuze infusie toegediend aan maximaal 100 volwassen en pediatrische patiënten met hematologische maligniteiten waarbij het BCMA tot expressie komt. De aanvrager hanteert daarbij als criterium dat patiënten met acute of chronische infectie met HIV, of de hepatitisvirussen HBV of HCV uitgesloten worden van deelname. Ook patiënten waarvan bekend is

dat ze een actieve (virale) infectie doormaken worden uitgesloten. Zwangere vrouwen en vrouwen die borstvoeding geven zijn ook uitgesloten van deelname aan de studie.

Medisch personeel zal universele voorzorgsmaatregelen voor werkzaamheden met lichaamsvloeistoffen en de standaard procedures voor celtherapie opvolgen. Het personeel draagt een beschermende jas en handschoenen tijdens de toediening. JNJ-68284528 zal worden toegediend in verschillende doseringen, waarbij de maximale dosering van  $9,0 \times 10^8$  getransduceerde cellen (uitgaande van een patiënt van 100 kg) bedraagt. Op verschillende momenten zullen monsters (onder meer bloed, urine, beenmerg en hersenvocht) afgenomen worden. Gedurende 15 jaar na de laatste infusie zullen de patiënten worden gevolgd, waarbij er op verschillende momenten bloedmonsters worden afgenomen. Deze monsters worden onder andere gecontroleerd op aanwezigheid van sequenties van de virale envelop (door middel van qPCR) om aanwezigheid van RCL uit te sluiten. Ook wordt de aanwezigheid van gg-T-cellen in bloed gemonitord.

Bij deelname aan deze klinische studie worden de patiënten door de aanvrager geïnstrueerd om na toediening van de gg-T-cellen af te zien van het doneren van bloed, organen, weefsels of cellen voor transplantatie.

### **3. Overweging**

In de onderhavige aanvraag worden gg-T-cellen (JNJ-68284528) toegediend aan volwassen en pediatrische patiënten met hematologische maligniteiten waarbij het BCMA tot expressie komt. 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 gecontamineerd kunnen raken met de gg-T-cellen of geïnfecteerd met een recombinant virus. Om eventuele milieurisico's die hieruit voortvloeien te kunnen beoordelen, is een karakterisering van de gg-T-cellen van belang.

#### *3.1 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.<sup>13</sup>

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 de lentivirale SIN vector LCARSIN-B38M met behulp van Sanger sequencing gecontroleerd. Een vectorbatch wordt vrijgegeven als de sequentie van het insert 100% identiek is aan de

referentiesequentie. De aanvrager voert ook een qPCR uit om de identiteit van de getransduceerde T-cellen te controleren. De sequentie van het insert wordt niet in elk JNJ-68284528 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 en dat de sequentiegegevens naar verwachting zijn. De COGEM is van oordeel dat de aanvrager de moleculaire karakterisering afdoende heeft uitgevoerd.

### *3.2 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 replicatiecompetent vectordeeltje te construeren. Tijdens de productie van lentivirale SIN vectoren met het productiesysteem van de derde generatie moeten minimaal 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 RCL zou kunnen ontstaan. In de wetenschappelijke literatuur zijn nooit meldingen geweest van RCL bij gebruik van een derde generatie productiesysteem.<sup>14,15</sup>

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.

De aanvrager stelt dat er op meerdere momenten gedurende de productie van JNJ-68284528 getest wordt op RCL. Zowel de 'end of production cells' (EOPC), de vectorbatch als het eindproduct worden getest op RCL, en de patiënt wordt na infusie gemonitord en afgenomen monsters zullen ook getest worden op RCL.

Voor de RCL test wordt 5% of 300 ml van het supernatant van de vectorbatch, en 1% of  $1 \times 10^8$  cellen van de EOPC gebruikt. De RCL test van de vectorbatch en de EOPC gebeurt door middel van amplificatie in cellen en detectie met een qPCR test die reverse transcriptase activiteit meet. De aanvrager geeft aan dat de detectielimiet van deze test  $<1$  RCL per 300 ml vectorbatch supernatant (of 5% van het supernatant) en  $<1$  RCL per  $1 \times 10^8$  EOPC (of 1% van de productiecellen) is. De RCL test

van de 'end of production cells' en de vectorbatch moeten negatief zijn alvorens het gg-T-cel product geproduceerd kan worden. Het medisch eindproduct (de gg-T cellen) wordt op RCL getest met behulp van qPCR (detectielimiet: 20 kopieën/30.000 cellen), waarbij getest wordt op aanwezigheid van VSIV-G sequenties. De aanvrager geeft verder aan dat er nog nooit RCL gerapporteerd is bij klinische toepassingen met lentivirale vectoren en verwijst hierbij naar literatuur.<sup>16,17,18</sup>

De COGEM acht de kans op RCL vorming bij een SIN vector van de derde generatie verwaarloosbaar klein.

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 lenti- of retrovirus in dezelfde cel als de lentivirale vector, die de verloren functies van de vector kan complementeren. De aanvrager geeft aan dat patiënten met acute of chronische infectie met HIV, of de hepatitisvirussen HBV en HCV uitgesloten worden van deelname. Ook patiënten waarvan bekend is dat ze een actieve (virale) infectie doormaken worden uitgesloten van deelname. Hierbij wordt aangetekend dat patiënten niet actief gescreend worden op HTLV infectie. De COGEM heeft eerder geconcludeerd dat het niet actief screenen op HTLV infectie geen invloed heeft op de milieurisicobeoordeling.<sup>o.a. 6,7</sup>

Tot slot merkt de COGEM op dat ca. 8% van het humane genoom uit endogene retrovirale sequenties bestaat.<sup>19</sup> Deze worden voornamelijk gerelateerd aan beta-retrovirussen en in een enkel geval aan gamma-retrovirussen. Door accumulatie van vele inactiverende mutaties coderen deze sequenties niet voor replicatiecompetente Human endogenous retroviruses (HERVs).<sup>19,20,21</sup> Daarbij merkt de COGEM op 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.

#### *3.3 Aanwezigheid van vrije vectordeeltjes*

Na transductie van de T-cellen kunnen vrije vectordeeltjes in het te testen medisch product achterblijven. In het 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.<sup>22</sup> In een advies uit 2018 heeft de COGEM de risico's van vrije vectordeeltjes voor mens en milieu heroverwogen en de veiligheidsmarge van de reductieratio op 1 gesteld.<sup>23</sup> De aanvrager heeft de formule toegepast en geeft aan dat er een virusreductieratio van 115 gerealiseerd wordt (dat overeenkomt met maximaal 0,009 vectordeeltjes per toe te dienen batch JNJ-68284528), bij een maximaal aantal van 15,84e7 vectordeeltjes in het inoculum.

De COGEM is van oordeel dat de door haar opgestelde formule om het aantal vrije vectordeeltjes in te schatten op correcte wijze door de aanvrager is toegepast. Zij acht daarom de kans verwaarloosbaar klein dat er infectieuze vrije vectordeeltjes in het preparaat aanwezig zullen zijn.

#### *3.4. Effecten van de mogelijke blootstelling van het milieu aan de getransduceerde T-cellen*

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 geboren kind), via moedermelk, of via het semen (seksueel contact).<sup>24</sup>

Recent heeft de COGEM een onderzoek laten uitvoeren naar de potentiële overdracht van gg-T-cellen naar derden en de mogelijke effecten waarmee dit gepaard kan gaan.<sup>24</sup> Uit studies blijkt dat getransduceerde T-cellen maanden of zelfs jaren na toediening nog gedetecteerd kunnen worden in patiënten.<sup>25,26,27,28,29,30,31</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>32</sup> De COGEM acht het aannemelijk dat gg-T-cellen na toediening langere tijd (meerdere jaren) kunnen persisteren in het lichaam.<sup>33</sup>

Op basis van de informatie uit het onderzoeksrapport en de wetenschappelijke literatuur signaleerde de COGEM dat overdracht van gg-T-cellen na gg-T-cel therapie in specifieke gevallen een potentieel risico voor derden kan vormen.<sup>33</sup> 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-/orgaan-/stamceldonatie, borstvoeding of de placenta kan niet uitgesloten worden dat gg-T-cellen een schadelijk effect kunnen veroorzaken in de ontvanger. De gevolgen van blootstelling aan gg-T-cellen via de placenta (geboren 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.<sup>24</sup>

De aanvrager stelt dat zwangere vrouwen en vrouwen die borstvoeding geven uitgesloten zijn van deelname aan de studie. Verder worden patiënten die deelnemen aan de studie door de aanvrager geïnstrueerd om na toediening van de gg-T-cellen af te zien van het doneren van bloed, organen, weefsels of cellen voor transplantatie.

De COGEM signaleert dat het van belang is dat de vergunningaanvrager vrouwelijke patiënten in en voor de fertile leeftijd informeert over de overdracht van gg-T-cellen aan eventuele (geboren) kinderen ten tijde van zwangerschap en borstvoeding. De COGEM heeft recent een signalering en



onderzoeksrapport gepubliceerd waarin verder ingegaan wordt op de problematiek rond mogelijke overdracht van gg-T-cellen.<sup>24,33</sup> De COGEM signaleert dat de betrokken instanties zich bewust moeten zijn van deze problematiek en met elkaar hierover in overleg moeten treden.

#### 4. 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 CAR het BCMA antigeen aanwezig op (maligne) 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 JNJ-68284528 voldoende gereduceerd. Daarnaast beschouwt zij de kans op de aanwezigheid van RCL of recombinant virus in JNJ-68284528 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. COGEM (2018). Klinische studie met lentiviraal getransduceerde T-cellen (JCAR017) tegen B-cel maligniteiten. COGEM advies CGM/180612-01
2. COGEM (2018). Klinische studie met retroviraal getransduceerde T-cellen tegen hematologische maligniteiten. COGEM advies CGM/180103-02
3. COGEM (2017). Klinische studie met TEG001 ter behandeling van hematologische en solide tumoren. COGEM advies CGM/171013-02
4. COGEM (2016). Klinische studie met getransduceerde T-cellen tegen B-cel maligniteiten. COGEM advies CGM/161130-01
5. COGEM (2016). Klinische studie met lentiviraal getransduceerde T-cellen tegen B-cel maligniteiten. COGEM advies CGM/160229-01
6. COGEM (2018). Klinische studie met lentiviraal getransduceerde T-cellen (KITE-585) tegen B-cel maligniteiten. COGEM advies CGM/181206-01
7. COGEM (2018). Klinische studie met lentiviraal getransduceerde T-cellen (JCAR017) tegen B-cel maligniteiten (Princes Máxima Centrum). COGEM advies CGM/181231-01
8. Volk WA *et al.* (1996). B cell Development, Receptors and genes. In: Essentials of Medical Microbiology. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia
9. Freed EO & Martin MA (2013), Human Immunodeficiency Viruses: Replication. In: Fields virology, volume 2, sixth edition. Ed. Knipe DM *et al.* Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia
10. Cockrell AS & Kafri T (2007). Gene delivery by lentivirus vectors. *Mol. Biotechnol.* 36: 184-204

11. Zufferey R *et al.* (1998). Self-inactivating lentivirus vector for safe and efficient in vivo gene delivery. *J. Virol.* 72: 9873-9880
12. Miyoshi H *et al.* (1998). Development of a self-inactivating lentivirus vector. *J. Virol.* 72: 8150-8157
13. COGEM (2013). Criteria voor moleculaire karakterisering van ggo's voor medische en veterinaire toepassing. COGEM advies CGM/130227-05
14. 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
15. Cornetta K *et al.* (2018). Absence of replication competent lentivirus in the clinic: analysis of infused T cell products. *Mol Ther.* 26: 280-288
16. Holzinger A *et al.* (2016). The growing world of CAR T cell trials: a systematic review. *Cancer Immunol. Immunother.* 65: 1433-1450
17. Naldini L *et al.* (2016). Lentiviral vectors, two decades later. *Science.* 353: 1101-1102
18. Cornetta K *et al.* (2011). Replication-competent lentivirus analysis of clinical grade vector products. *Mol. Ther.* 19: 557-566
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. COGEM (2018). Vervolgadvies over vrije virusdeeltjes in klinische studie gg-T-cellen JCAR017 tegen B-cel maligniteiten. COGEM advies CGM/180702-01
24. Bergmans H *et al.* (2018). Milieurisicoanalyse van klinische toepassingen van genetisch gemodificeerde T-cellen. COGEM onderzoeksrapport 2018-5
25. Morgan RA *et al.* (2006). Cancer regression in patients after transfer of genetically engineered lymphocytes. *Science* 314: 126-129
26. Porter DL *et al.* (2011). Chimeric antigen receptor-modified T cells in chronic lymphoid leukemia. *N. Engl. J. Med.* 365: 725-733
27. 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
28. Maude SL *et al.* (2014). Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia. *N. Engl. J. Med.* 371: 1507-1517
29. Oliveira G *et al.* (2015). Tracking genetically engineered lymphocytes long-term reveals the dynamics of T cell immunological memory. *Sci. Transl. Med.* 7: 317ra198.
30. 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
31. 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

32. Scholler J *et al.* (2012). Decade-long safety and function of retroviral-modified chimeric antigen receptor T cells. *Sci. Transl. Med.* 4: 132ra53
33. COGEM (2019). Signalerende aanbiedingsbrief bij onderzoeksrapport milieurisicoanalyse van klinische toepassingen van gg-T-cellen. COGEM signalering CGM/190227-01