

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

DATUM 23 september 2019
KENMERK CGM/190923-01
ONDERWERP Advies klinische studie gg-T-cellen (GSK3377794) tegen NY-ESO-1 of LAGE-1a positieve kankervormen


Geachte mevrouw Van Nieuwenhuizen,

De COGEM is gevraagd te adviseren over een vergunningaanvraag van het Nederlands Kanker Instituut – Antoni van Leeuwenhoek Ziekenhuis (NKI-AVL) voor een klinische studie (IM-MV 19-008_000), getiteld ‘Clinical Trials to Assess the Safety and/or Antitumor Activity of Genetically Engineered NY-ESO-1-Specific (c259) T Cells (GSK3377794), alone or in combination with other agents, in HLA-A*02:01, HLA-A*02:05 and/or HLA-A*02:06 Participants with NY-ESO-1 and/or LAGE-1a Positive Cancers’.

In deze klinische studie worden patiënteigen (autologe) CD4+ en CD8+ T-cellen *ex vivo* getransduceerd met een zelf-inactiverende (SIN) lentivirale vector afgeleid van het *Human immunodeficiency virus 1* (HIV-1), en gepseudotyped met een glycoproteïne van het Vesicular stomatitis Indiana virus (VSV-G). De autologe T-cellen brengen na transductie met de SIN lentivirale vector een T-cel receptor (TCR) tot expressie, die een hoge bindingsaffiniteit heeft voor de SLLMWITQC peptide sequentie in de NY-ESO-1 of LAGE-1a antigenen, die gepresenteerd worden door HLA-A*02:01/05/06 moleculen. Na transductie worden de gg-T-cellen weer teruggebracht in de patiënt, om een effectieve afweerreactie tegen NY-ESO-1/LAGE-1a tumoren te bewerkstelligen.

De COGEM adviseert regelmatig over klinische studies met lentiviraal (of retroviraal) getransduceerde gg-T-cellen. Onlangs heeft de COGEM een generiek advies¹ uitgebracht

¹ COGEM (2019). Generieke milieureisicobeoordeling van klinische studies met *ex vivo* retro- en lentiviraal getransduceerde cellen. COGEM advies CGM/190729-01



over een vereenvoudigde vergunningverleningsprocedure voor klinische studies met gg-T-cellen. Hierin zijn enkele voorwaarden benoemd waarbij het milieurisico van dit soort klinische studies verwaarloosbaar klein wordt geacht. De voorwaarden die relevant zijn voor de onderhavige studie met een lentivirale vector betreffen:

- Er wordt gebruik gemaakt van een SIN lentivirale vector afgeleid van HIV-1, gepseudotypeerd met VSV-G en geproduceerd met behulp van een 3^e generatie productiesysteem;
- Het gebruikte transgen codeert niet voor sequenties die in staat zijn de replicatiedefiënte lentivirale vector te complementeren;
- De plasmiden nodig voor de productie van de vector, alsmede het geïntegreerde vectorgenoom in de 'end of production' cellen, zijn moleculair gekarakteriseerd;
- Er zijn geen vrije infectieuze vectordeeltjes in het terug te plaatsen medische product aanwezig;
- Het betreffen geen getransduceerde macrofagen;
- HIV-1 en HIV-2 positieve patiënten worden uitgesloten van deelname aan de studie.

Productiesysteem

In de onderhavige klinische studie is gebruik gemaakt van een 3^e generatie productiesysteem waarbij de relevante genen over 4 plasmiden verdeeld zijn. In het vectorsysteem zijn de *tat*, *vif*, *vpr*, *vpu*, *env*, en *nef* genen van HIV-1 verwijderd. Om de SIN lentivirale vector (GSK3988862A) te produceren, vindt er co-transfectie plaats in HEK 293T cellen van de transferplasmide (ADB934), die codeert voor het vector genoom (als ssRNA ingepakt in het vectordeeltje), en de drie helperplasmiden pKrev, pKLgagpol en pKG. De pKrev plasmide brengt het HIV-1 *rev* gen tot expressie, en de pKLgagpol plasmide brengt de HIV-1 *gag* en *pol* genen tot expressie. De pKG plasmide brengt het VSV-G tot expressie, waarmee de vector gepseudotypeerd wordt.

De transferplasmide bevat geen sequenties die de vector kunnen complementeren. Transcriptie van het vector mRNA van de transferplasmide wordt gedreven door de *Rous Sarcoma Virus* (RSV) promotor. Het transgen staat onder de controle van de humane EF-1 α promotor en bestaat uit één ORF waaruit, door toevoeging van een P2A ribosoom 'skipping' sequentie, twee polypeptiden worden gegenereerd, namelijk de TCR α en TCR β ketens. Naast de sequentie van het transgen (TCR α -P2A-TCR β) bevat de transferplasmide ook een leader sequentie, splice donor en acceptor sites, een extended 'packaging' signaal, het zogenaamde RRE element, en de cPPT CTS. Ook is een groot deel van de U3 regio in de 3'LTR verwijderd (SIN construct).

De aanvrager voert op verschillende momenten tijdens de productie en in het medische product testen uit op de aanwezigheid van replicatiecompetent lentivirus (RCL). In het verleden heeft de COGEM gesteld dat vorming van RCL tijdens de productie van derde



generatie SIN lentivirale vectoren niet mogelijk is.² Derhalve acht de COGEM het niet noodzakelijk te testen op RCL in de productiecellen of in de vectorbatch die voor transductie gebruikt wordt.

Moleculaire karakterisering

De identiteit van de volledige transferplasmide ADB934 is bevestigd met behulp van 'double stranded sequence analysis' en is identiek bevonden aan de referentiesequentie. De identiteit wordt ook in individuele 'vector lots' bevestigd. Hiervoor is het transgen in het provirale DNA gesequenced in een referentie cellijn die getransduceerd is met de GSK3988862A vector. Als acceptatiecriterium voor de identiteit van het provirale DNA wordt 'conforms to reference' gehanteerd. Later wordt in het aanvraagformulier aangegeven dat het provirale DNA 100% identiek dient te zijn aan de referentiesequentie. De aanvrager heeft daarnaast nog een korte beschrijving van de drie helperplasmiden en vectorkaarten van de helper- en transferplasmide aangeleverd.

In de onderhavige studie worden geen 'end of production' cellen moleculair gekarakteriseerd, maar wordt de identiteit in individuele 'vector lots' bepaald. De COGEM acht de manier waarop de moleculaire karakterisering is uitgevoerd afdoende en zij is van oordeel dat deze voldoet aan de voorwaarden voor de generieke milieurisicobeoordeling voor *ex vivo* getransduceerde cellen.


Aanwezigheid vrije vectordeeltjes

Om te berekenen of er nog vrije vectordeeltjes aanwezig kunnen zijn in het medische eindproduct (GSK3377794), kan de COGEM formule² gebruikt worden. De aanvrager stelt dat er na transductie minimaal 11 dagen kweektijd gehanteerd wordt, en dat er 2 keer gewassen wordt tijdens de kweek, en 3 keer gewassen wordt tijdens de oogst. De virale titer van het inoculum bedraagt $8,7 \times 10^6$ en de halfwaardetijd van VSV-G gepseudotyperde lentivirale vectoren bedraagt 10 uur. Wanneer deze gegevens in de COGEM formule worden verwerkt, wordt er een reductieratio van $3,3 \times 10^7$ gerealiseerd, die overeenkomt met minder dan $3,1 \times 10^{-8}$ aanwezige vectordeeltjes.

De COGEM hanteert een reductieratio van minimaal 1 bij gebruik van SIN lentivirale vectoren geproduceerd met een derde generatie systeem.³ Bij gebruik van de COGEM formule wordt een hogere reductieratio gerealiseerd. De COGEM is van oordeel dat het aantal aanwezige vrije vectordeeltjes in het medische product voldoet aan de voorwaarden gesteld in de generieke milieurisicobeoordeling voor *ex vivo* getransduceerde cellen.

² COGEM (2009). Inschaling van laboratoriumwerkzaamheden met lentivirale vectoren. COGEM advies CGM/090331-03

³ COGEM (2018). Vrije virusdeeltjes in klinische studie met lentiviraal getransduceerde T-cellen (JCAR017) tegen B-cel maligniteiten. COGEM advies CGM/180702-01



Medisch product

De getransduceerde cellen in de onderhavige klinische studie betreffen autologe T-cellen. Er worden geen macrofagen getransduceerd.

Exclusiecriteria en mogelijke effecten van blootstelling van het milieu aan gg-T-cellen

In het aanvraagformulier staat vermeld dat patiënten met HIV-1 en HIV-2 worden uitgesloten van deelname aan de klinische studie. Daarnaast worden ook zwangere vrouwen en vrouwen die borstvoeding geven, uitgesloten van deelname aan de studie. Behandelde patiënten worden niet uitgesloten van orgaan-, cel- en weefseldonatie, maar de aanvrager stelt dat mannelijke deelnemers worden verzocht geen sperma te doneren voor minstens 12 maanden na behandeling, of 4 maanden als er geen gg-T-cellen meer gedetecteerd kunnen worden in het bloed. Vrouwelijke deelnemers worden verzocht geen eicellen te doneren voor dezelfde periode.

De COGEM merkt op dat gg-T-cellen na toediening langere tijd (meerdere jaren) kunnen persisteren in het lichaam, en dat detectie in bloed niet altijd uitsluitel geeft over de aanwezigheid van gg-T-cellen in het lichaam, omdat deze cellen - net als reguliere T-cellen - opgeslagen kunnen worden in (lymfoïde) organen.


Begin 2019 heeft de COGEM een signalering uitgebracht waarin ingegaan wordt op de problematiek rond mogelijke overdracht van gg-T-cellen.⁴ Hierin signaleerde de COGEM 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-/orgaan-/stamceldonatie, borstvoeding of de placenta kan niet uitgesloten worden dat persisterende gg-T-cellen een schadelijk effect kunnen veroorzaken in de ontvanger (i.e., de ontvanger van organen, de foetus of het pasgeboren kind), maar dit is mede afhankelijk van de specifieke modificaties die aangebracht zijn in de genetisch gemodificeerde cel.

De gg-T-cellen in de onderhavige studie brengen een TCR tot expressie, gericht op NY-ESO-1 en LAGE-1a antigenen. NY-ESO-1 en LAGE-1a zijn kanker-testis antigenen (CTA's) die opnieuw tot expressie komen in verschillende soorten kanker. Doorgaans komen CTA's tot expressie tijdens de embryonale ontwikkeling (vanaf 13 weken met een piek bij 22-24 weken) en is expressie beperkt tot de testiculaire kiemcellen en placenta trofoblastcellen. De expressie in volwassen somatische cellen is zeer laag of afwezig.⁵

Bij overdracht via orgaan/weefsel of stamceldonatie zijn de risico's mogelijk beperkt (indien er geen onverwachte *off-target* effecten optreden) aangezien de betreffende antigenen vrijwel alleen tijdens de embryonale ontwikkeling tot expressie komen, maar hier kan geen uitsluitel over gegeven worden. Voor een ongeboren kind, dat ten tijde van de

⁴ COGEM (2019). Immunotherapie met genetisch gemodificeerde T-cellen: onbedoelde blootstelling en potentiële risico's. COGEM signalering CGM/190227-01

⁵ Thomas R *et al.* (2018). NY-ESO-1 Based Immunotherapy of Cancer: Current Perspectives. *Front. Immunol.* 9: 947



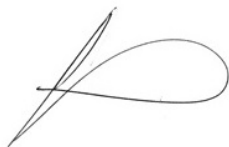
zwangerschap blootgesteld kan worden aan gg-T-cellen, kan mogelijk een afweerreactie en daardoor schade ontstaan tijdens de (embryonale) ontwikkeling, waarvan de effecten niet te voorspellen zijn. De COGEM signaleert daarom dat het van belang is dat de vergunningaanvrager vrouwelijke patiënten in en voor de fertile leeftijd informeert over mogelijke overdracht van gg-T-cellen aan eventuele (ongeboren) kinderen ten tijde van zwangerschap en borstvoeding. De COGEM signaleert dat overleg gaande is tussen instanties die betrokken zijn bij de beoordeling en uitvoering van klinische studies over de eventuele risico's van overdracht van gg-T-cellen (bij borstvoeding, zwangerschap en donatie/transplantatie) en hoe hiermee om te gaan.

Conclusie en advies

In de onderhavige studie wordt gebruik gemaakt van een 3^e generatie SIN lentivirale, VSV-G gepseudotypeerde vector, waarmee autologe T-cellen getransduceerd worden. Het geïntroduceerde transgen codeert voor een NY-ESO-1/LAGE-1a specifieke TCR, en is niet in staat de lentivirale vector te complementeren. Daarnaast worden HIV-1 en HIV-2 patiënten uitgesloten van deelname aan de studie.

De COGEM is van oordeel dat deze klinische studie voldoet aan de voorwaarden gesteld in de generieke milieurisicobeoordeling voor *ex vivo* getransduceerde cellen en acht de milieurisico's verbonden aan deze klinische studie met SIN lentivirale-vector getransduceerde T-cellen verwaarloosbaar klein.

Hoogachtend,



Prof. dr. ing. Sybe Schaap
Voorzitter COGEM

c.c. Dr. J. Westra, Hoofd Bureau ggo
Mr. J.K.B.H. Kwisthout, Ministerie van IenW
Dr. D. Horst, Loket Gentherapie