

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

**DATUM** 14 november 2019

**KENMERK** CGM/191114-01

**ONDERWERP** Advies klinische studie met *ex vivo* getransduceerde cellen voor de behandeling van cerebrale adrenoleukodystrofie

Geachte mevrouw Van Nieuwenhuizen,


Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende de vergunningaanvraag IM-MV 19-006\_000 getiteld 'Clinical testing of Lenti-D Drug Product, an autologous CD34+ cell-enriched population that contains cells transduced with lentiviral vector (LVV) that encodes an ABCD1 complementary DNA (cDNA) for human adrenoleukodystrophy protein (ALDP)'. van het Prinses Máxima Centrum te Utrecht, deelt de COGEM u het volgende mee.

**Samenvatting:**

De COGEM is gevraagd te adviseren over de milieurisico-aspecten van een klinische studie met genetisch gemodificeerde (gg-)stamcellen bij patiënten met cerebrale adrenoleukodystrofie (CALD). Deze patiënten lijden aan een ernstige stofwisselingsziekte vanwege een genetisch defect in het *ABCD1* gen. De ziekte gaat gepaard met schade aan onder meer de bijnieren, hersenen en testikels. Tijdens de studie zullen de patiënten met lichaamseigen gg-stamcellen worden behandeld die een goedwerkende variant van het *ABCD1* gen tot expressie brengen.

Onlangs heeft de COGEM advies uitgebracht over een generieke milieurisicobeoordeling voor klinische studies met *ex vivo* genetisch gemodificeerde cellen. De nu ter beoordeling voorliggende klinische studie met *ex vivo* lentiviraal getransduceerde cellen lijkt niet te voldoen aan twee criteria die aan de generieke milieurisicobeoordeling gesteld zijn (de kans op de vorming van replicatiecompetent lentivirus (RCL) tijdens de productie van de vector, en de aanwezigheid van vrije vector-deeltjes in het medisch product (de gg-cellen)). Hierdoor kan deze generieke beoordeling niet worden toegepast.

Met betrekking tot de eerste voorwaarde acht de COGEM op basis van de aangeleverde gegevens de kans verwaarloosbaar klein dat de vectorbatches RCL bevatten. Met betrekking tot de tweede voorwaarde kan de COGEM niet uitsluiten dat het medisch product vrije infectieuze vectordeeltjes bevat. Zij acht het milieurisico van deze deeltjes echter verwaarloosbaar klein gezien de samenstelling van de vector en het onschadelijke karakter van het transgen. De COGEM is daarom van oordeel dat de milieurisico's verbonden aan deze klinische studie 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, Hoofd Bureau ggo  
                  Mr. J.K.B.H. Kwisthout, Ministerie van IenW  
                  Dr. D. Horst, Loket Genterapie  
                  Dr. C. de Heer, Centrale Commissie Mensgebonden Onderzoek  
                  Mr. N. Gušić, Ministerie van VWS

# Klinische studie met lentiviraal getransduceerde CD34+ cellen ter behandeling van cerebrale adrenoleukodystrofie (CALD)

## COGEM advies CGM/191114-01

### 1. Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over een vergunningaanvraag van het Prinses Máxima Centrum te Utrecht (IM-MV 19-006). Het betreft een klinische fase 3 studie getiteld 'Clinical testing of Lenti-D Drug Product, an autologous CD34+ cell-enriched population that contains cells transduced with lentiviral vector (LVV) that encodes an ABCD1 complementary DNA (cDNA) for human adrenoleucodystrophy protein (ALDP)'.

De klinische studie heeft als doel de veiligheid en werkzaamheid van een genterapeutisch middel ter behandeling van cerebrale adrenoleukodystrofie (CALD) te onderzoeken. CALD is een zeldzame stofwisselingsziekte die wordt gekenmerkt door een defect in het *ABCD1*-gen. Hierdoor wordt geen (goed functionerend) adrenoleukodystrofie proteïne (ALDP) aangemaakt, waardoor in de cel aanwezige 'zeer-lange-vetzuurketens' niet worden afgebroken. Dit leidt onder meer tot schade aan de hersenen, bijnieren en testikels. CALD is een erfelijke afwijking die op het X-chromosoom gelegen is en voornamelijk bij mannen (jongens) voorkomt.

Tijdens de studie worden CD34+ hematopoïetische stamcellen uit de patiënt geïsoleerd en *ex vivo* getransduceerd met een zelf-inactiverende (SIN) lentivirale vector afgeleid van het Human immunodeficiency virus 1 (HIV-1). De vector (Lenti-D LVV) brengt goed functionerend humaan ALDP tot expressie, en is gepseudotyperd met het glycoproteïne van het Vesicular stomatitis Indiana virus (VSV-G). Na transductie worden de genetisch gemodificeerde (gg-) cellen (medisch product Lenti-D) weer teruggebracht in de patiënt.

Onlangs heeft de COGEM advies uitgebracht over een generieke milieurisicobeoordeling voor klinische studies met *ex vivo* getransduceerde cellen.<sup>1</sup> De nu ter beoordeling voorliggende klinische studie met lentiviraal getransduceerde cellen voldoet niet aan de volgende twee criteria van de generieke milieurisicobeoordeling:

- de lentivirale vector is geproduceerd met behulp van een 3e generatie productiesysteem,
- er zijn geen vrije infectieuze vectordeeltjes aanwezig in het medisch product.

Het onderhavige advies zal alleen ingaan op de milieurisicobeoordeling van deze twee aspecten.

### 2. Eerder COGEM advies

In juli dit jaar heeft de COGEM geadviseerd over de generieke milieurisicobeoordeling van klinische studies met *ex vivo* retro- en lentiviraal getransduceerde cellen met als doel de vergunning-

verleningsprocedure voor dit type studies te vereenvoudigen.<sup>1</sup> Deze generieke milieुरisicobeoordeling is van toepassing op klinische studies waarbij:

- gebruik wordt gemaakt van een SIN vector afgeleid van HIV-1, welke is gepseudotyperd met VSV-G en geproduceerd met behulp van een 3e generatie productiesysteem,
- het in de vector gebrachte transgen niet codeert voor sequenties die in staat zijn de replicatiedeficiënte lentivirale vector te complementeren,
- een afdoende moleculaire karakterisering van de vector heeft plaatsgevonden,
- geen vrije infectieuze vectordeeltjes in het terug te plaatsen medische product aanwezig zijn,
- het medische product autologe cellen betreft, maar geen macrofagen,
- HIV-1 en HIV-2 (sero)positieve patiënten van de studie uitgesloten worden.

Met betrekking tot het eerste punt (de productie van de lentivirale vector) heeft de COGEM gesteld dat het bij 3e generatie productiesystemen uitgesloten is dat er in vectorbatches of 'end of production' (EOP) cellen replicatie competent lentivirus (RCL) aanwezig is. Zij acht het daarom bij dit type productiesystemen niet noodzakelijk dat de EOP cellen of vectorbatches getest worden op RCL.

### 3. Productie en samenstelling van vector Lenti-D LVV

De productie van Lenti-D LVV vindt plaats in de Verenigde Staten onder 'Good Manufacturing Procedures' (GMP). Er wordt gebruik gemaakt van een op HIV-1 gebaseerd 'split-packaging' systeem met vijf plasmiden waarmee contransfectie plaatsvindt van HEK 293T cellen. De *vpr*, *vpu*, *nef* en *env* genen van HIV-1 zijn niet in het systeem aanwezig.

Het transfervectorplasmide codeert voor het vectorgenoom. Helperplasmide 1 brengt de HIV-1 *gag*, *pol* en *vif* genen tot expressie. Helperplasmide 2 brengt exon 1 van het HIV-1 *tat* gen tot expressie. Helperplasmide 3 brengt het HIV-1 *rev* gen tot expressie. Helperplasmide 4 brengt het VSV-G tot expressie.

Het provirale genoom in de transfervectorplasmide bevat aan weerszijden de 'long terminal Repeats' (LTR's) van HIV-1, waarbij een groot deel van de U3 regio in de 3'LTR is verwijderd (een zogenaamd SIN-construct). Als extra veiligheidsmaatregel zijn in de *gag* regio van het packaging signaal twee stopcodons ingebouwd om te voorkomen dat deze regio tot een eiwit wordt vertaald. Daarnaast omvat het provirale genoom de sequentie van het transgen (*ABCD1*-gen), 'splice donor' en 'acceptor sites', een 'extended packaging' signaal, het zogenaamde 'rev response element' (RRE), en de 'central polypurine tract' (cPPT). Het transgen staat onder de controle van de 'myeloproliferative sarcoma virus enhancer, negative control region deleted, dl587rev primer binding site substituted U3 promoter' (MNDU3 promoter).

Het uiteindelijke gg-virus bestaat uit SIN lentivirale vectordeeltjes gepseudotyperd met VSV-G. Het vectorgenoom bestaat voor ~25% uit HIV-1 sequenties, maar deze coderen niet voor eiwitten.

Na productie wordt de ruwe vectorbatch gezuiverd en de concentratie vectordeeltjes aan de hand van de transductie van humane osteosarcoma (HOS) cellen met behulp van een qPCR vastgesteld. De qPCR detecteert het packaging signaal ('PsiGag') van de vector.

Ten minste 5% van het kweksupernatant van elke batch EOP cellen, én 1% van de totale hoeveelheid EOP cellen dan wel  $10^8$  gepoolde vector producerende cellen, worden met behulp van een gevalideerde assay op de aanwezigheid van RCL gecontroleerd. De aanvrager geeft aan dat hier de 'Guidance for Industry' voor gentherapie producten wordt gevolgd, die door de Amerikaanse 'Food and Drug Administration' (FDA) is opgesteld.<sup>2</sup> Daartoe worden de EOP cellen en het kweksupernatant op een niet-hechtende humane permissieve cellijn (C8166 T cellen) gekweekt, en worden kweksupernatanten minimaal vijf keer gepasseerd.<sup>2</sup> Vervolgens wordt het supernatant van de laatste kweekstap aan de hand van een 'quantitative product enhanced reverse transcriptase' (Q-PERT) assay geanalyseerd. Deze assay kwantificeert de hoeveelheid reverse transcriptase activiteit en heeft een detectielimiet van één TCID<sub>50</sub> (50% 'tissue culture infective dose') per kweekfles. De aanvrager geeft aan dat alleen de 'vector lots' waarvan het supernatant én de EOP cellen geen detecteerbare hoeveelheid RCL bevatten, in aanmerking komen voor de transductie van patiëntencellen. Hij stelt dat tot op heden nog nooit RCL in de EOP cellen of het kweksupernatant is aangetoond.

Van de vector wordt de genomsequentie bepaald door *in vitro* cellen met het gg-virus te transduceren en het provirale DNA te sequencen. Alleen vectorbatches die een proviraal genoom genereren dat voor 100% gelijk is aan de beoogde sequentie, worden voor de bereiding van Lenti-D vrijgegeven. Het uiteindelijke virusdeeltje bestaat uit een SIN replicatie-deficiënte lentivirale vector gepseudotyperd met VSV-G.

#### **4. Bereiding van Lenti-D (gg-stamcellen)**

Uit het bloed van patiënten (maximaal 6 patiënten van het mannelijk geslacht en  $\leq 17$  jaar) worden na mobilisatie uit het beenmerg, 'peripheral blood mononuclear cells' (PBMC's) geïsoleerd en de fractie CD34+ cellen geselecteerd. Voor het bereiden van de gg-stamcellen worden maximaal  $1,26 \times 10^9$  CD34+ patiëntencellen met maximaal 50 Lenti-D LVV deeltjes per cel getransduceerd. Dit komt overeen met een maximum aantal van  $6,3 \times 10^{10}$  vectordeeltjes per transductie. Na één dag kweken worden de cellen vier keer gewassen. De bereiding van Lenti-D vindt plaats in Duitsland. Na de bereiding worden de gg-cellen naar Nederland verscheept.

#### **5. Klinische studie in het kort**

Via intraveneuze infusie wordt Lenti-D (de getransduceerde cellen) in de patiënt teruggebracht (autologe transplantatie). Het maximale volume bedraagt 80 mL met een maximum aantal cellen van  $140 \times 10^6$  CD34+cellen/kg. Tijdens de toediening zullen betrokken medewerkers standaard veiligheidsmaatregelen in acht nemen, en wegwerphandschoenen en -schort dragen. Zes, 12, 18 en 24 maanden na toediening, of zodra een patiënt eerder met de studie stopt, zullen de patiënten gemonitord worden op het optreden van insertionele mutagenese. Drie en zes maanden na toediening zullen de patiënten gescreend worden op de aanwezigheid van RCL in bloed door middel van een gevalideerde qPCR op het VSV-G gen.<sup>3</sup> Indien deze assay positief uitvalt, zullen PBMC's en perifere T-cellen op de aanwezigheid van RCL worden gecontroleerd door middel van een co-culture assay op een permissieve cellijn.<sup>4</sup>

Patiënten met een bewezen HIV-1, HIV-2, hepatitis B, hepatitis C of HTLV-1 infectie, of enig andere aperte bacteriële, virale, parasitaire, schimmel of prion geassocieerde infectie, zullen van de studie worden uitgesloten. Tevens zullen patiënten levenslang af moeten zien van het doneren van bloed, cellen, organen of weefsels, en dienen patiënten tot 6 maanden na toediening van de de gg-cellen gebruik te maken van anticonceptiemiddelen.

## 6. Overwegingen

Bij de voorliggende studie wil de aanvrager gg-cellen toedienen aan patiënten met CALD. Daartoe worden voorafgaand aan de infusie autologe cellen getransduceerd met de SIN lentivirale VSV-G gepseudotyperde vector Lenti-D LVV. Mogelijke risico's die hierbij kunnen optreden, hebben betrekking op 1) de eventuele vorming van RCL tijdens de productie van de vector en 2) de aanwezigheid van vrije vectordeeltjes in het medisch product.

### 6.1 De kans op vorming van RCL tijdens productie van Lenti-D LVV

Het genoom van Lenti-D LVV bevat het *ABCD1* gen dat codeert voor goed functionerend lichaamseigen ALDP. Daarnaast bevat het vectorgenoom 25% aan HIV-1 sequenties. Deze coderen niet voor eiwitten. De COGEM is van oordeel dat vector Lenti-D LVV replicatiedeficiënt is omdat het genoom geen functioneel HIV-eiwit tot expressie brengt en daardoor niet in staat is zich te vermenigvuldigen.

Tijdens de productie van lentivirale vectoren zou door middel van recombinatie tussen de verschillende benodigde plasmiden RCL kunnen ontstaan. Ook zou er door middel van recombinatie met endogene retrovirussequenties die in het genoom van de gebruikte cellijn aanwezig zijn RCL kunnen ontstaan. In het productiesysteem zijn de sequenties die nodig zijn voor productie van de lentivirale vector verdeeld over vijf verschillende plasmiden. In lentivirale productiesystemen van de derde generatie ontbreken de vier niet-essentiële accessoire genen *vif*, *vpr*, *vpu* en *nef* en het regulatoire *tat* gen van HIV-1.<sup>6</sup> Op dit punt wijkt het systeem uit de onderhavige aanvraag af, omdat het *vif* gen van HIV-1 aanwezig is in helperplasmide 1 (Gag/Pol helperplasmide), en helperplasmide 2 exon 1 van het HIV-1 *tat* gen tot expressie brengt.

Het *vif* gen codeert voor de 'Viral infectivity factor' (Vif). Vif is essentieel voor de infectiviteit van HIV-1, mede omdat het de aangeboren antivirale immuunrespons onderdrukt.<sup>5</sup> Het *tat* gen codeert voor de 'Trans-activator of transcription' (Tat). Tat speelt een belangrijke rol in de regulatie van de synthese van het HIV mRNA in de cel, door vanaf de LTR van het provirale genoom de efficiëntie van de transcriptie te verhogen.<sup>5</sup>

De aanvrager geeft aan dat de verschillende plasmiden met betrekking tot van HIV afkomstige sequenties op vijf verschillende plekken overlappen. Er is overlap tussen de transvectorplasmide en helperplasmide 1 (ter plekke van het *gag* gen, de cPPT, en het RRE), de transvectorplasmide en helperplasmide 3 (de splice acceptor regio), en helperplasmide 2 en helperplasmide 3 (*tat* gen-fragmenten). De aanvrager is van mening dat de mate van overlap gering is (variërend van ~100 tot ~500 bp), waardoor de kans op het ontstaan van RCL ten gevolge van recombinatie erg laag is.

Als extra veiligheidsmaatregel controleert de aanvrager de vectorbatches op de afwezigheid van RCL door deze volgens de richtlijn van de FDA te testen. Hij stelt dat er tot op heden nog nooit RCL is aangetoond.

De COGEM merkt op dat de kans op het ontstaan van RCL tijdens de productie van de virale vector afhankelijk is van het aantal recombinatie 'events' dat nodig is om een replicatiecompetent vectordeeltje te construeren. Bij het productiesysteem uit de onderhavige aanvraag moeten minimaal vier recombinatiegebeurtenissen plaatsvinden, wat de kans op het ontstaan van RCL sterk reduceert. Verder merkt de COGEM op dat, voordat er RCL kan ontstaan, de ontbrekende HIV genen weer in het genoom van de vector opgenomen zouden moeten worden en de LTR van het SIN-construct gerepareerd zou moeten worden. Zij wijst er op dat van elke vectorbatch de genoomsequentie wordt bepaald, en dat alleen vectorbatches waarvan de genoomsequentie 100% identiek is aan de beoogde sequentie, worden vrijgegeven voor de bereiding van Lenti-D (de gg-cellen).

Tot slot is de COGEM van oordeel dat de door de vergunningaanvrager gebruikte RCL test, die volgens de door de FDA opgestelde richtlijn is uitgevoerd, voldoet om de afwezigheid van RCL op afdoende wijze vast te kunnen stellen.

Alle punten in overweging nemende, acht de COGEM de kans verwaarloosbaar klein dat Lenti-D LVV vectorbatches, die gebruikt worden voor de bereiding van Lenti-D, RCL zullen bevatten.

### **6.2 De aanwezigheid van vrije vectordeeltjes in Lenti-D**

Ter controle heeft de aanvrager met behulp van een biologische assay indirect de hoeveelheid vrije Lenti-D LVV deeltjes in twee batches gg-cellen bepaald. Daartoe heeft hij na transductie het aantal vrije vectordeeltjes in de bovenstaande kweekvloeistof van de getransduceerde cellen en in de wasvloeistof na elke wasstap, gemeten. Deze meting wordt gedaan door HOS cellen met het kweeksupernatant of de wasvloeistof te transduceren. Na transductie wordt met behulp van een qPCR (dezelfde qPCR die gebruikt wordt om de vectorbatchconcentraties te bepalen, zie §3) gemeten of er proviraal DNA in de cellen aanwezig is. Deze assay heeft een detectielimiet van  $4,2 \times 10^6$  transducing units (TU)/mL. De aanvrager geeft aan dat bij geen van de batches Lenti-D vrije vectordeeltjes in kweeksupernatant of wasvloeistof is aangetoond. Op grond hiervan concludeert de aanvrager dat er 'geen detecteerbare hoeveelheden' vrij Lenti-D LVV in het medisch product aanwezig zullen zijn.

De COGEM is er een voorstander van dat aanvragers experimenteel onderzoeken of er vrije vectordeeltjes in *ex vivo* getransduceerde celsuspensies aanwezig zijn. Zij merkt echter op dat aan de hand van de in de vergunningaanvraag gegeven detectielimiet van de toegepaste assay, niet herleid kan worden hoeveel vrije vectordeeltjes er nog in Lenti-D aanwezig zijn. Indien de totale hoeveelheid kweeksupernatant en het geanalyseerde testvolume bekend zou zijn gemaakt, had berekend kunnen worden wat na transductie de totale hoeveelheid resterende vrije vectordeeltjes was. Aan de hand van het aantal wasstappen had vervolgens, indien de hoeveelheid wasvloeistof bekend is, berekend kunnen worden met welke verdunningsfactor het aantal vrije vectordeeltjes door het wassen wordt gereduceerd.

Omdat deze gegevens ontbreken, kan nu geen inschatting van de hoeveelheid vrije vectordeeltjes in Lenti-D gemaakt worden.

De aanvrager heeft ook theoretisch benaderd hoeveel vrije vectordeeltjes in Lenti-D aanwezig zijn door deze aan de hand van de COGEM formule<sup>6</sup> te berekenen. Er van uitgaande dat de halfwaardetijd van VSV-G gepseudotyperde lentivirale vectoren 10 uur bedraagt, wordt er, wanneer alle gegevens in de formule worden verwerkt, een reductieratio van 0,00001346 gerealiseerd. Dit komt overeen met 74.292 vrije vectordeeltjes in de totale batch Lenti-D.

De COGEM is van oordeel dat de aanvrager de formule op correcte wijze heeft toegepast en concludeert dat er in de gg-celsuspensie vrije Lenti-D LVV deeltjes aanwezig kunnen zijn.

De aanvrager stelt dat, als de patiënt of derden eventueel aan vrije Lenti-D LVV deeltjes worden blootgesteld, dit geen nadelige effecten heeft omdat het een SIN replicatiedeficiënte lentivirale vector betreft. Aanvullend geeft hij aan dat tot op heden analyses van klinische monsters van patiënten die het Lenti-D toegediend hebben gekregen, geen insertionele mutagenese hebben laten zien.

De COGEM merkt op dat door bijvoorbeeld prikaccidenten derden direct aan vrije vectordeeltjes kan blootgesteld kunnen worden, zoals tijdens de toediening van het medische product of bij monsterafnames. Bij prikincidenten tijdens monsterafname zullen echter beduidend minder vrije vectordeeltjes overgedragen worden omdat hierin minder vrije vectordeeltjes aanwezig zullen zijn dan in medisch product Lenti-D.

De vrije vectordeeltjes zouden ook na de toediening van Lenti-D door de patiënt uitgescheiden kunnen worden. Echter, de kans op uitscheiding is klein vanwege de halfwaardetijd van de deeltjes en vanwege het feit dat VSV-G gepseudotyperde vectordeeltjes door het complementsysteem geïnactiveerd kunnen worden.<sup>7,8</sup> Voor zover bij de COGEM bekend, is er tot nu toe geen melding gemaakt dat er bij klinische studies met *ex vivo* lentiviraal getransduceerde cellen, vectordeeltjes worden uitgescheiden nadat de gg-cellen aan de patiënt zijn teruggegeven. Uitscheiding kan echter niet helemaal uitgesloten worden, en hierdoor zouden derden onbedoeld aan vrije Lenti-D LVV deeltjes kunnen worden blootgesteld en door deze deeltjes kunnen worden geïnfecteerd.

De COGEM merkt op dat, als derden met Lenti-D LVV worden besmet, de hoeveelheid vectordeeltjes in het lichaam om dezelfde redenen als hierboven genoemd (halfwaardetijd en inactivatie door het complementsysteem) zal afnemen. Indien ten gevolge van de besmetting transductie van lichaamscellen optreedt, hoeft dit niet gepaard te gaan met negatieve effecten. Ten eerste zijn de Lenti-D LVV deeltjes replicatiedeficiënt, en kunnen ze maar één keer in het genoom integreren en zich niet verder verspreiden. Tevens is het risico op insertionele mutagenese verwaarloosbaar klein door de aanwezigheid van de deletie in het U3 domein van de 3'-LTR van het vectorgenoom (SIN-construct).

De laatste jaren zijn er veel klinische studies uitgevoerd met lentivirale vector getransduceerde T-cellen en CD34+ hematopoïetische stamcellen.<sup>9</sup> Hierbij zijn er voor zover bekend nooit nadelige effecten ten gevolge van de aanwezigheid van lentivirale vectordeeltjes, of gevallen van leukemie gerapporteerd.<sup>10,11</sup>



Aanvullend merkt de COGEM op dat het therapeutische doelwit in de onderhavige vergunning-aanvraag de correctie van een slecht functionerend lichaamseigen gen betreft. Wanneer derden door Lenti-D LVV worden geïnfecteerd, acht de COGEM het schadelijk effect ten gevolge van expressie van het transgen verwaarloosbaar klein, omdat dit leidt tot de vorming van een lichaamseigen eiwit.

Alles in overweging nemende, is de COGEM van oordeel dat tijdens de voorgenoemde klinische studie met CALD patiënten, de risico's voor mens en milieu ten gevolge van blootstelling aan vrije Lenti-D LVV deeltjes verwaarloosbaar klein zijn.

### **7. Signalerende opmerking**

Hoewel er geen aanwijzingen zijn dat blootstelling van derden aan de vrije vectordeeltjes negatieve effecten heeft voor de ontvanger, is het mogelijk onwenselijk dat deze hieraan worden blootgesteld. De COGEM wijst daarom op het belang dat er voor, tijdens en na de toediening van het medische product, zorgvuldig gewerkt wordt om de kans op onbedoelde blootstelling te beperken. Zij merkt op dat de aanvrager als aanvullende voorwaarde heeft gesteld dat patiënten tot 6 maanden na toediening van Lenti-D gebruik moeten maken van anticonceptiemiddelen, ten einde eventuele blootstelling van derden aan vrije vectordeeltjes te voorkomen. De COGEM stemt in met deze aanvullende voorwaarde.

### **8. Conclusie en advies**

Onlangs heeft de COGEM advies uitgebracht over een generieke milieurisicobeoordeling voor klinische studies met *ex vivo* getransduceerde cellen.<sup>1</sup> Onder inachtneming van een aantal criteria stemde de COGEM met de voorgelegde milieurisicobeoordeling in. De nu ter beoordeling voorliggende klinische studie met lentiviraal getransduceerde cellen voldoet niet aan twee criteria.

Tijdens de studie worden gg-cellen toegediend die voorzien zijn van een goedwerkend *ABCD1* gen. De eventuele milieurisico's die kunnen optreden, hebben betrekking op de eventuele vorming van RCL tijdens de productie van Lenti-D LVV, en de aanwezigheid van vrije vectordeeltjes in het toe te dienen medisch product (Lenti-D).

Op basis van de aangeleverde informatie acht de COGEM de kans op de aanwezigheid van RCL in de vectorbatch verwaarloosbaar klein. Op grond van het toepassen van de COGEM formule, die een inschatting geeft van het aantal vrije vectordeeltjes, blijkt dat er infectieuze vrije vectordeeltjes in het medische product aanwezig kunnen zijn.

De COGEM acht de kans op blootstelling van derden aan vrije vectordeeltjes bij zorgvuldige toediening van Lenti-D zeer klein. Aangezien de kans op negatieve effecten ten gevolge van insertionele mutagenese bij lentivirale vectoren nooit is aangetoond, de aanwezigheid van vectordeeltjes afneemt door blootstelling aan complementeiwitten en vanwege de halfwaardetijd van de vector, gezien het onschadelijke karakter van het *ABCD1* genproduct, is de COGEM van oordeel dat het milieurisico van blootstelling aan Lenti-D LVV verwaarloosbaar klein is. De COGEM is daarom van oordeel dat de milieurisico's verbonden aan deze klinische studie verwaarloosbaar klein zijn.

## Referenties

1. COGEM (2019). Generieke milieuristicobeoordeling van klinische studies met *ex vivo* retro- en lentiviraal getransduceerde cellen. COGEM advies CGM/190729-01
2. FDA (2006). Guidance for industry. Supplemental guidance on testing for replication competent retrovirus in retroviral vector based gene therapy products and during follow-up of patients in clinical trials using retroviral vectors. <http://academy.gmp-compliance.org/guidemgr/files/RETROGT1000.PDF>
3. 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
4. Cornetta K *et al.* (2011). Replication-competent lentivirus analysis of clinical grade vector products. *Mol. Ther.* 19: 557-566
5. Freed EO & Martin MA (2013). Chapter 49 Human Immunodeficiency Viruses: Replication. In: *Fields Virology* 6th ed.. Edited by: Knipe DM & Howley PM. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia
6. COGEM (2009). Inschaling van laboratoriumwerkzaamheden met lentivirale vectoren. COGEM advies CGM/090331-03
7. 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
8. Higashikawa F & Chang L (2001). Kinetic analyses of stability of simple and complex retroviral vectors. *Virology*. 280: 124-131
9. ClinicalTrials.gov. U.S. National Library of Medicine. <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=&term=CD34%2B%2C+lentiviral&cntry=&state=&city=&dist=> (bezoekt: 11 november 2019)
10. Han EQ *et al.* (2013). Chimeric antigen receptor-engineered T cells for cancer immunotherapy: progress and challenges. *J. Hematol. Oncol.* 6: 47
11. Oldham RA *et al.* (2015). Lentiviral vectors in cancer immunotherapy. *Immunother.* 7: 271-284