

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

**DATUM** 9 januari 2020

**KENMERK** CGM/200109-01

**ONDERWERP** Advies klinische studie met *ex vivo* getransduceerde cellen voor de behandeling van acute lymfoblastische leukemie

Geachte mevrouw Van Nieuwenhuizen,


Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende de vergunningaanvraag IM-MV 19-018\_000 getiteld 'UCART19, human genetically modified allogeneic T lymphocytes for the treatment of relapsed or refractory CD19-positive B-cell acute lymphoblastic leukemia' 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 allogene (lichaamsvreemde) *ex vivo* genetisch gemodificeerde (gg-) T-cellen die zullen worden toegediend aan patiënten met acute lymfoblastische leukemie (ALL). ALL is een vorm van kanker van de witte bloedcellen. Door de aangebrachte modificaties kunnen de gg-T-cellen (UCART19) de leukemiecellen van de patiënt vernietigen.


Onlangs heeft de COGEM advies uitgebracht over een generieke milieurisicobeoordeling voor klinische studies met cellen die *ex vivo* getransduceerd zijn met lenti- of retrovirale vectoren. De nu ter beoordeling voorliggende klinische studie lijkt niet te voldoen aan drie criteria die aan de generieke milieurisicobeoordeling gesteld zijn, waardoor deze niet kan worden toegepast. Het betreffen de moleculaire karakterisering van de gebruikte vector, de mogelijke aanwezigheid van vrije virusdeeltjes in het toe te dienen medische product, en het gebruik van allogene cellen.

Op basis van de aangeleverde informatie is de COGEM van oordeel dat - voor deze vergunningaanvraag - de lentivirale vector die voor de productie van UCART19 gebruikt is, voldoende moleculair is gekarakteriseerd. Zij vindt dat de aanvrager afdoende heeft bewezen dat er geen vrije virusdeeltjes in de toe te dienen gg-T-cellen aanwezig zijn. Tevens acht zij de risico's voor mens en milieu bij toediening van de allogene gg-T-cellen verwaarloosbaar klein omdat, indien derden onbedoeld aan de gg-cellen blootgesteld zouden worden, deze als lichaamsvreemd zullen worden herkend en door het immuunsysteem zullen worden opgeruimd. Samengevat is de COGEM van oordeel dat de risico's voor mens en milieu bij voorgenomen klinische studie met UCART19 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. B. te Riet, Loket Gentherapie  
                  Dr. K.R.J. van Molkot, Centrale Commissie Mensgebonden Onderzoek  
                  Mr. N. Gušić, Ministerie van VWS

# Klinische studie met allogene *ex vivo* lentiviraal getransduceerde T-cellen ter behandeling van acute lymfoblastische leukemie

## COGEM advies CGM/200109-01

### 1. Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over een vergunningaanvraag van het Prinses Máxima Centrum te Utrecht (IM-MV 19-018). Het betreft een klinische studie getiteld 'UCART19, human genetically modified allogeneic T lymphocytes for the treatment of relapsed or refractory CD19-positive B-cell acute lymphoblastic leukemia'. De studie heeft als doel de veiligheid en werkzaamheid van een gentherapeutisch middel ter behandeling van een bepaalde vorm van acute lymfoblastische leukemie (ALL) te onderzoeken. ALL is een kanker van het bloed en beenmerg die vooral bij kinderen voorkomt, en gekenmerkt wordt door een overproductie van onrijpe B- en T-lymfocyten, de zogenoemde lymfoblasten.<sup>1</sup> Bij de voorliggende studie zullen genetisch gemodificeerde (gg-) lichaamsvreemde cellen worden toegediend aan patiënten met 'relapsed or refractory CD19-positive B-cell acute lymphoblastic leukemia' (R/R B-ALL). De cellen zijn *ex vivo* gemodificeerd met een lentivirale vector en een 'transcription activator like effector nuclease' (TALEN<sup>®</sup>).<sup>2</sup>

Onlangs heeft de COGEM advies uitgebracht over een generieke milieurisicobeoordeling voor klinische studies met *ex vivo* getransduceerde cellen.<sup>3</sup> De nu ter beoordeling voorliggende klinische studie met lentiviraal getransduceerde cellen lijkt niet aan alle criteria van deze milieurisicobeoordeling te voldoen. Er zal daarom alleen op deze punten worden ingegaan. Het betreft de volgende drie aspecten:

- de aanvrager heeft geen gegevens overlegd waaruit blijkt dat het genoom van de lentivirale vector moleculair is gekarakteriseerd,
- de methode waarmee is aangetoond dat er geen vrije infectieuze vectordeeltjes in het medisch product aanwezig zijn, berust niet op een gevalideerde assay en niet op een berekening met de COGEM formule,
- bij de therapie wordt geen gebruik gemaakt van autologe, maar allogene gg-cellen.\*

### 2. Eerder COGEM advies

Eerder 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 vergunningverleningsprocedure voor dit type studies te vereenvoudigen.<sup>3,4</sup> Voor zover het lentiviraal getransduceerde cellen betreft, is deze generieke milieurisicobeoordeling van toepassing op klinische studies waarbij:

---

\* In de vergadering van de COGEM subcommissie Medisch Veterinair van 27 november 2019, is bij de bespreking van de voorliggende adviesvraag vastgesteld dat niet alleen autologe, maar ook allogene gg-cellen onder de reikwijdte van de generieke milieurisicobeoordeling<sup>3</sup> vallen.

- gebruik wordt gemaakt van een zelf-inactiverende (SIN) vector afgeleid van HIV-1, welke is 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,
- de plasmiden nodig voor de productie van de vector, alsmede het vectorgenoom moleculair zijn gekarakteriseerd,
- 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 worden uitgesloten.

### 3. Medisch product UCART19 (allogene gg-T-cellen)

Het medisch product UCART19 bestaat uit allogene gg-T-cellen. Na de genetische modificatie zijn vier verschillende eigenschappen van de T-cellen veranderd. De T-cellen zijn afkomstig van gezonde donoren en geïsoleerd uit de fractie met 'peripheral blood mononuclear cells' (PBMC's). De donoren zijn gescreend op - via bloed overdraagbare - pathogenen, zoals HIV-1 en HIV-2.

De T-cellen worden *ex vivo* getransduceerd met een VSV-G gepseudotypeerde SIN lentivirale vector van de 3<sup>e</sup> generatie, die is afgeleid van HIV-1. Deze vector is geproduceerd door middel van cotransfectie van HEK293T cellen met vier verschillende plasmiden. Per batch gg-cellen, worden maximaal  $4,13 \times 10^9$  infectieuze vectoreenheden (infectious units, IU) gebruikt, met een 'multiplicity of infection' (MOI) van 5. Na transductie brengen de gg-T-cellen een specifieke chimere antigen receptor (CAR) gericht tegen CD19 (CD19CAR) en een gen dat codeert voor een gedeelte van CD20, tot expressie. Door de aangebrachte modificaties herkennen de gg-T-cellen de CD19 positieve leukemicellen van de patiënt (CD19CAR modificatie). Tevens brengen de gg-T-cellen CD20 tot expressie. Door de expressie van CD20 zijn de gg-cellen gevoelig voor behandeling met het geneesmiddel Rituximab, een monoklonaal antilichaam gericht tegen CD20. Indien patiënten na toediening van UCART19 onverhoopt niet goed op de therapie reageren, kunnen de gg-T-cellen met behulp van Rituximab worden vernietigd (zogenoemde 'safety switch').<sup>2</sup>

Na de transductie worden de gg-T-cellen ge-electroporeerd met vier verschillende plasmiden die vier verschillende TALEN mRNA's tot expressie brengen (2 mRNA's per TALEN). Deze modificaties hebben als resultaat dat er in de genen coderend voor de  $\alpha$ -keten van de T-cel receptor (TRAC) en CD52, deleties worden aangebracht. Door de deletie in het TRAC coderende gen is er geen functioneel TRAC meer op het celoppervlak aanwezig en herkennen de donorcellen de patiëntencellen niet meer als lichaamsvreemd. Er zal geen zogenoemde 'graft-versus-host' afstotingsreactie optreden.<sup>2</sup> Door de deletie in het CD52 coderende gen, is er geen compleet CD52 meer op het celoppervlak aanwezig en worden de gg-cellen niet meer door het geneesmiddel Alemtuzumab herkend. Alemtuzumab is een monoklonaal antilichaam gericht tegen CD52, en wordt onder meer als serotherapie bij patiënten met bepaalde vormen van kanker gebruikt. Het middel heeft als bijkomend effect dat het immuunsysteem vanwege 'lymfodepletie' tijdelijk wordt stilgelegd. Indien op de gg-donorcellen nog CD52 aanwezig zou zijn, zouden deze door het circulerende Alemtuzumab vernietigd worden.<sup>2</sup>

De aanvrager geeft aan dat vanaf het moment dat de transductie start, het productieproces (kweektijd, wasstappen en zuivering) 15 dagen duurt. Vervolgens worden de cellen tot aan gebruik ingevroren bewaard. De productie van de gg-T-cellen vindt plaats in het buitenland en maakt geen deel uit van de voorliggende vergunningaanvraag.

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

Er zullen maximaal 30 patiënten met R/R B-ALL worden behandeld. Patiënt en donor zullen vooraf niet worden 'gematcht'. Ten einde te voorkomen dat de patiënt de gg-T-donorcellen als lichaamsvreemd herkent, zal deze voorafgaand aan de studie met immuunsuppressiva behandeld worden (bijvoorbeeld met Alemtuzumab), waardoor het immuunsysteem wordt stilgelegd en onder meer lymfodepletie optreedt. Vervolgens wordt UCART19 (de gg-T-cellen) via een intraveneus infuus aan de patiënt toegediend (maximaal drie keer een dosis). Tijdens de toediening zullen de betrokken medewerkers standaard veiligheidsmaatregelen in acht nemen, en een veiligheidsbril, mondkapje, wegwerpschort en wegwerphandschoenen dragen. De patiënten zullen levenslang af moeten zien van het doneren van bloed, cellen, organen of weefsels. Zwangere vrouwen of vrouwen die borstvoeding geven, worden van de studie uitgesloten.

#### **5. Overwegingen**

##### ***5.1 Moleculaire karakterisering van de lentivirale vector***

De aanvrager geeft aan dat van alle plasmiden, die voor de genetische modificatie van de T-cellen zijn gebruikt, de volledige nucleotidenvolgorde is bepaald. De te integreren sequentie van de lentivirale vector in het transferplasmide is met de beoogde sequentie vergeleken. De aanvrager stelt dat er geen verschillen zijn waargenomen en acht de lentivirale vector afdoende moleculair gekarakteriseerd.

De COGEM merkt op dat de aanvrager geen gegevens heeft overlegd die bevestigen dat de nucleotidensequentie van het genoom van het vectordeeltje overeenkomt met de beoogde sequentie, bijvoorbeeld aan de hand van een sequentie-analyse van het geïntegreerde provirale vectorgenoom na transductie van een referentieceldlijn. Zij acht een dergelijke sequentie-analyse van belang, zodat geverifieerd kan worden of het beoogde vectorgenoom geen relevante veranderingen bevat die van invloed zijn op de uitkomst van de milieurisicobeoordeling. Echter, zij stemt er bij de voorliggende vergunningaanvraag mee in dat, vanwege de aard van de vector en de samenstelling van de gebruikte plasmiden, alleen de sequenties van de plasmiden in kaart zijn gebracht. Samengevat is de COGEM van oordeel dat - voor *deze* vergunningaanvraag - de lentivirale vector afdoende moleculair is gekarakteriseerd.

##### ***5.2 De aanwezigheid van vrije lentivirale vectordeeltjes in UCART19***

De COGEM is er een voorstander van dat aanvragers experimenteel onderzoeken of er vrije vectordeeltjes in *ex vivo* getransduceerde celsuspensies aanwezig zijn. Zij is van mening dat, als er geen gevalideerde test is aangeleverd, een theoretische benadering van de hoeveelheid vrije deeltjes aan de hand van een berekening inzicht geeft in de waarschijnlijkheid dat er nog vrije deeltjes aanwezig zijn, bijvoorbeeld door het gebruik van de COGEM formule.<sup>3</sup>

De aanvrager laat aan de hand van een berekening zien dat door het uitvoeren van wasstappen en het vervangen van kweekmedium, de totale verdunningsfactor van de vrije vectordeeltjes na de transductie  $1,89 \times 10^{13}$  bedraagt. Aangezien bij het starten van de transductie de concentratie van het aantal infectieuze vectordeeltjes  $1,00 \times 10^7$  IU/mL is, zal dit na het toepassen van de verdunningsfactor leiden tot een eindconcentratie van  $1,89 \times 10^{-6}$  IU/mL. Op grond van deze berekening stelt de aanvrager dat de kans verwaarloosbaar klein is dat er nog vrije vectordeeltjes in UCART19 aanwezig zijn.

De COGEM merkt op dat bij de voorliggende klinische studie het aantal vectordeeltjes in de praktijk waarschijnlijk nog lager zal zijn dan door de aanvrager is berekend. Gedurende het productieproces (15 dagen) zal ook natuurlijk verval van de vectordeeltjes optreden. Daarnaast zal een gedeelte van de vectordeeltjes door de cellen opgenomen worden, waardoor het totale aantal resterende vrije vectordeeltjes nog verder gereduceerd is. Wel plaatst zij de kanttekening dat de aanvrager niet inzichtelijk heeft gemaakt hoe de parameters, die voor het berekenen van de verdunningsfactor worden gebruikt, zijn verkregen. Ook heeft hij niet beschreven met welke methode het aantal infectieuze vectordeeltjes, en daarmee de MOI van 5, is bepaald. Echter, er van uitgaande dat de MOI op de juiste wijze is vastgesteld, en de wasstappen, het natuurlijk verval van de vectordeeltjes, en de reductie van het totale aantal vrije vectordeeltjes door opname in de cellen in overweging nemende, acht de COGEM de kans verwaarloosbaar klein dat in medisch product UCART19 vrije infectieuze lentivirale vectordeeltjes aanwezig zijn.

### **5.3 Het gebruik van allogene cellen**

UCART19 bestaat uit allogene gg-T-cellen afkomstig van gezonde donoren. Deze donorcellen zijn gecontroleerd op de afwezigheid van HIV. Ook worden HIV-patiënten van de studie uitgesloten. De COGEM acht daarom de kans verwaarloosbaar klein dat het provirale genoom uit de gg-cellen gemobiliseerd kan worden en zich als recombinant virus zou kunnen verspreiden.

Het risico voor mens en milieu is verwaarloosbaar klein als de gg-T-cellen buiten het lichaam terecht komen, omdat T-cellen zich niet buiten het lichaam in het milieu kunnen handhaven. Dit is onafhankelijk van de aangebrachte genetische modificatie, en onafhankelijk van de aard van de donorcel (autoloog of allogeen). Het milieurisico bij eventuele overdracht van gg-cellen naar derden, bijvoorbeeld bij prikaccidenten, acht de COGEM eveneens verwaarloosbaar klein, omdat het afweersysteem van de ontvanger de gg-cellen als lichaamsvreemd zal herkennen en zal opruimen.

De COGEM merkt verder op dat de lymfodepletie bij de patiënt zal worden opgeheven, als de behandeling met immuunsuppressiva wordt afgebouwd. Dit heeft als gevolg dat het immuunsysteem weer op gang zal komen, en de allogene gg-T-cellen als lichaamsvreemd zal herkennen en opruimen, waardoor de gg-cellen niet langer in het lichaam zullen persisteren. Alle bovenstaande argumenten in overweging nemende, acht de COGEM het risico voor mens en milieu bij het gebruik van de allogene gg-T-cellen verwaarloosbaar klein.

## **6. Conclusie**

Onlangs heeft de COGEM advies uitgebracht over een generieke milieurisicobeoordeling voor klinische studies met *ex vivo* getransduceerde cellen.<sup>3</sup> Onder inachtneming van een aantal criteria, stemde de COGEM met de ter beoordeling voorgelegde milieurisicobeoordeling in. Klinische studies die voldoen

aan deze milieurisicobeoordeling en de in het advies opgestelde criteria, hoeven niet meer aan de COGEM voor advies te worden voorgelegd. De nu ter beoordeling voorliggende klinische studie lijkt, zoals vermeld op pagina 1, niet te voldoen aan drie criteria van het generieke advies.

Op basis van de aangeleverde informatie is de COGEM van oordeel dat de lentivirale vector gebruikt voor *deze* vergunningaanvraag (de productie van UCART19), afdoende moleculair is gekarakteriseerd. Zij acht de kans verwaarloosbaar klein dat derden aan vrije vectordeeltjes worden blootgesteld. Tevens acht zij de risico's voor mens en milieu bij de toediening van de allogene gg-T-cellen verwaarloosbaar klein, omdat deze buiten het lichaam niet kunnen overleven. Bij onbedoelde blootstelling van derden, zullen de gg-T-cellen als lichaamsvreemd herkend worden en door het immuunsysteem worden vernietigd. Samengevat is de COGEM van oordeel dat de risico's voor mens en milieu bij voorgenomen klinische studie met UCART19 verwaarloosbaar klein zijn.

## Referenties

1. Nederlandse Vereniging voor Hematologie (2017). Acute lymfatische leukemie. [www.hematologienederland.nl/acute-lymfatische-leukemie](http://www.hematologienederland.nl/acute-lymfatische-leukemie) (bezocht: 23 december 2019)
2. Qasim W *et al.* (2017). Molecular remission of infant B-ALL after infusion of universal TALEN gene-edited CAR T cells. *Sci. Transl. Med.* 9. DOI: 101126/scitranslmed.aaj2013
3. COGEM (2019). Generieke milieurisicobeoordeling van klinische studies met *ex vivo* retro- en lentiviraal getransduceerde cellen. COGEM advies CGM/190729-01
4. COGEM (2019). Advies klinische studie gg-T-cellen (GSK3377794) tegen NY-ESO-1 of LAGE1a positieve kankervormen. COGEM advies CGM/190923-01