

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

**DATUM** 10 juli 2020  
**KENMERK** CGM/200710-02  
**ONDERWERP** Advies COVID-19 vaccinatiestudie met Ad26COVS1

Geachte mevrouw Van Nieuwenhuizen,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende de vergunningaanvraag IM-MV 20-007 met de titel 'Clinical trials with Ad26COVS1' van het Leids Universitair Medisch Centrum deelt de COGEM u het volgende mee.


**Samenvatting:**

De COGEM is gevraagd te adviseren over een vergunningaanvraag voor een fase II klinische vaccinatiestudie met een op het adenovirus gebaseerde vector, Ad26COVS1, ter preventie van COVID-19. In Ad26COVS1 is op de plek van de zogenaamde E1-regio een expressiecassette opgenomen met het transgen coderend voor het Spike (S) eiwit van SARS-CoV-2. De productie van de vector vindt plaats in PER.C6 TetR cellen die het E1 afkomstig van HAdV-5 tot expressie brengen.

De COGEM is van oordeel dat de virale vector Ad26COVS1 door de deleties in de E1- en E3-regio's geattenuëerd is en niet in staat is zich in het milieu te verspreiden. Eveneens is de COGEM van oordeel dat het ingebouwde transgen geen verhogend effect heeft op de pathogeniteit en het verspreidingspotentieel van de vector.

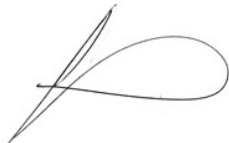
De COGEM concludeert dat de kans op de aanwezigheid van zogenoemd replicatiecompetent adenovirus (RCA) in het medische eindproduct verwaarloosbaar klein is, gezien de afwezigheid van sequentieovereenkomst tussen het vectorgenoom van Ad26COVS1 en de productiecellen, en doordat een RCA-test onderdeel uitmaakt van het productieproces. Eveneens acht de COGEM de kans op blootstelling aan de vector en verspreiding naar derden verwaarloosbaar klein.

Alles overwegende is de COGEM van oordeel dat het milieurisico van de klinische studie met Ad26COVS1 verwaarloosbaar klein is.



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
  - Ministerie van IenW, Directie Omgevingsveiligheid en Milieurisico's  
DG Milieu en Internationaal
  - Dr. M. Gielkens, Loket Gentherapie
  - Dr. K.R.J. Vanmolkot, Centrale Commissie Mensgebonden Onderzoek
  - Mr. N. Gušić, Ministerie van VWS

*Met het oog op eventuele belangenverstrengeling zijn de COGEM leden dr. M.C.W. Feltkamp en prof. dr. R. C. Hoeven niet betrokken geweest bij de besluitvorming over dit advies*

# Klinische studie met een adenovirale vector (Ad26COVS1) ter preventie van COVID-19

## COGEM advies CGM/200710-02

### 1. Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over een vergunningaanvraag van het Leids Universiteit Medisch Centrum (LUMC) voor een fase II klinische studie met een op adenovirus gebaseerde vector van Janssen Vaccines & Prevention (IM-MV 20-007). Het gaat om een vaccinatiestudie met Ad26COVS1 ter preventie van COVID-19, die in vier centra in Nederland zal worden uitgevoerd. Deze studie valt onder de spoedregeling met een verkorte vergunningsprocedure voor genterapie<sup>a</sup> gericht op de bestrijding van COVID-19. Dit betekent eveneens dat de adviestermijn van de COGEM over deze vergunningaanvraag korter was dan gebruikelijk.

#### 1.1 De Ad26COVS1 vector

Ad26COVS1 is gebaseerd op humaan adenovirus type 26 (HAdV-26). Dit virus behoort tot de soort *Human Mastadenovirus D*, genus *Mastadenovirus* en de familie *Adenoviridae*.<sup>1</sup> Adenovirussen hebben een lineair dubbelstrengs DNA genoom dat omgeven is door een eiwitmantel. Replicatie en assemblage van deze virussen vindt plaats in de celkern van de gastheercel.<sup>2</sup> HAdV-26 kan bij zijn natuurlijke gastheer (de mens), gastro-intestinale infecties en conjunctivitis veroorzaken, maar het virus is ook uit asymptomatische individuen geïsoleerd.<sup>3,4</sup> Na het doormaken van een infectie, kunnen adenovirussen in de vorm van inert DNA episomaal en latent in weefsels aanwezig blijven.<sup>2,5</sup> Adenovirussen integreren niet in het gastheergenoom.<sup>6</sup>

Het Ad26COVS1 vaccin is een zogenaamde ‘eerste type’ AdV vector met een deletie in de ‘Early region’ E1. Op de plek van de E1-deletie is een expressiecassette opgenomen met het transgen coderend voor het Spike (S) eiwit van SARS-CoV-2, het virus dat COVID-19 veroorzaakt. Verder bevat de vector een gedeeltelijke deletie in de E3 regio en is het ‘E4 open reading frame (ORF) 6’ (E4orf6) vervangen door het E4orf6 afkomstig van humaan adenovirus type 5 (HAdV-5). De productie van de vector vindt plaats in PER.C6 TetR cellen die het E1 afkomstig van HAdV-5 tot expressie brengen.

De expressiecassette is opgebouwd uit een veelgebruikte humane virale promoter, een synthetisch gen afgeleid van de sequentie van het S-gen van SARS-CoV-2 en een polyA-sigitaal van virale afkomst. Een gedetailleerde beschrijving van de expressiecassette van Ad26COVS1 en de PER.C6 TetR cellijn is aan de COGEM beschikbaar gesteld als bedrijfsvertrouwelijke informatie en zal hier daarom niet verder toegelicht worden.

---

<sup>a</sup> Op 28 maart 2020 is in Nederland een versnelde procedure in werking getreden voor het verlenen van vergunningen voor klinische testen met therapeutica of vaccins, gericht op het bestrijden van COVID-19. Hierbij wordt een beslistermijn gehanteerd van maximaal 28 dagen. Kenmerk IENW/BSK-2020/57427

Met de toediening van het Ad26COVS1 wordt beoogd een immuunrespons op te wekken tegen het S-eiwit, met als gewenste uitkomst bescherming tegen het SARS-CoV-2 virus. Het vaccin bevat per dosis  $1 \times 10^{11}$  virusdeeltjes ('viral particles'; VP) en wordt in maximaal 3 doses intramusculair toegediend aan gezonde volwassen proefpersonen. De fase 2 klinische studie zal in vier centra in Nederland worden uitgevoerd.

## **2. Eerdere COGEM adviezen**

De COGEM heeft alle adenovirussen, waaronder HAdV-26, ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2.<sup>7</sup> De COGEM heeft meerdere keren geadviseerd over klinische studies met replicatie-deficiënte en conditioneel replicerende adenovirale vectoren.<sup>8,9,10,11,12</sup>

Eind 2019 heeft de COGEM een vertrouwelijk advies uitgebracht over de markttoelating van Ad26.ZEBOV voor vaccinatie tegen Ebola. Deze vector is eveneens vervaardigd door Janssen Vaccines & Prevention en is net als de vector Ad26COVS1 gebaseerd op HAdV-26. In de Ad26.ZEBOV vector is een expressiecassette geïnsereerd dat het glycoproteïne (GP)-eiwit van Zaire ebolavirus (EBOV) tot expressie brengt. De productie van Ad26.ZEBOV vindt plaats op PER.C6 cellen.<sup>13</sup> Op basis van aangeleverde gegevens achtte de COGEM de risico's voor mens en milieu van het op de markt brengen van Ad26.ZEBOV verwaarloosbaar klein. Eerder deze maand is dit vaccin toegelaten in de EU.<sup>14</sup>

## **3. Overweging en advies**

Voor de milieurisicobeoordeling van Ad26COVS1 zijn de hieronder puntsgewijs behandelde aspecten van belang.

### **3.1 Pathogeniteit**

Het vaccin Ad26COVS1 is replicatie-deficiënt door een deletie die aangebracht is in de E1 regio van het Ad26 vectorgenoom. Daarnaast leidt de gedeeltelijke deletie in de E3 regio tot verdere attenuatie van Ad26COVS1.<sup>15</sup> Op de positie van de E1-deletie is een expressie-cassette ingebouwd, van waar het S-eiwit van SARS-CoV-2 tot expressie gebracht wordt. De aanvrager stelt dat het geïnsereerde transgen van SARS-CoV-2 niet codeert voor een schadelijk genproduct en ook niet in staat is de replicatie-deficiënte eigenschap van de vector te complementeren. Daarnaast wordt het S-eiwit niet ingebouwd in het capsid van de vector, omdat het een membraan-geassocieerd eiwit betreft, en adenovirussen geen virale envelop bevatten. Volgens de aanvrager heeft insertie van het S-eiwit daarom ook geen invloed op het gastheerbereik van Ad26COVS1.

De COGEM is van oordeel dat de virale vector Ad26COVS1 door de deleties in de E1- en E3-regio's geattenuëerd en biologisch ingeperkt is, en daardoor niet in staat is zich in het milieu te verspreiden. Eveneens is de COGEM van oordeel dat het transgen geen verhogend effect heeft op de pathogeniteit en het verspreidingspotentieel van de vector, omdat het membraangebonden S-eiwit van SARS-CoV-2 niet in het adenovirale vectordeeltje, dat geen envelop bevat, kan worden opgenomen.

### **3.2 Moleculaire karakterisering**

Ad26COVS1 wordt geproduceerd door de PER.C6 TetR cellijn te transfacteren met een plasmide waarop zich de complete genomsequentie van Ad26COVS1 bevindt (inclusief het transgen dat codeert voor het SARS-CoV-2 S-eiwit). Door complementatie van de E1-regio in de PER.C6 TetR cellijn kan replicatie van het vectorgenoom plaatsvinden. Het plasmide wordt volledig gesequenced en dient identiek te zijn aan de referentiesequentie alvorens de productie van Ad26COVS1 plaatsvindt.

Na productie vindt tweemaal een plaquezuivering plaats, en wordt de vector vervolgens op kleine schaal vermeerderd in de PER.C6 TetR cellen en gezuiverd (met behulp van een twee-staps cesiumchloride-gradiënt). Het gezuiverde product vormt de 'viral seed', die onder andere getest wordt op stabiliteit en vectoridentiteit, alvorens de vector op grote schaal vermeerderd wordt in bioreactoren. Hierbij wordt eerst een 'master viral seed' (MVS) geproduceerd, gevolgd door een 'working viral seed' (WVS). Zowel de MVS als de WVS worden onder meer getest op vectoridentiteit met behulp van een ID-PCR en op expressie van het transgen (na infectie van test cellen), voordat het product vrijgegeven kan worden. De aanvrager stelt dat met behulp van Sanger-sequencing bepaald is dat het complete genoom van 'virus lots' (batches) met een hogere passage dan de batches die daadwerkelijk gebruikt gaan worden, identiek is aan de referentiesequentie.

De COGEM is van oordeel dat de aanvrager de moleculaire karakterisering van Ad26COVS1 adequaat heeft uitgevoerd.

### **3.3 Recombinatie en complementatie**

#### *3.3.1 Mogelijkheid tot de vorming van RCA tijdens het productieproces*

Ad26COVS1 is replicatie-deficiënt door een deletie in de E1-regio van het HAdV-26 vectorgenoom. Productie van de vector vindt plaats in PER.C6 TetR cellen, waarin E1 van HAdV-5 stabiel tot expressie komt. De aanvrager stelt dat er geen sequentieovereenkomst is tussen de flankerende sequenties van de E1-regio in het vectorgenoom en de E1-regio in PER.C6 cellijnen (waaronder PER.C6 TetR), omdat de promotoren en polyA-signalen die gebruikt worden voor de expressie van de E1-regio in de cellijn en het transgen in het vectorgenoom, verschillen.<sup>16</sup> Hierdoor kan tijdens de productie geen replicatiecompetent adenovirus (RCA) gevormd worden. Om dit te bevestigen wordt als onderdeel van de 'release acceptance criteria' in het productieproces een RCA-test uitgevoerd. Hiervoor wordt gebruik gemaakt van de A549 cellijn, waarop wildtype HAdV-26 kan repliceren. Een verdunde hoeveelheid vectordeeltjes (minimaal  $3 \times 10^{10}$  VP) wordt getest door twee opeenvolgende subculturen toe te voegen aan de A549 cellen gedurende een kweekperiode van 28 dagen. Eventuele aanwezigheid van RCA is zichtbaar door het optreden van een cytopathisch effect. De 'acceptance criteria' van de RCA-test is  $<1$  RCA per  $3 \times 10^{10}$  VP. De aanvrager geeft aan dat meer dan 95 Ad26 vectorbatches zijn getest, en dat bij geen van deze batches RCA is gevonden.

De COGEM concludeert dat de kans op de aanwezigheid van RCA in het medische eindproduct verwaarloosbaar klein is, door afwezigheid van sequentieoverenkomsten tussen het vectorgenoom van

Ad26COVS1 en de PER.C6 TetR productiecellen. Daarnaast maakt een negatieve RCA-test onderdeel uit van het productieproces en is er tot nu toe nog nooit RCA gevonden. De COGEM acht de gevoeligheid van de gebruikte RCA-test ruim voldoende voor het beoogde doel.

### *3.3.2 Mogelijkheid tot de vorming van RCA in gevaccineerde personen*

Bij toediening van Ad26COVS1 aan een persoon bestaat de mogelijkheid dat eenzelfde cel tegelijkertijd geïnfecteerd raakt met het vaccin en een verwant wildtype adenovirus. Wanneer co-infectie optreedt kunnen door recombinatie of complementatie de verloren functies in Ad26COVS1 hersteld worden en zou RCA kunnen ontstaan. De aanvrager heeft in de risicobeoordeling de mogelijkheid tot recombinatie met wildtype adenovirussen uiteengezet en beoordeeld op de potentiële gevolgen en waarschijnlijkheid.

Wanneer recombinatie optreedt, kan door herstel van de E1-regio een replicatiecompetente vector ontstaan, die geattenueerd zal zijn door de deletie in de E3-regio. Voor zover bij de COGEM bekend zijn adenovirussen met een deletie in de E3-regio nooit aangetroffen onder natuurlijke omstandigheden, waardoor verondersteld wordt dat virussen met deze deletie niet kunnen overleven in het milieu.<sup>15</sup> Wanneer door recombinatie herstel van de E3-regio plaatsvindt, zal de vector replicatie-deficiënt blijven door afwezigheid van de E1-regio. Theoretisch gezien is het mogelijk dat een virus vergelijkbaar aan wildtype HAdV-26 gevormd wordt na drie recombinatie ‘events’.

De COGEM is van oordeel dat het milieurisico van recombinatie verwaarloosbaar klein is, omdat de resulterende recombinanten geen hogere pathogeniteit of fitness zullen hebben dan het wildtype virus waarmee de gevaccineerde persoon geïnfecteerd is geraakt. Daarnaast dient opgemerkt te worden dat de kans op co-infectie sterk verkleind wordt omdat een infectie met wildtype adenovirussen en de inoculatie met het Ad26COVS1 vaccin op verschillende locaties in het lichaam plaatsvinden. Ad26COVS1 wordt intramusculair toegediend, terwijl wildtype adenovirussen hoofdzakelijk in de luchtwegen infectie veroorzaken (in sommige gevallen kunnen ook het maag-darmstelsel of de urinewegen geïnfecteerd raken).

In theorie zou naast recombinatie ook complementatie op kunnen treden, door aanwezigheid van wildtype adenovirussen of andere virussen die gelijktijdig in dezelfde cel aanwezig zijn als de vector. Door (trans)complementatie van eiwitten met een vergelijkbare functie als de adenovirale E1-eiwitten, kan de mogelijkheid tot replicatie van de vector tijdelijk hersteld worden. De COGEM is echter van oordeel dat dit een zeer onwaarschijnlijk theoretisch scenario betreft, en dat replicatie door complementatie voor beperkte tijd zal zijn.

Alles in overweging nemende is de COGEM van oordeel dat het milieurisico van eventuele recombinatie of complementatie van de Ad26COVS1 vector verwaarloosbaar klein is.

### **3.4 Uitscheiding en verspreiding in het milieu**

Hoewel gegevens over biodistributie en uitscheiding van Ad26COVS1 (nog) niet beschikbaar zijn, blijkt uit klinische studies met andere op HAdV-26 gebaseerde vectoren dat uitscheiding van deze vectoren

na vaccinatie minimaal is. De aanvrager stelt dat, afgezonderd van mogelijke lekkage op de plek van injectie, de kans op uitscheiding van Ad26COVS1 in relevante hoeveelheden verwaarloosbaar klein is.

De COGEM is van oordeel dat de uitscheiding van Ad26COVS1 zeer beperkt tot afwezig zal zijn, gezien de gegevens van studies met andere Ad26-vectoren die alleen verschillen in het transgen dat tot expressie gebracht wordt. Gezien het geattenueerde en replicatie-deficiënte karakter van de vector, acht de COGEM de milieurisico's van eventuele verspreiding in het milieu, verwaarloosbaar klein.

### **3.5 Conclusie**

Alles in overweging nemende, in het bijzonder gezien het geattenueerde en replicatie-deficiënte karakter van de Ad26COVS1 vector, is de COGEM van oordeel dat het milieurisico van de klinische studie met Ad26COVS1 verwaarloosbaar klein is.

### **4. Signalerende opmerking**

Tot slot merkt de COGEM op dat in enkele publicaties gesteld wordt dat de immuunrespons opgewekt tegen het S-eiwit na vaccinatie mogelijk kan leiden tot een verergerde pathologie bij een nieuwe infectie met een coronavirus.<sup>17,20,18</sup> Hoewel het op dit moment nog onduidelijk is of dit daadwerkelijk het geval is<sup>19</sup> en hoe relevant dit fenomeen is voor vaccinatie en infecties met SARS-CoV-2,<sup>20</sup> is het theoretisch mogelijk dat vaccinatie met de Ad26COVS1-vector de pathogeniteit van een daaropvolgende SARS-CoV-2 infectie vergroot. Dit is echter met name een risico voor de gevaccineerde persoon en niet van invloed op milieurisicobeoordeling van de vector.

### **Referenties**

1. International Committee on Taxonomy of Viruses (2019). <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/> (Bezocht: 30 juni 2020)
2. Wold WSM & Ison MG (2013). Adenoviruses. In: Fields virology, volume 2, sixth edition. Ed. Knipe DM *et al.*, Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia
3. Rosen L *et al.* (1961). Four newly recognized adenoviruses. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 107: 434-437
4. Kasel JA *et al.* (1962). Conjunctivitis and enteric infection with adenovirus types 26 and 27: responses to primary, secondary and reciprocal cross-challenges. Am. J. Hyg. 77: 265-282
5. Bergmans JEN *et al.* (2017). Omlaagschaling van werkzaamheden met replicatie-defectieve AAV- en adenovirale vectoren. COGEM report CGM 2017-4 [In Dutch]
6. European Medicines Agency (EMA) (2006). Guideline on non-clinical testing for inadvertent germline transmission of gene transfer vectors. Doc. Ref. EMEA/273974/2005. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-non-clinical-testing-inadvertent-germline-transmission-gene-transfer-vectors\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-non-clinical-testing-inadvertent-germline-transmission-gene-transfer-vectors_en.pdf) (accessed: 26 november 2019)
7. COGEM (2019). Actualisatie van de pathogeniteitsclassificaties van een groot aantal humaan- en dierpathogene DNA en RNA virussen (2019). COGEM advies CGM/190905-02

8. COGEM (2006). Toediening van een adenovirale vector coderend voor interleukine-12 aan patiënten met prostaattumoren. COGEM advies CGM/060512-01
9. COGEM (2009). Klinische studie met een conditioneel-replicerende adenovirale vector. COGEM advies CGM/090429-04
10. COGEM (2011). Verzoek tot wijziging vergunning fase I/II klinische studie met conditioneel-replicerende adenovirussen. COGEM advies CGM/110112-01
11. COGEM (2012). Klinische studie met een conditioneel-replicerende adenovirale vector als aanvullende behandeling van prostaatkanker. COGEM advies CGM/120710-01
12. COGEM (2019). Advies klinische studie met gg-adenovirale vector (rAd-INF) bij patiënten met kwaadaardige pleurale mesothelioom. COGEM advies CGM/191017-03
13. [https://www.janssen.com/netherlands/sites/www\\_janssen\\_com\\_netherlands/files/zabdeno\\_spc.pdf](https://www.janssen.com/netherlands/sites/www_janssen_com_netherlands/files/zabdeno_spc.pdf) (bezoekt: 6 juli 2020)
14. Vaccine against Ebola: Commission grants new market authorisations [https://ec.europa.eu/commission/presscorner/detail/en/ip\\_20\\_1248](https://ec.europa.eu/commission/presscorner/detail/en/ip_20_1248) (bezoekt: 10 juli 2020)
15. COGEM (2018). Generiek advies inschaling replicatie-deficiënte adenovirale vectorsystemen. COGEM advies CGM/180316-01
16. Fallaux FJ *et al.* (1998). New helper cells and matched early region 1-deleted adenovirus vectors prevent generation of replication-competent adenoviruses. *Hum. Gene Ther.* 9: 1909-1917
17. Wan Y *et al.* (2020). Molecular mechanism for antibody-dependent enhancement of Coronavirus entry. *J. Virol.* 94:e02015-19
18. French MA & Moodley Y (2020). The Role of SARS-CoV-2 Antibodies in COVID-19: Healing in Most, Harm at Times. *Respirology* 25: 680-682
19. Francesco N (2020). Is antibody-dependent enhancement playing a role in COVID-19 pathogenesis? *Swiss Med. Wkly.* 150:w20249
20. De Alwis R *et al.* (2020). Impact of immune enhancement on Covid-19 polyclonal hyperimmune globulin therapy and vaccine development. *EBioMedicine* 55: 102768