

Aan de staatssecretaris van  
Infrastructuur en Waterstaat  
Mr. drs. A.W.H. Bertram  
Postbus 20901  
2500 EX Den Haag

**DATUM** 09 april 2026  
**KENMERK** CGM/260409-01  
**ONDERWERP** Advies Klinische studie lentiviraal getransduceerde T-cellen

Geachte mevrouw Bertram,

Naar aanleiding van een adviesvraag over dossier IM 250019\_001 getiteld 'Phase I study of repeated intracerebroventricular administration of B7H3 targeting CAR T cells in children and young adults with recurrent/refractory high grade CNS tumours', van het Prinses Máxima Centrum voor Kinderoncologie te Utrecht, deelt de COGEM u het volgende mee.

**Samenvatting:**

De COGEM is gevraagd te adviseren over de milieurisico's van een klinische studie waarbij afweercellen van de patiënt buiten het lichaam genetisch aangepast worden. Hiervoor wordt gebruik gemaakt van een speciaal ontworpen vector, gebaseerd op HIV-1. Deze lentivirale vector kan genetisch materiaal in cellen inbouwen, maar zich niet verder verspreiden. De genetisch gemodificeerde (gg-) afweer-cellen worden zo aangepast dat ze na toediening aan de patiënt in staat zijn om kankercellen te herkennen en te vernietigen. Eerder heeft de COGEM een generieke milieurisicobeoordeling opgesteld voor dit soort klinische studies, maar deze studie wijkt af van de gestelde condities, omdat de gebruikte vector een promotorsequentie bevat van het spleen focus-forming virus (SFFV).

De COGEM oordeelt dat de risico's van deze studie voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn, mits er aan een aantal voorwaarden wordt voldaan: de nucleotidesequentie van alle gebruikte plasmiden is door de aanvrager gecontroleerd, uitsluitend de promotorsequentie en geen andere SFFV sequenties zijn in de vector aanwezig, en met een navolgbare berekening wordt aangetoond dat het aantal vrije vectordeeltjes onder de 500 blijft, óf de standaardmaatregelen om blootstelling van derden aan vectordeeltjes te voorkomen, zijn van kracht.

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.

- Drs. Y. de Keulenaar, Hoofd Bureau ggo
- Ministerie van IenW, Directie Omgevingsveiligheid en milieurisico's, DG Milieu en Internationaal
- Dr. ir. M.M.C. Gielkens, Loket Gentherapie
- Dr. K.R.J. Vanmolkot, Centrale Commissie Mensgebonden Onderzoek
- Dr. J.I. Udo De Haes, Ministerie van VWS

***Met het oog op belangenverstrengeling is het COGEM-lid prof. dr. R.C. Hoebe niet betrokken geweest bij de besluitvorming over dit advies.***

# Advies Klinische studie met ex vivo lentiviraal-getransduceerde CAR T-cellen

## COGEM-advies CGM/260409-01

### 1. Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over een klinische studie met autologe, genetisch gemodificeerde (gg) 'Chimeric Antigen Receptor' (CAR) T-cellen. Deze cellen zullen worden toegediend aan kinderen en jongvolwassenen met recidiverende of refractaire hooggradige hersentumoren (IM 250019). De aanvraag is ingediend door het Prinses Máxima Centrum voor Kinderoncologie te Utrecht. In deze studie worden CAR T-cellen geproduceerd door T-cellen van de patiënt ex vivo te transduceren met lentivirale deeltjes, waardoor de cellen een CAR tot expressie brengen. Hiervoor wordt een 3<sup>e</sup>-generatie 'self-inactivating' (SIN) lentivirale vector systeem gebruikt, gebaseerd op het human immunodeficiency virus-1 (HIV-1; *Lentivirus humimdef1*). De expressie van de CAR in de getransduceerde T-cellen wordt aangestuurd door de promotorsequentie afkomstig van de 'long terminal repeat' (LTR) van het spleen focus-forming virus (SFFV).

### 2. Eerder COGEM-advies

De COGEM heeft een generieke milieurisicobeoordeling uitgevoerd en opgesteld voor klinische studies met ex vivo lentiviraal getransduceerde cellen waarbij gebruik gemaakt wordt van een 3<sup>e</sup>-generatie SIN lentiviraal vectorsysteem op basis van HIV-1. Zij heeft geoordeeld dat de milieurisico's hiervan verwaarloosbaar klein zijn, mits er aan de volgende randvoorwaarden voldaan wordt:<sup>1</sup>

- Er wordt gebruik gemaakt van retrovirale vectoren gebaseerd op het Moloney murine leukemia virus (MoMuLV), of SIN-vectoren afgeleid van HIV-1, welke zijn geproduceerd met behulp van een 3<sup>e</sup>-generatie productiesysteem. Deze vectoren kunnen gepseudotyped zijn met VSV-G of andere virale glycoproteïnen.
- Het gebruikte transgen codeert niet voor sequenties die in staat zijn de replicatiedeficiënte retro- of lentivirale vector te complementeren, of voor schadelijke genproducten of (proto)oncogenen.
  - o Het gebruik van virale promotorsequenties, niet-virale intronen, 'internal ribosome entry sites' (IRES) en 'ribosomale skip sequenties' in de transfervector is toegestaan, mits hiervoor geen lenti- of retrovirale sequenties worden gebruikt.
  - o Voor enkele specifieke lenti- of retrovirale promotorsequenties is eerder geadviseerd dat zij niet tot complementatie zullen leiden. Gebruik van deze specifieke sequenties in de transfervector is toegestaan.<sup>2</sup>
- Voor de moleculaire karakterisering geldt dat minimaal de vectorkaartjes en beschrijvingen van de productieplasmiden zijn overlegd door de aanvrager, en dat de aanvrager heeft bevestigd dat deze plasmiden gesequenced zijn en dat de retro- of lentivirale sequenties in de plasmiden identiek zijn aan de beoogde sequenties.
- De generieke milieurisicobeoordeling is van toepassing op zowel autologe als allogene ex vivo getransduceerde cellen, inclusief macrofagen.
- Er zijn maximaal 500 vrije infectieuze vectordeeltjes in het terug te plaatsen medisch product aanwezig<sup>3</sup>, overeenkomstig met een reductieratio van minimaal 0,002 bij gebruik van de

COGEM-formule.<sup>4</sup> Deze grenswaarde wordt geadviseerd onafhankelijk van de leeftijd en/of het bloedvolume van de patiënt.

### **3. Informatie over de klinische studie en het medisch product**

In totaal zullen maximaal 18 proefpersonen behandeld worden met ex vivo lentiviraal getransduceerde, autologe T-cellen die een CAR tot expressie brengen. Tijdens de klinische studie wordt de veiligheid van deze behandeling onderzocht voor kinderen en jongvolwassenen met recidiverende of refractaire hooggradige hersentumoren. Het onderzoek zal plaatsvinden in het Prinses Máxima Centrum voor Kinderoncologie in Utrecht. De gg-T-cellen zullen bij de proefpersonen in de hersenen worden toegediend middels een 'Ommaya reservoir'. Dit is een intraventriculair kathetersysteem dat gebruikt kan worden voor het afnemen van hersenvocht of voor het toedienen van medicijnen in het hersenvocht.

Het medisch product bestaat uit autologe gg-T-cellen die een CAR tot expressie brengen gericht op een antigeen dat voornamelijk tot expressie komt op de tumorcellen. Om het CAR transgen in de T-cellen tot expressie te brengen, worden deze cellen getransduceerd met een replicatiedeficiënte SIN-lentivirale vector die vervaardigd is met behulp van een 3<sup>e</sup>-generatie lentiviraal productiesysteem. Voor de productie van deze vector worden 'human embryonic kidney' (HEK) 293T of 293 cellen getransfecteerd met een plasmide dat codeert voor de lentivirale transfervector welke het CAR transgen bevat, twee packaging-plasmiden die de HIV-1 eiwitten Gag, Pol en Rev tot expressie brengen, en een plasmide dat het oppervlakte-eiwit G van een vesiculair stomatitis virus (VSV-G van *Indiana vesiculovirus*) tot expressie brengt. De transfervector wordt geflankeerd door de virale 5'- en 3'-LTR sequenties en bevat het packagingsignaal  $\Psi$ , zodat het transgen in de vectordeeltjes wordt ingepakt. De productie van deze lentivirale vector valt buiten deze aanvraag. In de getransduceerde cellen wordt de expressie van de CAR gereguleerd door een promotorsequentie afkomstig van de LTR van SFFV.

### **4. Overweging**

De COGEM heeft randvoorwaarden gedefinieerd bij de generieke milieurisicobeoordeling voor klinische studies met ex vivo lentiviraal getransduceerde cellen.<sup>1</sup> De onderhavige klinische studie betreft een aanvraag voor het gebruik van T-cellen die ex vivo getransduceerd worden met 3<sup>e</sup>-generatie SIN-lentivirale deeltjes. De transfervector die in onderhavige studie gebruikt wordt bevat een promotorsequentie afkomstig van de LTR van het gammaretrovirus SFFV. Daarmee wijkt deze klinische studie af van de generieke randvoorwaarden.

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

In deze aanvraag zijn vectorkaarten en beschrijvingen van de productieplasmiden meegeleverd. Volgens de aanvrager voldoet de SIN-deletie in de transfervector aan de in de Regeling ggo gestelde voorwaarden voor een 3<sup>e</sup>-generatie SIN lentiviraal vectorsysteem.<sup>5</sup> De aanvrager geeft aan dat de identiteit van het volledige vectorgenoom is geverifieerd door middel van sequencing en overeenkomt met de beoogde sequenties. De COGEM merkt op dat de aanvrager niet expliciet benoemt dat de nucleotidesequentie van alle gebruikte plasmiden is geverifieerd. Dit is één van de door de COGEM gestelde randvoorwaarden voor de generieke milieurisicobeoordeling bij klinische studies met ex vivo lentiviraal getransduceerde cellen.<sup>1</sup>

Onder voorwaarde dat de aanvrager bevestigt dat de nucleotidesequenties van de gebruikte plasmiden door middel van sequencing zijn geverifieerd, is de COGEM van oordeel dat de moleculaire karakterisering voldoende is uitgevoerd en voldoet aan de gestelde eisen.<sup>1,6</sup>

#### **4.2 Replicatiecompetent lentivirus bij de productie van de lentivirale vectoren**

Een mogelijk risico bij de productie van lentivirale vectordeeltjes is het ontstaan van replicatiecompetent lentivirus (RCL). In theorie kan RCL ontstaan door recombinatie tussen lentivirale sequenties van de verschillende plasmiden die worden gebruikt voor de productie, of tussen de vector en (endogene) retrovirussequenties aanwezig in de gebruikte cellijn. De COGEM heeft echter vastgesteld dat er in de wetenschappelijke literatuur geen meldingen zijn van de vorming van RCL bij toepassing van een 3<sup>e</sup>-generatie SIN-productiesysteem.<sup>7,8,9</sup> Op basis hiervan acht de COGEM een RCL-test voor dergelijke systemen niet noodzakelijk.<sup>1</sup>

Het CAR-transgen in de lentivirale vector staat onder controle van de SFFV-promotorsequentie. SFFV is een replicatiedeficiënt gammaretrovirus dat bij muizen leukemie kan veroorzaken.<sup>10</sup> In de lentivirale transfervector is volgens de aanvrager uitsluitend de promotorsequentie uit de LTR van SFFV aanwezig, en niet de volledige LTR-sequentie. De SFFV-promotorsequentie valt niet onder de reeds beoordeelde en toegestane retrovirale promotorsequenties die zijn opgenomen in de generieke milieurisicobeoordeling, zoals opgesteld door de COGEM.<sup>2</sup> De aanvrager meldt dat deze promotorsequentie in meerdere (pre)klinische studies met CAR-T-cellen wordt gebruikt, zonder dat er ooit melding is gemaakt van de vorming van RCL als gevolg van recombinatie tussen HIV-sequenties en de SFFV-promotor. Bovendien is volgens de aanvrager de overeenkomst tussen de SFFV-promotorsequentie en de HIV-sequenties in de lentivirale vector laag, waardoor het ontstaan van RCL door recombinatie niet wordt verwacht.

De COGEM merkt op dat de exacte nucleotidesequentie van de gebruikte SFFV-promotor en een vergelijking met de lentivirale vector, niet in het dossier zijn opgenomen. Het SFFV-promotor fragment in verscheidene commercieel beschikbare plasmiden bevat sequenties afkomstig van de U3 en repeat (R) delen van de LTR.<sup>11,12,13</sup> De COGEM acht de kans op recombinatie verwaarloosbaar klein, mits de door de aanvrager gebruikte vector uitsluitend deze SFFV-promotorsequentie bevat.

Onder het voorbehoud dat de lentivirale vector enkel de SFFV-promotorsequentie bevat, is de COGEM van oordeel dat de kans op het ontstaan van RCL door recombinatie verwaarloosbaar klein is.

#### **4.3 De aanwezigheid en mogelijke verspreiding van vrije lentivirale vectordeeltjes**

Om de hoeveelheid vrije lentivirale deeltjes in het medisch product te bepalen, hanteert de aanvrager een theoretische benadering. Hierbij wordt uitgegaan van de experimenteel bepaalde halfwaardetijd van VSV-G gepseudotyperde lentivirale vectordeeltjes, die circa 34,7 uur bedraagt.<sup>14</sup> Daarnaast heeft de aanvrager berekend dat de lentivirale vectordeeltjes vanaf de transductie tot aan het eindproduct 186.000 keer worden verdund. Dit resulteert in een geschatte hoeveelheid van circa 60 lentivirale vectordeeltjes per dosis. Elke patiënt ontvangt maximaal zes doses, met een minimale interval van 21 dagen. De aanvrager concludeert dat de hoeveelheid binnen de door de COGEM gestelde grenswaarde van 500 vrije vectordeeltjes valt.<sup>1</sup>

De COGEM merkt op dat deze berekening van het aantal vrije lentivirale deeltjes in het eindproduct onduidelijkheden bevat en onvoldoende navolgbaar is. De aanvrager stelt dat de lentivirale deeltjes tijdens de transductie 1.000 keer verdund worden. Het verdunnen van het product door volumevermeerdering is echter niet gelijk aan het verminderen van het aantal vrije lentivirale vector deeltjes; de deeltjes blijven immers bestaan. Volgens de aanvrager leidt deze verdunning, in combinatie met twee wasstappen, tot een totale verdunning van 186.000 keer. Het is voor de COGEM onduidelijk hoe de waarde van 186.000 is berekend.

Op basis van de aangeleverde informatie, is het niet mogelijk vast te stellen of en hoeveel vectordeeltjes aanwezig zijn in het eindproduct. De COGEM adviseert daarom de generieke maatregelen te hanteren die gelden wanneer de aanwezigheid van meer dan 500 vrije lentivirale vectordeeltjes in het medische product niet kan worden uitgesloten, tenzij uit een navolgbare nacalculatie blijkt dat er minder dan 500 vrije vectordeeltjes aanwezig zijn per toegediende dosis.<sup>1, 15</sup>

De generieke maatregelen die gelden wanneer de aanwezigheid van meer dan 500 vrije lentivirale vectordeeltjes niet kan worden uitgesloten zijn:

- Na toediening van het medisch product wordt de infuusinsteekplaats met een adequate methode gedesinfecteerd om resterende cellen en vectordeeltjes te inactiveren;
- Na toediening van het medisch product (ex vivo getransduceerde gg-cellen) blijft de patiënt minimaal 16 uur in het ziekenhuis opgenomen, zodat de geëigende ziekenhuis hygiënemaatregelen in acht genomen kunnen worden. Patiënt, medisch personeel en bezoekers worden voorgelicht hoe gedurende deze periode met wondverzorging en besmet materiaal moet worden omgegaan. Indien de aanvrager aannemelijk maakt dat de vectordeeltjes eerder dan 16 uur voldoende uit het lichaam van de patiënt geklaard zijn, kan de periode navenant worden bekort.

## 5. Conclusie en advies

De COGEM heeft een generieke milieurisicobeoordeling opgesteld voor klinische studies met ex vivo getransduceerde cellen, verkregen via retro- of lentivirale vectoren.<sup>1</sup> Hoewel de huidige aanvraag afwijkt van de randvoorwaarden door het gebruik van een SFFV-promotor, is de COGEM van oordeel dat deze sequentie geen verhoogd risico op RCL-vorming oplevert, mits uitsluitend de promotorsequentie aanwezig is.

Al het bovenstaande in overweging nemende concludeert de COGEM dat de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn, mits aan de volgende voorwaarden wordt voldaan:

- de nucleotidesequentie van de gebruikte plasmiden is geverifieerd door middel van sequencing;
- uitsluitend de SFFV-promotorsequentie is in de transfector aanwezig;
- er worden maatregelen gehanteerd om blootstelling van derden aan vrije vectordeeltjes te voorkomen, tenzij de aanvrager middels een navolgbare herberekening aantoont dat het aantal vrije deeltjes in het eindproduct onder de grenswaarde van 500 blijft.

## Referenties

1. COGEM (2025). Advies Update randvoorwaarden bij generieke milieurisicobeoordeling van klinische studies en marktaanvragen met ex vivo retro- en lentiviraal getransduceerde cellen. COGEM-advies CGM/251127-01
2. COGEM (2025). Advies virale promotorsequenties in lenti- en retrovirale vectoren. COGEM-advies CGM/250122-01
3. COGEM (2025). Advies Heroverweging grenswaarde aanwezige vrije lenti- en retrovirale vectordeeltjes bij klinische studies met ex vivo getransduceerde cellen. COGEM-advies CGM/250520-01
4. COGEM (2025). Advies Toelichting op de COGEM-formule voor het berekenen van vrije lenti- of gammaretrovirale vectordeeltjes na ex vivo transductie. COGEM-advies CGM/250819-01
5. Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013. Hoofdstuk 1, Artikel 2. <https://wetten.overheid.nl/BWBR0035072/2026-01-01> (bezocht: 12 maart 2026)
6. COGEM (2013). Criteria voor moleculaire karakterisering van ggo's voor medische en veterinaire toepassing. COGEM-advies CGM/130227-05
7. 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
8. Marcucci KT et al. (2018). Retroviral and lentiviral safety analysis of gene-modified t cell products and infused HIV and oncology patients. *Mol. Ther.* 26: 269-279
9. Cornetta K et al. (2018). Absence of replication competent lentivirus in the clinic: analysis of infused T cell products. *Mol. Ther.* 26: 280-288
10. Moreau-Gachelin F (2008). Multi-stage Friend murine erythroleukemia: molecular insights into oncogenic cooperation. *Retrovirology.* 5:99
11. Addgene. pTRIP-SFFV (Plasmid #235547). <https://www.addgene.org/235547/> (bezocht: 12 maart 2026)
12. Addgene. pMM98 (Plasmid #176617). <https://www.addgene.org/176617/> (bezocht: 12 maart 2026)
13. Addgene. pHR-H2B-mGFP (Plasmid #173892). <https://www.addgene.org/173892/> (bezocht: 12 maart 2026)
14. Dautzenberg IJC et al. (2021). The stability of envelope-pseudotyped lentiviral vectors. *Gene Ther.* 28: 89-104
15. Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013. Bijlage 10, Deel D, Artikel D:5. Voorkomen van vermenging en verspreiding. <https://wetten.overheid.nl/BWBR0035072/2026-01-01#Bijlage10> (bezocht: 12 maart 2026)