

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

DATUM 05 oktober 2026
KENMERK CGM/261005-02
ONDERWERP Advies Klinische studie met T-cellen ex vivo gemodificeerd door AAV en CRISPR

Geachte mevrouw Bertram,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende de vergunningaanvraag getiteld 'Safety and Efficacy of CRISPR-Cas9–Engineered human Cells', ingediend door het Amsterdam Universitair Medisch Centrum (IM 260018_001), deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is gevraagd om te adviseren over de milieurisico-aspecten van een klinische studie waarbij volwassen patiënten met hematologische auto-immuunziekten behandeld worden met genetisch gemodificeerde (gg-)T-cellen. De cellen worden genetisch gemodificeerd met behulp van een 'adeno-associated virus' (AAV-)vector in combinatie met CRISPR-Cas9.

De COGEM heeft eerder een generieke milieurisicobeoordeling opgesteld voor klinische toepassingen met AAV-vectoren, en geoordeeld dat de risico's voor mens en milieu bij dergelijke klinische studies verwaarloosbaar klein zijn, mits aan een aantal randvoorwaarden wordt voldaan. Anders dan eerdere klinische studies met AAV-vectoren wordt in de onderhavige studie de AAV-vector niet direct aan de patiënt toegediend. De vector wordt in combinatie met CRISPR-Cas9 gebruikt om donor T-cellen buiten het lichaam te modificeren. De productie van de vector en de gg-cellen valt niet onder de vergunningaanvraag. De gg-cellen worden in de klinische studie via infusie aan de patiënt toegediend.

De COGEM is van oordeel dat de onderhavige klinische studie onder de reikwijdte van de generieke milieurisicobeoordeling van klinische studies met AAV-vectoren valt en voldoet aan de criteria van deze milieurisicobeoordeling. Het risico van eventuele aanwezige CRISPR-Cas9 complexen in het medisch product acht de COGEM eveneens verwaarloosbaar klein. Alles in oegenschouw nemende is de COGEM van oordeel dat de risico's voor mens en milieu bij voorgenomen 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.

- Bureau ggo, Afdeling Gentechnologie en Biologische Veiligheid, RIVM
- Directie Omgevingsveiligheid en milieurisico's, DG Milieu en Internationaal, Ministerie van IenW
- Loket Gentherapie, RIVM
- Centrale Commissie Mensgebonden Onderzoek
- Ministerie van VWS

Met het oog op eventuele belangenverstrengeling zijn de COGEM-leden dr. A.T. Das, dr. N.P. van Til niet betrokken geweest bij de besluitvorming over dit advies.

Advies Klinische studie met allogene T-cellen die ex vivo gemodificeerd zijn met behulp van CRISPR-Cas en AAV-vectoren

COGEM-advies CGM/261005-02

1. Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over een vergunningaanvraag voor een klinische studie met allogene genetisch gemodificeerde (gg-)T-cellen. De T-cellen zijn genetisch gemodificeerd met behulp van 'clustered regularly interspaced short palindromic repeats' (CRISPR) technologie en een adeno-associated virus (AAV)-vector waarin de sequentie van een chimere antigenreceptor (CAR) opgenomen is (IM 260018_001). De therapie is bedoeld voor patiënten met recidiverende of refractaire hematologische auto-immuunziekten. De vergunningaanvraag is afkomstig van het Amsterdam UMC. In deze klinische studie zal de effectiviteit en veiligheid van deze therapie in volwassen patiënten onderzocht worden.

2. De voorgenomen klinische studie

Aan de voorgenomen klinische studie zullen maximaal 1000 patiënten deelnemen. Zij zullen behandeld worden met genetisch gemodificeerde T-cellen afkomstig van een donor (i.e., allogene T-cellen). De T-cellen worden daarvoor genetisch gemodificeerd met CRISPR-Cas9 en een replicatie-deficiënte AAV-vector. De gg-T-cellen worden via intraveneuze infusie toegediend aan de patiënt. Hierbij zullen maximaal 1×10^8 CAR+ T-cellen toegediend worden.

Voor de productie van de gg-T-cellen worden met behulp van elektroporatie Cas9 endonucleasen met 'single guide'(sg)RNA's de T-cel ingebracht om inserties en deleties (indels) aan het genoom van de T-cel aan te brengen. Hiermee wordt beoogd de immuunrespons van de gastheer ('graft-versus-host' en 'host-versus-graft') tegen de gg-T-cellen te verminderen en de persistentie van de gg-T-cellen te verbeteren.

Met behulp van een AAV-vector zal een CAR-expressiecassette ingebracht worden in de gg-T-cel. De AAV-vector bevat de 'inverted terminal repeat' (ITR)-sequenties van AAV2 en het CAR-transgen geflankeerd door sequenties die homologo zijn aan het 'TCR α -chain' (TRAC-)locus om de CAR-sequentie te laten integreren in het TRAC-locus. De CAR is opgebouwd uit een muizen 'anti-target receptor' 'single-chain variable fragment' (scFv), het CD8 transmembraandomein, een CD28 co-stimulator domein en een CD3 ζ signaaldomein. Daarnaast bevat de AAV-vector een humane cel-specifieke promotor, een humane enhancer, een zoogdierspecifiek-intron en een synthetisch polyadenylatie-sigtaal. De vectordeeltjes zijn ingepakt in capside-eiwitten afkomstig van AAV6.

Om de AAV-vector te produceren wordt gebruik gemaakt van drie plasmiden. Eén plasmide bevat het beoogde vectorgenoom; een 'packaging'-plasmide levert in trans de AAV-2 Rep- en AAV-6 Cap-eiwitten aan die benodigd zijn voor de replicatie en 'packaging' van het AAV-vectorgenoom in vectordeeltjes; en een helperplasmide die drie 'helper-elementen' van het adenovirus aanlevert.

De voorliggende vergunningaanvraag betreft het toedienen van de gg-T-cellen aan de patiënt. De productie van de AAV-vectoren en de gg-T-cellen maakt geen onderdeel uit van de vergunningaanvraag.

3. Eerdere COGEM-adviezen

De COGEM heeft in 2019 in een advies een generieke milieurisicobeoordeling voor klinische toepassingen met AAV-vectoren opgesteld en geoordeeld dat de risico's voor mens en milieu bij klinische studies met deze vectoren verwaarloosbaar klein zijn, mits aan een aantal randvoorwaarden wordt voldaan.¹ Deze randvoorwaarden zijn in 2020 geüpdatet,² en zijn als volgt:

- de 'inverted terminal repeats' (ITR's) en capsid-eiwitten zijn afkomstig van AAV's, dat wil zeggen virussen behorende tot het genus *Dependoparvovirus* die voor *in vivo* replicatie afhankelijk zijn van een helpvirus;
- indien ten behoeve van de vectorproductie gebruik gemaakt is van helpvirus, dient deze te zijn geïnactiveerd of verwijderd;
- de gehele nucleotidensequentie van het AAV-vectorgenoom is vastgesteld en dient ter verificatie te zijn vergeleken met de nucleotidensequentie van de beoogde vector;
- het gebruikte transgen codeert niet voor sequenties die in staat zijn de vector te complementeren, of voor schadelijke genproducten of (proto)oncogenen.

In navolging op een nadere discussie over de moleculaire karakterisering van de AAV-vectoren acht de COGEM de moleculaire karakterisering eveneens voldoende wanneer:

- vectorkaartjes en beschrijvingen van de productieplasmiden worden overlegd door de aanvrager;
- de aanvrager heeft aangegeven dat deze plasmiden gesequenced zijn en dat de AAV-sequenties in de plasmiden identiek zijn aan de beoogde sequenties.

De COGEM heeft daarnaast eerder positief geadviseerd over een klinische studie waarbij een AAV-vector in combinatie met CRISPR-Cas9 gebruikt werd om allogene T-cellen *ex vivo* genetisch te modificeren.³ Hierbij werden de T-cellen eveneens geëlektroporeerd met het CRISPR/Cas9 ribonucleoproteïne (RNP)-complex om de kans op 'graft-versus host disease' en de kans op afstoting van de gg-T-cellen te verkleinen, en vervolgens getransduceerd met de AAV-vector om een anti-CD70 CAR te introduceren in de gg-T-cellen. De COGEM heeft tevens enkele keren positief geadviseerd over klinische studies met autologe gg-T-cellen die gemodificeerd zijn met CRISPR/Cas RNP's.^{4,5}

4. Overweging

De COGEM heeft een generieke milieurisicobeoordeling uitgebracht waarin de randvoorwaarden zijn gedefinieerd voor klinische studies met AAV-vectoren.^{1,2} In tegenstelling tot eerdere adviezen met AAV-vectoren, wordt in de voorliggende klinische studie de AAV-vector niet direct aan de patiënt toegediend. In plaats daarvan wordt een AAV-vector in combinatie met CRISPR-Cas9 gebruikt om allogene T-cellen *ex vivo* genetisch te modificeren. Potentiële risico's die hierbij een rol kunnen spelen, zijn de mogelijke aanwezigheid van AAV-vectoren of CRISPR-Cas9 in het toe te dienen medische product.

4.1 Aanwezigheid van AAV-vectoren in het medisch product

Om het potentiële risico van aanwezigheid van resterende replicatie-deficiënte AAV-vectoren in het medische product te beoordelen, is de COGEM van oordeel dat de generieke milieuriscobeoordeling van klinische studies met AAV-vectoren toegepast kan worden. Hieronder licht de COGEM toe of de onderhavige studie voldoet aan de criteria van de generieke milieuriscobeoordeling voor klinische toepassingen met AAV-vectoren.

4.1.1 ITR en capside-eiwitten

In haar generieke advies voor klinische toepassingen met AAV-vectoren heeft de COGEM gesteld dat de ITR's en capside-eiwitten afkomstig moeten zijn van AAV's. In de onderhavige studie zijn de ITR's afkomstig van AAV2 en de capside-eiwitten van AAV6. Hiermee voldoet de nu ter beoordeling voorliggende klinische studie aan dit criterium van het generieke advies.

4.1.2 Aanwezigheid van helpervirus in vector batches

In het generieke advies, heeft de COGEM gesteld dat als er tijdens de vectorproductie gebruik is gemaakt van helpervirus, dit vervolgens geïnactiveerd of verwijderd moet worden. Voor de voorgenomen klinische studie wordt een productiesysteem gebruikt dat vrij is van helpervirus, en wordt in plaats daarvan een helperplasmide gebruikt die de benodigde elementen van het adenovirus *in trans* aanlevert.

Als onderdeel van het productieproces wordt standaard getest op aanwezigheid van replicatiecompetent AAV met behulp van een gevalideerde qPCR. De COGEM acht de kans verwaarloosbaar klein dat er replicatiecompetent AAV aanwezig is in de te gebruiken vectorbatches.

4.1.3 Moleculaire karakterisering

In de onderhavige aanvraag is aangegeven dat alle elementen die aanwezig zijn in de AAV-vector volledig moleculair gekarakteriseerd zijn en volledig identiek zijn aan de beoogde sequentie. Een overzicht van het AAV-vectorgenoom, en een beschrijving van de elementen in de helperplasmiden zijn aangeleverd in het vertrouwelijke deel van de aanvraag.

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

4.1.4 Eigenschappen van het transgen

Het transgen dat door de AAV-vector in de T-cel geïntegreerd wordt, betreft een chimere antigen receptor (CAR) gericht tegen normale of maligne B-cellen. Deze CAR kan T-cel activatie, proliferatie en cytokine-secretie stimuleren. De CAR wordt niet beschouwd als een schadelijk genproduct. Het transgen is tevens niet in staat het replicatie-deficiënte karakter van de AAV-vector te complementeren. Vergelijkbare CAR-T-cellen worden regelmatig ingezet als therapie tegen hematologische maligniteiten.⁶

4.2 Aanwezigheid van CRISPR-Cas in het medische product

Voor de productie van het medisch product worden allogene T-cellen ex vivo geëlektroporeerd om Cas9 endonucleasen en sgRNA's in de cel te introduceren. Bij het elektroporeren kunnen losse componenten buiten de cel achterblijven, waardoor deze in theorie aanwezig kunnen zijn in de vloeistof rondom de gg-T-cellen wanneer het medisch product aan de patiënt wordt toegediend. Deze

worden waarschijnlijk door het afweersysteem van de ontvanger als lichaamsvreemd aangemerkt en verwijderd. In het geval van het veelgebruikte CRISPR-Cas9-eiwit, zijn er reeds bestaande antilichamen tegen Cas9-eiwitten gevonden (vermoedelijk verkregen via blootstelling aan bacteriële Cas9-varianten) en humorale afweerreacties waargenomen in gezonde personen.^{7,8,9} In het onwaarschijnlijke geval dat de componenten van het CRISPR/Cas complex in het medisch product aanwezig zijn en het medisch product in het milieu of een derde terechtkomt, bijvoorbeeld bij prikaccidenten, kunnen deze alleen via elektroporatie of een ‘carrier’ de cel worden ingebracht. Onder natuurlijke omstandigheden komt dit niet voor.

In het eindproduct kunnen ook Cas9 endonucleasen en sgRNA’s aanwezig blijven in de gg-T-cellen zelf. De (gg-)T-cellen kunnen zich buiten het lichaam echter niet handhaven, en worden niet uitgescheiden via speeksel, urine of feces.

Het bovenstaande in overweging nemend, acht de COGEM de risico’s voor het milieu bij een klinische studie met gg-T-cellen die mogelijk residuele endonucleasen en sgRNA’s bevatten, verwaarloosbaar klein.

5. Conclusie en advies

In 2019 heeft de COGEM een advies uitgebracht over een generieke milieurisicobeoordeling voor klinische toepassingen met AAV-vectoren.^{1,2} Klinische studies met AAV-vectoren die voldoen aan de in het advies opgestelde randvoorwaarden, hoeven niet meer aan de COGEM voor advies te worden voorgelegd. De COGEM is van oordeel dat de onderhavige klinische studie onder de reikwijdte van de generieke milieurisicobeoordeling van klinische studies met AAV-vectoren valt en voldoet aan de criteria van deze milieurisicobeoordeling. Het risico van eventuele aanwezige residuele endonucleasen en sgRNA’s in de gg-T-cellen, acht de COGEM eveneens verwaarloosbaar klein. Alles in ogenschouw nemende is de COGEM van oordeel dat de risico’s voor mens en milieu bij voorgenomen klinische studie verwaarloosbaar klein zijn.

6. Signalerende opmerking

Het medische product bestaat uit allogene gg-T-cellen afkomstig van donoren. Vanwege de aangebrachte modificaties worden de gg-T-cellen bij een eventuele overdracht naar derden, in de ontvanger mogelijk niet als lichaamsvreemd herkend en niet door het immuunsysteem vernietigd. De COGEM heeft eerder opgemerkt dat gg-T-cellen kunnen worden overgedragen aan derden door donatie van lichaamsmateriaal, zwangerschap, het geven van borstvoeding en moedermelkdonatie. Destijds is besloten dat de potentiële risico’s hiervan niet meer onder de vergunningverlening van ggo’s worden beoordeeld en geadresseerd.^{10,11} De COGEM signaleert dat de instanties die betrokken zijn bij donatie van lichaamsmateriaal zich bewust moeten zijn van de mogelijke overdrachtsrisico’s en geïnformeerd moeten worden over de behandeling die de patiënten hebben ondergaan, zodat zij dit in hun overwegingen mee kunnen nemen.

Referenties

1. COGEM (2019). Generieke milieurisicobeoordeling van klinische studies met AAV-vectoren. COGEM-advies CGM/190905-01
2. COGEM (2020). Advies betreffende procedures van markttoelatingen van medische ggo-producten die onder de generieke milieurisicobeoordeling van klinische studies vallen. COGEM-advies CGM/201214-02

3. COGEM (2020). Klinische studie met allogene ex vivo recombinant AAV-vector getransduceerde T-cellen (CTX130). COGEM-advies CGM/201029-01
4. COGEM (2021). Klinische studie met gg-T-cellen, waarin de T-celreceptoren met behulp van nucleases zijn aangepast tegen neo-antigenen in solide tumoren. COGEM-advies CGM/211202-01
5. COGEM (2025). Klinische studie met autologe gg-T-cellen specifiek voor neo-antigenen van solide tumoren, die zijn aangepast met behulp van CRISPR/Cas. COGEM-advies CGM/250113-02
6. Sun D et al. (2024). CAR-T cell therapy: A breakthrough in traditional cancer treatment strategies (Review). *Mol. Med. Rep.* 29: 47
7. Charlesworth CT et al. (2019). Identification of pre-existing adaptive immunity to Cas9 proteins in humans. *Nat. Med.* 25: 249–254
8. Simhadri VL et al. (2018). Prevalence of Pre-existing Antibodies to CRISPR-Associated Nuclease Cas9 in the USA Population. *Mol. Ther. Methods. Clin. Dev.* 10: 105–112
9. Wagner DL et al. (2019). High prevalence of *Streptococcus pyogenes* Cas9-reactive T cells within the adult human population. *Nat. Med.* 25: 242–248
10. COGEM (2020). Beoordeling van risico's voor derden bij gentherapiestudies met replicatiedeficiënte ggo's en gg-T-cellen. COGEM-advies CGM/200123-01
11. Minister van Infrastructuur en Waterstaat (2020). Beleidsnota Biotechnologie 27428, nr. 366. <https://zoek.officielebekendmakingen.nl/kst-27428-366.html> (bezocht: 1 september 2026)