

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

DATUM 22 juli 2019
KENMERK CGM/190722-01
ONDERWERP Advies klinische studie gg-T-cellen tegen MAGE-C2 tumor cellen.

Geachte mevrouw Van Nieuwenhuizen,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende de vergunningaanvraag IM-MV 19-004_000 met de titel 'Clinical testing of MC2 TCR T cells, an autologous cellular immunotherapy composed of autologous T cells genetically modified ex vivo to express a T cell receptor (TCR) that, upon reinfusion into the patient, recognize and kill MAGE-C2 (MC2)-expressing tumor cells' van het Erasmus MC, deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is gevraagd om te adviseren over de milieurisico's van een klinische studie met genetisch gemodificeerde (gg-)T-cellen in patiënten met hematologische en solide tumoren. De patiënten worden behandeld met lichaamseigen T-cellen die door genetische modificatie een specifieke T-cel receptor (TCR) tot expressie brengen. Deze gg-T-cellen worden vervolgens teruggebracht in de patiënt om een effectieve afweerreactie tegen de ziekte te bewerkstelligen.

Mogelijke risico's die bij een dergelijke klinische studie kunnen optreden, hebben vooral betrekking op de eventuele vorming en verspreiding van replicatiecompetent retrovirus (RCR) en de aanwezigheid van vrije virale vectordeeltjes in het medisch product.

De aanvrager voert testen uit om de aanwezigheid van RCR tijdens de productie van de virale vector en in het medische product uit te sluiten. De COGEM acht deze testen toereikend en acht de kans op de aanwezigheid van RCR in het medische eindproduct verwaarloosbaar klein. Door de kweek- en wasprocedures tijdens de productie van de gg-T-cellen, worden eventueel aanwezige infectieuze vectordeeltjes zodanig verdund, dat de kans op aanwezigheid van infectieuze vectordeeltjes in het medisch product verwaarloosbaar klein is.

Op basis van bovenstaande gegevens is de COGEM van oordeel de risico's voor mens en milieu verbonden aan deze klinische studie met deze gg-T-cellen 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
Vorzitter COGEM

c.c. Dr. J. Westra, Hoofd Bureau ggo
 Mr. J.K.B.H. Kwisthout, Ministerie van IenW
 Dr. D.A. Bleijs, Loket Gentherapie

Met het oog op eventuele belangenverstremgeling is het COGEM lid prof. dr. C. M. F. Dirven niet betrokken geweest bij de besluitvorming over dit advies.

Klinische studie met retroviraal getransduceerde T-cellen gericht tegen MAGE-C2 maligniteiten

COGEM advies CGM/190722-01

1. Inleiding

De COGEM is gevraagd om te adviseren over een aanvraag (IM-MV 19-004) voor een klinische studie waarbij genetisch gemodificeerde (gg-)T-cellen worden toegediend aan patiënten met hematologische en solide tumorcellen. De gg-T-cellen (MC2 TCR16 T-cellen) worden vervaardigd door patiëntspecifieke, lichaamseigen T-cellen *ex vivo* te transduceren met een replicatie-deficiënte retrovirale vector. Deze vector bevat sequenties voor de TCR16 T-cel receptor gericht tegen MAGE-C2 (MC2), een antigeen dat tot expressie komt in bepaalde solide en hematologische tumoren. De gg-T-cellen worden vervolgens teruggeplaatst in de patiënt om de ziekte te behandelen. Het doel van de klinische studie is om de veiligheid en werkzaamheid van de MC2 TCR16 gg-T-cellen te onderzoeken. De werkzaamheden voor deze studie zullen worden uitgevoerd in het Erasmus MC. Tevens zal deze vergunning ook toekomstige klinische studies met het MC2 TCR16 T-celproduct omvatten.

1.1 Achtergrondinformatie

De afgelopen jaren zijn er verschillende vergunningaanvragen beoordeeld voor klinische studies waarbij retro- of lentiviraal getransduceerde gg-T-cellen ingezet worden als immunotherapie tegen (voornamelijk) hematologische maligniteiten,^{o.a. 1,2,3,4,5,6,7} of solide tumoren.^{3,8} Het therapeutische doelwit in de huidige vergunning aanvraag, ‘melanoma-associated antigen-encoding’ (MAGE) C2 (MC2), is een ‘cancer germline antigeen’ dat tot expressie komt in verschillende solide en hematologische tumoren (zoals melanomen en hoofd- en nekplaveiselcelcarcinomen⁹) en in testis^{10,11} maar niet in gezonde somatische weefsels.^{9,12}

De T cell receptor (TCR) aanwezig op T-cellen bestaat uit een heterodimeer van ofwel een α - en β -keten ($\alpha\beta$ TCR) óf een γ - en δ -keten ($\gamma\delta$ TCR). Verreweg de meeste T-cellen hebben $\alpha\beta$ TCRs. De TCR staat in verbinding met andere membraangebonden eiwitten die het signaal van een geactiveerde TCR binnen de cel doorgeven.¹³ De sequentie van de $\alpha\beta$ TCR16 is oorspronkelijk afkomstig van een antitumor T-cel kloon van een melanoompatiënt.¹⁴ Binding van $\alpha\beta$ TCR16 aan MC2 antigenen induceert (gg-)T-cel activatie en productie van cytokines waardoor cellen die MC2 tot expressie brengen vernietigd worden.

Voor de productie van gg-T-cellen worden lenti- of retrovirale vectoren gebruikt. In de onderhavige aanvraag wordt gebruik gemaakt van een retrovirale vector, afgeleid van het Moloney Murine leukemia virus (MoMLV; een stam van het *Murine leukemia virus* (MLV)). Het MoMLV is een ecotroop muizengammaretrovirus dat leukemie kan veroorzaken bij muizen. Het virus is echter alleen pathogeen wanneer de infectie optreedt in pasgeboren muizen en er sprake is van meerdere integraties in het genoom en persisterende viremie.¹⁵ Tot op heden is er geen bewijs gevonden dat MoMLVs en andere gammaretrovirussen infecties in mensen kunnen veroorzaken en ook zijn er geen causale

verbanden tussen blootstelling aan MoMLV virussen en ziekte bij mensen aangetoond.^{15,16} De aanvrager is voornemens om met behulp van een replicatie-deficiënte gepseudotyperde retrovirale vector gg-T-cellen te genereren die de TCR16 tot expressie brengen. Omdat MoMLV alleen muizencellen kan infecteren, wordt de vector gepseudotyperd met een amfotroop envelopeiwit voor een efficiënte transductie van de T-cellen.¹⁷ De aanvragers verwijst hierbij naar een envelopeiwit afkomstig van stam 1047A. Echter, deze stam kan niet herleid worden en lijkt niet te bestaan. Voor de expressie van het envelopeiwit wordt volgens de aanvrager gebruik gemaakt van de plasmide pCMV-EA, wat codeert voor het amfotroop envelopeiwit van retrovirus murine leukemia virus 4070A. De COGEM merkt op dat de aanvrager onduidelijkheid schept over de pseudotypering en dat geverifieerd dient te worden bij de aanvrager welk envelopeiwit is gebruikt. In de rest van het advies wordt uitgegaan van envelopeiwit 4070A.

1.2 Productie van de replicatie-deficiënte retrovirale vector

De backbone van de retrovirale vector die gebruikt wordt voor de transductie van de autologe T-cellen (MP71) is eerder onder andere toegepast voor de klinische studie IM_MV 16-011 (TEG001)³, waarover de COGEM in 2017 heeft geadviseerd. In de onderhavige studie is echter een andere expressiecassette in de MP71 plasmide gekloneerd. MP71 is replicatie-deficiënt omdat de *gag*, *pol* en *env* genen uit het vectorgenoom verwijderd zijn. MP71 is afgeleid van de retrovirale vector plasmide SF1 die gebaseerd is op de dl587rev mutant van MoMLV. De 5' en 3' long terminal repeats (LTRs) van de MP71 virale vector zijn niet zelf-inactiverend (niet-SIN) en zijn samengesteld uit sequenties van verschillende gammaretrovirussen.

De MC2 TCR16 transgene cassette bestaat uit de sequenties van TCR16 α en TCR16 β waartussen zich een T2A sequentie afkomstig van *Thosea asigna virus* bevindt (TCR16 β -T2A-TCR16 α). De T2A sequentie is een '2A ribosomal skipping sequence' waarvan de aanwezigheid in het gevormde mRNA resulteert in opdeling van dit fragment tijdens de eiwittranslatie, waardoor deze als twee aparte eiwitten in de cel tot expressie komen. Deze eiwitten vormen een heterodimeer en worden getransporteerd naar het oppervlak van het celmembraan van de gg-T-cel. Het $\alpha\beta$ TCR16-complex kan alleen aanwezig zijn op het celoppervlak van T-cellen, omdat hiervoor co-expressie van CD3 nodig is, dat alleen in T-cellen tot expressie komt. De sequenties van TCR16 α en TCR16 β zijn codon-geoptimaliseerd en gekloneerd in de MP71 plasmide (pMP71-C837). In deze plasmide worden nog enkele overbodige sequenties en restrictie sites gedeleteerd, en andere restrictiesites geïnserieerd, resulterend in de plasmide pMP71 MC2 TCR16.

De virale vector die gebruikt wordt om de T-cellen te transduceren wordt in twee stappen geproduceerd. Eerst wordt de pMP71 MC2 TCR16 plasmide getransfecteerd in 'primary packaging cells' 293Vec-GaLV met twee helperplasmiden; een *gag/pol* expressieplasmide, en de *Gibbon ape leukemia virus* (GaLV) *env* expressieplasmide. Als gevolg hiervan wordt replicatie-deficiënt virus geproduceerd dat gepseudotyperd is met GaLV-*env*. In een tweede stap worden Phoenix Amphi 'secondary packaging cells' (een 293T cellijn die stabiel getransfecteerd is met twee helperplasmiden: de *gag/pol* expressieplasmide en de 'Amphotropic-envelop' expressieplasmide) getransduceerd met de vector geproduceerd in de eerste stap. Als gevolg van deze tweede stap ontstaat replicatie-deficiënt

virus, dat gepseudotypeerd is met het envelopeiwit van het retrovirus amphotropic murine leukemia virus 4070A. Uit de 2^e stap wordt de meest productieve celkloon geselecteerd om de Master Cell Bank (MCB) te creëren voor de productie van de vector die gebruikt worden om de T-cellen te transduceren.

1.3 Productie van de gg-T-cellen

Voor de productie van de gg-T-cellen worden T-cellen uit het bloed van de patiënt geïsoleerd, en *ex vivo* getransduceerd met de replicatie-deficiënte retrovirale vector MC2 TCR16. Er wordt ongeveer 1,2 ml MC2 TCR16 retroviraal supernatant per 1×10^6 T-cellen gebruikt voor transductie. Na integratie van het TCR16 gen in het genoom van de gg-T-cellen worden de cellen vermeerderd en gecryopreserveerd. De vectorproductie (virale supernatant) vindt plaats in het buitenland en valt niet onder deze vergunningaanvraag. De productie van de gg-T-cellen (transductie en vermeerdering van gg-T-cellen) vindt plaats in het Erasmus MC, maar valt eveneens niet onder deze vergunningaanvraag. De gg-T-cellen worden vervolgens via infusie teruggebracht in de patiënt.

2. Voorgenomen werkzaamheden

De autologe gg-T-cellen worden toegediend aan patiënten met hematologische en solide maligniteiten waarbij het MAGE-C2 tot expressie komt. In de eerste fase I-II klinische studie zullen 18 tot 28 patiënten met metastaserend melanoom of hoofd- en nek-plaveiselcelcarcinoom deelnemen. Hierop volgende klinische studies met MC2 TCR16 zullen ook onderdeel uitmaken van deze vergunning. In totaal zullen er maximaal 100 patiënten deelnemen. De MC2 TCR16 T-cellen zullen via intraveneuze infusie toegediend worden. Voor de eerste klinische toepassingen hanteert de aanvrager een dosering van 1×10^8 tot maximaal 5×10^{10} MC2 TCR16 T-cellen. De aanvrager hanteert daarbij als criterium dat patiënten met acute of chronische infectie met HIV-1, HIV-2, HTLV-1 of HTLV-2, of de hepatitisvirussen HBV of HCV uitgesloten worden van deelname. Bij deelname aan deze klinische studie wordt aangegeven dat de patiënten na toediening van de gg-T-cellen levenslang geen bloed, bloedproducten en organen mogen doneren. Naar aanleiding van een aanvullende vraag van BGGO heeft de aanvrager aangegeven dat zwangere vrouwen of vrouwen die borstvoeding geven uitgesloten zijn van deze studie en dat voor vrouwen in de vruchtbare leeftijd een negatieve zwangerschapstest is vereist één week voorafgaand aan de studie.

Medisch personeel zal universele voorzorgsmaatregelen voor werkzaamheden met lichaamsvloeistoffen en de standaard procedures voor celtherapie opvolgen (WIP-Richtlijn Gentherapie¹⁸). Op verschillende momenten zal bloed (en optioneel tumor bipten) afgenomen worden van de patiënten om TCR expressie en T-cel fenotype te bepalen met immunologische analyses.

3. Overweging

In de onderhavige aanvraag worden gg-T-cellen toegediend aan patiënten met hematologische en solide maligniteiten waarbij het MAGE-C2 tot expressie komt. Mogelijke risico's die hierbij kunnen optreden, hebben betrekking op (1) de eventuele vorming van RCR of recombinant virus, (2) de aanwezigheid van vrije vectordeeltjes en (3) de effecten van mogelijke verspreiding van de gg-T-cellen in het milieu. Door verspreiding zouden andere personen dan de deelnemende patiënten gecontamineerd kunnen raken met de gg-T-cellen of geïnfecteerd kunnen worden met een

recombinant virus. Om eventuele milieurisico's die hieruit voortvloeien te kunnen beoordelen, is een karakterisering van de gg-T-cellen van belang.

3.1 Moleculaire karakterisering

De COGEM heeft in 2013 criteria voor de moleculaire karakterisering van ggo's voor medische toepassingen vastgesteld. Hierin staat vermeld dat het insert in het ggo volledig gesequenced dient te worden. De sequentieanalyse dient het insert met eventueel gebruikte recombinatiesequenties te omvatten en dient aan weerszijden van het insert enkele tientallen nucleotiden door te lopen in het genoom van het acceptororganisme.¹⁹

Voor de productie van het medisch product worden van iedere patiënt de lichaamseigen T-cellen gebruikt. Hierdoor is het medische product voor iedere patiënt uniek. Aangezien de integratie-sites van de retrovirale vector in het gastheergenoom tot op zekere hoogte willekeurig zijn, zorgt dit binnen het medische product voor verschillen tussen de getransduceerde cellen onderling. De COGEM sluit niet uit dat er tijdens het productieproces van het medische product enkele puntmutaties in het geïntegreerde virale vectorgenoom in de T-cellen ontstaan. Echter deze puntmutaties hebben geen invloed op de milieurisicobeoordeling omdat de mutaties geen gevolgen kunnen hebben voor mogelijke verspreiding van het ggo.

De aanvrager heeft de identiteit van de pMP71-MC2 TCR16 vector die gebruikt is om de MCB te genereren (transductie van de 'primary packaging' cellijn) eveneens volledig gesequenced en deze is 100% identiek bevonden aan de referentiesequentie.

In de MCB is het 'MC2 TCR16 insert' (provirale DNA met TCR16 β -T2A-TCR16 α expressie cassette) geïncorporeerd in het genoom. De aanvrager heeft met behulp van 'targeted locus identification' (TLA) en 'next generation sequencing' (NGS) de exacte sequentie van het transgen TCR16 β -T2A-TCR16 α in de MCB vastgesteld. Vergelijking van de sequentie van het transgen en de MC TCR16 referentiesequentie toonde aan dat de sequenties 100% identiek zijn. Er zijn door de aanvrager acht mutaties in de MCB geïdentificeerd, waaronder drie deleties en één insertie, en waarvan de aanvrager stelt dat ze geen milieurisico vormen omdat ze zich in niet-coderende regio's buiten het 'MC2 TCR16 insert' bevinden (in de LTRs of 'packaging sequence').

Uit 'integration site analysis' is gebleken dat er twee kopieën van MC2 TCR16 aanwezig zijn in de MCB. De eerste kopie is geïntegreerd in chr11: 628.465 – 628.468 in het tweede exon van het MUS81 gen, en de tweede kopie bevindt zich op chr13: 101.244.787 – 101.244.886, waar zich volgens de aanvrager geen geannoteerde genen bevinden.

De sequentie van het insert wordt niet in elk eindproduct (de gg-T-cellen) gecontroleerd. Met het oog op de genoemde verschillen tussen de getransduceerde cellen acht de COGEM een exacte moleculaire karakterisering van de gg-T-cellen praktisch gezien niet haalbaar. De COGEM is van mening dat de kans verwaarloosbaar klein is dat deze beperking in de moleculaire karakterisering van de gg-T-cellen tot een misrekening kan leiden in de milieurisicobeoordeling.

De aanvrager heeft de vier helperplasmiden volledig gesequenced en sequentiegegevens zijn overlegd. De COGEM is van oordeel dat de aanvrager de moleculaire karakterisering afdoende heeft uitgevoerd.

3.2 De kans op vorming van RCR of recombinant virus

Een mogelijk risico bij de productie van retrovirale vectordeeltjes is het ontstaan van RCR. In theorie zou RCR kunnen ontstaan door recombinatie tussen de verschillende plasmiden benodigd voor de productie van de virale vector, of met endogene retrovirussequenties die in het genoom van de gebruikte cellijn aanwezig zijn.

Vorming van RCR tijdens de productie van de virale vector

In deze aanvraag wordt gebruik gemaakt van een retrovirale vector waar de genen die essentieel zijn voor de levenscyclus van het virusdeeltje, *gag*, *pro*, *pol* en *env*, uit zijn verwijderd. De vector is hierdoor niet meer in staat om zelfstandig te repliceren. De genen voor deze virale eiwitten bevinden zich op helperplasmiden die in de cellijn getransfecteerd worden. Omdat de essentiële genen zich niet in de vector bevinden, zijn er meerdere recombinaties nodig om een replicatiecompetente vector te verkrijgen en wordt de kans op het ontstaan van RCR verminderd.²⁰ Het risico kan verder verkleind worden door minimalisatie van de sequentieovereenkomst tussen de vector, helperplasmiden en de ‘packaging’ cellijnen. De aanvrager stelt dat de sequentieovereenkomst tussen MC2 TCR16 proviraal DNA in de primary packaging cells en de *gag/pol* en *env* plasmiden zeer klein is. In de ‘secondary packaging cells’ is geen homologie gedetecteerd (van >10 bp) tussen het provirale MC2 TCR16 DNA en de helperplasmiden.

Hoewel voor de reconstructie van het gehele retrovirale genoom meerdere recombinatie ‘events’ nodig zijn om een infectieus virusdeeltje te construeren, is de COGEM van oordeel dat theoretisch gezien de kans op het ontstaan van RCR bij de productie van de virale vector niet geheel uit te sluiten is. Daarom is een RCR test ter bevestiging van de theoretische risicoanalyse noodzakelijk. De aanvrager geeft aan dat het MC2 TCR16 virale supernatant getest wordt op RCR met behulp van een PG4 S+L- assay en dat deze test negatief dient te zijn voor ‘release’. De aanvrager stelt dat de gevoeligheid van deze test één RCR per 60ml betreft, en concludeert dat er minder dan één RCR aanwezig is per 600 ml supernatant. Ter verdere validatie zijn tevens de MCB cellen, de ‘end of production’ (EOP) cellen en de MC2 TCR T-cel producten van 3 ‘process validations’ getest op RCR door middel van een ‘PG4 S+L- endpoint assay’ en negatief bevonden. Uit deze testen concludeert de aanvrager dat er minder dan één RCR per 10^8 geteste cellen aanwezig is (gevoeligheid één RCR per 10^8 geteste cellen). De aanvrager stelt dat testen op RCR niet routinematig voor elk MC2 TCR16 T-cel product gebeurt. De aanvrager stelt eveneens dat tot op heden nog geen RCR is aangetoond in andere studies waar retrovirale vectoren zijn toegepast.²⁰

De COGEM acht de PG4 S+L- assay gevoelig genoeg om RCR te detecteren in het virale supernatant en is van oordeel dat de kans op de aanwezigheid van RCR verwaarloosbaar klein is.

Recombinatie of complementatie van de vector in het medisch product

In theorie zou recombinatie met of complementatie van de virale vector ook kunnen plaatsvinden in de getransduceerde T-cellen met mogelijk het ontstaan van RCR of recombinant virus tot gevolg. Een

eerste vereiste hiervoor is de aanwezigheid van een verwant lenti- of retrovirus in dezelfde cel als de retrovirale vector, die de verloren functies van de vector kan complementeren of waarmee deze kan recombineren. De aanvrager geeft aan dat patiënten met acute of chronische infectie met HIV (en daarnaast ook HTLV, of de hepatitisvirussen HBV en HCV) uitgesloten worden van deelname.

Bij een mogelijke retrovirale infectie van de patiënt na toediening van de gg-T-cellen acht de COGEM de kans op een milieurisico verwaarloosbaar klein, omdat een muizengammaretrovirus (MoMLV) vanwege beperkte sequentiehomologie niet gecomplementeerd kan worden door humane lentivirussen of endogene retrovirussen.

Op grond van bovenstaande acht de COGEM de kans op de aanwezigheid recombinant virus door recombinatie of complementatie in de getransduceerde T-cellen verwaarloosbaar klein.

3.3 Aanwezigheid van vrije vectordeeltjes

Na transductie van de T-cellen kunnen vrije vectordeeltjes in het te testen medisch product achterblijven. In het geval van calamiteiten zouden deze vrije vectordeeltjes naar derden kunnen verspreiden, zoals bij een prikincident waardoor de behandelend arts of het verplegend personeel hiermee besmet kan raken. Door de kweek- en wasprocedures die worden gevolgd, voordat het uiteindelijke medisch product wordt verkregen, kan het aantal vrije vectordeeltjes worden gereduceerd. De COGEM heeft in 2009 een formule opgesteld om de reductie van de vectordeeltjes als gevolg van de kweek- en wasprocedures te kunnen berekenen en hanteert daarbij een reductieratio van minimaal 100.²¹ Uitgaande van een halfwaardetijd van 10 uur bij 37°C voor vectordeeltjes gepseudotyperd met het envelop eiwit van Murine leukemia virus 4070A retrovirus,²² geeft de aanvrager aan dat er maximaal 0,0048 vectordeeltjes per toe te dienen batch aanwezig zijn, bij een maximaal aantal virusdeeltjes in het inoculum van $2,4 \times 10^9$. Dit komt overeen met een virusreductieratio van 211. De COGEM merkt op dat er in het advies enkele inconsistenties zijn wat betreft het aantal wasstappen en het aantal dagen kweektijd. De aanvrager vermeldt dat er 10 dagen kweektijd gehanteerd wordt, maar gebruikt in de formule 9 dagen. Ook geeft de aanvrager op verschillende plaatsen in het dossier aan dat er ofwel 4 wasstappen, of minimaal 3 wasstappen plaatsvinden. Bij de berekening van de virusreductieratio is rekening gehouden met 4 wasstappen en 9 dagen kweektijd. Bij 10 dagen kweektijd zal de virusreductieratio nog hoger worden (1118) en het aantal vrije vectordeeltjes verder afnemen (0,00089). Wanneer er minder dan 4 wasstappen plaatsvinden, zal de berekende virusreductieratio onder het gestelde minimum van de COGEM (i.e., 100) uitkomen.

De COGEM is van oordeel dat onder de voorwaarde dat er 4 wasstappen plaatsvinden, de kans dat er infectieuze vrije vectordeeltjes in het preparaat aanwezig zullen zijn, op basis van de uitkomst van de door haar opgestelde formule om het aantal vrije vectordeeltjes in te schatten, verwaarloosbaar klein is.

3.4. Effecten van de mogelijke blootstelling van het milieu aan de getransduceerde T-cellen

Gg-T-cellen kunnen zich buiten het lichaam niet handhaven en worden niet uitgescheiden via speeksel, urine of feces. Overdracht van gg-T-cellen vanuit de patiënt naar andere personen kan echter wel plaatsvinden door prikincidenten, donatie van weefsels/organen of bloed, overdracht via de placenta (naar ongeboren kind), via moedermelk, of via het semen (seksueel contact).^{23,24}

Recent heeft de COGEM een onderzoek laten uitvoeren naar de potentiële overdracht van gg-T-cellen naar derden en de mogelijke effecten waarmee dit gepaard kan gaan.²⁴ Uit studies blijkt dat getransduceerde T-cellen maanden of zelfs jaren na toediening nog gedetecteerd kunnen worden in patiënten.^{25,26,27,28,29,30,31} In een enkele studie zijn 11 jaar na toediening nog gg-T-cellen ontdekt, met een geschatte halfwaardetijd van meer dan 16 jaar.³² De COGEM acht het aannemelijk dat gg-T-cellen na toediening langere tijd (meerdere jaren) kunnen persisteren in het lichaam.

Op basis van de informatie uit het onderzoeksrapport en de wetenschappelijke literatuur signaleerde de COGEM dat overdracht van gg-T-cellen na gg-T-cel therapie in specifieke gevallen een potentieel risico voor derden kan vormen, mede afhankelijk van de specifieke modificaties van de receptor op de gg-T-cel. Bij overdracht via prikincidenten, semen en bloeddonatie is het verwachte effect verwaarloosbaar klein omdat overgedragen gg-T-cellen door het afweersysteem van de ontvanger vernietigd zullen worden. Bij overdracht via weefsel-/orgaan-/stamceldonatie, borstvoeding of de placenta kan niet uitgesloten worden dat gg-T-cellen een schadelijk effect kunnen veroorzaken in de ontvanger. De gevolgen van blootstelling aan gg-T-cellen via de placenta (ongeboren kind), borstvoeding (pasgeborenen) of door transplantatie van weefsels, organen of stamcellen zijn vooralsnog lastig te bepalen. Deze kunnen vergelijkbaar zijn met die van de beoogde patiënt, maar zijn mede afhankelijk van de specifieke geïntroduceerde receptor op de gg-T-cel.²⁴

De aanvrager heeft bij de beantwoording van aanvullende vragen aangegeven dat zwangere vrouwen en vrouwen die borstvoeding geven uitgesloten zijn van deelname aan de studie. Verder worden patiënten die deelnemen aan de studie geïnstrueerd om na toediening van de gg-T-cellen levenslang geen bloed, bloedproducten en organen te doneren. De COGEM merkt op dat een verbod op weefseldonatie niet expliciet wordt genoemd in het aanvraagformulier. Omdat er bij de contra-indicaties van de transplantatiestichting die gelden voor weefseldonatie geen uitspraak gedaan wordt over donatie na plaveiselcelcarcinoom (met metastasen), adviseert de COGEM om naast de genoemde donatievormen ook weefseldonatie uit te sluiten.

De COGEM signaleert dat het van belang is dat de vergunningaanvrager vrouwelijke patiënten in en voor de fertile leeftijd informeert over de overdracht van gg-T-cellen aan eventuele (ongeboren) kinderen ten tijde van zwangerschap en borstvoeding. De COGEM heeft recent een signalering en onderzoeksrapport gepubliceerd waarin verder ingegaan wordt op de problematiek rond mogelijke overdracht van gg-T-cellen.^{1,23,24} De COGEM signaleert dat de betrokken instanties zich bewust moeten zijn van deze problematiek en met elkaar hierover in overleg moeten treden.

4. Conclusie

De aanvrager is van plan een klinische studie uit te voeren waarin retroviraal getransduceerde T-cellen worden gebruikt die door de expressie van de MAGE C2-specifieke $\alpha\beta$ TCR16 het MC2 antigeen herkennen dat aanwezig is op verschillende solide en hematologische tumorcellen. Risico's die hierbij kunnen optreden, hebben betrekking op de eventuele vorming en de verspreiding van RCR of recombinant virus, de aanwezigheid van vrije vectordeeltjes in het toe te dienen product, en de effecten van de mogelijke verspreiding van de getransduceerde T-cellen in het milieu.

Op basis van de aangeleverde informatie acht de COGEM de moleculaire karakterisering afdoende. Op voorwaarde dat de aanvrager bevestigt dat de amfotrope envelop 4070A is gebruikt voor de pseudotypering en er 4 wasstappen plaats hebben gevonden bij het verkrijgen van het medische product, acht de COGEM het aantal vrije vectordeeltjes in de MC2 TCR16-T-cellen voldoende gereduceerd. Daarnaast beschouwt zij de kans op de aanwezigheid van RCR of recombinant virus in het medische product verwaarloosbaar klein. De COGEM is daarom van oordeel dat de milieurisico's verbonden aan deze klinische studie met retrovirale-vector getransduceerde T-cellen verwaarloosbaar klein zijn.

Referenties

1. COGEM (2018). Klinische studie met lentiviraal getransduceerde T-cellen (JCAR017) tegen B-cel maligniteiten. COGEM advies CGM/180612-01
2. COGEM (2018). Klinische studie met retroviraal getransduceerde T-cellen tegen hematologische maligniteiten. COGEM advies CGM/180103-02
3. COGEM (2017). Klinische studie met TEG001 ter behandeling van hematologische en solide tumoren. COGEM advies CGM/171013-02
4. COGEM (2016). Klinische studie met getransduceerde T-cellen tegen B-cel maligniteiten. COGEM advies CGM/161130-01
5. COGEM (2016). Klinische studie met lentiviraal getransduceerde T-cellen tegen B-cel maligniteiten. COGEM advies CGM/160229-01
6. COGEM (2018). Klinische studie met lentiviraal getransduceerde T-cellen (KITE-585) tegen B-cel maligniteiten. COGEM advies CGM/181206-01
7. COGEM (2018). Klinische studie met lentiviraal getransduceerde T-cellen (JCAR017) tegen B-cel maligniteiten (Princes Máxima Centrum). COGEM advies CGM/181231-01
8. COGEM (2011). Klinische studie met retroviraal getransduceerde humane T-lymfocyten. COGEM advies CGM/110831-01
9. Kunert A *et al.* (2016). MAGE-C2-Specific tcrs combined with epigenetic drug-enhanced antigenicity yield robust and tumor-selective T cell responses. *J. Immunol.* 197: 2541-2552
10. Lucas S *et al.* (2000). MAGE-B5, MAGE-B6, MAGE-C2, and MAGE-C3: four new members of the MAGE family with tumor-specific expression. *Int J Cancer* 87: 55-60.

11. Hofmann *et al.* (2008). Genome-wide analysis of cancer/testis gene expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105:20422-20427
12. Kunert A *et al.* (2017). T-cell receptors for clinical therapy: in vitro assessment of toxicity risk. *Clin. Cancer Res.* 23: 6012-6020
13. Alberts B *et al.* (2002). Chapter 24: The adaptive immune system cells and MHC proteins. In: *Molecular biology of the cell*, 4th edition. Ed. Gibbs S, Garland Science, Taylor & Francis Group, New York
14. Lurquin C *et al.* (2005). Contrasting frequencies of antitumor and anti-vaccine T cells in metastases of a melanoma patient vaccinated with a MAGE tumor antigen. *J. Exp. Med.* 201: 249-57.
15. Molony murine leukemia virus safety data sheet.
<https://healthsciences.ucsd.edu/som/pediatrics/research/labs/miyanohara-lab/safety/Pages/moloney-murine.aspx> (bezoekt: 5-10-2017)
16. Brooks J *et al.* (2012). No evidence of cross-species transmission of mouse retroviruses to animal workers exposed to mice. *Transfusion* 52: 317-325
17. Swift S *et al.* (2001). Rapid production of retroviruses for efficient gene delivery to mammalian cells using 293T cell-based systems. *Curr. Protoc. Immunol.* Ch.10: Unit 10.17C.
18. WIP-Richtlijn Genterapie (2013). ed. RIVM, pp 11. <https://www.rivm.nl/sites/default/files/2018-11/genterapie%20080619-disclaimer.pdf> (bezoekt: 17 juni 2019)
19. COGEM (2013). Criteria voor moleculaire karakterisering van ggo's voor medische en veterinaire toepassing. COGEM advies CGM/130227-05
20. Bear AS *et al.* (2012). Replication-competent retroviruses in gene-modified T cells used in clinical trials: is it time to revise the testing requirements? *Mol. Ther.* 20: 246-249
21. COGEM (2009). Inschaling van laboratoriumwerkzaamheden met lentivirale vectoren. COGEM advies CGM/090331-03
22. Ghani, K., *et al.* (2009). Efficient human hematopoietic cell transduction using RD114- and GALV-pseudotyped retroviral vectors produced in suspension and serum-free media. *Hum. Gene Ther.* 20: 966-974
23. Bergmans H *et al.* (2018). Milieurisicoanalyse van klinische toepassingen van genetisch gemodificeerde T-cellen. COGEM onderzoeksrapport 2018-5
24. COGEM (2019). Immunotherapie met genetisch gemodificeerde T-cellen: onbedoelde blootstelling en potentiële risico's. COGEM signalering CGM/190227-01
25. Morgan RA *et al.* (2006). Cancer regression in patients after transfer of genetically engineered lymphocytes. *Science* 314: 126-129
26. Porter DL *et al.* (2011). Chimeric antigen receptor-modified T cells in chronic lymphoid leukemia. *N. Engl. J. Med.* 365: 725-733
27. Kalos M *et al.* (2011). T Cells with chimeric antigen receptors have potent antitumor effects and can establish memory in patients with advanced leukemia. *Sci. Transl. Med.* 3: 95ra73
28. Maude SL *et al.* (2014). Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia. *N. Engl. J. Med.* 371: 1507-1517

29. Oliveira G *et al.* (2015). Tracking genetically engineered lymphocytes long-term reveals the dynamics of T cell immunological memory. *Sci. Transl. Med.* 7: 317ra198.
30. Walker RE *et al.* (2000). Long-term in vivo survival of receptor-modified syngeneic T cells in patients with human immunodeficiency virus infection. *Blood* 96: 467-474
31. Mitsuyasu RT *et al.* (2000). Prolonged survival and tissue trafficking following adoptive transfer of CD4zeta gene-modified autologous CD4(+) and CD8(+) T cells in human immunodeficiency virus-infected subjects . *Blood* 96: 785-793
32. Scholler J *et al.* (2012). Decade-long safety and function of retroviral-modified chimeric antigen receptor T cells. *Sci. Transl. Med.* 4: 132ra53