

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

DATUM 26 juli 2019
KENMERK CGM/190726-01
ONDERWERP Advies Klinische studie met lentiviraal getransduceerde T-cellen (bb2121) ter behandeling van multipel myeloom

Geachte mevrouw Van Nieuwenhuizen,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende de vergunningaanvraag IM-MV 19-005_000 getiteld: 'Clinical trials testing bb2121, consisting of autologous T lymphocytes ex-vivo transduced by a replication-defective lentiviral vector to express anti-BCMA chimeric antigen receptors (CAR) to target tumor cells expressing the human B cell maturation antigen (BCMA), in patients with multiple myeloma' van het Erasmus Medisch Centrum, 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 bloedkanker. De patiënten worden behandeld met lichaamseigen T-cellen die door genetische modificatie een chimere antigen receptor (CAR) 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 dergelijke klinische studies kunnen optreden, hebben vooral betrekking op de eventuele vorming en verspreiding van replicatiecompetent lentivirus (RCL) en de aanwezigheid van vrije virale vectordeeltjes in het medisch product.

De aanvrager voert meerdere testen uit om de aanwezigheid van RCL 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 RCL in het medische eindproduct, mede gezien het gebruikte productiesysteem, 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
Voorzitter COGEM

c.c. Dr. J. Westra, Hoofd Bureau ggo
 Mr. J.K.B.H. Kwisthout, Ministerie van IenW
 Dr. B.M. te Riet-Schulte, Loket Gentherapie

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

Klinische studie met lentiviraal getransduceerde T-cellen (bb2121) ter behandeling van multipel myeloom

COGEM advies CGM/190726-01

1. Inleiding

De COGEM is gevraagd om te adviseren over een aanvraag (IM-MV 19-005) voor een klinische fase III studie waarbij genetisch gemodificeerde (gg-)T-cellen (bb2121) worden toegediend aan patiënten met recidief en refractair multipel myeloom (RRMM). Deze vorm van bloedkanker brengt het 'B-cell maturation antigen' (BCMA) tot expressie. Bb2121 wordt vervaardigd door patiëntspecifieke, lichaamseigen T-cellen *ex vivo* te transduceren met een replicatie-deficiënte lentivirale zelf-inactiverende (SIN) vector. Deze vector bevat sequenties voor een 'chimere antigen receptor' (CAR) gericht tegen BCMA, dat aanwezig is op het celoppervlak van specifieke (maligne) B-cellen. De gg-T-cellen worden vervolgens teruggeplaatst in de patiënt om de ziekte te behandelen. Het doel van de klinische fase III studie is om de veiligheid en werkzaamheid van bb2121 te onderzoeken. De werkzaamheden voor deze studie zullen worden uitgevoerd in het Erasmus Medisch Centrum.

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) B-cel maligniteiten.^{o.a. 1,2,3,4,5,6,7,8} B-cellen (ook wel B-lymfocyten genoemd) worden in het beenmerg gevormd en zijn onderdeel van het humorale immuunsysteem van gewervelden. In de mens komen verschillende typen B-cellen voor met ieder een unieke B-cel receptor op hun celmembraan.⁹ Het therapeutische doelwit in de huidige vergunning aanvraag, BCMA, is van nature aanwezig op het celoppervlak van plasmacellen, specifieke B-cellen, en plasmacytoïde dendritische cellen, maar komt in multiple myeloomcellen en bij andere B-cel maligniteiten in hogere mate tot expressie.

Voor de productie van gg-T-cellen worden retro- of lentivirale vectoren gebruikt. In de onderhavige aanvraag wordt gebruik gemaakt van een zelf-inactiverende (SIN) lentivirale vector, afgeleid van het *Human immunodeficiency virus 1* (HIV-1). Het genoom van HIV-1 heeft aan weerszijden een Long Terminal Repeat (LTR). Daarnaast bevat het genoom een 'packaging' signaal (ψ), drie structurele genen (*gag*, *pol* en *env*), vier accessoire genen (*vif*, *vpr*, *vpu* en *nef*) en twee regulatoire genen (*tat* en *rev*).¹⁰

Van nature infecteert HIV-1 de verschillende cellen van het immuunsysteem zoals T-lymfocyten, macrofagen en monocytten. Voor een bredere toepasbaarheid van lentivirale vectoren wordt het gastheerbereik meestal uitgebreid door pseudotypering van de lentivirale deeltjes met een oppervlakte eiwit (glycoproteïne) van Vesicular stomatitis Indiana virus (VSIV) (species: *Indiana vesiculovirus*, voorheen Vesicular stomatitis virus (VSV)). Ook in de onderhavige aanvraag is het VSIV glycoproteïne (VSIV-G, voorheen VSV-G) gebruikt voor een efficiënte transductie van de T-cellen.

1.2 Productie van de replicatie-deficiente lentivirale SIN vector

De lentivirale vector die gebruikt wordt voor de transductie van de autologe T-cellen, wordt geproduceerd door de verschillende virusgenen op te splitsen en te verdelen over vier verschillende plasmiden. Deze plasmiden worden gezamenlijk in HEK293T cellen (humane embryonale niercellen) getransfecteerd om vectordeeltjes te produceren.^{10,11} Door deze opsplitsing wordt de kans op het ontstaan van replicatiecompetent lentivirus (RCL) tijdens de productie van de lentivirale vector gereduceerd. Ook is bij de vector in de huidige aanvraag een deel van de 3'LTR verwijderd (SIN vector),^{12,13} waardoor de kans op mobilisatie van de vector uit het genoom van de gastheer aanzienlijk gereduceerd wordt. Verder is de originele 5' LTR vervangen door een chimere niet-intacte 5' LTR, met een promotor van human cytomegalovirus (CMV) in plaats van de U3 regio van de 5'LTR. Omdat bij integratie van het transgen in de HEK293T cellen het 3'SIN construct gedupliceerd wordt (en daarmee de 5'LTR vervangen wordt), zal de CMV promotor niet integreren in het celproduct.

De transferplasmide pBB-BCMA02 codeert voor het genoom van de bovenbeschreven lentivirale vector en bevat onder meer een human CMVp-R-U5, een 3'LTR-SIN, het 'packaging' (ψ) signaal, een deel van het *gag* gen, een 'central polypurine tract (cPPT)', het 'Rev Response element' (RRE), en de transgene (CAR) sequentie. Het anti-BCMA CAR gen is samengesteld uit het signaalpeptide van humaan CD8 α , BCMA 'targeting domains', de 'hinge' en het transmembraandomein van humaan CD8 α , een humaan CD137 cytoplasmatisch domein en een humaan CD3 ζ cytoplasmatisch domein. Het anti-BCMA CAR gen staat onder controle van een 'myeloproliferative sarcoma virus enhancer negative control region deleted, dl587rev primer-binding site substituted U3 promoter' (MNDU3).

Twee helperplasmiden bevatten de coderende sequentie voor HIV componenten die essentieel zijn voor virusproductie; de eiwitten Gag, Pol en Rev. De Rev helperplasmide codeert voor het HIV-1 regulatoire eiwit Rev. De Gag/Pol helperplasmide bevat de coderende sequenties voor de structurele Gag en Pol eiwitten van HIV-1 en bevat daarnaast ook de coderende sequentie voor het accessoire HIV-1 eiwit Vif. De laatste plasmide codeert voor het glycoproteïne afkomstig van VSIV. De overige niet-essentiële accessoire en regulatoire HIV-1 genen (*vpr*, *vpu*, *nef*, *tat*) zijn uit het vectorsysteem verwijderd. Na co-transfectie van HEK293T cellen met de transferplasmide en de drie helperplasmiden wordt een VSIV-G gepseudotyperde lentivirale SIN vector (anti-BCMA02 CAR) geproduceerd waarmee de T-cellen worden getransduceerd.

1.3 Productie van bb2121

Voor de productie van de gg-T-cellen (bb2121) worden T-cellen uit het bloed van de patiënt geïsoleerd, en *ex vivo* getransduceerd met de replicatie-deficiënte lentivirale SIN vector anti-BCMA02 CAR. Na integratie van het CAR gen in het genoom van de gg-T-cellen worden de cellen vermeerderd en gecryopreserveerd. De productie van de gg-T-cellen (vectorproductie, transductie en vermeerdering van gg-T-cellen) vindt plaats in het buitenland en valt niet onder deze vergunningaanvraag. De gg-T-cellen worden vervolgens naar Nederland verscheept en via infusie teruggebracht in de patiënt.

2. Voorgenomen werkzaamheden

Bb2121 wordt via intraveneuze infusie aan maximaal 40 patiënten met multipel myeloom toegediend. Er worden maximaal 540×10^6 getransduceerde cellen toegediend aan de patiënten. De aanvrager

hanteert daarbij als criterium dat patiënten met HIV-1, of met acute of chronische infectie met de hepatitisvirussen HAV, HBV of HCV uitgesloten worden van deelname. Zwangere vrouwen, vrouwen die borstvoeding geven en vrouwen die van plan zijn zwanger te raken tijdens de studie worden door de aanvrager ook uitgesloten van deelname aan de studie.

Getraind medisch personeel zal standaard geldende veiligheidsprocedures opvolgen. Het personeel draagt beschermende kleding en handschoenen tijdens de toediening. Op verschillende momenten zullen monsters (onder meer bloed, beenmerg en tumorbipten) afgenomen worden. Bloedmonsters zullen onder andere getest worden op aanwezigheid van virale sequenties en RCL. Ook wordt de aanwezigheid van gg-T-cellen in bloed gemonitord.

Bij deelname aan deze klinische studie worden de patiënten door de aanvrager geïnstrueerd om na toediening van de gg-T-cellen af te zien van het doneren van bloed, organen, weefsels of cellen voor transplantatie tot minimaal 12 maanden na bb2121 infusie en totdat er met qPCR geen CAR T cellen meer gedetecteerd kunnen worden in twee opeenvolgende testen.

3. Overweging

In de onderhavige aanvraag worden gg-T-cellen (bb2121) toegediend aan patiënten met multipel myeloom waarbij het BCMA tot expressie komt. Mogelijke risico's die hierbij kunnen optreden, hebben betrekking op (1) de eventuele vorming van RCL 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.¹⁴

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 lentivirale vector in het gastheergenoom tot op zekere hoogte willekeurig zijn, zorgt dit binnen het medische product voor verschillen tussen de getransduceerde cellen onderling. Ook kan de COGEM niet geheel uitsluiten dat er tijdens het productieproces van het medische product enkele puntmutaties in het in de T-cellen geïntegreerde virale vectorgenoom ontstaan. De aanvrager heeft de transferplasmide pBB-BCMA02 en de drie helperplasmiden volledig gesequenced en geeft aan dat plasmides alleen gebruikt mogen worden voor de productie van anti-BCMA02 CAR LVV (vectorbatch) als de sequenties van de inserts 100% identiek zijn aan de referentiesequentie. De sequentie van het geïntegreerde provirale genoom van de anti-BCMA-2 CAR lentivirale vector wordt

met PCR en DNA sequencing bepaald. Hiertoe wordt een human osteosarcoma (HOS) cellijn getransduceerd met anti-BCMA-2 CAR LVV, de cellen worden meerdere dagen gepasseerd waarna het DNA wordt geïsoleerd en gezuiverd. Een anti-BCMA02 CAR LVV vectorbatch wordt alleen vrijgegeven als de provirale sequentie 100% identiek is aan de referentiesequentie. De aanvrager merkt hierbij op dat vanwege technische redenen niet 100%, maar 98% van het anti-BCMA02 CAR provirale genoom gesequenced kon worden.

De sequentie van het insert wordt niet in elk bb2121 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 COGEM is van oordeel dat de aanvrager de moleculaire karakterisering afdoende heeft uitgevoerd.

3.2 De kans op vorming van RCL of recombinant virus

Een mogelijk risico bij de productie van lentivirale vectordeeltjes is het ontstaan van RCL. In theorie zou RCL 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 RCL tijdens de productie van de virale vector

Het SIN lentivirale productiesysteem dat de aanvrager voornemens is te gebruiken, is vergelijkbaar met een derde generatie SIN lentiviraal productiesysteem. In beide productiesystemen zijn de sequenties die nodig zijn voor productie van de lentivirale vector verdeeld over vier verschillende plasmiden. In lentivirale productiesystemen van de derde generatie ontbreken de vier niet-essentiële accessoire genen *vif*, *vpr*, *vpu* en *nef* en het essentiële regulatoire *tat* gen van HIV-1.¹⁶ Op dit punt wijkt het systeem uit de onderhavige aanvraag af, omdat het *vif* gen van HIV-1 aanwezig is in de gebruikte Gag/Pol helperplasmide. Het *vif* gen codeert voor de 'viral infectivity factor' (Vif) van HIV-1. Het Vif eiwit is essentieel voor de infectiviteit van HIV-1 *in vivo*.¹⁵

In de Gag/Pol helperplasmide staat de expressie van de *gag*, *pol*, *vif* sequenties onder controle van één humane CMV promotor. De aanvrager acht het onwaarschijnlijk dat *vif* tot expressie komt, omdat (1) de coderende sequentie zich meer dan 5000 bp 'downstream' van de 'transcription start site' bevindt en (2) omdat er een RRE sequentie in het transcript aanwezig is waaraan het Rev eiwit kan binden. Dit blokkeert volgens de aanvrager splicing waardoor translatie van het Vif eiwit voorkomen wordt. De COGEM merkt op dat het *vif* gen zich op dezelfde positie bevindt als in het provirale genoom van wildtype HIV-1 (daarin komt *vif* ook tot expressie). Ook merkt de COGEM op dat er een 'splice donor' aanwezig is in de Gag/Pol helperplasmide. De COGEM acht het waarschijnlijk dat tijdens de virusproductie naast de Gag, Pol en Rev eiwitten ook het Vif eiwit van HIV-1 zal worden gevormd.

De aanvrager acht de kans zeer klein dat de *vif* sequentie als gevolg van recombinatie in het genoom van de vector worden opgenomen, omdat er geen sequentieoverlap tussen de transferplasmide

en de Gag/pol helperplasmide is. Hierbij merkt de aanvrager op dat een anti-BCMA02 CAR LVV vectorbatch alleen wordt vrijgegeven als de provirale sequentie 100% identiek is aan de referentiesequentie.

De kans op het ontstaan van RCL tijdens de productie van de virale vector is afhankelijk van het aantal recombinatie 'events' dat nodig is om een replicatiecompetent vectordeeltje te construeren. Bij het productiesysteem uit de onderhavige aanvraag moeten minimaal drie recombinatie gebeurtenissen plaatsvinden (net als bij een SIN lentiviraal productiesysteem van de derde generatie), moeten de ontbrekende accessoire genen worden opgenomen in het genoom van de vector en dient de LTR van het SIN-construct gerepareerd te worden, alvorens RCL zou kunnen ontstaan.

De aanvrager geeft aan dat er op meerdere momenten gedurende de productie van bb2121 getest wordt op RCL. De aanvrager test de HEK293T 'master cell bank, de 'crude harvest' en de vectorbatch van anti-BCMA02 CAR LVV op RCL. Daarnaast wordt de patiënt na infusie gemonitord en worden afgenomen monsters ook getest op RCL. De RCL test van de vectorbatch gebeurt door middel van amplificatie in C8166 cellen waarna het supernatant en het genomisch DNA wordt getest voor p24 en psi-gag sequenties. Het supernatant wordt getest met behulp van een 'Quantitative Product Enhanced Reverse Transcriptase'(Q-PERT) assay die de hoeveelheid reverse transcriptase activiteit kan kwantificeren. De detectielimiet van deze test is 1 TCID50/ml dit komt overeen met 0,7 RCL/ml. De RCL test van de vectorbatch moet negatief zijn alvorens het gg-T-cel product geproduceerd kan worden.

De aanvrager geeft aan dat het medisch eindproduct (bb2121) niet getest wordt op RCL, omdat afwezigheid van RCL al is bevestigd voorafgaand aan vrijgave van de vectorbatch. De aanvrager geeft dat er de afgelopen 10 jaar nog nooit RCL is gerapporteerd bij klinische toepassingen met SIN lentivirale vectoren.^{16,17,18} Ook in een eerdere klinische fase I studie met bb2121 (CRB-401) is volgens de aanvrager nooit RCL gedetecteerd in behandelde patiënten.

Alle punten in overweging nemende acht de COGEM de kans verwaarloosbaar klein dat de vectorbatch, waarmee het medische product wordt gevormd, RCL zal bevatten.

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 RCL of recombinant virus tot gevolg. Een eerste vereiste hiervoor is de aanwezigheid van een verwant lenti- of retrovirus in dezelfde cel als de lentivirale vector, die de verloren functies van de vector kan complementeren. De aanvrager geeft aan dat patiënten die positief zijn voor HTLV-1 en HTLV-2 niet worden uitgesloten van deelname aan de studie. De COGEM heeft eerder geconcludeerd dat het niet uitsluiten van patiënten met HTLV infectie geen invloed heeft op de milieुरisicobeoordeling.^{2,8}

Patiënten met HIV-1 worden uitgesloten van deelname aan de studie, patiënten met HIV-2 niet. De aanvrager geeft aan dat HIV-2 patiënten niet worden uitgesloten omdat er beperkte sequentieoverlap is tussen HIV-2 en HIV-1 (de vector is gebaseerd op HIV-1). De identiteit van HIV-1 komt op

nuclueotideniveau voor ~48%, en op aminozuurniveau voor ~60%, overeen met HIV-2.¹⁹ Verder geeft de aanvrager aan dat de seroprevalentie van HIV-2 in Nederland laag is.

Het is bekend dat HIV-1 en HIV-2 RNA genomen samen in een vectordeeltje ingepakt kunnen worden, zogenaamde ‘co-packaging’.^{19,20} Hoewel dit kan optreden is de frequentie hiervan laag (~10%).¹⁹ Na ‘co-packaging’ treedt er in ~0,5% van de co-geïnfecteerde cellen recombinitie op waardoor een replicatiecompetent chimeer virus kan ontstaan.¹⁹

In de lentivirale vector uit de onderhavige aanvraag ontbreekt volgens de aanvrager ongeveer ~75% van de genomesequentie van HIV-1. De beperkte sequentieoverlap tussen de vector en HIV-2 reduceert de kans dat een eventueel gemobiliseerde vector in eenzelfde vectordeeltje als HIV-2 ingepakt kan worden. Hiermee wordt de kans op het ontstaan van een replicatiecompetent chimeer virus eveneens gereduceerd.

Het SIN construct in (lentivirale) vectoren verkleint de kans op mobilisatie sterk, maar kan mobilisatie niet geheel voorkomen.^{21,22} De kans op mobilisatie kan verder gereduceerd worden door anti-retrovirale middelen (geïndiceerd bij HIV infectie), die de ‘viral load’ verlagen, waarmee ook de kans op transductie door een eventueel gemobiliseerde vector afneemt.

In het theoretische geval dat er recombinitie van de vector optreedt met HIV-2 zou dit kunnen resulteren in een replicatiecompetent chimeer lentivirus waarin het anti-BCMA CAR gen tot expressie komt. Er is echter geen reden om aan te nemen dat expressie van het anti-BCMA CAR gen de pathogeniteit of fitness van het virus zal verhogen, maar zeer waarschijnlijk zal dit eerder bijdragen aan attenuatie. Alles in ogenschouw nemende acht de COGEM de kans op mobilisatie, complementatie en recombinitie verwaarloosbaar klein. De COGEM is van oordeel dat HIV-2 patiënten niet uitgesloten hoeven worden van deelname aan de onderhavige studie. Overigens merkt de COGEM op dat een potentieel recombinant virus minder risico geeft dan de aanwezigheid van wildtype HIV(-2).

Tot slot merkt de COGEM op dat ca. 8% van het humane genoom uit endogene retrovirale sequenties bestaat.²³ Deze worden voornamelijk gerelateerd aan beta-retrovirussen en in een enkel geval aan gamma-retrovirussen. Door accumulatie van vele inactiverende mutaties coderen deze sequenties niet voor replicatiecompetente Human endogenous retroviruses (HERVs).^{23,24,25} Daarbij merkt de COGEM op dat het aandeel van HIV sequenties in het genoom van de virale vector tot een minimum is beperkt, wat de kans op homologe recombinitie tussen de endogene retrovirussequenties en de virale vector minimaliseert.

Op grond van bovenstaande acht de COGEM de kans op de aanwezigheid van recombinant virus door recombinitie 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.²⁶ In een advies uit 2018 heeft de COGEM de risico's van vrije vectordeeltjes voor mens en milieu heroverwogen en de veiligheidsmarge van de reductieratio onder bepaalde voorwaarden (VSV-G gepseudotypeerde lentivirale vectoren en bij een goedwerkend complementsysteem) op 1 gesteld (i.e., maximaal 1 vectordeeltje per toe te dienen batch gg-T-cellen).²⁷ De aanvrager heeft de formule toegepast en geeft aan dat er een virusreductieratio van 847 gerealiseerd wordt (dat overeenkomt met maximaal 0,001 vectordeeltjes per toe te dienen batch bb2121), bij een maximaal aantal van $1,2 \times 10^{10}$ vectordeeltjes in het inoculum.

De COGEM is van oordeel dat de door haar opgestelde formule om het aantal vrije vectordeeltjes in te schatten op correcte wijze door de aanvrager is toegepast. Zij acht daarom de kans verwaarloosbaar klein dat er infectieuze vrije vectordeeltjes in het preparaat aanwezig zullen zijn.

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 ongeborn kind), via moedermelk, of via het semen (seksueel contact).^{28,29}

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.²⁹ Uit studies blijkt dat getransduceerde T-cellen maanden of zelfs jaren na toediening nog gedetecteerd kunnen worden in patiënten.^{30,31,32,33,34,35,36} In een enkele studie zijn 11 jaar na toediening nog gg-T-cellen ontdekt, met een geschatte halfwaardetijd van meer dan 16 jaar.³⁷ 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.²⁹

De aanvrager stelt dat zwangere vrouwen en vrouwen die borstvoeding geven uitgesloten zijn van deelname aan de studie. Verder worden patiënten die deelnemen aan de studie door de aanvrager geïnstrueerd om na toediening van de gg-T-cellen af te zien van het doneren van bloed, organen, weefsels of cellen voor transplantatie tot minimaal 12 maanden na bb2121 infusie en totdat er met qPCR geen CAR T cellen meer gedetecteerd kunnen worden in twee opeenvolgende testen. Gg-T-cellen kunnen na toediening waarschijnlijk langere tijd (meerdere jaren) persisteren in het lichaam. Ook kan detectie in bloed niet altijd uitsluitend geven over de aanwezigheid van gg-T-cellen in het lichaam, omdat deze cellen – net als reguliere T-cellen – opgeslagen worden in primaire of secundaire lymfoïde organen of andere organen.²⁹ Op basis hiervan adviseert de COGEM om uit te sluiten dat behandelde patiënten nog moedermelk, organen, weefsels of cellen mogen doneren.

De COGEM signaleert dat het van belang is dat de vergunningaanvrager vrouwelijke patiënten in en voor de fertiele 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.^{1,28,29} 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 lentiviraal getransduceerde T-cellen worden gebruikt die door de expressie van een CAR het BCMA antigeen aanwezig op (maligne) B-cellen herkennen. Risico's die hierbij kunnen optreden, hebben betrekking op de eventuele vorming en de verspreiding van RCL 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 en het aantal vrije vectordeeltjes in bb2121 voldoende gereduceerd. Daarnaast beschouwt zij de kans op de aanwezigheid van RCL of recombinant virus in bb2121 verwaarloosbaar klein. De COGEM is daarom van oordeel dat de milieurisico's verbonden aan deze klinische studie met lentivirale-vector getransduceerde T-cellen verwaarloosbaar klein zijn.

Referenties

1. COGEM (2019). Klinische studie met lentiviraal getransduceerde T-cellen (JNJ-68284528) tegen B-cel maligniteiten. COGEM advies CGM/190624-03
2. COGEM (2018). Klinische studie met lentiviraal getransduceerde T-cellen (JCAR017) tegen B-cel maligniteiten (Princes Máxima Centrum). COGEM advies CGM/181231-01
3. COGEM (2018). Klinische studie met lentiviraal getransduceerde T-cellen (JCAR017) tegen B-cel maligniteiten. COGEM advies CGM/180612-01

4. COGEM (2018). Klinische studie met retroviraal getransduceerde T-cellen tegen hematologische maligniteiten. COGEM advies CGM/180103-02
5. COGEM (2017). Klinische studie met TEG001 ter behandeling van hematologische en solide tumoren. COGEM advies CGM/171013-02
6. COGEM (2016). Klinische studie met getransduceerde T-cellen tegen B-cel maligniteiten. COGEM advies CGM/161130-01
7. COGEM (2016). Klinische studie met lentiviraal getransduceerde T-cellen tegen B-cel maligniteiten. COGEM advies CGM/160229-01
8. COGEM (2018). Klinische studie met lentiviraal getransduceerde T-cellen (KITE-585) tegen B-cel maligniteiten. COGEM advies CGM/181206-01
9. Volk WA *et al.* (1996). B cell Development, Receptors and genes. In: Essentials of Medical Microbiology. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia
10. Freed EO & Martin MA (2013), Human Immunodeficient Viruses: Replication. In: Fields virology, volume 2, sixth edition. Ed. Knipe DM *et al.* Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia
11. Cockrell AS & Kafri T (2007). Gene delivery by lentivirus vectors. *Mol. Biotechnol.* 36: 184-204
12. Zufferey R *et al.* (1998). Self-inactivating lentivirus vector for safe and efficient *in vivo* gene delivery. *J. Virol.* 72: 9873-9880
13. Miyoshi H *et al.* (1998). Development of a self-inactivating lentivirus vector. *J. Virol.* 72: 8150-8157
14. COGEM (2013). Criteria voor moleculaire karakterisering van ggo's voor medische en veterinaire toepassing. COGEM advies CGM/130227-05
15. Freed EO & Martin MA (2013). Chapter 49 Human Immunodeficiency VirusesL Replication *Rhabdoviridae: the viruses and their replication*. In: Fields Virology 6th ed... Edited by: Knipe DM & Howley PM. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia
16. COGEM (2009). Inschaling van laboratoriumwerkzaamheden met lentivirale vectoren. COGEM advies CGM/090331-03
17. Cornetta K *et al.* (2018). Absence of replication competent lentivirus in the clinic: analysis of infused T cell products. *Mol Ther.* 26: 280-288
18. 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
19. Dilley KA *et al.* (2011). Determining the frequency and mechanisms of HIV-1 and HIV-2 RNA copackaging by single-virion analysis. *J. Virol.* 85:10499-10508
20. Motomura K *et al.* (2008). Genetic recombination between human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and HIV-2, two distinct human lentiviruses. *J. Virol.* 82: 1923-1933
21. Grunwald TFS *et al.* (2004). Reducing mobilization of simian immunodeficiency virus based vectors by primer complementation. *J. Gene Med.* 6:147-154.
22. Hanawa H *et al.* (2005). Mobilization and mechanism of transcription of integrated self-inactivating lentiviral vectors. *J. Virol.* 79: 8410-8421
23. Lander ES *et al.* (2001). Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409: 860-921
24. Dewannieux M & Heidmann T (2013). Endogenous retroviruses: acquisition . amplification and taming of genome invaders. *Curr. Opin. Virol.* 3: 646-656

25. Villesen P *et al.* (2004). Identification of endogenous retroviral reading frames in the human genome. *Retrovirology* 1: 32-44
26. COGEM (2009). Inschaling van laboratoriumwerkzaamheden met lentivirale vectoren. COGEM advies CGM/090331-03
27. COGEM (2018). Vervolgadvies over vrije virusdeeltjes in klinische studie gg-T-cellen JCAR017 tegen B-cel maligniteiten. COGEM advies CGM/180702-01
28. Bergmans H *et al.* (2018). Milieurisicoanalyse van klinische toepassingen van genetisch gemodificeerde T-cellen. COGEM onderzoeksrapport 2018-5
29. COGEM (2019). Immunotherapie met genetisch gemodificeerde T-cellen: onbedoelde blootstelling en potentiële risico's. COGEM signalering CGM/190227-01
30. Morgan RA *et al.* (2006). Cancer regression in patients after transfer of genetically engineered lymphocytes. *Science* 314: 126-129
31. Porter DL *et al.* (2011). Chimeric antigen receptor-modified T cells in chronic lymphoid leukemia. *N. Engl. J. Med.* 365: 725-733
32. 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
33. Maude SL *et al.* (2014). Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia. *N. Engl. J. Med.* 371: 1507-1517
34. Oliveira G *et al.* (2015). Tracking genetically engineered lymphocytes long-term reveals the dynamics of T cell immunological memory. *Sci. Transl. Med.* 7: 317ra198.
35. 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
36. 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
37. Scholler J *et al.* (2012). Decade-long safety and function of retroviral-modified chimeric antigen receptor T cells. *Sci. Transl. Med.* 4: 132ra53