

Aan de staatssecretaris van
Infrastructuur en Waterstaat
Mevrouw drs. S. van Veldhoven-van der Meer
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 12 juni 2018
KENMERK CGM/180612-01
ONDERWERP Advies klinische studie gg-T-cellen JCAR017 tegen B-cel maligniteiten

Geachte mevrouw Van Veldhoven,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende de vergunningaanvraag IM-MV 17-005_000 getiteld: 'Testing the safety and efficacy of JCAR017 in patiënts with aggressive B cell malignancies' 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 teruggeplaatst in de patiënt om een effectieve afweerreactie tegen de tumoren te bewerkstelligen.

Mogelijke risico's die bij deze klinische studie kunnen optreden, hebben vooral betrekking op de eventuele vorming en verspreiding van replicatiecompetent lentivirus (RCL) en de aanwezigheid van vrije virusdeeltjes in het medisch product.

De aanvrager voert meerdere testen uit om de aanwezigheid van RCL in de virale vector uit te sluiten. De COGEM acht deze testen toereikend en de kans op de aanwezigheid van RCL in de virale vector daardoor verwaarloosbaar klein. De aanvrager heeft de mogelijke aanwezigheid van vrije infectieuze virusdeeltjes berekend en de uitkomst van deze berekening blijkt buiten de veiligheidsmarge van de COGEM te vallen. De aanvrager geeft aan dat in de berekening geen rekening is gehouden met een aantal wasstappen. De COGEM acht een herberekening met de additionele wasstappen noodzakelijk om aan te tonen dat de totale virusreductie binnen de veiligheidsmarge valt. Indien de gg-T-cellen door een incident in derden terecht komen, acht de COGEM de kans op nadelige effecten verwaarloosbaar klein. De patiënt-specifieke T-cellen worden bij andere mensen door het immuunsysteem afgestoten en kunnen buiten het lichaam niet overleven.

Onder het voorbehoud dat de virusreductie na herberekening binnen de veiligheidsmarge valt, is de COGEM van oordeel dat de risico's voor mens en milieu verbonden aan deze klinische studie met 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. Drs. H.P. de Wijs, Hoofd Bureau ggo
 Mr. J.K.B.H. Kwisthout, Ministerie van IenW

Klinische studie met lentiviraal getransduceerde T-cellen (JCAR017) tegen B-cel maligniteiten

COGEM advies CGM/180612-01

1. Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over een vergunningaanvraag (IM-MV 17-005) voor een klinische studie waarbij genetisch gemodificeerde (gg-)T-cellen (JCAR017) aan patiënten met B-cel maligniteiten worden toegediend. JCAR017 wordt vervaardigd door patiëntspecifieke lichaamseigen T-cellen *ex vivo* te transduceren met een replicatie-deficiënte lentivirale SIN vector. Deze vector bevat sequenties voor een 'chimere antigeen receptor' (CAR) gericht tegen antigenen (CD19) die aanwezig zijn op het celoppervlak van (maligne) B-cellen. De gg-T-cellen worden vervolgens teruggeplaatst in de patiënt om de B-cel maligniteit te behandelen. Het doel van de klinische studie is om de veiligheid en verdraagbaarheid van JCAR017 te onderzoeken. De werkzaamheden voor deze studie zullen worden uitgevoerd in het Erasmus Medisch Centrum.

1.1 Het adaptieve immuunsysteem

B-cellen of B-lymfocyten 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.¹ Iedere receptor herkent een specifiek antigeen. Na blootstelling aan een specifiek antigeen worden de B-cellen die dit antigeen herkennen, geactiveerd en differentiëren ze in twee verschillende soorten B-cellen. Enerzijds zijn dit plasmacellen, die actief antilichamen produceren en uitscheiden, en anderzijds geheugen B-cellen die gedurende lange tijd leven en snel reageren bij een tweede blootstelling aan hetzelfde antigeen.²

Het CD19 transmembraan-eiwit is betrokken bij de signaaltransductie via de B-cel receptor. CD19 komt tot expressie in de B-cellen vanaf de vroege ontwikkeling tot na de differentiatie in een plasmacel. CD19 komt echter niet voor op pluripotente bloedstamcellen en op andere weefsels. Door dit beperkte expressieprofiel vormt CD19 een relatief veilig 'target' voor therapeutische interventie in B-cel maligniteiten.

1.2. Lentivirale vectoren

Lentivirale vectoren zijn afgeleid van lentivirussen en behoren tot de familie van retrovirussen (*Retroviridae*, genus *Lentivirus*).³ Een lentivirusdeeltje bevat twee enkelstrengs RNA kopieën van het virale genoom van ieder circa 9.3 kb. Als basis voor de in deze aanvraag beschreven lentivirale vectoren wordt gebruik gemaakt van het genoom van het *Human immunodeficiency virus 1* (HIV-1). Het genoom van HIV-1 heeft aan weerszijden een zogenaamde 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*).⁴

Voor de productie van de lentivirale vectoren worden de verschillende virusgenen opgesplitst en verdeeld over verschillende plasmiden. Deze plasmiden moeten gezamenlijk in een gastheercel getransfecteerd worden om virusdeeltjes te kunnen produceren.^{4,5} Door deze opsplitsing wordt de kans

op het ontstaan van replicatiecompetent lentivirus (RCL) tijdens de productie van lentivirale vectoren gereduceerd en neemt de bioveiligheid toe. Met het oog op deze bioveiligheid zijn in de loop van de tijd verschillende generaties van productiesystemen (1 t/m 3) ontwikkeld.

Naast de verbeteringen aan het productiesysteem, is de bioveiligheid van het lentivirale vectorsysteem ook verbeterd door de ontwikkeling van zelf-inactiverende (SIN) vectoren.^{6,7} In deze SIN vectoren is een deel van de 3'LTR verwijderd, waardoor de kans op mobilisatie van de vector uit het genoom van de gastheer aanzienlijk gereduceerd wordt.

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 het *Vesicular stomatitis virus* (VSV-G).

1.3 productie van de replicatie-deficiente lentivirale SIN vector

De lentivirale vector die gebruikt wordt voor de transductie van de autologe T-cellen, wordt geproduceerd met een productiesysteem van de derde generatie. Daarvoor worden een transferplasmide en drie verschillende (helper)plasmiden gezamenlijk getransfecteerd in HEK293T cellen (humane embryonale niercellen). Het transferplasmide levert het genoom voor bovenbeschreven lentivirale vector en bevat de 5'LTR en de SIN 3'LTR, het 'packaging' (ψ) signaal, de 'splice donor' en 'acceptor sites', het 'Rev Response element' (RRE), een 'Woodchuck hepatitis virus post-transcriptional regulatory element' (WPRE) fragment en de transgene (CAR) sequentie. Het CAR transgen is samengesteld uit een CD19-specifieke muizen 'single-chain antibody fragment' (scFv), een humane IgG4 'hinge' regio en de CD28 transmembraan regio, en een humane CD3 ζ cytoplasmatische staart. Het CAR fragment is gelinkt aan een getrunceerd en niet-functioneel 'human epidermal growth factor receptor' (EGFRt) fragment. Hierin bevindt zich een cetuximab bindingsdomein waarmee de gg-T-cellen selectief uitgeschakeld kunnen worden. Twee helperplasmiden bevatten de coderende sequentie voor HIV componenten die essentieel zijn voor virusproductie. Dit zijn respectievelijk de eiwitten Gag, Pol en Rev waarbij de coderende sequentie voor Gag en Pol gezamenlijk op één packagingplasmide ligt. Het derde plasmide codeert voor de glycoproteïne afkomstig van VSV-G. De niet-essentiële accessoire en regulatoire HIV-1 genen zijn uit het vectorsysteem verwijderd. Na co-transfectie van HEK293T cellen met het transferplasmide en de drie helperplasmiden wordt een VSV-G gepseudotyperde lentivirale SIN vector (ZRX-014-LV) geproduceerd waarmee de T-cellen worden getransduceerd.

1.4 Productie van JCAR017

Voor de productie van de gg-T-cellen (JCAR017) worden T-cellen uit het bloed van de patiënt geïsoleerd, en *ex vivo* getransduceerd met de replicatie-deficiente lentivirale SIN vector ZRX-014-LV. Na integratie van het CAR transgen in de gg-T-cellen worden de cellen vermeerderd en gecryopreserveerd. De productie van de gg-T-cellen (vector productie, 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

JCAR017 wordt intraveneus toegediend via een centrale veneuze katheter aan maximaal 200 patiënten met verschillende B-cel maligniteiten. Personeel dat de flacons met JCAR017 hanteert, draagt beschermende kleding en handschoenen. JCAR017 zal worden toegediend in een enkele dosis van maximaal $1,5 \times 10^8$ getransduceerde cellen. Patiënten die goed reageren op het product maar nog geen volledige respons laten zien, of patiënten met een progressief of terugkerend ziektebeeld, kunnen een aanvullende dosis ontvangen. Hiervoor geldt een minimaal tijdsinterval van 28 dagen.

De patiënten worden 15 jaar gevolgd, en op verschillende momenten worden monsters (bloed, tumorweefsel en beenmerg) afgenomen. Deze monsters worden onder andere gecontroleerd op aanwezigheid van sequenties van de virale envelop (door middel van PCR) om aanwezigheid van RCL uit te sluiten. Bij deelname worden de patiënten door de aanvrager geïnstrueerd om na toediening van de gg-T-cellen minstens 12 maanden geen sperma, eicellen, organen, of bloed(producten) te doneren. Deze periode wordt verlengd indien er nog gg-T-cellen aangetoond worden in het bloed. De aanvrager hanteert daarnaast als exclusie criterium dat patiënten in deze klinische studie vrij dienen te zijn van infecties met de lenti- en retrovirussen HIV en HTLV, en de hepatitisvirussen HBV en HCV.

3. Eerder COGEM advies

De COGEM heeft verscheidene keren geadviseerd over klinische studies met gg-T-cellen. In 2011 heeft de COGEM geadviseerd over een klinische studie naar de behandeling van melanoom met gg-T-cellen die getransduceerd zijn met een retrovirale vector afgeleid van het Moloney Murine leukemia virus (MoMLV).⁸ De COGEM kon aanvankelijk niet positief adviseren over deze studie aangezien de aangeleverde gegevens ontoereikend bleken. Zij kon niet verifiëren of de vectorbatch vrij was van replicatiecompetent retrovirus (RCR) en tevens niet uitsluiten dat er vrije vectordeeltjes aanwezig waren in het preparaat dat aan de patiënt zou worden toegediend. Nadat de aanvrager hier aanvullende informatie over had aangeleverd, was de COGEM in haar tweede advies van oordeel dat de milieurisico's van deze studie verwaarloosbaar klein zijn.⁹ Daarnaast heeft de COGEM positief geadviseerd over klinische studies met retroviraal getransduceerde T-cellen waarbij gg-T-cellen werden ingezet als behandelmethodes tegen leukemie¹⁰, B-cel maligniteiten^{11,12}, hematologische of solide tumoren¹³ en hematologische maligniteiten¹⁴.

In 2016 heeft de COGEM positief geadviseerd over een vergelijkbare klinische studie waarbij lentiviraal getransduceerde T-cellen (met behulp van een vector afgeleid van HIV-1 en gepseudotyped met VSV-G) ingezet werden als behandelmethodes voor B-cel maligniteiten.¹⁵ De CAR die voor deze studie gebruikt werd is vergelijkbaar met de CAR in onderhavig advies, maar bevat onder andere een ander transmembraan en intracellulair domein.

4. Overweging

In de onderhavige aanvraag worden gg-T-cellen (JCAR017) toegediend aan patiënten met B-cel maligniteiten. Mogelijke risico's die hierbij kunnen optreden, hebben betrekking op (1) de eventuele vorming van RCL of recombinant virus, (2) de aanwezigheid van vrije virusdeeltjes en (3) de effecten van mogelijke verspreiding van de gg-T-cellen in het milieu. Door deze verspreiding zouden andere personen dan de deelnemende patiënten geïnfecteerd kunnen raken met de gg-T-cellen of met een

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

4.1 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.¹⁶

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 identiteit van het CAR fragment bevestigd met behulp van Sanger sequencing (hiervoor is gezuiverd vector RNA met behulp van RT-PCR omgezet in een DNA sequentie), welke 100% identiek is aan de referentiesequentie. De aanvrager heeft ook een RNA transcript analyse uitgevoerd op de getransduceerde T-cellen (JCAR017) en er zijn geen 'high confidence' mutaties (>10% van de RNAseq reads) geobserveerd binnen het CAR transgen.

De sequentie van het insert wordt niet in elk JCAR017 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 stelt dat de vier plasmiden allen volledig zijn gesequenced, met een viervoudige dekking. De resultaten zijn vergeleken met de sequentiegegevens van GenBank databases. Het transferplasmide en de twee helperplasmiden waren 100% identiek aan de referentiesequentie. Het derde helperplasmide was voor 99,98% identiek en bevat een puntmutatie buiten de functionele regio. De COGEM is van oordeel dat deze puntmutatie niet van invloed is op de functie van het helperplasmide en geen gevolgen heeft voor de milieurisicobeoordeling.

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

4.2 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

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 infectieus virusdeeltje te construeren. Tijdens de productie van lentivirale SIN vectoren met het productiesysteem van de derde generatie moeten drie recombinatie gebeurtenissen plaatsvinden, 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 er RCL zou kunnen ontstaan. In de wetenschappelijke literatuur zijn nooit meldingen geweest van RCL bij gebruik van een derde generatie productiesysteem.¹⁷

In onderhavige aanvraag wordt gebruik gemaakt van een SIN lentiviraal productiesysteem van de derde generatie. Hierin zijn de sequenties die nodig zijn voor productie van de lentivirale vector verdeeld over vier verschillende plasmiden. Tevens zijn de niet essentiële HIV-1 genen *tat*, *vif*, *vpr*, *vpu*, *env* en *nef* uit het systeem verwijderd. De aanvrager geeft aan dat er enkele homologe regio's zijn tussen de vier plasmiden die gebruikt worden om de lentivirale vector te produceren. Ondanks dat voor de reconstructie van het gehele genoom meerdere recombinatie 'events' nodig zijn om een infectieus virusdeeltje te construeren, is de uitvoerder voornemens om RCL testen uit te voeren ter controle.

De aanvrager stelt dat er op meerdere momenten gedurende de productie van JCAR017 getest wordt op RCL. Voor de RCL test wordt gebruik gemaakt van qPCR (voor detectie van VSV-G sequenties, Limit of Detection/Quantification (LLOQ): 5 kopieën/50ng DNA), of door middel van co-cultivatie met C8166 cellen gevolgd door een p24 ELISA assay (LLOQ: 100 infectieuze units per 2×10^7 cellen). Zowel de 'packaging' cellijn, de vectorbatch als het eindproduct (de gg-T-cellen) worden getest op RCL, en de patiënt wordt na infusie gemonitord en afgenomen monsters zullen ook getest worden op RCL. De RCL test van de 'packaging' cellijn en vectorbatch moeten negatief zijn alvorens het gg-T-cel product geproduceerd kan worden. De COGEM acht de gevoeligheid van de RCL testen afdoende om RCL te detecteren en acht de kans verwaarloosbaar klein dat met deze uitgevoerde testen eventueel gevormd RCL wordt gemist.

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 retrovirus in dezelfde cel als de lentivirale vector, die de verloren functies van de vector kan complementeren. De aanvrager geeft aan dat patiënten geïnfecteerd met HIV, HTLV, of de hepatitisvirussen HBV en HCV uitgesloten worden van deelname. Ook wordt het medische product gecontroleerd op RCL voorafgaand aan toediening aan de patiënt.

Door uitsluiting van patiënten met een HIV infectie kunnen de in de virale vector ontbrekende HIV-1 componenten niet worden aangevuld. Bovendien wijst de COGEM erop dat de in deze studie te gebruiken SIN vector speciaal is ontworpen om de kans op mobilisatie van de vector te minimaliseren. Tot slot merkt de COGEM op dat ca. 8% van het humane genoom uit endogene retrovirale sequenties bestaat.¹⁸ Deze worden voornamelijk gerelateerd aan beta-retrovirussen en in een enkel geval aan gamma-retrovirussen. Door accumulatie van vele inactiverende mutaties kunnen deze sequenties niet coderen voor replicatiecompetente HERVs.^{18,19,20} Daarbij is de COGEM van mening dat het aandeel van HIV sequenties in het genoom van de virale vector tot een minimum is beperkt, wat de kans op homologe recombinatie tussen de endogene retrovirussequenties en de virale vector minimaliseert.

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

4.3 Aanwezigheid van vrije virusdeeltjes

Na transductie van de T-cellen kunnen vrije vectordeeltjes in het te testen medisch product achterblijven. In 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.²¹ De aanvrager heeft deze formule toegepast en geeft aan dat er een virusreductieratio van 0,2 gerealiseerd wordt (dat overeenkomt met maximaal 5 virusdeeltjes per toe te dienen batch JCAR017), bij een maximaal aantal van 8×10^8 virusdeeltjes in het inoculum. Deze virusreductieratio ligt onder het door de COGEM gestelde minimum (een reductieratio van 100, dat overeenkomt met maximaal 0,01 virusdeeltjes per toe te dienen batch). Hierdoor kan niet worden uitgesloten dat er een kleine hoeveelheid vrije vectordeeltjes in het medische product aanwezig zal zijn. De aanvrager geeft aan dat de berekening conservatief is, omdat in de berekening geen rekening gehouden is met wasstappen tijdens de *ex vivo* expansie van de gg-T-cellen. Er wordt echter geen aanvullende informatie gegeven over het aantal wasstappen en de grootte van de verwachte additionele reductie van vrije vectordeeltjes tijdens deze procedure. De aanvrager geeft ook aan dat na toediening van het medische product inactivatie van vectordeeltjes plaatsvindt door aanwezigheid van complement eiwitten in het bloed van de patiënt, die onderdeel uitmaken van het humoraal immuunsysteem. Het complement is in staat om lentivirusdeeltjes met VSV-G envelopeiwit te inactiveren.²²

De COGEM onderschrijft de mening van de aanvrager dat de feitelijke reductieratio waarschijnlijk hoger zal zijn, omdat de additionele virusreductie tijdens de expansieprocedure niet is meeberekend, maar acht meer informatie noodzakelijk om een uitspraak te doen over de verwachte totale

virusreductie. De COGEM hanteert een veiligheidsmarge van minimaal 100 en kan uit de informatie in het dossier niet opmaken of deze minimale reductieratio met deze aanvullende wasprocedures bereikt wordt. Onder de voorwaarde dat een nieuwe berekening van de reductieratio (rekening houdend met de additionele wasstappen tijdens de T-cel expansie) binnen de gehanteerde veiligheidsmarge valt, acht de COGEM de kans op infectieuze vrije virusdeeltjes in het medische product verwaarloosbaar klein.

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

Uit studies blijkt dat getransduceerde T-cellen enkele maanden na toediening nog aanwezig kunnen zijn in patiënten.²³ In verschillende studies zijn gg-T-cellen langer dan 6 maanden na de behandeling aangetoond in patiënten^{24,25}, en in een enkele studie zijn een jaar na infusie gg-T-cellen gedetecteerd in twee van de 17 patiënten.²³ Derhalve kunnen bijvoorbeeld door een verwonding van de proefpersoon de getransduceerde T-cellen in theorie via bloed of lymfe in het milieu terecht komen. De gg-T-cellen worden niet uitgescheiden via speeksel, urine of feces. Aangezien de cellen buiten het lichaam niet kunnen overleven, acht de COGEM de kans op verspreiding in het milieu verwaarloosbaar klein.

Door incidenten, zoals een prikincident, kan het medische personeel besmet raken met de getransduceerde cellen. Als een gezond individu door een prikaccident aan gemodificeerde T-cellen wordt blootgesteld, is de kans groot dat deze cellen direct worden herkend en geëlimineerd door de afweercellen van de ontvanger. De cellen kunnen alleen overleven wanneer de MHC-moleculen volledig gelijk zijn aan die van de patiënt. De kans dat twee niet-verwante individuen volledig MHC-identiek zijn, is bijzonder klein, omdat er theoretisch gezien meer dan één miljoen verschillende haplotypen zijn. Bovendien heeft ieder individu twee MHC-haplotypen. In het onwaarschijnlijke geval dat de MHC-moleculen identiek zijn, kunnen de getransduceerde T-cellen een vergelijkbaar anti-tumor effect laten zien als in de beoogde patiënt.

Er is een theoretische mogelijkheid dat bij bijvoorbeeld een prikincident met een immunogecompromitteerd persoon geen eliminatie van de gg-T-cellen plaatsvindt. In dit geval zullen de bijwerkingen gelijk zijn aan die van de beoogde patiënt. Bij een prikincident zullen echter beduidend minder gg-T-cellen geïnjecteerd worden dan tijdens de toediening aan een patiënt.

Overdracht van T-cellen van moeder op kind

De aanvrager maakt in het aanvraagformulier geen melding over eventuele uitsluiting van zwangere patiënten of patiënten die borstvoeding geven. Het is niet uitgesloten dat gg-T-cellen via borstvoeding of placenta kunnen worden overgedragen van moeder op kind. Het is bij de COGEM niet bekend hoe lang dergelijke T-cellen in het kind kunnen persisteren. Met het oog op het voorzichtigheidsprincipe wil zij daarom de vergunninghouder adviseren om patiënten aan wie JCAR017 wordt toegediend, af te laten zien van het geven van borstvoeding. De COGEM zal, na nader onderzoek, terugkomen op de levensduur van gg-T-cellen, de mogelijke overdracht van gg-T-cellen van moeder op kind, en eventuele risico's van gg-T-cellen voor het kind. Vooralsnog zijn er echter geen aanwijzingen dat er risico's verbonden zijn aan de overdracht van gg-T-cellen van moeder op kind.

5. 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 chimere antigeen receptor 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 virusdeeltjes 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. Tevens acht zij de kans op nadelige effecten bij blootstelling van derden aan gg-T-cellen verwaarloosbaar klein.

De berekende aanwezigheid van vrije infectieuze virusdeeltjes in de aanvraag is hoger dan het minimum aantal vrije infectieuze virusdeeltjes dat de COGEM als veilig hanteert. Indien de aanvrager een herberekening van de reductieratio aan de vergunningverlener overlegt waarin de wasstappen tijdens de expansiefase worden meegenomen en waaruit blijkt dat de reductieratio binnen de gehanteerde veiligheidsmarge valt, is de COGEM van oordeel dat de milieurisico's verbonden aan deze klinische studie met lentivirale-vector getransduceerde T-cellen verwaarloosbaar klein zijn.

Referenties

1. Volk WA *et al.* (1996). B cell Development, Receptors and genes. In: Essentials of Medical Microbiology. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia
2. Nutt SL *et al.* (2015). The generation of antibody-secreting plasma cells. *Nat. Rev. Immunol.* 15: 160-171
3. Stoye JP *et al.* (2012). Family Retroviridae. In *Virus Taxonomy, Classification and Nomenclature of Viruses: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Ed. King AMQ *et al.*, Elsevier Academic Press, Amsterdam
4. 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
5. Cockrell AS & Kafri T (2007). Gene delivery by lentivirus vectors. *Mol. Biotechnol.* 36: 184-204
6. Zufferey R *et al.* (1998). Self-inactivating lentivirus vector for safe and efficient in vivo gene delivery. *J. Virol.* 72: 9873-9880
7. Miyoshi H *et al.* (1998). Development of a self-inactivating lentivirus vector. *J. Virol.* 72: 8150-8157
8. COGEM (2011). Klinische studie met retroviraal getransduceerde humane T-lymfocyten. COGEM advies CGM/110831-01
9. COGEM (2011). Aanvullende informatie over de klinische studie met retroviraal getransduceerde humane T-lymfocyten. COGEM advies CGM/111012-03
10. COGEM (2011). Klinische studie met retroviraal getransduceerde T-cellen tegen leukemie. COGEM advies CGM/110913-01
11. COGEM (2016). Klinische studie met getransduceerde T-cellen tegen B-cel maligniteiten. COGEM advies CGM/161130-01
12. COGEM (2017). Aanvullende informatie klinische studie met KTE-C19. COGEM advies CGM/170224-04

13. COGEM (2017). Klinische studie met TEG001 ter behandeling van hematologische en solide tumoren. COGEM advies CGM/171013-02
14. COGEM (2018). Klinische studie met retroviraal getransduceerde T-cellen tegen hematologische maligniteiten. COGEM advies CGM/180103-02
15. COGEM (2016). Klinische studie met lentiviraal getransduceerde T-cellen tegen B-cel maligniteiten. COGEM advies CGM/160229-01
16. COGEM (2013). Criteria voor moleculaire karakterisering van ggo's voor medische en veterinaire toepassing. COGEM advies CGM/130227-05
17. 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
18. Lander ES *et al.* (2001). Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409: 860-921
19. Dewannieux M & Heidmann T (2013). Endogenous retroviruses: acquisition, amplification and taming of genome invaders. *Curr. Opin. Virol.* 3: 646-656
20. Villesen P *et al.* (2004). Identification of endogenous retroviral reading frames in the human genome. *Retrovirology* 1: 32-44
21. COGEM (2009). Inschaling van laboratoriumwerkzaamheden met lentivirale vectoren. COGEM advies CGM/090331-03
22. DePolo NJ *et al.* (2000). VSV-G pseudotyped lentiviral vector particles produced in human cells are inactivated by human serum. *Mol Ther.* 2: 218-222
23. Morgan RA *et al.* (2006). Cancer regression in patients after transfer of genetically engineered lymphocytes. *Science* 314: 126-129
24. Porter DL *et al.* (2011). Chimeric antigen receptor-modified T cells in chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med.* 365: 725-733
25. 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