

> Retouradres: RIVM/VSP/BGGO, Postbus 1, 3720 BA Bilthoven.

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal**
Directie Veiligheid en
Risico's

RIVM/VSP/Bureau GGO
Antonie van
Leeuwenhoeklaan 9
Postbus 1
3720 BA Bilthoven
www.ggo-
vergunningverlening.nl

Contactpersoon
Bureau GGO

T 030 274 2793
F 030 274 4401
bggo@rivm.nl

Ons kenmerk
IM-MV 17-005_000.bes.1

Uw kenmerk

Beschikking GGO IM-MV 17-005_000

1. AANLEIDING¹

1.1 De Staatssecretaris van Infrastructuur en Waterstaat (hierna: de Staatssecretaris) heeft op 5 juli 2017 een aanvraag, gedateerd 3 juli 2017, van het Academisch Ziekenhuis behorende bij de openbare universiteit Rotterdam, te Rotterdam ontvangen. Deze aanvraag heeft het kenmerk IM-MV 17-005.

1.2 Het gaat om een aanvraag om een vergunning voor doelbewuste introductie voor overige doeleinden, als bedoeld in artikel 3.7, eerste lid, van het Besluit genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013 (hierna: Besluit ggo). De aanvraag heeft betrekking op klinische studies waarin autologe T-cellen van patiënten met B-cel maligniteiten *ex vivo* getransduceerd (genetische modificatie) worden met een lentivirale vector welke een transmembrane, chimere anti-CD19 receptor (anti-CD19 CAR) tot expressie brengt. De getransduceerde T-cellen worden weer teruggegeven aan de patiënten met als doel het induceren van een afweerreactie tegen de B-cel maligniteiten.

1.3 In deze studies worden *ex vivo*, lentiviraal getransduceerde, autologe T-cellen gebruikt. De cellen zijn getransduceerd met een lentivirale vector, waarin een transmembrane, chimere anti-CD19 receptor (anti-CD19 CAR) gekloneerd is. De lentivirale vector is afgeleid van *Human Immunodeficiency Virus 1* (HIV-1). De virale vector is door verwijdering van een aantal virale genen replicatiedeficiënt gemaakt, waardoor het virus zich in de cel niet kan vermenigvuldigen. De getransduceerde T-cellen, welke anti-CD19 CAR tot expressie brengen, worden teruggegeven aan de patiënten met de verwachting dat ze de B-cel maligniteiten kunnen herkennen en opruimen. Het doel van de klinische studies is om de veiligheid en werkzaamheid van de getransduceerde T-cellen te beoordelen om zodoende een nieuwe therapie tegen B-cel maligniteiten te ontwikkelen.

1.4 De voorgenomen werkzaamheden zullen plaatsvinden in de gemeente Rotterdam.

¹ Voor definities van gebruikte begrippen zie ook artikel 1 van de vergunning.

2. BEOORDELINGSKADER

2.1 Een studie waarbij genterapie wordt toegepast in proefpersonen valt onder de doelbewuste introductie voor overige doeleinden.

Wettelijk kader

2.2 Het wettelijk beoordelingskader voor aanvragen om een vergunning voor doelbewuste introductie voor overige doeleinden bestaat uit paragraaf 9.2.2 van de Wet milieubeheer en hoofdstuk 3 van het Besluit ggo.

2.3 Uit artikel 3.2, eerste lid, van het Besluit ggo volgt de bevoegdheid om te beslissen op aanvragen om een vergunning als bedoeld in dat artikel voor de doelbewuste introductie voor overige doeleinden.

2.4 Een vergunning voor de doelbewuste introductie voor overige doeleinden kan slechts om een beperkt aantal redenen worden geweigerd (zie artikel 9.2.2.3, tweede lid, van de Wet milieubeheer). Het belang van de bescherming van de gezondheid van de mens en van het milieu is in dit geval het enige, rechtstreeks bij deze beschikking betrokken belang dat kan worden meegewogen. Voorschriften en beperkingen mogen slechts in het belang van de bescherming van de gezondheid van de mens en van het milieu aan de vergunning worden verbonden (zie artikel 9.2.2.3, vijfde lid, van de Wet milieubeheer).

3. PROCEDURELE ASPECTEN

3.1 De aanvraag moet onder meer een milieurisicobeoordeling bevatten overeenkomstig bijlage II bij richtlijn nr. 2001/18/EG van het Europees Parlement en de Raad van de Europese Unie van 12 maart 2001 inzake de doelbewuste introductie van genetisch gemodificeerde organismen in het milieu en tot intrekking van richtlijn nr. 90/220/EEG van de Raad van de Europese Gemeenschappen van 23 april 1990 (PbEU L 106) (hierna: richtlijn 2001/18), zoals aangevuld met daarop betrekking hebbende besluiten of aanbevelingen van de Raad van de Europese Unie of van de Europese Commissie. Zie ook de definitie van "milieurisicobeoordeling" in artikel 1.5 van het Besluit ggo.

3.2 De aanvraag is getoetst aan de milieurisicobeoordeling over de risico's voor mens en milieu die aan de voorgenomen handelingen met ggo's verbonden kunnen zijn.

3.3 De aanvraag is aangevuld. De aanvullingen zijn ontvangen op 14 september 2017, 21 november 2017, 15 maart 2018, 5 juli 2018 en op 9 juli 2018.

3.4 De aanvraag, inclusief de aanvullende informatie, is gecontroleerd op volledigheid. Deze beschikking is gebaseerd op een volledige aanvraag.

3.5 Een deel van de bijlagen bij de aanvraag is door de aanvrager als vertrouwelijk gekenmerkt. Op grond van Artikel 19.3 van de Wet milieubeheer heeft de Staatssecretaris van Infrastructuur en Waterstaat ingestemd met het verzoek van de aanvrager om deze bijlagen vertrouwelijk te behandelen. Bij de aanvraag heeft de aanvrager al een openbare samenvatting van deze vertrouwelijke informatie geleverd waaruit de risicoanalyse navolgbaar is.

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal**
Directie Veiligheid en
Risico's

Ons kenmerk
IM-MV 17-005_000.bes.1

3.6 Deze beschikking is voorbereid met toepassing van afdeling 3.4 van de Algemene wet bestuursrecht, afdeling 13.2 van de Wet milieubeheer, en de paragrafen 3.2.1 en 3.2.2 van het Besluit ggo. De toepassing van afdeling 3.4 van de Algemene wet bestuursrecht en afdeling 13.2 van de Wet milieubeheer is in overeenstemming met artikel 9.2.2.3, vierde lid, van de Wet milieubeheer.

3.7 Bij de voorbereiding van deze beschikking is ook toepassing gegeven aan artikel 3.10, eerste lid, van het Besluit ggo. Ingevolge deze bepaling wordt binnen 30 dagen na ontvangst van de aanvraag een samenvatting van de aanvraag aan de Europese Commissie gezonden. Bij de beslissing op de aanvraag neemt de Staatssecretaris in aanmerking de opmerkingen die andere lidstaten van de Europese Unie hebben gemaakt (artikel 3.10, tweede lid, tweede volzin, van het Besluit ggo).

Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal
Directie Veiligheid en
Risico's

Ons kenmerk
IM-MV 17-005_000.bes.1

4. KENMERKEN VAN DE IN DEZE AANVRAAG GEBRUIKTE GGO'S EN HUN INTRODUCTIE

4.1. Het uitgangsgenoom (HIV-1)

Algemeen:

De virale vector die in deze studie wordt gebruikt is gebaseerd op HIV-1. Dit virus behoort tot de familie *Retroviridae* en het genus *Lentivirus*. Het wildtype HIV-1 genoom bevat negen open leesramen (*Open Reading Frames*, ORFs) coderend voor de structurele genen *gag*, *pol* en *env*, de accessoire genen *vif*, *vpr*, *vpu* en *nef* en de regulatoire genen *tat* en *rev*. Aan het uiteinde van het genoom bevinden zich aan weerszijden de *Long Terminal Repeats* (LTR), welke een rol spelen bij reverse transcriptie, integratie van het provirus in het genoom van de gastheer en regulatie van de synthese van het lentivirale RNA. Verder bevat het HIV-1 genoom cis-acterende sequenties betrokken bij virale replicatie en genexpressie: de *primer binding site* (PBS), het *packaging signaal* (ψ), de *polypurine tract* (PPT), de *central polypurine tract* (cPPT) en het *Rev response element* (RRE).

Het gastheerbereik van HIV-1 is beperkt tot mensen en chimpansees. HIV-1 infecteert vooral lymfocyten (T-cellen), maar kan ook macrofagen en microglia (macrofaag cellen in de hersenen) infecteren. HIV-1 wordt verspreid via seksueel contact, bloedtransfusie, besmette injectiespuiten en van moeder naar kind gedurende de zwangerschap, bevalling en via borstvoeding. Infectie met HIV-1 kan resulteren in AIDS (*Acquired Immune Deficiency Syndrome*). Een HIV-1 infectie wordt doorgaans onder controle gehouden met behulp van antiretrovirale medicatie.

Infectie, replicatie en uitscheiding

In de genetisch gemodificeerde lentivirale vector is het merendeel van de HIV-1 sequenties verwijderd om een replicatiedeficiënte lentivirale vector te produceren. Het virusdeeltje kan slechts éénmaal een cel infecteren, waardoor het effect uitdovend zal zijn. Door het gebruik van het *Vesicular Stomatitis Virus* glycoproteïne (VSV-G) envelop eiwit is het tropisme van de vector verbreed. VSV-G gepseudotypeerde lentivirale vectoren hebben een breed gastheerbereik en kunnen de meeste zoogdiercellen, en ook niet-zoogdiercellen, infecteren.

4.2. De modificaties (anti-CD19 CAR, EGFRt en T2A)

In de lentivirale vector is een gen gekloneerd dat codeert voor een transmembrane, chimere anti-CD19 receptor (anti-CD19 CAR). De anti-CD19 CAR bestaat uit een signaalpeptide van de humane *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor* (GM-CSF) receptor alfaketen, een muizen anti-CD19 antigeen bindend domein, een linker afkomstig van humaan IgG4, een transmembraan domein afkomstig van humaan CD28 en humane 4-1BB (CD137) en CD3 ζ (T-cel receptor ζ) intracellulaire signaleringsdomeinen. Anti-CD19 CAR is gericht tegen het CD19 antigeen, een component van een celoppervlaktecomplex dat signaaltransductie via de B-cel

receptor reguleert. CD19 komt tot expressie op B-cellen, maar is niet aanwezig op pluripotente bloedstamcellen en de meeste normale weefsels.

De vector bevat ook een markergen, bestaande uit de signaalpeptide van de humane GM-CSF receptor alfaketen en een ingekorte, niet-functionele vorm van de humane epidermale groeifactorreceptor (EGFRt). EGFRt bevat alleen de domeinen III, IV en het transmembraandomein, de domeinen I, II en het cytoplasmatische domein zijn gedeleteerd. EGFRt bevat wel de bindingsplaats voor cetuximab, welke selectie, detectie en verwijdering van de getransduceerde cellen mogelijk maakt, maar kan niet binden aan de natuurlijke liganden epidermale groeifactor en transformerende groeifactor alfa. Door deletie van het cytoplasmatische domein heeft EGFRt geen signalerende activiteit.

De anti-CD19 CAR sequentie en de EGFRt sequentie worden gescheiden door een 2A sequentie afkomstig van *thosa asigna virus* (T2A). Deze 2A sequentie zorgt voor "ribosomale skipping", wat er voor zorgt dat de anti-CD19 CAR en EGFRt als aparte eiwitten in de cel tot expressie komen.

4.3. Het ggo

Constructie

Voor de constructie van het ggo is een niet-replicerende, recombinante lentivirale vector gebruikt welke gebaseerd is op HIV-1. Het betreft hier een zogeheten derde generatie zelf-inactiverend (SIN) lentiviraal vectorsysteem. De virale vector is ontworpen om het ontstaan van replicatiecompetent lentivirus (RCL) te voorkomen door het transgen en de virale genen coderend voor de eiwitten benodigd voor packaging, reverse transcriptie en integratie te verdelen over vier plasmiden. De ORFs coderend voor de virale genen *tat*, *vif*, *vpr*, *vpu*, *env* en *nef* zijn verwijderd. Verder is er gebruik gemaakt van een heteroloog envelop eiwit.

Met de virusdeeltjes zijn autologe T-cellen geïnfecteerd waarna het lentivirale vectorgenoom stabiel geïntegreerd is in het genomisch DNA van de T-cel.

Virulentie en stabiliteit

Het ggo bestaat uit *ex vivo* lentiviraal getransduceerde, autologe T-cellen. De getransduceerde T-cellen kunnen gedurende lange tijd in patiënten aanwezig blijven en kunnen in de patiënt een afweerreactie opwekken tegen B-cel maligniteiten.

De getransduceerde T-cellen kunnen vanuit de patiënt in het milieu terecht komen en verspreiden naar derden via bloed of lymfe. Dit kan zich voordoen bij afname van bloed of bij contact met een open wond of het slijmvlies van de ogen, neus en mond. Echter, de T-cellen kunnen buiten het lichaam niet overleven.

Op het moment van infusie van de getransduceerde T-cellen zijn er mogelijk nog kleine hoeveelheden (theoretisch maximaal 5) vrije replicatiedeficiënte virusdeeltjes aanwezig. De replicatiedeficiënte virusdeeltjes kunnen alleen overleven als ze via direct bloed-bloed contact worden overgedragen. Bovendien zullen, indien er infectieuze lentivirale partikels in het JCAR017 cel product aanwezig zijn, deze na toediening aan de patiënt of bij accidentele toediening aan derden geïnactiverd worden door het complement systeem in humaan serum.

4.4. Beschrijving van het onderzoek

Het onderzoek zal plaatsvinden in het Erasmus MC in de gemeente Rotterdam. In totaal zullen maximaal 200 patiënten worden geïncubeerd. Het doel van de klinische studies is om de veiligheid en werkzaamheid van de getransduceerde T-cellen te beoordelen om zodoende een nieuwe therapie tegen B-cel maligniteiten te ontwikkelen.

In deze studies worden *ex vivo* lentiviraal getransduceerde, autologe T-cellen toegediend aan patiënten. De patiënten krijgen maximaal $1,5 \times 10^8$ getransduceerde cellen per infusie toegediend. De T-cellen van de patiënt worden getransduceerd met maximaal $8,0 \times 10^8$ virale partikels.

Het ggo wordt op de patiëntenkamer ontdooid en direct aan de patiënt toegediend via intraveneuze infusie. Na ontdooiden wordt het ggo met behulp van een naald uit de

Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal
Directie Veiligheid en
Risico's

Ons kenmerk
IM-MV 17-005_000.bes.1

ampul opgezogen in een injectiespuit. Medisch personeel zal het ggo intraveneus toedienen waarbij standaard medische voorzorgsmaatregelen voor immuungecompromitteerde patiënten worden gehanteerd. Het personeel dat de ampullen met het ggo hanteert draagt handschoenen en beschermende kleding. De patiënten krijgen een enkele infusie met het ggo. De patiënten kunnen mogelijk een tweede infusie krijgen indien er nog cellen voorradig zijn. Tussen deze toedieningen zit minimaal 28 dagen. Indien een additionele dosis van het ggo niet voorradig is, kan de leukafereze herhaald worden.

De patiënten worden gehospitaliseerd vanwege medische redenen, niet uit oogpunt ter voorkoming van verspreiding van het ggo naar het milieu. Deelnemende patiënten zijn vrij van HIV, humaan T-cel-lymfotroop virus (HTLV), Hepatitis B en Hepatitis C virus infecties. Daarnaast worden behandelde patiënten uitgesloten van het doneren van bloed, organen, sperma en eicellen voor transplantatie gedurende minimaal 12 maanden na toediening van JCAR017 en totdat de CAR T-cellen niet meer aangetoond kunnen worden met behulp van een qPCR assay in twee opeenvolgende testen.

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal**
Directie Veiligheid en
Risico's

Ons kenmerk
IM-MV 17-005_000.bes.1

4.5. Productie, vervoer, bemonstering en afvalbehandeling

Productie

Productie van de lentivirale vector en de transductie van de autologe T-cellen vindt buiten Nederland plaats en maken geen deel uit van de onderhavige vergunning. Transductie van de T-cellen vindt plaats in een *Good Manufacturing Practices* (GMP) faciliteit.

De lentivirale transfervector wordt transiënt getransfecteerd in 293T cellen (humane embryonale niercellijn) samen met packaging vectoren coderend voor de gag/pol en rev eiwitten en voor het VSV-G envelop eiwit. De 293T cellen zijn vrij van onder andere HTLV-1, HTLV-2, HIV-1 en HIV-2, waardoor recombinatie met en complementatie van de virale vector niet mogelijk is. Zowel de cellen gebruikt voor virusproductie als de virusbatch worden voorafgaand aan vrijgifte getest op de aanwezigheid van RCL. De virusbatch wordt daarnaast ook getest op onder andere identiteit, steriliteit en afwezigheid van mycoplasma, virale verontreinigingen en endotoxines.

T-cellen geïsoleerd uit de patiënt worden getransduceerd met de lentivirale vector. De getransduceerde T-cellen worden pas vrijgegeven voor infusie in de patiënt indien er geen RCL gedetecteerd is. De aanwezigheid van macrofagen en dendritische cellen wordt gedurende het productieproces van de getransduceerde T-cellen sterk gereduceerd. Het is de verwachting dat het aantal CD14+ cellen in het ggo beneden de kwantificeringslimiet is van 0.8%. De getransduceerde T-cellen worden daarnaast ook getest op onder andere viabiliteit, identiteit, steriliteit en afwezigheid van mycoplasma en endotoxines.

Vervoer

De getransduceerde T-cellen worden naar het Erasmus MC vervoerd. Dit maakt geen deel uit van de onderhavige vergunning. Vervolgens worden de cellen binnen het ziekenhuis vervoerd conform de Regeling GGO 2013.

Monsternamen en analyse

Monsternamen van bloed, beenmerg en tumorweefsel zal plaatsvinden na toediening van de getransduceerde T-cellen. Monsternamen, transport van de monsters in het ziekenhuis, opslag en bewerking maken deel uit van de onderhavige vergunning en zullen plaatsvinden volgens standaard ziekenhuisprocedures, aangezien de monsters mogelijk zeer lage hoeveelheden lentivirale partikels bevatten en de getransduceerde T-cellen geen specifiek veiligheidsrisico vormen. De monsters worden gehanteerd zoals reguliere ziekenhuismonsters.

Afname van bloed, beenmerg en tumorweefsel wordt uitgevoerd volgens lokale procedures door ervaren laboratoriumpersoneel en verplegend personeel.

Bloedafname zal plaatsvinden met een gesloten buizensysteem en het gebruikte materiaal zal worden afgevoerd als specifiek ziekenhuisafval. De monsters zullen onder andere worden getest op de aanwezigheid van RCL via een PCR test voor VSV-G DNA en de aanwezigheid van de getransduceerde T-cellen.

Afval en besmet materiaal

Na verwerking en toediening van het ggo aan de patiënt zal het ggo, de ampullen en alle materialen die in aanraking zijn geweest met het ggo worden afgevoerd conform de Regeling GGO. Afval van monsternamen zal afgevoerd worden als specifiek ziekenhuisafval. Betreffende schoonmaak en desinfectie van de patiëntenkamer zullen geen additionele maatregelen worden getroffen.

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal**
Directie Veiligheid en
Risico's

Ons kenmerk
IM-MV 17-005_000.bes.1

4.6. Interactie met het milieu

De getransduceerde T-cellen kunnen buiten de gastheer (de patiënt) niet overleven, tenzij er sprake is van weefselkweek waarbij speciale condities worden toegepast. In de getransduceerde T-cellen is de lentivirale vector stabiel geïntegreerd.

Op het moment van infusie van de getransduceerde T-cellen zijn er mogelijk nog kleine hoeveelheden (theoretisch maximaal 5) vrije replicatiedeficiënte virusdeeltjes aanwezig. De replicatiedeficiënte virusdeeltjes kunnen alleen overleven als ze via direct bloed-bloed contact worden overgedragen. Bovendien zullen, indien er infectieuze lentivirale partikels in het JCAR017 cel product aanwezig zijn, deze na toediening aan de patiënt of bij accidentele toediening aan derden geïnactiveerd worden door het complement systeem in humaan serum.

5. MILIEURISICOBEOORDELING

De milieurisicobeoordeling is een technisch-wetenschappelijk werkproces waarbij de mogelijke risico's voor de menselijke gezondheid en het milieu die verbonden zijn aan de werkzaamheden inzichtelijk worden gemaakt. Deze technisch-wetenschappelijke milieurisicobeoordeling is bij de aanvraag gevoegd.

De milieurisicobeoordeling is uitgevoerd voor de in de aanvraag beschreven werkzaamheden.

5.1. Algemeen

In de milieurisicobeoordeling wordt beoordeeld of en hoe derden blootgesteld kunnen worden aan het ggo, en of vervolgens infectie van derden met het ggo op kan treden. Daarnaast wordt ook in beschouwing genomen welke schadelijke effecten op kunnen treden als derden geïnfecteerd raken met het ggo.

5.2. Het ggo

Persistentie, invasiviteit en selectieve voordelen

In de genetisch gemodificeerde lentivirale vector is het merendeel van de HIV-1 sequenties verwijderd. Als gevolg van de deletie van deze sequenties is de lentivirale vector niet meer in staat om te repliceren in een geïnfecteerde cel. Het virusdeeltje kan dus slechts éénmaal een cel infecteren, waarna er geen replicatie plaatsvindt en waardoor eventuele verspreiding van het virus uiteindelijk zal uitdoven. Door het gebruik van het *Vesicular Stomatitis Virus* glycoproteïne (VSV-G) envelop eiwit is het tropisme van de vector verbreed. VSV-G gepseudotyperde lentivirale vectoren hebben een breed gastheerbereik en kunnen de meeste zoogdiercellen, en ook niet-zoogdiercellen, infecteren.

Replicatiecompetent lentivirus (RCL)

Tijdens de productie van de virale vector is er een theoretische kans aanwezig op het ontstaan van RCL. Het betreft hier een zogeheten derde generatie SIN lentiviraal vectorsysteem dat ontworpen is om het ontstaan van RCL te voorkomen. Hiertoe zijn

het transgen en de virale genen verdeeld over vier plasmiden. Voor de generatie van een RCL zijn minimaal 3 aparte recombinatie gebeurtenissen nodig. Er zijn geen aanwijzingen in de literatuur voor het ontstaan van RCL met derde generatie SIN lentivirale vectorsystemen.

Het is bovendien onwaarschijnlijk dat in de getransduceerde T-cellen recombinatie optreedt tussen de lentivirale vector en humane retrovirussen die mogelijk in de T-cellen aanwezig kunnen zijn aangezien de mate van homologie tussen deze virussen gereduceerd is door deleties en mutaties in de lentivirale vector. Bovendien zijn de patiënten vrij van HIV, HTLV, Hepatitis B en Hepatitis C virus infecties. Daarnaast is de lentivirale transfervector zelf-inactiverend (SIN). Dit houdt in dat uit de vector een deel van de 3' LTR, het zogenaamde U3 domein, verwijderd is. Dit reduceert de kans op mobilisatie van de vector uit het genoom van de gastheer. In het geval van een infectie van de getransduceerde cel met een wildtype lentivirus, dan kan de transfervector niet meer worden gemobiliseerd uit het genoom van de gastheer cel.

In theorie is er ook een mogelijkheid tot het ontstaan van RCL door recombinatie van de virale vector met humane endogene retrovirale (HERV) sequenties. HERV sequenties zijn aanwezig in het humane genoom. De meerderheid van de HERVs zijn gerelateerd aan beta retrovirussen, maar ook sequenties gerelateerd aan gamma retrovirussen zijn geïdentificeerd. Voor recombinatie tussen de virale vector en HERVs is de aanwezigheid van sequentie homologie noodzakelijk. De virale vector bevat slechts een gedeelte van het lentivirale genoom, waardoor recombinatie onwaarschijnlijk is.

Tenslotte worden voorafgaand aan vrijgifte de virusbatch en de getransduceerde T-cellen getest op de aanwezigheid van RCL.

De kans dat er daadwerkelijk een infectieus RCL aanwezig is in de virusbatch of de getransduceerde T-cellen is op grond van de bovenstaande overwegingen verwaarloosbaar klein.

Vrije virusdeeltjes

Op het moment van infusie van de getransduceerde T-cellen zijn er mogelijk nog kleine hoeveelheden vrije replicatiedeficiënte virusdeeltjes aanwezig. Er is een reductie van de hoeveelheid vrije replicatiedeficiënte virusdeeltjes met een factor $1,6 \times 10^8$ ten opzichte van het oorspronkelijke virale inoculum (reductieratio = 0.2), wat betekent dat er theoretisch nog 5 vrije replicatiedeficiënte virusdeeltjes in de batch aanwezig kunnen zijn. De reductie van het aantal vrije replicatiedeficiënte virusdeeltjes door perfusie gedurende het opgroeien van de cellen is hierbij niet meegenomen en zal voor een verdere afname zorgen. In de patiënt zal vervolgens het aantal vrije replicatiedeficiënte virusdeeltjes iedere dag met een factor $2^{2,4}$ (reductiefactor = $2^{2,4}$) afnemen, uitgaande van een halfwaardetijd van de virusdeeltjes van 10 uur. Vanuit de patiënt kunnen er gedurende de eerste vier dagen na toediening minimale hoeveelheden vrije replicatiedeficiënte virusdeeltjes terechtkomen in het milieu. Na deze vier dagen zullen er geen vrije replicatiedeficiënte virusdeeltjes meer terecht kunnen komen in het milieu. De replicatiedeficiënte virusdeeltjes kunnen alleen overleven als ze via direct bloed-bloed contact worden overgedragen. Bovendien zullen, indien er infectieuze lentivirale partikels in het JCAR017 cel product aanwezig zijn, deze na toediening aan de patiënt of bij accidentele toediening aan derden geïnactiveerd worden door het complement systeem in humaan serum.

De kans dat derden geïnfecteerd worden met vrije virusdeeltjes en dat hierdoor schadelijke effecten optreden is verwaarloosbaar klein.

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal**
Directie Veiligheid en
Risico's

Ons kenmerk
IM-MV 17-005_000.bes.1

5.3. Mogelijk schadelijke effecten van het ggo en de evaluatie van de mogelijke gevolgen van deze effecten

De lentivirale vector wordt gebruikt voor de *ex vivo* transductie (genetische modificatie) van autologe humane T-cellen. De getransduceerde T-cellen, welke anti-CD19 CAR tot expressie brengen, binden het CD19 antigen dat aanwezig is op B-cellen. Hierdoor herkent het afweersysteem specifiek B-cellen en vernietigt deze cellen. De getransduceerde T-cellen welke anti-CD19 CAR tot expressie brengen kunnen zodoende een afweerreactie opwekken tegen B-cel maligniteiten.

Daarnaast brengen de getransduceerde T-cellen ook het marker eiwit EGFRt en de T2A sequentie tot expressie. EGFRt bevat de bindingsplaats voor cetuximab, welke selectie, detectie en verwijdering van de getransduceerde cellen mogelijk maakt, maar kan niet binden aan de natuurlijke liganden epidermale groeifactor en transformerende groeifactor alfa. Door deletie van het cytoplasmatische domein heeft EGFRt geen signalerende activiteit. De T2A sequentie zorgt voor 'ribosomale skipping', wat er voor zorgt dat anti-CD19 CAR en EGFRt als aparte eiwitten in de cel tot expressie komen.

Van anti-CD19 CAR, EGFRt en T2A is niet bekend dat het effecten heeft op de virusbiologie van HIV-1. Er is ook geen scenario denkbaar waarlangs zo'n effect zou kunnen optreden. De inserties zullen dan ook geen invloed hebben op bijvoorbeeld het weefsel tropisme en het gastheerbereik van de virale vector.

Na infectie van de T-cel zal de virale vector op een willekeurige plek in het gastheer genoom integreren. Hierdoor bestaan de kans op ontregeling van genen betrokken bij proliferatie waardoor T-cel tumoren kunnen ontstaan.

De verloren functies van de lentivirale vector kunnen in theorie gecompenseerd worden indien een retrovirus in dezelfde cel aanwezig is als de vector. De expressie-producten van het wildtype virus kunnen in dat geval gebruikt worden door de vector, wat de vector de mogelijkheid biedt te repliceren en andere cellen te infecteren. Hierdoor is er een theoretische kans op verspreiding naar derden.

5.4. Waarschijnlijkheid van het optreden van het schadelijk effect

Op het moment van infusie van de getransduceerde T-cellen zijn er mogelijk nog kleine hoeveelheden (theoretisch maximaal 5) vrije replicatiedeficiënte virusdeeltjes aanwezig. In de patiënt zal vervolgens het aantal vrije replicatiedeficiënte virusdeeltjes iedere dag verder afnemen. De replicatiedeficiënte virusdeeltjes kunnen alleen overleven als ze via direct bloed-bloed contact worden overgedragen. Bovendien zullen, indien er infectieuze lentivirale partikels in het JCAR017 cel product aanwezig zijn, deze na toediening aan de patiënt of bij accidentele toediening aan derden geïnactiveerd worden door het complement systeem in humaan serum.

De kans dat insertionele mutagenese van de lentivirale vector direct carcinogeen is, is beperkt doordat insertie van retrovirale vectoren bijna altijd mono-allelisch is, gen inserties de overlevingskans van de cel beïnvloeden en, voor zover bekend, een enkele insertionele mutatie niet voldoende is voor het ontwikkelen van een kwaadaardig fenotype. Indien een lentivirale vector in het genoom van de gastheer integreert in de buurt van een proto-oncogen kan het U3 domein leiden tot de activering van het betreffende proto-oncogen. In de SIN vectoren is het U3 domein echter uit de 3' LTR verwijderd, waardoor mogelijke activering van naburige proto-oncogenen door het U3 domein teniet gedaan wordt. Tevens zijn er geen aanwijzingen in de literatuur voor kwaadaardige transformatie van volwassen T-cellen welke CARs tot expressie brengen.

Getransduceerde T-cellen kunnen gedurende lange tijd in patiënten aanwezig blijven als memory T-cellen. Minstens 6 maanden na infusie van getransduceerde T-cellen kunnen lage niveaus van deze cellen aangetoond worden in op de behandeling

Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal
Directie Veiligheid en
Risico's

Ons kenmerk
IM-MV 17-005_000.bes.1

reagerende patiënten en deze T-cellen blijven detecteerbaar in patiënten met een aanhoudende remissie. De getransduceerde T-cellen kunnen vanuit de patiënt in het milieu terechtkomen via bloed of lymfe. Dit kan zich voordoen bij afname van bloed of bij verwondingen waarbij een open wond ontstaat. De getransduceerde cellen kunnen verspreid worden naar derden via accidentele injectie of contact met een open wond of het slijmvlies van de ogen, neus en mond. De kans op nadelige effecten van getransduceerde T-cellen in het milieu is zeer klein omdat T-cellen buiten het lichaam niet kunnen overleven.

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal**
Directie Veiligheid en
Risico's

Indien de getransduceerde T-cellen in een ander individu dan de patiënt terechtkomen, dan zullen deze cellen vernietigd worden door de afweerreactie tegen deze lichaamsvreemde cellen. Behalve deze afweerreactie zijn hierbij geen bijwerkingen te verwachten. Indien de getransduceerde T-cellen in een immuungecompromitteerd persoon terechtkomen dan bestaat er een theoretische kans dat de getransduceerde T-cellen in deze persoon kunnen persisteren. In dit geval kunnen dezelfde effecten optreden als in de patiënt. Doordat de hoeveelheid getransduceerde T-cellen in derden vele malen kleiner zal zijn dan in patiënten, is de kans op negatieve effecten verkleind ten opzichte van de situatie in patiënten. De kans dat derden geïnfecteerd raken met de getransduceerde T-cellen en dat daardoor een schadelijk effect kan optreden is verwaarloosbaar klein.

Ons kenmerk
IM-MV 17-005_000.bes.1

De waarschijnlijkheid dat de verloren functies van de lentivirale vector gecompenseerd worden, indien een retrovirus in dezelfde cel aanwezig is als de lentivirale vector, is verwaarloosbaar klein. Ten eerste wordt vooraf getest op de aanwezigheid van RCL. Ten tweede zijn de patiënten vrij van HIV, HTLV, Hepatitis B en Hepatitis C virus infecties. Hierdoor is complementatie en/of recombinatie van de vector met deze virussen niet mogelijk. Daarbij is het onwaarschijnlijk dat recombinatie optreedt tussen de lentivirale vector en HERVs die mogelijk in de T-cellen aanwezig kunnen zijn.

Geconcludeerd kan worden dat de waarschijnlijkheid van het optreden van mogelijke schadelijke effecten voor mens en milieu verwaarloosbaar klein is.

5.5. Schatting van het risico van het ggo

In de bovenstaande overwegingen wordt geconcludeerd dat voor de behandeling van proefpersonen met het ggo de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn. Er zijn geen schadelijke effecten geïdentificeerd. Derhalve kan geconcludeerd worden dat met de introductie van het ggo de milieurisico's verwaarloosbaar klein zullen zijn.

5.6. Maatregelen voor risicobeheer

In de aanvraag is opgenomen dat patiënten die behandeld zijn, worden uitgesloten van het doneren van bloed, organen, sperma en eicellen voor transplantatie gedurende minimaal 12 maanden na toediening van JCAR017 en totdat de CAR T-cellen niet meer aangetoond kunnen worden met behulp van een qPCR assay in twee opeenvolgende testen, zodat introductie van de getransduceerde T-cellen in het milieu voorkomen wordt. Daarnaast worden alleen patiënten geïncubeerd die vrij zijn van HIV, HTLV, Hepatitis B en Hepatitis C virus infecties. Aangezien de milieurisico's van de toepassing van het ggo verwaarloosbaar klein zijn, is het voorschrijven van additionele risicobeheersmaatregelen uit oogpunt van de veiligheid voor mens en milieu niet noodzakelijk.

6. CONCLUSIES VAN MOGELIJKE MILIEUEFFECTEN VAN DE INTRODUCTIE

In Bijlage II, onder D1 van de richtlijn 2001/18 wordt een aantal punten opgesomd die, waar passend, dienen als basis voor de conclusies over de mogelijke milieueffecten van de voorgenomen introductie van de ggo's in het milieu. Voor de volledigheid van de risicobeoordeling worden al deze punten hieronder opgesomd voor de in deze vergunning aangevraagde werkzaamheden, met hun bijbehorende conclusies.

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal
Directie Veiligheid en
Risico's**

**Ons kenmerk
IM-MV 17-005_000.bes.1**

1. Waarschijnlijkheid dat het ggo in natuurlijke habitats persistent en invasief wordt onder omstandigheden van de voorgestelde introductie

De waarschijnlijkheid dat de getransduceerde T-cellen persistent en invasief wordt is verwaarloosbaar klein, omdat de genetisch gemodificeerde cellen op zichzelf, buiten de patiënt, niet levensvatbaar zijn. De kans dat derden geïnfecteerd raken met de getransduceerde T-cellen of de in het ggo mogelijk aanwezige vrije replicatiedeficiënte virusdeeltjes én dat daardoor een schadelijk effect kan optreden is verwaarloosbaar klein. Op het moment van infusie van de getransduceerde T-cellen zijn er mogelijk nog kleine hoeveelheden vrije replicatiedeficiënte virusdeeltjes aanwezig. Indien er infectieuze lentivirale partikels in het ggo aanwezig zijn, dan zullen deze na toediening aan de patiënt of bij accidentele toediening aan derden geïnactiveerd worden door het complement systeem in humaan serum. Daarnaast is de kans dat RCL aanwezig is in de getransduceerde T-cellen verwaarloosbaar klein. Het risico dat het ggo in natuurlijke habitats persistent en invasief wordt onder de omstandigheden van de voorgestelde introductie is verwaarloosbaar klein.

2. Selectieve voordelen of nadelen die op het ggo zijn overgedragen en de waarschijnlijkheid dat zulks geschiedt onder de omstandigheden van de voorgestelde introductie

De waarschijnlijkheid van een verhoogd selectief voordeel bij toepassing van het ggo is verwaarloosbaar klein. De genetisch gemodificeerde T-cellen zijn op zichzelf, buiten de patiënt, niet levensvatbaar en zullen in het milieu niet persisteren. De kans dat derden geïnfecteerd raken met de getransduceerde T-cellen of de in het ggo mogelijk aanwezige vrije replicatiedeficiënte virusdeeltjes én dat daardoor een schadelijk effect kan optreden is verwaarloosbaar klein. Op het moment van infusie van de getransduceerde T-cellen zijn er mogelijk nog kleine hoeveelheden vrije replicatiedeficiënte virusdeeltjes aanwezig. Indien er infectieuze lentivirale partikels in het ggo aanwezig zijn, dan zullen deze na toediening aan de patiënt of bij accidentele toediening aan derden geïnactiveerd worden door het complement systeem in humaan serum. Daarnaast is de kans dat RCL aanwezig is in de getransduceerde T-cellen en de waarschijnlijkheid dat de verloren functies van de lentivirale vector gecompenseerd worden verwaarloosbaar klein. Derhalve zijn de risico's voor mens en milieu van het gebruikte ggo verwaarloosbaar klein.

3. Kans op overdracht op andere soorten onder de omstandigheden van de voorgestelde introductie van het ggo en selectieve voordelen of nadelen die op deze soorten kunnen worden overgedragen

Op het moment van infusie van de getransduceerde T-cellen zijn er mogelijk nog kleine hoeveelheden vrije replicatiedeficiënte virusdeeltjes aanwezig. Indien er infectieuze lentivirale partikels in het ggo aanwezig zijn, dan zullen deze na toediening aan de patiënt of bij accidentele toediening aan derden geïnactiveerd worden door het complement systeem in humaan serum. Daarnaast is de kans dat RCL aanwezig is in de getransduceerde T-cellen verwaarloosbaar klein. De waarschijnlijkheid dat de verloren functies van de lentivirale vector gecompenseerd worden indien een retrovirus in dezelfde cel aanwezig is als de vector is verwaarloosbaar klein. De kans dat transmissie van de lentivirale vector

plaatsvindt en dat, als er transmissie plaatsvindt, daardoor mogelijke schadelijke effecten optreden, is verwaarloosbaar klein.

4. Mogelijke onmiddellijke en/of vertraagde milieueffecten van de directe en indirecte interacties tussen het ggo en de proefpersoon, en tussen het ggo en niet-doelwitorganismen

De waarschijnlijkheid van milieueffecten op niet-doelwitorganismen bij toepassing van het ggo is verwaarloosbaar klein. De getransduceerde T-cellen kunnen gedurende lange tijd in patiënten aanwezig blijven als memory T-cellen en kunnen dus gedurende deze periode anti-CD19 CAR en EGFRt tot expressie brengen. De kans dat de getransduceerde T-cellen of de in het ggo mogelijk aanwezige vrije replicatiedeficiënte virusdeeltjes terechtkomen in het lichaam van een derde én dat daardoor een schadelijk effect kan optreden is verwaarloosbaar klein. In het zeer onwaarschijnlijke geval dat de getransduceerde T-cellen in een ander individu dan de patiënt terechtkomen dan zullen deze cellen vernietigd worden door de afweerreactie tegen deze lichaamsvreemde cellen. Indien er infectieuze lentivirale partikels in het ggo aanwezig zijn, dan zullen deze na toediening aan de patiënt of bij accidentele toediening aan derden geïnactiveerd worden door het complement systeem in humaan serum.

5. Mogelijke onmiddellijke en/of vertraagde effecten op de menselijke gezondheid van mogelijke directe en indirecte interacties tussen het ggo en personen die werken met, in contact komen met of in de nabijheid komen van ggo-introductie

De waarschijnlijkheid van effecten op de menselijke gezondheid bij toepassing van het ggo is verwaarloosbaar klein. De kans dat derden geïnfecteerd raken met de getransduceerde T-cellen of de in het ggo mogelijk aanwezige vrije replicatiedeficiënte virusdeeltjes én dat daardoor een schadelijk effect kan optreden is verwaarloosbaar klein. In het zeer onwaarschijnlijke geval dat de getransduceerde T-cellen in een ander individu dan de patiënt terechtkomen dan zullen deze cellen vernietigd worden door de afweerreactie tegen deze lichaamsvreemde cellen. Indien er infectieuze lentivirale partikels in het ggo aanwezig zijn, dan zullen deze na toediening aan de patiënt of bij accidentele toediening aan derden geïnactiveerd worden door het complement systeem in humaan serum.

6. Mogelijke verandering in de staande medische praktijk

De waarschijnlijkheid van verandering in de staande medische praktijk bij toepassing van het ggo is verwaarloosbaar klein. Het doel van de studies is om een nieuwe therapie tegen B-cel maligniteiten te ontwikkelen. Hierdoor zal het arsenaal aan mogelijke behandelingen voor kankerpatiënten toenemen. Hier zijn geen nadelige gevolgen voor mens of milieu aan verbonden.

7. ADVIES

Op 12 juni 2018 en op 2 juli 2018 heeft de COGEM over de aangevraagde werkzaamheden geadviseerd (CGM/180612-01 en CGM/180702-01). Mogelijke risico's die bij deze klinische studie kunnen optreden, hebben vooral betrekking op de eventuele vorming en verspreiding van replicatiecompetent lentivirus en de aanwezigheid van vrije virusdeeltjes in het medische product. De aanvrager voert meerdere testen uit om de aanwezigheid van RCL in de virusbatch en de getransduceerde T-cellen 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. Naar aanleiding van bovenstaande adviezen heeft de aanvrager additionele informatie overgelegd waarin zij aangeeft dat er gedurende de expansiefase

Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal
Directie Veiligheid en
Risico's

Ons kenmerk
IM-MV 17-005_000.bes.1

additionele waseffecten zijn door perfusie met medium waardoor er een verdere reductie van het aantal vrije virale partikels heeft plaatsgevonden. Derhalve zijn de risico's door eventuele vorming en verspreiding van replicatiecompetent lentivirus en de aanwezigheid van vrije virusdeeltjes in het medische product verwaarloosbaar klein.

Indien de genetisch gemodificeerde 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. Derhalve zijn de risico's van deze studie voor mens en milieu verwaarloosbaar klein.

Wel adviseert de COGEM aan de aanvrager om patiënten aan wie de genetisch gemodificeerde T-cellen (JCAR017) worden toegediend, af te laten zien van het geven van borstvoeding, aangezien zij niet kan uitsluiten dat overdracht van genetisch gemodificeerde T-cellen door borstvoeding kan plaatsvinden. De aanvrager stelt dat patiënten die deelnemen aan een klinische studie met JCAR017 moeten toestemmen om geen borstvoeding te geven gedurende studie deelname en voor tenminste 90 dagen na toediening van JCAR017 en totdat de CAR T-cellen niet langer detecteerbaar zijn middels qPCR voor twee opeenvolgende testen. Daarnaast dienen vrouwen een negatieve zwangerschapstest te hebben tijdens screening.

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal**
Directie Veiligheid en
Risico's

Ons kenmerk
IM-MV 17-005_000.bes.1

8. ZIENSWIJZEN

Naar aanleiding van de kennisgeving van de aanvraag en de ontwerpbeschikking zijn zienswijzen ingebracht door:

1. M. Bos, te Lelystad, namens De Gentechvrije Burgers
2. E.A. van Nifterik te Swifterbant
3. T. Tromp te Lelystad, namens Stichting Ekopark
4. H. Poleij, namens Stichting Ekopark
5. Zijlstra te Lelystad
6. M. Lieve te Lelystad, namens Stichting Ekopark
7. Anoniem
8. Anoniem

1. De indieners van de zienswijzen vinden het schokkend dat er weer embryonale cellen zijn gebruikt.

Reactie: Deze zienswijze is niet gericht op de milieurisicobeoordeling van de voorgenomen werkzaamheden. Overeenkomstig artikel 9.2.2.3, tweede lid Wet milieubeheer kan een vergunning slechts in het belang van de bescherming van mens en milieu worden geweigerd.

2. De indieners van de zienswijzen geven aan dat het hier weer gaat om een zeer zwaar traject, waarbij patiënten last kunnen krijgen van ernstige bijwerkingen. Bovendien is de te gebruiken virale vector afgeleid van Human Immunodeficiency Virus 1. Tevens geven zij aan dat niemand schade mag worden berokkend, zelfs niet als daar voor anderen iets goeds uit zou komen.

Reactie: De mogelijke schadelijke effecten voor mens en milieu zijn uitgebreid beschouwd in de milieurisicobeoordeling, waaruit blijkt dat de toepassing van het ggo niet zal leiden tot een risico voor mens en milieu. De COGEM heeft positief geadviseerd (CGM/180612-01 en CGM/180702-01) over de milieurisicobeoordeling en geconcludeerd dat de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn. De mogelijke risico's, eventuele voordelen voor de patiënten en andere medisch ethische aspecten verbonden aan klinische studies worden beoordeeld door de Centrale Commissie Mensgebonden Onderzoek (CCMO). De CCMO waarborgt de bescherming van proefpersonen betrokken bij medisch-wetenschappelijk onderzoek.

Het onderzoeksvoorstel wordt door de CCMO getoetst volgens de criteria van de Wet medisch-wetenschappelijk onderzoek met mensen (WMO).

3. De indieners van de zienswijzen geven aan dat het advies van de COGEM niet bekend is, waarschijnlijke publicatie op 12 juni 2018. Dat is één dag voor de definitieve datum dat mensen een zienswijze kunnen indienen. Het advies van de COGEM wordt dus niet afgewacht maar er wordt gewoon al toestemming gegeven door het ministerie. En wij kunnen niet meer op dat advies reageren. Dat is vreemd.

Reactie: De COGEM wordt om advies gevraagd met betrekking tot het ontwerpbesluit gedurende de ter inzage termijn van de ontwerpbeschikking. Het COGEM advies wordt meegewogen bij het definitieve besluit om al dan niet de vergunning te verlenen en bij het opstellen van de definitieve beschikking. De indieners van de zienswijzen kunnen in beroep gaan tegen de definitieve beschikking.

4. De indieners van de zienswijzen maken ernstig bezwaar tegen de aanvraag vanwege het advies van de COGEM waarin over mogelijke ernstige bijwerkingen niet wordt gerept. Op 12 juni 2018 geeft de COGEM op twitter aan dat klinische studies met gg T-cellen in opmars zijn en dat er weer een studie positief is beoordeeld door de COGEM.

Reactie: De mogelijke schadelijke effecten voor mens en milieu zijn uitgebreid beschouwd in de milieurisicobeoordeling, waaruit blijkt dat de toepassing van het ggo niet zal leiden tot een risico voor mens en milieu. De COGEM heeft positief geadviseerd (CGM/180612-01 en CGM/180702-01) over de milieurisicobeoordeling en geconcludeerd dat de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn. De mogelijke risico's, eventuele voordelen voor de patiënten en andere medisch ethische aspecten verbonden aan klinische studies worden beoordeeld door de Centrale Commissie Mensgebonden Onderzoek (CCMO). De CCMO waarborgt de bescherming van proefpersonen betrokken bij medisch-wetenschappelijk onderzoek. Het onderzoeksvoorstel wordt door de CCMO getoetst volgens de criteria van de Wet medisch-wetenschappelijk onderzoek met mensen (WMO).

5. De indieners van de zienswijzen vragen zich af waarom de beoordeling van de CCMO niet in de database staat. Zij vinden dit onvolledig.

Reactie: De mogelijke risico's, eventuele voordelen voor de patiënten en andere medisch ethische aspecten verbonden aan klinische studies worden beoordeeld door de Centrale Commissie Mensgebonden Onderzoek (CCMO). De CCMO waarborgt de bescherming van proefpersonen betrokken bij medisch-wetenschappelijk onderzoek. Het onderzoeksvoorstel wordt door de CCMO getoetst volgens de criteria van de Wet medisch-wetenschappelijk onderzoek met mensen (WMO). De beoordeling door de CCMO staat los van de beoordeling door het Ministerie van Infrastructuur en Waterstaat en derhalve staan de documenten van de CCMO niet in de digitale vergunningendatabase van Bureau GGO.

De indieners van de zienswijzen verwijzen naar de zienswijzen die zijn ingediend op het dossier IM-MV 17-006. Deze zienswijzen en reacties zijn hieronder ingelast.

6. De indieners van de zienswijzen geven aan dat deze medisch gentech proef overeenkomsten toont met die van kenmerk IM-MV 17-004. Ook gaat het om een *clinical trial* met kinderen. Verder geven zij aan dat dezelfde proef dus al eerder is uitgevoerd en dat een medische proef op kinderen niet mag plaatsvinden als er al een eerdere proef is gedaan met dezelfde medische (gentech) proef. Zij zijn geschokt en vinden dat dit niet ethisch verantwoord is. Daarnaast geven zij aan dat het tijd wordt dat alle ethische kwesties verplicht worden beoordeeld via de wet die over introductie van genetisch gemanipuleerde organismen in het milieu gaat.

Reactie: Deze zienswijze is niet gericht op de milieurisicobeoordeling van de voorgenomen werkzaamheden. Overeenkomstig artikel 9.2.2.3, tweede lid Wet

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal**
Directie Veiligheid en
Risico's

Ons kenmerk
IM-MV 17-005_000.bes.1

milieubeheer kan een vergunning slechts in het belang van de bescherming van mens en milieu worden geweigerd.

De mogelijke risico's, eventuele voordelen voor de patiënten en andere medisch ethische aspecten verbonden aan klinische studies worden beoordeeld door de Centrale Commissie Mensgebonden Onderzoek (CCMO). De CCMO waarborgt de bescherming van proefpersonen betrokken bij medisch-wetenschappelijk onderzoek. Het onderzoeksvoorstel wordt door de CCMO getoetst volgens de criteria van de Wet medisch-wetenschappelijk onderzoek met mensen (WMO).

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal**
Directie Veiligheid en
Risico's

7. De indieners van de zienswijzen geven aan dat in de aanvraag eerst werd geopperd om het lege cel product zakje waar de gentech cellen zich in bevonden, als aandelen mee te geven aan de patiëntjes. Hier is niet over nagedacht. Ook constateren zij spel- en taalfouten in de aanvraag.

Reactie: Deze zienswijze heeft geen betrekking op de onderhavige studie. Daarom wordt niet inhoudelijk op deze zienswijze ingegaan.

Ons kenmerk
IM-MV 17-005_000.bes.1

8. De indieners van de zienswijzen geven aan dat het afnemen van bloed en beenmerg zeer belastend is, zeker voor een kind. Verder schrikken zij van complicaties met onnodig fysiek en mentaal leed en letsel. Zieke kinderen zijn geen proefkonijnen.

Reactie: Deze zienswijze is niet gericht op de milieurisicobeoordeling van de voorgenomen werkzaamheden. Overeenkomstig artikel 9.2.2.3, tweede lid Wet milieubeheer kan een vergunning slechts in het belang van de bescherming van mens en milieu worden geweigerd.

De mogelijke risico's, eventuele voordelen voor de patiënten en andere medisch ethische aspecten verbonden aan klinische studies worden beoordeeld door de Centrale Commissie Mensgebonden Onderzoek (CCMO). De CCMO waarborgt de bescherming van proefpersonen betrokken bij medisch-wetenschappelijk onderzoek. Het onderzoeksvoorstel wordt door de CCMO getoetst volgens de criteria van de Wet medisch-wetenschappelijk onderzoek met mensen (WMO).

9. De indieners van de zienswijzen geven aan dat er ook potentiële lange termijn veiligheidsbedenkingen worden genoemd met tisagenlecleucel door de FDA. Toch wordt deze gentech therapie tenslotte via een versnelde procedure goedgekeurd door de FDA, ondanks de vele ernstige bijwerkingen, en er is geen onderzoek gedaan naar lange termijn effecten. Onbegrijpelijk.

Reactie: De mogelijke schadelijke effecten voor mens en milieu zijn uitgebreid beschouwd in de milieurisicobeoordeling, waaruit blijkt dat de toepassing van het ggo niet zal leiden tot een risico voor mens en milieu. De COGEM heeft positief geadviseerd (CGM/180612-01 en CGM/180702-01) over de milieurisicobeoordeling en geconcludeerd dat de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn.

De mogelijke risico's, eventuele voordelen voor de patiënten en andere medisch ethische aspecten verbonden aan klinische studies worden beoordeeld door de Centrale Commissie Mensgebonden Onderzoek (CCMO). De CCMO waarborgt de bescherming van proefpersonen betrokken bij medisch-wetenschappelijk onderzoek. Het onderzoeksvoorstel wordt door de CCMO getoetst volgens de criteria van de Wet medisch-wetenschappelijk onderzoek met mensen (WMO).

10. De indieners van de zienswijzen verwijzen naar opmerkingen van Dr. Devinder Sharma en Dr. Arpad Pusztai waarbij wordt aangegeven dat een medische gentechproef net zo'n onvoorspelbare proef is als een proef met een gentech gewas, alleen zit er een ander etiket op en dat de algemene bijwerkingen van het genetisch manipulatieproces de oorzaak was van de massieve gezondheidsproblemen bij ratten die 10 dagen gentech voedsel aten.

Reactie: De mogelijke schadelijke effecten voor mens en milieu zijn uitgebreid beschouwd in de milieurisicobeoordeling, waaruit blijkt dat de toepassing van het ggo niet zal leiden tot een risico voor mens en milieu. De COGEM heeft positief

geadviseerd (CGM/180612-01 en CGM/180702-01) over de milieurisicobeoordeling en geconcludeerd dat de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn. De mogelijke risico's, eventuele voordelen voor de patiënten en andere medisch ethische aspecten verbonden aan klinische studies worden beoordeeld door de Centrale Commissie Mensgebonden Onderzoek (CCMO). De CCMO waarborgt de bescherming van proefpersonen betrokken bij medisch-wetenschappelijk onderzoek. Het onderzoeksvoorstel wordt door de CCMO getoetst volgens de criteria van de Wet medisch-wetenschappelijk onderzoek met mensen (WMO).

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal**
Directie Veiligheid en
Risico's

11. De indieners van de zienswijzen geven aan dat er nieuwe (alternatieve) therapieën worden ontwikkelend en hoopvol zijn.

Reactie: Deze zienswijze is niet gericht op de milieurisicobeoordeling van de voorgenomen werkzaamheden. Overeenkomstig artikel 9.2.2.3, tweede lid Wet milieubeheer kan een vergunning slechts in het belang van de bescherming van mens en milieu worden geweigerd.

Ons kenmerk
IM-MV 17-005_000.bes.1

12. De indieners van de zienswijzen geven aan dat het advies van de COGEM uit 2016 volgens hen niet toereikend is. Zij vragen zich af of de COGEM de kans op nadelige effecten nog steeds verwaarloosbaar klein vinden bij de patiënten. Deze kanker patiëntjes en wat oudere patiënten hebben het al zo zwaar, moeten ze dit moeilijke traject dan ook nog doorlopen.

Reactie: Deze zienswijze heeft geen betrekking op de onderhavige studie. De COGEM is gelijktijdig met de publicatie van de onderhavige ontwerpbeschikking om advies gevraagd.

13. De indieners van de zienswijzen wijzen op het nieuwsverloop en laatste nieuws over het corruptieschandaal in Griekenland waarbij Novartis betrokken is.

Reactie: Deze zienswijze is niet gericht op de milieurisicobeoordeling van de voorgenomen werkzaamheden. Overeenkomstig artikel 9.2.2.3, tweede lid Wet milieubeheer kan een vergunning slechts in het belang van de bescherming van mens en milieu worden geweigerd.

14. De indieners van de zienswijzen verwijzen naar mailcorrespondentie betreffende een studie met BCG.

Reactie: Deze zienswijze heeft geen betrekking op de onderhavige studie. Daarom wordt niet inhoudelijk op deze zienswijze ingegaan.

15. De indieners van de zienswijzen vragen zich af of een ziekenhuis een aanvraag kan indienen terwijl dat nog in aanbouw is.

Reactie: Deze zienswijze is niet gericht op de milieurisicobeoordeling van de voorgenomen werkzaamheden. Overeenkomstig artikel 9.2.2.3, tweede lid Wet milieubeheer kan een vergunning slechts in het belang van de bescherming van mens en milieu worden geweigerd.

16. De indieners van de zienswijzen verwijzen naar een fragment van de Rijksoverheid: Meer mogelijkheden wetenschappelijk onderzoek met kinderen. De indieners van de zienswijzen geven aan dat het hier gaat om een zeer zwaar traject, waarbij patiënten last kunnen krijgen van ernstige bijwerkingen zoals is gebleken tijdens een eerdere proef in de VS. Zieke kinderen zijn geen proefkonijnen. Niemand mag schade worden berokkend, zelfs niet als daar voor anderen iets goeds uit zou komen.

Reactie: Deze zienswijze is niet gericht op de milieurisicobeoordeling van de voorgenomen werkzaamheden. Overeenkomstig artikel 9.2.2.3, tweede lid Wet milieubeheer kan een vergunning slechts in het belang van de bescherming van mens en milieu worden geweigerd.

De mogelijke risico's, eventuele voordelen voor de patiënten en andere medisch ethische aspecten verbonden aan klinische studies worden beoordeeld door de

Centrale Commissie Mensgebonden Onderzoek (CCMO). De CCMO waarborgt de bescherming van proefpersonen betrokken bij medisch-wetenschappelijk onderzoek. Het onderzoeksvoorstel wordt door de CCMO getoetst volgens de criteria van de Wet medisch-wetenschappelijk onderzoek met mensen (WMO).

17. De indieners van de zienswijzen geven aan dat Actemra = tocilizumab dat gebruikt werd vanwege bijwerkingen tijdens een eerdere proef in verband is gebracht met ernstige bijwerkingen met meer dan 1.100 doden.

Reactie: Deze zienswijze heeft geen betrekking op de onderhavige studie. Daarom wordt niet inhoudelijk op deze zienswijze ingegaan.

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal**
Directie Veiligheid en
Risico's

Ons kenmerk
IM-MV 17-005_000.bes.1

9. OPMERKINGEN VAN ANDERE LIDSTATEN

Er zijn geen opmerkingen ontvangen.

10. CONCLUSIE

Het ggo dat aan de patiënten wordt toegediend bestaat uit T-cellen die getransduceerd zijn met een lentivirale vector, afgeleid van HIV-1, waarin een transmembrane, chimere anti-CD19 receptor gekloneerd is. De virale vector is door verwijdering van een aantal virale genen replicatiedeficiënt gemaakt, waardoor het virus zich in de cel niet kan vermenigvuldigen. De kans is verwaarloosbaar klein dat tijdens de toediening van de getransduceerde T-cellen RCL aanwezig is. Op het moment van infusie van de getransduceerde T-cellen zijn er mogelijk nog kleine hoeveelheden vrije replicatiedeficiënte virusdeeltjes aanwezig. Indien er infectieuze lentivirale partikels in het ggo aanwezig zijn, dan zullen deze na toediening aan de patiënt of bij accidentele toediening aan derden geïnactiveerd worden door het complement systeem in humaan serum. Tevens is de kans verwaarloosbaar klein dat de verloren functies van de lentivirale vector gecompenseerd worden, waardoor recombinante virusdeeltjes ontstaan in de patiënt. De getransduceerde T-cellen welke anti-CD19 CAR tot expressie brengen kunnen in de patiënt een afweerreactie opwekken tegen B-cel maligniteiten. Vanuit de patiënt kunnen de T-cellen alleen via bloed of lymfe in het milieu komen. Echter, buiten het lichaam kunnen de cellen niet overleven. De kans dat derden geïnfecteerd raken met de getransduceerde T-cellen of de in het ggo mogelijk aanwezige vrije replicatiedeficiënte virusdeeltjes én dat daardoor een schadelijk effect kan optreden is verwaarloosbaar klein. Concluderend kan gesteld worden dat het risico voor mens en milieu bij toepassing van het ggo verwaarloosbaar klein is.

Op basis van het voorgaande is de Staatssecretaris van oordeel dat aan de aangevraagde werkzaamheden, als deze onder de voorwaarden zoals aangevraagd worden uitgevoerd, geen mogelijke effecten verbonden te zijn die onaanvaardbaar zijn voor mens en milieu. De aanvraag voldoet daarmee aan de wettelijke vereisten. Er zijn op basis van artikel 9.2.2.3, tweede lid van de Wet milieubeheer dan ook geen redenen om de aangevraagde werkzaamheden te weigeren.

Naar aanleiding van deze overwegingen zal de vergunning worden verleend.

Besluit

- I. Aan het Academisch Ziekenhuis behorende bij de openbare universiteit Rotterdam, te Rotterdam, wordt vergunning verleend voor doelbewuste introductie voor overige doeleinden als bedoeld in artikel 3.2, eerste lid, van het Besluit ggo.
- II. De vergunning heeft uitsluitend betrekking op de in de aanvraag beschreven werkzaamheden in de Gemeente Rotterdam.
- III. De aanvraag met bijbehorende aanvullingen maakt deel uit van deze vergunning.
- IV. Aan de vergunning worden de navolgende voorschriften verbonden.

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal**
Directie Veiligheid en
Risico's

Ons kenmerk
IM-MV 17-005_000.bes.1

Voorschriften

Artikel 1. **Definities en begrippen**

1. Op deze vergunning zijn de volgende definities van toepassing:
 - a. COGEM: de Commissie genetische modificatie, ingesteld bij artikel 2.26 van de Wet milieubeheer;
 - b. de Staatssecretaris: de Staatssecretaris van Infrastructuur en Waterstaat;
 - c. Het Besluit ggo: het Besluit genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013;
 - d. De Regeling ggo: de Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013;
 - e. ggo: genetisch gemodificeerd organisme;
 - f. anti-CD19 CAR: chimere anti-CD19 receptor;
 - g. HIV-1: *Human Immunodeficiency Virus 1*;
 - h. ORF: *Open Reading Frame*;
 - i. LTR: *Long Terminal Repeat*;
 - j. PBS: *primer binding site*;
 - k. ψ : *packaging signaal*;
 - l. PPT: *polypurine tract*;
 - m. cPPT: *central polypurine tract*;
 - n. RRE: *Rev response element*;
 - o. AIDS: *Acquired Immune Deficiency Syndrome*;
 - p. VSV-G: *Vesicular Stomatitis Virus* glycoproteïne;
 - q. GM-CSF: *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*;
 - r. EGFRt: ingekorte, niet-functionele vorm van de humane epidermale groeifactorreceptor;
 - s. T2A: 2A sequentie afkomstig van *thosa assigna virus*;
 - t. SIN: zelf-inactiverend;
 - u. RCL: replicatiecompetent lentivirus;
 - v. HTLV: humaan T-cel-lymfotroop virus;
 - w. GMP: *Good Manufacturing Practices*;
 - x. HERV: humaan endogeen retrovirus.
2. Voor het overige zijn de definities van het Besluit ggo en de Regeling ggo op deze vergunning van toepassing.
3. Bij ieder voorschrift van deze vergunning kunnen, met het oog op de bescherming van de gezondheid van de mens en van het milieu, door de Staatssecretaris nadere eisen worden gesteld. De vergunninghouder dient aan de gestelde nadere eisen te voldoen.

Artikel 2. Algemene voorschriften

1. De werkzaamheden als bedoeld onder II, mogen uitsluitend doorgang vinden voor zover die zijn opgenomen in een beschrijving van voorgenomen werkzaamheden als bedoeld in artikel 4 en voor zover er minstens 15 dagen zijn verstreken na verzending van die beschrijving conform artikel 4 aan de Staatssecretaris of zodra de ontvangst van de beschrijving van voorgenomen werkzaamheden schriftelijk is bevestigd.
2. De vergunninghouder dient zich tijdens de uitvoering van de werkzaamheden als bedoeld onder II, te verzekeren van de volledige zeggenschap over de werkzaamheden met genetisch gemodificeerde organismen.
3. De medewerkers die worden betrokken bij de werkzaamheden, worden van de inhoud van deze vergunning in kennis gesteld voordat zij met de werkzaamheden aanvangen.

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal**
Directie Veiligheid en
Risico's

Ons kenmerk
IM-MV 17-005_000.bes.1

Artikel 3. Bijzondere voorschriften

1. Zowel de cellen gebruikt voor virusproductie als de virusbatch worden voorafgaand aan vrijgifte getest op de aanwezigheid van RCL.
2. De patiënten zijn vrij van HIV, HTLV, Hepatitis B en Hepatitis C virus infecties.
3. De patiënten die behandeld zijn worden uitgesloten van het doneren van bloed, organen, sperma en eicellen voor transplantatie gedurende minimaal 12 maanden na toediening van het ggo en totdat de CAR T-cellen niet meer aangetoond kunnen worden met behulp van een qPCR assay in twee opeenvolgende testen.

Artikel 4. Voorschriften met betrekking tot de beschrijving van voorgenomen werkzaamheden

1. De vergunninghouder is verplicht voor de aanvang van de werkzaamheden een beschrijving van de voorgenomen werkzaamheden in overeenstemming met artikel 42 van de Regeling ggo aangetekend te zenden aan de Staatssecretaris.

Artikel 5. Voorschriften met betrekking tot controle

1. Iedere wijziging van gegevens met betrekking tot de vergunningaanvraag (bijvoorbeeld wijziging van contactpersoon of milieuveiligheidsfunctionaris) moeten in het logboek worden opgenomen en onverwijld schriftelijk aan de Staatssecretaris worden gemeld.
2. Gedurende het uitvoeren van de onder II bedoelde werkzaamheden op de locatie moet regelmatig en doelmatig gecontroleerd worden op afwijkingen ten opzichte van de gegevens in de onderliggende aanvraag. Deze afwijkingen dienen te worden genoteerd in het logboek.
3. Afwijkingen, zoals bedoeld in het tweede lid, die van invloed kunnen zijn op de risico's van de werkzaamheden voor mens en milieu, dienen onverwijld telefonisch en schriftelijk aan de Inspectie Leefomgeving en Transport gemeld te worden.
4. Iedere onvoorziene omstandigheid die de werkzaamheden betreft zoals beschreven onder II moet onverwijld aan de Inspectie Leefomgeving en Transport worden gemeld. De gegevens voor het melden staan vermeld op de website van de Inspectie Leefomgeving en Transport en op de website van Bureau GGO.

Artikel 6. Inwerkingtreding

1. Deze beschikking treedt in werking overeenkomstig artikel 20.3 van de Wet milieubeheer.

19 juli 2018,
DE STAATSSECRETARIS VAN INFRASTRUCTUUR EN WATERSTAAT,

namens deze,

het afdelingshoofd Omgevingsveiligheid en Milieurisico's,



dr. Dick Jung

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal**
Directie Veiligheid en
Risico's

Ons kenmerk
IM-MV 17-005_000.bes.1