



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

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal**
Directie
Omgevingsveiligheid en
Milieurisico's

RIVM/VSP/Bureau GGO
Antonie van
Leeuwenhoeklaan 9
Postbus 1
3720 BA Bilthoven
[www.ggo-
vergunningverlening.nl](http://www.ggo-vergunningverlening.nl)

Contactpersoon
Bureau GGO

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

Ons kenmerk
IM-MV 18-009_000.ob.1

Uw kenmerk

Ontwerpbeschikking GGO IM-MV 18-009_000

1. AANLEIDING¹

1.1 De Staatssecretaris van Infrastructuur en Waterstaat (hierna: de Staatssecretaris) heeft op 20 juni 2018 een aanvraag, gedateerd 18 juni 2018, van het Universitair Medisch Centrum Utrecht te Utrecht ontvangen. Deze aanvraag heeft het kenmerk IM-MV 18-009.

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 maligniteiten, die B cell maturation antigen (BCMA) tot expressie brengen, *ex vivo* getransduceerd (genetische modificatie) worden met een lentivirale vector. Deze vector brengt een transmembrane, chimere anti-BCMA receptor (anti-BCMA CAR) tot expressie. De getransduceerde T-cellen worden weer teruggegeven aan de patiënten met als doel het induceren van een afweerreactie tegen deze maligniteiten.

1.3 De autologe T-cellen worden *ex vivo* getransduceerd met een lentivirale vector die 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-BCMA CAR tot expressie brengen, worden teruggegeven aan de patiënten met de verwachting dat ze deze 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 maligniteiten die BCMA tot expressie brengen te ontwikkelen.

1.4 De voorgenomen werkzaamheden zullen plaatsvinden in de gemeente Utrecht.

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. Zie ook paragraaf 8.3 van de nota van toelichting bij het Besluit ggo.

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 28 augustus 2018 en op 2 oktober 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.

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

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal**
Directie
Omgevingsveiligheid en
Milieurisico's

Ons kenmerk
IM-MV 18-009_000.ob.1

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
Omgevingsveiligheid en
Milieurisico's

Ons kenmerk
IM-MV 18-009_000.ob.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 regulatorische 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 gepseudotyperde lentivirale vectoren hebben een breed gastheerbereik en kunnen de meeste zoogdiercellen, en ook niet-zoogdiercellen, infecteren.

4.2. De modificaties (anti-BCMA CAR, c-frag)

In de lentivirale vector is een gen gekloneerd dat codeert voor een chimere antigen receptor (CAR) die B cell maturation antigen (BCMA) herkent. Het anti-BCMA-CAR transgen is opgebouwd uit een signaalpeptide van humaan CD8 α , het receptor-bindende domein van humaan anti-humaan BCMA, een CD28 linker en een transmembraan domein (beide van humane herkomst) verbonden met de intracellulaire domeinen van humaan CD28 en humaan CD3 ζ . Anti-BCMA CAR is gericht tegen het BCMA antigen, een celoppervlakte eiwit dat betrokken is bij regulatie van B-cel ontwikkeling en overleving. BCMA komt tot expressie op B-cellen gedurende de differentiatie in plasmacellen, bepaalde B-cel subsets en plasmacytoïde dendritische cellen.

Daarnaast is een korte, unieke markersequentie aanwezig die niet van nature in de mens voorkomt en niet codeert voor een genproduct. Deze c-frag sequentie wordt gebruikt om getransduceerde cellen te detecteren.

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 maligniteiten die BCMA tot expressie brengen.

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.

4.4. Beschrijving van het onderzoek

Het onderzoek zal plaatsvinden in het Universitair Medisch Centrum Utrecht te Utrecht. In totaal zullen maximaal 400 patiënten worden geïncubeerd.

In de studies worden *ex vivo* lentiviraal getransduceerde, autologe T-cellen toegediend aan patiënten. De patiënten krijgen maximaal $2,0 \times 10^9$ getransduceerde cellen per infusie toegediend. De T-cellen van de patiënt worden getransduceerd met maximaal $2,5 \times 10^9$ virale partikels.

Het ggo wordt op de patiëntenkamer ontdooid en direct aan de patiënt toegediend via intraveneuze infusie. Medisch personeel zal universele voorzorgsmaatregelen voor werkzaamheden met lichaamsvloeistoffen en de standaard procedures voor cel therapie hanteren. De infusiezak wordt middels een gesloten systeem gekoppeld aan de infuus slang. Het personeel dat de infusiezak met het ggo hanteert draagt handschoenen en een beschermende jas. De patiënten krijgen één of meerdere infusies toegediend, maar de cumulatieve dosis KITE-585 per patiënt zal maximaal $2,0 \times 10^9$ anti-BCMA CAR T-cellen bedragen.

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, Hepatitis B en Hepatitis C virus infecties.

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 onder *Good Manufacturing Practices* (GMP) condities.

De lentivirale transfector wordt getransfecteerd in 293FT cellen (humane embryonale niercellijn) samen met packaging vectoren coderend voor de gag/pol en rev eiwitten en voor het VSV-G envelop eiwit. De 293FT cellen zijn vrij van onder andere HTLV-1, HTLV-2, HIV-1 en HIV-2, waardoor recombinatie met en

Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal
Directie
Omgevingsveiligheid en
Milieurisico's

Ons kenmerk
IM-MV 18-009_000.ob.1

complementatie van de virale vector niet mogelijk is. De virusbatch wordt getest op onder andere identiteit, steriliteit en afwezigheid van mycoplasma, virale verontreinigingen en endotoxines.

T-cellen geïsoleerd uit de patiënt worden getransduceerd met de in de 293FT cellen geproduceerde 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 CAR T-cel product bestaat veelal uit meer dan 99% T-cellen, maar er kan ook een klein percentage autologe natural killer cellen aanwezig zijn. Uit flowcytometrie analyse blijkt dat cellen die qua grootte en dichtheid gelijkenis vertonen met macrofagen en dendritische cellen niet gedetecteerd zijn in KITE-585 CAR T-cellen. De getransduceerde T-cellen worden daarnaast ook getest op onder andere steriliteit en afwezigheid van mycoplasma en endotoxines.

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal**
Directie
Omgevingsveiligheid en
Milieurisico's

Ons kenmerk
IM-MV 18-009_000.ob.1

Vervoer

De getransduceerde T-cellen worden naar het Universitair Medisch Centrum Utrecht vervoerd. Dit maakt geen deel uit van de onderhavige vergunning. Het ggo wordt ingevroren opgeslagen in een ruimte met beperkte toegang, en wordt binnen het ziekenhuis vervoerd in een dubbele verpakking.

Monstername en analyse

Monstername van bloed, beenmerg, urine, cerebrospinale vloeistof en tumorweefsel zal plaatsvinden voor studie doeleinden. Monsterafname vindt plaats middels een gesloten systeem, of onder aseptische omstandigheden. Analyse, verwerking en opslag van de monsters in het ziekenhuis zullen plaatsvinden in een standaard diagnostiek laboratorium, aangezien de monsters geen vrije lentivirale partikels bevatten en de getransduceerde T-cellen geen specifiek veiligheidsrisico vormen. De monsters worden gehanteerd als reguliere ziekenhuismonsters.

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 en afval van monsterafname worden afgevoerd als specifiek ziekenhuisafval. Voor de schoonmaak en desinfectie van de patiëntenkamer zullen geen additionele maatregelen worden getroffen.

4.6. Interactie met het milieu

De getransduceerde T-cellen kunnen buiten de gastheer (de patiënt) niet overleven. In de getransduceerde T-cellen is de lentivirale vector stabiel geïntegreerd.

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 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.

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal
Directie
Omgevingsveiligheid en
Milieurisico's**

**Ons kenmerk
IM-MV 18-009_000.ob.1**

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. Er zijn geen *Humaan T cel Lymfotroop Virus* (HTLV) sequenties aanwezig in de lentivirale vector en er is zeer beperkte homologie tussen de gebruikte lentivirale vector en HTLV, wat de kans op recombinatie minimaliseert. De prevalentie van HTLV in Europa (met uitzondering van Roemenië) is laag (< 0,4 per 10.000), derhalve is de kans klein dat een patiënt met HTLV-besmet is. Daarnaast is de lentivirale transfervector 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 gastheercel.

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 getransduceerde T-cellen getest op de aanwezigheid van RCL.

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

Vrije virusdeeltjes

Na transductie van de T-cellen is er een kans aanwezig dat er nog vrije virusdeeltjes aanwezig zijn die in de patiënt terecht kunnen komen en andere cellen kunnen infecteren. De getransduceerde T-cellen worden echter pas na een kweekperiode van minimaal 7 dagen na de lentivirale transductie bij 37°C en 5 wasstappen aan de patiënt toegediend. Aangenomen dat de halfwaardetijd van het virus 10 uur bedraagt bij 37°C en dat elke wasstap van de cellen het aantal aanwezige virusdeeltjes met een

factor 20 reduceert, zorgt dit voor een reductie van de hoeveelheid vrije virusdeeltjes met een factor $3,7 \times 10^{11}$ ten opzichte van het oorspronkelijke virale inoculum van $2,5 \times 10^9$ virus partikels. Dit resulteert in een reductieratio van 146. Dit betekent dat op het moment van infusie van de getransduceerde T-cellen aan de patiënt de kans verwaarloosbaar klein is dat er nog vrije infectieuze virusdeeltjes aanwezig zijn (CGM/090331-03).

Vanuit de patiënt kunnen er dus geen vrije virusdeeltjes terechtkomen in het milieu. Mocht dit toch gebeuren, dan kunnen de virusdeeltjes alleen overleven als ze via direct bloed-bloed contact worden overgedragen.

De kans dat derden geïnfecteerd worden met vrije infectieuze virusdeeltjes is verwaarloosbaar klein.

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-BCMA CAR tot expressie brengen, binden het BCMA antigeen. Hierdoor herkent het afweersysteem specifiek cellen die BCMA tot expressie brengen en vernietigt deze cellen. De getransduceerde T-cellen welke anti-BCMA CAR tot expressie brengen kunnen zodoende een afweerreactie opwekken tegen maligniteiten die BCMA tot expressie brengen. Daarnaast brengen de getransduceerde T-cellen ook de markersequente c-frag tot expressie. Deze korte, unieke markersequentie komt niet van nature in de mens voor en codeert niet voor een genproduct, maar wordt gebruikt om getransduceerde cellen te detecteren. Van anti-BCMA CAR en c-frag 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 weefseltropisme 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 expressieproducten 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

Er zijn geen aanwijzingen in de literatuur voor kwaadaardige transformatie van gammaretroviraal gemodificeerde volwassen T-cellen.

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 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 verwaarloosbaar klein omdat T-cellen buiten het lichaam niet kunnen overleven.

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal**
Directie
Omgevingsveiligheid en
Milieurisico's

Ons kenmerk
IM-MV 18-009_000.ob.1

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.

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal**
Directie
Omgevingsveiligheid en
Milieurisico's

Ons kenmerk
IM-MV 18-009_000.ob.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, Hepatitis B en Hepatitis C virus infecties. Bovendien is de kans klein dat patiënten besmet zijn met HTLV en is de kans op recombinitie met HTLV geminimaliseerd vanwege beperkte homologie met de vector. Hierdoor is complementatie en/of recombinitie van de vector met deze virussen niet mogelijk. Daarbij is het onwaarschijnlijk dat recombinitie 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 wordt vermeld dat patiënten worden geïnstrueerd om na afloop van de toediening af te zien van het doneren van bloed voor transplantatie, zodat introductie van de getransduceerde T-cellen in het milieu voorkomen wordt. Daarnaast worden alleen patiënten geïncubeerd die vrij zijn van HIV, Hepatitis B en Hepatitis C virus infecties. Bovendien zijn zwangere vrouwen en vrouwen die borstvoeding geven uitgesloten van deelname aan de onderhavige studies. 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.

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 én dat daardoor een schadelijk effect kan optreden is verwaarloosbaar klein. De voor de vervaardiging gebruikte lentivirale vector is stabiel geïntegreerd in het cellulaire genoom en zal niet als vrij infectieus deeltje aanwezig zijn. 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.

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal**
Directie
Omgevingsveiligheid en
Milieurisico's

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

Ons kenmerk
IM-MV 18-009_000.ob.1

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 én dat daardoor een schadelijk effect kan optreden is verwaarloosbaar klein. 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

De voor de vervaardiging gebruikte lentivirale vector is stabiel geïntegreerd in het cellulaire genoom en zal niet als vrij deeltje aanwezig zijn. 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 gedurende deze periode anti-BCMA CAR tot expressie brengen. De kans dat de getransduceerde T-cellen 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.

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 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.

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 maligniteiten die BCMA tot expressie brengen te ontwikkelen. Hierdoor zal het arsenaal aan mogelijke behandelingen voor kankerpatiënten toenemen. Hier zijn geen nadelige gevolgen voor mens of milieu aan verbonden.

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal**
Directie
Omgevingsveiligheid en
Milieurisico's

7. ADVIES

De COGEM zal gelijktijdig met de publicatie van de onderhavige ontwerpbeschikking om advies worden gevraagd.

Ons kenmerk
IM-MV 18-009_000.ob.1

8. OPMERKINGEN VAN ANDERE LIDSTATEN

Lidstaten kunnen opmerkingen maken naar aanleiding van de bij de Europese Commissie ingediende samenvatting van deze aanvraag.

9. 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-BCMA 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 dat tijdens de toediening van de getransduceerde T-cellen vrij lentivirale deeltjes of RCL aanwezig zijn is verwaarloosbaar klein. 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-BCMA CAR tot expressie brengen kunnen in de patiënt een afweerreactie opwekken tegen maligniteiten die BCMA tot expressie brengen. 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 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 Universitair Medisch Centrum Utrecht 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 Utrecht.
- III. De aanvraag met bijbehorende aanvulling maakt deel uit van deze vergunning.
- IV. Aan de vergunning worden de navolgende voorschriften verbonden.

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal**
Directie
Omgevingsveiligheid en
Milieurisico's

Ons kenmerk
IM-MV 18-009_000.ob.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. BCMA: B cell maturation antigen;
 - g. anti-BCMA CAR: chimere anti-BCMA receptor;
 - h. HIV-1: *Human Immunodeficiency Virus 1*;
 - i. ORF: *Open Reading Frame*;
 - j. LTR: *Long Terminal Repeat*;
 - k. PBS: *primer binding site*;
 - l. ψ : *packaging signaal*;
 - m. PPT: *polypurine tract*;
 - n. cPPT: *central polypurine tract*;
 - o. RRE: *Rev response element*;
 - p. AIDS: *Acquired Immune Deficiency Syndrome*;
 - q. VSV-G: *Vesicular Stomatitis Virus* glycoproteïne;
 - r. CAR: chimere antigen receptor;
 - s. SIN: zelf-inactiverend;
 - t. RCL: replicatiecompetent lentivirus;
 - u. HTLV: *Humaan T cel Lymfotroop Virus*;
 - v. GMP: *Good Manufacturing Practices*;
 - w. 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
Omgevingsveiligheid en
Milieurisico's

Ons kenmerk
IM-MV 18-009_000.ob.1

Artikel 3. **Bijzondere voorschriften**

1. De getransduceerde T-cellen worden voorafgaand aan vrijgifte getest op de aanwezigheid van RCL en worden alleen vrijgegeven indien geen RCL gedetecteerd is.
2. De patiënten zijn vrij van HIV, Hepatitis B en Hepatitis C virus infecties.
3. Er is een reductie van het aantal vrije vectordeeltjes gerealiseerd, die minimaal 100 maal hoger is dan de titer van het inoculum. Deze reductiefactor is berekend aan de hand van de titer van het virale inoculum, de kweektijd na transductie, de halfwaardetijd van het virus op basis van het toegepaste envelopeiwit en het aantal wasstappen en inactiverende stappen.
4. De patiënten die behandeld zijn worden uitgesloten van het doneren van bloed, organen, weefsels en cellen voor transplantatie.

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.

NIET VERWIJDEREN BEGIN BLADWIJZER

Hier komt de officiële ondertekening van dit document

EINDE BLADWIJZER NIET VERWIJDEREN

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal**
Directie
Omgevingsveiligheid en
Milieurisico's

Ons kenmerk
IM-MV 18-009_000.ob.1