

Intrexon T1D Partners, LLC.

20374 Seneca Meadows Parkway
Germantown, MD 20876

Kennisgeving van doelbewuste introductie van ggo's

INFORMATIE VOOR HET PUBLIEK¹

EEN PROSPECTIEVE, MULTICENTRISCHE, FASE 1B/2A-STUDIE OM DE VEILIGHEID EN VERDRAAGBAARHEID TE BEOORDELEN VAN VERSCHILLENDE DOSISSEN AG019 DIE ALLEEN OF IN COMBINATIE MET TEPLIZUMAB WORDEN TOEGEDIEND AAN PROEFPERSONEN MET KLINISCHE, RECENT GEDIAGNOSTICEERDE DIABETES MELLITUS TYPE 1 (T1D).

**Europees kennisgevingsnummer
B/BE/18/BVW5**

Versienr.:	01.1
Publicatie/rapportdatum:	2018-06-08
Vervangt vorig versienr. (datum):	01
Documentnr.:	AG019-GMO-BE-IP-NL-2018608
Opgesteld door:	Sven Blomme klinisch projectmanager Intrexon Actobiotics N.V., d/b/a ActoBio Therapeutics

¹ Dit document is in overeenstemming met de "Richtlijnen voor het samenstellen van het publieke dossier - doelbewuste introductie van genetisch gemodificeerde micro-organismen voor experimentele doeleinden (deel B)" van de Adviesraad voor Bioveiligheid (versie van 26 februari 2003). Verplichte tekst wordt cursief weergegeven.

INHOUDSOPGAVE:

1. REGELGEVEND KADER EN TOELATINGSPROCEDURE.....	3
2. BESCHRIJVING VAN HET GENETISCH GEMODIFICEERDE MICRO-ORGANISME (GGM):.....	3
3. TYPE EN DOEL VAN HET BEOOGDE ONDERZOEK:.....	4
4. ONDERZOEKS- EN ONTWIKKELINGSKADER:	5
5. MOGELIJKE VOORDELEN VAN DE GEPLANDE INTRODUCTIE:	6
6. BEOORDELING VAN MOGELIJKE RISICO'S VOOR DE MENSELIJKE GEZONDHEID EN HET MILIEU:.....	6
7. INPERKING EN CONTROLE.....	7
8. VERANTWOORDELIJKHEDEN VAN DE KENNISGEVER:	8
9. INSPECTIE DOOR OPENBARE INSTANTIES:	8
10. ACTIVITEITENRAPPORT:	8
11. CONTACT:.....	9

1. REGELGEVEND KADER EN TOELATINGSPROCEDURE

De vrijgave van genetisch gemodificeerde organismen (ggo's) in het milieu wordt strikt gereguleerd op Europees niveau door Richtlijn 2001/18/EG van 12 maart 2001, met intrekking van Richtlijn 90/220/EEG en op Belgisch niveau door het Koninklijk Besluit van 21 februari 2005 dat de opzettelijke vrijgave en/of het op de markt brengen van ggo's of producten die ggo's bevatten in het milieu reguleert, met intrekking van het Koninklijk Besluit van 18 december 1998.

Om het veilige gebruik van ggo's te garanderen, bepalen de voorwaarden van het hoger vermelde Koninklijk Besluit dat de vrijgave van ggo's voor experimentele doeleinden verboden is zonder voorafgaande toestemming van de bevoegde minister. De beslissing is gebaseerd op een grondige evaluatie van de bioveiligheid van de geplande vrijgave, die wordt uitgevoerd door de Adviesraad voor Bioveiligheid. Deze raad is samengesteld uit verschillende wetenschappelijke comités die bestaan uit onafhankelijke experts van Belgische universiteiten en overheidsinstanties.

Om de nodige goedkeuring van de bevoegde minister te verkrijgen, heeft het bedrijf Intrexon T1D Partners, LLC. een registratiedossier bij de bevoegde autoriteit ingediend. Op basis van het advies van de Adviesraad voor Bioveiligheid, kan de bevoegde minister Intrexon T1D Partners, LLC. de toelating geven om experimenten uit te voeren met transgene *Lactococcus lactis* AG019, zoals beschreven in de aanvraag B/BE/18/BVW5.

De vrijgave zal plaatsvinden op locaties in Vlaanderen/Brussel, aangezien er een klinische proef worden uitgevoerd aan het UZ Gasthuisberg (Leuven), UZ Antwerpen (Edegem) en UZ Brussel (Jette). De vrijgave start naar verwachting op 01 augustus 2018 en eindigt voor 31 augustus 2019.

2. BESCHRIJVING VAN HET GENETISCH GEMODIFICEERDE MICRO-ORGANISME (GGM)

De bacterie *Lactococcus lactis* stam MG1363 werd genetisch gemodificeerd om de therapeutische eiwitten humaan interleukine-10 (hIL-10) en humaan pro-insuline (hPINS) te produceren. Van deze eiwitten wordt verwacht dat ze de auto-immuunvernietiging van pancreascellen stoppen bij patiënten die recent werden gediagnosticeerd met diabetes mellitus type 1 (T1D). AG019 is de productcode van dit geneesmiddel op basis van het ggm.

L. lactis is een van de belangrijkste micro-organismen in de zuivelindustrie. De bacterie is van cruciaal belang voor de productie van bijv. karnemelk, yoghurt en kaas. *L. lactis* werd oorspronkelijk geïsoleerd uit rauwe melk, een van de weinige omgevingen waarin de bacterie kan overleven. *L. lactis* is ook te vinden in de mens, dieren, de bodem, afvalwater en planten. De bacterie kan echter niet groeien in deze milieus. *L. lactis* is niet ziekteverwekkend (niet-pathogeen) en bouwt geen overlevingsstructuren zoals sporen. De aanwezigheid van de genen *il-10* en *pins* verandert daar niets aan.

L. lactis stam MG1363 kan niet langer groeien in melk of een andere natuurlijke omgeving. De genen die coderen voor de enzymen die nodig zijn om de noodzakelijke voedingsstoffen van melk te gebruiken, zijn verwijderd. Als gevolg hiervan kan MG1363 alleen groeien in kunstmatig aangevulde kweekomstandigheden.

De groei van de genetisch gemodificeerde stam MG1363 die hIL-10 en hPINS aanmaakt is nog beperkter: een gen dat nodig is voor de productie van thymidine (een bouwsteen van DNA) werd uit het bacterieel DNA verwijderd. Dit maakt de recombinante stam afhankelijk van de toevoeging van thymidine aan het groeimedium. Zonder thymidine kan de bacterie niet overleven.

Het genconstruct dat in het ggm (AG019) werd geïntroduceerd, bevat ook een signaal om de hIL-10- en hPINS-eiwitten buiten de bacterie uit te scheiden. De bacteriën produceren en scheiden hIL-10 en hPINS uit in de darmen, wat de patiënt ten goede komt.

L. lactis-bacteriën zijn uiterst gevoelig voor zure omgevingen zoals de maag en de twaalfvingerige darm (het deel van de dunne darm net na de maag). Opdat de bacteriën lang genoeg in leven blijven om hIL-10 en hPINS-eiwitten te produceren, werden ze genetisch gemodificeerd om aan de zure omgeving te kunnen weerstaan.

Na een paar dagen worden de bacteriën met de ontlasting afgevoerd. Slechts een beperkt aantal bacteriën overleven de reis door het lichaam en worden snel erna afgedood.

3. TYPE EN DOEL VAN HET BEOOGDE ONDERZOEK

Er is een klinisch onderzoek bestaande uit 2 fasen gepland:

- het eerste deel voert onderzoek naar de veiligheid en verdraagbaarheid van verschillende dosissen van de AG019 genetisch gemodificeerde *L. lactis*-bacteriën bij patiënten die recent werden gediagnosticeerd met T1D;
- het tweede deel voert onderzoek naar de veiligheid en verdraagbaarheid van verschillende dosissen van de AG019 genetisch gemodificeerde *L. lactis*-bacteriën in combinatie met infusies van een ander geneesmiddel in ontwikkeling, teplizumab, bij patiënten die recent werden gediagnosticeerd met T1D.

AG019 is de code voor het geneesmiddel dat de genetisch gewijzigde bacteriën bevat. De AG019-bacteriën zijn verpakt in capsules voor orale inname. Deze capsules zijn ontworpen om open te gaan in de dunne darm, ze zijn resistent tegen maagzuur en openen dus niet in de maag. In het eerste deel van het onderzoek worden twee verschillende doses AG019 onderzocht: 2 capsules per dag en 6 capsules per dag.

In het eerste deel van de klinische studie nemen de patiënten gedurende 8 weken elke dag 2 of 6 capsules. In de tweede fase nemen de patiënten gedurende 8 weken elke dag 6 capsules (als het veiligheidsprofiel van dit regime in het eerste deel werd bevestigd). Daarnaast krijgen de patiënten gedurende de eerste 12 dagen van deze 8 weken dagelijks infusies van teplizumab toegediend. In de tweede fase krijgen de patiënten ofwel de geneesmiddelen (AG019 + teplizumab) ofwel een placebo. Een placebo is een farmaceutische formule, zonder actieve ingrediënten, en waarvan niet wordt verwacht dat ze een therapeutisch effect hebben.

Beide testfasen zijn gericht op het beoordelen van de veiligheid, verdraagbaarheid en mogelijke werkzaamheid van AG019, alleen of in combinatie met teplizumab. In elke fase worden 24 patiënten opgenomen. Dit betekent dat er in totaal 48 deelnemers zullen zijn aan het klinisch onderzoek. Van deze 48 patiënten zullen er ongeveer 10 worden ingesloten in België.

De patiënten worden geselecteerd volgens zeer strenge criteria. De aanpak dient bijgevolg multicentrisch te zijn. De studie verloopt poliklinisch, d.w.z. dat de patiënten tijdens de testen niet in het klinisch

onderzoekscentrum (KOC) verblijven. In het ziekenhuis ontvangen de patiënten een behandelingspakket met het geneesmiddel en alle noodzakelijke hulpmiddelen voor een behandelinterval. Dit wordt bepaald door het onderzoeksprotocol en omvat onder meer instructies voor de patiënt. De patiënt dient op gezette tijden naar het KOC te komen voor een opvolgingbezoek.

Experimenten in het laboratorium en bij dieren toonden aan dat het geneesmiddel veilig is en dat de ggm's in het geneesmiddel niet buiten het menselijk lichaam kunnen overleven.

4. ONDERZOEKS- EN ONTWIKKELINGSKADER

Diabetes mellitus type 1 (T1D) is een auto-immuunziekte waarbij bètacellen in de pancreas – de lichaamscellen die insuline aanmaken – worden afgebroken door het immuunsysteem van de patiënt. Hoewel patiënten met diabetes type 1 worden behandeld met insuline, kan het toch moeilijk zijn om een goede suikerbalans te behouden. Dit kan leiden tot ernstige acute complicaties zoals bewusteloosheid door een te laag bloedsuikergehalte (insulineshock) of acidose (diabetische coma). Op lange termijn kan een afwijkende bloedsuikerspiegel leiden tot ernstige schade aan de nieren, ogen, zenuwen en het hart. Een behandeling die diabetes type 1 kan genezen of de afbraak van de bètacellen kan stoppen, is dus zeker welkom.

Er is geen medische of chirurgische remedie tegen T1D bekend. Patiënten met T1D moeten hun hele leven insuline inspuiten om hun suikergehalte op peil te houden. Wereldwijd proberen tal van onderzoekers en bedrijven een genezende behandeling voor de ziekte te vinden.

De toediening van hIL-10 en hPINS zou een mogelijke behandeling kunnen zijn. De belangrijkste biologische functie van IL-10 is het beperken en stoppen van ontstekingsreacties. Daarnaast reguleert het de groei van verschillende immuuncellen. Er wordt geopperd dat IL-10 een sleutelrol speelt bij het regelen van de immunrespons. Recombinant hIL-10 werd in klinische onderzoeken geproduceerd en getest voor verschillende indicaties, waaronder reumatoïde artritis, inflammatoire darmziekten, psoriasis, orgaantransplantaties en chronische hepatitis C. Door hIL-10 te combineren met hPINS, richt de behandeling zich enkel op de cellen die verantwoordelijk zijn voor de vernietiging van de bètacellen in de pancreas. De rest van het immuunsysteem wordt niet beïnvloed.

Uit onderzoek bleek dat injecties met hoge doses hIL-10 bijwerkingen veroorzaken. Het gaat voornamelijk om een verlaging van het aantal rode bloedcellen (anemie), verlaging van het aantal bloedplaatjes (trombocytopenie), hoofdpijn en/of koorts.

Intrexon T1D Partners, LLC. werkt aan de ontwikkeling van het toedieningssysteem ActoBiotics®. Dit systeem gebruikt een levende niet-pathogene *L. lactis*-stam voor de lokale aflevering van therapeutica in de darm. ActoBiotics® verkleint de nood aan hoge dosissen door een gelokaliseerde aflevering in het maagdarmkanaal. Gedurende enkele dagen na orale toediening reist het micro-organisme door de darm. De hier beschreven studies gebruiken een gemodificeerde *L. lactis*-stam die recombinante hIL-10 en hPINS afscheidt.

Verder bevat de bacterie het gen voor hIL-10, dit werd stabiel ingebracht in het chromosoom, waar het een gen vervangt dat nodig is voor de productie van thymidine (een bouwsteen van DNA). Dit maakt de

recombinante stam afhankelijk van de toevoeging van thymidine aan het groeimedium in het laboratorium. Zonder thymidine kan de bacterie niet overleven.

De bacterie bevat ook het gen voor hPINS, stabiel ingebracht in het chromosoom.

Tot slot werden de bacteriën zodanig gemodificeerd dat ze kunnen overleven in de maag en darmen. Zo kunnen ze lang genoeg in leven blijven om de eiwitten te produceren en af te leveren.

Uit muismodellen van T1D bleek eerder al dat de therapeutische dosis van IL-10 en PINS kan worden verminderd door gelokaliseerde aflevering. De aflevering gebeurt door een bacterie die genetisch werd gemanipuleerd om de eiwitten af te scheiden. De toediening van hIL-10 en hPINS in de darm door *L. lactis* veroorzaakte bij de muizen een significante afname van T1D. De afname was nog groter wanneer de behandeling met *L. lactis* werd gecombineerd met een immuunonderdrukkend geneesmiddel zoals teplizumab.

De geplande klinische studie is het eerste onderzoek waarbij de behandeling wordt getest op menselijke patiënten.

Op basis van de ActoBiotics®-technologie voor lokale aflevering van therapieën in de darmen, werkt Intrexon T1D Partners, LLC. aan de ontwikkeling van een nieuw type biofarmaceutica met verhoogde werkzaamheid en een verlaagd bijwerkingenprofiel. ActoBiotics® is mogelijk geschikt voor een breed spectrum van belangrijke ziekten. De afgelopen jaren heeft het onderzoeksteam van Intrexon T1D Partners, LLC. reeds de mogelijkheden van producten op basis van ActoBiotics® aangetoond. Gegevens uit diermodellen over de werkzaamheid bij inflammatoire darmaandoeningen, intestinale en orale mucositis, T1D en voedselallergie waren positief.

5. MOGELIJKE VOORDELEN VAN DE GEPLANDE VRIJGAVE

De geplande vrijgave is onderdeel van een klinische studie, die een volgende stap is in de ontwikkeling van een nieuwe strategie om de progressie van T1D te stoppen. Momenteel bestaan er geen genezende behandelingen voor T1D.

6. BEOORDELING VAN MOGELIJKE RISICO'S VOOR DE MENSELIJKE GEZONDHEID EN HET MILIEU

L. lactis wordt meestal aangetroffen in en toegevoegd aan voedingsproducten. *L. lactis* is een van de belangrijkste micro-organismen in de zuivelindustrie. De meeste industrieel geproduceerde bacteriën overleven enkel in zuivel. De bacterie is niet geclassificeerd als een gevaarlijk organisme. Ze produceert geen overlevingsstructuren zoals sporen.

L. lactis wordt aangetroffen in tal van omgevingen, maar dit zijn geen ecologische niches. Ondanks het wijdverbreid gebruik en de massale vrijstelling in de omgeving is de bacterie niet geïdentificeerd als invasief of storend. Groei is enkel mogelijk in een beperkt aantal specifieke omgevingen die de noodzakelijke voedingsstoffen voor de groei van de bacteriën bevatten, zoals melk. *L. lactis* vermenigvuldigt zich niet in mensen of dieren en koloniseert ze ook niet.

De *L. lactis*-stam MG1363 groeit alleen in kunstmatig gesupplementeerde kweekomstandigheden omdat de genen om de noodzakelijke voedingsstoffen van melk te gebruiken, werden verwijderd. MG1363 produceert zelf geen antibiotica, maar is wel gevoelig voor een groot aantal ervan.

De hIL-10 en hPINS producerende stam kan evenmin thymidine produceren. Zonder deze DNA-bouwsteen sterft de stam.

Het is hoogst onwaarschijnlijk dat het genetisch gemodificeerde micro-organisme opnieuw het gen verkrijgt om thymidine te kunnen produceren. Het organisme is evenmin in staat om de genetische modificatie over te dragen op andere micro-organismen. Er werden geen specifieke interacties met niet-doelwitorganismen vastgesteld. AG019 zal worden vrijgesteld in voor *L. lactis* natuurlijke compartimenten, hoofdzakelijk in het menselijke maagdarmkanaal en het rioleringsstelsel.

Het kan niet worden uitgesloten dat waardevolle biotopen, beschermde gebieden of drinkwatervoorzieningen worden blootgesteld aan AG019. De blootstelling aan *L. lactis* gebeurt trouwens nu al. De gemodificeerde stam heeft geen extra eigenschappen die de kans op blootstelling vergroten. Omdat zijn bestaan volledig afhankelijk is van de aanwezigheid van thymidine, zal elke blootstelling zelfs nog beperkter zijn in tijd. Hoewel we kunnen concluderen dat het vrijgavegebied vergelijkbaar is met de normale omgeving van *L. lactis*, zorgen de modificaties die kenmerkend zijn voor het ggo ervoor dat de stam niet meer kan overleven in deze habitat.

Humaan IL-10 heeft enkel een biologisch effect op menselijke cellen die de juiste receptoren hebben. Deze receptoren zijn zeer specifiek voor de menselijke soort. De IL-10-specifieke receptoren van de meeste andere zoogdieren zullen weinig of niet reageren op hIL-10, behalve enkele apen- en muizenreceptoren. hPINS heeft zeer weinig biologische activiteit en veroorzaakt naar verwachting geen specifieke effecten bij mensen, behalve dan het effect op het immuunsysteem dat in dit onderzoek beoogd wordt.

De hIL-10- en hPINS-genen in het ggo zijn unieke, synthetische genen die van de natieve hIL-10- en hPINS-genen kunnen worden onderscheiden. Ze kunnen worden gedetecteerd via een polymerasekettingreactie (PCR).

Deze kennisgeving betreft een doelbewuste introductie van een ggo voor experimentele doeleinden. Daarom is het gebruik van dit materiaal voor andere doeleinden in de regel verboden.

7. INPERKING EN CONTROLE

In dit klinisch onderzoek is het geneesmiddel (dat de bacteriën bevat) gemaakt als een poeder, geformuleerd in capsules die worden verpakt in blisters. Als de capsule scheurt, breekt het poeder snel af door het contact met vocht en warmte. Het micro-organisme is gevoelig voor temperaturen boven 40 °C, een lage zuurtegraad, luchtdroging, direct zonlicht, uv-straling, zeep, bleekmiddelen, antibiotica en oplossingen met een hoge zoutconcentratie. De hoeveelheid gemorst product is steeds beperkt. Het getroffen gebied kan worden gereinigd met een standaard reinigingsmiddel (zeep) of bleekmiddel.

Op het moment van inname is er geen contact met de bacteriën. De patiënt ontvangt het nodige materiaal voor één behandelingsperiode (maximaal 28 dagen). Tegelijkertijd worden er instructies gegeven en toegelicht om de naleving van de behandeling te garanderen.

Bij een poliklinische studie wordt het onderzoeksproduct buiten het ziekenhuis toegediend (d.w.z. waarschijnlijk thuis). Na toediening volgen de bacteriën de fecale stroom. De toediening en uitscheiding (via de ontlasting) gebeuren niet noodzakelijk altijd bij de patiënt thuis. Daarom wordt het nationale grondgebied beschouwd als het ruimere mogelijke vrijgavegebied. Het valt te verwachten dat de afstoting van levende bacteriën enkele dagen na de laatste behandeling stopt. Er is geen specifieke behandeling van de uitscheidingsomgeving voorzien, gezien de biologische inperking en de afwezigheid van relevante milieueffecten. Bovendien heeft het gewone publiek meestal geen toegang tot het rioleringsstelsel. Indien nodig, zou een standaard antibioticabehandeling voldoende zijn om de bacteriën te inactiveren.

De patiënten dienen regelmatig naar het ziekenhuis te komen voor onderzoek, om al het verpakkingsmateriaal van het geneesmiddel terug te bezorgen (al dan niet leeg) en een nieuw behandelingspakket te ontvangen. In het klinisch onderzoekscentrum worden standaard voorzorgsmaatregelen getroffen. Voor het klinisch personeel dat in aanraking komt met de lichaamsvloeistoffen van de patiënt (met name ontlasting) moeten de normale hygiënische omstandigheden volstaan. Voor het hanteren van apparaten voor analyse en biopsieën zijn wegwerphandschoenen en wegwerpdoekjes vereist. Alle afvalmateriaal moet worden behandeld als gevaarlijk medisch afval.

Uiteraard is de patiënt rechtstreeks blootgesteld aan de bacteriën. Het is altijd mogelijk dat familieleden worden blootgesteld aan uitgescheiden bacteriën via direct contact of via contact met materialen die mogelijk uitgescheiden bacteriën bevatten. De standaard hygiënepraktijken moeten volstaan om aanzienlijke blootstelling te beperken of te voorkomen.

8. VERANTWOORDELIJKHEDEN VAN DE KENNISGEVER

De toestemming die aan de kennisgever kan worden gegeven door de bevoegde minister bepaalt dat de kennisgever volledige burgerlijke aansprakelijkheid aanvaardt met betrekking tot schade die door de doelbewuste introductie kan worden veroorzaakt aan de gezondheid van mensen, dieren of het milieu.

9. INSPECTIE DOOR OPENBARE INSTANTIES

Inspecteurs zijn verantwoordelijk voor de inspectie van onderzoeken voor het naleven van de voorwaarden die in de toestemming staan vermeld en om mogelijke inbreuken op de toestemming te onderzoeken. Wanneer wanbeheer of fraude wordt vastgesteld, worden specifieke sancties opgelegd.

10. ACTIVITEITENRAPPORT

Aan het einde van het onderzoek moet de kennisgever een activiteitenrapport opstellen en aan de bevoegde instantie overhandigen. Het rapport bevat ten minste de volgende gegevens:

- *de locatie en periode van vrijgave;*
- *de precieze aard van de werkelijk vrijgegeven ggo's;*

- *de doestelling(en) van het onderzoek;*
- *de maatregelen die werden genomen om ongewenste vrijgave van transgenetisch materiaal te verhinderen;*
- *indien van toepassing, de maatregelen die werden genomen om de proefpersoon (patiënt/dier) te beschermen tijdens toediening van het ggo-bevattende studiegeneesmiddel;*
- *indien van toepassing, de maatregelen die werden genomen om de verwanten van behandelde patiënten te beschermen;*
- *de maatregelen die werden genomen om personeel te beschermen dat ggo-bevattend materiaal moest verwerken;*
- *de methode die werd gebruikt voor de vernietiging van ongebruikt of besmet materiaal;*
- *de resultaten die werden verkregen tijdens het onderzoek;*
- *een overzicht van de monitoring van patiënt/dier met betrekking tot ggo-uitscheiding;*
- *een overzicht van de monitoring van ggo's of recombinant DNA in het milieu.*

11. CONTACT:

Als u opmerkingen hebt over het openbare dossier of over onze activiteiten, of meer informatie wenst over de doelbewuste introductie, neem dan contact op met ons op het volgende adres.

Kennisgever:

Naam van het bedrijf: Intrexon T1D Partners, LLC.

Adres: 20374 Seneca Meadows Parkway, Germantown, Maryland, United States of America

Telefoon: +1 214 526 1465

E-mail: tbarton@wrctx.com

Contactpersoon:

Naam: Sven Blomme

Adres: Industriepark Zwijnaarde 7C Building D, 9052 Zwijnaarde, België

Telefoon: +32 (0)9 277 11 77

E-mail: sblomme@actobio.com

U hebt ook toegang tot een samenvatting van de kennisgeving (SNIF) op de website van het Gemeenschappelijk Centrum voor Onderzoek van de Europese Commissie (<http://gmoinfo.jrc.it/>). Opmerkingen kunnen via deze website aan de commissie worden gericht.