

## // Überprüfung des Leukämierisikos bei der Behandlung der Beta-Thalassämie mit dem Gentherapeutikum Zynteglo® – europäisches Risikoverfahren (Referral Procedure, Article 20 of Regulation (EC) No 726/2004) //

S. MÜLLER

C.J. BUCHHOLZ

M. FUNK

B. KELLER-STANISLAWSKI

(PEI)

### FAZIT

**Aufgrund von Leukämiefällen nach der Behandlung von Patienten mit einer Sichelzellerkrankung mit einem Gentherapeutikum, das den gleichen lentiviralen Vektor wie das zur Therapie der Beta-Thalassämie zugelassene Arzneimittel Zynteglo® nutzt, wurde das Risiko einer Insertionsonkogenese bei der Verwendung dieses lentiviralen Vektors BB305 LVV diskutiert. Nach eingehender Bewertung der eingereichten Unterlagen, in denen die unterschiedlichen Aspekte einer möglichen Insertionsonkogenese untersucht wurden, kamen die Mitglieder des Ausschusses für Risikobewertung innerhalb der Pharmakovilanz (Pharmakovigilance Risk Assessment Committee, PRAC) und des Ausschusses für neuartige Therapien (Committee for Advanced Therapies, CAT) bei der Europäischen Arzneimittelagentur (European Medicines Agency, EMA) zu dem Schluss, dass die entstandenen Leukämieerkrankungen nicht durch den lentiviralen Vektor ausgelöst wurden. Als wesentliche Ursachen werden das myeloablative Therapieregime sowie eine bereits bestehende Prädisposition bedingt durch die Sichelzellerkrankung angesehen.**

### DARSTELLUNG DES ZU BEWERTENDEN RISIKOS

Bei dem Präparat Zynteglo®, einem Arzneimittel für neuartige Therapien (Advanced Therapy Medicinal Products – Arzneimittel für neuartige Therapien, ATMP), werden patienteneigene Blutstammzellen (autologe CD34<sup>+</sup>-Zellen) gentechnisch verändert. Ziel der Behandlung ist die Korrektur des genetischen Defektes, der bei einer Beta-Thalassämie zur Synthese nicht ausreichend funktionsfähigen Hämoglobins führt. Mit Hilfe eines lentiviralen Vektors wird eine funktionstüchtige Genvariante, das Beta-A-T87Q-Globin-Gen, in die Zellen des Patienten eingeschleust und somit die Produktion ausreichender Mengen von funktionstüchtigem Hämoglobin durch die modifizierten Zellen ermöglicht.

Zynteglo® (betibeglogene autotemcel) hat im Mai 2019 eine bedingte und jährlich zu erneuernde EU-Zulassung (conditional marketing authorisation) erhalten. Die Behandlung ist beschränkt auf Patienten ab zwölf Jahren mit einer transfusionsabhängigen Beta-Thalassämie, für die kein passender HLA-identischer Geschwister-Stammzellspender zur Verfügung steht und bei denen eine Non-Beta-0/ Beta-0-Mutation vorliegt.

Der gleiche lentivirale Vektor, der für Zynteglo® verwendet wird, kommt auch bei dem Prüfpräparat bb1111 zum Einsatz, das zur Behandlung der Sichelzellanämie eingesetzt werden soll und dessen Wirksamkeit zurzeit in klinischen Prüfungen untersucht wird. Beide Gentherapeutika werden vom gleichen pharmazeutischen Unternehmer hergestellt.

2018 entwickelte ein männlicher Patient mit Sichelzellanämie, der im Rahmen einer Studie mit dem Prüfpräparat bb1111 behandelt worden war, ein myelodysplastisches Syndrom (MDS), das im weiteren Verlauf in eine akute myeloische Leukämie überging. Anfang 2021 trat auch bei einer Studienpatientin

eine akute myeloische Leukämie auf. Kurz darauf wurde bei einer weiteren Patientin ebenfalls die Verdachtsdiagnose eines myelodysplastischen Syndroms gestellt, die sich jedoch nicht bestätigte. Bis zum jetzigen Zeitpunkt wurden in der betroffenen Studie HGB-206 insgesamt 44 Patienten behandelt.

Bei den 63 Patienten mit schwerer Beta-Thalassämie, die in einer klinischen Studie mit Zynteglo<sup>®</sup> behandelt worden sind, trat hingegen in keinem Fall eine leukämische Erkrankung auf. Außerhalb klinischer Prüfungen (nach der Zulassung) wurde bisher ein 13-jähriger Junge mit Zynteglo<sup>®</sup> behandelt. Nach Angaben der Firma wurden bei der Behandlung keine schwerwiegenden unerwünschten Reaktionen gemeldet. Der Hämoglobinwert liegt bis zum jetzigen Zeitpunkt stabil über 11,0 g/dl, sodass bisher keine weiteren Gaben von Erythrozytenkonzentraten erforderlich waren.

Aufgrund der dokumentierten Leukämiefälle nach der Behandlung mit dem Prüfpräparat bb1111 wurde das Risiko einer Insertionsonkogenese bei der Verwendung des lentiviralen Vektors BB305 LVV diskutiert. Da dieser Vektor auch zur Herstellung von Zynteglo<sup>®</sup> verwendet wird, leitete der PRAC in enger Zusammenarbeit mit Experten des Ausschusses für neuartige Therapien (CAT) ein Referral-Verfahren nach Art. 20 ein. In diesem Verfahren sollte überprüft werden, ob ein vergleichbares Risiko bei der Behandlung mit Zynteglo<sup>®</sup> wie bei der Behandlung mit dem Prüfpräparat bb1111 besteht, sowie das Nutzen-Risiko-Verhältnis der gentherapeutischen Behandlung einer Beta-Thalassämie neu bewertet werden. Der pharmazeutische Unternehmer hat daher sofort nach dem Auftreten des zweiten Leukämiefalles bis zur endgültigen Klärung der möglichen Ursache die Vermarktung von Zynteglo<sup>®</sup> ausgesetzt.

## HINTERGRUND

Um das Risiko einer Insertionsonkogenese bei der Verwendung des lentiviralen Vektors BB305 LVV bewerten zu können, müssen sowohl das erhöhte Risiko aufgrund der bestehenden Grunderkrankung berücksichtigt werden wie auch das Risiko, das durch die Gabe gentechnisch modifizierter Stammzellen bestehen könnte.

## Hämoglobinopathien

Hämoglobinopathien gehören mit einem Anteil von sieben Prozent in der Weltbevölkerung zu den häufigsten monogenen Erbkrankheiten der Weltbevölkerung. Die beiden Hauptgruppen der Hämoglobinopathien bilden die Thalassämie-Syndrome und die Hämoglobinstrukturvarianten (anomale Hämoglobine), wie z. B. die Sichelzellerkrankheit. Die häufigsten Thalassämien sind die Alpha- und Beta-Thalassämien, die wichtigsten anomalen Hämoglobine sind HbS, HbE und HbC. Es gibt jedoch zahlreiche Subtypen und Kombinationsformen in jeder der Gruppen.<sup>1</sup> Die Patienten beider Hämoglobinopathien leiden unter unterschiedlichen Schweregraden einer hypochromen Anämie. Bei der Sichelzellerkrankheit kommt es bei abnehmendem Sauerstoffpartialdruck zu sichelzellartigen Verformungen der Erythrozyten, zu Gefäßverschlüssen und Hämolyse, somit zu einer Sichelzellkrise.

Die aktuelle Standardtherapie der schweren Beta-Thalassämieformen besteht in einer lebenslangen Transfusionstherapie in Kombination mit einer Eisenchelator-Therapie, die eine Elimination des bei der Transfusionstherapie anfallenden überschüssigen Eisens bewirken soll. Auch bei einer adäquaten Transfusionstherapie führen Funktionseinschränkungen aller lebenswichtigen Organe wie Niere (Glomerulonephritis-/sklerose), Leber (Eisenspeicherkrankheit) und Herz (Kardiomyopathie durch Eisenüberladung) zu einer deutlich reduzierten Lebenserwartung.<sup>2,3</sup> Bei schweren Thalassämieformen wird daher eine frühzeitige Stammzelltransplantation bevorzugt durch einen HLA-identischen Geschwisterspender angestrebt, um die Manifestation von Organschäden zu verhindern.

Die Standardtherapie der Sichelzellerkrankung ist eine frühzeitige Therapie mit Hydroxycarbamid/Hydroxyurea, Antibiotikaprophylaxe sowie regelmäßigen Transfusionen zur Reduktion der Häufigkeit der Sichelzellkrisen durch Reduktion der Hämolyseaktivität<sup>4</sup>, begleitet von einer adäquaten Schmerztherapie. Auch hier wird als alternativer (kurativer) Therapieansatz eine frühzeitige Stammzelltherapie empfohlen.

### **Akute myeloische Leukämie (AML)**

Die akute myeloische Leukämie (AML) ist eine klonale Neoplasie der Myelopoese, ausgelöst durch pathologische klonale Proliferation aus dem Progenitor-Zellpool CD34<sup>+</sup>/CD38<sup>+</sup> oder dem Stammzellpool, der zu einer Depletion der gesunden Hämatopoese führt. Der Altersmedian des Erkrankungsgipfels liegt bei 72 Jahren und die Häufigkeit bei 3,7/100.000 Einwohnern (Onkopedia-Leitlinie). Risikofaktoren sind Expositionen gegenüber ionisierender Strahlung und Zytostatika (Alkylantien). Letztere Kausalität ist insbesondere charakterisiert durch Chromosomenaberrationen der Chromosomen 5 und 7 (Monosomie). Das Rauchen stellt einen weiteren Risikofaktor dar.

Die AML hat nicht selten einen Zusammenhang mit myelodysplastischen Syndromen (MDS), etwa durch ein MDS in der Vorgeschichte oder MDS-typische Morphologie bzw. Zytogenetik.<sup>5</sup> Dies trifft insbesondere für Patienten in bestimmten genetisch definierten Subgruppen zu.<sup>6</sup>

#### Risikofaktoren für die Entwicklung einer AML bei Patienten mit einer Sichelzellerkrankung bzw. Beta-Thalassämie

Aus der Literatur ist bekannt, dass Patienten mit schwerer Sichelzellerkrankung ein erhöhtes Risiko für die Entstehung hämatopoetischer Neoplasien haben.<sup>7,8</sup> Das Risiko ist für leukämische Erkrankungen (myelodysplastische Syndrome und akute myeloische Leukämie) je nach untersuchter Kohorte und Land etwa vier- bis zehnfach (bei Frauen der Altersgruppe 15–39 Jahre insbesondere für AML) erhöht verglichen mit der Normalbevölkerung. Für Thalassämie-Patienten ist dieses Risiko um das Vier- bis Fünffache gegenüber der Allgemeinbevölkerung erhöht.<sup>9,10</sup>

Die Ursachen dieser Prädisposition für hämato-onkologische Erkrankungen wie auch für einige solide Karzinome sind multifaktoriell. Wesentliche Faktoren für hämatopoetische Neoplasie sind für beide Patientengruppen die chronische Entzündungssituation, die hohe Eisenbelastung durch vermehrte Transfusionen<sup>11</sup> (Beta-Thalassämie) und insbesondere die erhöhte Zellproliferationsrate und der beschleunigte Zellabbau (Sichelzellerkrankung<sup>8</sup>). Für Sichelzellpatienten kommt als mögliches zusätzliches Risiko noch die Therapie mit Hydroxycarbamid bzw. Hydroxyurea hinzu, dessen Rolle in der Onkogenese jedoch kontrovers diskutiert wird. Bei den Thalassämiepatienten mit regelmäßigen Transfusionen spielt auch die unter der Therapie zunehmende Eisenüberladung eine wesentliche Rolle.

#### Erhöhtes Risiko nach Präkonditionierung

Bei beiden Patientengruppen ist vor der Therapie mit bb1111 (Sichelzellerkrankung) und Zynteglo<sup>®</sup> (Beta-Thalassämie) eine myeloablative Therapie (Präkonditionierung) vor der Re-Transplantation der genetisch modifizierten hämatopoetischen Stammzellen erforderlich. Diese Myeloablation erfolgt mit Chemotherapeutika aus der Gruppe der Alkylantien, die alle onkogenes/kanzerogenes Potenzial besitzen. Bei der Therapie mit bb1111 bzw. Zynteglo<sup>®</sup> wird hierzu Busulfan eingesetzt, das die International Agency for Research on Cancer (IARC) eindeutig als Kanzerogen klassifiziert hat, das bei Menschen akute myeloische Leukämie hervorrufen kann.<sup>12</sup>

### Hintergrund lentiviraler Vektor

Lentivirale Vektoren, abgeleitet vom humanen Immundefizienzvirus (HIV), sind in der Gentherapie zur genetischen Modifikation von hämatopoetischen Stammzellen weit verbreitet. Sie integrieren das therapeutische Gen in das Genom der Stammzelle, sodass alle von der Stammzelle abgeleiteten Zellen des hämatopoetischen Systems ebenfalls die Modifikation tragen und das therapeutische Gen exprimieren. Um unerwünschte genetische Aberrationen, bedingt durch die Insertion des Vektors in das Genom, zu unterbinden, tragen die lentiviralen Vektoren, so auch der Vektor für Zynteglo<sup>®</sup>, Deletionen (sogenannte SIN-Konfiguration) in ihren „long terminal repeats“ (LTRs). Dadurch soll das Anschalten von Genen in der Nachbarschaft der chromosomalen Insertionsstelle verhindert werden. Tatsächlich hatten retrovirale Vektoren ohne diese Modifikationen in den LTRs in klinischen Studien zur Behandlung der schweren Immundefizienz (X-SCID) oder des Wiskott-Aldrich-Syndroms (WAS) bei einigen Patienten zur Insertionsonkogenese mit nachfolgender Leukämieentstehung geführt. Seit die beschriebenen LTR-Modifikationen in die Vektoren eingeführt worden waren, hat sich das Risiko für diese Nebenwirkung erheblich verringert.

### EUROPÄISCHES RISIKOBEWERTUNGSVERFAHREN

In seiner Funktion als PRAC-Rapporteur für Zynteglo<sup>®</sup> erarbeitete das Paul-Ehrlich-Institut zusammen mit dem Ausschuss für Neuartige Therapien, CAT, eine umfangreiche Fragenliste zur Klärung des Sachverhaltes, die der pharmazeutische Unternehmer beantworten musste. Im Wesentlichen wurde der pharmazeutische Unternehmer gebeten, weiterführende Informationen zur Verfügung zu stellen bzw. die folgenden Fragen zu beantworten:

- Übersicht über alle bekannten Fälle von akuter myeloischer Leukämie (AML)/myelodysplastischem Syndrom (MDS)
- Darstellung des klinischen Verlaufs und der Diagnostik aller AML-/MDS-Fälle
- Darstellung der Herstellungs- und Qualitätsaspekte des Gentherapeutikums
- Kontrolle von Therapieerfolg und Therapiekomplication
- Wissenschaftliche Aspekte und Eigenschaften des lentiviralen Vektors
- Bewertung des Risikos einer Insertionsonkogenese
- Genetische Aspekte möglicher Driver-Mutationen
- Vorschläge zu möglichen Risikominimierungsmaßnahmen

### ZUSAMMENFASSUNG DER ANTWORT DES PHARMAZEUTISCHEN UNTERNEHMERS

In seiner Bewertung verweist der pharmazeutische Unternehmer auf veröffentlichte Studiendaten, mit denen eine erhöhte Rate onkologischer Erkrankungen bei Patienten mit Hämoglobinopathien (insbesondere Patienten mit einer Sichelzellerkrankung) belegt wird. Ergänzend wurden die folgenden Risikofaktoren und Aspekte dargestellt:

- Aufgrund der geringeren Zellzahl (bedingt durch die initiale Gewinnung der Stammzellen aus Knochenmark) kam es bei einem Patienten auch nach der Transplantation zu einer andauernden hämatopoetischen Stresssituation des Knochenmarks mit fortbestehenden hohen Proliferationsraten malformierter Sichelzellen sowie einem Proliferationsstress durch das Engraftment des Transplantats.
- Hinweis auf die onkogene Wirkung der myeloablativen Konditionierung mit Busulfan (betrifft beide Gruppen gleichermaßen).

- Keine wissenschaftlichen Hinweise, die belegen, dass der lentivirale Vektor (LVV) der Auslöser für die beiden AML-/MDS-Fälle ist: insbesondere keine replikativen Eigenschaften, da Selbstinaktivierungssequenz eingebaut wurde.
- Keine wissenschaftlichen Hinweise, die belegen, dass die Integrationsstelle des LV-Vektors im VAMP4-Locus ein Treiber der Onkogenese sein könnte, da keine Funktion bei der Zellzykluskontrolle.
- Mit Ausnahme der AML-Patientin kein Nachweis eines dominanten Stammzellklons bei Patienten.

Der pharmazeutische Unternehmer schlägt daher folgende Maßnahmen zur Risikominimierung vor:

- Aktualisierung des Schulungsmaterials für Zytéglo<sup>®</sup>, um auf die aufgetretenen Fälle bei den Sichelzellanämiepatienten hinzuweisen.
- Durchführung der Integrationsstellenanalyse (ISA) in kürzeren Intervallen sowohl in der laufenden REG-501-Studie für kommerziell behandelte Patienten als auch für die LTF-303-Studie (Langzeit-Follow-up der klinischen Studien).
- Kürzere Intervalle der ISA-Analyse für kommerziell behandelte Patienten im Rahmen der REG-501-Langzeit-Register-Studie (einmal jährlich über den gesamten 15-Jahreszeitraum, vorher nach fünf Jahren nur noch bei begründetem Verdacht).

### PRAC-ASSESSMENT

Der PRAC stützte sich in seiner Bewertung auf die vorliegenden (Studien-) Daten, Literaturrecherchen sowie die Antworten des pharmazeutischen Unternehmers.

Zwei Studienpatienten mit einer Sichelzellanämie erkrankten 5,5 Jahre (im Mittel) nach der Therapie mit bb1111 an einer akuten myeloischen Leukämie. Bei der Behandlung mit Zytéglo<sup>®</sup> traten bisher keine vergleichbaren Fälle auf. Zur Herstellung der Studiensubstanz bb1111 und Zytéglo<sup>®</sup> wird der gleiche lentivirale Vektor verwendet. Es handelt sich um einen HIV-1-basierten lentiviralen Vektor der dritten Generation, der keine replikativen Eigenschaften besitzt und in den eine Selbstinaktivierungssequenz (SIN) eingefügt wurde.

Bei einer der beiden Patientinnen mit AML konnte jedoch eine Integration des lentiviralen Vektors in den transduzierten Blasten nachgewiesen werden. Es wurde vermutet, dass ein Zellklon der transduzierten Blasten eine wesentliche Bedeutung bei der AML-Entstehung hatte. Daher sollte geklärt werden, ob der lentivirale Vektor oder andere Mechanismen eine klonale Hämatopoese ausgelöst haben. Diese Frage konnte nicht abschließend beantwortet werden, es ist jedoch davon auszugehen, dass der lentivirale Vektor nicht der Treiber für die Entstehung der AML war. Wahrscheinlicher ist, dass das tumorauslösende Agens zufällig eine Zelle mit genetischer Insertion getroffen hatte und in der Folge zu deren unkontrollierter Zellproliferation führte. Zudem liegt die Insertionsstelle in einem Gen (VAMP4), für das kein onkogenes Potenzial beschrieben wurde, und es konnte keine Überexpression anderer benachbarter Gene gefunden werden. Schließlich wurde die Einschätzung des pharmazeutischen Unternehmers geteilt, dass eine permanente Proliferation im Knochenmark (bedingt durch die Grunderkrankung) und eine chronische Entzündungssituation die Expansion des Zellklons begünstigt haben könnten.<sup>13, 14</sup>

Der PRAC kam zu der abschließenden Bewertung, dass ein Auftreten myeloischer Leukämien in der Studienpopulation der Sichelzellanämiepatienten durch Faktoren ausgelöst wurde, die nicht mit dem eingesetzten lentiviralen Vektor in Verbindung stehen. Das Entstehen der Leukämie lässt sich hinreichend erklären durch das erhöhte Risiko für maligne hämatologische Erkrankungen aufgrund der Sichelzellanämie, durch den Einsatz alkylirender Substanzen im Rahmen der Myeloablation sowie durch eine Begünstigung

**REFERENZEN**

1. Kohne E: Hemoglobinopathies: clinical manifestations, diagnosis, and treatment. Dtsch Arztebl Int. 2011; 108(31-32):532-540
2. Bonifazi F et al.: Pattern of complications and burden of disease in patients affected by beta thalassaemia major. Curr Med Res Opin. 2017;33:1525-1533
3. Betts M et al.: Systematic literature review of the burden of disease and treatment for transfusion-dependent beta-thalassaemia. Clin Ther. 2020;42(2):322-337.e2
4. Gesellschaft für Pädiatrische Onkologie und Hämatologie A-WMF-S2k-Leitlinie 025/016 „Sichelzellerkrankheit“. 2. Auflage vom 2. Juli 2020
5. Weinberg OK et al.: Clinical characterization of acute myeloid leukemia with myelodysplasia-related changes as defined by the 2008 WHO classification system. Blood. 2009;113:1906-1908
6. Wörmann B et al.: Onkopedia-Leitlinie der DGHO zu AML-Empfehlungen der Fachgesellschaft zur Diagnostik und Therapie hämatologischer und onkologischer Erkrankungen, Januar 2021
7. Brunson A et al.: Increased risk of leukemia among sickle cell disease patients in California. Blood. 2017;130(13):1597-1599
8. Seminog O et al.: Risk of individual malignant neoplasms in patients with sickle cell disease: English national record linkage study. J R Soc Med. 2016;109(8):303-309
9. Halawi R et al.: A higher prevalence of hematologic malignancies in patients with thalassaemia: Background and culprits. Am J Hematol. 2017; 92:414-416
10. Chung WS et al.: Thalassaemia and risk of cancer: a population-based cohort study. J Epidemiol Community Health. 2015;69(11):1066-1070
11. Torti SV et al.: Iron and Cancer. Annu Rev Nutr. 2018;38:97-125
12. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans Pharmaceuticals volume 100 A A review of human carcinogens. 2012

tigung der oligoklonalen Entwicklung des Transplantats durch den primären Herstellungsprozess (der Herstellungsprozess wurde im Laufe der Studie weiterentwickelt und optimiert).

Da bisher unter der Therapie mit Zynteglo® in der Studienpopulation (nach der Zulassung wurde erst vor Kurzem ein Patient behandelt) kein Fall einer myeloischen Leukämie oder anderer Tumorerkrankungen aufgetreten ist und sich die beiden Populationen hinsichtlich ihrer Risikoprofile deutlich unterscheiden, wurde das Nutzen-Risiko-Verhältnis für Zynteglo® durch den PRAC unverändert positiv bewertet.

**RISIKOMINIMIERUNGSMASSNAHMEN**

Aufgrund der abschließenden PRAC-Bewertung beschränken sich die Maßnahmen für Zynteglo® auf kleine Ergänzungen der Fachinformation, des Schulungsmaterials und des Risiko-Management-Plans (RMP).

**Änderungen der Fachinformation:**

- Bei der Langzeitüberwachung maligner Neuerkrankungen wird zusätzlich zur Leukämie und zum Lymphom explizit das **myelodysplastische Syndrom** erwähnt.
- Während der ersten 15 Jahre nach der Behandlung zur Kontrolle für hämatoonkologische Erkrankungen muss **mindestens** einmal jährlich eine komplette Untersuchung des Blutbildes durchgeführt werden.

**Änderungen des Schulungsmaterials:**

- Das onkogene Risiko der myeloablativen Vorbehandlung muss explizit erwähnt werden, inklusive des Verweises auf das Statement der International Agency for Research on Cancer (IARC) zu Busulfan.

**Änderungen des Risikomanagementplans (RMP):**

- Veränderungen, welche die Frequenz des Langzeitmonitorings durch Integrationsseitenanalysen (ISA) betreffen, werden auch in das REG-501-Protokoll für die kommerziell behandelten Patienten (einmal jährlich) und in das Protokoll der klinischen Langzeit-Follow-Up-Studie LTF-303 (sechsmonatlich) aufgenommen.

Da das Risiko einer Insertionsonkogenese und die Bedeutung der langfristigen Überwachung der Patienten bereits vorher in den Abschnitten 4.4 und 4.8 genannt worden ist, gibt es hier keinen Änderungsbedarf.

Es wurden lediglich kleinere sprachliche Änderungen vorgenommen, um die Behandler stärker zu sensibilisieren, insbesondere im Hinblick auf die Überwachung nach der Therapie.