



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DEL VIRUS VIH-1 MODIFICADO GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/24/28)

Título del ensayo

Estudio multicéntrico de fase I, abierto y de dos partes para evaluar la seguridad de la infusión de INT2104 en participantes de ambos性 de 18 años o más con neoplasias malignas de células B recidivantes o resistentes al tratamiento, del promotor Interius BioTherapeutics Inc.

Organismo modificado genéticamente

El OMG, INT2104, es un vector lentiviral no replicativo y autoinactivante que porta el transgén CAR20. El vector lentiviral está diseñado para generar células CAR-T y CAR-NK *in vivo* tras su administración intravenosa. Una vez en el torrente sanguíneo, el INT2104 se dirige específicamente a las células CD7+ (células T y NK) que se encuentran en la circulación, el bazo, la médula ósea y otros tejidos. Tras unirse al CD7 en las células T y NK diana dentro del paciente, el genoma se introduce en la célula. Tras la transcripción inversa, el ADN proviral que codifica el transgén CAR20 se integra en el genoma de la célula CD7+ permitiendo la expresión a largo plazo de CAR20 y su persistencia en el paciente tratado.

La transducción de las células que expresan CD7 tras la administración intravenosa de INT2104 se consigue mediante la pseudotipificación con el fusógeno Gen2.1, basado en la proteína G del virus de la estomatitis vesicular (VSV-G).

El INT2104 se fabrica mediante un proceso que incluye la transfección de células HEK-293T (células de riñón embrionario humano que han sido transformadas por exposición a ADN de adenovirus tipo 5 y expresan el antígeno T grande del virus simio 40 (SV40), que permite la replicación de plásmidos que contienen el origen de replicación del SV40), con 5 plásmidos diferentes para posibilitar la producción del vector.

Características del ensayo

El fármaco INT2104 se administra en una única infusión con los niveles de dosis propuestos para la fase I de 2×10^8 , $6,3 \times 10^8$ y 2×10^9 unidades de transducción (UT).

El ensayo se realizará en el Hospital MD Anderson Cancer Center de Madrid y en el Hospital Duran i Reynals (ICO Hôpitalet de L'Hospitalet de Llobregat).

Identificación de riesgos potenciales

-Virus contaminantes competentes para la replicación (RCL).

Los ensayos de detección de lentivirus competentes en replicación son un requisito para la liberación de lotes y los llevó a cabo en las células de final de la producción (EOPC). Las muestras se cultivaron con las células Jurkat y se determinó mediante ELISA la presencia de la proteína p24 lentiviral, una proteína de la cápside que forma parte integrante de la formación de RCL. Este método de detección



de RCL específico del producto se desarrolló porque el INT2104 tiene un tropismo alterado respecto a los vectores lentivirales pseudotipados estándares del VSV-G.

No se detectó ningún RCL en el sobrenadante de la cosecha ni al final de la producción de células para el vector lentiviral INT2104 conforme a las PBF en los lotes analizados.

-Estabilidad

El genoma del vector es intrínsecamente estable y, dado que el INT2104 es un vector no replicativo, solo se produce una única ronda de transcripción inversa en las células transducidas. La secuencia del genoma del vector se verifica mediante la secuenciación tanto del plásmido que porta el vector químérico utilizado para la producción, como en el producto final. Las secuencias en ambos coincidieron con la secuencia de referencia previa a la fabricación del INT2104.

-Tropismo

Las funciones combinadas del ligante de CD7 y el fusógeno Gen 2.1 definen el tropismo del INT2104 hacia las células que expresan CD7, que son predominantemente células T y NK.

El tropismo celular del INT2104 coincide con el del VIH-1 en que ambos incluyen las células T CD4+CD7+, aunque cada uno utiliza un receptor diferente en esas células. El receptor primario del VIH-1 es el CD4, y el CCR5 y el CXCR4 actúan como correceptores. El INT2104 también puede infectar a las células T CD4+ a través de la adsorción al CD7. Asimismo, el INT2104 se dirige a otras células inmunitarias que expresan CD7, en particular las células NK. Tras la entrada en la célula, se espera que el INT2104 comparta restricción funcional con el VIH-1, particularmente en células T en reposo donde SAMHD1 hidroliza los dNTP necesarios para la transcripción inversa. El INT2104 no interactúa con CD4 ni con ninguno de los correceptores del VIH-1.

-Patogenicidad

Los vectores lentivirales para aplicaciones humanas *ex vivo* tienen un amplio historial en el ámbito oncológico y no oncológico. Se han notificado casos raros de neoplasias malignas de células T tras el tratamiento con células CAR-T y en un estudio de terapia génica lentiviral de adrenoleucodistrofia cerebral. Sin embargo, sigue sin estar clara una relación causal, ya que algunos casos con CAR-T confirmados, se han producido en un contexto de neoplasia maligna de células T de origen natural o están asociados a un diseño de vector diferente que puede haber contribuido a la oncogénesis insercional. El desarrollo de cáncer secundario en pacientes que reciben terapia con células CAR-T se ha identificado como un acontecimiento adverso poco frecuente. Las muestras para el análisis del lugar de integración se recogerán en puntos temporales específicos y se almacenarán para futuros análisis en caso de que un participante del estudio desarrolle una neoplasia maligna posiblemente indicativa de oncogénesis insercional.

-Potencial de recombinación con el virus parental *in vivo*

Las principales recombinaciones posibles pueden implicar el intercambio de secuencias codificantes. Si el VIH-1 adquiriera el transgén CAR20 del INT2104, teóricamente podría adquirir la capacidad de ablación de las células B. Sin embargo, el agotamiento de las células B es el curso clínico deseado para la terapia con células CAR-T para las neoplasias malignas de células B y representa una patogenia significativamente menor en comparación con el curso clínico para la infección por VIH-1 natural. Por el contrario, si el INT2104 adquiriera secuencias codificantes del VIH-1, es poco probable que el recombinante fuera más patógeno que el virus parental, ya que el tropismo de cada uno de ellos está restringido de forma similar en comparación con el VSV-G. No se han descrito



acontecimientos de recombinación entre el vector viral y el VIH-1 en más de 34.000 pacientes que recibieron vectores lentivirales. Un paciente que recibió terapia génica lentiviral para la beta-talasemia (Betibeglogene autotemcel) y posteriormente contrao el VIH no mostró evidencias de recombinación entre el genoma del vector lentiviral y el VIH. En cualquier caso, los pacientes con VIH están excluidos de los estudios clínicos del INT2104.

-Biodistribución y excreción del vector clínico (Shedding).

Dado que se trata de un primer ensayo clínico en humanos, no existen datos clínicos sobre la diseminación del INT2104. Se llevó a cabo un estudio de toxicología conforme a las BPL en primates no humanos. Se detectaron los genomas del vector en el plasma de todos los animales en el día 2 (1 día después del tratamiento), pero fueron indetectables en los siguientes puntos temporales.

El ensayo detecta un fragmento corto del genoma viral, es decir, los genomas medidos podrían ser genomas vectoriales completos o productos de degradación.

La excreción del vector se evaluó en heces, orina e hisopos bucales, observándose que la diseminación del vector tras la administración intravenosa es muy limitada.

En base a los datos preclínicos farmacocinéticos y de diseminación, se considera mínimo el riesgo de que las personas que están en contacto con el participante del estudio estén expuestas al INT2104 diseminado en las secreciones corporales. En cualquier caso, se tomarán precauciones universales para minimizar aún más el riesgo de exposición al INT2104 diseminado durante la hospitalización de los participantes del estudio y se evaluará la presencia de genomas del vector en sangre, saliva, orina y heces en distintos puntos temporales. Para cada muestra, el análisis de la diseminación podrá detenerse cuando 3 recolecciones consecutivas sean negativas o hasta que los resultados demuestren que se ha alcanzado una meseta en al menos 3 muestras consecutivas.

Manipulación, control y tratamiento de residuos.

La preparación de la dosis de INT2104 deberá realizarse en cabina de seguridad biológica. La/s jeringa/s preparada/s para la administración se cerrará/n con tapones para punta de jeringa y se colocará en una bolsa sellada secundaria, que a su vez se introducirá en un recipiente cerrado para evitar cualquier derrame accidental durante el transporte a la cama del paciente para su administración.

El EPI utilizado por las personas que manipulen el INT2104 o recojan muestras biológicas seguirá las normas del centro clínico para el EPI requerido para manipular productos de riesgo tipo 2 y puede incluir el uso de mascarilla, guantes y gafas de seguridad.

Todo lo que entre en contacto directo con el INT2104, incluidos los viales, la jeringa de administración y los tubos, debe eliminarse según las normas de eliminación de residuos con riesgo biológico, de acuerdo con los procedimientos del centro clínico. Los residuos adicionales como los envases del INT2104 (por ejemplo, el envase de cartón secundario, las bolsas terciarias) deben eliminarse conforme a las normas de eliminación de residuos con riesgo biológico según los procedimientos del centro clínico.

Según los datos farmacocinéticos preclínicos y de excreción en primates no humanos, no se espera que las muestras que contienen INT2104 funcional persistan más allá de los primeros días, tras la administración de INT2104. Dado que se trata de un primer estudio en humanos, se desconoce cuánto tiempo persistirá el INT2104 en la sangre y los excrementos de los participantes en el estudio.



La persistencia de los genomas del vector en sangre y la diseminación de los genomas del vector en saliva, orina y heces se controlarán en los participantes del estudio en distintos puntos temporales. los participantes del estudio recibirán instrucciones sobre medidas higiénicas básicas.

En el caso de que se produzca cualquier incidencia o accidente se deberá informar de manera inmediata a la Comisión Nacional de Bioseguridad (CNB) y al Consejo Interministerial de OMG (CIOMG).

CONCLUSIÓN: Se considera que en el estado actual de conocimientos y con las medidas de uso propuestas, este ensayo clínico no supone un riesgo significativo para la salud humana, la salud animal y/o el medio ambiente.

Una vez concluido el ensayo, se remitirá un informe de resultados del mismo al Consejo Interministerial de OMG (CIOMG) y a la Comisión Nacional de Bioseguridad (CNB), siguiendo el modelo de informe de resultados elaborado por la CNB, que se encuentra disponible en la [web del MITECO](#). En este informe se deberá incluir información sobre las posibles incidencias, si las hubiera. La remisión de esta información será condición indispensable para la concesión de futuras autorizaciones de ensayos con organismos modificados genéticamente.

Madrid a 19 de diciembre de 2024