



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE CÉLULAS T MODIFICADAS GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/18/08)

Título del ensayo

Estudio internacional de fase III, multicéntrico, y aleatorizado, para comparar la eficacia y seguridad de JCAR017 frente al tratamiento de referencia de pacientes adultos de alto riesgo, con linfoma no Hodgkin de células B agresivo en recaída o refractario y elegibles a trasplante (TRANSFORM) de la empresa Celgene Corporation.

Características del ensayo

Este ensayo clínico se va a realizar con el mismo OMG que el ensayo clínico con número de notificación B/ES/17/12, autorizado mediante resolución de autorización emitida por el Consejo Interministerial de Organismos Modificados Genéticamente (CIOMG) con fecha 3 de octubre de 2017.

El promotor del ensayo clínico presenta carta de justificación en la que indica que la ruta de administración y la dosis y la indicación son las mismas, por lo que se considera que el riesgo para la salud humana, animal y el medio ambiente es el mismo.

El ensayo se realizará en el Hospital Universitario 12 de octubre y Hospital Clínic de Barcelona.

JCAR017 se administrará en forma de una dosis fija de 1×10^8 CAR+ linfocitos T.

Características del OMG

JCAR017 son linfocitos T autólogos CD4+ y CD8+ que expresan un receptor CAR específico de CD19 formado por un fragmento variable monocatenario [scFv] derivado del anticuerpo monoclonal FMC63, región bisagra de IgG4, dominio transmembrana de CD28, dominio coestimulador de CD137 [4-1BB] y dominio de señalización de CD3 ζ) y un receptor del factor de crecimiento epidérmico truncado (EGFRt).

La modificación se lleva a cabo *ex vivo*, usando un vector lentiviral, derivado del VIH-1, sin capacidad de replicación, autoinactivable, que expresa el gen que codifica el CAR específico para el antígeno CD19.

El sistema consta de 4 plásmidos (1 de transferencia, 3 colaboradores) usados para generar las partículas víricas utilizando las células de empaquetamiento HEK-293T. El plásmido de transferencia contiene solo los componentes en *cis* del VIH-1 mínimos y necesarios para el ciclo de vida lentiviral. Estos componentes son el LTR 5' y el LTR 3' parcial (para la autoinactivación), la secuencia de empaquetamiento ψ , lugares de donante y aceptador de empalme, y el elemento de respuesta a Rev (RRE). El plásmido de transferencia también contiene el fragmento WPRE (elemento regulador postranscripcional del virus de la hepatitis de la marmota) del VHW, y el transgén. El promotor del transgén es un promotor quimérico que contiene la secuencia LTR parcial de HTLV (el elemento R) y el promotor EF1- α humano.



La proteína accesoria Rev del VIH-1 es codificada por uno de los plásmidos, el gen *gagpol* del VIH-1 está inserto en un segundo plásmido, y el gen que codifica la envoltura de la glicoproteína del VSV, está inserta en un tercer plásmido.

Las células T del paciente se aíslan *ex vivo*, se activan y se transducen con el vector portador de los genes que codifican para el receptor CAR.

Identificación de riesgos potenciales

-Presencia de partículas virales libres

Se espera que la presencia de partículas víricas no integradas en el producto JCAR017 final sea muy baja, si existe. Durante el proceso de fabricación de JCAR017, el vector residual no integrado se elimina por arrastre. Tras la transducción *ex vivo*, las células JCAR017 se expanden *ex vivo* a una dosis terapéutica en un biorreactor controlado. Al final del cultivo, las células JCAR017 se lavan y se formulan.

-Capacidad de transferencia génica debido a la formación de lentivirus competentes para la replicación.

La posibilidad de que se produzca el lentivirus con capacidad de replicación durante la generación *in vitro* del virus es muy baja. El riesgo se minimiza durante la producción del vector lentiviral usando un sistema de genoma dividido en el que los genes que codifican los segmentos y los genes necesarios para formar el vector vírico se segregan en plásmidos separados.

Estas secuencias se proporcionan en *trans* a través de la transfección de la línea celular HEK-293T que solo permite la expresión transitoria de estos constructos durante la etapa de producción del vector vírico.

El riesgo de RCL se reduce aún más por la conservación de la dependencia de Rev del vector vírico: Rev es necesario para exportar el transgén desde el núcleo hasta el citoplasma para la expresión y el empaquetamiento de proteínas. Puesto que Rev solo se proporciona en *trans* y, puesto que la proteína Rev no se empaqueta en el virus, las posibilidades de que un genoma de ARN lentiviral pueda continuar su exportación nuclear en las células transducidas es altamente improbable.

Finalmente, la naturaleza autoinactivable del vector significa que la expresión a partir de la LTR se reduce de forma significativa debido a la eliminación en la LTR 3' y a la ausencia del gen *tat* del VIH-1 (normalmente necesario para la transcripción inducida por LTR).

Aunque sea improbable la generación del RCL, se realizan pruebas para detectar su presencia en varias etapas del proceso de fabricación como son en el proceso de obtención del vector y en el producto final, y posteriormente durante el seguimiento del paciente.

-Riesgo de transferencia genética

La probabilidad de transferencia genética horizontal es insignificante, ya que las células T no transfieren genes horizontalmente, el virus se encuentra integrado en el genoma de las células y no será capaz de recombinarse con secuencias de vectores retrovirales endógenos humanos dada la ausencia de secuencias homólogas.

-Patogenicidad



Aunque el lugar de la inserción del vector viral no se controla directamente, la inserción en un lugar específico se ve sesgada por las preferencias por ciertas secuencias de los vectores lentivirales que tienen características distintas a las conocidas para los vectores λ -retrovirales. Hasta la fecha no se han observado efectos adversos en sujetos que se puedan atribuir al vector lentiviral ZRX-014-LV.

Las células JCAR017 no producen virus infecciosos ni patogénicos. Existe una clara evidencia de que las células T transducidas no pueden ser fuente para transducciones posteriores ya que el vector se integra en el cromosoma de las células T sin transferir secuencias codificantes derivadas del virus.

-Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación

La posibilidad de supervivencia, establecimiento y diseminación del vector es insignificante teniendo en cuenta que es un vector no replicativo y la práctica ausencia de partículas virales libres en el producto final.

Por otra parte, fuera del huésped, las células son sensibles y rápidamente eliminadas tanto por inactivación física (deshidratación y calor) como por desinfectantes (disolventes de lípidos y detergentes suaves).

-Efecto sobre la salud humana, otros organismos no diana y el medio ambiente

Los linfocitos T modificados genéticamente (JCAR017) son específicos del sujeto y no sobreviven fuera del mismo. Estas células no son patógenas y no persisten ni se replican en el medio ambiente. Por lo tanto, no se prevén efectos adversos sobre la salud humana ni en el medio ambiente.

-Manipulación, control y tratamiento de residuos

Celgene Corporation proporcionará un Manual de administración del producto JCAR017 a todos los centros participantes; toda manipulación del producto debe llevarse a cabo según el Manual de administración del producto.

El producto JCAR017 se enviará desde las instalaciones de fabricación en un recipiente y no se debe transferirse a un almacenamiento secundario. El producto se descongelará en el centro y se administrará al sujeto a través de una infusión intravenosa.

Al tratarse de linfocitos T autólogos humanos los profesionales sanitarios deben emplear las precauciones universales para evitar la transmisión de infecciones de transmisión hemática.

El producto parcialmente usado o sin usar (material restante en los viales), los viales, las almohadillas absorbentes de barrera, todos los materiales usados en el proceso de preparación y administración, incluido el equipo de administración i. v., deben ser desechados de acuerdo con las normas de eliminación de residuos de riesgo biológico de la institución para tejidos con patógenos de transmisión hemática o material del sujeto potencialmente infeccioso. Las normas definidas para la eliminación de residuos de riesgo biológico se archivarán en los archivos del centro de investigación y las eliminaciones asociadas a nivel de sujeto se documentarán claramente en los registros del sujeto y se verificarán con dichas normas.

En el caso de que se produzca cualquier incidencia o accidente se deberá informar de manera inmediata a la Comisión Nacional de Bioseguridad.



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 de los mismos al Consejo Interministerial de OMG (CIOMG) y a la Comisión Nacional de Bioseguridad. 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 12 de julio de 2018