



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE LINFOCITOS T MODIFICADOS GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/17/18)

Título del ensayo

Ensayo clínico Fase I/II, multicéntrico, para evaluar la seguridad y eficacia del producto bb2121 en pacientes con mieloma múltiple refractario o en recaída, de la empresa Celgene Corporation.

Características del ensayo

En el ensayo clínico participarán la Clínica Universitaria de Navarra, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol.

La administración del producto se llevará a cabo por vía intravenosa. Aproximadamente participarán 94 pacientes que serán controlados durante 24 meses. Posteriormente, se les solicitará que se incorporen a un protocolo de seguimiento a largo plazo durante un total de 15 años.

Característica del OMG

El producto, bb2121, consiste en una población de linfocitos T autólogos enriquecida que contiene células transducidas con el vector CAR anti-BCMA02 LVV que codifica para el receptor CAR del antígeno de maduración de células B humanas (BCMA).

El antígeno de maduración de células B (BCMA) se expresa de forma consistente en células plasmáticas y células de mieloma. Se prevé que las células T que expresan el receptor quimérico CAR reconozcan el antígeno BCMA y se produzca una reducción de la carga tumoral y mejorías en la supervivencia global de los pacientes tratados.

El vector CAR anti-BCMA02 LVV es un vector basado en el lentivirus VIH-1, de tercera generación, es decir, se utilizan 4 plásmidos para la producción de las partículas víricas, aumentando la seguridad. Es un vector que contiene secuencias que mejoran su expresión como cPPT, la porción central de polipurina y el elemento de respuesta a Rev, (RRE). Además, es un vector autoinactivante, debido a las deleciones en las secuencias LTR, por lo que una vez integradas no son activas, y pseudotipado ya que la proteína de la envuelta usada para empaquetar es la glicoproteína G del virus de la estomatitis vesicular (VSV-G).

Las partículas víricas se obtienen mediante la transducción de las células 293T con los distintos plásmidos que codifican las proteínas necesarias para su obtención.

El producto génico terapéutico, CAR anti-BCMA02, es un receptor quimérico, constituido por un fragmento variable de cadena simple (scFv) anti-BCMA02 acoplado funcionalmente a los dominios de transducción de señales de la célula T mediante una región CD8 α transmembranar y de bisagra. Los dominios de transducción de señales comprenden endodominios derivados de CD3 ζ , un componente del complejo receptor de las células T, y CD137 (4-1BB). El gen del CAR anti-BCMA02 está bajo control transcripcional del promotor MND, se ha eliminado la región de control negativo, y se ha sustituido por el sitio de unión al cebador (PBS). El péptido señal CD8 α del extremo N-terminal es el responsable de dirigir al receptor CAR anti-BCMA02 a la superficie de la célula T.

Modificación genética

Las células mononucleares de sangre periférica del paciente se obtienen mediante leucaféresis. Las células se transducen *ex vivo* con vector CAR anti-BCMA02 LVV y se expanden durante



aproximadamente 10 días, se recogen, se lavan, se criopreservan y almacenan en nitrógeno líquido. Se analiza cada lote de producto para detectar la presencia de virus competentes para la replicación.

Identificación de riesgos potenciales

-Presencia de partículas virales libres

Como en el resto de los protocolos de transducción *ex vivo* realizados sobre células, el producto celular sometido a este proceso será objeto de diferentes lavados durante los cuales se irán eliminando las partículas virales libres.

No se considera que la infusión de partículas lentivirales residuales presentes en el medio de infusión vaya a transducir células del paciente.

-Capacidad de transferencia génica debido a la formación de lentivirus competentes para la replicación (RCL)

El riesgo de que se generen lentivirus con capacidad replicativa, ya sea por recombinación de secuencias homólogas con virus endógenos o con otros virus presentes en el paciente, es poco probable. En primer lugar por la baja frecuencia de este proceso en células de mamífero. En segundo lugar, y dada la naturaleza del vector empleado, la única situación en la que es posible la recombinación homóloga que genere lentivirus replicativos es si esa recombinación se produce con otros lentivirus. Sin embargo, uno de los criterios de exclusión en el protocolo es la presencia de infección por VIH en los pacientes.

Además las células transducidas de los sujetos contendrán secuencias integradas del vector. La probabilidad de que se libere material genético recombinante directamente al medio ambiente procedente del contacto o secreciones de los pacientes, salvo que haya generación de RCL dentro del sujeto, es muy baja. Los genes virales del VIH han sido eliminados por lo que no se pueden ensamblar ni desprender partículas virales nuevas de la célula huésped final al carecer de todas las proteínas auxiliares que confieren infectividad y potencial de replicación al lentivirus.

Por otra parte se analiza la presencia de RCL en cada lote del vector lentiviral, en las células transducidas y en los pacientes que participan en el ensayo clínico.

-Riesgo de transferencia génica

Una vez transducidas las células CD34+ con el vector lentiviral el material genético de interés quedará integrado en el genoma de la célula, a la vez que las LTRs del lentivirus se inactivarán, perdiendo así su capacidad de replicación dentro de la célula. Las restantes células del cuerpo no se verán afectadas por las células terapéuticas ya que no se prevé la transmisión de material genético de las células CD34+ transducidas a otras células u organismos de ecosistemas adyacentes.

-Mutagénesis insercional

El provirus terapéutico se inserta en forma estable en el genoma de los linfocitos T del sujeto, y codifica el gen terapéutico.

La mutagénesis insercional no se abordó de forma específica en los estudios de toxicología. La justificación de este enfoque es que, al contrario de lo que sucede con las células madre hematopoyéticas (CMH) modificadas genéticamente *ex vivo*, el potencial de mutagénesis insercional y/o de carcinogenicidad se considera insignificante para los linfocitos T, en función de su diferenciación terminal y de la extensa experiencia clínica obtenida hasta la fecha con el seguimiento a largo plazo de los pacientes tratados con otros productos similares. En la mayoría de los informes



publicados hasta la fecha se han utilizado vectores retrovirales gamma, que tienen preferencia por un sitio de integración con mayor probabilidad de estar asociada a la transformación celular que el sistema de vector lentiviral que se utilizará en este estudio clínico.

-Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación

Tanto el vector lentiviral terapéutico como la célula CD34+ transducida tienen unas características biológicas que impiden su multiplicación y/o dispersión fuera del paciente trasplantado. No pueden sobrevivir fuera del individuo y la proliferación de la célula CD34+ transducida para reconstituir la hematopoyesis del paciente solo ocurrirá en el paciente y no podrá multiplicarse fuera de este.

El hecho de que el vector lentiviral esté pseudotipado con la glicoproteína VSV-G confiere mayor estabilidad en el medio exterior, a la vez que lo inactivan con facilidad la mayoría de los desinfectantes y antisépticos, como ocurre con el VIH de tipo silvestre. Además, los vectores lentivirales pseudotipados con VSV-G son rápidamente inactivados por el complemento del suero humano.

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

Los posibles efectos sobre la salud humana son inexistentes ya que tanto el vector lentiviral como la célula CD34+ modificadas no pueden sobrevivir fuera del organismo receptor. Únicamente en el momento del trasplante de las células modificadas, el personal implicado debe seguir estrictamente las normas para evitar que un posible resto del vector lentiviral pudiese entrar en contacto con el sistema sanguíneo del trabajador. El contacto con la piel no implica riesgo alguno, por otra parte el trabajador estará protegido ante posibles exposiciones innecesarias.

-Manipulación, control y tratamiento de residuos

El notificador del ensayo suministrará a los centros que participan en el ensayo clínico el manual de recepción, preparación y administración del medicamento y la ficha de datos de seguridad. En estos dos documentos se recoge las medidas de contención de riesgo recomendadas en la manipulación, se recomienda la utilización de campanas de bioseguridad de clase II, y la administración del producto, la eliminación de residuos y la forma de actuar en caso de derrame accidental.

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 20 de febrero de 2018