



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE LINFOCITOS AUTÓLOGOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/18/26)

Título del ensayo

Estudio multicéntrico, fase II, abierto y multicohorte para determinar la eficacia preliminar y la seguridad de bb2121 en pacientes con mieloma múltiple en recaída y refractario y en pacientes con mieloma múltiple de alto riesgo que han progresado dentro del plazo de un año desde el tratamiento inicial (KarMMA 2) de la empresa Celgene Corporation.

Organismo Modificado Genéticamente

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

CAR anti-BCMA02 LVV es un vector basado en el lentivirus VIH-1. Los vectores lentivirales utilizados son de tercera generación (se utilizan 4 plásmidos para su producción lo que aumenta su seguridad), mejorados (contienen secuencias que mejoran su expresión como cPPT, tracto central de polipurina, y el elemento de respuesta a Rev, RRE), autoinactivantes (deleciones en la LTR por lo que una vez integradas no son activas) y pseudotipados (la proteína de la envuelta usada para empaquetar es la glicoproteína G del virus de la estomatitis vesicular VSV-G). Los vectores se obtienen mediante cotransfección de los 4 plásmidos en células 293T: vector transferente, vectores empaquetadores (que contienen la secuencia codificante de rev y gag-pol) y el de la envuelta VSV-G.

El producto génico terapéutico CAR anti-BCMA02 es un receptor quimérico, constituido por una proteína de varios dominios, a saber: el dominio extracelular de reconocimiento del antígeno (VL y VH), el dominio bisagra CD8 α , un dominio transmembranario (CD8 TM) y los dominios de señalización intracelulares coestimulador CD137 (4-1BB) y cadena CD3-zeta.

Las células mononucleares de sangre periférica se obtienen mediante leucaféresis. Las células se transducen, *ex vivo*, con el vector anti-BCMA02 CAR LVV, se expanden, se recogen, se lavan, se criopreservan y almacenan en nitrógeno líquido. Se analiza cada lote de producto para detectar la presencia de lentivirus competente para la replicación (RCL).

Características del ensayo

En el ensayo clínico participará la Clínica Universitaria de Navarra.

Aproximadamente a 103 sujetos se les perfundirá una única dosis del medicamento CAR anti-BCMA02. A los sujetos se los controlará durante 24 meses tras la perfusión y, posteriormente, se les solicitará que se incorporen a un protocolo separado de seguimiento a largo plazo durante un total de 15 años.



Identificación y evaluación de riesgos potenciales

-Estabilidad fenotípica y genotípica

Como el provirus se integra de forma estable en la célula T receptora, no es capaz de moverse. El transcrito de ARN empaquetado en el vector lentiviral del CAR anti-BMCA02 es estable y no tiene la capacidad de replicarse. El nivel de expresión del CAR en la superficie de las células T variará en función de la cantidad de copias del gen incorporadas al cromosoma de las células T y de otros factores no relacionados con el vector. El medicamento bb2121 ha demostrado responder eficazmente al BCMA si el 10 % de las células T expresan el CAR anti-BCMA.

-Presencia de partículas virales libres

Durante el proceso de fabricación de bb2121, la cantidad de vector lentiviral anti-BCMA02 activo introducida en el cultivo celular es normalmente de 2×10^9 partículas. Tras la transducción las células T, se someten a distintas etapas de lavado antes de la formulación y crioconservación del medicamento. Las partículas libres de vector lentiviral anti-BCMA02 que no se incorporan en las células T autólogas se degradan rápidamente en el cultivo celular. Teniendo en cuenta la semivida corta esperada (menos de 10 horas) de las partículas de vector lentiviral en las condiciones de cultivo, se calcula que el factor de reducción de las partículas de vector lentiviral anti-BCMA02 activas durante el cultivo celular será de $2^{(9 \text{ días}) \times (24/10 \text{ semividas al día})} = 3,18 \times 10^6$ veces. Las etapas de lavado después de la cosecha se han diseñado para producir una dilución adicional de >2.000 veces. En conjunto, se calcula que el factor de reducción acumulativo de partículas de vector lentiviral libres activas durante todo el proceso de fabricación de bb2121 será de $6,36 \times 10^9$ veces. Se calcula que la cantidad teórica de partículas infecciosas presentes en el medicamento bb2121 será de 0,31, que es inferior a una partícula en un lote del medicamento. Por tanto se considera que el riesgo de presencia de partículas libres en el producto final es insignificante.

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

El bb2121 se fabrica mediante expansión y transducción de las células del paciente con un vector lentiviral que se fabrica utilizando un sistema de fabricación de tercera generación. El riesgo de recombinación y de replicación *in vivo* se minimiza al eliminar los genes auxiliares necesarios para la replicación viral *in vivo*, reduciendo la homología de las propias secuencias y separando los plásmidos de empaquetamiento/envoltura/transferencia. Hasta la fecha, no se ha comunicado ningún acontecimiento de RCL asociado a los sistemas de fabricación de lentivirus de tercera generación.

Cada lote del vector lentiviral se analiza para detectar la replicación viral. Los análisis para detectar RCL incluyen análisis de las células durante la producción y del vector lentiviral purificado conforme a la guía de la FDA y la Directriz de la UE sobre desarrollo y fabricación de vectores lentivirales.

Además, ningún paciente VIH+ será expuesto a bb2121. Los pacientes se someterán a pruebas de detección antes de entrar en el estudio clínico. No se elabora ningún producto de bb2121 a partir de pacientes VIH-positivos, eliminando así la posibilidad de recombinación del vector lentiviral con el VIH.

-Riesgo de transferencia genética

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 puesto que no se prevé la transmisión de material genético de las células CD34+ transducidas a otras células u organismos de ecosistemas adyacentes.

El OMG no es viable en condiciones ambientales no controladas ni en otros seres humanos, ya que el sistema inmunitario lo eliminaría rápidamente debido a la incompatibilidad del antígeno leucocitario humano (HLA, por *human lymphocyte antigen*).

-Clonalidad y oncogénesis insercional

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

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 del receptor CAR, 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 que también consiste en linfocitos T que expresan el receptor CAR.

-Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación

Tanto el vector lentiviral 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 (células autólogas).

El hecho de que el vector lentiviral del CAR anti-BCMA02 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 está bien documentado para el VIH de tipo salvaje. Además, los vectores lentivirales pseudotipificados con VSV-G son rápidamente inactivados por el complemento del suero humano.

Manipulación, control y tratamiento de residuos

El medicamento bb2121 será enviado por el fabricante en un contenedor de acuerdo con las instrucciones de la Asociación Internacional de Transporte Aéreo (IATA). Todo el embalaje irá etiquetado de acuerdo con la normativa relativa a mercancías peligrosas de la IATA (DGR, por *Dangerous Goods Regulations*), UN3245 (productos genéticamente modificados, pero no infecciosos). El producto se recibe y se almacena en el centro en el servicio de terapia celular. Se descongelará el día de la infusión, bien al lado de la cama del paciente en una unidad de trasplantes/de cuidados intensivos de hematología, o en unas instalaciones de terapia génica de nivel de bioseguridad 2 si el producto se va a exponer al medio ambiente, en la que se dispone de cabina de bioseguridad de clase II. El producto será administrado por personal formado que llevará la indumentaria protectora apropiada. Cualquier resto del medicamento y el equipo relacionado se eliminarán en recipientes de seguridad biológica etiquetado según UN3291 (que implica transporte de desechos clínicos infecciosos).

El personal sanitario que participe en el ensayo dispondrá de un manual de recepción, preparación y administración del medicamento y una hoja de seguridad.

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 21 a de noviembre 2018