



## EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE CÉLULAS T MODIFICADAS GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/17/11)

### Título del ensayo

Ensayo clínico abierto de fase I para evaluar la seguridad y la actividad antitumoral de los linfocitos T autólogos que expresan receptores de linfocitos T mejorados específicos para la alfafetoproteína (AFPc332T), en pacientes positivos para HLA-A2 con hepatocarcinoma (HC) avanzado, de la empresa Adaptimmune LLC.

### Características del ensayo

Se estima que el ensayo clínico comenzará aproximadamente en septiembre de 2017 y se completará a finales de 2018. El reclutamiento en el estudio es competitivo, se espera que participen aproximadamente 2 pacientes en los dos centros españoles.

En el ensayo participarán: Clínica Universidad de Navarra (Unidad de trasplantes de hematología.) y el Hospital Clínic Barcelona (Unidad de Trasplante de Células Madre).

La administración del producto se realiza mediante infusión intravenosa durante 15-30 minutos. Este ensayo es un ensayo de aumento escalonado de la dosis y evaluará 3 dosis de células transducidas ( $0,1 \times 10^9$ ,  $1 \times 10^9$  y  $5 \times 10^9$ ) después del tratamiento con quimioterapia para eliminar los linfocitos.

Después de la infusión, la presencia y persistencia de células T genéticamente modificadas en la sangre del paciente (y otros posibles riesgos del uso del OMG) se supervisa con frecuencia a los 3, 6 y 12 meses según el protocolo del ensayo. Si estas pruebas son negativas en todos los momentos de evaluación durante el primer año, se recogerán muestras y se archivarán durante un máximo de 15 años tras la infusión; sin embargo, si se detectan pruebas positivas en cualquier momento durante los primeros 12 meses tras la infusión, las muestras de los pacientes se someterán a pruebas hasta que las copias del gen lentiviral ya no se detecten en el paciente.

### Características del OMG

El OMG, AFP<sup>c332</sup>T, son células CD3+T autólogas, que expresan el receptor de células T con afinidad aumentada para AFP.

Las células destinatarias de la modificación son linfocitos T enriquecidos CD4 y CD8

La modificación de las células se realiza utilizando un vector de lentiviral pseudotipado (VSV-G). El vector es un derivado de VIH-1 autoinactivante e incompetente para replicación que incluye una LTR 5' y una LTR 3' delecionada y la secuencia de empaquetamiento del gen *Psi*.

El transgén (AFP c332 TCR) está formado por cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  del TCR unido mediante una secuencia 2A sin enlace péptido para garantizar la expresión equivalente de ambas cadenas. El vector también contiene el tracto polipurina y la secuencia de terminación central cppt/CTS, para mejorar la eficiencia de la transducción, el elemento de respuesta *rev* para transporte de ARN, y la secuencia de empaquetamiento. El transgen AFP c332 TCR se integra de forma estable en el genoma de las células T diana.



Para producir el lentivirus, se cotransfectan con distintos plásmidos (de empaquetamiento, codificador del trangen, de la proteína Rev y la proteína de la envoltura VSV-G) una línea de celular de empaquetamiento, HEK293T.

Las partículas virales se utilizarán para modificar las células T del paciente. Los linfocitos T autólogos se obtienen de los pacientes aptos que tienen tumores positivos para la AFP y que son positivos para HLA-A\*02:01. Tras la transducción, el transgén se integra de modo estable en el genoma de la célula huésped para dirigir la expresión de AFP<sup>c332</sup> TCR en la superficie celular. Los linfocitos T se expanden *in vitro* y se vuelven a infundir en el paciente. El objetivo último del proceso es estimular y expandir la inmunidad potente y específica de antígeno de los linfocitos T.

### **Identificación de riesgos potenciales**

#### **-Presencia de partículas virales libres**

El vector lentiviral se introduce en los linfocitos T durante un período limitado en las primeras etapas del proceso de fabricación y, a continuación, se retira mediante pasos de lavado.

Durante el período posterior de expansión de linfocitos T, el medio de cultivo se sustituye constantemente en el biorreactor, lo que diluirá cualquier vector restante. Además, los linfocitos T se mantienen a 37 °C y los vectores lentivirales no son estables a esta temperatura durante más de 48 horas. Por lo tanto, la presencia de partículas víricas infecciosas libres en el producto final es improbable.

#### **-Capacidad de transferencia génica debido a la formación de lentivirus competentes para la replicación (LCR)**

No se han detectado en ensayos *in vivo* o *in vitro* la aparición de LCR.

Los LCR pueden generarse durante la fase de producción o después de la administración de las células modificadas mediante recombinación homóloga. El vector solo contiene una porción limitada del genoma del lentivirus, las LTRs y la señal  $\psi$  (psi) de empaquetamiento. Esta porción limitada de secuencias lentivirales hace que la recombinación con elementos retrovirales endógenos sea improbable. Por otra parte, la segregación de las secuencias virales necesarias para el empaquetamiento en plásmidos distintos reduce del riesgo de producción de LCR. Se realizarán ensayos de detección de LCR previos a la liberación del producto y durante todas las fases del ensayo (3, 6 y 12 meses posteriores a la administración).

#### **-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.

No hay datos indicativos de que el ADN del vector se movilice o entre en las células no tratadas. En los estudios de biodistribución y biotoxicidad realizados hasta la fecha, la secuencia del vector solo se detectó *in vivo* en ratones en combinación con marcadores de células humanas, lo que indicaba que no se movilizó a células inespecíficas.

#### **-Patogenicidad**



Oncogénesis insercional: los linfocitos T parecen resistentes a la transformación por parte de virus que se integran en el genoma. La monitorización se realizará de acuerdo con las directivas de la EMA con una frecuencia no inferior a 6 meses y durante un máximo de 5 años.

En el producto final, la especificación del número de copias del vector (VCN) se fija en  $\leq 5$  copias/célula en los criterios para mitigar el posible riesgo de oncogénesis insercional.

#### **-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**

El contacto con el OMG por parte del personal sanitario como consecuencia de derrames o accidentes no supone un riesgo ya que la transferencia de células sería muy baja y el sistema inmunitario eliminará las células. Además,

- Es probable que cualquier transferencia de células modificadas genéticamente recibidas mediante un pinchazo accidental con aguja sea muy baja si se compara con una administración intencional.
- Es muy poco probable que el sistema inmunitario de los profesionales médicos o del personal sanitario se vea comprometido; por lo tanto, es improbable que las células administradas persistan, ya que se espera que el sistema inmunitario de individuos sanos rechace con prontitud los linfocitos T alogénicos.
- La transducción de las células se lleva a cabo *ex vivo* y requiere condiciones experimentales específicas *in vitro*, así como la activación directa de las células diana (linfocitos T maduros). La probabilidad de partículas virales restantes en el producto en investigación es muy baja, por lo que la transducción *in vivo* es muy poco probable.
- La exposición humana se minimiza en un medio contenido (es decir, una pequeña área controlada dentro de un hospital/clínica).

Si el producto se infunde accidentalmente a un paciente inmunodeprimido, la modificación genética no tendrá consecuencias, aunque es posible que pueda desarrollar la enfermedad injerto contra huésped (como con cualquier otro trasplante de células) que requiera el tratamiento estándar adecuado.

#### **-Manipulación, control y tratamiento de residuos**

El promotor proporcionará a cada centro formación sobre el estudio, que incluye la recepción, conservación y manipulación del producto. No se requieren medidas especiales para el lugar de administración. Debe utilizarse indumentaria de protección similar a la utilizada en la manipulación de productos celulares o sanguíneos.



El producto se suministra congelado en doble bolsa en nitrógeno líquido. El producto se transportará por el personal clínico hasta el lugar donde se encuentra el paciente y se descongelará en baño de agua, de acuerdo con los procedimientos estándar para productos sanguíneos congelados.

Se recomienda la administración mediante dispositivo de infusión de doble canal. Lo ideal es que se transfunda sin filtro pero si se requiere el tamaño de poro no debe ser inferior a 170  $\mu\text{m}$ .

En caso de derrame del producto las células perderán la viabilidad rápidamente. Se podrá utilizar solución Hypo-Chlor, lejía o peróxido de hidrógeno al 6%.

Todos los materiales que entran en contacto con el producto (plásticos desechables, agujas, gasas, torundas, etc) serán tratados como residuos clínicos.

**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 2017