



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE LINFOCITOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/21/05)

Título del ensayo clínico

Estudio de fase I, sin enmascaramiento, multicéntrico, de aumento gradual de la dosis y ampliación de cohortes sobre la seguridad y la eficacia de los linfocitos T alógenos modificados genéticamente mediante CRISPR-Cas9 (CTX130), en pacientes adultos con carcinoma de células renales (CCR) avanzado, recidivante o resistente al tratamiento con diferenciación de células claras, del promotor CRISPR Therapeutics AG.

Características del ensayo

El promotor propone un período para la liberación de junio de 2021 a enero de 2027.

Participará en el ensayo clínico la Clínica Universidad de Navarra.

El OMG se administrará a los pacientes por vía intravenosa a una concentración de al menos 3×10^7 linfocitos T CAR+ y hasta un máximo de 9×10^8 linfocitos T CAR

Los pacientes estarán hospitalizados durante al menos 7 días tras la infusión de CTX130. De acuerdo con el protocolo, las visitas están programadas para los días 1, 2, 3, 5, 7, 10, 15, 22 y 28 y los meses 2, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54 y 60. Luego, los pacientes entrarán en un protocolo de seguimiento a largo plazo con visitas anuales durante 10 años. En total, los pacientes estarán supervisados durante 15 años tras el tratamiento.

Organismo modificado genéticamente

El OMG (CTX130) está formado por linfocitos T alogénicos humanos modificados genéticamente *ex vivo* mediante componentes de edición genómica de CRISPR/Cas9 y un vector vírico adeno-asociado recombinante.

El producto farmacéutico está preparado a partir de células monomorfonucleares de sangre periférica (CMSP) de donantes sanos obtenidas mediante un procedimiento de leucaféresis estándar.

Las modificaciones genéticas incluyen la destrucción de la región constante del receptor α de linfocitos T (TRAC) y de la microglobulina $\beta 2$ (B2M), y la inserción simultánea de un transgén con receptor quimérico para el antígeno (CAR) anti-CD70 en el locus del TRAC. Las destrucciones de TRAC y la B2M reducen la probabilidad de padecer enfermedad de injerto contra huésped (EICH) y rechazo de CTX130, respectivamente. La inserción de CAR permite actuar de forma específica en tumores humanos que expresen CD70. Se usa el sistema CRISPR/Cas9, junto con un vector vírico adenoasociado (AAV) recombinante que contiene los genes del receptor quimérico para el antígeno (CAR).

Identificación de riesgos potenciales

-Presencia de partículas virales libres

Durante la fabricación del AAV recombinante, se pueden dar acontecimientos de recombinación poco frecuentes, que pueden hacer que el AAV pueda replicarse.

En el producto farmacéutico CTX130 final, un análisis qPCR validado mide los niveles residuales de vírico adeno-asociado recombinante.



Hasta el momento no se ha detectado AAV residual en los lotes fabricados encima del límite de cuantificación establecido para la técnica.

-Riesgo mutaciones en secuencias no dianas.

Evaluación de modificaciones no deseadas y variación estructural

Para evaluar la posibilidad de introducción de cambios genómicos involuntarios durante la modificación con CRISPR/Cas9, se emplearon métodos computacionales y experimentales. En primer lugar, se identificaron las secuencias genómicas más propensas a sufrir modificaciones no deseadas utilizando métodos relacionados y no relacionados con el grado de semejanza de las secuencias nucleotídicas. Las secuencias identificadas se confirmaron con métodos de secuenciación de nueva generación (NGS —*next-generation sequencing*) y continuarán supervisándose mediante un ensayo de caracterización en todos los lotes clínicos de CTX130. En segundo lugar, se cuantificaron todas las traslocaciones previstas entre los *loci*, CD70, TRAC y B2M con un ensayo de PCR en nanogotas (ddPCR —*droplet digital PCR, droplet digital polymerase chain reaction*). En tercer lugar, se completó la caracterización de las zonas diana para cuantificar las inserciones y eliminaciones en los *loci*, la integración del molde donante de CAR, guiándose por el grado de semejanza de las secuencias nucleotídicas y la expresión del transcrito de CAR completo. Se ha desarrollado ensayos para la detección de traslocaciones y secuencias no deseadas con el fin de aplicarlos a cada lote clínico de CTX130 antes de autorizar su distribución. Paralelamente, para autorizar la distribución del producto, se introducirá el criterio de ausencia de crecimiento independiente de citoquinas.

-Manipulación, control y tratamiento de residuos (documento a paste al anexo de solicitud)

El producto se almacenará en una sala con acceso restringido en la fase gaseosa de un tanque de nitrógeno líquido asignado a este tipo de producto.

Para el tratamiento de pacientes, el producto se transferirá del centro de almacenamiento al área en la que se realizarán la descongelación y la administración. Para transportar el producto crioconservado, la criobolsa que lo contiene se extraerá de la fase gaseosa del tanque de nitrógeno. La criobolsa se transferirá dentro de un segundo embalaje seco cerrado y a prueba de derrames y roturas en la fase gaseosa del nitrógeno líquido.

El personal encargado de preparar el producto para su administración será personal cualificado, que descongelará las células siguiendo las disposiciones de los procedimientos establecidos. El personal manipulará las muestras con guantes desechables estériles. La criobolsa que contiene el producto se colocará dentro de una segunda bolsa de cierre hermético, que se cerrará para evitar posibles derrames y para evitar que las boquillas se contaminen. La criobolsa que va dentro de la bolsa hermética se descongelará a 37 ± 1 °C al baño María o con un método de descongelación en seco. Cuando la criobolsa se haya descongelado, se extraerá la bolsa hermética que la contiene. El producto se preparará junto a la cama del paciente, sobre una superficie limpia y desinfectada. El producto se administrará mediante vía de infusión y catéter/aguja. Todo el material utilizado será desechable y estéril. El personal clínico usará guantes estériles y tomará precauciones universales durante la administración.

El personal encargado de recoger y manipular las muestras será personal debidamente cualificado. Deberán utilizar guantes desechables estériles, mascarilla y ropa de protección.

El transporte de las muestras dentro de la clínica se llevará a cabo de acuerdo a los procedimientos establecidos, etiquetadas y en recipientes cerrados colocados en bandejas o rejillas adecuadas dentro



de recipientes precintados con material absorbente que retenga el líquido en caso de derrame accidental.

Todos los desechos, incluido todo el material que entre en contacto con el OMG, se eliminarán como residuos de riesgo biológico.

Se utilizará un desinfectante aprobado para hospitales para la desinfección regular de las superficies de trabajo que pueda entrar en contacto con el OMG.

En el caso de que el OMG no sea utilizado y sea devuelto al solicitante de la autorización, el transporte se realizará de acuerdo a las normas pertinentes para el transporte de bienes peligrosos por carretera, tren o avión.

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 de los mismos al Consejo Interministerial de OMG (CIOMG) y a la Comisión Nacional de Bioseguridad (CNB). 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 30 de abril de 2021