



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE *LISTERIA MONOCYTOGENES* MODIFICADA GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/17/20)

Título del ensayo

Estudio de fase 1b/2, abierto y aleatorizado, de eficacia y seguridad de JNJ-64041757 (JNJ-757), una inmunoterapia con bacterias vivas atenuados de *Listeria monocytogenes* (*Lm*), en combinación con nivolumab, frente a nivolumab en monoterapia, en sujetos con adenocarcinoma de pulmón avanzado, de la empresa Janssen-Cilag International (NV).

Características del ensayo

El producto, JNJ-64041757, es una inmunoterapia basada en una cepa atenuada con doble delección de *Listeria monocytogenes* (LADD live-attenuated, double-deleted) para el tratamiento del adenocarcinoma de pulmón.

En el ensayo clínico participaran el Hospital Universitari Quirón Dexeus de Barcelona, Hospital Son Llatzer de Palma de Mallorca, Complejo Hospitalario Regional de Málaga, Complejo Hospitalario de Jaén y Hospital General Universitario de Elche.

La fase 1b será una fase de pre inclusión de seguridad, en la que participara un mínimo de 6 sujetos, para evaluar toxicidad y demostrar la tolerabilidad cuando se administra en combinación con nivolumab antes de iniciar la fase 2 aleatorizada. Todos los sujetos de la fase 1b recibirán nivolumab, administrado durante un periodo aproximado de 60 minutos cada 2 semanas, en ciclos de 28 días. Una vez finalizada la infusión de nivolumab el día 1 de cada ciclo de 28 días, se administrara JNJ-757 a una dosis de 1×10^9 CFU por vía intravenosa durante aproximadamente 60 minutos.

En la fase 2 participarán un máximo de 140 sujetos que serán asignados aleatoriamente (1:1) para recibir tratamiento con JNJ-757, el día 1 de cada ciclo de 28 días a una dosis de 1×10^9 CFU por vía intravenosa durante aproximadamente 60 minutos, más nivolumab (grupo A) o nivolumab en monoterapia (grupo B).

Después de la última infusión del OMG, se administrara un tratamiento profiláctico con antibióticos durante 7 días para eliminar cualquier JNJ-757 residual en los pacientes.

Se ha previsto realizar controles en la situación basal, a las 18-24 horas (día 1), el día 4, el día 7 y al cabo de 28 días después de la última infusión del OMG. Se recogerán muestras para realizar hemocultivos de control tal como sigue: en las primeras 4 visitas de la fase de tratamiento; el día 1 de todos los ciclos posteriores que comprendan una evaluación de la enfermedad, o bien si esta medicamento indicado; en la visita del final del tratamiento (antes de administrar el tratamiento antibiótico profiláctico); y a los 3, 6, 9 y 12 meses después de la última dosis.

Características del OMG

JNJ-64041757 es una cepa de *L. monocytogenes* que deriva de la cepa 10403S, que es una variante resistente a la estreptomina de la cepa natural 10403, en la que se han delecionado los genes



implicados en la virulencia, *actA* e *inlB*, y se ha insertado la casete de expresión EGFRvIII-mesotelina en el locus del *tRNA^{Arg}*.

La internalina InlA/InlB, la listeriolisina O (LLO), la fosfolipasa A/B y la proteína ActA están asociadas a la invasión de las células del huésped, la multiplicación y la diseminación de la infección y se consideran los principales factores de virulencia de *Lm*. El gen *inlB* codifica el determinante de virulencia InlB, una proteína que facilita la invasión de varios tipos de células no fagocitadas, en particular los hepatocitos. El gen *actA* codifica el principal determinante de virulencia de *Lm*, la proteína ActA, que permite la polimerización de la actina y, con ello, estimula la movilidad intracelular de la bacteria y su diseminación de una célula a otra.

Modificación genética

La eliminación de los genes de virulencia *actA* e *inlB* se efectuó mediante recombinación homóloga. La delación de cada gen requirió 3 fases: 1) producción del plásmido de recombinación para la delación, 2) integración del plásmido en el cromosoma del huésped y 3) escisión de la secuencia del vector plásmido y el alelo silvestre.

La casete de expresión EGFRvIII-hMeso se insertó en el locus del *tRNA^{Arg}* de la cepa de *Lm* portadora de las dos delecciones, $\Delta actA$ e $\Delta inlB$. La casete de expresión está formada por el promotor de *actA*, un dominio (N)-terminal amino modificado de la proteína ActA que incluye la secuencia de señales (ActAN100*), fusionado con 5 copias en tándem de la región de unión de 21 aminoácidos de la variante III de fusión del EGFR humano (EGFRvIII) y de aminoácido 35 al 622 de la proteína mesotelina humana (hMeso). La secuencia del ADN de la proteína de fusión se optimizó para su expresión en bacterias. La integración se realizó mediante recombinación homóloga y posterior eliminación del plásmido integrado mediante la expresión de la recombinasa cre que reconoce los dos sitios loxP situados en el plásmido a cada lado de la casete de expresión.

La mesotelina, una glicoproteína de la superficie celular ligada a glicosilfosfatidilinositol, es una diana terapéutica en el desarrollo de fármacos contra el cáncer de pulmón. La mesotelina tiene una expresión limitada en la superficie de los tejidos normales, incluidas las células mesoteliales que recubren la pleura, el peritoneo y el pericardio, pero se sobre-expresa en varios tumores humanos, incluido en el 50% al 70% de los adenocarcinomas de pulmón.

Tras la infección y el procesamiento intracelular, JNJ-757 provoca una respuesta inmunitaria proinflamatoria que da lugar al reclutamiento y activación de células efectoras naturales y adaptativas que inducen, finalmente, una inmunidad sistémica por linfocitos T CD4+ y CD8+ específicos frente a la mesotelina. En pacientes con adenocarcinoma de pulmón, la combinación de JNJ-757 con nivolumab, un inhibidor del punto de control inmunitario del receptor de muerte programada-1 (PD-1, *programmed death*), ofrece la posibilidad de mejorar la eficacia con respecto a la monoterapia con nivolumab, que está aprobado para el tratamiento del cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC, *non small cell lung cancer*).



Identificación de riesgos potenciales

Riesgo de transferencia genética

El OMG no contiene plásmidos ni transposones, que podrían permitir la transferencia de material genético a otras especies de *Listeria* o a otras especies bacterianas permisivas presentes en los sujetos del ensayo clínico.

La secuencia génica que codifica la mesotelina y EGFRvIII se encuentra integrada en el cromosoma bacteriano. Las pruebas de estabilidad de las deleciones génicas y de los cambios de nucleótidos de la casete de expresión de la mesotelina indican que ambos son estables durante >270 generaciones (o duplicaciones) en cultivo.

Patogenicidad

JNJ-64041757 es una cepa avirulenta.

Hasta la fecha no se han notificado casos de listeriosis en sujetos que han participado en otros ensayos con JNJ-64041757.

Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación

Si el JNJ-64041757 se libera accidentalmente al medio ambiente, puede persistir en el hábitat natural de *Lm*; sin embargo, permanecería en forma atenuada y no constituiría ningún riesgo para el ser humano ni para los animales expuestos al producto.

Después de la última infusión del OMG, se administrara un tratamiento profiláctico con antibióticos durante 7 días para eliminar cualquier JNJ-64041757 residual en los pacientes. No se ha observado excreción bacteriana en los ensayos clínicos con ninguna cepa LADD, incluida la JNJ-64041757. Sin embargo, como precaución, se obtendrán cultivos de control durante el tratamiento y la fase de seguimiento para confirmar el aclaramiento de JNJ-64041757 tras la administración repetida y hasta un año después de la profilaxis antibiótica.

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

No es de esperar que los sujetos que reciban OMG transmitan la infección a otros; no obstante, se recomendará a los sujetos que reciban el tratamiento que eviten este riesgo potencial siguiendo unas buenas normas de higiene (p. ej., lavarse las manos) como con cualquier agente potencialmente infeccioso, así como que cumplan los requisitos del protocolo en cuanto al uso de un método anticonceptivo de barrera durante las relaciones sexuales y que tomen precauciones en presencia de personas inmunodeprimidas o recién nacidos, para reducir al máximo las posibilidades de intercambio de fluidos durante un periodo de 7 días tras la administración. Las instrucciones para los pacientes se recogen en el documento “Hoja de información al paciente y documento de consentimiento informado”

La modificación genética de JNJ-64041757 no afecta a las propiedades de susceptibilidad de *Lm*. Por lo tanto, la flora/fauna salvaje que pueda ser afectada por JNJ-757 es similar a la que resulta afectada



por *Lm* de tipo silvestre. Sin embargo, se prevé que la introducción de la proteína de fusión mesotelina en JNJ-64041757 dé lugar a una desventaja selectiva respecto *Lm* silvestre.

Manipulación, control y tratamiento de residuos

Manipulación

Se darán instrucciones a cada centro que participe en el ensayo clínico para que siga los procedimientos institucionales del nivel de bioseguridad 1 (información recogida en el Safety data sheet), lo que incluye un lavado concienzudo de las manos después de manipular el medicamento y el uso de guantes protectores, protección ocular y facial. Las instrucciones para la preparación de la dosis se recogen en el documento “*Investigational Product Preparation Instructions*”. En este se indica que la preparación de la dosis se realizará en campana de flujo.

Después de finalizar cada infusión, el punto de inyección deberá desinfectarse con métodos como limpiar meticulosamente con etanol o agua con detergente y usar un apósito cerrado en el punto de inyección (debería incluirse en el documento *Investigational Product Preparation Instruction*).

Transporte

El transporte de JNJ-64041757 a los centros del ensayo clínico se realiza en viales criogénicos sellados, en hielo seco, en un contenedor aislado certificado. Los recipientes para el envío están aislados para evitar que la rotura o descongelación de los viales. Cada kit contiene un vial sellado de JNJ-757 para un solo uso, etiquetado con la información del producto (contenido y cantidad de sustancia), las condiciones de conservación e información de los fabricantes, dentro de un envase externo. Adicionalmente, la etiqueta incluye el siguiente texto: “Este producto contiene organismos modificados genéticamente”. La caja externa estará precintada con cinta adhesiva con testigo de apertura. En cuanto llegan a la farmacia del centro donde se realiza el ensayo, los kits entregados deben inspeccionarse y documentarse en un registro para la contabilidad del medicamento. En el centro, los kits deben almacenarse en los viales originales, en un congelador de seguridad con acceso limitado hasta el momento en que se utilicen.

Gestión residuos

Los centros de investigación desecharán los viales usados de JNJ-64041757 y cualquier otro material desechable que haya estado en contacto con JNJ-64041757 (p. ej., viales, jeringas, bolsas de infusión) como residuos biomédicos, de acuerdo con las directrices del centro. En la *Safety Data Sheet* se recoge que se deberá descontaminar los residuos antes de eliminarlos mediante esterilización, desinfección química y/o incineración.

Las cantidades de JNJ-64041757 no utilizadas no deberán verterse a los desagües ni en inodoros. El medicamento en estudio no utilizado se devolverá al promotor o se desechará de acuerdo con las normas del centro (esterilización con vapor, desinfección química y/o incineración).



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 5 de marzo de 2018