



V SIMPOSIO  
GETHI

18/19  
noviembre de 2019

Ilustre Colegio Oficial de Médicos de Madrid. Aula Jiménez Díaz. Madrid

# Elaboración y nuevos desarrollos de CAR-T Cells en oncología

**Dr Manel Juan**

Sección de Inmunoterapia

Servicio de Inmunología

Hospital Clínic de Barcelona / H Sant Joan de Déu /BST

*Martes 19 de Noviembre de 2019 (10:00-10:20)*

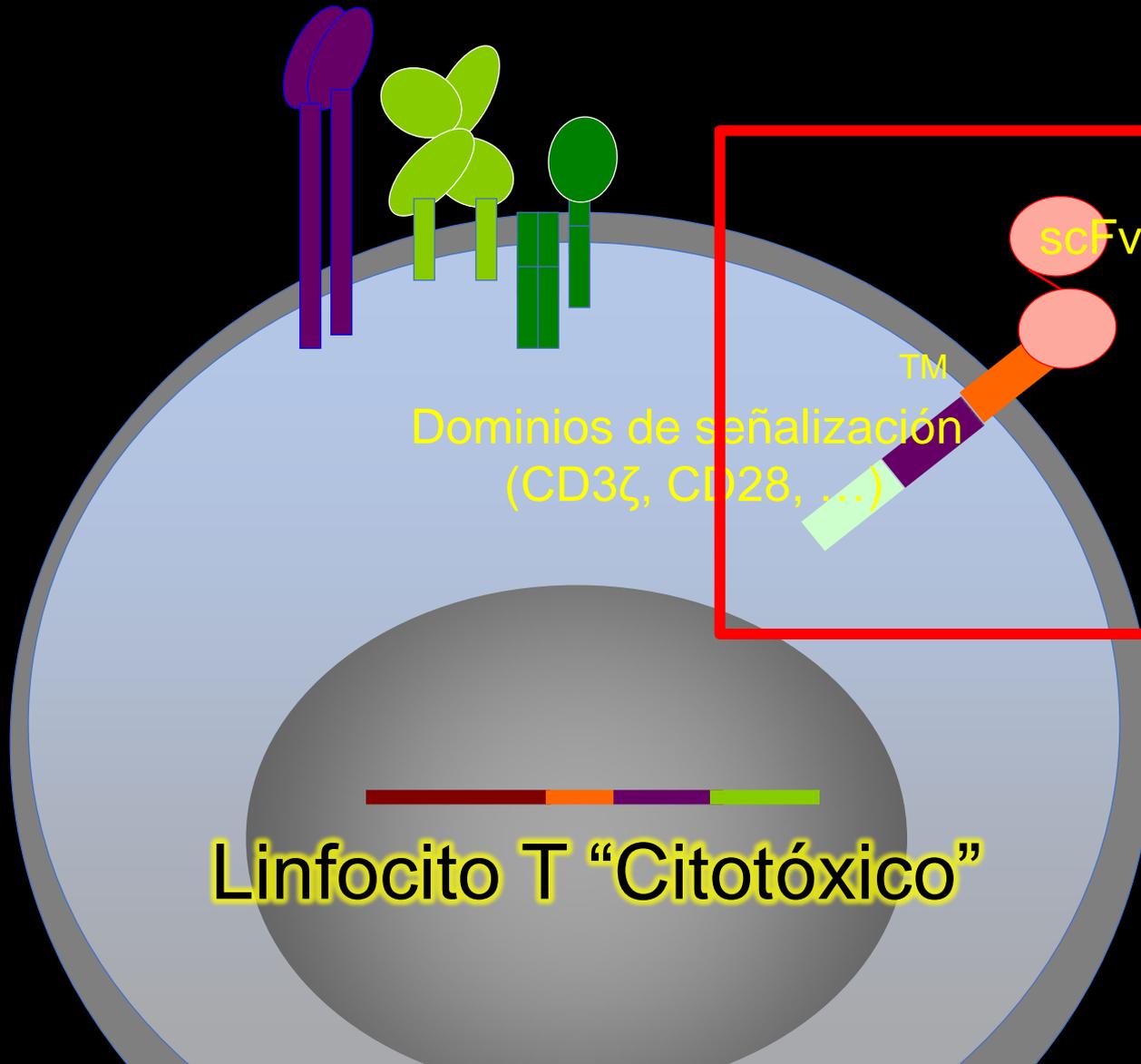
*Ilustre Colegio Oficial de Médicos de Madrid - Aula Jiménez Díaz*

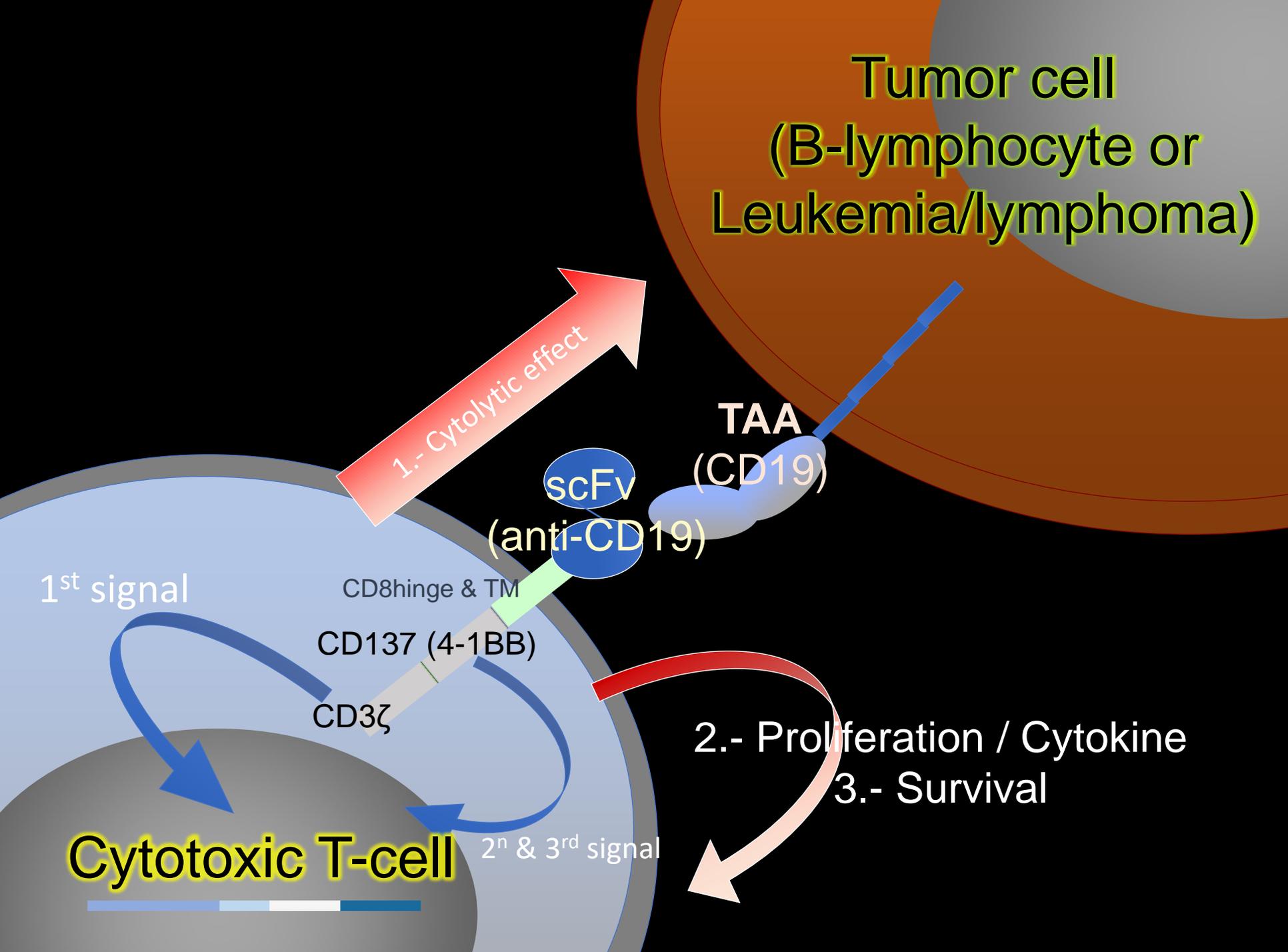


## Conflictos de interés

- *Conflicto a nivel comercial o con empresas sólo en lo relativo a charlas comerciales patrocinadas por compañías, Reciente participación (5-9-19) como miembro del (Oncology Advisory Board) de Grifols.*
- Responsable de producción del ensayo clínico de CART19-BE-01, para evaluar el papel de las células ARI-0001 en pacientes con síndromes proliferativos B. Dossier de evaluación por AMPS en preparación, pero sin que ello condicione **ningún beneficio económico personal.**

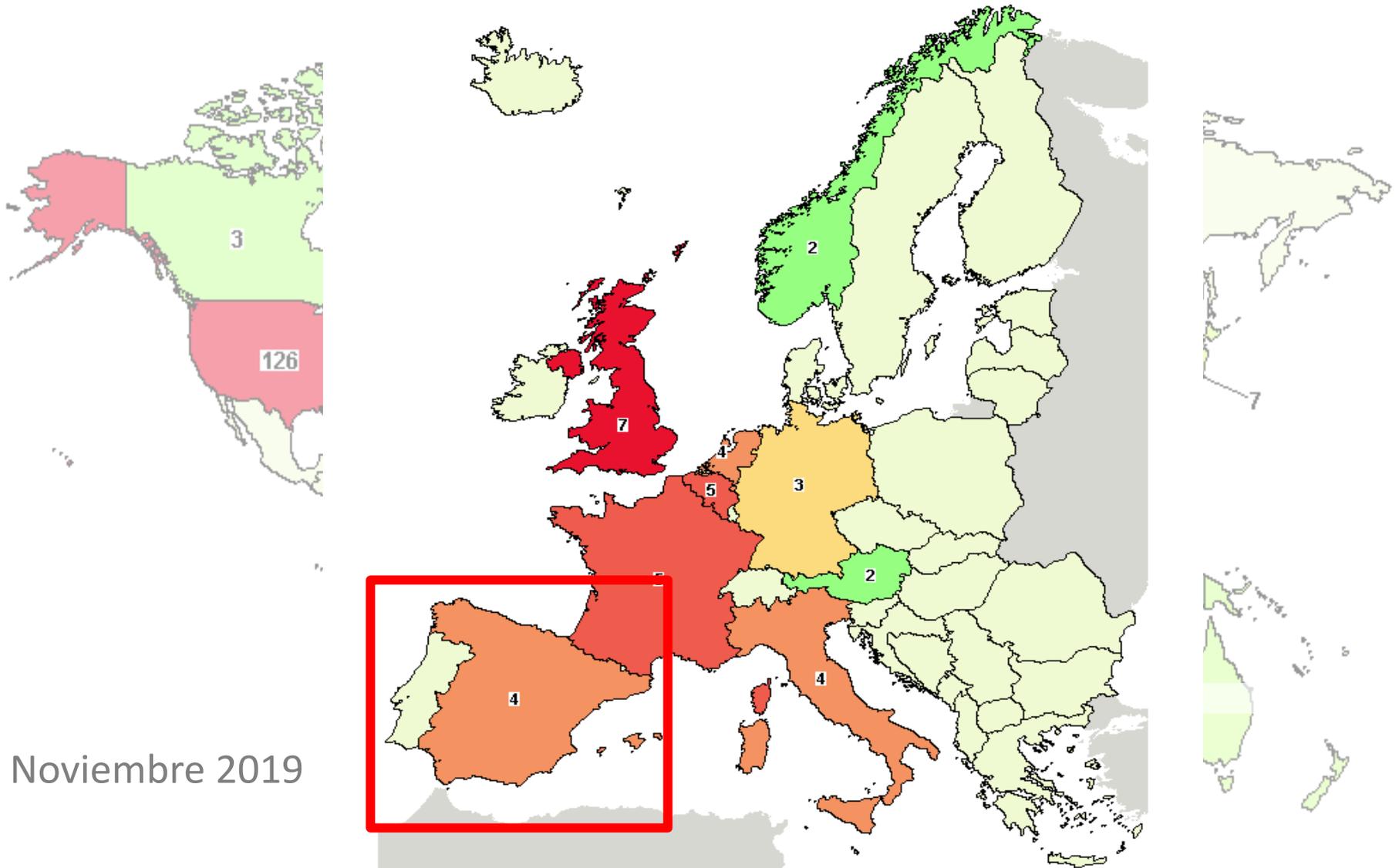
# CARs en Linfocitos T = CARTs







# Clinical Trials “Chimeric Antigen Receptor = 272



Noviembre 2019

**Confidential results:**

**No shareable**

**Confidential results:**

**No shareable**

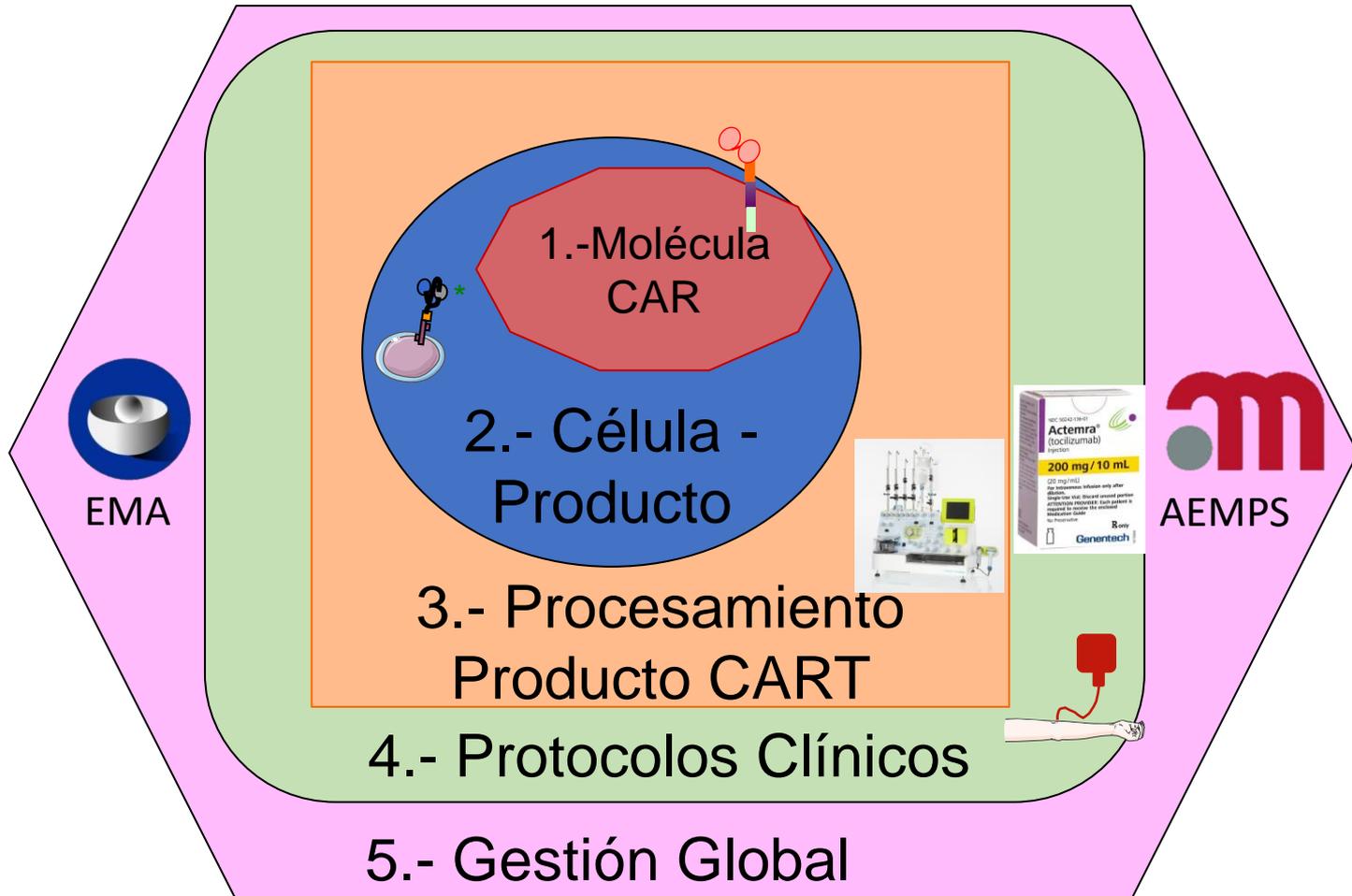
# CAR en tumores sólidos

Antigen	Disease	CAR preparation	Phase	Clinical trial No.	Clinical outcome
EGFRvIII	GBM	Neoadjuvant 2 <sup>nd</sup> gen+TMZ	I	NCT02664363	n=9 1 MRD > 18 m 7 SR
		3 <sup>o</sup> gen CD28-41BB	I/II	NCT01454596	n > 100
		2 <sup>nd</sup> generation	I	NCT01454596	n=10 9 SD all went SR
IL-13R $\alpha$ 2	GBM specific neoepitope	2 <sup>nd</sup> generation	I	NCT02208362	n=15 1 PR, 4SD
		Intraventricular 2 <sup>nd</sup> gen	I	NCT02208362	n:1 1 CR 7.5 m PFS
EGFR (HER-1)	Biliary tract >50%	2 <sup>nd</sup> generation	I/II	NCT01869166	n= 14 1 CR 22 m PFS 10 SD
	NSCLC > 50%	2 <sup>nd</sup> generation	I		n= 11 2 PD 5 SD
PDL-1	NSCLC with >10 %	2 <sup>nd</sup> generation	I	NCT03330834	
CEA	Liver metastases mCRC, breast cancer Lung, GI, breast Adenocarcinomas	Intralesional	I	NCT01373047	n=6 4 local OR 1 >23m SD
		2 <sup>nd</sup> generation	I	NCT00673322	n= 10 mCRC --> 7 SD
		2 <sup>nd</sup> generation	I	NCT02349724	
		2 <sup>nd</sup> generation	II	NCT01723306	
Mesothelin	MPM/ pancreatic Pancreas, ovarian	2 <sup>nd</sup> generation/ Intrapleural	I	NCT01355965	n=4 1 short PR, 1 SD
		2 <sup>nd</sup> generation	I	NCT02159716	
GD 2	Neuroblastoma Soft tissue sarcomas and neuroblastoma.	1 <sup>st</sup> generation EBV/GD2 39	I	NCT00085930	n=19 3CR >6 w, 21m, 60m 3 PR 1SD mOS: 329 d
		3 <sup>o</sup> gen CD28-OX40	I	NCT01822652	n=34 13 SD 5 PR
		4 <sup>th</sup> generation (4SCAR) 28	II	NCT02765243	
		4 <sup>th</sup> generation (4SCAR)	I	NCT02992210	
HER 2	Sarcoma: OS, ES, DS, NES, RMS, SS Metastasized breast GBM Lung, GI, ovarian Biliary tract, pancreas	1 <sup>st</sup> /2 <sup>nd</sup> generation	I/II	NCT01935843	n=9 4 SD: 1 local OR. 1 CR
			I	NCT00902044	(RMS), 2 SD. mOS: 10.3m
		Intracerebral 3 <sup>rd</sup> genHER2/CMV	I	NCT00924287	n=17 1 PR, 7 SD
		2 <sup>nd</sup> generation	I	NCT01109095	n=11 1 PR (CC), 5 SD
		2 <sup>nd</sup> generation	I/II	NCT02349724	
		2 <sup>nd</sup> generation	I	NCT01935843	
PSMA	mCRPC and vessels Bladder cancer	2 <sup>nd</sup> generation	I	NCT01140373	n=5 2 PR, 1 SD
		4 <sup>th</sup> generation (4SCAR)	I/II	NCT03185468	
MUC 1	Carcinomas, gliomas	2 <sup>nd</sup> generation, intralesional	I	NCT02617134	
MUC 16 (CA125)	Ovarian carcinoma Serosal cancers	Armored-TRUCK (4 <sup>th</sup> generation)	I	NCT02498912	
		2 <sup>nd</sup> generation	I	NCT02159716	
FR- $\alpha$					
NKG2D-L	Ovarian, colorectal, pancreas, bladder TN breast cancers AML, MM	NKR-2 T cells	I/II	NCT03018405	
VEGFR2	Metastatic melanoma mRCC	Not found	I	NCT01218867	

Rodriguez A et al  
*submitted*

Other targets for development of CAR-T: FAP, CD133, CAIX, GPC3, L1-CAM, EphA2, ROR1.

## Niveles “donde mejorar”



# Niveles “donde mejorar”

## 1. Molécula CAR:

- a. Componentes: scFv (afinidades), dominios coestimulatorios, “bisagra-transmembrana”, Promotores, **4-G**, ...
- b. Constructos moleculares y vectores.

## 2. Célula - producto:

- a. CAR –T: Subpoblaciones T (CD4 vs CD8, SCM/CM vs Efectoras, ...).
- b. CAR-NK y otras células (especialmente si no hablamos de citotoxicidad).

## 3. Procesamiento productivo CAR-T:

- a. Autólogo vs donante (CAR universal)
- b. Manipulación pre-aféresis/extracción y post-aféresis/extracción (pe fresco/congelado)
- c. Elutriación / Selección / Sorting ...
- d. Papel de citocinas, monoclonales, ... ..
- e. Nivel de expansión del procedimiento

## 4. Protocolos clínicos:

- a. Preinfusión: Acondicionamiento / Producto fresco vs criopreservado /Dosis única vs fraccionada
- b. Manejo pacientes efectos adversos no deseados / CART definitivo o puente TPH

## 5. GESTIÓN GLOBAL:

- a. Descentralizado (junto al paciente = académico) o centralizado (comercial).
- b. Cambio en la regulación para agilizar las mejores.

# Niveles “donde mejorar”

## 1. Molécula CAR:

- a. Componentes: scFv (afinidades), dominios coestimulatorios, “bisagra-transmembrana”, Promotores, **4-G**, ...
- b. Constructos moleculares y vectores.

## 2. Célula - producto:

- a. CAR –T: Subpoblaciones T (CD4 vs CD8, SCM/CM vs Efectoras, ...).
- b. CAR-NK y otras células (especialmente si no hablamos de citotoxicidad).

## 3. Procesamiento productivo CAR-T:

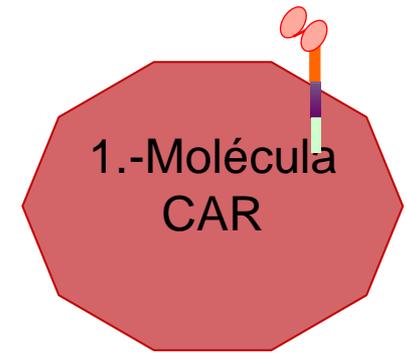
- a. Autólogo vs donante (CAR universal)
- b. Manipulación pre-aféresis/extracción y post-aféresis/extracción (pe fresco/congelado)
- c. Elutriación / Selección / Sorting ...
- d. Papel de citocinas, monoclonales, ... ..
- e. Nivel de expansión del procedimiento

## 4. Protocolos clínicos:

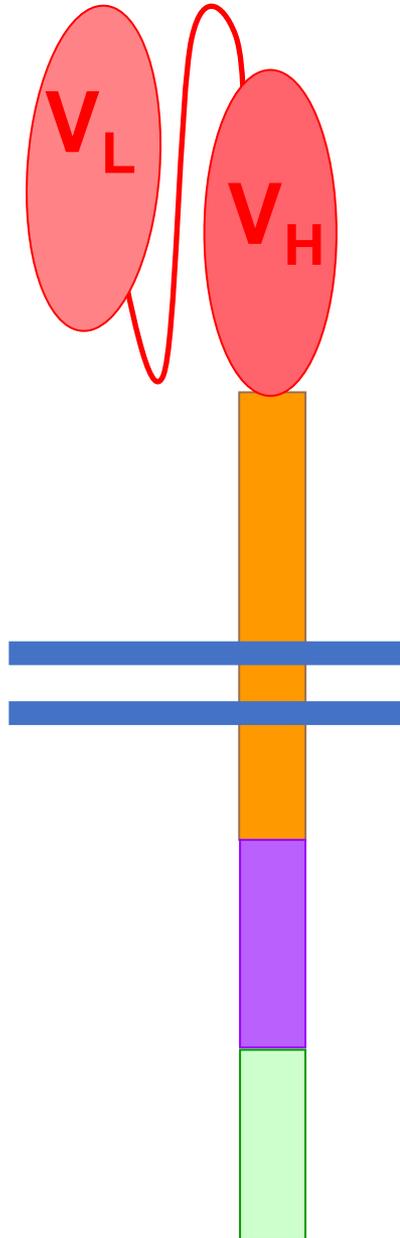
- a. Preinfusión: Acondicionamiento / Producto fresco vs criopreservado /Dosis única vs fraccionada
- b. Manejo pacientes efectos adversos no deseados / CART definitivo o puente TPH

## 5. GESTIÓN GLOBAL:

- a. Descentralizado (junto al paciente = académico) o centralizado (comercial).
- b. Cambio en la regulación para agilizar las mejores.



# 1a.- Estructura General de un CAR: Componentes



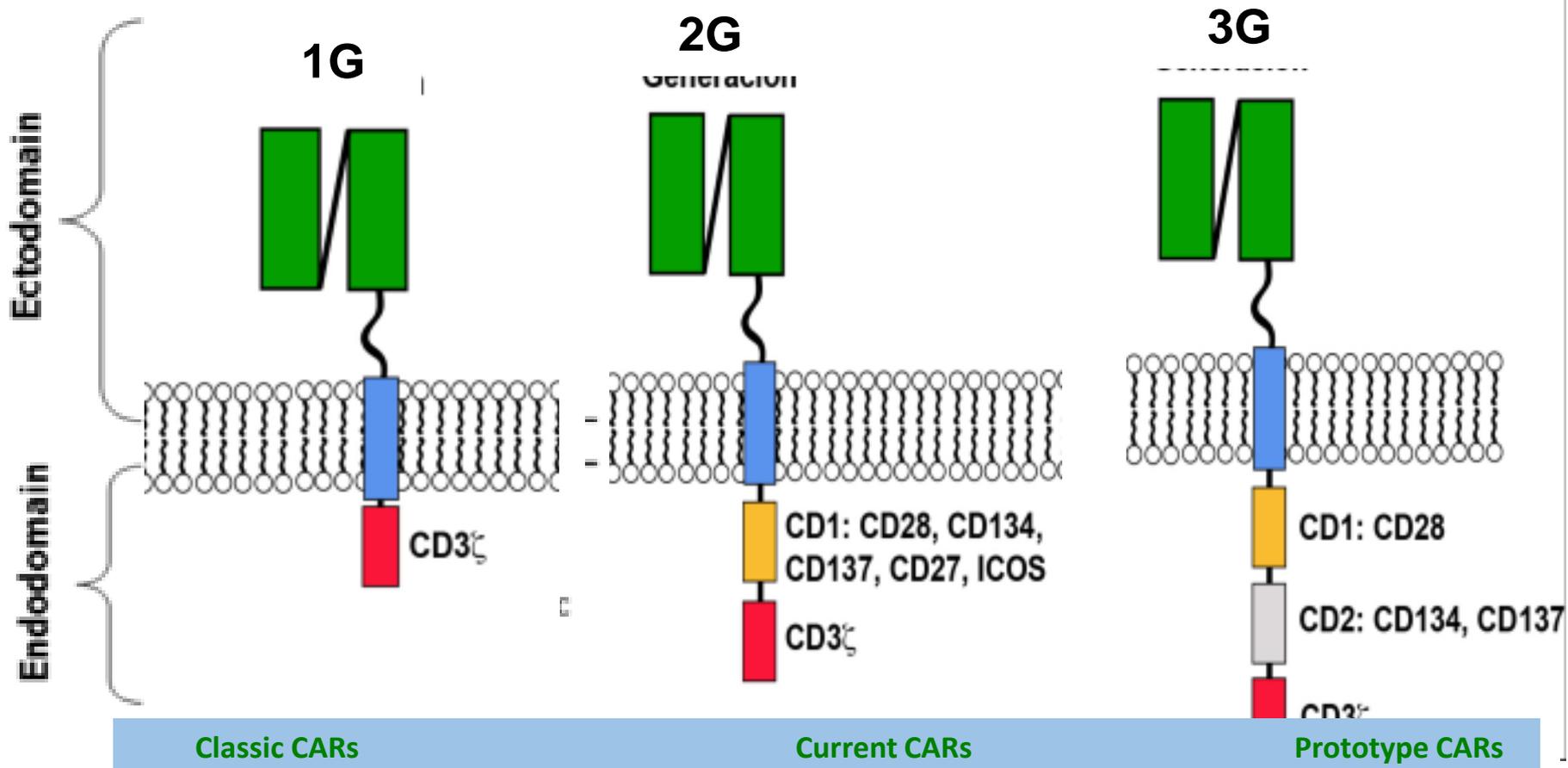
**(A) scFv** = Tumor Antigen Recognition

**(D) Hinge + transmembrana**  
(CD8, CD28, IgG, ...)

**(C) Dominio costimulatorio**  
CD137 / 4-1BB vs CD28 vs ICOS ... = 2<sup>a</sup> señal / 3<sup>a</sup> señal

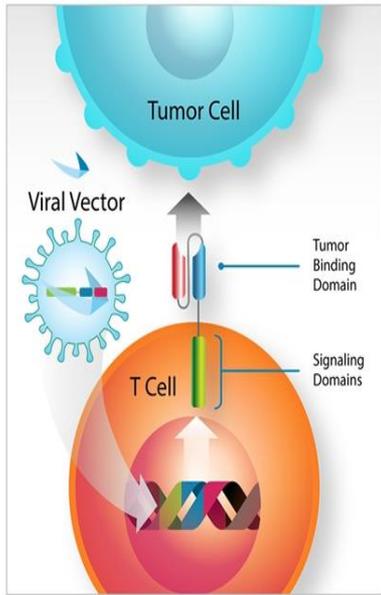
**(B) Dominio activación**  
CD3 $\zeta$  = 1<sup>a</sup> señal

# CAR evolution



# Otros CARTs ... .. en Hemopatías

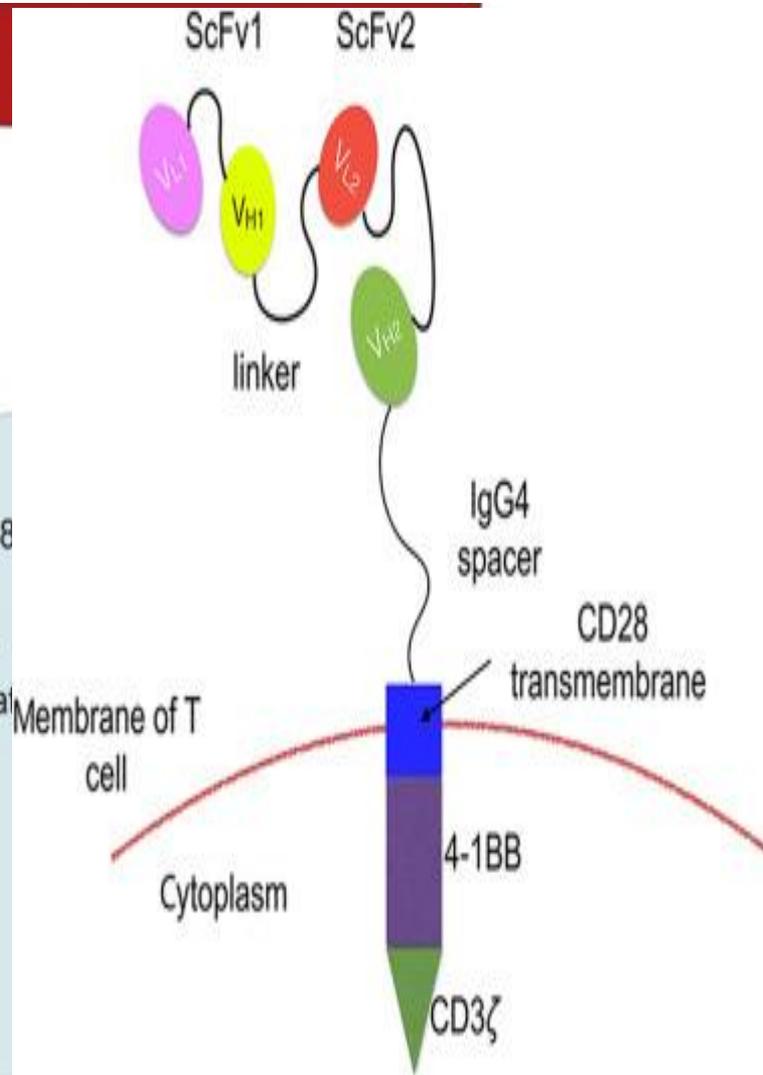
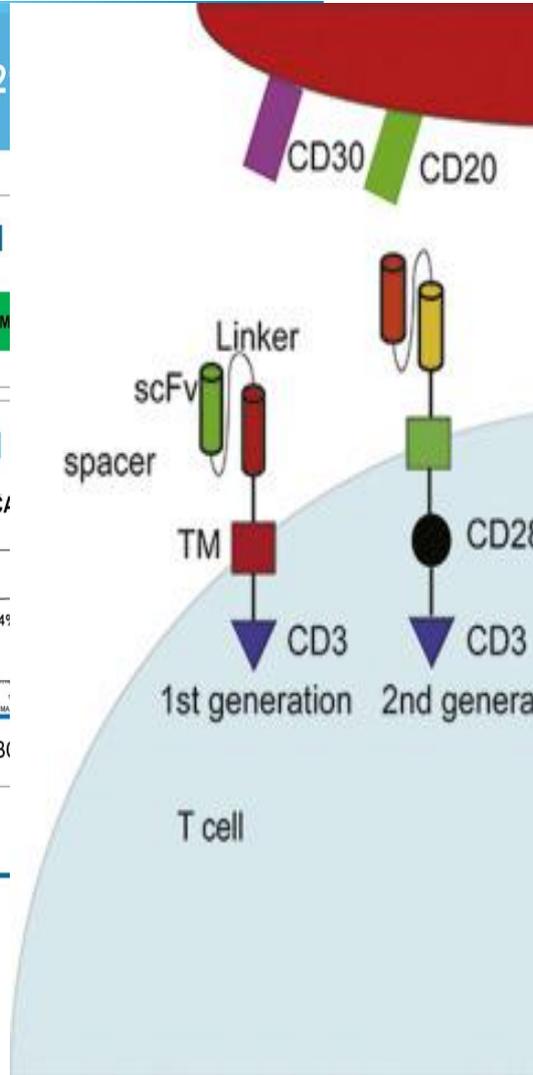
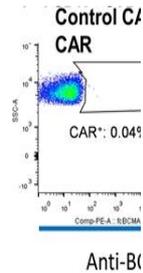
## Anti-BCMA CAR – bb2121

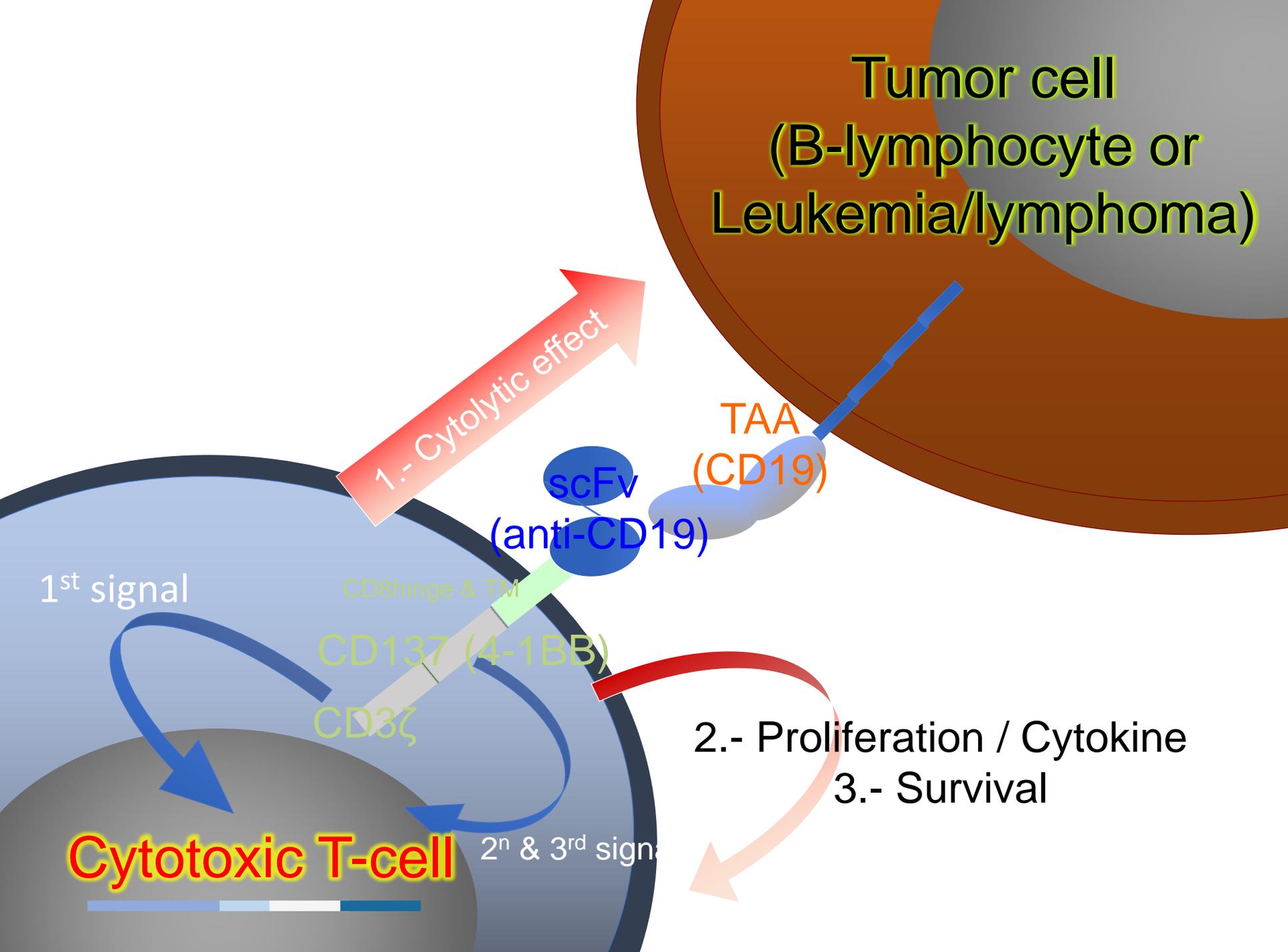


bb2121

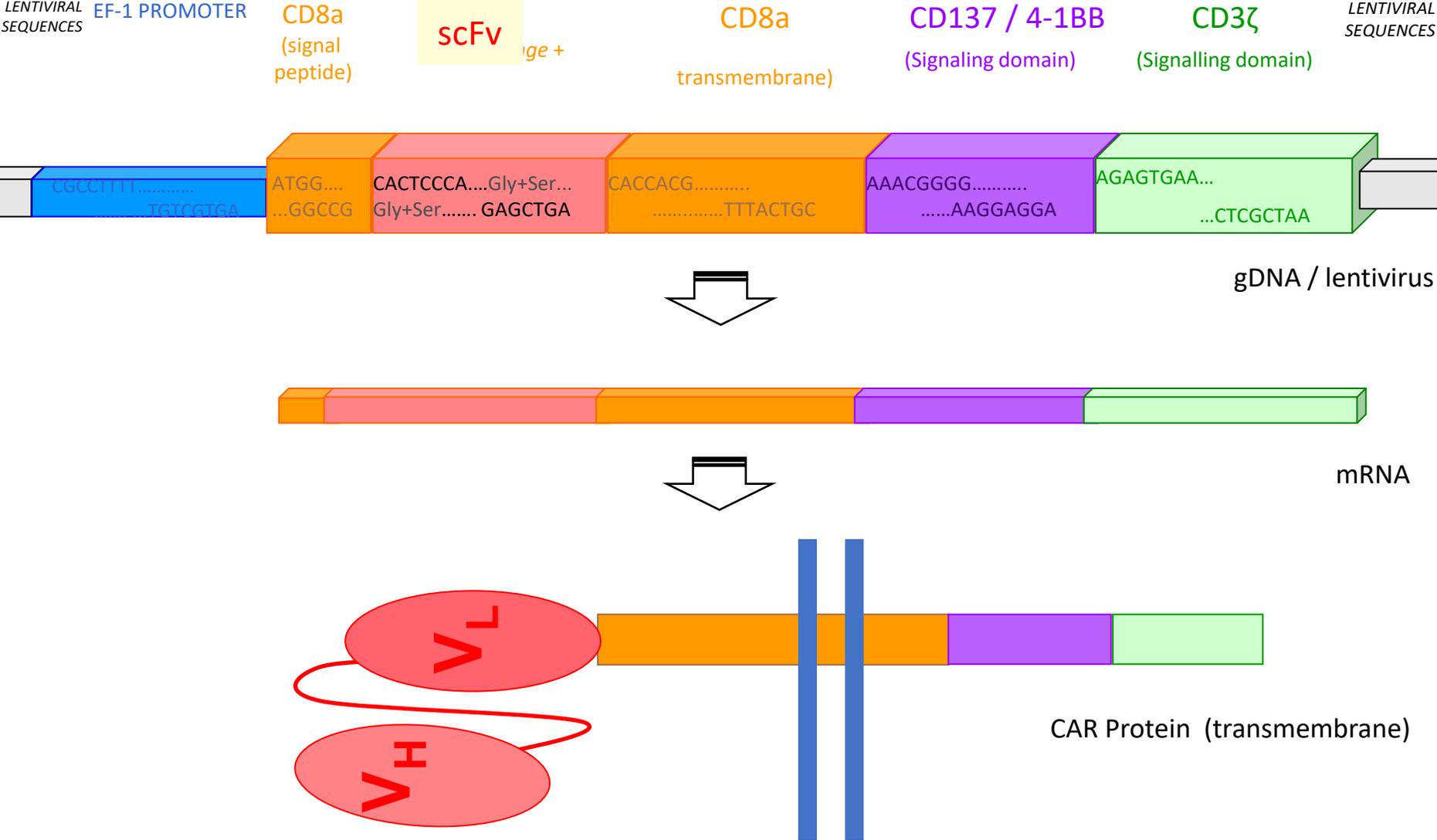


bb2121

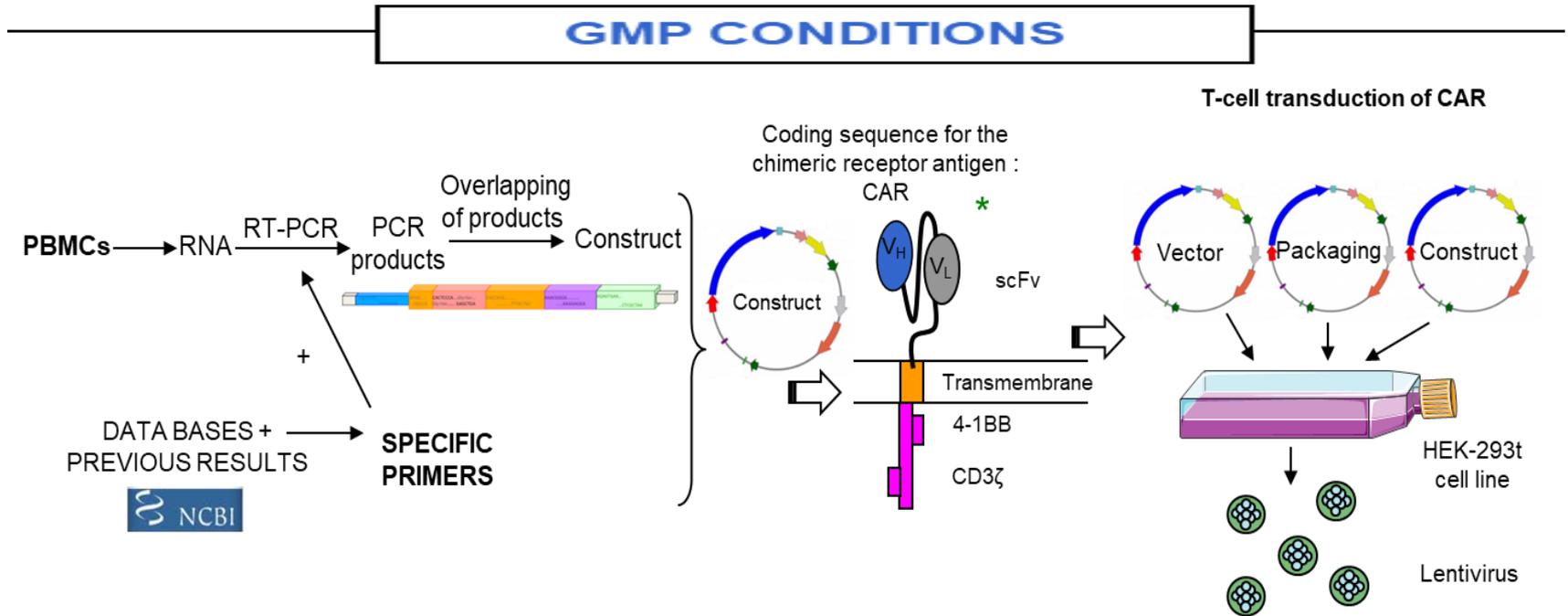




# CODING SEQUENCE OF CAR ANTI-CD19

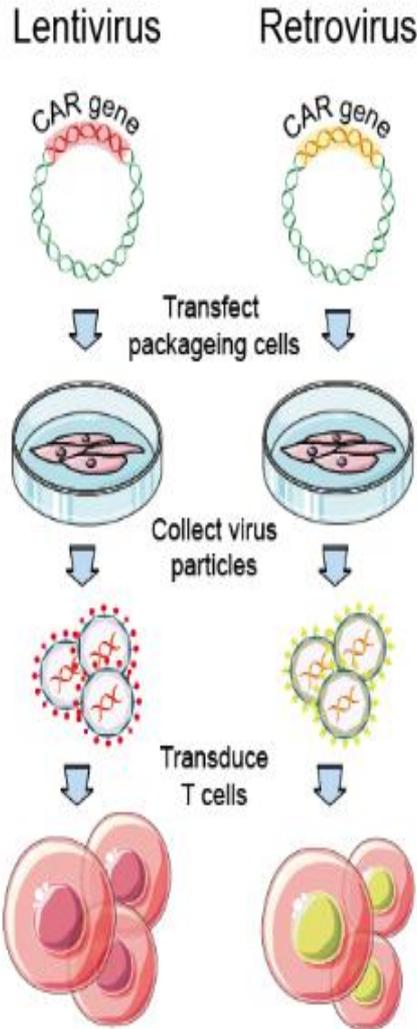
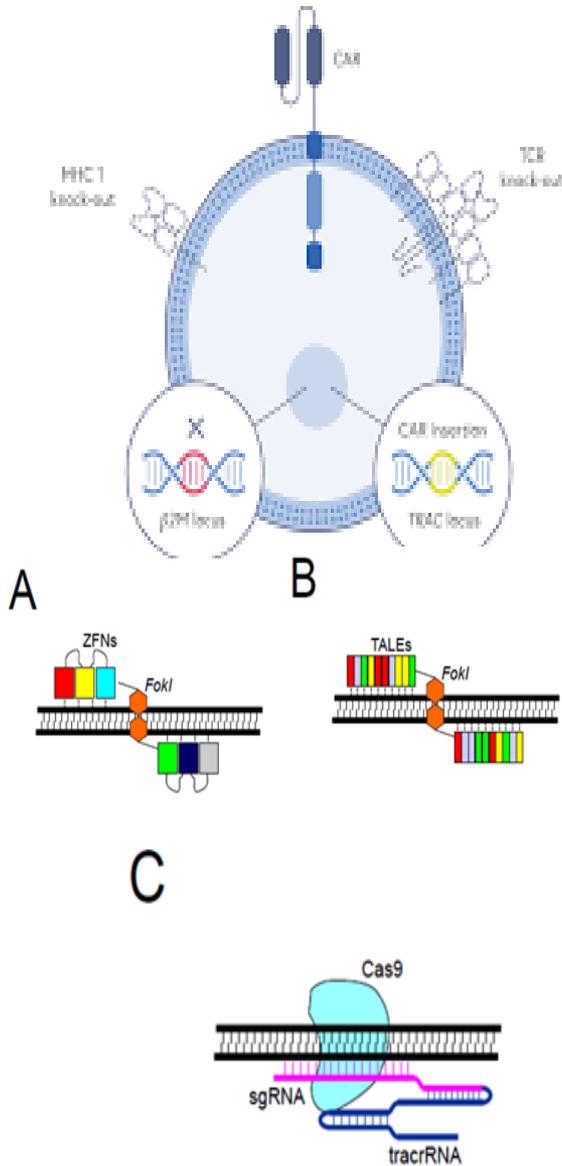


# 1b.- Vectores



# 1b.- Vectores

## Edición génica



CubiCAR - Trifunctional Chimeric Antigen Receptor

AgilePulse Max Large Volume Transfection System (BTX/Harvard Apparatus)



## Electroporación mRNA



# Niveles “donde mejorar”

## 1. Molécula CAR:

- a. Componentes: scFv (afinidades), dominios coestimuladores, “bisagra-transmembrana”, Promotores, 4-G, ...
- b. Constructos moleculares y vectores.

## 2. Célula - producto:

- a. CAR –T: Subpoblaciones T (CD4 vs CD8, SCM/CM vs Efectoras, ...).
- b. CAR-NK y otras células (especialmente si no hablamos de citotoxicidad).

## 3. Procesamiento productivo CAR-T:

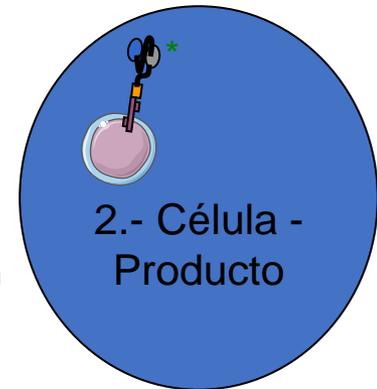
- a. Autólogo vs donante (CAR universal)
- b. Manipulación pre-aféresis/extracción y post-aféresis/extracción (pe fresco/congelado)
- c. Elutriación / Selección / Sorting ...
- d. Papel de citocinas, monoclonales, ... ..
- e. Nivel de expansión del procedimiento

## 4. Protocolos clínicos:

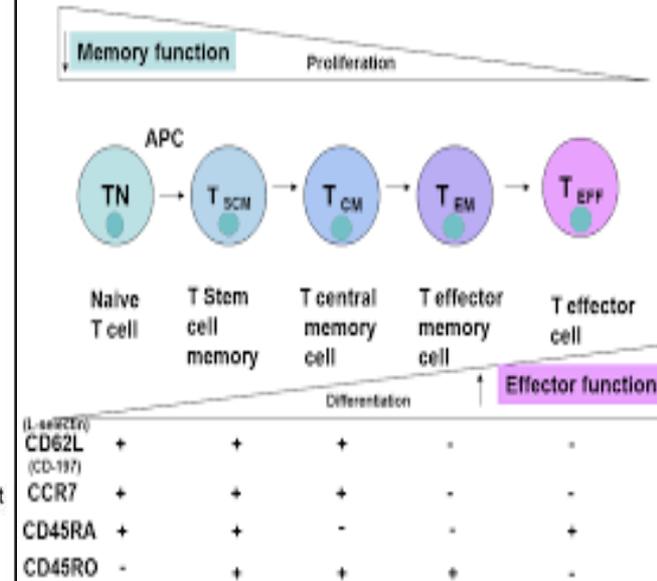
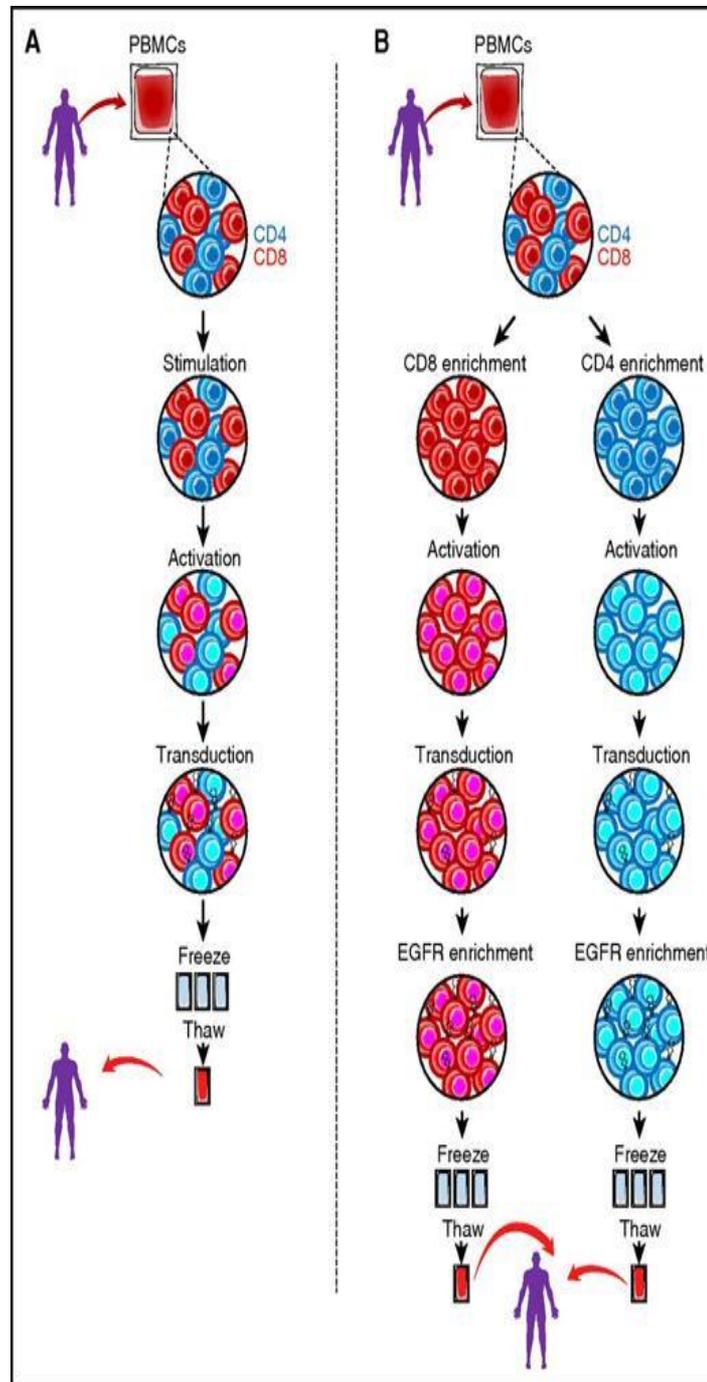
- a. Preinfusión: Acondicionamiento / Producto fresco vs criopreservado /Dosis única vs fraccionada
- b. Manejo pacientes efectos adversos no deseados / CART definitivo o puente TPH

## 5. GESTIÓN GLOBAL:

- a. Descentralizado (junto al paciente = académico) o centralizado (comercial).
- b. Cambio en la regulación para agilizar las mejores.



## 2.- Célula - producto:



# Niveles “donde mejorar”

## 1. Molécula CAR:

- Componentes: scFv (afinidades), dominios coestimulatorios, “bisagra-transmembrana”, Promotores, 4-G, ...
- Constructos moleculares y vectores.

## 2. Célula - producto:

- CAR –T: Subpoblaciones T (CD4 vs CD8, SCM/CM vs Efectoras, ...).
- CAR-NK y otras células (especialmente si no hablamos de citotoxicidad).

## 3. Procesamiento productivo CAR-T:

- Autólogo vs donante (CAR universal)
- Manipulación pre-aféresis/extracción y post-aféresis/extracción (pe fresco/congelado)
- Elutriación / Selección / Sorting ...
- Papel de citocinas, monoclonales, ... ..
- Nivel de expansión del procedimiento

## 4. Protocolos clínicos:

- Preinfusión: Acondicionamiento / Producto fresco vs criopreservado /Dosis única vs fraccionada
- Manejo pacientes efectos adversos no deseados / CART definitivo o puente TPH

## 5. GESTIÓN GLOBAL:

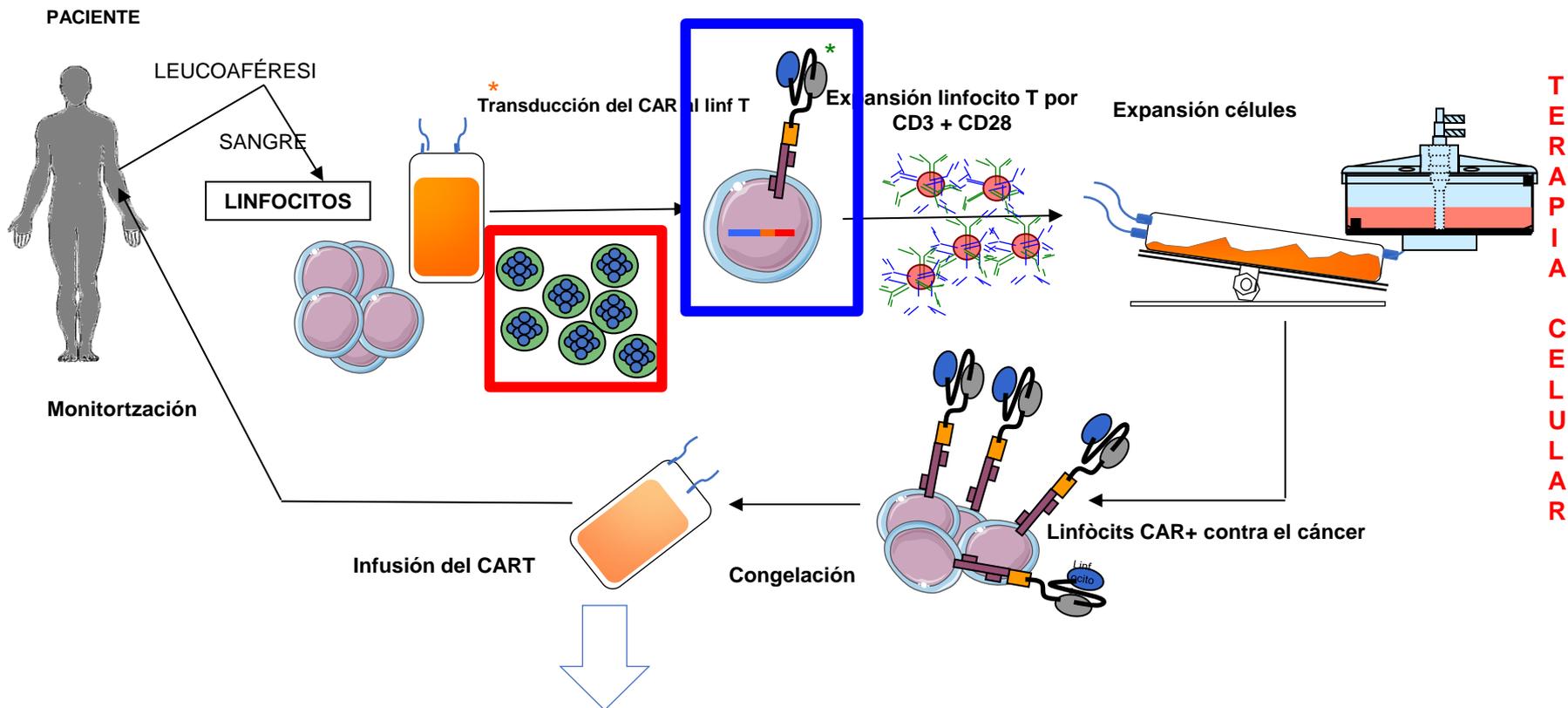
- Descentralizado (junto al paciente = académico) o centralizado (comercial).
- Cambio en la regulación para agilizar las mejores.



3.- Procesamiento  
Producto CART

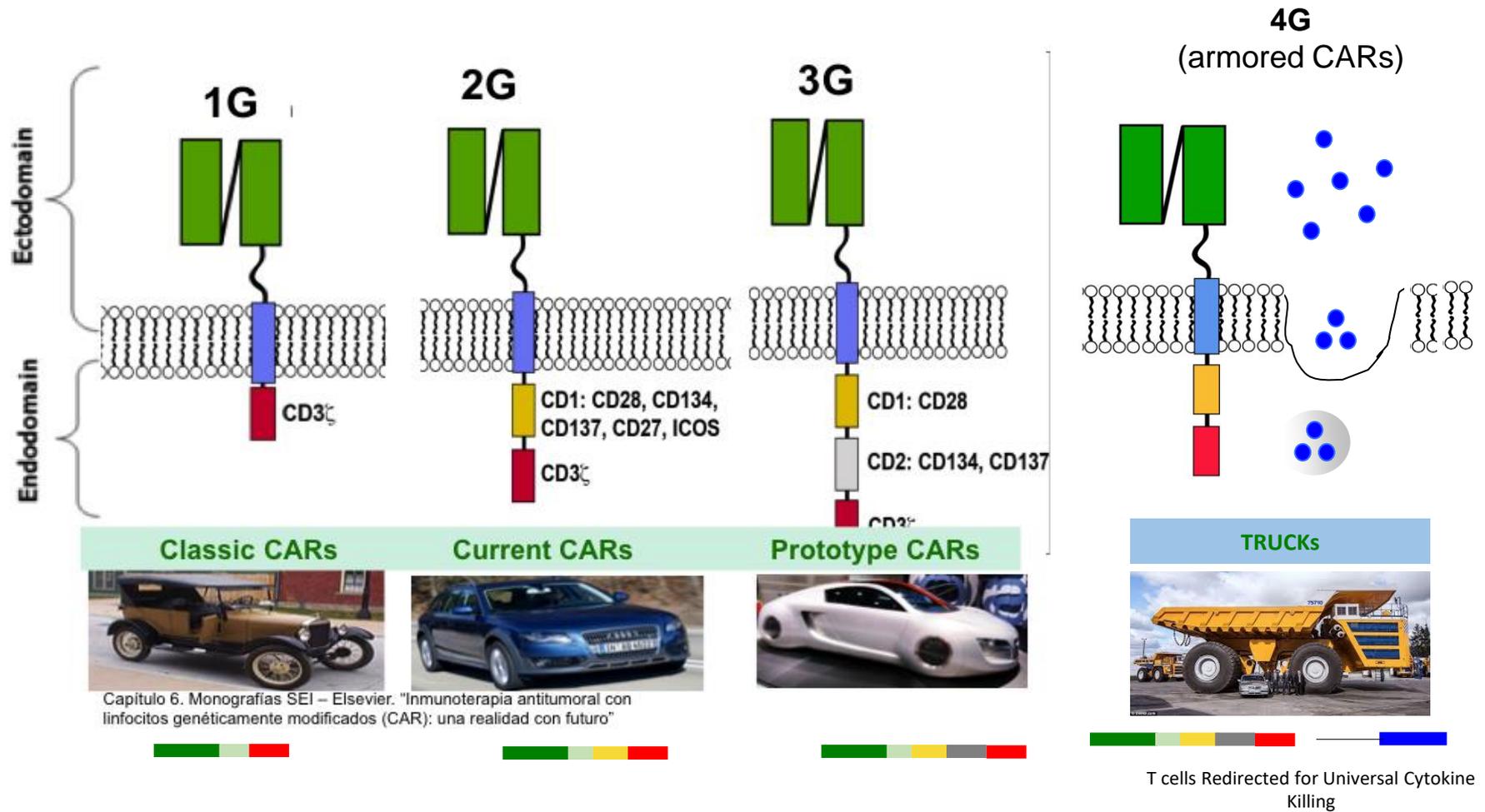
# “PRODUCCIÓN” DE CARTs

BAJO CONDICIONES GMP



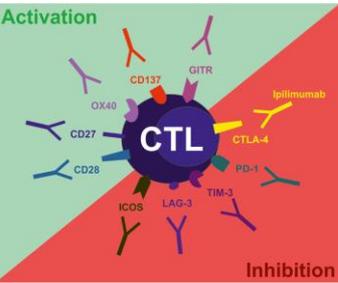
Terapia Celular => Producto de Terapia Avanzada = “Fármaco”

# CAR evolution

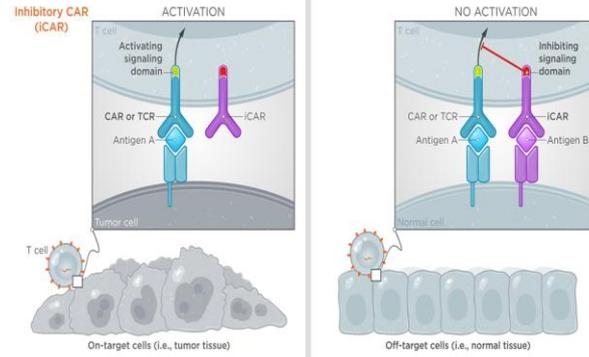
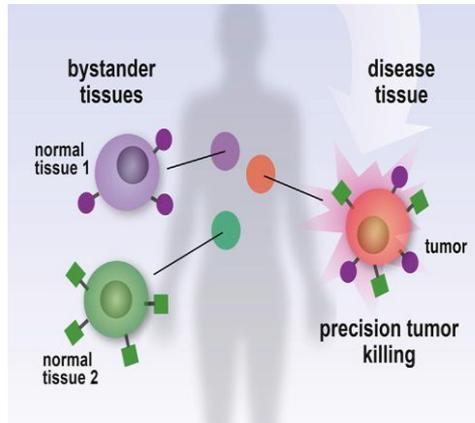


# CARs: 4<sup>th</sup> GENERATION (II)

## COMBINED THERAPY (MoAb)

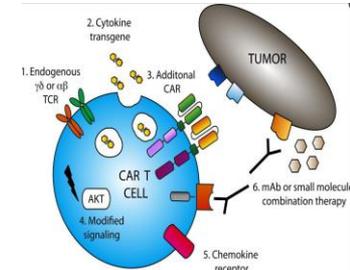


## DUAL CARs



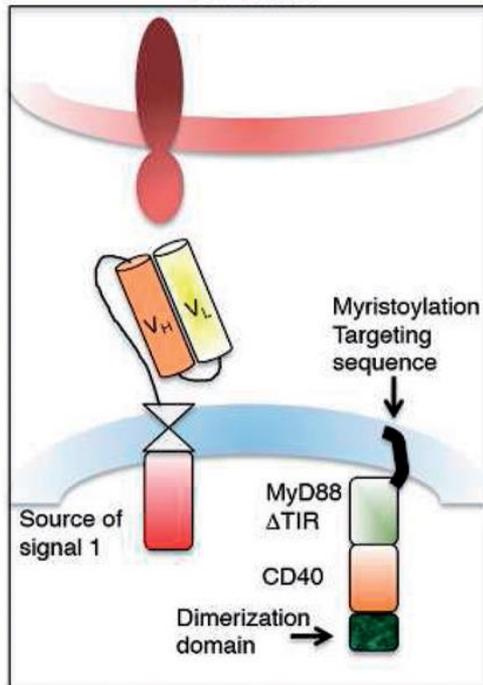
## iCARs

## ARMORED CARs

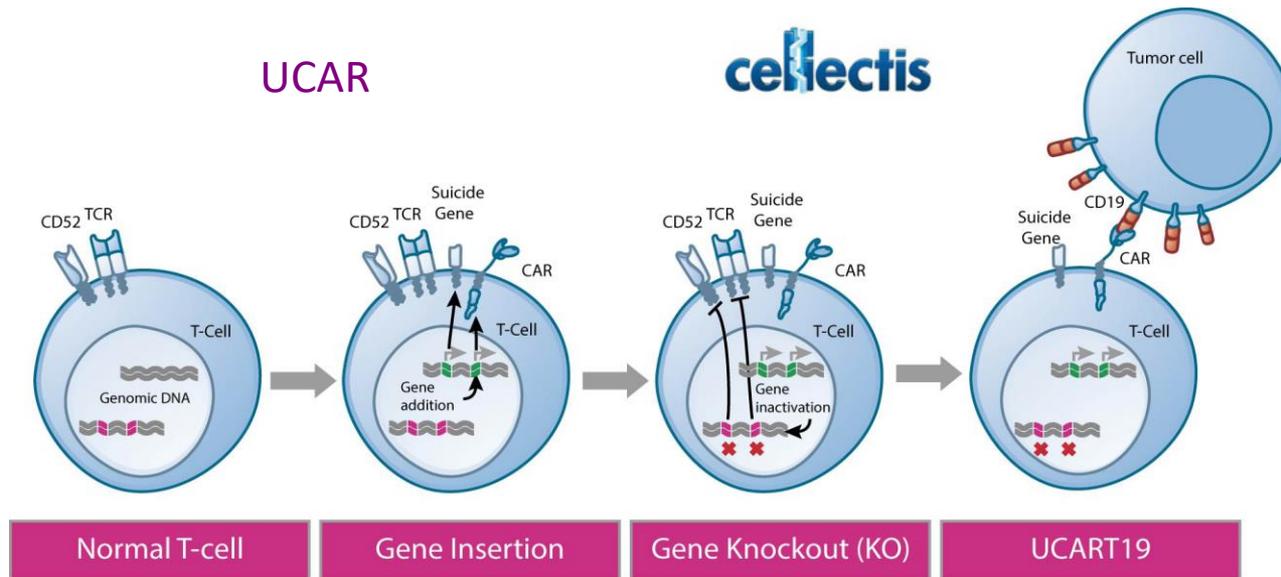


(D)

## Go-CAR T



## UCAR



Normal unmodified T-cell from a healthy donor.

We first insert a CAR and a suicide gene.

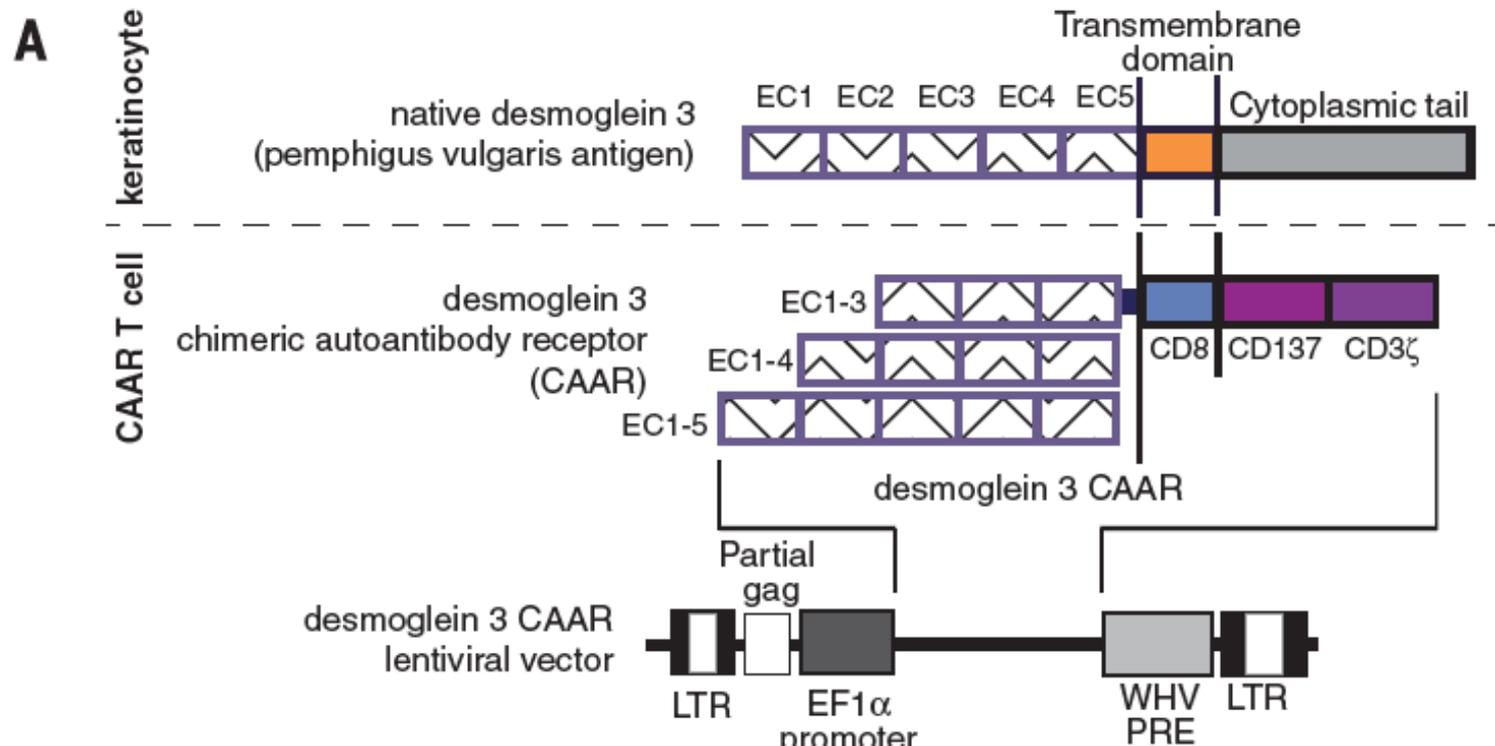
We then inactivate the TCR and CD52 genes.

UCART19 is the fully modified CART-cell

# Reengineering chimeric antigen receptor T cells for targeted therapy of autoimmune disease

8 JULY 2016 • VOL 353 ISSUE 6295

Christoph T. Ellebrecht,<sup>1</sup> Vijay G. Bhoj,<sup>2</sup> Arben Nace,<sup>1</sup> Eun Jung Choi,<sup>1</sup> Xuming Mao,<sup>1</sup> Michael Jeffrey Cho,<sup>1</sup> Giovanni Di Zenzo,<sup>3</sup> Antonio Lanzavecchia,<sup>4</sup> John T. Seykora,<sup>1</sup> George Cotsarelis,<sup>1</sup> Michael C. Milone,<sup>2\*†</sup> Aimee S. Payne<sup>1\*†</sup>





Wallpapersnet.com



# Niveles “donde mejorar”

## 1. Molécula CAR:

- Componentes: scFv (afinidades), dominios coestimulatorios, “bisagra-transmembrana”, Promotores, 4-G, ...
- Constructos moleculares y vectores.

## 2. Célula - producto:

- CAR –T: Subpoblaciones T (CD4 vs CD8, SCM/CM vs Efectoras, ...).
- CAR-NK y otras células (especialmente si no hablamos de citotoxicidad).

## 3. Procesamiento productivo CAR-T:

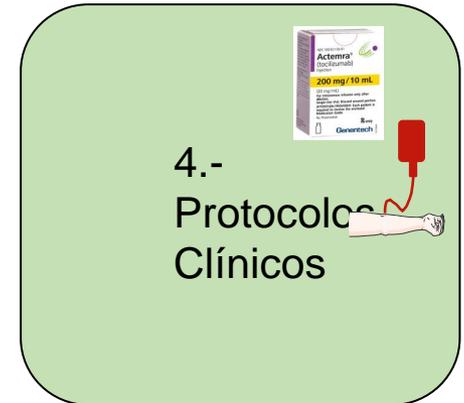
- Autólogo vs donante (CAR universal)
- Manipulación pre-aféresis/extracción y post-aféresis/extracción (pe fresco/congelado)
- Elutriación / Selección / Sorting ...
- Papel de citocinas, monoclonales, ... ..
- Nivel de expansión del procedimiento

## 4. Protocolos clínicos:

- Preinfusión: Acondicionamiento / Producto fresco vs criopreservado /Dosis única vs fraccionada
- Manejo pacientes efectos adversos no deseados / CART definitivo o puente TPH

## 5. GESTIÓN GLOBAL:

- Descentralizado (junto al paciente = académico) o centralizado (comercial).
- Cambio en la regulación para agilizar las mejores.



# Niveles “donde mejorar”

## 1. Molécula CAR:

- Componentes: scFv (afinidades), dominios coestimulatorios, “bisagra-transmembrana”, Promotores, 4-G, ...
- Constructos moleculares y vectores.

## 2. Célula - producto:

- CAR –T: Subpoblaciones T (CD4 vs CD8, SCM/CM vs Efectoras, ...).
- CAR-NK y otras células (especialmente si no hablamos de citotoxicidad).

## 3. Procesamiento productivo CAR-T:

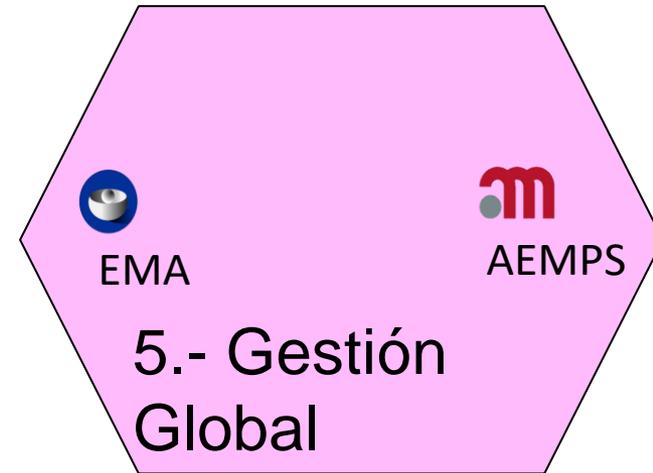
- Autólogo vs donante (CAR universal)
- Manipulación pre-aféresis/extracción y post-aféresis/extracción (pe fresco/congelado)
- Elutriación / Selección / Sorting ...
- Papel de citocinas, monoclonales, ... ..
- Nivel de expansión del procedimiento

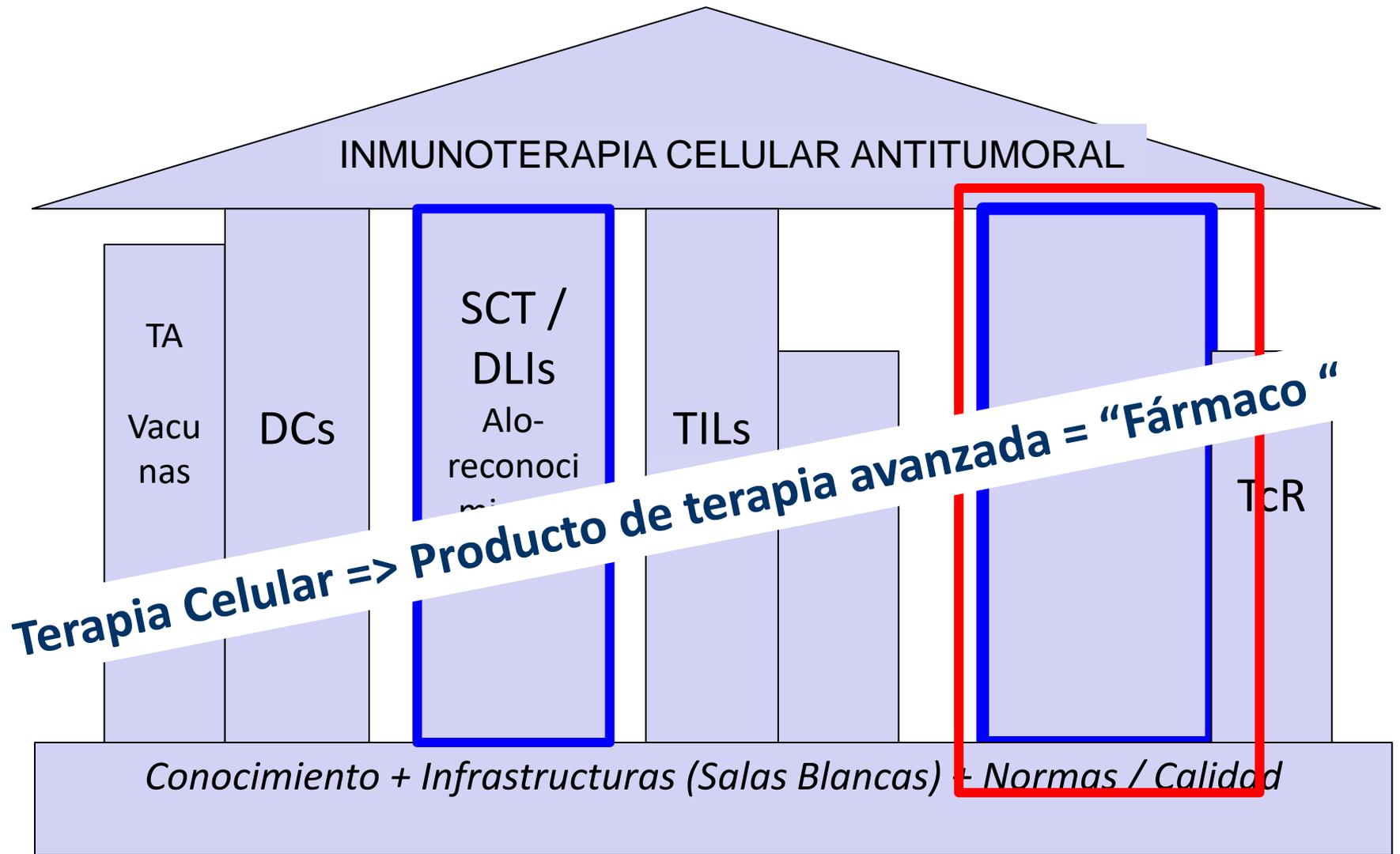
## 4. Protocolos clínicos:

- Preinfusión: Acondicionamiento / Producto fresco vs criopreservado /Dosis única vs fraccionada
- Manejo pacientes efectos adversos no deseados / CART definitivo o puente TPH

## 5. GESTIÓN GLOBAL:

- Descentralizado (junto al paciente = académico) o centralizado (comercial).
- Cambio en la regulación para agilizar las mejores.





# Aprobación FDA / EMA del tratamiento CART19 (Linf T con anti-CD19 CAR): Agosto-Octubre 2017 / Julio 2018



USA: Novartis ALL & DLBL <25 a: 475.000 \$ /  
respuesta de pacientes)

NICE = £282,000/paciente (Set 5, 2018) 317 m€

España: 280 m€ (140 + 140)

Posiblemente pronto en adultos LLA.

NOW APPROVED

 **YESCARTA™**  
(axicabtagene ciloleucel) Suspension  
for IV infusion

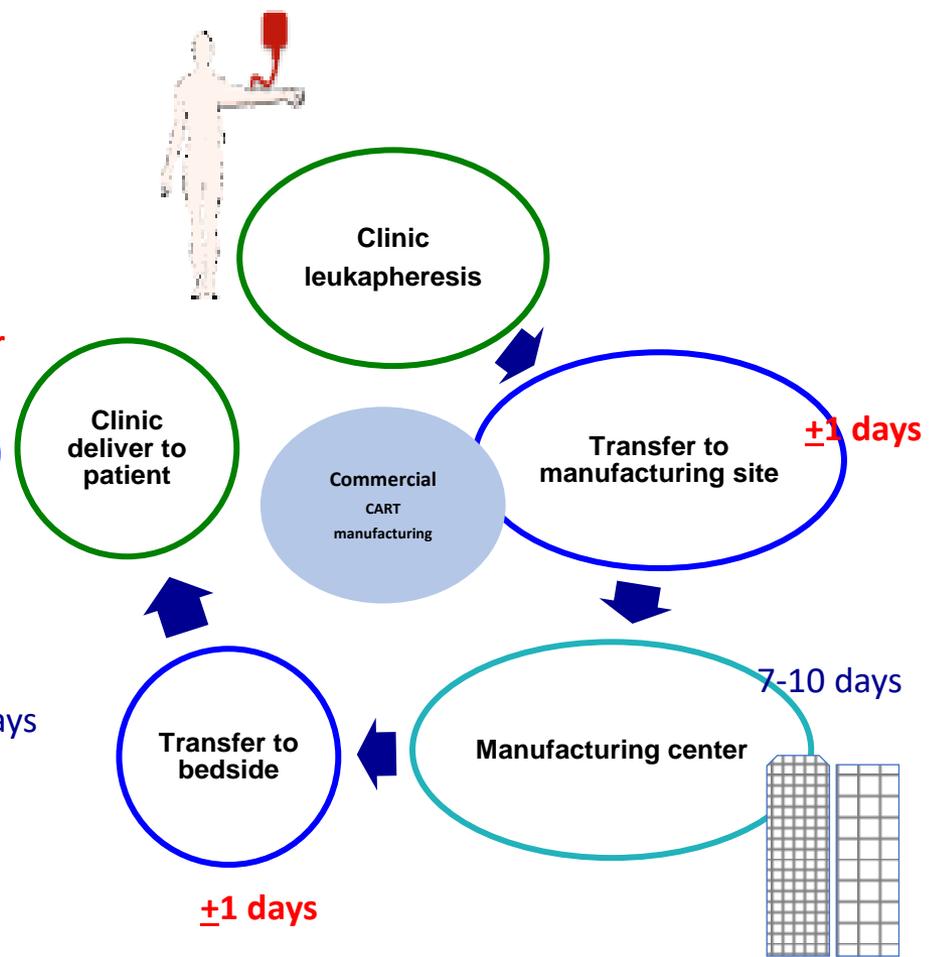
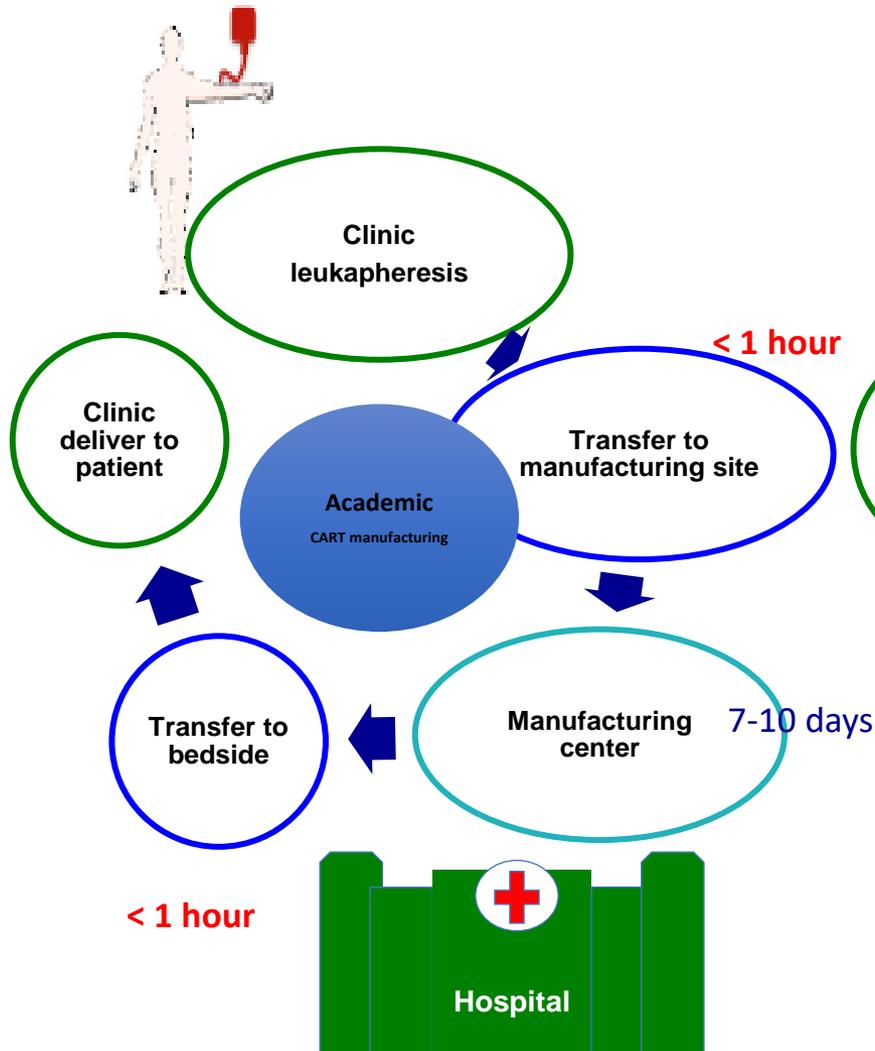


Kite NHL DLBCL: USA 373.000 \$ / paciente

España: 280 m€ (140 + 140)

# Inside manufacturing production

# Outside manufacturing side





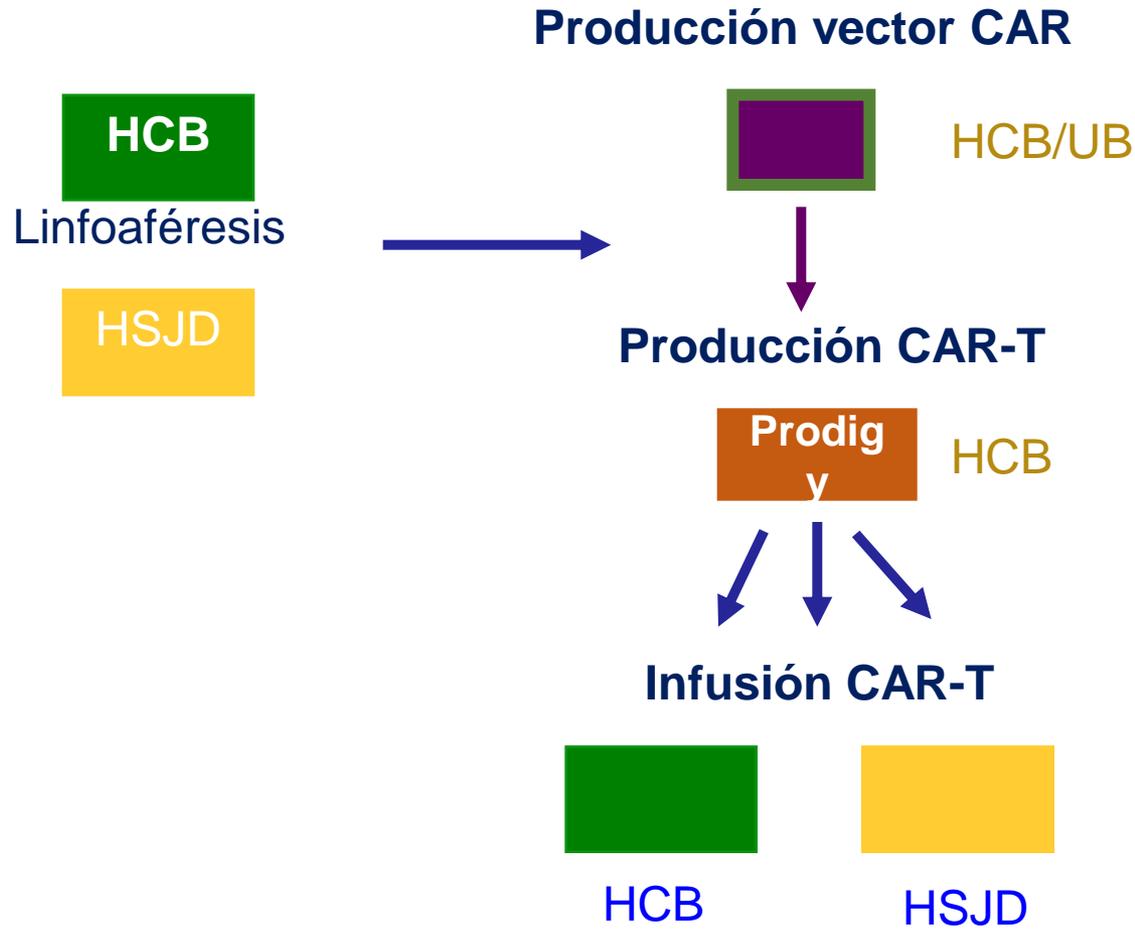
MINISTERIO  
DE SANIDAD, CONSUMO Y  
BIENESTAR SOCIAL

**PLAN DE ABORDAJE DE LAS TERAPIAS AVANZADAS EN EL  
SISTEMA NACIONAL DE SALUD: MEDICAMENTOS CAR**

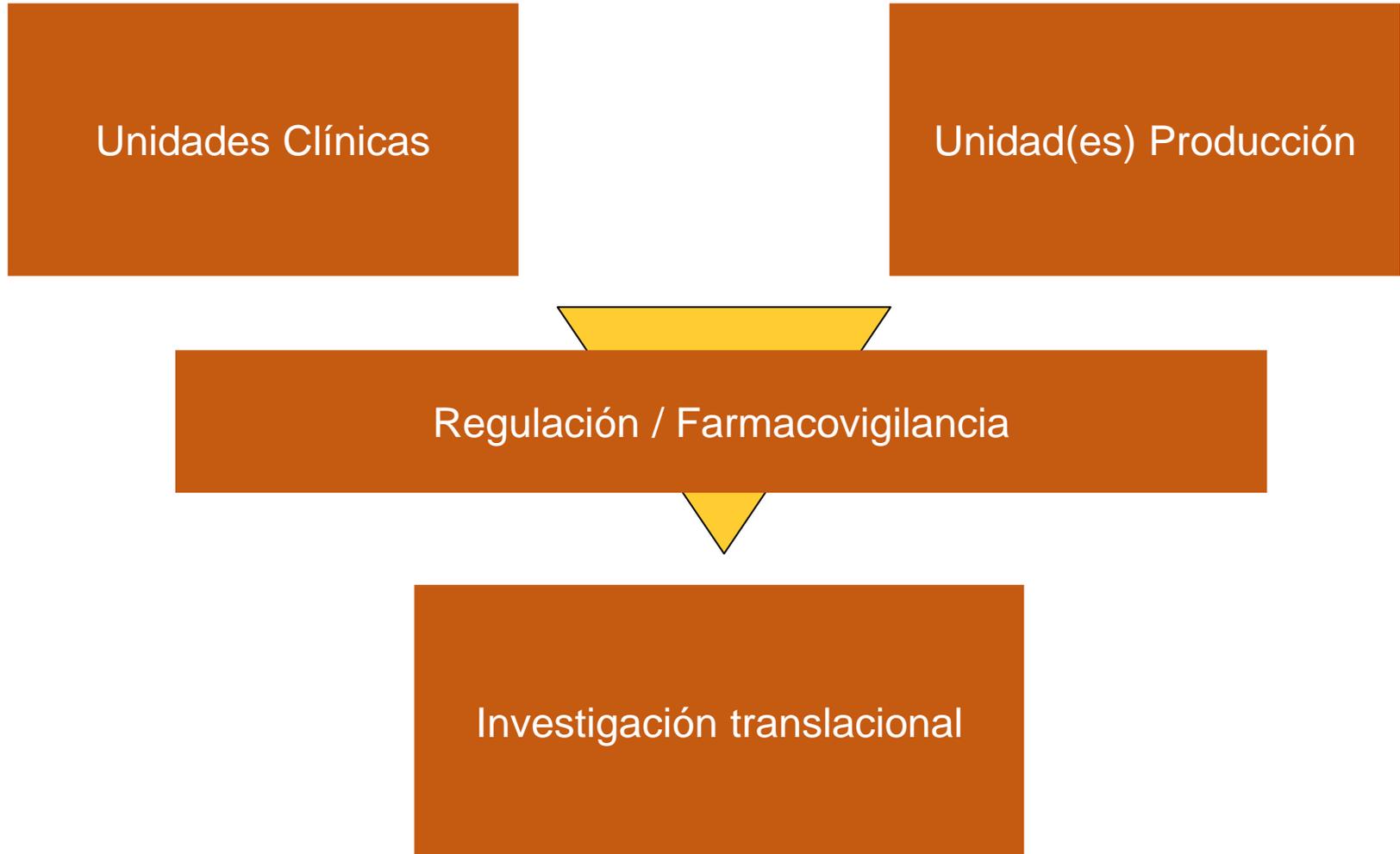
# CARTs industriales vs Académicos CART

D	<ul style="list-style-type: none"><li>• Distancia entre el hospital y el centro productot</li><li>• <b>Alto precio</b> / paciente.</li><li>• Después aprobación condicional el producto se mantiene sin cambios: mejoras lentas.</li></ul>	F
A	<ul style="list-style-type: none"><li>• Aprobación centralizada (FDA, EMA, ...): garantía de homogeneidad del producto.</li><li>• Especificidad y documentación amplia en la indicación.</li><li>• Más fácil de que sea aceptado por el paciente y la familia (“es comercial”).</li><li>• Estructura “Jerárquica” de los equipos</li></ul>	O
	<ul style="list-style-type: none"><li>• Propuestas académicas de CART.</li><li>• Nuevos productos por evolución del conocimiento.</li><li>• <b>Pocas indicaciones disponibles.</b></li><li>• <b>Accreditación:</b> La “Farma” decide de alguna manera???!!!</li></ul>	
	<ul style="list-style-type: none"><li>• Limitaciones presentes de otras terapias antitumorales.</li><li>• Llegar a definir productos alogénicos (<b>universal CARTs</b>).</li><li>• Estabilizar la opción de la Inmunoterapia celular (en general).</li></ul>	

# Fase I LLA/LLC/LNH ARI-0001 (anti-CD19)



# Unidad Inmunoterapia Celular



# Fase II LLA ARI001 (CD19)

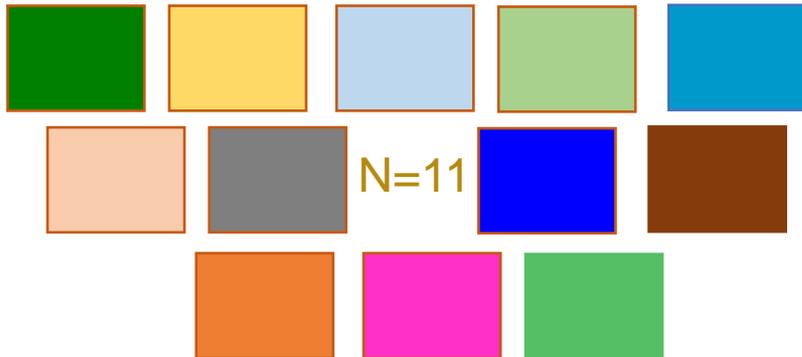
Producción vector CAR



Producción CAR-T



Administración del CAR-T



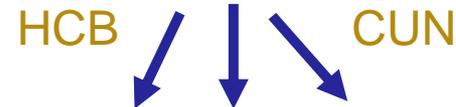
# Fase I-II MM ARI0002 (BCMA)

EudraCT 2019-001472-11

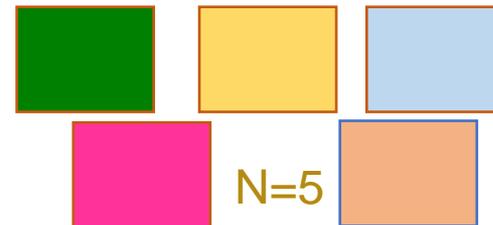
Producción vector CAR



Producción CAR-T



Administración del CAR-T



*Hospitales*

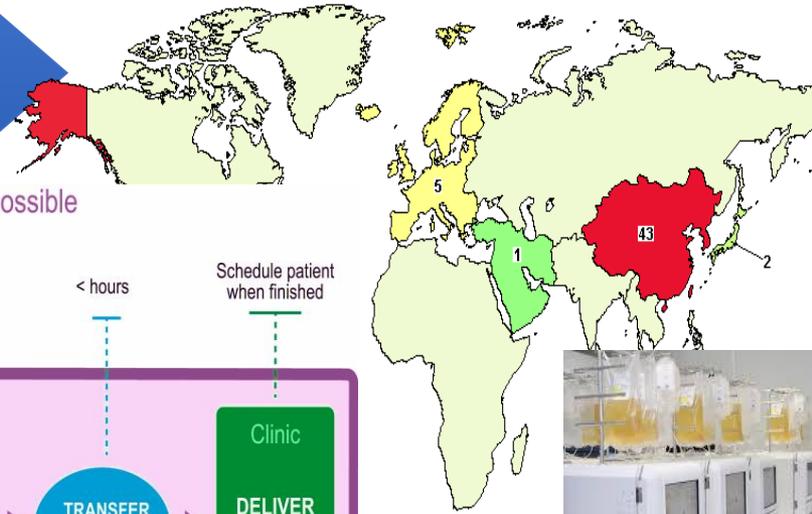
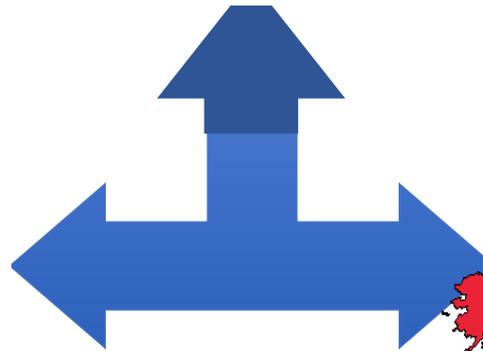
Los productos “académicos”  
de Inmunoterapia (CART al  
davant) són possibles!!!

*... y posiblemente la única manera  
“sostenible” de seguir avanzando en la  
lucha contra el cáncer.*

# Éxito de CARs: Pacientes n > 1000

## Desarrollo comercial

## Desarrollo académico



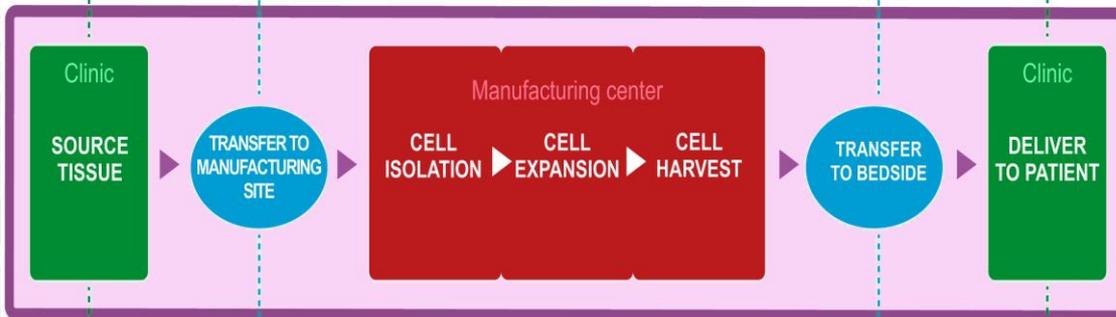
Same academic center – close interaction possible

Schedule according to manufacturing site capabilities → no storage

< hours

< hours

Schedule patient when finished



Order/prescription (100s of sites)

< 1 day

< 1 day

Schedule patient when finished (100s of sites)

Commercial manufacturing - clinic and manufacturing center are physically disconnected





MINISTERIO  
DE SANIDAD, CONSUMO Y  
BIENESTAR SOCIAL

**PLAN DE ABORDAJE DE LAS TERAPIAS AVANZADAS EN EL  
SISTEMA NACIONAL DE SALUD: MEDICAMENTOS CAR**

# ¿Quién está involucrado en ARI-0001 / CART19-BCN? (>175 profesionales)



**CLÍNIC**  
**BARCELONA**  
Hospital Universitari



*Sant Joan de Déu*



**ARI** ASSISTÈNCIA  
RECERCA  
INTENSIVA

· Per la LEUCÈMIA I TRASPLANTAMENTS ·  
HOSPITAL CLÍNIC



**"la Caixa"**



Servei Català  
de la Salut



**Generalitat  
de Catalunya**



**Fundació Glòria Soler**



**Instituto de Salud Carlos III**

A vibrant still life composition featuring a variety of fruits. In the foreground, several bright red kiwis are scattered, some showing their characteristic fuzzy texture. To the right, a large, textured orange is prominent. The background is filled with more oranges and lemons, creating a rich, warm color palette. The lighting is soft, highlighting the natural textures and colors of the produce.

Gracias