

# CÉLULAS 'NK' ('NATURAL KILLER') PARA LA GENERACIÓN DE TERAPIAS 'CAR': RETOS Y OPORTUNIDADES

La inmunoterapia antitumoral con CAR-T, linfocitos T modificados genéticamente para expresar un receptor quimérico antigénico capaz de reconocer específicamente células tumorales, es ya una realidad en la práctica clínica con diversos productos comerciales y académicos aprobados para el tratamiento de neoplasias linfoides de células B y en mieloma múltiple.

SEBASTIÁN CARNÉ MARTÍN,

Instituto de Investigación Biomédica de Bellvitge (IDIBELL), Avinguda de la Granvia de l'Hospitalet, 199, 08908 L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona y 2 Facultat de Farmàcia i Ciències de l'Alimentació, Universitat de Barcelona.

NURIA MONTSERRAT,

Catalan Institution for Research and Advanced Studies (ICREA), Barcelona; Spain Pluripotency for Organ Regeneration, Institute for Bioengineering of Catalonia (IBEC), The Barcelona Institute of Science and Technology (BIST), Barcelona, Spain y Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, Madrid, Spain. Red Española de Terapias Avanzadas RICORS/TERAV. Coordinación del Programa 4. Desarrollos Tecnológicos y Terapéuticos: Innovación, Transferencia al Sistema Sanitario y Educación.

ANNA SUREDA,

Clinical Hematology Department, Institut Català d'Oncologia – L'Hospitalet, IDIBELL, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain. Red Española de Terapias Avanzadas RICORS/TERAV. Coordinación del Programa 4. Desarrollos Tecnológicos y Terapéuticos: Innovación, Transferencia al Sistema Sanitario y Educación.

Sin embargo, esta estrategia terapéutica aún se enfrenta a diversas limitaciones que frenan su aplicación hacia un mayor número de pacientes y a otros tipos de neoplasias. Algunas de las limitaciones clave de las terapias CAR-T incluyen:

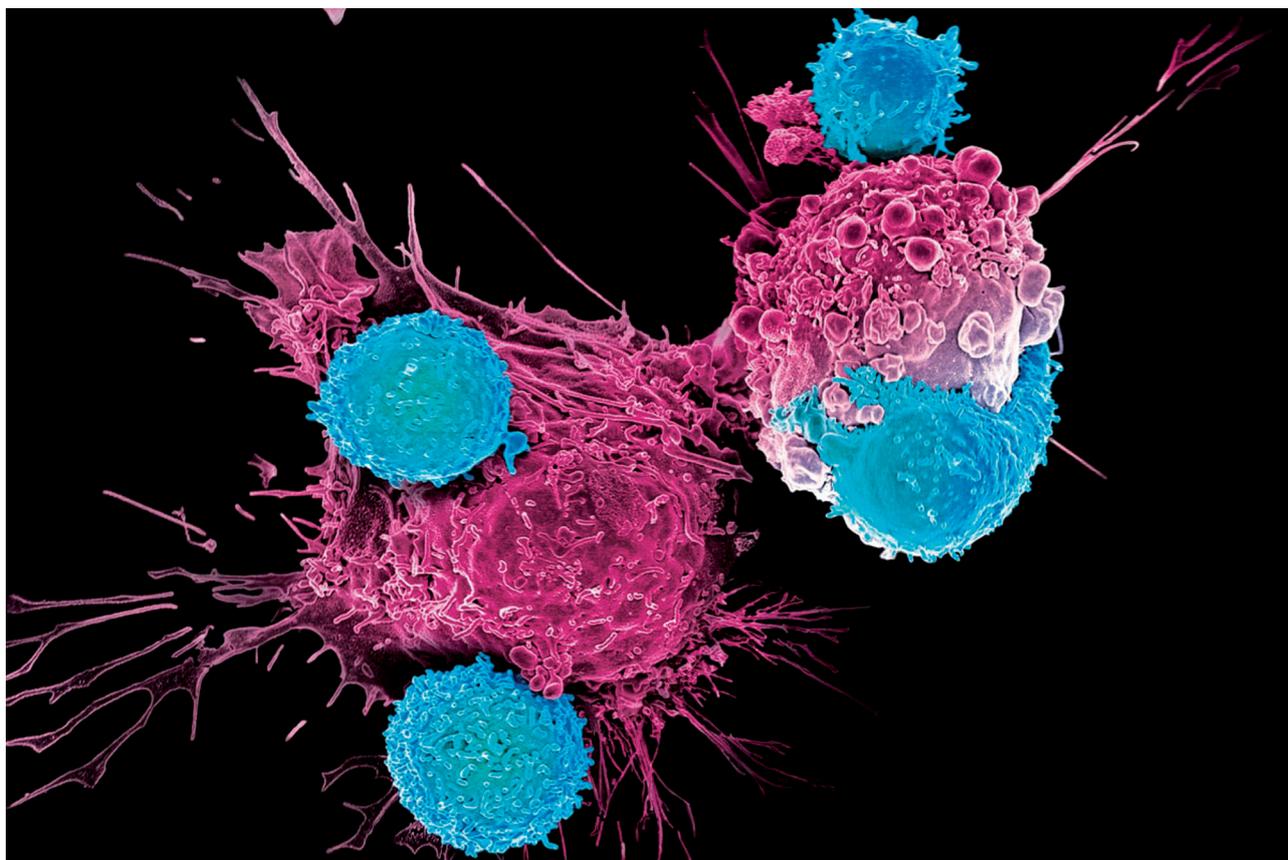
**Toxicidad:** Las terapias CAR-T pueden tener un efecto de "on-target-off-tumor", dado que muchos antígenos tumorales (las dianas o "targets" de estas terapias) no son específicos de tumor. En este sentido, se está trabajando en el desarrollo de estrategias innovadoras para reducir el escape antigénico y seleccionar antígenos capaces de inducir una eficacia antitumoral suficiente, minimizando al mismo tiempo los problemas de toxicidad. Tales estrategias a su vez resultan claves para ampliar el uso clínico de las terapias con células CAR-T a otras neoplasias hematológicas y tumores sólidos.

**Costo y accesibilidad:** Las terapias CAR-T son costosas y su accesibilidad se encuentra reducida en muchos sistemas sanitarios. En este sentido, resulta fundamental el

trabajo en red, a fin de incorporar toda la cadena de valor de la ciencia, desde la investigación básica hasta los estándares clínicos aplicados a la atención, contribuyendo también a la explotación, al valor económico y a la regulación de estos productos.

**Tiempo de producción:** La producción de terapias CAR-T es un proceso complejo y que requiere cierto tiempo, lo que puede no ser adecuado para pacientes que necesitan tratamiento con urgencia. Es fundamental el desarrollo de nuevas metodologías y técnicas que permitan el escalado de los productos preservando a su vez la calidad los mismos. En este sentido, el campo de los nanomateriales ha entrado con fuerza a fin de facilitar el escalado de los productos en combinación con instrumentación tales como biorreactores y nuevos sensores.

**Duración de la respuesta:** A pesar de tratarse de tratamientos muy efectivos, un porcentaje no despreciable de pacientes recaen tras su administración o no responden. La duración de la respuesta depende de factores relacionados



con el huésped, el constructo y la composición del producto. Afortunadamente, la investigación básica está arrojando luz sobre mecanismos celulares y moleculares para revertir y controlar puntos de control inmunológico y restaurar la función citotóxica.

La mayor parte de los ensayos clínicos y los datos existentes en vida real son los que se derivan de los pacientes tratados por neoplasias linfoides B en recaída o refractarias y mieloma múltiple. Los linfomas de células T constituyen un grupo de entidades heterogéneo, poco frecuentes y con peor pronóstico que los linfomas B; en resumen, un gran desafío terapéutico aún en el momento actual.

En el momento actual, existen más de 30 ensayos clínicos en curso para el tratamiento de leucemia linfoblástica aguda T y el linfoma T, tratando con células CAR-T dirigidas principalmente a 8 antígenos específicos de células T: CD5, CD7, CD4, CD30, CD37, CD70, CD147 y TRBC1, según el sitio [clinicaltrials.gov](http://clinicaltrials.gov). En estas patologías, uno de los principales desafíos es que las células T normales y malignas comparten muchas características fenotípicas. Si la terapia CAR-T se dirige a un antígeno que también está presente en las células T sanas, incluidas las utilizadas para crear CARs, esto puede llevar a la eliminación tanto de las células T malignas como de las saludables, en un proceso biológico conocido como fratricidio.

**En la actualidad en TERAV existen varios grupos que están desarrollando estudios preclínicos con células CAR-NK que se traducen en ensayos clínicos académicos de Fase I para tratar tumores hematológicos y sólidos.**

Para limitarlo, se han combinado tecnologías de edición genética, tales como CRISPR-Cas9 para inactivar o eliminar uno o más genes específicos de interés, así como otras herramientas de edición genética, para eliminar algunos marcadores de células T presentes en las células CAR-T. Las células CAR-T específicas para CD4 han mostrado una reducción en los xenoinjertos de modelos murinos, y las células CAR-T dirigidas contra CD5 demostraron tener un efecto de fratricidio reducido que permitió una respuesta antitumoral en un modelo murino. Sin embargo, las células CAR-T dirigidas a CD5 mostraron un efecto fratricida más evidente cuando el CAR contenía el dominio coestimulador 4-1BB. Otra potencial estrategia consiste en la inhibición de la expresión de la diana terapéutica, por ejemplo, CD7, durante el proceso de transducción de las células T con un lentivirus, mediante la introducción de un bloqueador de la expresión de CD7 junto con el CAR. También se han logrado generar células madre pluripotentes inducidas (iPSCs) diferenciables en CAR-T abriendo la puerta a ensayos preclínicos in vitro mediante la generación de células auto-renovables y con capacidad de diferenciación a diferentes estirpes sanguíneas.



**Las terapias CAR-T son costosas y su accesibilidad se encuentra reducida en muchos sistemas sanitarios. En este sentido, resulta fundamental el trabajo en red, a fin de incorporar toda la cadena de valor de la ciencia.**

La utilización de células autólogas se encuentra asociada a ciertas desventajas: la existencia de las células de partida en el producto final incorpora riesgos tales como su crecimiento y resistencia al tratamiento con CAR-T, disminuyendo así la efectividad del tratamiento. Además, y desde el punto de vista clínico, el periodo de tiempo necesario para su manufactura supone que, en ocasiones, el paciente no pueda llegar a recibir el tratamiento por deterioro del estado general o progresión de la enfermedad de base. El uso de células alogénicas podría evitar la contaminación de productos con células T malignas, pero esto plantea un desafío importante: el riesgo de desarrollo de enfermedad del injerto contra el huésped, así como la menor persistencia de los constructos circulantes.

Las CAR-NK pueden representar una alternativa terapéutica a las CAR-T; son más asequibles y tienen un mejor perfil de toxicidad. Además, no se encuentran asociadas al desarrollo de enfermedad del injerto contra el huésped y no es necesaria la edición génica de las células efectoras, lo que simplifica el proceso de fabricación, reduciendo a su vez su costo. Las células NK no expresan marcadores de linaje presentes en las células T y, por lo tanto, obvian los problemas asociados al fratricidio comentados previamente. Se ha demostrado que la línea celular humana NK92 es bien tolerada en ensayos clínicos de fase I, y los ensayos clínicos actuales están evaluando construcciones CAR-NK92 para diversos antígenos y tipos de tumores.

Existe la posibilidad de desarrollar terapias NK "off-the-shelf", es decir, una terapia celular universal, sin necesidad de un "match" en el HLA del donante y el receptor. Esto podría reducir el tiempo de producción de 5-6 semanas (tiempo que se tarda en producir células CAR-T GMP, disponibles actualmente) a menos de 1 semana. Tales estrategias podrían a su vez reducir los costos de producción de las terapias CAR-NK.

La persistencia de las células CAR-NK es un factor crítico en su eficacia terapéutica; las células NK tienen una vida media inferior a la de las células T, lo que podría explicar la eficacia limitada de las terapias con células NK, observada en resultados preliminares de ensayos clínicos. Dentro de las estrategias para mejorar la persistencia, cabe destacar la modificación de los dominios del CAR, con señales coestimuladoras productoras de citoquinas, como por ejemplo la IL-15, en los llamados CAR de cuarta generación.

Las dificultades de las terapias CAR-NK aún no se han elucidado por completo, pero ciertamente incluyen similares desafíos que limitan a las terapias CAR-T. Aplicando las lecciones aprendidas a lo largo de años de experiencia en el campo de CAR-T, se podrán generar terapias avanzadas, utilizando CAR-NK contra tumores de varios orígenes, reduciendo al mínimo los efectos adversos, los costos asociados y aumentando la eficacia de estos tratamientos. La Red Española de Terapias Avanzadas (TERAV) es un proyecto colaborativo y traslacional que inicia su actividad en el año 2022, al amparo de la primera convocatoria RICORs del Instituto de Salud Carlos III, con cargo a los fondos europeos del Plan de Recuperación, Transformación y Resiliencia. En la actualidad en TERAV existen varios grupos que están desarrollando estudios preclínicos con células CAR-NK que actualmente se traducen en ensayos clínicos académicos de Fase I para tratar tumores hematológicos y sólidos. Formar alianzas para satisfacer las demandas de este campo complejo y en evolución es un desafío y requiere un desarrollo curricular innovador que requiere a su vez una apuesta para la formación de perfiles profesionales multidisciplinarios. Desde TERAV los grupos de la Red trabajan de manera colaborativa y sinérgica a fin de compartir conocimientos e innovaciones para estandarizar y extender la fabricación de nuevos productos en terapias avanzadas como CAR-NK así como para asesorar y mentorizar a jóvenes investigadores en estas disciplinas. Durante este año estamos convencidos que los hallazgos realizados en el contexto de TERAV serán de gran importancia para poder superar los retos actuales de las terapias CAR-NK y así continuar avanzando en la aplicación de la excelencia científico-técnica, la equidad y la eficiencia en el uso de los recursos del sistema público para continuar desarrollando nuevas tecnologías el sector académico y público, promoviendo la generación y transferencia de conocimiento de productos de terapias avanzadas de la más alta calidad.