



CLICK-CAR: EXPLORANDO EL POTENCIAL DE LAS SPLIT-INTEINS EN INMUNOTERAPIA CELULAR

El surgimiento de las células T modificadas genéticamente para expresar receptores antigénicos quiméricos (CAR, del inglés Chimeric Antigen Receptor) ha supuesto una forma completamente nueva y diferente de tratamiento del cáncer que ha mostrado resultados sin precedentes hasta el momento. Los CAR han revolucionado el campo de la inmunoterapia celular, ofreciendo opciones de tratamiento prometedoras para pacientes oncológicos. Sin embargo, desafíos tales como la toxicidad, la limitada especificidad y la posibilidad de recaída han impulsado la investigación hacia el desarrollo de tecnologías más controlables y eficientes.

BIATGROUP.

En este contexto, los sistemas modulares de CAR basados en el uso de split-inteins, emergen como una solución innovadora para abordar estas limitaciones, tanto en células autólogas como alogénicas. Este artículo explora el potencial de estos sistemas modulares y discute resultados *in vitro*, así como su evolución hacia ensayos clínicos en curso y futuros tratamientos.

El Rol de las Split-Inteins en los Sistemas Modulares de CAR

Las split-inteins son elementos proteicos que catalizan la unión de dos secuencias flanqueantes mediante una reacción específica de trans-splicing proteico (PTS, por sus siglas en inglés). Esta tecnología permite ensamblar de manera controlada diferentes componentes modulares del CAR, concretamente el dominio intracelular por un lado y, por el otro, el dominio expuesto en la superficie celular y responsable de identificar y unirse a la célula tumoral (ligando). Estos dos módulos se pueden producir de manera independiente y el ensamblaje del CAR tendrá lugar cuando se pongan en contacto y se produzca la reacción PTS. El CAR también se puede formar de manera co-traducciona si los dos módulos se co-expresan en la misma célula (Figura 1).

La tecnología Click-CAR, desarrollada por ZIP Solutions (grupo BIAT, ticker BST), se basa en el uso de su set patentado

de split-inteins para la preparación de CARs universales y modulares que ofrecen una serie de ventajas clave:

- **Controlable y con interruptor on/off:** Permite regular la actividad de las células CAR-T, incluso suspenderla, mediante una administración precisa y controlada del ligando. La regulación de la activación del CAR mediante este sistema modular permite, por un lado, reducir los episodios de síndrome de liberación de citoquinas (CRS) y otros efectos tóxicos. Por el otro lado, en caso de recaída, se puede volver a administrar el ligando.

- **Multi-antígeno:** Esta aproximación modular permite administrar al paciente distintos ligandos, ya sea de manera simultánea o secuencial, incrementando la especificidad del tratamiento, especialmente interesante en caso de cambio en el fenotipo del tumor, reduciendo la posibilidad de escape tumoral y/o recaída.

- **Uso con células autólogas y alogénicas:** El sistema puede aplicarse tanto en células derivadas del paciente como en células alogénicas, facilitando la creación de productos "off-the-shelf" para una mayor disponibilidad y estandarización.

Resultados *In Vitro* y Avances en Investigación

Estudios *in-vitro* realizados por ZIP Solutions y sus colaboradores han mostrado resultados prometedores con respecto

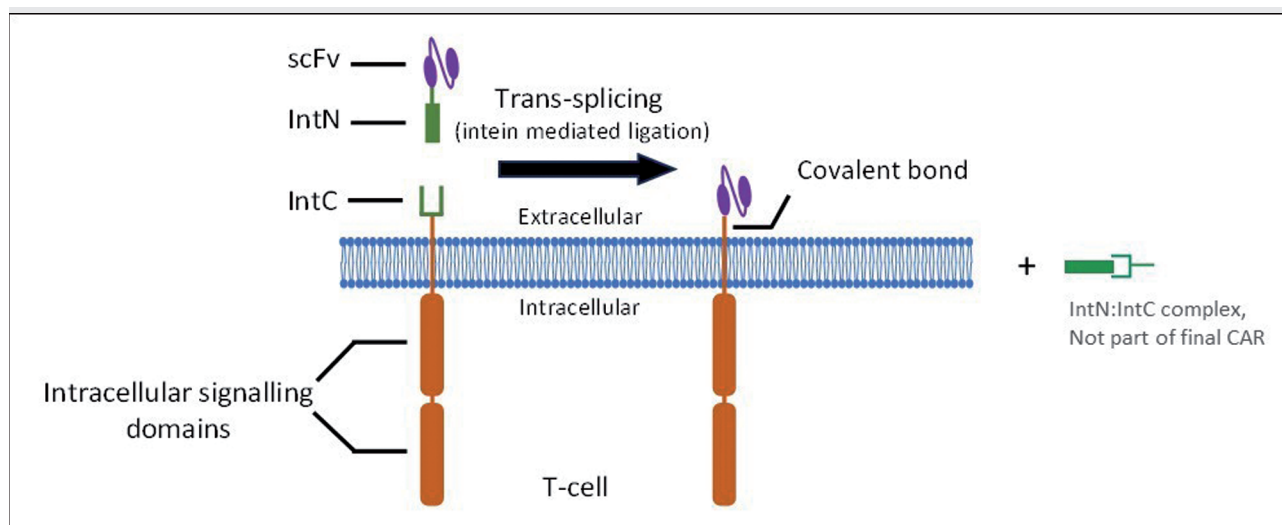


FIG 1. Formación de un CAR modular mediante split-inteins.

a la formación y activación de estos CARs modulares. Se han generado CARs en diferentes tipos celulares, usando las diferentes split-inteins de ZIP y diferentes ligandos en forma de scFv indicados para el tratamiento de cánceres linfáticos. Los resultados obtenidos indican una expresión eficaz y una formación exitosa del CAR tras la inducción del trans-splicing.

Los estudios de citotoxicidad *in vitro* han mostrado que los CARs formados mediante split-inteins retienen una actividad antitumoral comparable a la de los CARs convencionales, con las ventajas adicionales que brinda el sistema modular basado en split-inteins.

CARs Modulares en el Entorno Clínico: Ensayos en curso

El uso de sistemas modulares de CAR utilizando aproximaciones similares no solo está respaldado por resultados *in vitro*, sino que también está siendo evaluado en ensayos clínicos, mostrando el potencial de esta aproximación. Existen diferentes tecnologías para preparar CAR modulares, en continua mejora. A continuación, se presentan algunos ejemplos de tecnologías de CAR modulares que están siendo evaluadas en fases clínicas:

- **Switchable CAR-T cells, CLBR001 + SWI019:** Dirigido contra el antígeno CD19 en neoplasias malignas de células B refractarias o en recaída (NCT04450069), desarrollado por Calibr (Scripps Research) y AbbVie.

- **ACLX-001:** Utiliza un adaptador específico para BCMA (SPRX001) y células CAR-T universales (ARC-T cells) para el tratamiento de mieloma múltiple refractario (NCT04155749), desarrollado por ArCellx y Kite Pharma.

- **UniCAR-T-CD123:** Dirigido contra el antígeno CD123 en pacientes con leucemia mieloide aguda (AML) en recaída

o refractaria (NCT04230265), desarrollado por AvenCell Europe GmbH.

- **MAGNETO:** CAR-T multi-modular dirigido contra GD2 para neuroblastoma refractario o en recaída (NCT05990751), desarrollado por University College London.

Estos ensayos clínicos demuestran el creciente interés en el uso de CARs modulares, resaltando la necesidad de tecnologías que ofrezcan un mayor control y una personalización más precisa de los tratamientos.

Beneficios Potenciales de los CARs Modulares Basados en Split-Inteins

El enfoque modular basado en split-inteins no solo ofrece ventajas competitivas derivadas del control sobre la activación de los CARs, tal y como ya se ha comentado, sino que también permite un enfoque más flexible y escalable para la fabricación de células CAR-T. Entre los principales beneficios se incluyen:

- **Mayor seguridad:** La capacidad de controlar la activación de las células CAR-T mediante la administración de ligandos específicos permite reducir los efectos secundarios tóxicos asociados con la activación continua de los receptores CAR.

- **Personalización de tratamientos:** Los CARs modulares permiten diseñar terapias "a la carta", adaptándose a las necesidades específicas de cada paciente y al tipo de tumor que se desea tratar.

- **Reducción de costes:** El uso de células alogénicas listas para usar ("off-the-shelf") puede reducir significativamente los costes asociados con la producción de terapias personalizadas.

- **Escalabilidad:** La posibilidad de producir CARs modulares en masa facilita la expansión de las terapias basadas en CAR a un mayor número de pacientes.

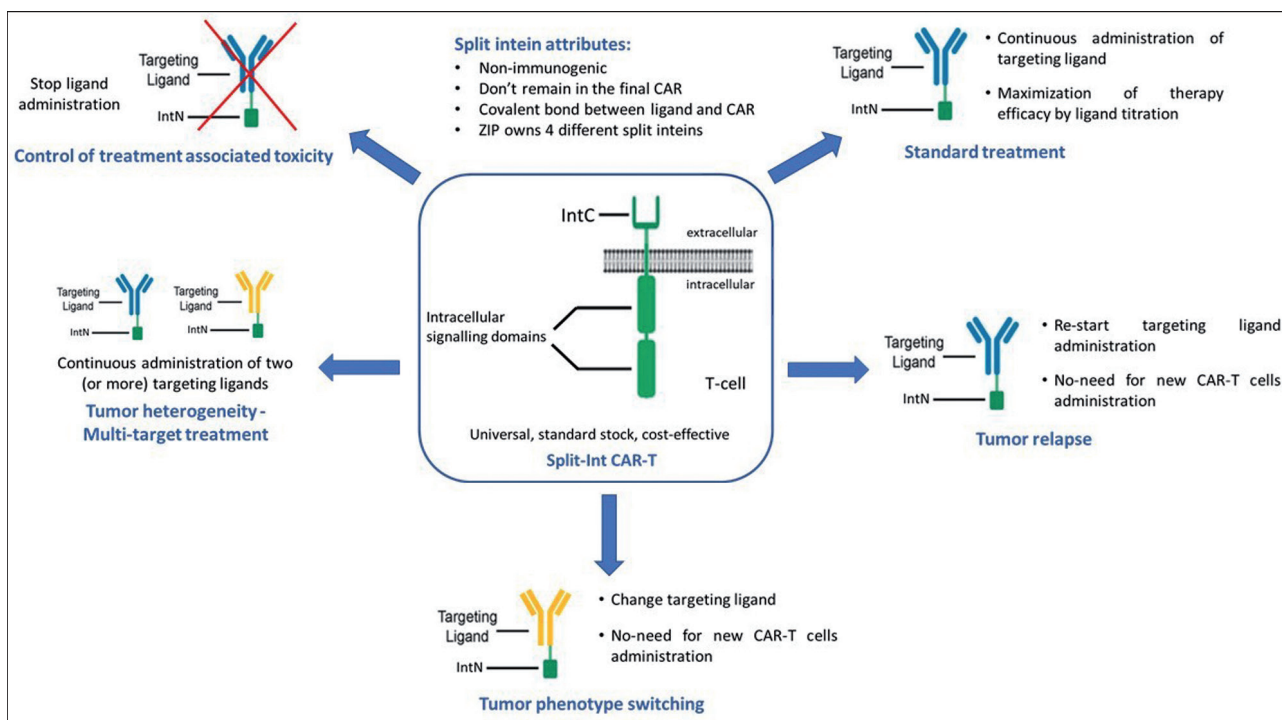


FIG 2. Ventajas de la formación de un CAR modular con split-inteins.

Conclusiones y Futuras Aplicaciones

Los sistemas modulares de CARs basados en split-inteins representan una innovación disruptiva en el campo de la inmunoterapia celular. Al ofrecer un control preciso sobre la activación de los receptores CAR, estos sistemas podrían mejorar significativamente la eficacia de los tratamientos al reducir la toxicidad y aumentar la especificidad tumoral.

A medida que más estudios clínicos respalden la seguridad y eficacia de estas terapias, es probable que los CARs modulares se conviertan en una herramienta clave en el tratamiento de diversos tipos de cáncer, incluyendo los tumores sólidos, ampliando las opciones terapéuticas disponibles y mejorando los resultados para los pacientes.

La tecnología de split-inteins y los avances logrados hasta la fecha proporcionan una sólida base para continuar explorando su aplicación en entornos clínicos. A medida que se avanza en la investigación y los ensayos clínicos, es probable que veamos una adopción más amplia de estos sistemas modulares en la práctica clínica, marcando el comienzo de una nueva era en la inmunoterapia contra el cáncer.

Referencias

- Human CD19-specific switchable CAR T-cells are efficacious as constitutively active CAR T-cells but cause

less morbidity in a mouse model of human CD19+ malignancy, Penell, C. et al. J. Immunother Cancer. 2022 Dec;10(12):e005934. 10.1136/jitc-2022-005934

- Preclinical Efficacy of BCMA-Directed CAR T Cells Incorporating a Novel D Domain Antigen Recognition Domain, Buonato, J. et al. Mol Cancer Ther. 2022 Jul 5;21(7):1171-1183. 10.1158/1535-7163.MCT-21-0552

- Advances in Universal CAR-T Cell Therapy, Haolong Lin, Jiali Cheng, Wei Mu, Jianfeng Zhou and Li Zhu, Front. Immunol. 2021,12:744823. doi: 10.3389/fimmu.2021.744823

- Modular Chimeric Antigen Receptor Systems for Universal CAR T Cell Retargeting,

- Ashley R. Sutherland, Madeline N. Owens and C. Ronald Geyer. Int. J. Mol. Sci. 2020, 21, 7222; doi:10.3390/ijms21197222

- Quantitative Control of Gene-Engineered T Cell Activity through the Covalent Attachment of Targeting Ligands to a Universal Immune Receptor,

- Minutolo N. et al. Am Chem Soc. 2020 April 08; 142(14): 6554–6568. doi:10.1021/jacs.9b11622

- Split chimeric antigen receptor-modified T cells targeting glypican-3 suppress hepatocellular carcinoma growth with reduced cytokine release,

- Liu, X et al. Ther Adv Med Oncol 2020, Vol. 12: 1–16 doi: 10.1177/1758835920910347

- Proof of concept for a rapidly switchable universal CAR-T platform with UniCAR-T-CD123 in relapsed/refractory AML, Wermke, M. et al. Blood. 2021 Jun 3;137(22):3145-3148. doi: 10.1182/blood.2020009759