Terapia génica en inmunodeficiencias

José R. Regueiro
Inmunología
Facultad de Medicina
Universidad Complutense
regueiro@med.ucm.es

3ras JORNADAS NACIONALES CONJUNTAS DE ALERGIA E INMUNOLOGIA EN PEDIATRIA

Ciudad de Córdoba 21/4/2015, 20:00-20:30. Gracias a Héctor Díaz, Luciano Ianiero, Alejandro y Natalia Lozano, Julio Orellana, Ricardo Saranz

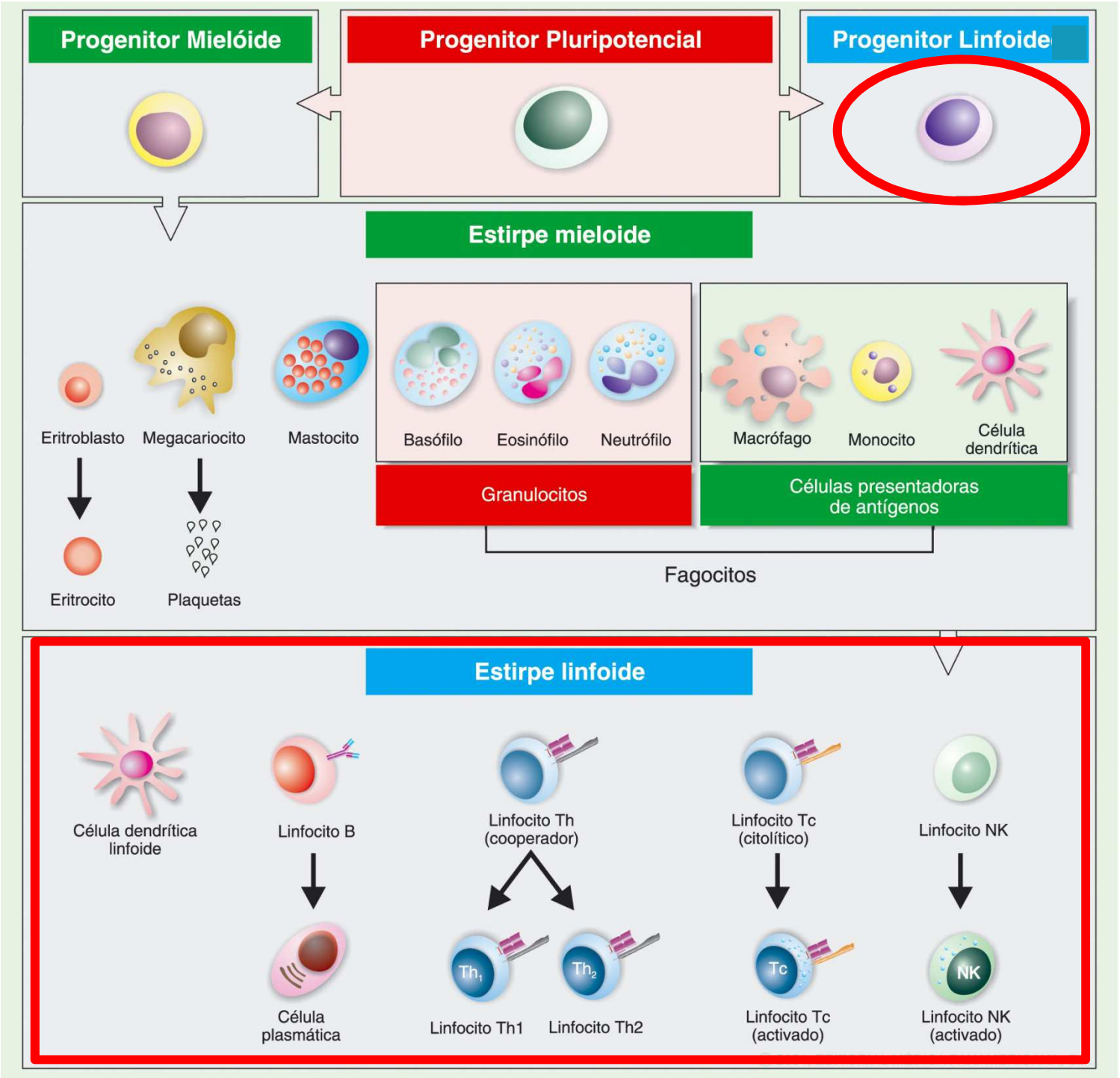
MAÑANA EMPIEZA LA SEMANA MUNDIAL DE LAS INMUNODEFICIENCIAS

Tratamiento de las inmunodeficiencias congénitas

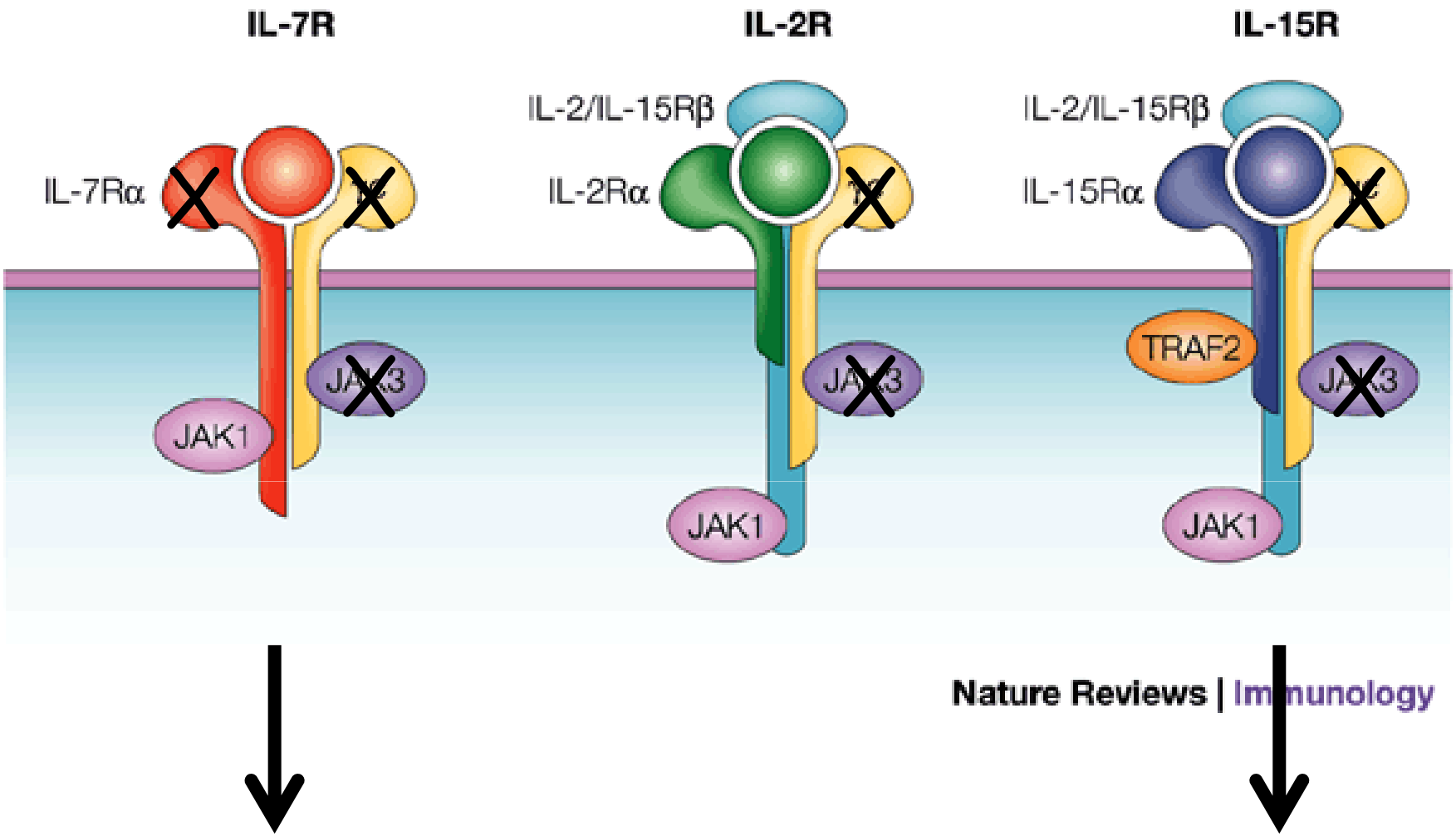
- Prevenir o tratar las infecciones
  Vacunas, antibióticos, antimicóticos, antivirales
- Suplir la molécula afectada
  Ig, ADA, IFNγ, C1inh
- Suplir la célula afectada
  Trasplante de progenitores hematopoyéticos
- Suplir el gen afectado (si no hay donante)
  Terapia génica (γc, ADA, WAS…)

Terapia génica en inmunodeficiencias

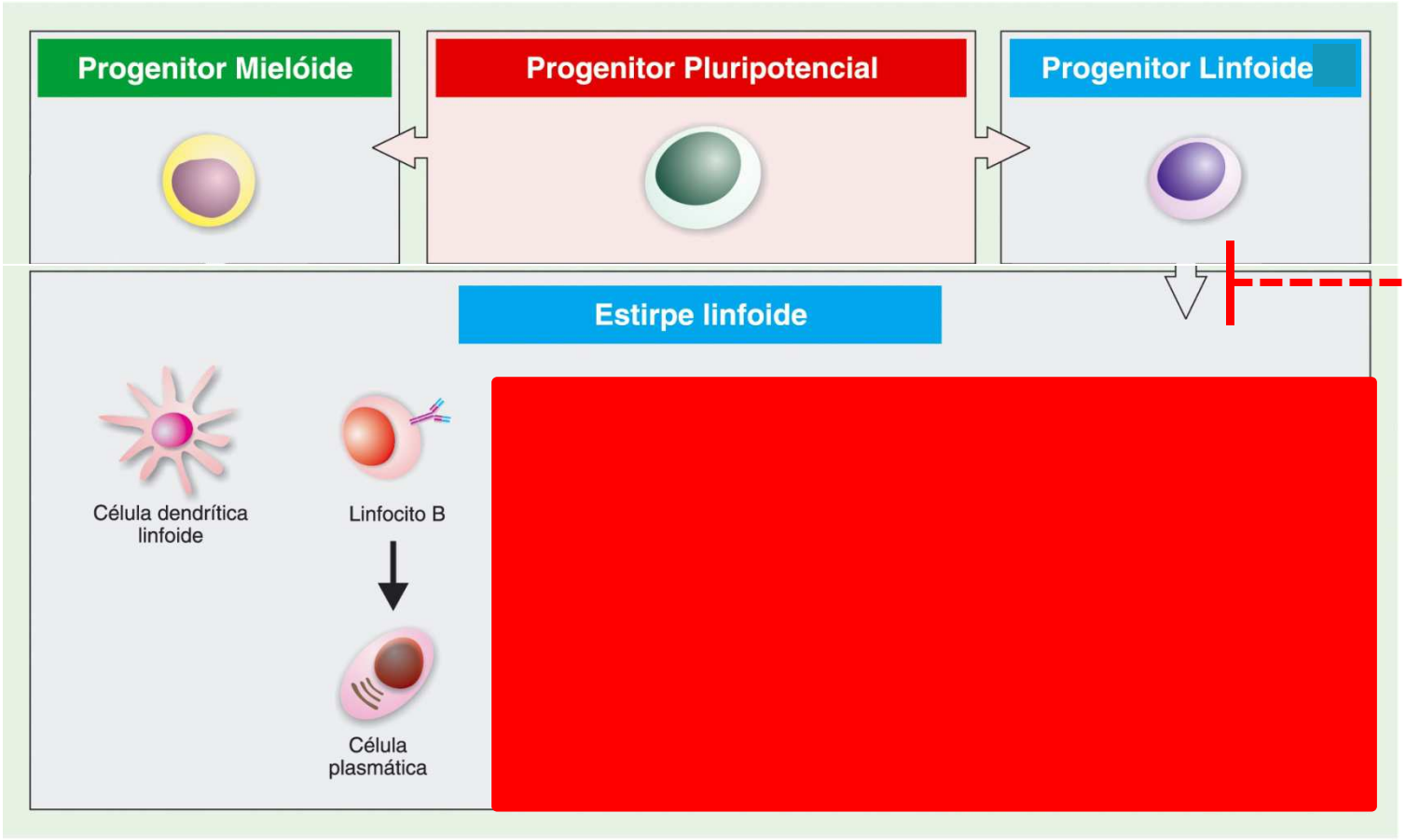
- ¿Para quién?
- ¿Cómo?
- ¿Para cuándo?
- ¿Dónde?



Necesita citocinas y sus receptores



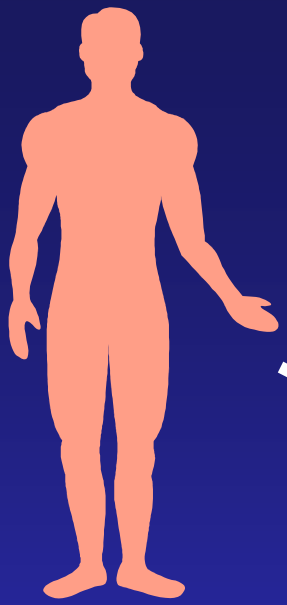
Nature Reviews | Immunology

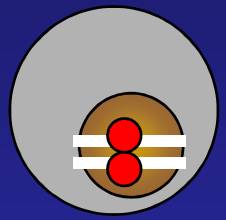


γ_c-/-
Jak3-/-

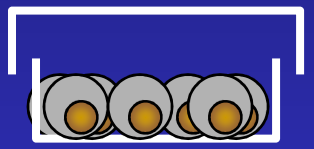
B+ T- NK- SCID

REVERSIÓN NATURAL = TERAPIA GENICA NATURAL

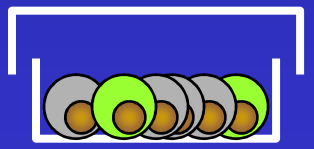




PRECURSORES AFECTADOS (IN VIVO)



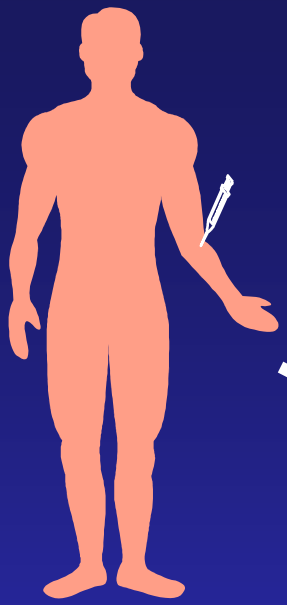
REVERSIÓN EXPANSIÓN (VENTAJA SELECTIVA)



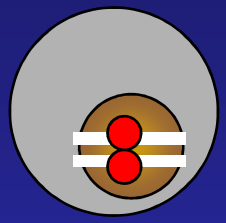
FENOTIPO
FUNCION
LONGEVIDAD

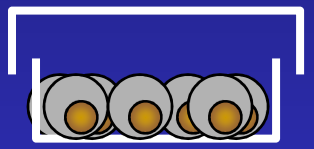
γc, NEJM 335,1563,1996
ADA, Nat Genet 13,290,1996
WASP, PNAS 98,8697,2001

TERAPIA GENICA



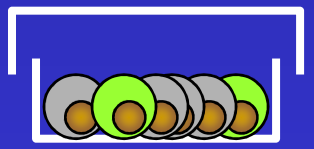
PRECURSORES
AFECTADOS
(EX VIVO)





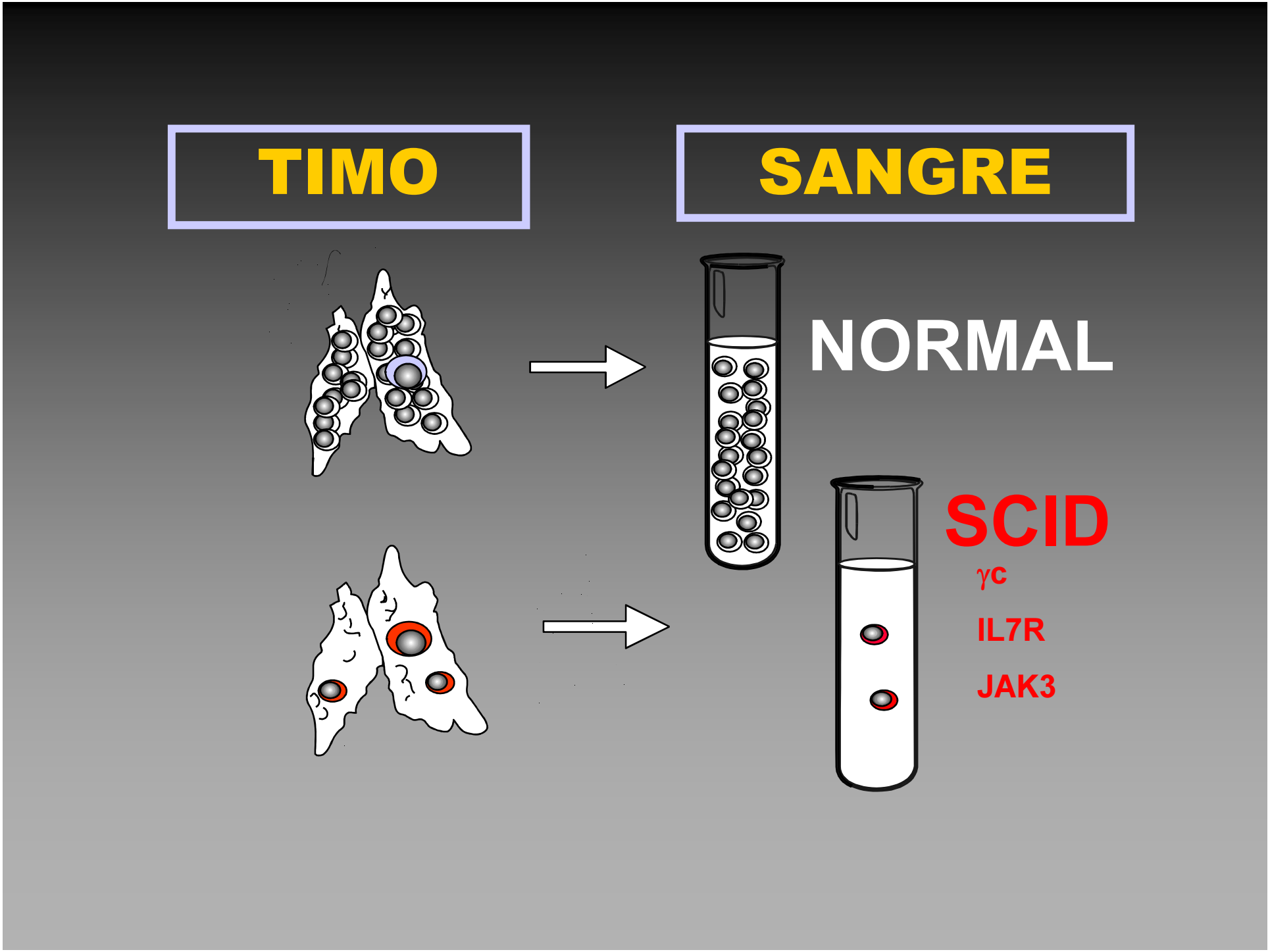
VECTOR

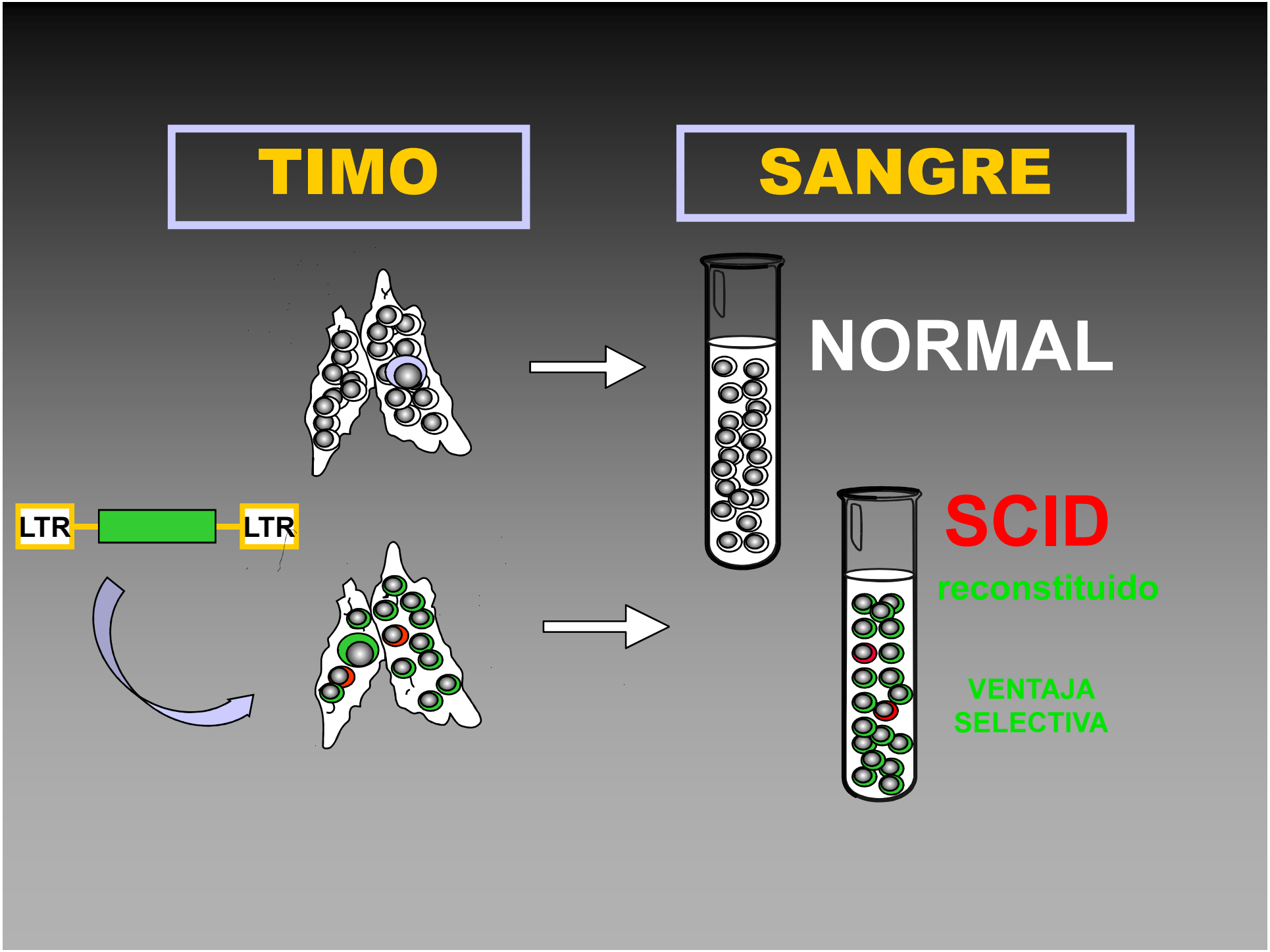
(30%)



EXPANSIÓN
(VENTAJA
SELECTIVA)

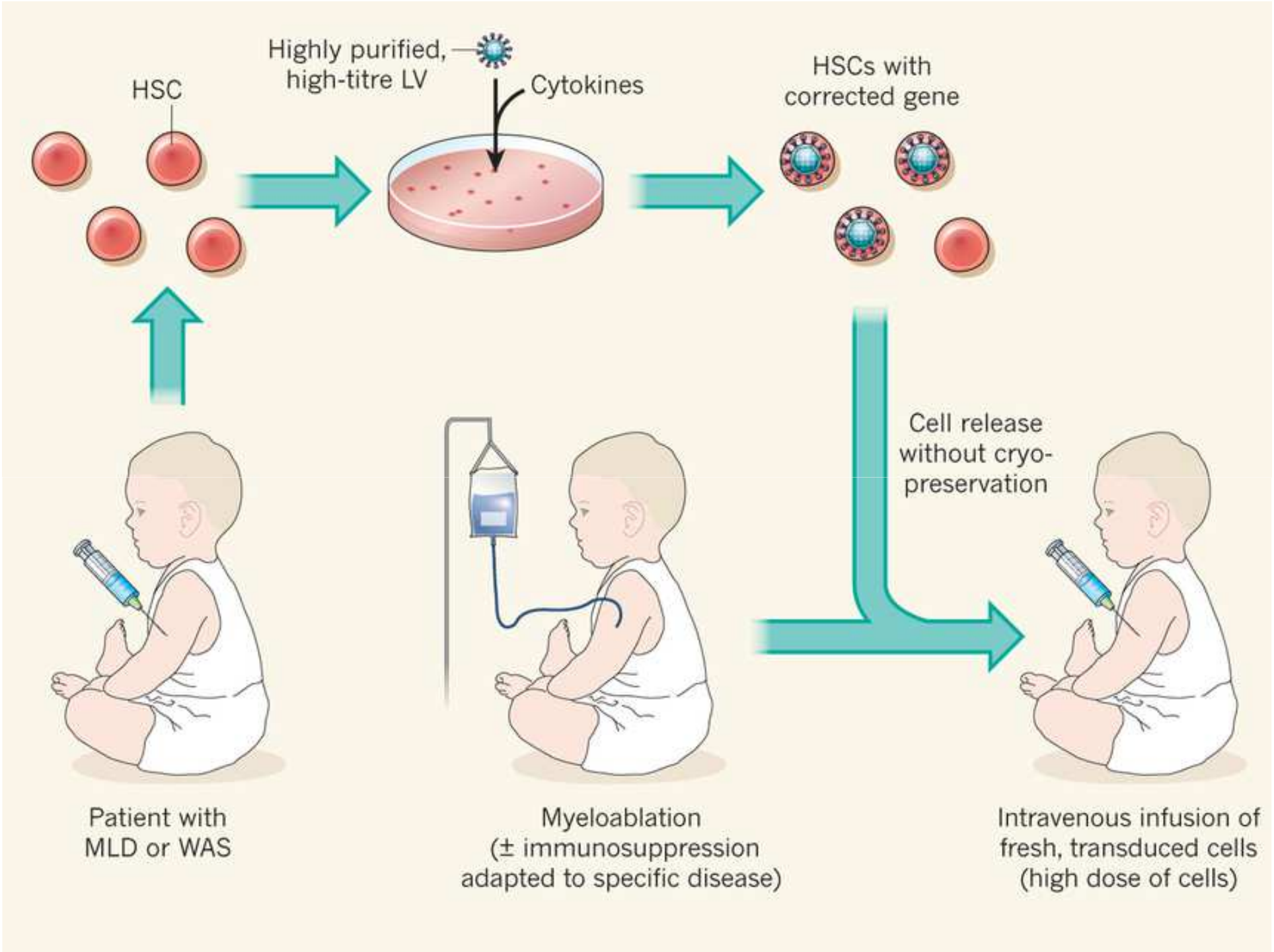
FENOTIPO
FUNCION
LONGEVIDAD


TIMO
SANGRE
NORMAL
SCID
γc
IL7R
JAK3


TIMO
SANGRE
NORMAL
LTR
LTR
SCID
reconstituido
VENTAJA
SELECTIVA

Terapia génica en inmunodeficiencias

- ¿Para quién?
  - Para IDP graves (con reversiones naturales)
- ¿Cómo?
- ¿Para cuándo?
- ¿Dónde?


HSC
Highly purified, high-titre LV
Cytokines
HSCs with corrected gene
Cell release without cryo-preservation
Patient with MLD or WAS
Myeloablation (± immunosuppression adapted to specific disease)
Intravenous infusion of fresh, transduced cells (high dose of cells)

EL PROCEDIMIENTO:

1- Estimular médula (G-CSF)

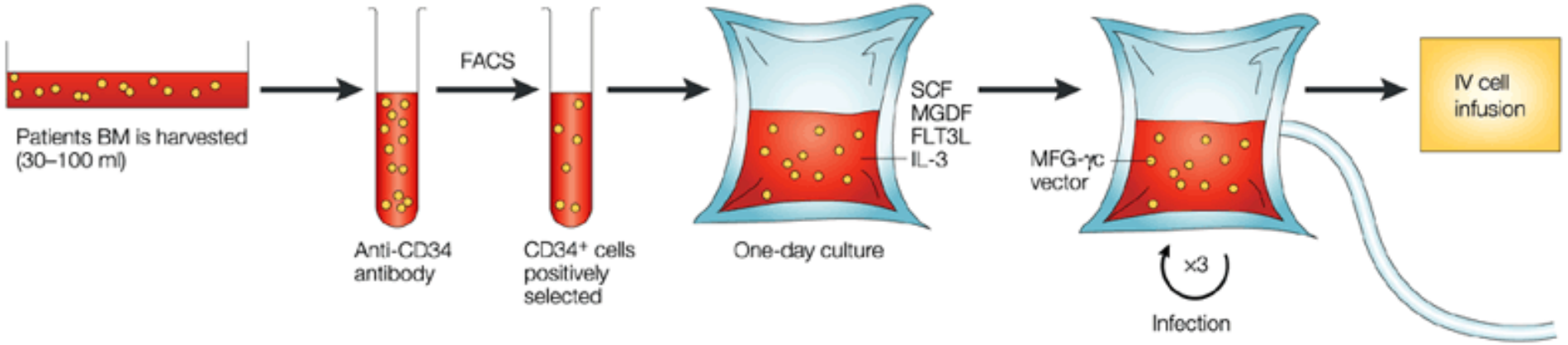
2- Obtener CD34+ periféricas (o de médula)

3- Cultivar y transducir

4- Mielosupresión parcial? ADA, CGD

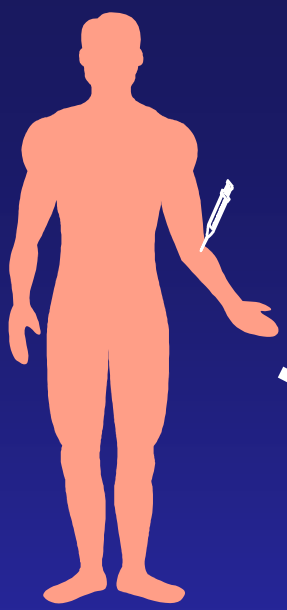
5- Reinfusión de precursores 2-5x10^6 /Kg

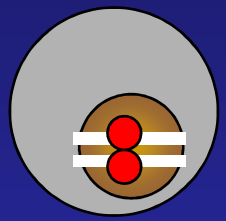
6- Seguimiento clínico/inmunológico



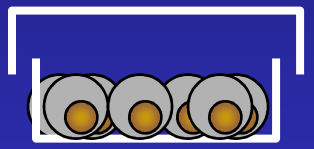
Nature Reviews | Immunology

LA TERAPIA GENICA ES SUPLEMENTACION GENICA, NO RECOMBINACION HOMOLOGA



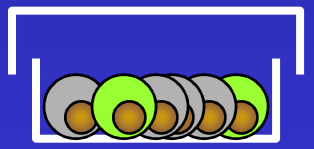


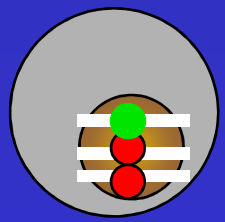
PRECURSORES AFECTADOS
(EX VIVO)



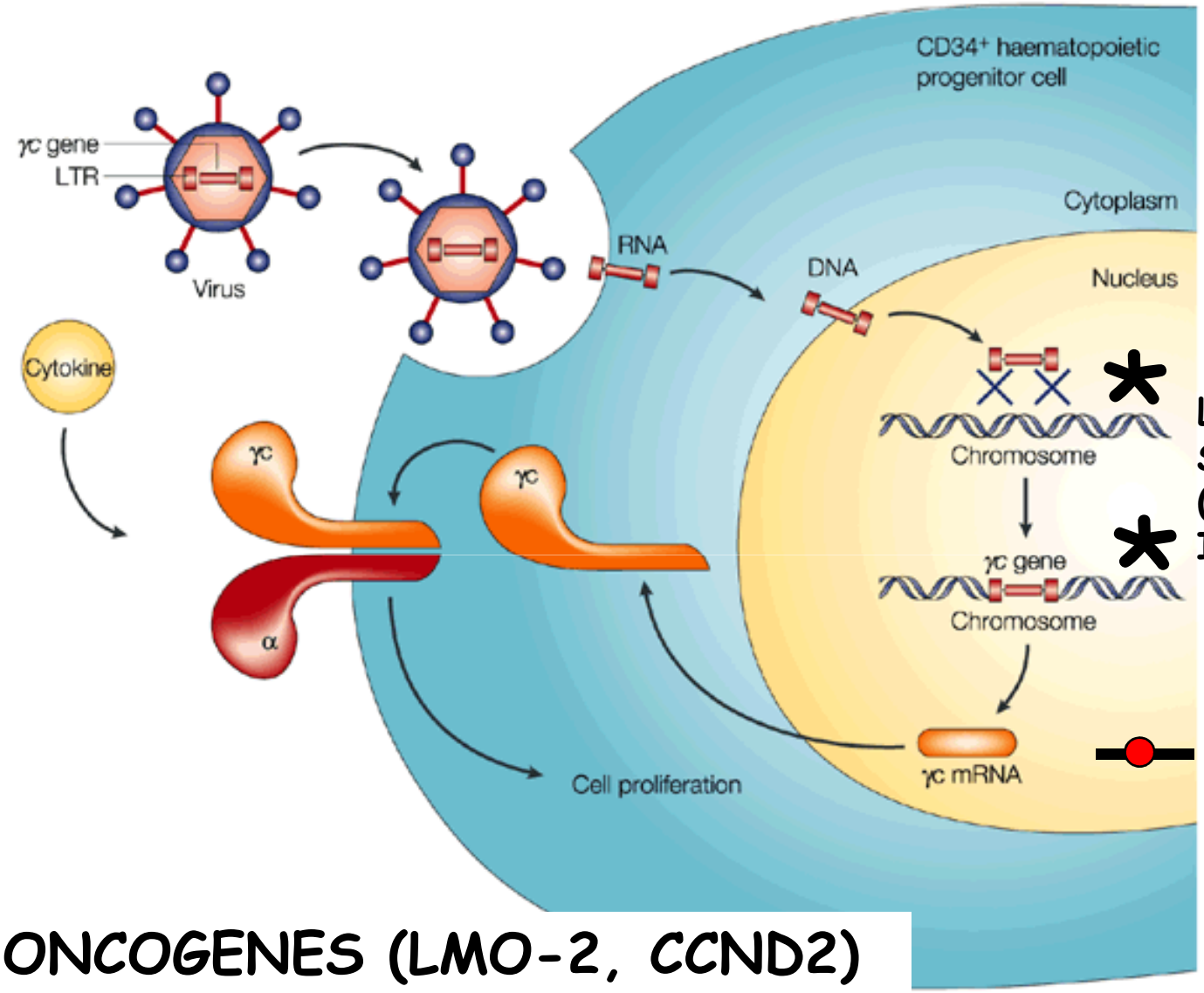
VECTOR

(30%)





FENOTIPO
FUNCION



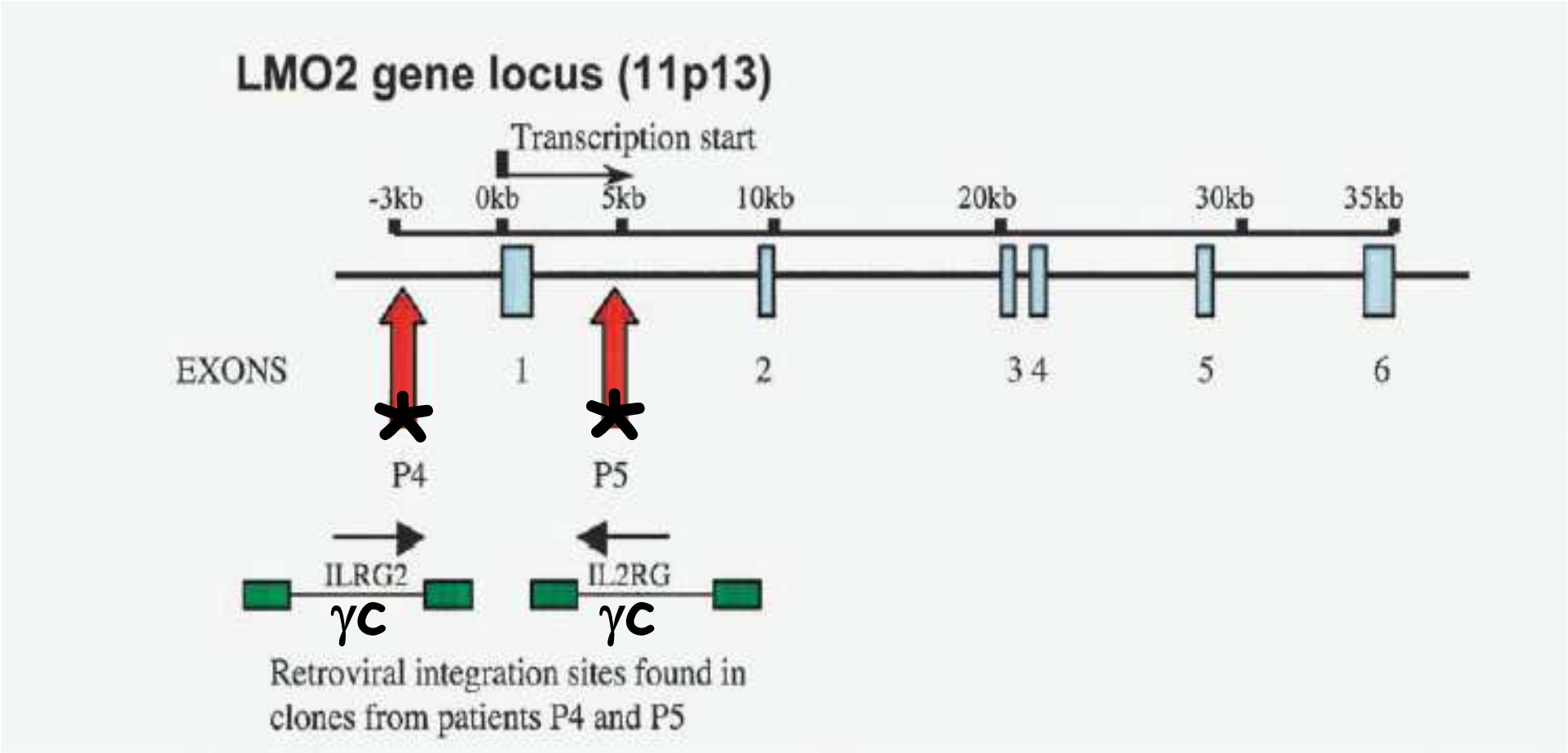
LTR: EN 300-4.000 SITIOS (MUTAGÉNESIS INSERCIONAL)

Gen γc mutado autólogo (suplementación génica)

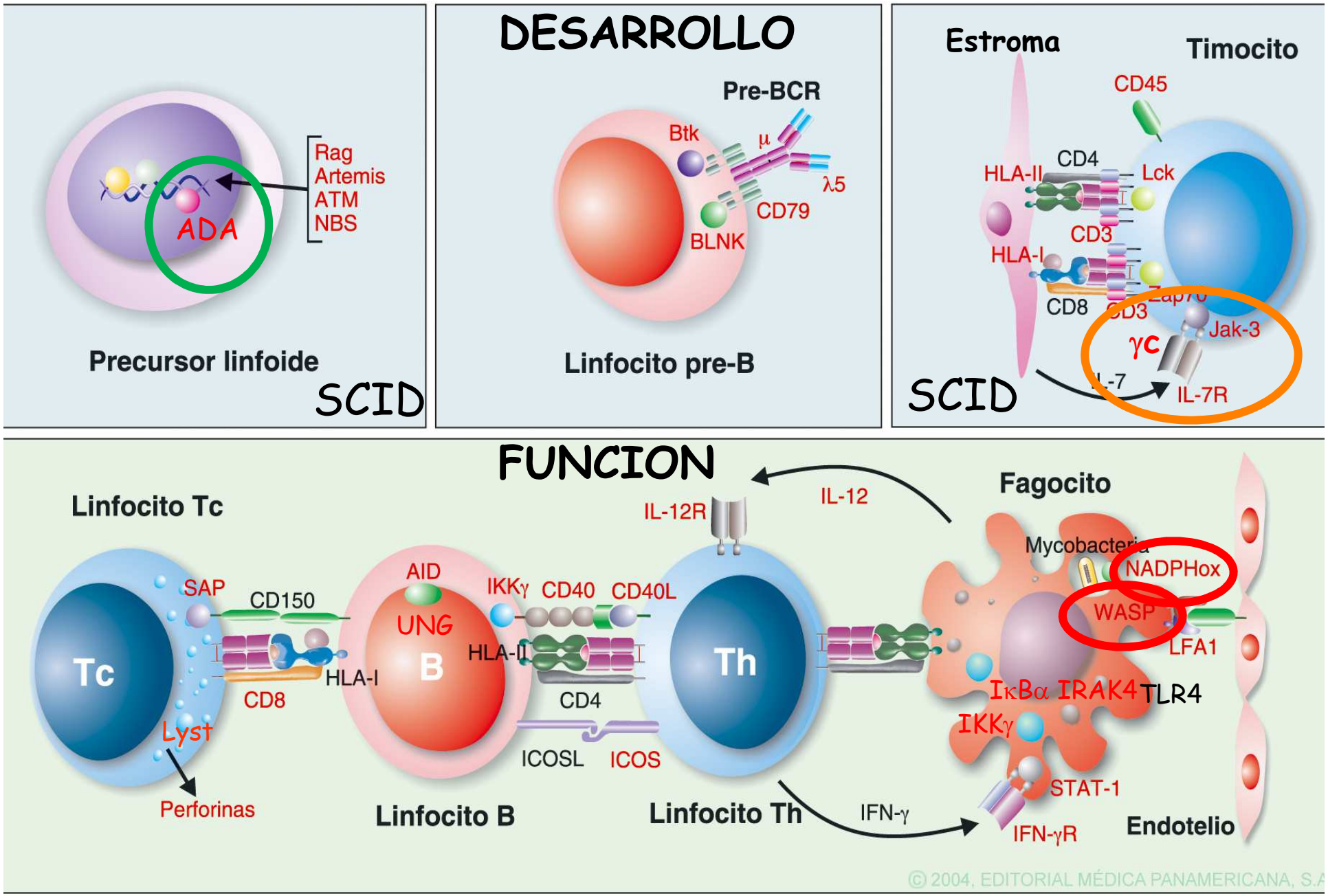
* ONCOGENES (LMO-2, CCND2) IN T CELL CLONES: ONCOGÉNESIS INSERCIONAL

e Reviews | Immunology

Transactivación de oncogenes



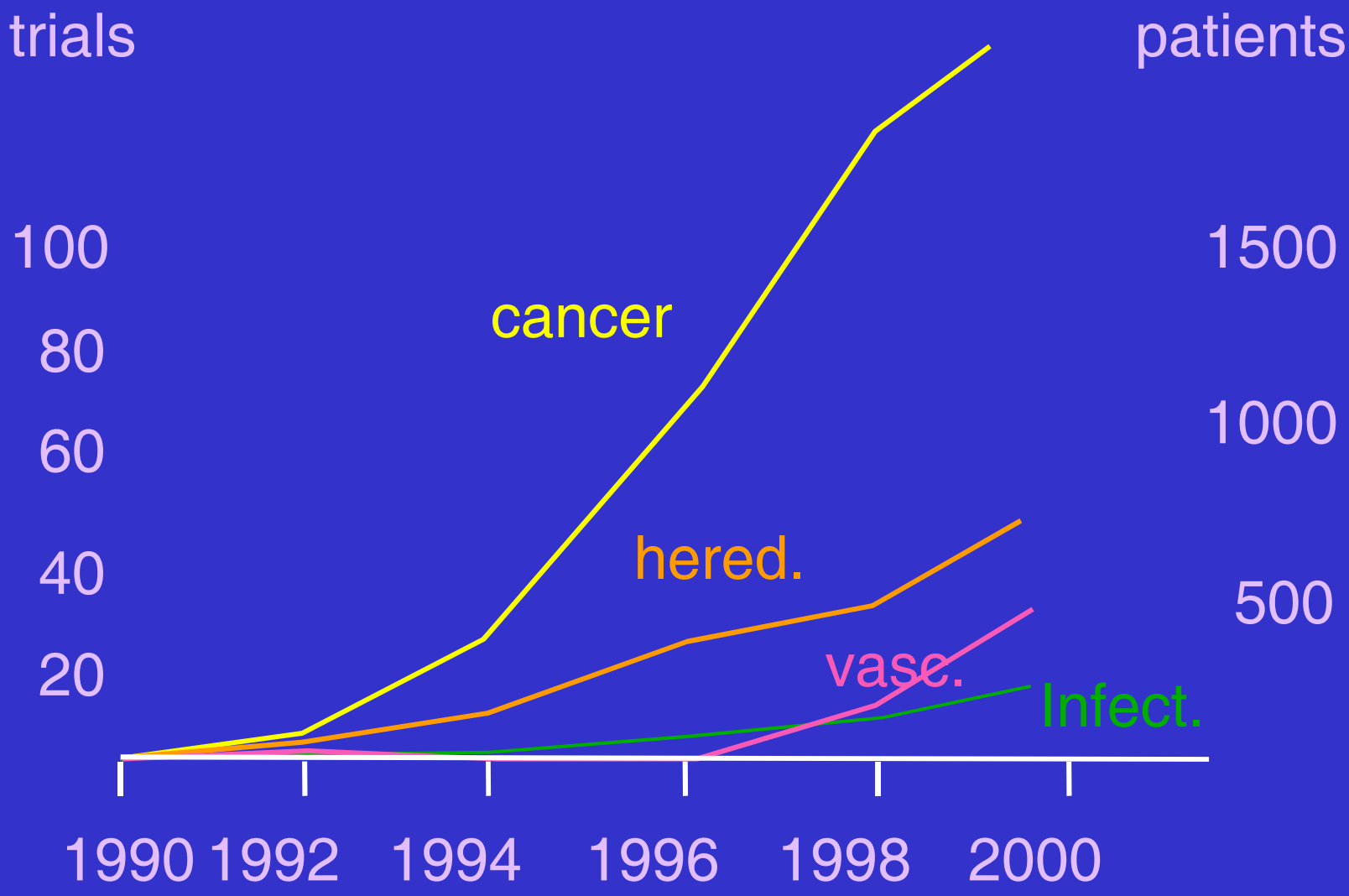
LIM domain only-2 (LMO-2) transcription factor
- Expressed in early hematopoietic progenitors
- Translocated in 10% of T-cell leukemias
Wu X. Transcription start regions in the human genome are favored targets for MLV integration. Science 2003; 300:1749-51.


DESARROLLO
Rag
Artemis
ATM
NBS
ADA
Precursor linfoide
SCID
Pre-BCR
Btk
μ
λ5
CD79
BLNK
Linfocito pre-B
Estroma
Timocito
CD45
CD4
HLA-II
Lck
CD3
HLA-I
CD8
Jak-3
γc
IL-7
IL-7R
SCID
FUNCION
Linfocito Tc
IL-12R
IL-12
Fagocito
Mycobacteria
NADPHox
WASP
LFA1
SAP
CD150
AID
UNG
B
IKKγ
CD40
CD40L
HLA-I
HLA-II
Tc
Th
CD8
CD4
IκBα
IRAK4
TLR4
IKKγ
Lyst
ICOSL
ICOS
STAT-1
Perforinas
Linfocito B
Linfocito Th
IFN-γ
IFN-γR
Endotelio
© 2004, EDITORIAL MÉDICA PANAMERICANA, S.A

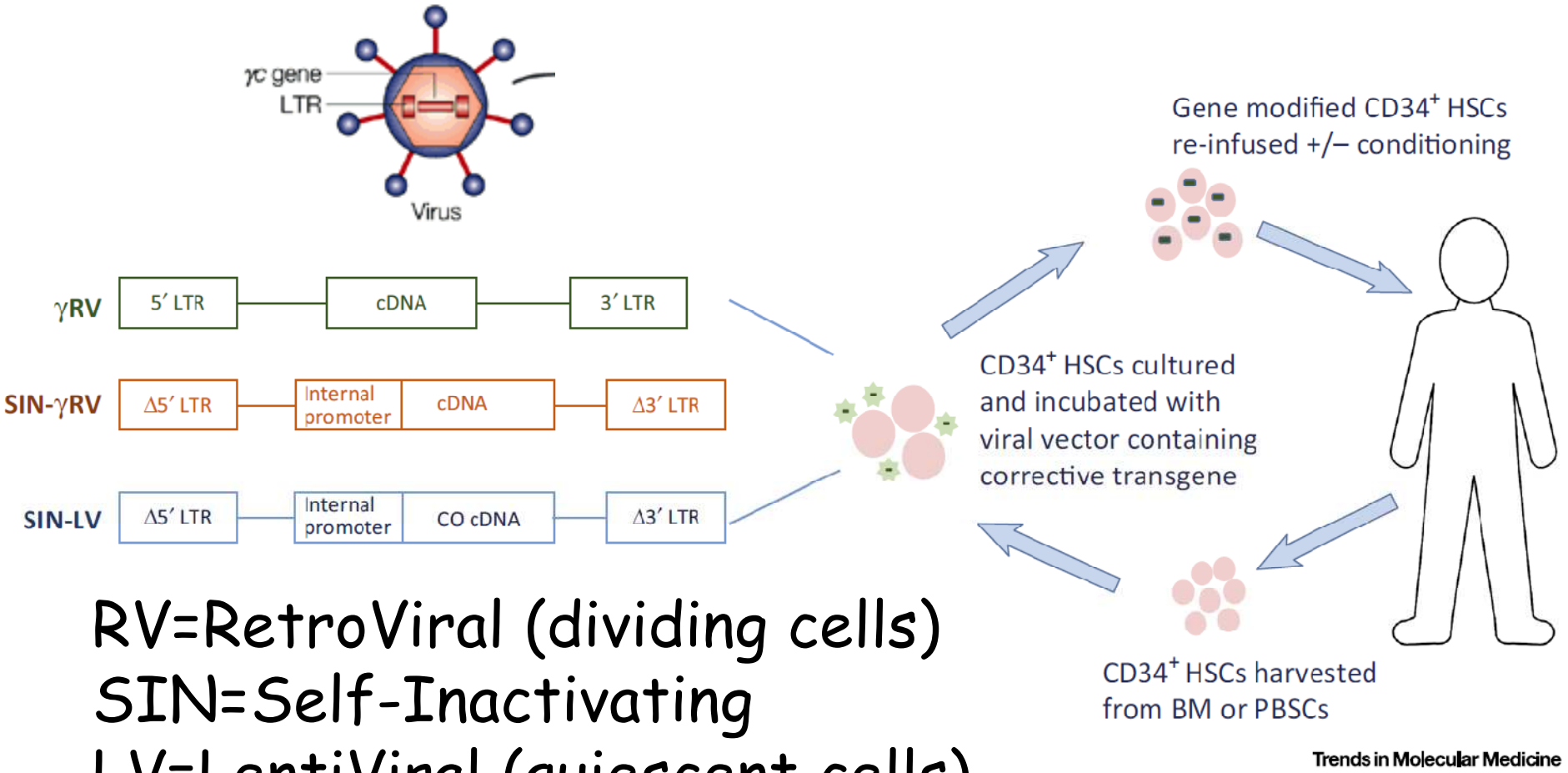
Limitaciones

- ¿Gen conocido? (CVID e IgAD NO)
  - Cribado neonatal (prueba del talón)!
- ¿Recesivo? (ALPS NO)
- ¿Selectividad diana? (MHC-II en granulocitos)
- ¿Regulación transgén? (Rag en T o B maduros)
- Oncogénesis insercional (salvo en ADA SCID)

La oncogénesis insercional no es frecuente en terapia génica: ¿culpa de la ventaja selectiva en IDP?

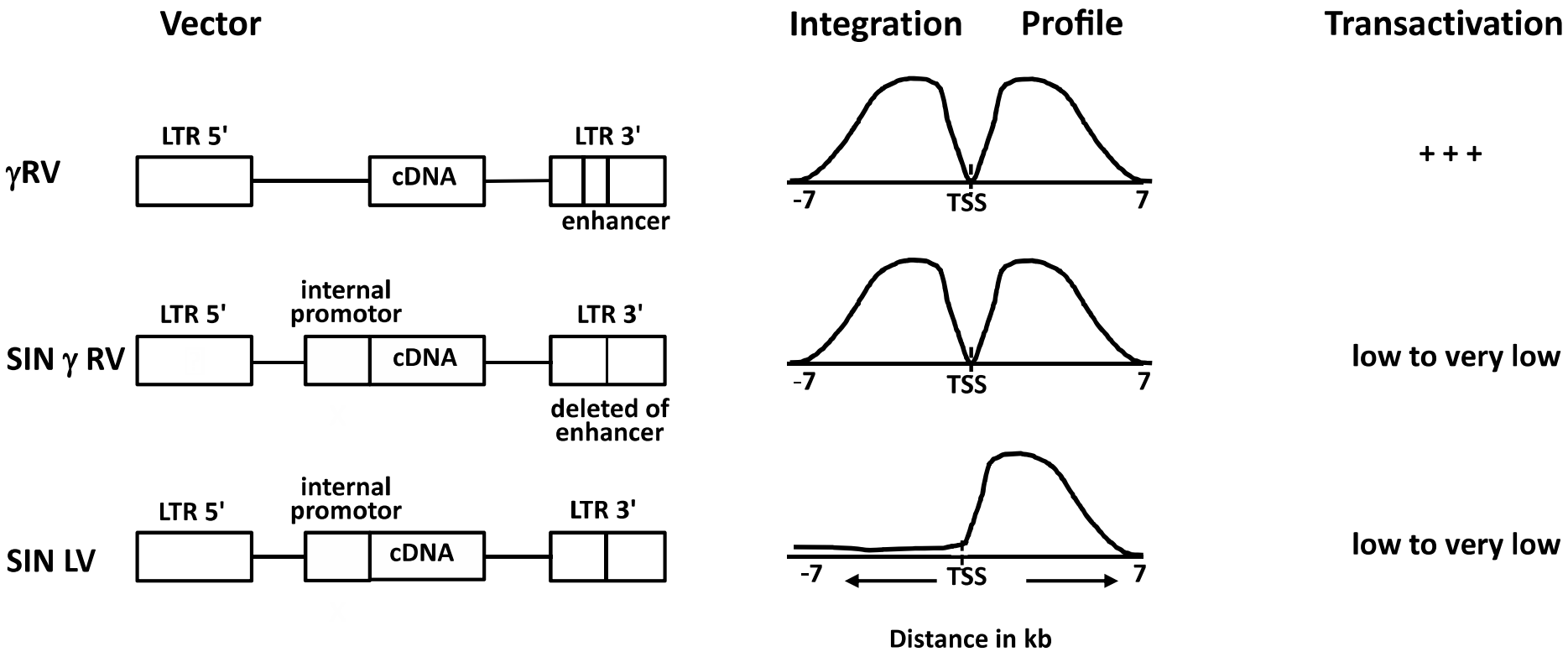


Solución: cambiar el vector

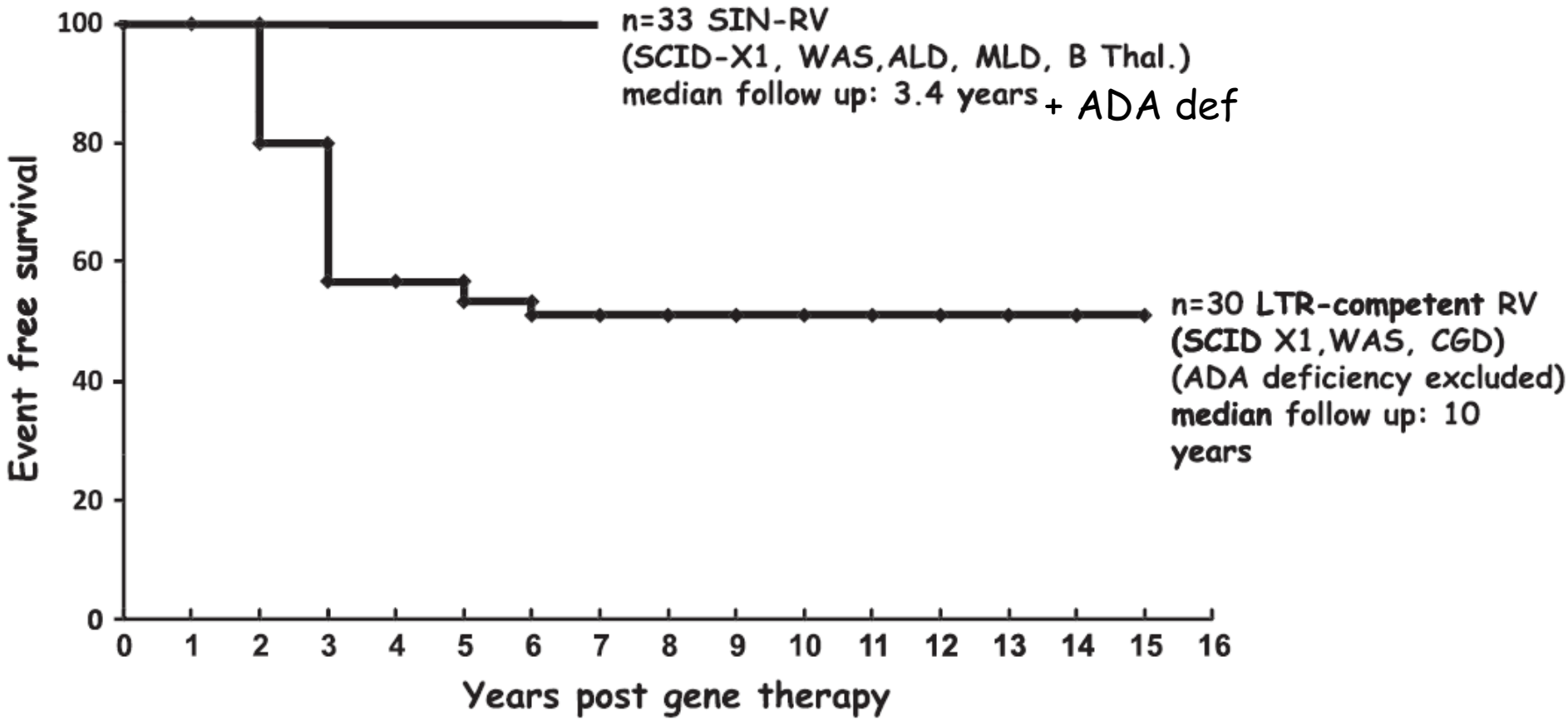


RV=RetroViral (dividing cells)
SIN=Self-Inactivating
LV=LentiViral (quiescent cells)

Los nuevos vectores no transactivan (oncogenes)



Cambiar el vector funciona



¿Para quién los vectores SIN?

Table 1. PID diseases and gene therapy

	First-generation γRV vectors	Second-generation SIN vectors	
	Effective	Effective	Planned
SCID X1	+[a]	+	
ADA deficiency	+	+	
WAS	+[b]	+	
SCID Rag-1			+
SCID Artemis			+
X-linked chronic granulomatous disease	+[b]		+
Leukocyte adhesion deficiency			+
HLH perforin deficiency			+[c]
HLH Munc13-4 deficiency			+[c]
XLP1			+[c]
IPEX (FoxP3 deficiency)			+[c]

Oncogénesis
a- 25%
b- 80-100%

En $CD34^+$ o T

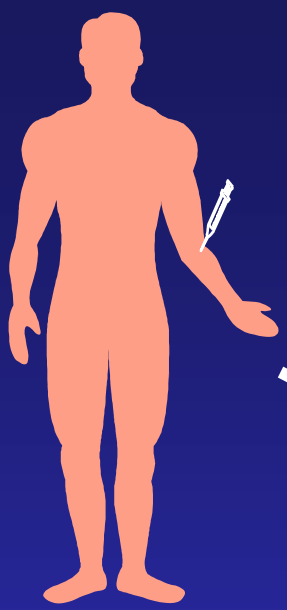
Clientes posibles: 10% de las IDP

Curr Opin Allergy Clin Immunol 2014, 14:501–508

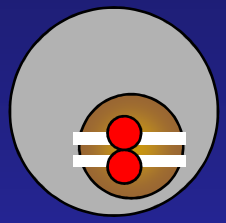
Table 1. Disease distribution according to International Union of Immunological Societies groups

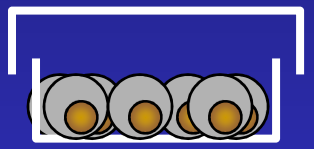
	France	Germany	Spain	Turkey	UK	ASCIA	LASID	USIDNET	ESID
antibody deficiencies thereof, CVID	14.0%	7.4%	32.0%		36.3%			10.6% (XLA)	
Combined ID	17.4%	4.4%	2%	2.0%	9.9%	30.1%	9.5%	6,9% (SCID)	7.5%
Phagocytic	18.7%	8.1%	2%	3.5%	4.8%	6.3%	8.6%	12,5% (CGD/LAD)	8.8%
Immune dysregulation	6.6%	3.4%	1%	0.7%	1.4%		3.3%		3.9%
Complement deficiencies	0.5%	1.0%	13%		9.2%		2.8%		4.9%
Other well defined	14.1%	12.5%	6%	5.5%	13.9%		22.6%	11,4% (DiGeorge)	13.9%
Autoinflammatory		3.1%	1%	13.3%	1.0%				2.0%
Innate immunity		NA.	1%	1.0%	0.1%				1.0%
Unclassified Ids		4.0%	1%						1.4%

LA TERAPIA GENICA ES SUPLEMENTACION GENICA, NO RECOMBINACION HOMOLOGA



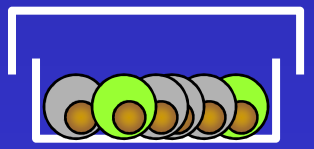
CELULAS AFECTADAS
(EX VIVO)

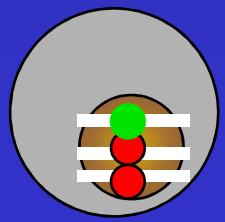




VECTOR

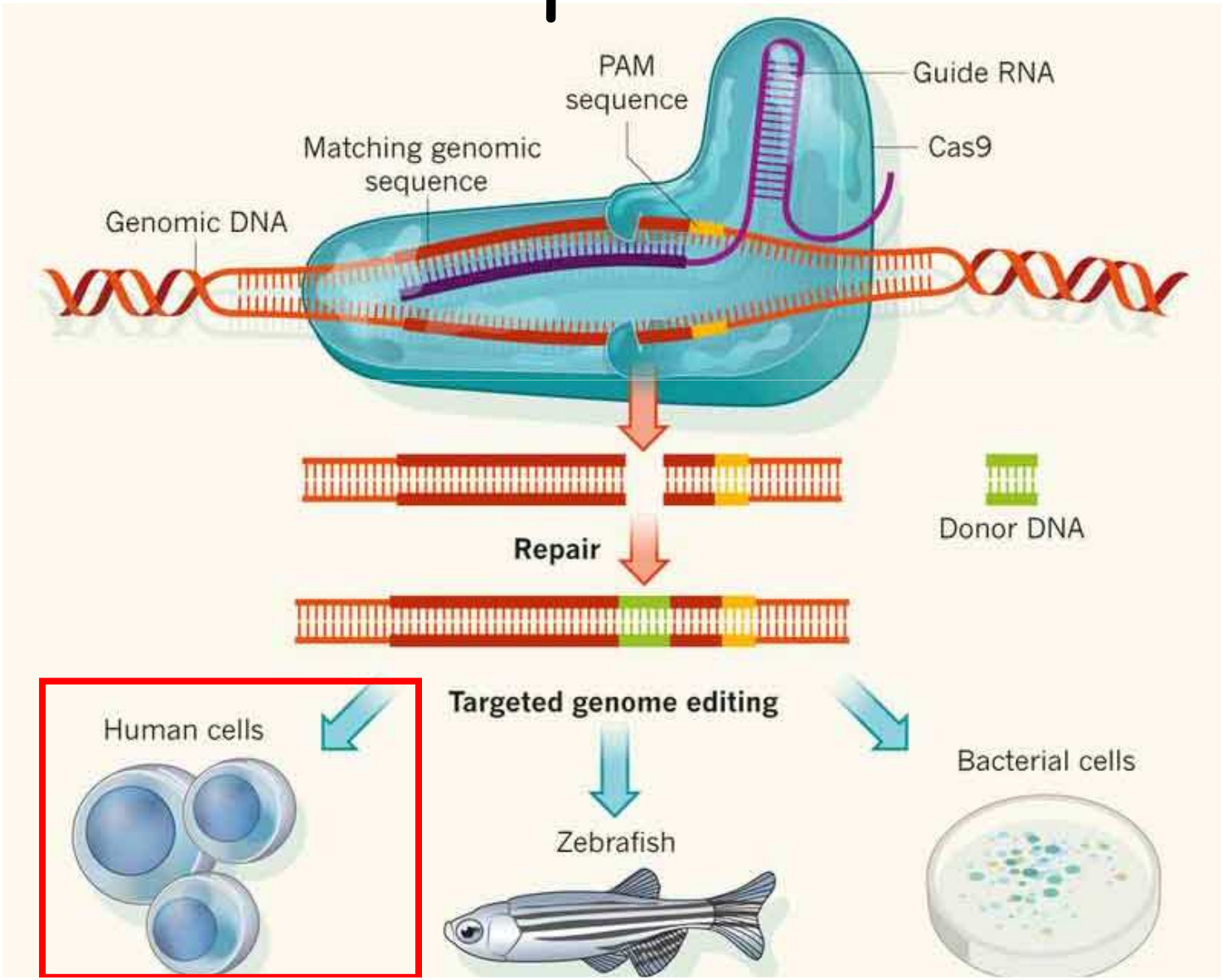
(30%)





FENOTIPO
FUNCION

¿Recombinación homóloga? Crispr/Cas9



Zinc finger proteins

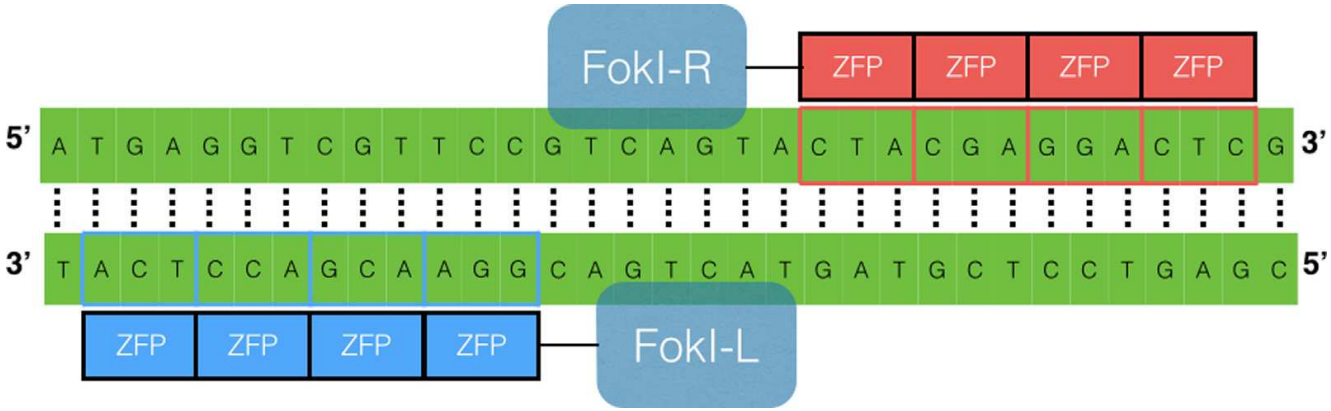


Fig. 2. An illustration of a zinc finger nuclease (ZFN) pair is shown. A ZFN consists of left and right monomers of typically 3 to 6 zinc finger proteins (ZFPs) and the FokI restriction enzyme, which cleaves DNA when a dimer is formed. Each ZFP recognizes a target 3 base pair DNA sequence.

Transcription Activator-Like Effector Nuclease

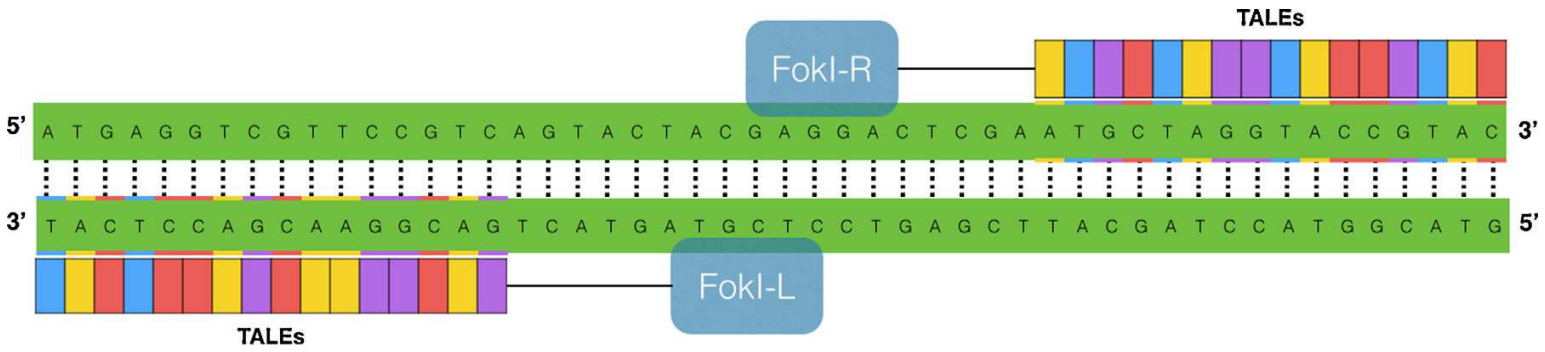


Fig. 3. An illustration of a transcription activator-like effector nuclease (TALEN) pair is shown. A TALEN consists of left and right monomers of TALE proteins and the FokI restriction enzyme, which cleaves DNA when a dimer is formed. Each TALE protein recognizes single DNA base pair.

Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats

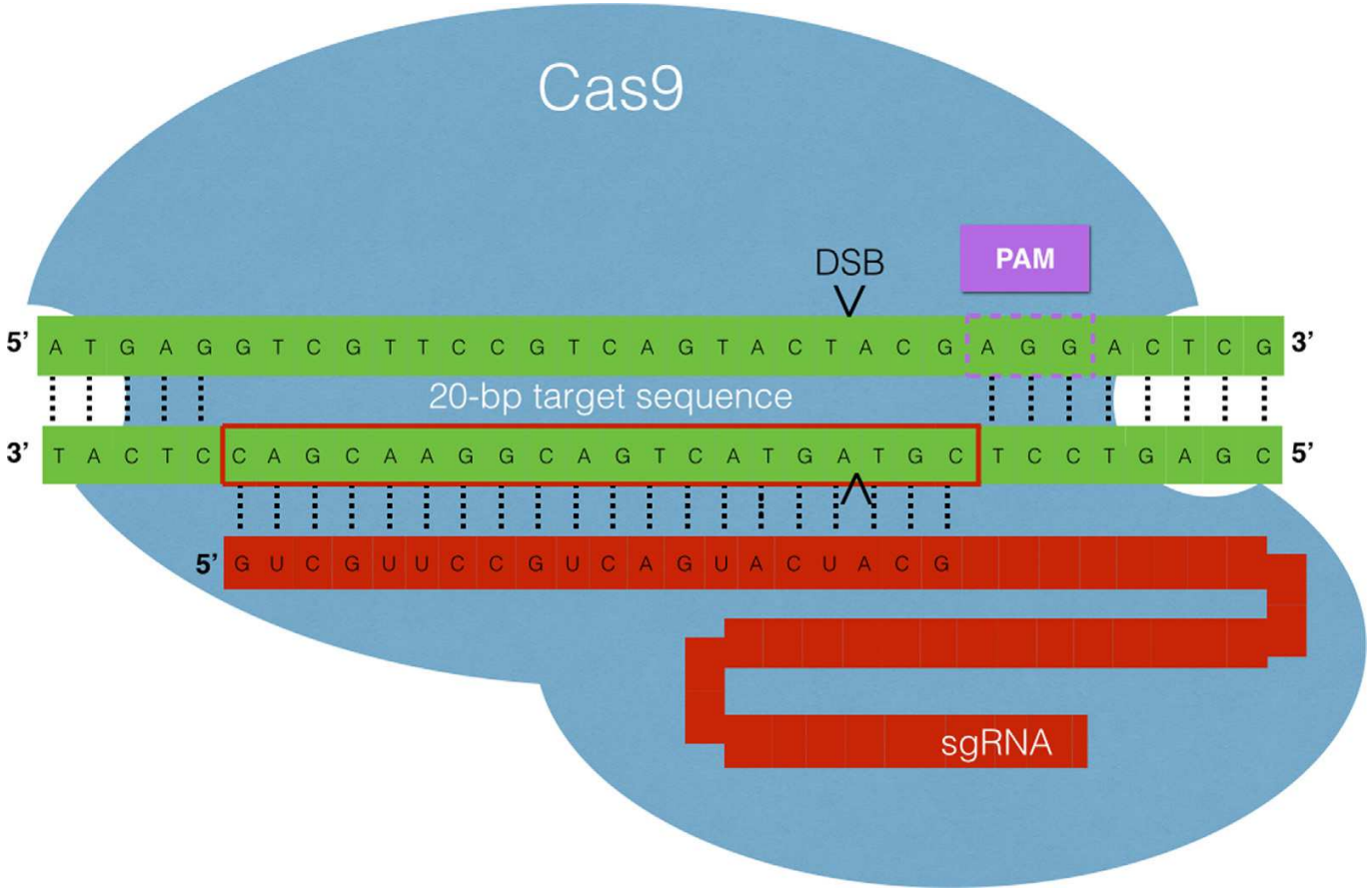


Fig. 4. An illustration of the CRISPR/Cas9 endonuclease is shown. The Cas9 endonuclease targets a 20-bp DNA sequence upstream of the PAM sequence (NGG) based on a designed single guide RNA sequence with homology to the target DNA sequence. After a match is made between the sgRNA and target DNA sequence, a DSB is introduced by Cas9 monomer 3-bp upstream of the PAM, as shown.

Terapia génica en inmunodeficiencias

- ¿Para quién?
  - Para IDP graves (con reversiones naturales)
- ¿Cómo?
  - Mejor con vectores lentivirales SIN
- ¿Para cuándo?
- ¿Dónde?

Pronto: Glybera aprobado en 2012

- 3×10^{12} virus/ml solución inyectable
- Gen de la lipoproteína lipasa humana
- Virus adenoasociado (*AAV*) serotipo 1
- Promotor del citomegalovirus
- Regulador postranscripcional virus de la hepatitis de la marmota
- LTR invertidas derivadas del *AAV2*
- Producido en células de insectos con baculovirus recombinantes

Terapia génica en inmunodeficiencias

- ¿Para quién?
  - Para IDP graves (con reversiones naturales)
- ¿Cómo?
  - Mejor con vectores lentivirales SIN
- ¿Para cuándo?
  - Para pronto
- ¿Dónde?

¿Dónde?

- París
- Milán
- Londres
- Frankfurt, Zurich
- Boston, Los Angeles, Memphis, Bethesda

Terapia génica en inmunodeficiencias

- ¿Para quién?
  - Para IDP graves (con reversiones naturales)
- ¿Cómo?
  - Mejor con vectores lentivirales SIN
- ¿Para cuándo?
  - Para pronto
- ¿Dónde?
  - Europa y USA

¿Dónde?

Table 1. Ongoing Gene Therapy Clinical Trials for Primary Immunodeficiency

Disease	*Country*	*Sponsor*	*Vector*	*Outcome*	*Reference*	*Clinical Trials.gov ref no.*
SCID-X1	France UK US	Assistance Publique—Hôpitaux de Paris, Great Ormond Street Hospital, Children's Hospital Boston	SIN γ-RV	8/9 patients alive, immune recovery with clinical benefit	Hacein-Bey-Abina et al.[19]	NCT01410019 NCT01175239 NCT01129544
SCID-X1	US	St. Jude Children's Research Hospital, National Institute of Allergy and Infectious Diseases	SIN-LV	Two young adult patients, improved IgG production	De Ravin et al.[30]	NCT01512888 NCT01306019
ADA-SCID	Italy	GlaxoSmithKline	γ-RV	15/18 patients off ERT, clinical benefit	Aiuti et al.,[54] Cicalese et al.[117]	NCT00598481
ADA- SCID	UK	Great Ormond Street Hospital	γ-RV	4/6 patients off ERT, clinical benefit	Gaspar et al.[55]	NCT01279720
ADA- SCID	US	Donald B. Kohn, UCLA	γ-RV	9/10 patients off ERT, clinical benefit	Candotti et al.,[56] Carbonaro Sarracino et al.[118]	NCT00794508
ADA-SCID	UK US	Great Ormond Street Hospital; Donald B. Kohn, UCLA	SIN-LV	5 patients, immune and metabolic recovery	Gaspar et al.[119]	NCT01380990 NCT01852071
WAS	Italy	IRCCS San Raffaele	SIN-LV	6 patients, immune, hematological and clinical improvement	Aiuti et al.,[87] Scaramuzza et al.[120]	NCT01515462
WAS	France UK	Genethon	SIN-LV	France: 4/5 patients alive, clinical improvement	Bosticardo et al.[89]	NCT01347346 NCT01347242
WAS	US	Children's Hospital Boston	SIN-LV	2 patients, immune and hematological improvement	Williams[121]	NCT01410825
CGD	Germany	Hubert Serve, Johann Wolfgang Goethe University Hospitals	SIN γ-RV			NCT01906541
CGD	Germany Switzerland UK US	Genethon UCLA	SIN-LV		Kaufmann et al.[109]	NCT01855685 NCT02234934

ADA, adenosine deaminase; CGD, chronic granulomatous disease; ERT, enzyme replacement therapy; LV, lentiviral; RV, retroviral vector; SCID, severe combined immunodeficiency; SIN, self-inactivating; WAS, Wiskott–Aldrich syndrome.

Studies are classified as active and ongoing based on information retrieved from ClinicalTrials.gov. Updated information on recruitment status can be found on ClinicalTrials.gov.

¿PARA QUIÉN? (γc, ADA)

- Sin alternativa (mortal, intratable: TX, ADA)
- Con reversiones naturales (γc, ADA, WAS)
- Gen conocido y recesivo. Modelo animal.
- Sin selectividad de expresión
- ¿Eficiencia? VENTAJA SELECTIVA
- ¿Estabilidad? LONGEVIDAD T (10 AÑOS)
- Sin regulación
- Ej: IL7Rα, Jak3, WASP, Zap70, Rag, Artemis, CD45, Lck, Btk, λ5, μ, Igα, BLNK, (CD40L, MHC)

TERAPIA GENICA DE LAS INMUNODEFICIENCIAS CONGENITAS: EL FUTURO

- Recombinación homóloga

- Vectores más seguros (suicide, on/off, self-inactivating, insulator) ONCORRETRO NO, LENTI SI

- Selectivos de diana y regulables

- Más eficientes y estables

- Sin necesidad de ventaja selectiva natural

- Mapas de inserción, inserción selectiva

Conclusiones

- La terapia génica funciona en IDP
- Puede ser alternativa al trasplante de precursores, cuando no hay donante
- Los problemas técnicos se van solventando
- Las aplicaciones comerciales no tardarán

Más información

Inmunodeficiencias congénitas

- Grupo de ID de la SEI (GISEI)
- Registro Español de ID (REDIP)
- Sociedad Europea para las ID (ESID)
- Fundación Americana para las ID (IDF)
- Fundación Jeffrey Modell (JMF)
- US ID network
- RAPID (Asian PID)
- World PID week: 22 al 29 abril (day of immunology)
- Asociación Española de Deficits Inmunitarios Primarios (AEDIP)
- Associació Catalana de Dèficits Immunitaris Primaris (ACADIP)

Terapia génica

- Sociedad Española de Terapia Génica
- Sociedad Europea de Terapia Génica
- Sociedad Americana de Terapia Génica

José R. Regueiro
Inmunología
Facultad de Medicina
Universidad Complutense
regueiro@med.ucm.es

Los misterios del sistema inmunitario

Cómo protege nuestro cuerpo

FUNDACIÓN DR. ANTONIO ESTEVE 30 años

SEI Sociedad española de Inmunología

EFIS European Federation of Immunological Societies

¿Cómo lo consigo?

1. ¡Es gratis!
2. Entra en www.esteve.org/misterios-sistema-inmunitario/ o en www.interactive-immunity.net/
3. Deja tus datos y descárgate el pdf