



República Federativa do Brasil  
Ministério da Economia  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 112019022893-4 A2



(22) Data do Depósito: 01/05/2018

(43) Data da Publicação Nacional: 19/05/2020

(54) Título: COMBINAÇÃO DE UMA TERAPIA CELULAR E UM COMPOSTO IMUNOMODULATÓRIO

(51) Int. Cl.: A61K 35/17; A61K 31/454; A61P 35/00.

(30) Prioridade Unionista: 01/05/2017 US 62/492,947; 01/11/2017 US 62/580,433; 08/12/2017 US 62/596,753; 23/08/2017 US 62/549,390; 29/07/2017 US 62/538,670.

(71) Depositante(es): JUNO THERAPEUTICS INC.

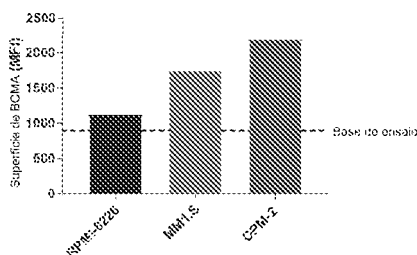
(72) Inventor(es): MICHAEL PORTS; MELISSA WORKS; OLEKSANDR BATUREVYCH; RUTH SALMON; RONALD JAMES JR. HAUSE; TIMOTHY G. JOHNSTONE; DAVID G. KUGLER; JON JONES; NEHA SONI.

(86) Pedido PCT: PCT US2018030545 de 01/05/2018

(87) Publicação PCT: WO 2018/204427 de 08/11/2018

(85) Data da Fase Nacional: 31/10/2019

(57) Resumo: A presente invenção refere-se, em alguns aspectos, aos métodos, composições e usos envolvendo imunoterapias, tais como terapia de célula adotiva, por exemplo, terapia de célula T, e um composto imunomodulatório, tal como um análogo ou derivado estrutural ou funcional de talidomida e/ou um inibidor de E3-ubiquitina ligase. Os métodos, composições e usos fornecidos incluem aqueles para terapias de combinação envolvendo a administração ou uso de um ou mais compostos imunomodulatórios em conjunção com uma terapia de célula T, tal como uma terapia de célula T geneticamente modificada envolvendo células T modificadas com um receptor recombinante, tal como células T expressando o receptor de antígeno quimérico (CAR). Além disso, são fornecidos composições, métodos de administração aos indivíduos, artigos de fabricação e kits para uso nos métodos. Em alguns aspectos, as características dos métodos e células fornecem atividade, eficácia, persistência, expansão e/ou proliferação de células T aumentada ou melhorada quanto à terapia de célula adotiva ou células T endógenas recrutadas por agentes imunoterapêuticos.



Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**COMBINAÇÃO DE UMA TERAPIA CELULAR E UM COMPOSTO IMUNOMODULATÓRIO**".

Referência Cruzada a Pedidos Relacionados

Este pedido reivindica a prioridade do Pedido Provisório Norte Americano nº 62/492.947, depositado em 1 de Maio de 2017, intitulado "COMBINAÇÃO DE UMA TERAPIA CELULAR E UM COMPOSTO IMUNOMODULATÓRIO", Pedido Provisório Norte Americano nº 62/538.670, depositado em 29 de Julho de 2017, intitulado "COMBINAÇÃO DE UMA TERAPIA CELULAR E UM COMPOSTO IMUNOMODULATÓRIO", Pedido Provisório Norte Americano nº 62/549.390, depositado em 23 de Agosto de 2017, intitulado "COMBINAÇÃO DE UMA TERAPIA CELULAR E UM COMPOSTO IMUNOMODULATÓRIO", Pedido Provisório Norte Americano nº 62/580.433, depositado em 1 de novembro de 2017, intitulado "COMBINAÇÃO DE UMA TERAPIA CELULAR E UM COMPOSTO IMUNOMODULATÓRIO", e Pedido Provisório Norte Americano nº 62/596.753, depositado em 8 de Dezembro de 2017, intitulado "COMBINAÇÃO DE UMA TERAPIA CELULAR E UM COMPOSTO IMUNOMODULATÓRIO", os teores dos quais são incorporados por referência em sua totalidade.

Incorporação por Referência de Listagem de Sequência

O presente pedido está sendo depositado junto com a Listagem de Sequência em formato eletrônico. A Listagem de Sequência é fornecida como um arquivo intitulado 735042009640SeqList.TXT, criado em 30 de abril de 2018, que tem 328.355 bites em tamanho. A informação no formato eletrônico da Listagem de Sequência é incorporada por referência em sua totalidade.

Campo

A presente invenção refere-se, em alguns aspectos, aos métodos,

composições e usos envolvendo imunoterapias, tal como terapia com célula adotiva, por exemplo, uma terapia com célula T, e um composto imunomodulatório, tal como um análogo ou derivado estrutural ou funcional de talidomida e/ou um inibidor de E3-ubiquitina ligase. Os métodos, composições e usos fornecidos incluem aqueles para terapias de combinação envolvendo a administração ou uso de um ou mais compostos imunomodulatórios em conjunção com uma terapia com célula T, tal como uma terapia com célula T geneticamente modificada envolvendo células modificadas com um receptor recombinante, tal como células T expressando receptor de antígeno quimérico (CAR). São também fornecidos composições, métodos de administração aos indivíduos, artigos de fabricação e *kits* para uso nos métodos. Em alguns aspectos, as características dos métodos e células fornecem atividade, eficácia, persistência, expansão e/ou proliferação aumentadas ou melhoradas de células T para terapia com célula adotiva ou células T endógenas recrutadas por agentes imunoterapêuticos.

#### Antecedentes

Várias estratégias estão disponíveis para imunoterapia, por exemplo, administrando células modificadas para terapia adotiva. Por exemplo, estratégias estão disponíveis para células T modificadas expressando receptores de antígeno geneticamente modificados, tal como CARs, e administrando composições contendo tais células aos indivíduos. Estratégias melhoradas são necessárias para melhorar a eficácia das células, por exemplo, melhorando a persistência, atividade e/ou proliferação das células na administração aos indivíduos. São fornecidos métodos, composições, *kits* e sistemas que atendem a tais necessidades.

#### Sumário

São fornecidos aqui terapias de combinação envolvendo a administração de uma imunoterapia envolvendo a função ou atividade da célula T, tal como uma terapia com célula T, e um composto imunomodulatório.

rio, tal como um análogo ou derivado estrutural ou funcional de talidomida e/ou um inibidor de E3-ubiquitina ligase. Em alguns aspectos, os métodos fornecidos para realçar ou modular a proliferação e/ou atividade de atividade de célula T associada com a administração de uma imunoterapia ou agente imunoterapêutico, tal como uma composição incluindo células para terapia com célula adotiva, por exemplo, tal como uma terapia com célula T (por exemplo, células expressando CAR). Em algumas modalidades, a terapia de combinação geralmente envolve a administração de um composto imunomodulatório, tal como um análogo estrutural ou funcional de talidomida e/ou um inibidor de E3-ubiquitina ligase (por exemplo, lenalidomida (3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona)), e administração da terapia com célula T, tal como uma composição incluindo células para terapia com célula adotiva, por exemplo, tal como uma terapia com célula T (por exemplo, células T expressando CAR).

São fornecidos aqui métodos de tratamento que envolvem: (a) administração de uma terapia com célula T a um indivíduo tendo uma doença ou condição; e (b) administração ao indivíduo de um composto imunomodulatório.

São fornecidos aqui métodos de tratamento que envolvem a administração de uma terapia com célula T a um indivíduo tendo uma doença ou condição, em que, no momento da iniciação da administração da terapia com célula T, o indivíduo foi administrado, e/ou é submetido ao tratamento com, um composto imunomodulatório e/ou uma amostra de sangue ou biópsia do indivíduo contém níveis detectáveis de células T de uma terapia com célula T modificada.

São fornecidos aqui métodos de tratamento que envolvem administrar um composto imunomodulatório a um indivíduo tendo uma doença ou condição, em que, no momento da iniciação de administração do composto imunomodulatório, o indivíduo foi previamente administrado com



uma terapia com célula T para o tratamento da doença ou condição e/ou uma amostra de sangue ou biópsia do indivíduo contém níveis detectáveis de células T de uma terapia com célula T modificada. Em algumas modalidades, o método, desse modo, previne, reduz ou melhora um ou mais sintomas ou resultados da doença ou condição.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, (a) a quantidade do composto imunomodulatório administrada é insuficiente, como um único agente e/ou na ausência de administração da terapia com célula T, para melhorar, reduzir ou impedir a doença ou condição ou um sintoma ou resultado da mesma; e/ou (b) a quantidade do composto imunomodulatório administrada é insuficiente, como um único agente e/ou na ausência de administração da terapia com célula T, para melhorar, reduzir ou impedir a doença ou condição no indivíduo ou um sintoma ou resultado da mesma; e/ou (c) o método, desse modo, reduz ou melhora um sintoma ou resultado ou carga da doença ou condição para um grau que é menor do que a combinação (i) do grau de redução ou melhora realizada pela administração do agente imunomodulatório sozinho, opcionalmente, em média, em uma população de indivíduos tendo a doença ou condição, e (ii) do grau de redução ou melhora pela administração da terapia com célula T sozinha, opcionalmente, em média, em uma população de indivíduos tendo a doença ou condição; e/ou (d) a quantidade do composto imunomodulatório administrada no método, ou administrada em uma ou mais doses, é uma dose no nível de manutenção do composto, ou corresponde à dose do composto administrada aos indivíduos tendo exibido uma resposta, opcionalmente uma resposta completa, após a administração do composto para o tratamento.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, a doença ou condição é refratária ou resistente ao composto imunomodulatório e/ou tornou-se refratária ou resistente aos mesmos

após o tratamento com o composto imunomodulatório; e/ou o indivíduo ou doença ou condição foi determinado ter uma mutação ou fator que confere resistência da doença ou condição ao tratamento com o composto imunomodulatório.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, o composto imunomodulatório é selecionado de: fármacos imunomodulatórios (IMiDs), análogos de talidomida, derivados de talidomida, compostos que interagem com e/ou se ligam ao cereblon (CRBN) e/ou um ou mais membros do complexo de E3 ubiquitina CRBN-ligase, inibidores de Ikaros (IKZF1), inibidores de Aiolos (IKZF3), compostos que realçam ou promovem a ubiquitinação e/ou degradação de Ikaros (IKZF1) e/ou Aiolos (IKZF3).

São fornecidos aqui métodos de tratamento que envolvem (a) administrar uma terapia com célula T a um indivíduo tendo uma doença ou condição; e (b) administração ao indivíduo de um composto imunomodulatório, em que o referido composto imunomodulatório é selecionado do grupo que consiste em lenalidomida (3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona), pomalidomida (4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindol-1,3-diona), ou avadomida (3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona), um estereoisômero, um enantiômero ou uma mistura de enantiômeros do mesmo, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo.

São fornecidos aqui métodos de tratamento que envolvem a administração de uma terapia com célula T a um indivíduo tendo uma doença ou condição, em que, no momento da iniciação da administração da terapia com célula T, o indivíduo foi administrado, e/ou é submetido ao tratamento com, um composto imunomodulatório e/ou uma amostra de sangue ou biópsia do indivíduo contém níveis detectáveis de células T de uma terapia com célula T modificada, em que o referido composto

imunomodulatório é selecionado do grupo que consiste em lenalidomida (3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona), pomalidomida (4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindol-1,3-diona), ou avadomida (3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona), um estereoisômero, um enantiômero ou uma mistura de enantiômeros do mesmo, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo.

São fornecidos aqui métodos de tratamento que envolvem a administração de um composto imunomodulatório a um indivíduo tendo uma doença ou condição, em que, no momento da iniciação de administração do composto imunomodulatório, o indivíduo foi previamente administrado com uma terapia com célula T para o tratamento da doença ou condição e/ou uma amostra de sangue ou biópsia do indivíduo contém níveis detectáveis de células T de uma terapia com célula T modificada, em que o referido composto imunomodulatório é selecionado do grupo que consiste em lenalidomida (3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona), pomalidomida (4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindol-1,3-diona), ou avadomida (3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona), um estereoisômero, um enantiômero ou uma mistura de enantiômeros do mesmo, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo.

São fornecidos aqui métodos de tratamento que envolvem (a) administração de uma terapia com célula T a um indivíduo tendo uma doença ou condição; e (b) administração ao indivíduo de um composto imunomodulatório, em que o referido composto imunomodulatório é selecionado do grupo que consiste em lenalidomida (3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona), pomalidomida (4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindol-1,3-diona), ou avadomida (3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona), um este-

reoisômero, um enantiômero ou uma mistura de enantiômeros do mesmo, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo, e em que a iniciação da administração do composto imunomodulatório está em um tempo: (1) pelo menos 2 dias após, pelo menos 1 semana após, pelo menos 2 semanas após, pelo menos 3 semanas após, ou pelo menos 4 semanas após, a iniciação da administração da terapia com célula T, e/ou é realizada 2 a 28 dias ou 7 a 21 dias após a iniciação da administração da terapia com célula T; e/ou (2) em ou após, opcionalmente imediatamente após ou dentro de 1 a 3 dias após: (i) pico ou nível máximo das células da terapia com célula T ser detectável no sangue do indivíduo; (ii) o número de células da terapia com célula T detectável no sangue, após ter sido detectável no sangue, é não detectável ou é reduzido, opcionalmente reduzido em comparação com um ponto de tempo anterior após administração da terapia com célula T; (iii) o número de células da terapia com célula T detectável no sangue é diminuído em ou mais do que 1,5 vezes, 2,0 vezes, 3,0 vezes, 4,0 vezes, 5,0 vezes, 10 vezes ou mais o número de pico ou máximo de células da terapia com célula T detectável no sangue do indivíduo após a iniciação da administração da terapia com célula T; (iv) em um momento após um nível de pico ou máximo das células da terapia com célula T ser detectável no sangue do indivíduo, o número de células de ou derivado das células T detectável no sangue do indivíduo é menor do que menor do que 10%, menor do que 5%, menor do que 1% ou menor do que 0.1% de células mononucleares de sangue periférico total (PBMCs) no sangue do indivíduo; (v) o indivíduo exibe progressão de doença e/ou tem recaída após remissão após tratamento com a terapia com célula T; e/ou (iv) o indivíduo exibe carga tumoral aumentada em comparação com a carga tumoral em um momento antes de ou após a administração das células T e antes de a iniciação da administração do composto imu-

nomodulatório.

São fornecidos aqui métodos de tratamento que envolvem a administração de um composto imunomodulatório a um indivíduo tendo sido administrada, antes da iniciação da administração do composto imunomodulatório, uma terapia com célula T para o tratamento de uma doença ou condição, em que o referido composto imunomodulatório é selecionado do grupo que consiste em lenalidomida (3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona), pomalidomida (4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindol-1,3-diona), ou avadomida (3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona), um estereoisômero, um enantiômero ou uma mistura de enantiômeros do mesmo, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo, e em que a iniciação da administração do composto imunomodulatório está em um tempo: (1) pelo menos 2 dias após, pelo menos 1 semana após, pelo menos 2 semanas após, pelo menos 3 semanas após, ou pelo menos 4 semanas após, a iniciação da administração da terapia com célula T, e/ou é realizada 2 a 28 dias ou 7 a 21 dias após a iniciação da administração da terapia com célula T; e/ou (2) em ou após, opcionalmente imediatamente após ou dentro de 1 a 3 dias após: (i) pico ou nível máximo das células da terapia com célula T ser detectável no sangue do indivíduo; (ii) o número de células da terapia com célula T detectável no sangue, após ter sido detectável no sangue, é não detectável ou é reduzido, opcionalmente reduzido em comparação com um ponto de tempo anterior após administração da terapia com célula T; (iii) o número de células da terapia com célula T detectável no sangue é diminuído em ou mais do que 1,5 vezes, 2,0 vezes, 3,0 vezes, 4,0 vezes, 5,0 vezes, 10 vezes ou mais o número de pico ou máximo de células da terapia com célula T detectável no sangue do indivíduo após a iniciação da administração da terapia com célula T; (iv) em um momento após um nível

de pico ou máximo das células da terapia com célula T ser detectável no sangue do indivíduo, o número de células de ou derivado das células T detectável no sangue do indivíduo é menor do que menor do que 10%, menor do que 5%, menor do que 1% ou menor do que 0,1% de células mononucleares de sangue periférico total (PBMCs) no sangue do indivíduo; (v) o indivíduo exibe progressão de doença e/ou tem recaída após remissão após tratamento com a terapia com célula T; e/ou (iv) o indivíduo exibe carga tumoral aumentada em comparação com a carga tumoral em um momento antes de ou após a administração das células T e antes da iniciação da administração do composto imunomodulatório.

São fornecidos aqui métodos de tratamento que envolvem a administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto imunomodulatório, em que o referido composto imunomodulatório é selecionado do grupo que consiste em lenalidomida (3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona), pomalidomida (4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindol-1,3-diona), ou avadomida (3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona), um estereoisômero, um enantiômero ou uma mistura de enantiômeros do mesmo, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo, a um indivíduo tendo sido administrada, antes da iniciação da administração do composto imunomodulatório, uma terapia com célula T para o tratamento de uma doença ou condição, em que o indivíduo é aquele no qual no ou próximo ao dia 12 a 15, opcionalmente no ou próximo ao dia 14, após a iniciação da administração de uma terapia com célula T para o tratamento de uma doença ou condição: (i) o número de células da terapia com célula T no indivíduo é menor do que 75% do número médio de células da terapia com célula T ao mesmo tempo em uma pluralidade de indivíduos administrados com a mesma dose ou similar da terapia

com célula T; e/ou (ii) o número de células CD3+ ou CD8+ da terapia com célula T, opcionalmente células T CAR+, no sangue é menor do que 10 células por  $\mu\text{L}$ , menor do que 5 células por  $\mu\text{L}$  ou menor do que por 1 célula por  $\mu\text{L}$ .

São fornecidos aqui métodos de tratamento que envolvem (a) seleção de um indivíduo no qual no ou próximo ao dia 12 a 15, opcionalmente no ou próximo ao dia 14, após a iniciação da administração de uma terapia com célula T para o tratamento de uma doença ou condição: (i) o número de células da terapia com célula T no indivíduo é menor do que 75% do número médio de células da terapia com célula T ao mesmo tempo em uma pluralidade de indivíduos administrados com a mesma dose ou similar da terapia com célula T; e/ou (ii) o número de células CD3+ ou CD8+ da terapia com célula T, opcionalmente células T CAR+, no sangue é menor do que 10 células por  $\mu\text{L}$ , menor do que 5 células por  $\mu\text{L}$  ou menor do que 1 células por  $\mu\text{L}$ ; e (b) administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto imunomodulatório ao indivíduo, em que o referido composto imunomodulatório é selecionado do grupo que consiste em lenalidomida (3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona), pomalidomida (4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindol-1,3-diona), ou avadomida (3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona), um estereoisômero, um enantiômero ou uma mistura de enantiômeros do mesmo, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo.

São fornecidos aqui métodos de tratamento que envolvem a administração de uma terapia com célula T a um indivíduo tendo uma doença ou condição, em que o indivíduo foi administrado, antes de initiation da terapia com célula T, um composto imunomodulatório, em que o referido composto imunomodulatório é selecionado do grupo que consiste em: lenalidomida (3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-

il)piperidina-2,6-diona), pomalidomida (4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindol-1,3-diona), ou avadomida (3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona), um estereoisômero, um enantiômero ou uma mistura de enantiômeros do mesmo, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo, e em que o composto imunomodulatório é administrado em um ciclo compreendendo: (i) administração durante até 21 dias consecutivos, em que o ciclo compreende mais do que 30 dias começando na iniciação da administração do composto imunomodulatório; e/ou (ii) administração durante uma pluralidade de dias consecutivos seguida por um período de repouso durante o qual o composto imunomodulatório não é administrado, em que o período de repouso é maior do que 14 dias consecutivos; e/ou (iii) administração durante não mais do que 14 dias consecutivos.

São fornecidos aqui métodos de tratamento que envolvem a administração de um composto imunomodulatório a um indivíduo, o indivíduo tendo uma doença ou condição e tendo sido administrado com, uma terapia com célula T, em que o referido composto imunomodulatório é selecionado do grupo que consiste em: lenalidomida (3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona), pomalidomida (4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindol-1,3-diona), ou avadomida (3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona), um estereoisômero, um enantiômero ou uma mistura de enantiômeros do mesmo, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo, e em que o composto imunomodulatório é administrado em um ciclo compreendendo: (i) administração do composto imunomodulatório durante até 21 dias consecutivos, em que o ciclo compreende mais do que 30 dias começando na iniciação da administração do composto imunomodulatório; e/ou (ii) administração do composto imunomodulatório durante uma pluralidade



de dias consecutivos seguida por um período de repouso durante o qual o composto imunomodulatório não é administrado, em que o período de repouso é maior do que 14 dias consecutivos; e/ou (iii) administração do composto imunomodulatório durante não mais do que 14 dias consecutivos.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, a administração do composto imunomodulatório inclui: (i) pelo menos um ciclo de mais do que 30 dias começando na iniciação da administração do composto imunomodulatório, em que o ciclo inclui administração do composto, opcionalmente diária ou pelo menos diariamente, durante até 21 dias consecutivos e/ou em que a última administração do composto no ciclo está em ou menos do que 21 dias após a primeira administração do composto no ciclo; e/ou (ii) pelo menos dois ciclos, cada um dos pelo menos dois ciclos incluindo administração do composto durante uma pluralidade de dias consecutivos seguida por um período de repouso durante o qual o composto imunomodulatório não é administrado, em que o período de repouso é maior do que 14 dias consecutivos; e/ou (iii) administração, opcionalmente diária ou pelo menos diária, durante não mais do que 14 dias consecutivos.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, a iniciação da administração do composto imunomodulatório, ou a iniciação da administração do composto em pelo menos um ciclo, e a iniciação da administração da terapia com célula T são realizadas no mesmo dia ou dias consecutivos, opcionalmente de forma concorrente; e/ou pelo menos uma dose do composto imunomodulatório é administrada no mesmo dia ou dentro de um ou dois dias, antes ou subsequente à, administração da dose da terapia com célula T.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, a iniciação da administração do composto imunomodulatório, ou

a iniciação da administração do composto em pelo menos um ciclo, é antes da iniciação da administração da terapia com célula T.

São fornecidos aqui métodos de tratamento que envolvem a administração de uma terapia com célula T a um indivíduo tendo uma doença ou condição, em que o indivíduo foi administrado, antes da iniciação da terapia com célula T, um composto imunomodulatório, em que o ciclo inclui: (i) administração durante até 21 dias consecutivos, em que o ciclo inclui mais do que 30 dias começando na iniciação da administração do composto imunomodulatório; e/ou (ii) administração durante uma pluralidade de dias consecutivos seguida por um período de repouso durante o qual o composto imunomodulatório não é administrado, em que o período de repouso é maior do que 14 dias consecutivos; e/ou (iii) administração durante não mais do que 14 dias consecutivos. Em algumas modalidades, a iniciação da administração do composto imunomodulatório está dentro de 14 dias antes da iniciação da terapia com célula T.

Em algumas de qualquer uma das modalidades daqui, o composto imunomodulatório é selecionado do grupo que consiste em: análogos de talidomida; derivados de talidomida; compostos que interagem com e/ou se ligam ao cereblon (CRBN) e/ou um ou mais membros do complexo de E3 ubiquitina CRBN-ligase; inibidores de Ikaros (IKZF1); inibidores de Aiolos (IKZF3); e compostos que realçam ou promovem a ubiquitinação e/ou degradação de Ikaros (IKZF1) e/ou Aiolos (IKZF3).

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, administração do composto imunomodulatório é iniciada antes de administração da terapia com célula T começando: (i) em ou dentro de uma semana antes de ou subsequente à coleta, do indivíduo, de uma amostra contendo células T a serem processadas e/ou modificadas para produzir a terapia, opcionalmente em que xxxx a amostra é uma mastra de aférese; e/ou (ii) dentro de 14 dias antes da iniciação da

administração da terapia com célula T.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, a terapia com célula T inclui células modificadas para expressar um receptor recombinante. Em algumas modalidades, a modificação inclui uma ou mais etapas do processo de fabricação *ex vivo*, opcionalmente selecionado dentre: (1) isolamento de células de uma amostra biológica por leucaférese ou aférese; (2) seleção ou enriquecimento de células por métodos com base em imunoafinidade; (3) introdução de um ácido nucleico recombinante, opcionalmente um vetor viral, em células; (4) incubação de células, opcionalmente células modificadas, na presença de uma ou mais condições de estimulação; (5) formulação de células na presença de um crioprotetor; e/ou (6) formulação de células para administração a um indivíduo, opcionalmente na presença de um excipiente farmacologicamente aceitável.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, o método inclui a realização do processo de fabricação e/ou também incluindo a modificação de células T para expressar um receptor recombinante, desse modo gerando a terapia com célula T. Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, o método inclui contatar as células com um composto imunomodulatório durante uma ou mais das etapas do processo de fabricação *ex vivo*.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, a terapia com célula T inclui células modificadas produzidas por um processo de fabricação incluindo a incubação de células, *ex vivo*, na presença do composto imunomodulatório.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, o método envolve incubação de células na presença de uma ou mais condições de estimulação, que é realizada na presença de um composto imunomodulatório.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos

aqui, a iniciação da administração do composto imunomodulatório está dentro de 10 dias, 7 dias, 4 dias, 3 dias ou 2 dias antes da iniciação da administração da terapia com célula T. Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, iniciação de administração do composto imunomodulatório em pelo menos um ciclo é após a iniciação da administração da terapia com célula T.

São fornecidos aqui métodos de tratamento que envolvem a administração de um composto imunomodulatório a um indivíduo, o indivíduo tendo uma doença ou condição e tendo sido administrado com, uma terapia com célula T, em que o composto imunomodulatório é administrado em um ciclo incluindo: (i) administração do composto imunomodulatório durante até 21 dias consecutivos, em que o ciclo inclui mais do que 30 dias começando na iniciação da administração do composto imunomodulatório; e/ou (ii) administração do composto imunomodulatório durante uma pluralidade de dias consecutivos seguida por um período de repouso durante o qual o composto imunomodulatório não é administrado, em que o período de repouso é maior do que 14 dias consecutivos; e/ou (iii) administração do composto imunomodulatório durante não mais do que 14 dias consecutivos.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, a terapia com célula T é uma em que o número máximo de uma população de células da terapia, que opcionalmente são células CD3+ ou CD8+ da terapia com célula T e/ou são opcionalmente células T CAR+, no sangue é ((a) em média em uma pluralidade de indivíduos tratados com a terapia com célula T na ausência de administração do composto imunomodulatório, ou (b) no indivíduo following administração da terapia com célula T) menor do que 10 células por  $\mu\text{L}$ , menor do que 5 células por  $\mu\text{L}$  ou menor do que por 1 célula por  $\mu\text{L}$ .

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, a terapia com célula T inclui células expressando um receptor

recombinante, opcionalmente um CAR. Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, o receptor recombinante inclui um domínio de ligação ao antígeno específico para um antígeno de maturação de célula B (BCMA).

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, iniciação de administração do composto imunomodulatório em pelo menos um ciclo é realizada após a iniciação da administração da terapia com célula T. Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, a iniciação da administração do composto imunomodulatório é realizada pelo menos 2 dias após, pelo menos 1 semana após, pelo menos 2 semanas após, pelo menos 3 semanas após, ou pelo menos 4 semanas após, a iniciação da administração de, ou após a última dose de, a terapia com célula T, e/ou é realizada 2 a 28 dias ou 7 a 21 dias após a iniciação da administração de, ou após a última dose de, a terapia com célula T.

São fornecidos aqui métodos de tratamento que envolvem (a) administração de uma terapia com célula T a um indivíduo tendo uma doença ou condição; e (b) administração ao indivíduo de um composto imunomodulatório, em que a iniciação da administração do composto imunomodulatório está em um tempo: (a) pelo menos 2 dias após, pelo menos 1 semana após, pelo menos 2 semanas após, pelo menos 3 semanas após, ou pelo menos 4 semanas após, a iniciação da administração da terapia com célula T, e/ou é realizada 2 a 28 dias ou 7 a 21 dias após a iniciação da administração da terapia com célula T; e/ou (b) em ou após, opcionalmente imediatamente após ou dentro de 1 a 3 dias após: (i) pico ou nível máximo das células da terapia com célula T ser detectável no sangue do indivíduo; (ii) o número de células da terapia com célula T detectável no sangue, após ter sido detectável no sangue, é não detectável ou é reduzido, opcionalmente reduzido em comparação com um ponto de tempo anterior após administração

da terapia com célula T; (iii) o número de células da terapia com célula T detectável no sangue é diminuído em ou mais do que 1,5 vezes, 2,0 vezes, 3,0 vezes, 4,0 vezes, 5,0 vezes, 10 vezes ou mais o número de pico ou máximo de células da terapia com célula T detectável no sangue do indivíduo após a iniciação da administração da terapia com célula T; (iv) em um momento após um nível de pico ou máximo das células da terapia com célula T ser detectável no sangue do indivíduo, o número de células de ou derivado das células T detectável no sangue do indivíduo é menor do que 10%, menor do que 5%, menor do que 1% ou menor do que 0,1% de células mononucleares de sangue periférico total (PBMCs) no sangue do indivíduo; (v) o indivíduo exibe progressão de doença e/ou tem recaída após remissão após tratamento com a terapia com célula T; e/ou (iv) o indivíduo exibe carga tumoral aumentada em comparação com a carga tumoral em um momento antes de ou após a administração das células T e antes da iniciação da administração do composto imunomodulatório.

São fornecidos aqui métodos de tratamento que envolvem a administração de um composto imunomodulatório a um indivíduo tendo sido administrada, antes da iniciação da administração do composto imunomodulatório, uma terapia com célula T para o tratamento de uma doença ou condição, em que a iniciação da administração do composto imunomodulatório está em um tempo: (a) pelo menos 2 dias após, pelo menos 1 semana após, pelo menos 2 semanas após, pelo menos 3 semanas após, ou pelo menos 4 semanas após, a iniciação da administração da terapia com célula T, e/ou é realizada 2 a 28 dias ou 7 a 21 dias após a iniciação da administração da terapia com célula T; e/ou (b) em ou após, opcionalmente imediatamente após ou dentro de 1 a 3 dias após: (i) pico ou nível máximo das células da terapia com célula T ser detectável no sangue do indivíduo; (ii) o número de células da terapia com célula T detectável no sangue, após ter sido detectável

no sangue, é não detectável ou é reduzido, opcionalmente reduzido em comparação com um ponto de tempo anterior após administração da terapia com célula T; (iii) o número de células da terapia com célula T detectável no sangue é diminuído em ou mais do que 1,5 vezes, 2,0 vezes, 3,0 vezes, 4,0 vezes, 5,0 vezes, 10 vezes ou mais o número de pico ou máximo de células da terapia com célula T detectável no sangue do indivíduo após a iniciação da administração da terapia com célula T; (iv) em um momento após um nível de pico ou máximo das células da terapia com célula T ser detectável no sangue do indivíduo, o número de células de ou derivado das células T detectável no sangue do indivíduo é menor do que menor do que 10%, menor do que 5%, menor do que 1% ou menor do que 0,1% de células mononucleares de sangue periférico total (PBMCs) no sangue do indivíduo; (v) o indivíduo exibe progressão de doença e/ou tem recaída após remissão após tratamento com a terapia com célula T; e/ou (iv) o indivíduo exibe carga tumoral aumentada em comparação com a carga tumoral em um momento antes de ou após a administração das células T e antes da iniciação da administração do composto imunomodulatório.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, a iniciação da administração do composto imunomodulatório é realizada em um momento que é maior do que ou maior do que cerca de 14 dias, 15 dias, 16 dias, 17 dias, 18 dias, 19, dias, 20 dias, 21 dias, 24 dias, ou 28 dias após iniciação da administração da terapia com célula T.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, antes da iniciação da administração do composto imunomodulatório, seleção de um indivíduo em que: (i) pico ou nível máximo das células da terapia com célula T ser detectável no sangue do indivíduo; (ii) o número de células da terapia com célula T detectável no sangue, após ter sido detectável no sangue, é não detectável ou é reduzido,

opcionalmente reduzido em comparação com um ponto de tempo anterior após administração da terapia com célula T; (iii) o número de células da terapia com célula T detectável no sangue é diminuído em ou mais do que 1,5 vezes, 2,0 vezes, 3,0 vezes, 4,0 vezes, 5,0 vezes, 10 vezes ou mais o número de pico ou máximo de células da terapia com célula T detectável no sangue do indivíduo após a iniciação da administração da terapia com célula T; (iv) em um momento após um nível de pico ou máximo das células da terapia com célula T ser detectável no sangue do indivíduo, o número de células de ou derivado das células T detectável no sangue do indivíduo é menor do que menor do que 10%, menor do que 5%, menor do que 1% ou menor do que 0,1% de células mononucleares de sangue periférico total (PBMCs) no sangue do indivíduo; (v) o indivíduo exibe progressão de doença e/ou tem recaída após remissão após tratamento com a terapia com célula T; e/ou (iv) o indivíduo exibe carga tumoral aumentada em comparação com a carga tumoral em um momento antes de ou após a administração das células T e antes da iniciação da administração do composto imunomodulatório.

São fornecidos aqui métodos de tratamento que envolvem a administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto imunomodulatório a um indivíduo tendo sido administrada, antes da iniciação da administração do composto imunomodulatório, uma terapia com célula T para o tratamento de uma doença ou condição, em que o indivíduo é aquele no qual no ou próximo ao dia 12 a 15, opcionalmente no ou próximo ao dia 14, após a iniciação da administração de uma terapia com célula T para o tratamento de uma doença ou condição: (i) o número de células da terapia com célula T no indivíduo é menor do que 75% do número médio de células da terapia com célula T ao mesmo tempo em uma pluralidade de indivíduos administrados com a mesma dose ou similar da terapia com célula T; e/ou (ii) o nú-



mero de células CD3+ ou CD8+ da terapia com célula T, opcionalmente células T CAR+, no sangue é menor do que 10 células por  $\mu\text{L}$ , menor do que 5 células por  $\mu\text{L}$  ou menor do que 1 célula por  $\mu\text{L}$ .

São fornecidos aqui métodos de tratamento que envolvem (a) seleção de um indivíduo no qual no ou próximo ao dia 12 a 15, opcionalmente no ou próximo ao dia 14, após a iniciação da administração de uma terapia com célula T para o tratamento de uma doença ou condição: (i) o número de células da terapia com célula T no indivíduo é menor do que 75% do número médio de células da terapia com célula T ao mesmo tempo em uma pluralidade de indivíduos administrados com a mesma dose ou similar da terapia com célula T; e/ou (ii) o número de células CD3+ ou CD8+ da terapia com célula T, opcionalmente células T CAR+, no sangue é menor do que 10 células por  $\mu\text{L}$ , menor do que 5 células por  $\mu\text{L}$  ou menor do que 1 célula por  $\mu\text{L}$ ; e (b) administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto imunomodulatório ao indivíduo. Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, o composto imunomodulatório é administrado diariamente, opcionalmente uma vez ao dia.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, o composto imunomodulatório é administrado durante mais do que ou mais do que cerca de 7 dias consecutivos, mais do que ou mais do que cerca de 14 dias consecutivos, mais do que ou mais do que cerca de 21 dias consecutivos, mais do que ou mais do que cerca de 21 dias consecutivos, ou mais do que ou mais do que cerca de 28 dias consecutivos. Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, o composto imunomodulatório é administrado em um ciclo incluindo administração diária durante uma pluralidade de dias consecutivos seguida por um período de repouso durante o qual o composto imunomodulatório não é administrado. Em algumas modalidades, o período de repouso durante o qual o composto imunomodula-

tório não é administrado é maior do que 7 dias consecutivos, maior do que 14 dias consecutivos, maior do que 21 dias, ou maior do que 28 dias.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, o ciclo de administração do composto imunomodulatório é repetido pelo menos uma vez. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é administrado durante pelo menos 2 ciclos, pelo menos 3 ciclos, pelo menos 4 ciclos, pelo menos 5 ciclos, pelo menos 6 ciclos, pelo menos 7 ciclos, pelo menos 8 ciclos, pelo menos 9 ciclos, pelo menos 10 ciclos, pelo menos 11 ciclos, ou pelo menos 12 ciclos.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, a administração do composto imunomodulatório é continuada, de pelo menos após a iniciação da administração das células T, até: o número de células de ou derivado da terapia com célula T administrada detectável no sangue do indivíduo é aumentado em comparação com o indivíduo em um ponto de tempo anterior exatamente antes de administração do composto imunomodulatório ou em comparação com um ponto de tempo anterior após administração da terapia com a célula T; o número de células de ou derivado da terapia com célula T detectável no sangue está dentro de 2,0 vezes (maior ou menor) o número de pico ou máximo observado no sangue do indivíduo após a iniciação da administração das células T; o número de células da terapia com célula T detectável no sangue do indivíduo é mais do que ou mais do que cerca de 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50%, ou 60% de células mononucleares de sangue periférico total (PBMCs) no sangue do indivíduo; e/ou o indivíduo exibe uma redução na carga tumoral em comparação com carga tumoral em um momento imediatamente antes da administração da terapia com célula T ou em um momento imediatamente antes da administração do composto imunomodulatório; e/ou o indivíduo exibe remissão completa ou clínica.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, o composto imunomodulatório liga-se ao cereblon (CRBN) e/ou ao complexo de E3 ubiquitina CRBN-ligase; e/ou é um inibidor de Ikaros (IKZF1) ou fator de transcrição de Aiolos (IKZF3); e/ou realça a ubiquitinação ou degradação de Ikaros (IKZF1) ou Aiolos (IKZF3).

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, o composto imunomodulatório é talidomida ou é um derivado ou análogo de talidomida. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é lenalidomida (3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona) ou pomalidomida (4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindol-1,3-diona), avadomida (3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona), um estereoisômero de lenalidomida (3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona), pomalidomida (4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindol-1,3-diona), avadomida (3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona) ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é lenalidomida (3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona), um estereoisômero de lenalidomida (3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona) ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo.

Em algumas de qualquer uma das modalidades daqui, o composto imunomodulatório é lenalidomida (3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona), pomalidomida (4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindol-1,3-diona), ou avadomida (3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona), um estereoisômero de lenalidomida (3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona), pomalidomida (4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindol-1,3-diona), ou avadomida (3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-

quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona), ou um sal, solvato, hidrato, co-cristal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo.

Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é 3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona, ou um estereoisômero do mesmo, ou um sal, solvato, hidrato, co-cristal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é 3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, ou um estereoisômero do mesmo, ou um sal, solvato, hidrato, co-cristal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, o composto imunomodulatório é administrado oral, subcutânea ou intravenosamente. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é administrado oralmente. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é administrado em uma cápsula ou comprimido.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, o composto imunomodulatório é administrado em uma quantidade de ou de cerca de 0,1 mg a cerca 100 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 50 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 25 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 10 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 5 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 1 mg, de ou de cerca de 1 mg a 100 mg, de ou de cerca de 1 mg a 50 mg, de ou de cerca de 1 mg a 25 mg, de ou de cerca de 1 mg a 10 mg, de ou de cerca de 1 mg a 5 mg, de ou de cerca de 5 mg a 100 mg, de ou de cerca de 5 mg a 50 mg, de ou de cerca de 5 mg a 25 mg, de ou de cerca de 5 mg a 10 mg, de ou de cerca de 10 mg a 100 mg,

de ou de cerca de 10 mg a 50 mg, de ou from 10 mg a 25 mg, de ou de cerca de 25 mg a 100 mg, de ou de cerca de 25 mg a 50 mg ou de ou de cerca de 50 mg a 100 mg, cada qual inclusive.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, o composto imunomodulatório é administrado uma vez diariamente, duas vezes diariamente, três vezes diariamente, quatro vezes diariamente, cinco vezes diariamente, ou seis vezes diariamente. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é administrado em uma quantidade de dosagem diária total de pelo menos ou pelo menos cerca de 0,1 mg por dia, 0,5 mg por dia, 1,0 mg por dia, 2,5 mg por dia, 5 mg por dia, 10 mg por dia, 25 mg por dia, 50 mg por dia ou 100 mg por dia.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, o composto imunomodulatório é administrado em uma quantidade maior do que ou maior do que cerca de 1 mg, 2,5 mg, 5 mg, 7.5 mg, 10 mg, 15 mg e menor do que 25 mg; ou o composto imunomodulatório é administrado em uma quantidade maior do que ou maior do que cerca de 1 mg por dia, 2,5 mg por dia, 5 mg por dia, 7.5 mg por dia, 10 mg por dia, 15 mg por dia e menor do que 25 mg por dia.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, a administração da quantidade terapeuticamente eficaz de composto imunomodulatório estimula uma expansão aumentada de células T associadas com a terapia com célula T em comparação com a expansão da seguinte administração da terapia com célula T na ausência do composto imunomodulatório.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, a administração da quantidade terapeuticamente eficaz de compostos imunomodulatório estimula um aumento na atividade citolítica mediada de células T associadas com a terapia com célula T em comparação com a atividade citolítica após a administração das células T

na ausência do composto imunomodulatório.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, a administração da quantidade terapeuticamente eficaz de composto imunomodulatório estimula um aumento na produção de citocina de células T associadas com a terapia com célula T em comparação com produção de citocina após a administração das células T na ausência do composto imunomodulatório. Em algumas modalidades, o aumento é maior do que ou maior do que cerca de 1,5 vezes, 2,0 vezes, 3,0 vezes, 4,0 vezes, 5,0 vezes, 10,0 vezes ou mais.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, a terapia com célula T é ou inclui terapia de linfocítica (TL) infiltrante de tumor ou células geneticamente modificadas expressando um receptor recombinante que especificamente se liga a um antígeno. Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, a terapia com célula T é ou inclui células geneticamente modificadas expressando um receptor recombinante que especificamente se liga a um antígeno. Em algumas modalidades, a terapia com célula T inclui células expressando um receptor recombinante que é ou inclui um receptor de antígeno não TCR ou um TCR ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo. Em algumas modalidades, o receptor de antígeno recombinante é um receptor de antígeno quimérico (CAR).

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, a terapia com célula T inclui um receptor de antígeno recombinante, que inclui um domínio extracelular contendo um domínio de ligação ao antígeno que especificamente se liga a um antígeno. Em algumas modalidades, o antígeno é associado com, específico para, e/ou expresso em uma célula ou tecido de uma doença, distúrbio ou condição. Em algumas modalidades, a doença, distúrbio ou condição é uma doença ou distúrbio infeccioso, uma doença autoimune, uma doença inflamatória, ou um tumor ou um câncer. Em algumas modalida-

des, o antígeno é um antígeno de tumor.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, o antígeno é selecionado dentre ROR1, antígeno de maturação de célula B (BCMA), anidrase carbônica 9 (CAIX), tEGFR, Her2/neu (tirosina cinase receptora erbB2), L1-CAM, CD19, CD20, CD22, mesotelina, CEA, e antígeno de superfície de hepatite B, receptor antifolato, CD23, CD24, CD30, CD33, CD38, CD44, EGFR, glicoproteína epitelial 2 (EPG-2), glicoproteína epitelial 40 (EPG-40), EPHa2, dímeros de erb-B2, erb-B3, erb-B4, erbB, EGFR VIII, proteína de ligação ao folato (FBP), FCRL5, FCRH5, receptor de acetilcolina fetal, GD2, GD3, HMW-MAA, IL-22R-alfa, IL-13R-alfa2, receptor de domínio de inserção de cinase (kdr), cadeia kappa leve, Lewis Y, molécula de adesão de célula L1, (L1-CAM), antígeno associado com melanoma (MAGE)-A1, MAGE-A3, MAGE-A6. Antígeno preferencialmente expresso de melanoma (PRAME), survivina, TAG72, B7-H6, receptor alfa de IL-13 2 (IL-13Ra2), CA9, GD3, HMW-MAA, CD171, G250/CAIX, HLA-AI MAGE AI, HLA-A2 NY-ESO-1, PSCA, receptor-a de folato, CD44v6, CD44v7/8, avb6 integrin, 8H9, NCAM, receptores de VEGF, 5T4, AchR Fetal, ligantes de NKG2D, CD44v6, antígeno dual, um antígeno de câncer de testículos, mesotelina, CMV murino, mucina 1 (MUC1), MUC16, PSCA, NKG2D, NY-ESO-1, MART-1, gp100, receptor acoplado à proteína G 5D (GPCR5D), antígeno oncofetal, ROR1, TAG72, VEGF-R2, antígeno carcinoembrionário (CEA), Her2/neu, receptor de estrogênio, receptor de progesterona, efrinaB2, CD123, c-Met, GD-2, GD2 O-acetilado (OGD2), CE7, Tumor de Wilms 1 (WT-1), uma ciclina, ciclina A2, CCL-1, CD138, opcionalmente um antígeno humano de qualquer um dos anteriores; um antígeno específico de patógeno; e um antígeno associado com um rótulo universal. Em algumas modalidades, o antígeno é ou inclui CD19, opcionalmente CD19 humano. Em algumas modalidades, o antígeno é ou inclui um antígeno associado com mi-

eloma múltiplo, opcionalmente um BCMA, opcionalmente BCMA humano.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, o domínio de ligação ao antígeno é ou inclui um anticorpo ou um fragmento de anticorpo do mesmo, que opcionalmente é um fragmento de cadeia simples. Em algumas modalidades, o fragmento inclui regiões variáveis de anticorpo ligadas por um ligador flexível. Em algumas modalidades, o fragmento inclui um scFv.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, a terapia com célula T inclui um receptor recombinante que também inclui um espaçador, opcionalmente derivado de uma imunoglobulina, opcionalmente contendo uma região dobradiça. Em algumas modalidades, o receptor de antígeno recombinante inclui uma região de sinalização intracelular. Em algumas modalidades, a região de sinalização intracelular inclui um domínio de sinalização intracelular. Em algumas modalidades, o domínio de sinalização intracelular é ou inclui um domínio de sinalização primária, um domínio de sinalização que é capaz de induzir um sinal de ativação primária em uma célula T, um domínio de sinalização de um componente de receptor de célula T (TCR), e/ou um domínio de sinalização contendo um *motivo* de ativação com base em tirosina imunorreceptora (ITAM). Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, o domínio de sinalização intracelular é ou inclui um domínio de sinalização intracelular de uma cadeia CD, opcionalmente uma cadeia CD3-zeta (CD3ζ), ou uma porção de sinalização do mesmo.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, o receptor recombinante também inclui um domínio de transmembrana disposto entre o domínio extracelular e a região de sinalização intracelular, em que o domínio de transmembrana é opcionalmente domínio de transmembrana de CD8 ou CD28. Em algumas mo-



dalidades, a região de sinalização intracelular também inclui uma região de sinalização coestimulatória. Em algumas modalidades, região de sinalização coestimulatória inclui um domínio de sinalização intracelular de uma molécula coestimulatória de célula T ou uma porção de sinalização do mesmo. Em algumas modalidades, a região de sinalização coestimulatória inclui um domínio de sinalização intracelular de um CD28, um 4-1BB ou um ICOS ou uma porção de sinalização dos mesmos. Em algumas modalidades, a região de sinalização coestimulatória contendo um domínio de sinalização intracelular de 4-1BB. Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, a região de sinalização coestimulatória é entre o domínio de transmembrana e a região de sinalização intracelular.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, a terapia com célula T inclui: células T selecionadas de células T de memória central, células T de memória efetora, células T naïve, células T de memória central genealógicas, células T efetoras e células T reguladoras; e/ou uma pluralidade de células, a pluralidade contendo pelo menos 50 % de uma população de células selecionadas de células T CD4+, células T CD8+, células T de memória central, células T de memória efetora, células T *naïve*, células T de memória central genealógicas, células T efetoras e células T reguladoras.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, a terapia com célula T inclui células T que são CD4+ ou CD8+. Em algumas modalidades, a terapia com célula T inclui células primárias derivadas de um indivíduo. Em algumas modalidades, a terapia com célula T inclui células que são autólogas ao indivíduo. Em algumas modalidades, a terapia com célula T inclui células T que são alogênicas ao indivíduo. Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, o indivíduo é um humano.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos

aqui, a terapia com célula T inclui a administração de ou de cerca de  $1 \times 10^5$  a  $1 \times 10^8$  células expressando o receptor recombinante total, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), de ou de cerca de  $5 \times 10^5$  a  $1 \times 10^7$  células expressando o receptor recombinante total, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs) ou de ou de cerca de  $1 \times 10^6$  a  $1 \times 10^7$  células expressando o receptor recombinante total, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), cada qual inclusive.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, a terapia com célula T inclui a administração de não mais do que  $1 \times 10^8$  células expressando o receptor recombinante total, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), não mais do que  $1 \times 10^7$  células expressando o receptor recombinante total, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), não mais do que  $0,5 \times 10^7$  células expressando o receptor recombinante total, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), não mais do que  $1 \times 10^6$  células expressando o receptor recombinante total, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), não mais do que  $0,5 \times 10^6$  células expressando o receptor recombinante total, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs).

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, a quantidade de células administradas na terapia com célula T é menor do que a quantidade em outro método em que a terapia com célula T é administrada sem administração do composto imunomodulatório, opcionalmente cujo outro método resulta em um grau similar ou menor de melhora ou redução ou prevenção da doença ou condição ou sintoma ou carga da mesma, como em comparação com aquele resultante do método. Em algumas modalidades, a quantidade de cé-

lulas administrada é 1,5 vezes, 2 vezes, 3 vezes, 4 vezes, 5 vezes, ou 10 vezes menor do que aquela administrada no outro método.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, a terapia com célula T é administrada como uma única composição farmacêutica contendo as células. Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, a terapia com célula T inclui uma dose de célula que é uma dose dividida, em que as células da dose são administradas em uma pluralidade de composições, coletativamente contendo as células da dose, durante um período de não mais do que três dias.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, o método também inclui administrando uma quimioterapia de depleção linfática antes da administração da terapia com célula T.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, a doença ou condição é câncer. Em algumas modalidades, o câncer é uma malignidade de célula B e/ou um mieloma, linfoma ou leucemia. Em algumas modalidades, o câncer é linfoma da célula manto (MCL), mieloma múltiplo (MM), leucemia linfoblástica aguda (LLA), LLA adulta, leucemia linfoblástica crônica (LLC), linfoma não Hodgkin (LNH), ou Linfoma de célula B grande difusa (DLBCL). Em algumas modalidades, câncer é um câncer não hematológico ou é um tumor sólido.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, a terapia com célula T exibe expansão e/ou persistência aumentada ou prolongada no indivíduo como em comparação com um método em que a terapia com célula T é administrada ao indivíduo na ausência do composto imunomodulatório.

Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos fornecidos aqui, o método reduz a carga tumoral para um grau maior e/ou durante um período de tempo maior como em comparação com a redução que

seria observada com um método comparável em que a terapia com célula T é administrada ao indivíduo na ausência do composto imunomodulatório e/ou em que o composto imunomodulatório é administrado na ausência da terapia com célula T, opcionalmente na mesma dose ou programa de dosagem.

É fornecido aqui um *kit* contendo a pharmaceutical composition incluindo uma dose unitária de uma terapia com célula T; e instruções para administração da composição a um indivíduo tendo uma doença ou condição em combinação com administração de uma composição contendo um composto imunomodulatório, em que as instruções especificam a administração do composto imunomodulatório em uma ou mais doses unitárias de acordo com um ciclo de administração incluindo administração do composto imunomodulatório durante até 21 dias consecutivos, em que o ciclo inclui mais do que 30 dias começando na iniciação da administração do composto imunomodulatório; e/ou administração do composto imunomodulatório durante uma pluralidade de dias consecutivos seguida por um período de repouso durante o qual o composto imunomodulatório não é administrado, em que o período de repouso é maior do que 14 dias consecutivos; e/ou administração do composto imunomodulatório durante não mais do que 14 dias consecutivos.

É também fornecido aqui um *kit* contendo uma composição farmacêutica contendo uma ou mais doses unitárias de um composto imunomodulatório; e instruções para administração do composto imunomodulatório a um indivíduo tendo uma doença ou condição em combinação com administração de uma dose unitária de uma composição farmacêutica incluindo uma terapia com célula T, em que as instruções especificam a administração de uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório de acordo com um ciclo de administração incluindo administração do composto imunomodulatório durante até 21 dias

consecutivos, em que o ciclo inclui mais do que 30 dias começando na iniciação da administração do composto imunomodulatório; e/ou administração do composto imunomodulatório durante uma pluralidade de dias consecutivos seguida por um período de repouso durante o qual o composto imunomodulatório não é administrado, em que o período de repouso é maior do que 14 dias consecutivos; e/ou administração do composto imunomodulatório durante não mais do que 14 dias consecutivos.

Xxxxx fffff Em algumas de qualquer tais modalidades, as instruções especificam a iniciação de uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório no mesmo dia, opcionalmente de forma concorrente, como iniciação de administração da terapia com célula T. Em algumas de qualquer tais modalidades, as instruções especificam a iniciação de uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório antes da iniciação da administração da terapia com célula T.

Em algumas modalidades, as instruções especificam a iniciação de uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório em ou dentro de uma semana antes de collecting, do indivíduo, uma amostra contendo células T a serem modificadas, opcionalmente em que a amostra é uma amostra de aférese; e/ou em um momento quando uma ou mais etapas de um processo de fabricação *ex vivo* para produção da terapia com célula T modificada; e/ou dentro de 14 dias antes da administração da terapia com célula T.

Em algumas modalidades, a uma ou mais etapas do processo de fabricação *ex vivo* é selecionada do isolamento de células de uma amostra biológica por leucaférese ou aférese; seleção ou enriquecimento de células por métodos com base em imunoafinidade; introdução de um ácido nucleico recombinante, opcionalmente um vetor viral, em células; incubação de células, opcionalmente engineered, na presença de uma ou mais condições de estimulação; formulação de células na pre-

sença de um crioprotetor; e/ou formulação de células para administração a um indivíduo, opcionalmente na presença de um excipiente farmacêuticamente aceitável.

Em algumas de qualquer tais modalidades, as instruções especificam a iniciação de uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório dentro de 10 dias, 7 dias, 4 dias, 3 dias ou 2 dias antes da iniciação da administração da terapia com célula T. Em alguns exemplos, as instruções especificam a iniciação de uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório após iniciação da administração da terapia com célula T. Em alguns aspectos, as instruções especificam a iniciação de uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório pelo menos 2 dias após, pelo menos 1 semana após, pelo menos 2 semanas após, pelo menos 3 semanas após, ou pelo menos 4 semanas após, a iniciação da administração da terapia com célula T, e/ou 2 a 28 dias ou 7 a 21 dias após iniciação da administração da terapia com célula T.

É também fornecido aqui um *kit* contendo uma composição farmacêutica contendo uma dose unitária de uma terapia com célula T; e instruções para administração da composição a um indivíduo tendo uma doença ou condição em combinação com administração de um composto imunomodulatório, em que as instruções especificam a iniciação da administração do composto imunomodulatório em uma ou mais doses unitárias em um momento pelo menos 2 dias após, pelo menos 1 semana após, pelo menos 2 semanas após, pelo menos 3 semanas após, ou pelo menos 4 semanas após, iniciar a administração da terapia com célula T, e/ou é realizada 2 a 28 dias ou 7 a 21 dias após iniciar a administração da terapia com célula T; e/ou em ou após, opcionalmente imediatamente após ou dentro de 1 a 3 dias após: (i) pico ou nível máximo das células da terapia com célula T ser detectável no sangue do indivíduo; (ii) o número de células da terapia com célula T

detectável no sangue, após ter sido detectável no sangue, é não detectável ou é reduzido, opcionalmente reduzido em comparação com um ponto de tempo anterior após administração da terapia com célula T; (iii) o número de células da terapia com célula T detectável no sangue é diminuído em ou mais do que 1,5 vezes, 2,0 vezes, 3,0 vezes, 4,0 vezes, 5,0 vezes, 10 vezes ou mais o número de pico ou máximo de células da terapia com célula T detectável no sangue do indivíduo após a iniciação da administração da terapia com célula T; (iv) em um momento após um nível de pico ou máximo das células da terapia com célula T ser detectável no sangue do indivíduo, o número de células de ou derivado das células T detectável no sangue do indivíduo é menor do que menor do que 10%, menor do que 5%, menor do que 1% ou menor do que 0,1% de células mononucleares de sangue periférico total (PBMCs) no sangue do indivíduo; (v) o indivíduo exibe progressão de doença e/ou tem recaída após remissão após tratamento com a terapia com célula T; e/ou (iv) o indivíduo exibe carga tumoral aumentada em comparação com a carga tumoral em um momento antes de ou após a administração das células T e antes da iniciação da administração do composto imunomodulatório.

É fornecido aqui um kit contendo uma composição farmacêutica contendo uma ou mais doses unitárias de um composto imunomodulatório; e instruções para administração do composto imunomodulatório a um indivíduo tendo uma doença ou condição em combinação com administração de uma dose unitária de uma composição farmacêutica incluindo uma terapia com célula T, em que as instruções especificam a iniciação da administração da uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório em um momento pelo menos 2 dias após, pelo menos 1 semana após, pelo menos 2 semanas após, pelo menos 3 semanas após, ou pelo menos 4 semanas após, iniciar a administração da terapia com célula T, e/ou é realizada 2 a 28 dias ou 7 a 21 di-

as após iniciar a administração da terapia com célula T; e/ou em ou após, opcionalmente imediatamente após ou dentro de 1 a 3 dias após: (i) pico ou nível máximo das células da terapia com célula T ser detectável no sangue do indivíduo; (ii) o número de células da terapia com célula T detectável no sangue, após ter sido detectável no sangue, é não detectável ou é reduzido, opcionalmente reduzido em comparação com um ponto de tempo anterior após administração da terapia com célula T; (iii) o número de células da terapia com célula T detectável no sangue é diminuído em ou mais do que 1,5 vezes, 2,0 vezes, 3,0 vezes, 4,0 vezes, 5,0 vezes, 10 vezes ou mais o número de pico ou máximo de células da terapia com célula T detectável no sangue do indivíduo após a iniciação da administração da terapia com célula T; (iv) em um momento após um nível de pico ou máximo das células da terapia com célula T ser detectável no sangue do indivíduo, o número de células de ou derivado das células T detectável no sangue do indivíduo é menor do que menor do que 10%, menor do que 5%, menor do que 1% ou menor do que 0,1% de células mononucleares de sangue periférico total (PBMCs) no sangue do indivíduo; (v) o indivíduo exibe progressão de doença e/ou tem recaída após remissão após tratamento com a terapia com célula T; e/ou (iv) o indivíduo exibe carga tumoral aumentada em comparação com a carga tumoral em um momento antes de ou após a administração das células T e antes da iniciação da administração do composto imunomodulatório.

Em algumas de qualquer tais modalidades, as instruções especificam a iniciação de uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório em um momento que é maior do que ou maior do que cerca de 14 dias, 15 dias, 16 dias, 17 dias, 18 dias, 19, dias, 20 dias, 21 dias, 24 dias, ou 28 dias após iniciar a administração da terapia com célula T. Em algumas de qualquer tais modalidades, as instruções especificam a seleção de um indivíduo para a administração da uma ou mais



doses unitárias do composto imunomodulatório, após ter sido administrada a terapia com célula T, em que: (i) pico ou nível máximo das células da terapia com célula T ser detectável no sangue do indivíduo; (ii) o número de células da terapia com célula T detectável no sangue, após ter sido detectável no sangue, é não detectável ou é reduzido, opcionalmente reduzido em comparação com um ponto de tempo anterior após administração da terapia com célula T; (iii) o número de células da terapia com célula T detectável no sangue é diminuído em ou mais do que 1,5 vezes, 2,0 vezes, 3,0 vezes, 4,0 vezes, 5,0 vezes, 10 vezes ou mais o número de pico ou máximo de células da terapia com célula T detectável no sangue do indivíduo após a iniciação da administração da terapia com célula T; (iv) em um momento após um nível de pico ou máximo das células da terapia com célula T ser detectável no sangue do indivíduo, o número de células de ou derivado das células T detectável no sangue do indivíduo é menor do que menor do que 10%, menor do que 5%, menor do que 1% ou menor do que 0,1% de células mononucleares de sangue periférico total (PBMCs) no sangue do indivíduo; (v) o indivíduo exibe progressão de doença e/ou tem recaída após remissão após tratamento com a terapia com célula T; e/ou (iv) o indivíduo exibe carga tumoral aumentada em comparação com a carga tumoral em um momento antes de ou após a administração das células T e antes da iniciação da administração do composto imunomodulatório.

É fornecido aqui um *kit* contendo uma composição farmacêutica contendo uma dose unitária de uma terapia com célula T; e instruções para administração da composição a um indivíduo tendo uma doença ou condição em combinação com administração um composto imunomodulatório, em que as instruções especificam a administração do composto imunomodulatório a um indivíduo em uma ou mais doses unitárias se no ou próximo ao dia 12 a 15, opcionalmente no ou próximo ao

dia 14, após a iniciação da administração da terapia com célula T para o tratamento de uma doença ou condição, o número de células da terapia com célula T no indivíduo é menor do que 75% do número médio de células da terapia com célula T ao mesmo tempo em uma pluralidade de indivíduos administrados com a mesma dose ou similar da terapia com célula T; e/ou o número de células CD3+ ou CD8+ da terapia com célula T, opcionalmente células T CAR+, no sangue é menor do que 10 células por  $\mu\text{L}$ , menor do que 5 células por  $\mu\text{L}$  ou menor do que 1 célula por  $\mu\text{L}$ .

É fornecido aqui um *kit* contendo uma composição farmacêutica contendo uma ou mais doses unitárias de um composto imunomodulatório; e instruções para administração da uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório a um indivíduo tendo uma doença ou condição em combinação com administração de uma composição farmacêutica contendo uma dose unitária de uma terapia com célula T, em que as instruções especificam a administração de uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório a um indivíduo se no ou próximo ao dia 12 a 15, opcionalmente no ou próximo ao dia 14, após a iniciação da administração da terapia com célula T para o tratamento de uma doença ou condição, o número de células da terapia com célula T no indivíduo é menor do que 75% do número médio de células da terapia com célula T ao mesmo tempo em uma pluralidade de indivíduos administrados com a mesma dose ou similar da terapia com célula T; e/ou o número de células CD3+ ou CD8+ da terapia com célula T, opcionalmente células T CAR+, no sangue é menor do que 10 células por  $\mu\text{L}$ , menor do que 5 células por  $\mu\text{L}$  ou menor do que 1 célula por  $\mu\text{L}$ .

São fornecidos aqui *kits* que incluem (a) uma composição farmacêutica compreendendo uma dose unitária de uma terapia com célula T; e (b) instruções para administração da composição a um indivíduo tendo

uma doença ou condição em combinação com administração de uma composição compreendendo um composto imunomodulatório, em que o referido composto imunomodulatório é selecionado do grupo que consiste em: lenalidomida (3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona), pomalidomida (4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindol-1,3-diona), ou avadomida (3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona), um estereoisômero, um enantiômero ou uma mistura de enantiômeros do mesmo, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo, e em que as instruções especificam a administração do composto imunomodulatório em uma ou mais doses unitárias de acordo com um ciclo de administração compreendendo: (i) administração do composto imunomodulatório durante até 21 dias consecutivos, em que o ciclo compreende mais do que 30 dias começando na iniciação da administração do composto imunomodulatório; e/ou (ii) administração do composto imunomodulatório durante uma pluralidade de dias consecutivos seguida por um período de repouso durante o qual o composto imunomodulatório não é administrado, em que o período de repouso é maior do que 14 dias consecutivos; e/ou (iii) administração do composto imunomodulatório durante não mais do que 14 dias consecutivos.

São fornecidos aqui *kits* que incluem (a) uma composição farmacêutica compreendendo uma ou mais doses unitárias de um composto imunomodulatório; e (b) instruções para administração do composto imunomodulatório a um indivíduo tendo uma doença ou condição em combinação com administração de uma dose unitária de uma composição farmacêutica compreendendo uma terapia com célula T, em que o referido composto imunomodulatório é selecionado do grupo que consiste em: lenalidomida (3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona), pomalidomida (4-amino-2-(2,6-

dioxopiperidin-3-il)isoindol-1,3-diona), ou avadomida (3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona), um estereoisômero, um enantiômero ou uma mistura de enantiômeros do mesmo, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmacêuticamente aceitável do mesmo, e em que as instruções especificam a administração de uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório de acordo com um ciclo de administração compreendendo: (i) administração do composto imunomodulatório durante até 21 dias consecutivos, em que o ciclo compreende mais do que 30 dias começando na iniciação da administração do composto imunomodulatório; e/ou (ii) administração do composto imunomodulatório durante uma pluralidade de dias consecutivos seguida por um período de repouso durante o qual o composto imunomodulatório não é administrado, em que o período de repouso é maior do que 14 dias consecutivos; e/ou (iii) administração do composto imunomodulatório durante não mais do que 14 dias consecutivos.

São fornecidos aqui *kits* que incluem (a) uma composição farmacêutica compreendendo uma dose unitária de uma terapia com célula T; e (b) instruções para administração da composição a um indivíduo tendo uma doença ou condição em combinação com administração de um composto imunomodulatório, em que o referido composto imunomodulatório é selecionado do grupo que consiste em: lenalidomida (3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona), pomalidomida (4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindol-1,3-diona), ou avadomida (3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona), um estereoisômero, um enantiômero ou uma mistura de enantiômeros do mesmo, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmacêuticamente aceitável do mesmo, e em que as instruções especificam a iniciação da administração do composto imunomodulatório em uma ou mais doses unitárias em um momento: (1) pelo

menos 2 dias após, pelo menos 1 semana após, pelo menos 2 semanas após, pelo menos 3 semanas após, ou pelo menos 4 semanas após, iniciar a administração da terapia com célula T, e/ou é realizada 2 a 28 dias ou 7 a 21 dias após iniciar a administração da terapia com célula T; e/ou (2) em ou após, opcionalmente imediatamente após ou dentro de 1 a 3 dias após: (i) pico ou nível máximo das células da terapia com célula T ser detectável no sangue do indivíduo; (ii) o número de células da terapia com célula T detectável no sangue, após ter sido detectável no sangue, é não detectável ou é reduzido, opcionalmente reduzido em comparação com um ponto de tempo anterior após administração da terapia com célula T; (iii) o número de células da terapia com célula T detectável no sangue é diminuído em ou mais do que 1,5 vezes, 2,0 vezes, 3,0 vezes, 4,0 vezes, 5,0 vezes, 10 vezes ou mais o número de pico ou máximo de células da terapia com célula T detectável no sangue do indivíduo após a iniciação da administração da terapia com célula T; (iv) em um momento após um nível de pico ou máximo das células da terapia com célula T ser detectável no sangue do indivíduo, o número de células de ou derivado das células T detectável no sangue do indivíduo é menor do que menor do que 10%, menor do que 5%, menor do que 1% ou menor do que 0,1% de células mononucleares de sangue periférico total (PBMCs) no sangue do indivíduo; (v) o indivíduo exibe progressão de doença e/ou tem recaída após remissão após tratamento com a terapia com célula T; e/ou (iv) o indivíduo exibe carga tumoral aumentada em comparação com a carga tumoral em um momento antes de ou após a administração das células T e antes da iniciação da administração do composto imunomodulatório. São fornecidos aqui *kits* que incluem (a) uma composição farmacêutica compreendendo uma ou mais doses unitárias de um composto imunomodulatório, em que o referido composto imunomodulatório é selecionado do grupo que consiste em: lenalidomida (3-(4-amino-1-

oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona), pomalidomida (4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindol-1,3-diona), ou avadomida (3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona), um estereoisômero, um enantiômero ou uma mistura de enantiômeros do mesmo, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmacologicamente aceitável do mesmo; e (b) instruções para administração do composto imunomodulatório a um indivíduo tendo uma doença ou condição em combinação com administração de uma dose unitária de uma composição farmacêutica compreendendo uma terapia com célula T, em que as instruções especificam a iniciação da administração da uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório em um momento: (1) pelo menos 2 dias após, pelo menos 1 semana após, pelo menos 2 semanas após, pelo menos 3 semanas após, ou pelo menos 4 semanas após, iniciar a administração da terapia com célula T, e/ou é realizada 2 a 28 dias ou 7 a 21 dias após iniciar a administração da terapia com célula T; e/ou (2) em ou após, opcionalmente imediatamente após ou dentro de 1 a 3 dias após: (i) pico ou nível máximo das células da terapia com célula T ser detectável no sangue do indivíduo; (ii) o número de células da terapia com célula T detectável no sangue, após ter sido detectável no sangue, é não detectável ou é reduzido, opcionalmente reduzido em comparação com um ponto de tempo anterior após administração da terapia com célula T; (iii) o número de células da terapia com célula T detectável no sangue é diminuído em ou mais do que 1,5 vezes, 2,0 vezes, 3,0 vezes, 4,0 vezes, 5,0 vezes, 10 vezes ou mais o número de pico ou máximo de células da terapia com célula T detectável no sangue do indivíduo após a iniciação da administração da terapia com célula T; (iv) em um momento após um nível de pico ou máximo das células da terapia com célula T ser detectável no sangue do indivíduo, o número de células de ou derivado das células T detectável no sangue do indivíduo é menor

do que menor do que 10%, menor do que 5%, menor do que 1% ou menor do que 0,1% de células mononucleares de sangue periférico total (PBMCs) no sangue do indivíduo; (v) o indivíduo exibe progressão de doença e/ou tem recaída após remissão após tratamento com a terapia com célula T; e/ou (iv) o indivíduo exibe carga tumoral aumentada em comparação com a carga tumoral em um momento antes de ou após a administração das células T e antes da iniciação da administração do composto imunomodulatório.

São fornecidos aqui *kits* que incluem (a) uma composição farmacêutica compreendendo uma dose unitária de uma terapia com célula T; e (b) instruções para administração da composição a um indivíduo tendo uma doença ou condição em combinação com administração um composto imunomodulatório, em que o referido composto imunomodulatório é selecionado do grupo que consiste em: lenalidomida (3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona), pomalidomida (4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindol-1,3-diona), ou avadomida (3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona), um estereoisômero, um enantiômero ou uma mistura de enantiômeros do mesmo, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo, e em que as instruções especificam a administração do composto imunomodulatório a um indivíduo em uma ou mais doses unitárias se no ou próximo ao dia 12 a 15, opcionalmente no ou próximo ao dia 14, após a iniciação da administração da terapia com célula T para o tratamento de uma doença ou condição: (i) o número de células da terapia com célula T no indivíduo é menor do que 75% do número médio de células da terapia com célula T ao mesmo tempo em uma pluralidade de indivíduos administrados com a mesma dose ou similar da terapia com célula T; e/ou (ii) o número de células CD3+ ou CD8+ da terapia com célula T, opcionalmente células T CAR+, no sangue é menor do que 10 células por  $\mu\text{L}$ , me-

nor do que 5 células por  $\mu\text{L}$  ou menor do que 1 célula por  $\mu\text{L}$ .

São fornecidos aqui *kits* que incluem (a) uma composição farmacêutica compreendendo uma ou mais doses unitárias de um composto imunomodulatório, em que o referido composto imunomodulatório é selecionado do grupo que consiste em: lenalidomida (3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona), pomalidomida (4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindol-1,3-diona), ou avadomida (3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona), um estereoisômero, um enantiômero ou uma mistura de enantiômeros do mesmo, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo; e (b) instruções para administração da uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório a um indivíduo tendo uma doença ou condição em combinação com administração de uma composição farmacêutica compreendendo uma dose unitária de uma terapia com célula T, em que as instruções especificam a administração de uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório a um indivíduo se no ou próximo ao dia 12 a 15, opcionalmente no ou próximo ao dia 14, após a iniciação da administração da terapia com célula T para o tratamento de uma doença ou condição: (i) o número de células da terapia com célula T no indivíduo é menor do que 75% do número médio de células da terapia com célula T ao mesmo tempo em uma pluralidade de indivíduos administrados com a mesma dose ou similar da terapia com célula T; e/ou (ii) o número de células CD3+ ou CD8+ da terapia com célula T, opcionalmente células T CAR+, no sangue é menor do que 10 células por  $\mu\text{L}$ , menor do que 5 células por  $\mu\text{L}$  ou menor do que 1 célula por  $\mu\text{L}$ .

Em algumas de qualquer tais modalidades, o composto imunomodulatório é formulado em uma quantidade para administração diária e/ou as instruções especificam a administração do composto imunomodulatório diária. Em algumas de qualquer tais modalidades, as instruções



especificam a administração do composto imunomodulatório durante mais do que ou mais do que cerca de 7 dias consecutivos, mais do que ou mais do que cerca de 14 dias consecutivos, mais do que ou mais do que cerca de 21 dias consecutivos, mais do que ou mais do que cerca de 21 dias consecutivos, ou mais do que ou mais do que cerca de 28 dias consecutivos.

Em algumas de qualquer tais modalidades, as instruções especificam a administração do composto imunomodulatório em um ciclo de administração incluindo administração diária durante uma pluralidade de dias consecutivos seguida por um período de repouso durante o qual o composto imunomodulatório não é administrado. Em alguns exemplos, as instruções especificam o período de repouso durante o qual o composto imunomodulatório não é administrado é mais do que 7 dias consecutivos, mais do que 14 dias consecutivos, mais do que 21 dias, ou mais do que 28 dias. Em algumas de qualquer tais modalidades, as instruções especificam a administração cycle do composto imunomodulatório é repetido pelo menos uma vez.

Em algumas de qualquer tais modalidades, as instruções especificam a continuação da administração do composto imunomodulatório, de pelo menos após a iniciação da administração das células T, até o número de células de ou derivado da terapia com célula T administrada detectável no sangue do indivíduo é aumentado em comparação com o indivíduo em um ponto de tempo anterior exatamente antes da administração do composto imunomodulatório ou em comparação com um ponto de tempo anterior após administração da terapia com a célula T; o número de células de ou derivado da terapia com célula T detectável no sangue está dentro de 2,0 vezes (maior ou menor) o número de pico ou máximo observado no sangue do indivíduo após a iniciação da administração das células T; o número de células da terapia com célula T detectável no sangue do indivíduo é mais do que ou mais

do que cerca de 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50%, ou 60% de células mononucleares de sangue periférico total (PBMCs) no sangue do indivíduo; e/ou o indivíduo exibe uma redução na carga tumoral em comparação com carga tumoral em um momento imediatamente antes da administração da terapia com célula T ou em um momento imediatamente antes da administração do composto imunomodulatório; e/ou o indivíduo exibe remissão completa ou clínica.

Em algumas de qualquer tais modalidades, o composto imunomodulatório liga-se ao cereblon (CRBN) e/ou ao complexo de E3 ubiquitina CRBN-ligase; e/ou é um inibidor de Ikaros (IKZF1) ou fator de transcrição de Aiolos (IKZF3); e/ou realça a ubiquitinação ou degradação de Ikaros (IKZF1) ou Aiolos (IKZF3). Em algumas de qualquer tais modalidades, o composto imunomodulatório é talidomida ou é um derivado ou análogo de talidomida. Em algumas de qualquer tais modalidades, o composto imunomodulatório é lenalidomida (3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona) ou pomalidomida (4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindol-1,3-diona), avadomida (3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona), um estereoisômero de lenalidomida (3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona), pomalidomida (4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindol-1,3-diona), avadomida (3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona) ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo. Em algumas de qualquer tais modalidades, o composto imunomodulatório é lenalidomida (3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona), um estereoisômero de lenalidomida (3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona) ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo.

Em algumas de qualquer tais modalidades, o composto imunomodula-

tório é formulado para administração oral, subcutânea ou intravenosamente. Em alguns exemplos, o composto imunomodulatório é formulado para administração oral. Em algumas de qualquer tais modalidades, o composto imunomodulatório é formulado em uma cápsula ou comprimido.

Em algumas de qualquer tais modalidades, cada uma das uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório contém uma quantidade de ou de cerca de 0,1 mg a cerca 100 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 50 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 25 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 10 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 5 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 1 mg, de ou de cerca de 1 mg a 100 mg, de ou de cerca de 1 mg a 50 mg, de ou de cerca de 1 mg a 25 mg, de ou de cerca de 1 mg a 10 mg, de ou de cerca de 1 mg a 5 mg, de ou de cerca de 5 mg a 100 mg, de ou de cerca de 5 mg a 50 mg, de ou de cerca de 5 mg a 25 mg, de ou de cerca de 5 mg a 10 mg, de ou de cerca de 10 mg a 100 mg, de ou de cerca de 10 mg a 50 mg, de ou de 10 mg a 25 mg, de ou de cerca de 25 mg a 100 mg, de ou de cerca de 25 mg a 50 mg ou de ou de cerca de 50 mg a 100 mg, cada qual inclusive; e/ou cada uma das uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório contém uma quantidade de pelo menos ou pelo menos cerca de 0,1 mg, 0,5 mg, 1,0 mg, 2,5 mg, 5 mg, 10 mg, 25 mg, 50 mg ou 100 mg. Em algumas de qualquer tais modalidades, a uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório contém uma quantidade mais do que ou mais do que cerca de 1 mg, 2,5 mg, 5 mg, 7,5 mg, 10 mg, 15 mg e menor do que 25 mg.

Em algumas de qualquer tais modalidades, a terapia com célula T é ou inclui terapia de linfocítica (TL) infiltrante de tumor ou células geneticamente modificadas expressando um receptor recombinante que especificamente se liga a um antígeno. Em algumas de qualquer tais modalidades, a terapia com célula T é ou inclui células geneticamente

modificadas expressando um receptor recombinante que especificamente se liga a um antígeno.

Em algumas de qualquer tais modalidades, o receptor recombinante é ou contém um receptor de antígeno não TCR funcional ou um TCR ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo. Em algumas de qualquer tais modalidades, o receptor de antígeno recombinante é um receptor de antígeno quimérico (CAR). Em algumas de qualquer tais modalidades, o receptor de antígeno recombinante contains an extracellular domain contendo um domínio de ligação ao antígeno que especificamente se liga a um antígeno.

Em algumas de qualquer tais modalidades, o antígeno é associado com, específico para, e/ou expresso em uma célula ou tecido de uma doença, distúrbio ou condição. Em alguns casos, a doença, distúrbio ou condição é uma doença ou distúrbio infeccioso, uma doença autoimune, uma doença inflamatória, ou um tumor ou um câncer.

Em algumas de qualquer tais modalidades, o antígeno é um antígeno de tumor. Em algumas de qualquer tais modalidades, o antígeno é selecionado dentre ROR1, antígeno de maturação de célula B (BCMA), anidrase carbônica 9 (CAIX), tEGFR, Her2/neu (tirosina cinase receptora erbB2), L1-CAM, CD19, CD20, CD22, mesotelina, CEA, e antígeno de superfície de hepatite B, receptor antifolato, CD23, CD24, CD30, CD33, CD38, CD44, EGFR, glicoproteína epitelial 2 (EPG-2), glicoproteína epitelial 40 (EPG-40), EPHA2, dímeros de erb-B2, erb-B3, erb-B4, erbB, EGFR VIII, proteína de ligação ao folato (FBP), FCRL5, FCRH5, receptor de acetilcolina fetal, GD2, GD3, HMW-MAA, IL-22R-alfa, IL-13R-alfa2, receptor de domínio de inserção de cinase (kdr), cadeia kappa leve, Lewis Y, molécula de adesão de célula L1, (L1-CAM), antígeno associado com melanoma (MAGE)-A1, MAGE-A3, MAGE-A6, Antígeno preferencialmente expresso de melanoma (PRA-ME), survivina, TAG72, B7-H6, receptor alfa de IL-13 2 (IL-13Ra2),

CA9, GD3, HMW-MAA, CD171, G250/CAIX, HLA-AI MAGE AI, HLA-A2 NY-ESO-1, PSCA, receptor-a de folato, CD44v6, CD44v7/8, avb6 integrin, 8H9, NCAM, receptores de VEGF, 5T4, Foetal AchR, ligantes de NKG2D, CD44v6, antígeno dual, um antígeno de câncer de testículos, mesotelina, CMV murino, mucina 1 (MUC1), MUC16, PSCA, NKG2D, NY-ESO-1, MART-1, gp100, receptor acoplado à proteína G 5D (GPCR5D), antígeno oncofetal, ROR1, TAG72, VEGF-R2, antígeno carcinoembriônico (CEA), Her2/neu, receptor de estrogênio, receptor de progesterona, efrinaB2, CD123, c-Met, GD-2, GD2 O-acetilado (OGD2), CE7, Tumor de Wilms 1 (WT-1), uma ciclina, ciclina A2, CCL-1, CD138, opcionalmente um antígeno humano de qualquer um dos anteriores; um antígeno específico de patógeno; e um antígeno associado com um rótulo universal. Em algumas modalidades, o antígeno é ou inclui CD19, opcionalmente CD19 humano. Em algumas modalidades, o antígeno é ou inclui BCMA, opcionalmente BCMA humano.

Em algumas de qualquer tais modalidades, o domínio de ligação ao antígeno é ou contém um anticorpo ou um fragmento de anticorpo do mesmo, que opcionalmente é um fragmento de cadeia simples. Em alguns casos, o fragmento contém regiões variáveis de anticorpo ligadas por um ligador flexível. Em algumas modalidades, o fragmento contém um scFv. Em algumas de qualquer tais modalidades, o receptor recombinante também contém um espaçador, opcionalmente derivado de uma imunoglobulina, opcionalmente contendo uma região dobrada.

Em algumas de qualquer tais modalidades, o receptor de antígeno recombinante contém uma região de sinalização intracelular. Em algumas de qualquer tais modalidades, a região de sinalização intracelular contém um domínio de sinalização intracelular. Em alguns exemplos, o domínio de sinalização intracelular é ou contém um domínio de sinalização primária, um domínio de sinalização que é capaz de induzir um

sinal de ativação primária em uma célula T, um domínio de sinalização de um componente de receptor de célula T (TCR), e/ou um domínio de sinalização incluindo um *motivo* de ativação com base em tirosina imunorreceptora (ITAM).

Em algumas de qualquer tais modalidades, o domínio de sinalização intracelular é ou contém um domínio de sinalização intracelular de uma cadeia CD, opcionalmente uma cadeia CD3-zeta (CD3ζ), ou uma porção de sinalização do mesmo. Em algumas de qualquer tais modalidades, o receptor recombinante também contém um domínio de transmembrana disposto entre o domínio extracelular e a região de sinalização intracelular, em que o domínio de transmembrana é opcionalmente domínio de transmembrana de CD8 ou CD28.

Em algumas de qualquer tais modalidades, a região de sinalização intracelular também contém uma região de sinalização coestimulatória. Em alguns casos, a região de sinalização coestimulatória contém um domínio de sinalização intracelular de uma molécula coestimulatória de célula T ou uma porção de sinalização do mesmo. Em algumas modalidades, a região de sinalização coestimulatória contém um domínio de sinalização intracelular de um CD28, um 4-1BB ou um ICOS ou uma porção de sinalização do mesmo. Em alguns exemplos, a região de sinalização coestimulatória contendo um domínio de sinalização intracelular de 4-1BB. Em algumas de qualquer tais modalidades, a região de sinalização coestimulatória é entre o domínio de transmembrana e a região de sinalização intracelular.

Em algumas de qualquer tais modalidades, a terapia com célula T inclui células T selecionadas do grupo que consiste em células T de memória central, células T de memória efetora, células T *naïve*, células T de memória central genealógicas, células T efetoras e células T reguladoras; e/ou uma pluralidade de células, a pluralidade incluindo pelo menos 50 % de uma população de células selecionadas do grupo

que consiste em células T CD4+, células T CD8+, células T de memória central, células T de memória efetora, células T *naïve*, células T de memória central genealógicas, células T efetoras e células T reguladoras. Em algumas de qualquer tais modalidades, a terapia com célula T contém células T que são CD4+ ou CD8+.

Em algumas de qualquer tais modalidades, a terapia com célula T contém células primárias derivadas de um indivíduo. Em algumas de qualquer tais modalidades, a terapia com célula T é autologous ao indivíduo. Em algumas de qualquer tais modalidades, a terapia com célula T é alogênicas ao indivíduo. Em algumas de qualquer tais modalidades, o indivíduo é um humano.

Em algumas de qualquer tais modalidades, a dose unitária da terapia com célula T contém de ou de cerca de  $1 \times 10^5$  a  $1 \times 10^8$  células expressando o receptor recombinante total, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), de ou de cerca de  $5 \times 10^5$  a  $1 \times 10^7$  células expressando o receptor recombinante total, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs) ou de ou de cerca de  $1 \times 10^6$  a  $1 \times 10^7$  células expressando o receptor recombinante total, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), cada qual inclusive. Em algumas de qualquer tais modalidades, a dose unitária da terapia com célula T inclui a administração de não mais do que  $1 \times 10^8$  células expressando o receptor recombinante total, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), não mais do que  $1 \times 10^7$  células expressando o receptor recombinante total, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), não mais do que  $0,5 \times 10^7$  células expressando o receptor recombinante total, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), não mais do que  $1 \times 10^6$  células expressando o receptor recombinante total, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico to-

tais (PBMCs), não mais do que  $0,5 \times 10^6$  células expressando o receptor recombinante total, células T totais, ou células monocleares de sangue periférico totais (PBMCs).

Em algumas de qualquer tais modalidades, a dose unitária da terapia com célula T contém uma dose de célula que é uma dose dividida, em que as células da dose são administrado em uma pluralidade de composições, coletivamente contendo as células da dose, durante um período de não mais do que três dias.

Em algumas de qualquer tais modalidades, as instruções further especificam administrando uma quimioterapia de depleção linfática antes da administração da terapia com célula T. Em algumas de qualquer tais modalidades, a doença ou condição é câncer. Em algumas de qualquer tais modalidades, o câncer é uma malignidade de célula B e/ou um mieloma, linfoma ou leucemia. Em algumas modalidades, o câncer é linfoma da célula manto (MCL), mieloma múltiplo (MM), leucemia linfoblástica aguda (LLA), LLA adulta, leucemia linfoblástica crônica (LLC), linfoma não Hodgkin (LNH), ou Linfoma de célula B grande difusa (DLBCL). Em alguns casos, o câncer é um câncer não hematológico ou é um tumor sólido.

É fornecido aqui um artigo de fabricação, contendo qualquer um dos kits descritos aqui.

É também fornecido aqui composição farmacêutica contendo uma terapia com célula T, um composto imunomodulatório e um veículo farmacêuticamente aceitável. Em algumas modalidades, a terapia com célula T é formulado em uma quantidade de dose unitária. Em alguns casos, a dose unitária da terapia com célula T contém de ou de cerca de  $1 \times 10^5$  a  $1 \times 10^8$  células expressando o receptor recombinante total, células T totais, ou células monocleares de sangue periférico totais (PBMCs), de ou de cerca de  $5 \times 10^5$  a  $1 \times 10^7$  células expressando o receptor recombinante total, células T totais, ou células monocleares



de sangue periférico totais (PBMCs) ou de ou de cerca de  $1 \times 10^6$  a  $1 \times 10^7$  células expressando o receptor recombinante total, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), cada qual inclusive.

São fornecidos aqui composições farmacêuticas que incluem uma terapia com célula T, um composto imunomodulatório e um veículo farmacologicamente aceitável, em que o referido composto imunomodulatório é selecionado do grupo que consiste em: lenalidomida (3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona), pomalidomida (4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindol-1,3-diona), ou avadomida (3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona), um estereoisômero, um enantiômero ou uma mistura de enantiômeros do mesmo, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmacologicamente aceitável do mesmo.

Em algumas modalidades, a dose unitária da terapia com célula T contém a administração de não mais do que  $1 \times 10^8$  células expressando o receptor recombinante total, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), não mais do que  $1 \times 10^7$  células expressando o receptor recombinante total, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), não mais do que  $0,5 \times 10^7$  células expressando o receptor recombinante total, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), não mais do que  $1 \times 10^6$  células expressando o receptor recombinante total, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), não mais do que  $0,5 \times 10^6$  células expressando o receptor recombinante total, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs).

Em algumas de qualquer tais modalidades, o composto imunomodulatório liga-se ao cereblon (CRBN) e/ou ao complexo de E3 ubiquitina CRBN-ligase; e/ou é um inibidor de Ikaros (IKZF1) ou fator de transcri-

ção de Aiolos (IKZF3); e/ou realça a ubiquitinação ou degradação de Ikaros (IKZF1) ou Aiolos (IKZF3). Em algumas de qualquer tais modalidades, o composto imunomodulatório é talidomida ou é um derivado ou análogo de talidomida. Em algumas de qualquer tais modalidades, o composto imunomodulatório é lenalidomida (3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona) ou pomalidomida (4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindol-1,3-diona), avadomida (3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona), um estereoisômero de lenalidomida (3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona), pomalidomida (4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindol-1,3-diona), avadomida (3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona) ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo. Em algumas de qualquer tais modalidades, o composto imunomodulatório é lenalidomida (3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona), um estereoisômero de lenalidomida (3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona) ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo.

Em algumas de qualquer tais modalidades, o composto imunomodulatório é formulado em uma quantidade de dose unitária. Em algumas de qualquer tais modalidades, a quantidade do composto imunomodulatório na composição é de ou de cerca de 0,1 mg a cerca 100 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 50 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 25 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 10 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 5 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 1 mg, de ou de cerca de 1 mg a 100 mg, de ou de cerca de 1 mg a 50 mg, de ou de cerca de 1 mg a 25 mg, de ou de cerca de 1 mg a 10 mg, de ou de cerca de 1 mg a 5 mg, de ou de cerca de 5 mg a 100 mg, de ou de cerca de 5 mg a 50 mg, de ou de cerca de 5 mg a 25 mg, de ou de cerca de 5 mg a 10 mg, de ou de cerca de

10 mg a 100 mg, de ou de cerca de 10 mg a 50 mg, de ou de 10 mg a 25 mg, de ou de cerca de 25 mg a 100 mg, de ou de cerca de 25 mg a 50 mg ou de ou de cerca de 50 mg a 100 mg, cada qual inclusive; e/ou a quantidade do composto imunomodulatório na composição é pelo menos ou pelo menos cerca de 0,1 mg, 0,5 mg, 1,0 mg, 2,5 mg, 5 mg, 10 mg, 25 mg, 50 mg ou 100 mg. Em algumas de qualquer tais modalidades, a quantidade do composto imunomodulatório na composição é mais do que ou mais do que cerca de 1 mg, 2,5 mg, 5 mg, 7,5 mg, 10 mg, 15 mg e menor do que 25 mg.

Em algumas de qualquer tais modalidades, a terapia com célula T é ou contém terapia de linfocítica (TL) infiltrante de tumor ou células geneticamente modificadas expressando um receptor recombinante que especificamente se liga a um antígeno. Em algumas de qualquer tais modalidades, a terapia com célula T é ou contém células geneticamente modificadas expressando um receptor recombinante que especificamente se liga a um antígeno. Em algumas de qualquer tais modalidades, o receptor recombinante é ou contém um receptor de antígeno não TCR funcional ou um TCR ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo. Em algumas de qualquer tais modalidades, o receptor de antígeno recombinante é um receptor de antígeno quimérico (CAR).

Em algumas de qualquer tais modalidades, o receptor de antígeno recombinante contém an extracellular domain contendo um domínio de ligação ao antígeno que especificamente se liga a um antígeno. Em algumas de qualquer tais modalidades, o antígeno é associado com, específico para, e/ou expresso em uma célula ou tecido de uma doença, distúrbio ou condição. Em alguns casos, a doença, distúrbio ou condição é uma doença ou distúrbio infeccioso, uma doença autoimune, uma doença inflamatória, ou um tumor ou um câncer.

Em algumas de qualquer tais modalidades, o antígeno é um antígeno de tumor. Em algumas de qualquer tais modalidades, o antígeno é se-

lecionado dentre ROR1, antígeno de maturação de célula B (BCMA), anidrase carbônica 9 (CAIX), tEGFR, Her2/neu (tirosina cinase receptora erbB2), L1-CAM, CD19, CD20, CD22, mesotelina, CEA, e antígeno de superfície de hepatite B, receptor antifolato, CD23, CD24, CD30, CD33, CD38, CD44, EGFR, glicoproteína epitelial 2 (EPG-2), glicoproteína epitelial 40 (EPG-40), EPHA2, dímeros de erb-B2, erb-B3, erb-B4, erbB, EGFR VIII, proteína de ligação ao folato (FBP), FCRL5, FCRH5, receptor de acetilcolina fetal, GD2, GD3, HMW-MAA, IL-22R-alfa, IL-13R-alfa2, receptor de domínio de inserção de cinase (kdr), cadeia kappa leve, Lewis Y, molécula de adesão de célula L1, (L1-CAM), antígeno associado com melanoma (MAGE)-A1, MAGE-A3, MAGE-A6, Antígeno preferencialmente expresso de melanoma (PRA-ME), survivina, TAG72, B7-H6, receptor alfa de IL-13 2 (IL-13Ra2), CA9, GD3, HMW-MAA, CD171, G250/CAIX, HLA-AI MAGE AI, HLA-A2 NY-ESO-1, PSCA, receptor-a de folato, CD44v6, CD44v7/8, avb6 integrin, 8H9, NCAM, receptores de VEGF, 5T4, Foetal AchR, ligantes de NKG2D, CD44v6, antígeno dual, um antígeno de câncer de testículos, mesotelina, CMV murino, mucina 1 (MUC1), MUC16, PSCA, NKG2D, NY-ESO-1, MART-1, gp100, receptor acoplado à proteína G 5D (GPCR5D), antígeno oncofetal, ROR1, TAG72, VEGF-R2, antígeno carcinoembrionário (CEA), Her2/neu, receptor de estrogênio, receptor de progesterona, efrinaB2, CD123, c-Met, GD-2, GD2 O-acetilado (OGD2), CE7, Tumor de Wilms 1 (WT-1), uma ciclina, ciclina A2, CCL-1, CD138, opcionalmente um antígeno humano de qualquer um dos anteriores; um antígeno específico de patógeno; e um antígeno associado com um rótulo universal. Em algumas de qualquer tais modalidades, o antígeno é ou contém CD19, opcionalmente CD19 humano. Em algumas modalidades, o antígeno é ou contém BCMA, opcionalmente BCMA humano.

Em algumas de qualquer tais modalidades, o domínio de ligação ao

antígeno é ou contém um anticorpo ou um fragmento de anticorpo do mesmo, que opcionalmente é um fragmento de cadeia simples. Em alguns exemplos, o fragmento contém regiões variáveis de anticorpo ligadas por um ligador flexível. Em algumas modalidades, o fragmento contém um scFv. Em algumas de qualquer tais modalidades, o receptor recombinante também contém um espaçador, opcionalmente derivado de uma imunoglobulina, opcionalmente contendo uma região dobrada.

Em algumas de qualquer tais modalidades, o receptor de antígeno recombinante contém uma região de sinalização intracelular. Em alguns exemplos, a região de sinalização intracelular contém um domínio de sinalização intracelular. Em alguns casos, o domínio de sinalização intracelular é ou contém um domínio de sinalização primária, um domínio de sinalização que é capaz de induzir um sinal de ativação primária em uma célula T, um domínio de sinalização de um componente de receptor de célula T (TCR), e/ou um domínio de sinalização contendo um *motivo* de ativação com base em tirosina imunorreceptora (ITAM). Em algumas modalidades, o domínio de sinalização intracelular é ou contém um domínio de sinalização intracelular de uma cadeia CD, opcionalmente uma cadeia CD3-zeta (CD3ζ), ou uma porção de sinalização do mesmo.

Em algumas de qualquer tais modalidades, o receptor recombinante também contém um domínio de membrana disposto entre o domínio extracelular e a região de sinalização intracelular, em que o domínio de membrana é opcionalmente domínio de membrana de CD8, CD28, CTLA-4, ou PD-1. Em algumas de qualquer tais modalidades, a região de sinalização intracelular também contém uma região de sinalização coestimulatória.

Em algumas de qualquer tais modalidades, a região de sinalização coestimulatória contém um domínio de sinalização intracelular de uma

molécula coestimulatória de célula T ou uma porção de sinalização do mesmo. Em algumas modalidades, a região de sinalização coestimulatória contém um domínio de sinalização intracelular de um CD28, um 4-1BB ou um ICOS ou uma porção de sinalização do mesmo. Em alguns exemplos, a região de sinalização coestimulatória contém um domínio de sinalização intracelular de 4-1BB. Em algumas de qualquer tais modalidades, a região de sinalização coestimulatória é entre o domínio de transmembrana e a região de sinalização intracelular. Em algumas de qualquer tais modalidades, o receptor recombinante é ou comprises um receptor de antígeno quimérico contendo um domínio de ligação ao antígeno, um espaçador, a transmembrane domain de CD28, um domínio de sinalização intracelular contendo a cadeia CD3-zeta (CD3 $\zeta$ ) e um domínio de sinalização intracelular de 4-1BB.

Em algumas de qualquer tais modalidades, a terapia com célula T inclui células T selecionadas do grupo que consiste em células T de memória central, células T de memória efetora, células T *naïve*, células T de memória central genealógicas, células T efetoras e células T reguladoras; e/ou uma pluralidade de células, a pluralidade incluindo pelo menos 50 % de uma população de células selecionadas do grupo que consiste em células T CD4+, células T CD8+, células T de memória central, células T de memória efetora, células T *naïve*, células T de memória central genealógicas, células T efetoras e células T reguladoras. Em algumas de qualquer tais modalidades, a terapia com célula T contém células T que são CD4+ ou CD8+. Em alguns exemplos, a relação de célula T CD4+ para CD8+ é de ou de cerca de 1:3 a 3:1, opcionalmente 1:1.

Em algumas de qualquer tais modalidades, a terapia com célula T contém células primárias derivadas de um indivíduo. Em alguns casos, o indivíduo é um humano.

Em algumas de qualquer tais modalidades, a composição farmacêuti-

ca contém um volume de ou de cerca de 1 mL a 100 mL, 1 mL a 75 mL, 1 mL a 50 mL, 1 mL a 25 mL, 1 mL a 10 mL, 1 mL a 5 mL, 5 mL a 100 mL, 5 mL a 75 mL, 5 mL a 50 mL, 5 mL a 25 mL, 5 mL a 10 mL, 10 mL a 100 mL, 10 mL a 75 mL, 10 mL a 50 mL, 10 mL a 25 mL, 25 mL a 100 mL, 25 mL a 75 mL, 25 mL a 50 mL, 50 mL a 100 mL, 50 mL a 75 mL ou 75 mL a 100 mL. Em algumas de qualquer tais modalidades, a composição farmacêutica contém um volume de pelo menos ou cerca de pelo menos ou cerca de 1 mL, 5 mL, 10 mL, 20 mL, 25 mL, 30 mL, 40 mL, 50 mL, 60 mL, 70 mL, 80 mL, 90 mL ou 100 mL.

Em algumas de qualquer tais modalidades, a composição farmacêutica também contém um crioprotetor. Em algumas de qualquer tais modalidades, a composição farmacêutica é sterile.

É fornecido aqui um artigo de fabricação contendo qualquer uma das composições farmacêuticas descritas aqui.

É também fornecido um método de tratamento incluindo administrar qualquer uma das composições farmacêuticas descritas aqui a um indivíduo para o tratamento de uma doença ou condição. Em alguns casos, a doença ou condição é câncer. Em alguns casos, o câncer é uma malignidade de célula B e/ou um mieloma, linfoma ou leucemia. Em algumas modalidades, o câncer é linfoma da célula manto (MCL), mieloma múltiplo (MM), leucemia linfoblástica aguda (LLA), LLA adulta, leucemia linfoblástica crônica (LLC), linfoma não Hodgkin (LNH), Linfoma de célula B grande difusa (DLB) ou linfoma folicular (FL).

#### Breve Descrição dos Desenhos

**FIG.1A** mostra a expressão da superfície BCMA de linhagens celulares de mieloma múltiplo (RPMI-8226, MM1.S, e OPM-2). A linha pontilhada indica o antecedente e as linhagens celulares negativas de BCMA foram manchadas com anticorpo anti-BCMA. MFI, intensidade de fluorescência média.

**FIG.1B** mostra a porcentagem de redução de células alvo expressan-

do BCMA (RPMI-8226) por anti-BCMA células T CAR+ na presença e ausência de lenalidomida (10  $\mu$ M) após 6 dias de cocultura. **FIG. 1C** mostra o efeito de lenalidomida sobre a atividade citolítica de células T CAR+ anti-BCMA contra células alvo RPMI-8226.

**FIGs. 2A-2C** mostram a quantidade de IL-2 (**FIG. 2A**), IFN $\gamma$  (**FIG. 2B**), e TNF- $\alpha$  (**FIG. 2C**) observada nos sobrenadantes após incubação de células alvo RPMI-8226 com células T CAR anti-BCMA na presença e ausência de lenalidomida.

**FIG. 3A** mostra o efeito de as concentrações crescentes de lenalidomida sobre a atividade citolítica de células T CAR+ anti-BCMA contra células alvo OPM2.

**FIGs. 3B-D** mostram a quantidade de IFN $\gamma$  (**FIG. 3B**), IL-2 (**FIG. 3C**), e TNF- $\alpha$  (**FIG. 3D**) observada nos sobrenadantes após incubação de células alvo OPM2 com células T CAR anti-BCMA na presença de as concentrações crescentes de lenalidomida, ou na ausência de lenalidomida.

**FIG. 3E** mostra a atividade citolítica de CART-T anti-BCMA específica de antígeno e produção de citocina de células T CAR+ anti-BCMA derivadas de doadores saudáveis representativos e pacientes de mieloma múltiplo contra células alvo OPM-2 na presença de concentrações variáveis de lenalidomida (0,01  $\mu$ M, 0,1  $\mu$ M, 1,0  $\mu$ M ou 10  $\mu$ M lenalidomida) ou na ausência de lenalidomida.

**FIG. 3F** mostra a atividade citolítica de CART-T anti-BCMA específica de antígeno de células T CAR+ anti-BCMA derivadas de três doadores saudáveis e um paciente de mieloma múltiplo contra OPM-2 e células alvo RPMI-8226 na presença de concentrações variáveis de lenalidomida (0,01  $\mu$ M, 0,1  $\mu$ M, 1,0  $\mu$ M ou 10  $\mu$ M lenalidomida) ou na ausência de lenalidomida. **FIG. 3G** mostra a produção de citocina de células T CAR+ anti-BCMA derivadas de três doadores saudáveis e um paciente de mieloma múltiplo contra células alvo OPM-2 na presença de con-



centrações variáveis de lenalidomida (0,01  $\mu$ M, 0,1  $\mu$ M, 1,0  $\mu$ M ou 10  $\mu$ M lenalidomida) ou na ausência de lenalidomida.. **FIG. 3H** mostra a produção de citocina de células T CAR<sup>+</sup> anti-BCMA derivadas de três doadores saudáveis e um paciente de mieloma múltiplo contra células alvo RPMI-8226 na presença de concentrações variáveis de lenalidomida (0,01  $\mu$ M, 0,1  $\mu$ M, 1,0  $\mu$ M ou 10  $\mu$ M lenalidomida) ou na ausência de lenalidomida.

**FIG. 4A** descreve a expansão de células T CAR anti-BCMA após restimulação na presença de concentrações variáveis de lenalidomida.

**FIG. 4B** descreve a expansão de células T CAR anti-BCMA após restimulação tanto na presença quanto ausência de lenalidomida.

**FIG. 5A** mostra as contagens celulares (duplicações de população projetada) das células T CAR<sup>+</sup> anti-BCMA de três doadores para cada ponto de tempo no ensaio de restimulação, na presença de um veículo ou 0,1  $\mu$ M de lenalidomida. O "x" indica células insuficientes para a ressemeadura no ensaio. **FIG. 5B** mostra intensidade fluorescente média de CD25 (MFI) (controlada em CD3<sup>+</sup> CAR<sup>+</sup> viva). **FIG. 5C** mostra a produção de citocina normalizada para o número de célula semeada (painéis superior e inferior à esquerda) e intensidade fluorescente média de CD25 (MFI) (controlada em CD3<sup>+</sup> CAR<sup>+</sup> viva) (painel inferior à esquerda).

**FIG. 6A** mostra o número total de células CD3<sup>+</sup> em cultura nos dias 2 e 7 após incubação de células T CAR anti-BCMA ou células T que não expressaram um CAR (simulado) na presença ou ausência de lenalidomida. **FIGs. 6B e 6C** mostram a expressão de CD25<sup>+</sup> em células T CD4<sup>+</sup> (**FIG. 6B**) e CD8<sup>+</sup> (**FIG. 6C**) em culturas nos dias 2 e 7 após incubação de células T CAR anti-BCMA ou células T que não expressaram um CAR (simulado) na presença ou ausência de lenalidomida.

**FIG. 7A** mostra o volume de tumor de camundongos over time após administração de uma baixa dose de células T CAR<sup>+</sup> anti-BCMA na

presença e ausência de lenalidomida.

**FIG. 7B** mostra a porcentagem de sobrevivência de camundongos que foram administrados com uma baixa dose de células T CAR+ anti-BCMA na presença e ausência de lenalidomida. Para os grupos de controle, células T que não expressaram um CAR (simulado) foram administrado na presença e ausência de lenalidomida, e lenalidomida sem células T foi também administrada.

**FIG. 8A** mostra os níveis de CD4+ células T CAR+ no sangue de camundongos tratados com células T CAR+ anti-BCMA e lenalidomida em comparação com os outros grupos de tratamento nos dias 7, e 14.

**FIG. 8B** mostra os níveis de CD4+ células T CAR+ no sangue de camundongos tratados com células T CAR+ anti-BCMA e lenalidomida em comparação com os outros grupos de tratamento nos dias 21 e 36.

**FIG. 8C** mostra os níveis de CD8+ células T CAR+ no sangue de camundongos tratados com células T CAR+ anti-BCMA e lenalidomida em comparação com os outros grupos de tratamento nos dias 7 e 14.

**FIG. 8D** mostra os níveis de CD8+ células T CAR+ no sangue de camundongos tratados com células T CAR+ anti-BCMA e lenalidomida em comparação com os outros grupos de tratamento nos dias 21 e 36.

**FIG. 8E** mostra os níveis de CD4+ células T CAR+ no sangue de camundongos tratados com non-CAR+ células T e lenalidomida em comparação com os outros grupos de tratamento nos dias 7, e 14.

**FIG. 8F** mostra os níveis de CD4+ células T CAR+ no sangue de camundongos tratados com células T não CAR+ e lenalidomida em comparação com os outros grupos de tratamento nos dias 21 e 36.

**FIG. 8G** mostra os níveis de CD8+ células T CAR+ no sangue de camundongos tratados com células T não CAR+ e lenalidomida em comparação com os outros grupos de tratamento nos dias 7 e 14.

**FIG. 8H** mostra os níveis de CD8+ células T CAR+ no sangue de camundongos tratados com células T não CAR+ e lenalidomida em comparação com

os outros grupos de tratamento nos dias 21 e 36.

**FIGs. 9A e 9B** descrevem os resultados da carga tumoral de camundongos tratados sob o Regime A (LenA), em que os camundongos foram administrados com lenalidomida um dia antes de receberem células T CAR+.

**FIG. 9C** mostra a carga tumoral de camundongos individuais até o dia 53.

**FIG. 9D** mostra os resultados de imageamento de tumor no dia 46 após a administração de célula CAR+ para camundongos individuais tendo recebido a dose mais elevada de CAR+ ( $1 \times 10^6$ ), com lenalidomida no dia -1 (Len A). **FIG. 9E** mostra os resultados de imageamento de tumor no dia 46 pós administração de célula CAR+ para camundongos individuais tendo recebido a dose mais elevada de CAR+ ( $1 \times 10^6$ ) sem lenalidomida no dia -1 (Len A).

**FIGs. 9F e 9G** descrevem os resultados da carga tumoral de camundongos tratados sob o Regime B (LenB), em que a administração de lenalidomida foi iniciada no dia 14 após administração de T CAR+.

**FIG. 9H** mostra a carga tumoral de camundongos individuais até o dia 53.

**FIG. 9I** mostra os resultados de imageamento de tumor (dia 46 após administração de célula CAR+) para camundongos individuais tendo recebido a dose mais elevada de CAR+ ( $1 \times 10^6$ ), com lenalidomida no dia -1 (Len A). **FIG. 9J** mostra os resultados de imageamento de tumor (dia 46 após administração de célula CAR+) para camundongos individuais tendo recebido a dose mais elevada de CAR+ ( $1 \times 10^6$ ), sem lenalidomida no dia -1 (Len A).

**FIGs. 10A-10D** mostram a sobrevivência de camundongos na presença ou ausência de lenalidomida. Lenalidomida foi administrada por meio do regime A (Len A; administração de lenalidomida iniciada no dia -1) ou Regime B (Len B; administração de lenalidomida iniciada no

dia 14) em combinação com doses baixas ( $5 \times 10^5$  ou  $5e^5$ ) ou elevadas ( $1 \times 10^6$  ou  $1e^6$ ) de células T CAR+. Para os grupos de controle, células T que não expressaram um CAR (simulado) foram administradas na presença e ausência de lenalidomida por meio tanto do regime A quanto Regime B, e lenalidomida sem células T foi também administrada tanto por meio do regime A quanto Regime B.

**FIG. 10E** mostra os resultados de avaliação de carga tumoral para camundongos tendo recebido a dose mais elevada de CAR+ ( $1 \times 10^6$ ) e fornecida uma administração intraperitoneal diária de 10 mg/kg de lenalidomida ou controle de veículo iniciada no dia -1 (um dia antes da administração de T CAR) (lenalidomida concorrente (lenalidomida (C) ou veículo (veículo (C)) ou no dia 14 pós Administração de T CAR (ou simulado) (lenalidomida retardada (D)). Os resultados são mostrados através do dia 60, como analisado pela bioluminescência por citometria de fluxo. **FIG. 10F** mostra a porcentagem de sobrevivência de camundongos na presença ou ausência de lenalidomida. **FIGs. 10G e 10H** mostram a análise citométrica de fluxo de células de controle simulado e células T CAR no sangue dos camundongos nos dias 8, 14, 22, e 28 após injeção das células T CAR de dois doadores.

**FIG. 11** mostra o número de células CD4+ e CD8+ em culturas de células T CAR anti-CD19 estimuladas com uma concentração subideal de anti-CD3 na presença e ausência de lenalidomida.

**FIG. 12A** mostra o número de células T CD3+/CAR+ em sangue periférico medido em certos pontos de tempo pós infusão para indivíduos agrupados pela melhor resposta global.

**FIG. 12B** mostra CD3+/CAR+ células T em sangue periférico medido em certos pontos de tempo pós infusão para indivíduos que obtiveram uma resposta, agrupados por resposta continuada em 3 meses.

**FIGs. 12C-2D** mostram os níveis de células T CD4+/CAR+ e CD8+/CAR+ no sangue periférico medidos em certos pontos de tempo

pós infusão para indivíduos que obtiveram uma resposta, agrupados por resposta continuada em 3 meses.

**FIG. 13A** mostra o número de células T CD3+/CAR+, CD4+/CAR+ , CD8+/CAR+ no sangue periférico de um indivíduo com DLBCL transformada quimiorrefratária medida em certos pontos de tempo. **FIG. 13B** descreve um pré-tratamento com imagem de PET-CT axial mostrando uma anormalidade intracranial na fossa craniana media direita e anormalidade extensiva nos tecidos subcutâneos na região auricular posterior direita. **FIG. 13C** é um pós-tratamento com imagem de PET-CT descrevendo a resolução da anormalidade na FIG. 13B após tratamento com células T CAR+ anti-CD19. **FIG. 13D** é um pré-tratamento com MRI cerebral (imagem ponderada em T<sub>1</sub> de alta resolução com o uso de material de contraste; vista axial) mostrando um massa homogeneamente realçada na fossa craniana média direita. **FIG. 13E** é um pós-tratamento com imagem de MRI mostrando resolução quase completa da massa de realce. **FIG. 13F** é uma imagem de PET-CT axial na recaída mostrando recorrência de tumor auricular posterior direita associada com captação intensa de <sup>18</sup>F-fluorodeoxiglicose (seta). **FIG. 13G** é um imageamento de PET-CT mostrando resolução do tumor auricular posterior após biópsia incisional e re-expansão de células T CAR+.

**FIG. 14** mostra o nível de células alvo viáveis durante um período de aproximadamente 120 horas quando células T CAR+ anti-CD19 são incubadas com células efetoras K562-CD19 em uma relação de célula efetora para alvo (E:T) de 5:1 na presença ou ausência de lenalidomida a 1 nM, 5 nM, 60 nM, 550 nM ou 5000 nM ou na ausência de lenalidomida (control).

**FIG. 15A** mostra os níveis de expressão de CD25+ tanto em células T CD4+ quanto CD8+ quando células T CAR+ anti-CD19 são incubadas com células efetoras K562-CD19 na presença de lenalidomida ou um

composto alternativo alvejando uma cinase.

**FIG. 15B** mostra os níveis de expressão de CD25+ tanto em células T CD4+ quanto CD8+ quando células T CAR+ anti-CD19 são incubadas com células efetoras de PD-1 na presença de lenalidomida ou um composto alternativo alvejando uma cinase.

**FIG. 16** mostra a quantidade de IL-10 em sobrenadantes de cultura após incubação de células T CAR+ anti-CD19 com células efetoras K562-CD19 em uma relação de célula efetora para alvo (E:T) de 3:1 ou 9:1, na presença ou ausência de várias concentrações de lenalidomida.

**FIG. 17A** mostra a mudança de duplicação de número de célula após estimulação de células T CAR+ anti-CD19 de dois doadores (pt 1 e pt 2) com células efetoras K562-CD19 na presença ou ausência de 1  $\mu$ M de lenalidomida ou 50 nM ou 500 nM de um composto alternativo alvejando uma cinase. **FIG. 17B** mostra o número de duplicações de célula em comparação com o número inicial após a 2ª e 4ª estimulações.

**FIG. 18A** mostra a atividade citolítica das células T CAR+ anti-CD19 das suas células doadoras (pt 1 e pt 2) re-estimuladas com células K562-CD19 (rotuladas com NucLight Red (NLR)) e na presença de 1  $\mu$ M de lenalidomida ou 50 nM ou 500 nM do composto alternativo alvejando uma cinase.

**FIG. 18B** mostra a porcentagem de morte de célula alvo das células T CAR+ anti-CD19 das suas células doadoras (1 ou 2) re-estimuladas com células K562-CD19 em comparação com o controle-veículo apenas (estabelecido a 100%).

**FIG. 19A** mostra uma plotagem de histograma de manchamento com CTV de células totais em uma composição de célula T CAR+ anti-BCMA após incubação com contas (200  $\mu$ g/mL de composição de conta conjugada com BCMA) em uma relação de 1:1 células T para contas e na presença ou ausência de 5  $\mu$ M de lenalidomida.

**FIG. 19B e FIG. 19C** mostram histogramas de citometria de fluxo para CD25 em células T CD4+ (painel esquerdo) ou células T CD8+ (painel direito) presentes em uma composição de célula T CAR+ anti-BCMA após incubação com contas (200 µg/mL de composição de conta conjugada com BCMA) em uma relação de 1:1 células T para contas ou anti-CD3 imobilizado, respectivamente, na presença ou ausência de lenalidomida.

**FIGS. 20A-20I** mostram gráficos que exibem os níveis de fatores de transcrição e marcadores de ativação em ou sobre células T CD4+ (painéis esquerdos) ou células T CD8+ (painéis direitos) presentes em uma composição de célula T CAR+ anti-BCMA após incubation sem estimulação ou com diferentes quantidades de contas conjugadas com BCMA ou contas conjugadas com anti-CD3 e anti-CD28 e na presença de 0 µM, 0,5 µM, ou 50 µM de lenalidomida. Levels of Blimp1 (**FIG. 20A**), CD25 (**FIG. 20B**), CD31 (**FIG. 20C**), PD-1 (**FIG. 20D**), Tbet (**FIG. 20E**), EOMES (**FIG. 20F**), GATA3 (**FIG. 20G**), Helios (**FIG. 20H**), e Ikaros (**FIG. 20I**) são mostrados. 200 BCMA, 50 BCMA, e 5 BCMA indicam contas conjugadas com BCMAs gerados por incubação de BCMA com as contas em uma quantidade de 200, 50, e 5 µg de BCMA por aproximadamente  $4 \times 10^8$  contas, respectivamente.

**FIG. 21A-C** mostra gráficos que exibem os níveis de IFN-gama (**FIG. 21A**), IL-2 (**FIG. 21B**), e TNF alfa (**FIG. 21C**) extracelular de culturas após incubação de uma composição de célula T CAR+ anti-BCMA com duas diferentes quantidades de contas conjugadas com BCMAs na presença ou ausência de 5 µM de lenalidomida. 50 µg de BCMA e 5 µg de BCMA indicam contas conjugadas com BCMAs geradas por incubação de BCMA com as contas em uma quantidade de 50 e 5 µg de BCMA por aproximadamente  $4 \times 10^8$  contas, respectivamente.

**FIG. 21D** mostra um gráfico exibindo os níveis de IL-2 extracelular de culturas após incubação de uma composição de célula T CAR+ anti-

BCMA de dois diferentes doadores com diferentes quantidades de contas conjugadas com BCMAs na presença de 0  $\mu\text{M}$ , 1  $\mu\text{M}$ , ou 5  $\mu\text{M}$  de lenalidomida. 200 BCMA e 5 BCMA indicam contas conjugadas com BCMAs gerados por incubação de BCMA com as contas em uma quantidade de 200  $\mu\text{g}$  e 5  $\mu\text{g}$  de BCMA por aproximadamente  $4 \times 10^8$  contas, respectivamente.

**FIG. 21E e FIG. 21F** mostra contagem de célula total após cultura de uma composição de célula T CAR+ anti-BCMA após incubação durante 4 dias (**FIG. 21E**) ou 7 dias (**FIG. 21F**) com diferentes quantidades de contas conjugadas com BCMAs na presença de 5  $\mu\text{M}$  de lenalidomida. 50 BCMA e 5 BCMA indicam contas conjugadas com BCMAs gerados por incubação de BCMA antigen com as contas em uma quantidade de 50  $\mu\text{g}$  e 5  $\mu\text{g}$  de BCMA por aproximadamente  $4 \times 10^8$  contas, respectivamente.

**FIG. 21G** mostra plotagens de histograma de manchamento com CTV de células T CD4+ ou células T CD8+ em uma composição de célula T CAR+ anti-BCMA após incubação durante 4 ou 7 dias com contas conjugadas com BCMAs na presença de 5  $\mu\text{M}$  de lenalidomida ou ausência de lenalidomida (veículo).

**FIG. 21H e 21I** mostram gráficos que exibem a porcentagem de células positivas para o marcador substituto de EGFRt como determinado com um anticorpo anti-EGFR após incubação de uma composição de célula T CAR+ anti-BCMA durante 4 dias (**FIG. 21H**) ou 7 dias (**FIG. 21I**) com diferentes quantidades de contas conjugadas com BCMAs na presença de 5  $\mu\text{M}$  de lenalidomida ou ausência de lenalidomida (veículo). "50" e "5" indicam contas gerados por incubação de BCMA com as contas em uma quantidade de 50  $\mu\text{g}$  e 5  $\mu\text{g}$  de BCMA por aproximadamente  $4 \times 10^8$  contas, respectivamente.

**FIG. 21J** mostra a porcentagem de morte celular de células alvo RPMI-8226 por células efetoras T CAR+ anti-BCMA que foram incuba-



das com diferentes quantidades de contas conjugadas com BCMA na presença de 5  $\mu$ M de lenalidomida ou ausência de lenalidomida (veículo). Atividade citolítica de composições contendo uma relação de células efectoras para células alvo de 3:1 ou 1:1 e também na presença ou ausência de lenalidomida são mostradas. "50" e "5" indicam contas conjugadas com BCMA geradas por incubação de BCMA com as contas em uma quantidade de 50 e 5  $\mu$ g de BCMA por aproximadamente  $4 \times 10^8$  contas, respectivamente.

**FIG. 22A** mostra a análise citométrica de fluxo de STAT5 fosforilado após 2 horas de estimulação de CAR (estim) com 50  $\mu$ g contas de BCMA. Nenhum controle de estimulação mostrado com linha pontilhada. **FIG. 22B** mostra a análise citométrica de fluxo de níveis de citocina intracelulares em um doador de T CAR normal representativo após 24 horas de estimulação de contas de BCMA (controlada em CD3+ transduzida, viva).

**FIG. 23A-23B** descreve os resultados de um ensaio de re-estimulação serial de composições de célula T CAR anti-Que foram incubadas durante sete dias com contas conjugadas com BCMA (50  $\mu$ g/mL). Resultados de três diferentes composições de doador são mostradas. **FIG. 23A** e **FIG. 23B** mostram a atividade citolítica das células T CAR+ anti-BCMA em cada um dos pontos de tempo para os dois diferentes doadores.

**FIG. 24A** mostra os resultados para atividade citotóxica específica de antígeno de CAR e **FIG. 24B** mostra os resultados para produção de citocina para células T CAR anti-BCMA que foram pré-estimuladas com contas de BCMA (em comparação com células T CAR anti-BCMA recentemente descongeladas (não pré-estimuladas)) nas coculturas, comparando células cultivadas na presença versus ausência de lenalidomida. **FIG. 24C** mostra a viabilidade global e contagem celular medidas para três doadores de T CAR anti-BCMA. **FIG. 24D** mostras os

resultados de análise citométrica de fluxo de expressão de superfície CD25 e PD-1 (intensidade fluorescente média (MFI), para células T CAR CD4+ ou CD8+ anti-BCMA após estimulação (pré-tratamento) com contos de BCMA durante 7 dias, na presença ou ausência de 1  $\mu$ M de lenalidomida. **FIG. 24E** mostra a análise citométrica de fluxo através dos doadores de T CAR quanto à intensidade de fluorescência média (MFI; CD25 e Tim3) ou porcentagem de PD-1 e Lag3 positivo sobre a superfície de marcadores de célula T em subgrupos de CD4+ CAR+ e CD8+ CAR+ (controlados em células CD3+ vivas). Os valores mostrados são porcentagem de (Veh) MFI, viabilidade, ou contagem de linha de base.

**FIG. 25A** mostra a análise de produção de citocina efetora após estimulação específica de CAR em 50  $\mu$ g de contos de BCMA durante 24 horas na presença de 1  $\mu$ M de lenalidomida em comparação com resposta de linha de base (veículo) para cada um dos três doadores.

**FIG. 25B** mostra os efeitos de células T CAR anti-BCMA ativadas nas diferentes concentrações de contos de BCMA (isto é, 5  $\mu$ g, 50  $\mu$ g, e 200  $\mu$ g) na presença ou ausência de lenalidomida (0,1  $\mu$ M ou 1  $\mu$ M) sobre produção de citocina efetora de T CAR.

**FIG. 25C** mostra a produção de citocina de células T CAR anti-BCMA derivadas de doadores saudáveis representativos e pacientes de mieloma múltiplo estimuladas em contos de BCMA com ou sem adição de PD-L1 nas contos, na presença de 1  $\mu$ M de lenalidomida) ou na ausência de lenalidomida.

**FIGS. 26A e 26B** mostram os resultados de análise de componente principal (PCA) quanto à expressão de gene (com base nos resultados de RNA-seq; **FIG. 26A**) e acessibilidade de cromatina (com base nos resultados de ATAC-seq; **FIG. 26B**), em células T CAR anti-BCMA expressando geradas de 4 diferentes doadores (Doadores 1-4), estimuladas com contos conjugadas com BCMAs, durante 24 horas (24 hr +

estim) ou 7 dias (d7 + estim), ou cultivadas sem estimulação durante 24 horas (24 hr), na presença ou ausência de lenalidomida.

**FIGS. 27A e 27B** mostram plotagens vulcânicas que descrevem significância estatística de expressão ( $\log_{10}$  de valor p ajustado) com a mudança de duplicação  $\log_2$  em expressão de gene, incluindo genes ou picos que mostram expressão aumentada (lado direito) ou diminuída (lado esquerdo), em células T CAR+ estimuladas com contas conjugadas com BCMAs, durante 24 horas (24 hr + estim, **FIG. 27A**) ou 7 dias (d7 + estim, **FIG. 27B**), na presença ou ausência de lenalidomida. As tabelas indicam o número de genes ou picos que mostraram aumento (cima) ou diminuição (baixo) estatisticamente significativa em expressão.

**FIGS. 27C e 27D** mostram plotagens vulcânicas que descrevem significância estatística de expressão ( $\log_{10}$  de valor p ajustado) com a mudança de duplicação  $\log_2$  em g acessibilidade de cromatina, incluindo genes ou picos que mostram acessibilidade aumentada (lado direito) ou diminuída (lado esquerdo), em células T CAR+ estimuladas com contas conjugadas com BCMAs, durante 24 horas (24 hr + estim, **FIG. 27C**) ou 7 dias (d7 + estim, **FIG. 27D**). As tabelas indicam o número de genes ou picos que mostrou aumento (cima) ou diminuição (baixo) estatisticamente significativa em acessibilidade.

**FIGS. 28A e 28B** descrevem direcionalidade e significância de expressão para genes em vias de sinalização biológica que foram enriquecidas nos grupos de genes cuja expressão foi estatística e significativamente aumentada ou diminuída, em células T CAR+ estimuladas com contas conjugadas com BCMAs, durante 24 horas (24 hr + estim, **FIG. 28A**) ou 7 dias (d7 + estim, **FIG. 28B**).

**FIG. 29** mostra uma plotagem comparando os picos individuais de acessibilidade de cromatina (losango) e as mudanças médias de acessibilidade de cromatina para cada gene (círculo), com as mudan-

ças de expressão de gene, para os genes selecionados envolvidos na ativação e sinalização de célula T.

**FIG. 30** mostra a análise de enriquecimento de *motivo*, valor p log de enriquecimento, prevalência e fatores de transcrição preditos ligar-se aos *motivos* para os picos com acessibilidade aumentada na presença de lenalidomida em culturas de 7 dias.

[0183] A **FIG. 31** mostra a análise por citometria de fluxo da expressão intracelular de *Ikaros* nas células T expressando CAR CD4<sup>+</sup> anti-CD19 e células T expressando CAR CD8<sup>+</sup> anti-CD19. As células T expressando CAR foram estimuladas com anticorpo anti-idiotípico CAR-T (5 µg/mL) tratado em uma faixa de concentração de lenalidomida ou Composto 1. Os valores de intensidade de fluorescência média (MFI) para *Ikaros* foram normalizados e calculados como uma porcentagem relativa a como uma porcentagem relativa ao controle do veículo.

[0184] As **FIGS. 32A e 32B** mostram a análise da produção de citocinas de células T expressando CAR anti-CD19 na presença do Composto 1 (**FIG. 32A**) ou lenalidomida (**FIG. 32B**) após incubação com células alvo. Ensaio de citocinas multiplex de sobrenadantes retirados em 24 horas de cavidades em triplicata de células T expressando CAR anti-CD19 cocultivadas com células alvo K562.CD19 na presença de várias concentrações de Composto 1 ou lenalidomida. As concentrações de IFN-γ, IL-2 e TNF-α foram determinadas para células T expressando CAR de três doadores diferentes através de duas relações de E:T. Os dados representam a média<sup>±</sup> S.D. em 3 experimentos.

[0185] A **FIG. 33** mostra a análise da função citolítica de células T expressando CAR anti-CD19 na presença do Composto 1 ou lenalidomida após incubação com células alvo. As células T expressando CAR anti-CD19 de três doadores diferentes foram cocultivadas com

células alvo K562.CD19 em triplicata através de duas relações de E:T na presença do Composto 1 ou lenalidomida durante 5 dias. Os resultados foram calculados como um índice de morte normalizado. Os dados representam a média<sup>±</sup> S.D. em 3 experimentos.

[0186] As **FIGS. 34A e 34B** mostram análise da produção de citocinas de células T expressando CAR anti-CD19 na presença do Composto 1 (**FIG. 34A**) ou lenalidomida (**FIG. 34B**) após estimulação de anticorpos anti-idiotípicos. Ensaio de citocinas multiplex de sobrenadantes retirados em 24 horas de cavidades triplicatas de células T expressando CAR anti-CD19 cocultivadas com anticorpo anti-idiotípico agonista na presença de 100 ou 1000 nM de Composto 1 (**FIG. 34A**) ou 500 ou 5000 lenalidomida nM (**FIG. 34B**). As concentrações de IFN- $\gamma$ , IL-2 e TNF- $\alpha$  foram determinadas para células T expressando CAR de três doadores diferentes. Os dados representam a média<sup>±</sup> S.D. em 3 experimentos.

[0187] As **FIGS. 35A e 35B** mostram a análise de expressões de marcador de superfície em células T CD4<sup>+</sup> anti-CD19 expressando CAR (**FIG. 35A**) e células T CD8<sup>+</sup> anti-CD19 expressando CAR (**FIG. 35B**) na presença do composto 1 após o anticorpo anti-idiotípico estimulação. As células T expressando CAR anti-CD19 de três doadores diferentes foram estimuladas com anticorpo anti-idiotípico a 0, 0,3, 3 ou 30  $\mu$ g/mL na presença de 100 ou 1000  $\mu$ nM do composto 1. As células foram analisadas por fluxo citometria no dia 4. Foi calculada a mudança absoluta na intensidade de fluorescência média em relação ao controle de veículo para cada concentração de anticorpo anti-idiotípico. Os dados são representativos de três experimentos.

[0188] As **FIGS. 36A e 36B** mostram a análise de expressões de marcador de superfície em células T CD4<sup>+</sup> anti-CD19 expressando CAR (**FIG. 36A**) e células T CD8<sup>+</sup> anti-CD19 expressando CAR (**FIG. 36B**) na presença de lenalidomida após estimulação de anticorpos an-

ti-idiotípicos. As células T expressando CAR anti-CD19 de três doadores diferentes foram estimuladas com anticorpo anti-idiotípico em 0, 0,3, 3 ou 30 µg/mL na presença de 500 ou 5000 µM de lenalidomida. As células foram analisadas por citometria de fluxo no dia 4. Foi calculada a mudança absoluta na intensidade de fluorescência média em relação ao controle de veículo para cada concentração de anticorpo anti-idiotípico. Os dados são representativos de três experimentos.

[0189] As **FIGS. 37A e 37B** mostram a análise da expressão da superfície de CD28 em células T expressando CAR CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> anti-CD19 na presença do Composto 1 (**FIG. 37A**) ou lenalidomida (**FIG. 37B**) após estimulação em série. As células T expressando CAR anti-CD19 de três doadores diferentes foram estimuladas com K562.CD19 na relação de E:T de 2,5:1 a cada 3-4 dias na presença do Composto 1 (**FIG. 37A**) ou lenalidomida (**FIG. 37B**). A porcentagem de células positivas para CD28 foi medida por citometria de fluxo no dia 28.

[0190] A **FIG. 38** mostra a análise da função citolítica de células T expressando CAR anti-CD19 na presença do Composto 1 ou lenalidomida após estimulação em série. As células T expressando CAR anti-CD19 de três doadores diferentes após 24 dias de estimulação em série foram cocultivadas com células alvo K562.CD19 irradiadas em triplicata em duas relações de E:T na presença do Composto 1 ou lenalidomida. Os resultados foram calculados como um índice de morte normalizado.

[0191] As **FIGS. 39A e 39B** mostram a análise de duplicação da população de células T expressando CAR anti-CD19 durante um período de estimulação em série de 28 dias na presença de ausência do Composto 1. As células T expressando CAR anti-CD19 de três doadores diferentes foram estimuladas com células alvo K562.CD19 em uma relação E:T de 2,5:1 ou 10:1 a cada 3 a 4 dias na presença de 500 nM de Composto 1 durante 28 dias (representado pelo eixo x). As células

foram contadas após cada estimulação e as duplicações celulares foram calculadas. (FIG. 39A) A variação percentual na duplicação celular no dia 24 da estimulação em série na presença de 10 nM, 100 nM ou 500 nM do composto 1 foi mostrada na FIG. 39B. Os dados representam média<sup>±</sup> S.E.M de tratamentos em triplicatas de 3 doadores. Cada seta representa um ponto no tempo de re-estimulação.

[0192] As FIGS. 40A e 40B mostram a análise de duplicação da população de células T expressando CAR anti-CD19 durante um período de estimulação serial de 28 dias na presença de ausência de lenalidomida. As células T expressando CAR anti-CD19 de três doadores diferentes foram estimuladas com células alvo K562.CD19 na relação E:T de 2,5:1 ou 10:1 a cada 3 a 4 dias na presença de lenalidomida 1000 nM durante 28 dias (representado pelo eixo x). As células foram contadas após cada estimulação e as duplicações celulares foram calculadas. (FIG. 40A) A variação percentual na duplicação de células no dia 24 da estimulação em série na presença de lenalidomida 100 nM ou 1000 nM foi mostrada na FIG. 40B. Os dados representam média<sup>±</sup> S.E.M de tratamentos triplicatas de três doadores. Cada seta representa um ponto no tempo de re-estimulação.

#### Descrição Detalhada

São fornecidos aqui terapias de combinação que envolvem a administração de uma imunoterapia envolvendo função ou atividade de célula T, tal como uma terapia com célula T, e um composto imunomodulatório, tal como um análogo ou derivado estrutural ou funcional de talidomida e/ou um inibidor de E3-ubiquitina ligase. Em alguns aspectos, os métodos fornecidos realçar ou modular a proliferação e/ou atividade de atividade de célula T associada com a administração de uma imunoterapia ou agente imunoterapêutico, tal como uma composição incluindo células para terapia com célula adotiva, por exemplo, tal como uma terapia com célula T (por exemplo, células T expressando CAR). Em

algumas modalidades, a terapia de combinação envolve a administração de um composto imunomodulatório, tal como um análogo estrutural ou funcional de talidomida e/ou um inibidor de E3-ubiquitina ligase, e administração da terapia com célula T, tal como uma composição incluindo células para terapia com célula adotiva, por exemplo, tal como uma terapia com célula T (por exemplo, células T expressando CAR).

Terapias com base em célula T, tal como terapias de célula T adotiva (incluindo aquelas envolvendo a administração de células expressando receptores quiméricos específicos para uma doença ou distúrbio de interesse, tais como receptores de antígeno quiméricos (CARs) e/ou outros receptores de antígeno recombinantes, bem como outras terapias com célula adotiva imune e célula T adotiva) pode ser eficazes no tratamento de câncer e outras doenças e distúrbios. A expressão modificada de receptores recombinantes, tal como receptores de antígeno quiméricos (CARs), sobre a superfície de células T permite a redireção de especificidade de célula T. Em estudos clínicos, células T CAR, por exemplo, células T CAR anti-CD19, produziram respostas completas, duráveis tanto em pacientes com leucemia quanto linfoma (Porter *et al.* (2015) *Sci Transl Med.*, 7:303ra139; Kochenderfer (2015) *J. Clin. Oncol.*, 33: 540-9; Lee *et al.* (2015) *Lancet*, 385:517-28; Maude *et al.* (2014) *N Engl J Med*, 371:1507-17).

Em certos contextos, métodos disponíveis para terapia com célula adotiva podem nem sempre ser completamente satisfatórios. Em alguns contextos, a eficácia ideal pode depender da capacidade das células administradas de reconhecerem e se ligarem a um alvo, por exemplo, alvo antígeno, trafegar, localizar e entrar com sucesso nos sítios apropriados dentro do indivíduo, tumores e ambientes. Em alguns contextos, a eficácia ideal pode depender da capacidade das células administradas serem ativadas, expandidas, exercerem várias funções efe-



toras, incluindo morte citotóxica e secreção de vários fatores tais como citocinas, persistir, a longo prazo, diferenciar, transição ou se engajar na reprogramação em certos estados fenotípicos (tais como estados de memória de longa duração, menos diferenciada e efetores), para evitar ou reduzir as condições imunossupressoras no microambiente local de uma doença, para fornecer respostas eficazes e robustas de recall após a liberação e re-exposição ao ligante alvo ou antígeno, e evitar ou reduzir a exaustão, anergia, tolerância periférica, diferenciação terminal e/ou diferenciação em um estado supressor.

Em algumas modalidades, a exposição e persistência de células modificadas é reduzida ou declina após administração ao indivíduo. Ainda, observações indicam que, em alguns casos, a exposição aumentada do indivíduo as células administradas expressando os receptores recombinantes (por exemplo, número aumentado de células ou duração ao longo do tempo) pode melhorar a eficácia e resultados terapêuticos em terapia com célula adotiva. A análise preliminar conduzida após a administração de diferentes células T CAR expressando CD19 que alvejam indivíduos com vários cânceres que expressam CD19 em múltiplos experimentos clínicos revelou uma correlação entre o maior e/ou mais longo grau de exposição às células expressando CAR e resultados de tratamento. Tais resultados incluíram sobrevivência e remissão de paciente, mesmo em indivíduos com carga tumoral severa ou significativa.

Em alguns aspectos, os métodos fornecidos e usos fornecem ou obtêm respostas ou eficácia melhoradas ou mais duráveis em comparação com certos métodos alternativos, tal como em grupos particulares de indivíduos tratados. Em algumas modalidades, os métodos são vantajosos em virtude da administração de terapia com célula T, tal como uma composição incluindo células para terapia com célula adotiva, por exemplo, tal como uma terapia com célula T (por exemplo, cé-

lulas T expressando CAR), e um composto imunomodulatório, tal como um análogo ou derivado estrutural ou funcional de talidomida e/ou um inibidor de E3 ubiquitina ligase, por exemplo, lenalidomida.

Os métodos fornecidos são com base nas observações de que o composto imunomodulatório, tal como um análogo ou derivado estrutural ou funcional de talidomida e/ou um inibidor de E3 ubiquitina ligase, por exemplo, lenalidomida, melhora a função de célula T, incluindo funções relacionadas à expansão, proliferação e persistência de células T. Lenalidomida é um fármaco imunomodulatório atualmente para o tratamento de mieloma múltiplo (MM) e linfoma da célula manto (MCL), e clinicamente testado na terapia de linfoma de célula B grande difusa de imunofenótipo de célula B ativada. Em alguns casos, lenalidomida aumenta as respostas imunes antitumor pelo menos parcialmente modulando a atividade de E3 ubiquitina ligase Cereblon (CRBN), que induz à ubiquitinilação aumentada de fatores de transcrição Ikaros e Aiolos, que por sua vez resulta em expressão mudada de vários receptores na superfície de células tumorais (veja, por exemplo, Otáhal *et al.* (2016) *Oncoimmunology.*, Abril; 5(4): e1115940).

As descobertas fornecidas indicam que a terapia de combinação do composto imunomodulatório, tal como um análogo ou derivado estrutural ou funcional de talidomida e/ou um inibidor de E3 ubiquitina ligase, por exemplo, lenalidomida, nos métodos envolvendo células T, tal como envolvendo administração de terapia com célula T adotiva, obtém função melhorada da terapia com célula T. Em algumas modalidades, combinação da terapia celular (por exemplo, administração de células modificadas) com o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, melhora ou realça uma ou mais funções e/ou efeitos da terapia com célula T, tais como persistência, expansão, citotoxicidade, e/ou resultados terapêuticos, por exemplo, capacidade de exterminar ou reduzir a carga de tumor ou outra doença ou célula alvo.

Em aspectos particulares, é constatado aqui que um composto imunomodulatório, tal como um análogo ou derivado estrutural ou funcional de talidomida e/ou um inibidor de E3 ubiquitina ligase, por exemplo, lenalidomida, promove função continuada e/ou sobrevivência de células de uma terapia com célula T (por exemplo, células T CAR) após ativação, incluindo após encontrar com antígeno. Em alguns aspectos, lenalidomida aumenta a capacidade de tais células T de persistirem ou funcionar a longo prazo, tal como prevenindo a exaustão ou morte celular. Em algumas modalidades, tais melhoras podem resultar em uma terapia de combinação exibindo respostas globais melhoradas, por exemplo, redução na carga tumoral, e/ou sobrevivência aumentada em comparação em indivíduos tratados com uma monoterapia envolvendo administração da terapia com célula T (por exemplo, célula T CAR) ou compostos imunomodulatório (por exemplo, lenalidomida) sozinho. Em alguns aspectos, os métodos fornecidos aumentam respostas e/ou sobrevivência global em ou mais do que 1,5 vezes, 2,0 vezes, 3,0 vezes, 4,0 vezes, 5,0 vezes, 10 vezes ou mais em comparação com um tratamento alternativo, tal como em comparação com uma monoterapia envolvendo administração da terapia com célula T (por exemplo, célula T CAR) ou compostos imunomodulatório (por exemplo, lenalidomida) sozinho.

Em algumas modalidades, a combinação com o composto imunomodulatório, enquanto melhorando um ou mais resultados ou atributos funcionais, não afeta um ou mais efeitos colaterais ou mudanças indesejadas nas células T, tal como não reduz a capacidade das células de tornarem-se ativadas, secretarem uma ou mais citocinas desejadas, expandirem-se e/ou persistirem, por exemplo, como medido em um ensaio *in vitro* como em comparação com tais células cultivadas sob condições, de outro modo, iguais, porém na ausência do composto imunomodulatório. Desse modo, em algumas modalidades, são forne-

cidos métodos e combinações que resultam em melhoras na função ou fenótipo de célula T, por exemplo, em funcionalidade de célula T intrínseca e/ou fenótipo de célula T intrínseca, geralmente sem comprometer uma ou mais propriedades desejadas de funcionalidade, por exemplo, de funcionalidade de célula T CAR.

Em algumas modalidades, os métodos fornecidos podem potencializar a terapia com célula T, por exemplo, terapia com célula T CAR, que, em alguns aspectos, pode melhorar os resultados para o tratamento. Em algumas modalidades, os métodos são particularmente vantajosos em indivíduos, em que as células da terapia com célula T exibem fraca expansão, tornaram-se exausta, exibem uma persistência reduzida ou diminuída no indivíduo e/ou em indivíduos que têm um câncer que é resistente ou refratário à outras terapias, é um cancer agressivo ou de risco elevado, e/ou que é ou é provável exibir uma taxa de resposta relativamente inferior a uma terapia com célula T CAR administrada sem o composto imunomodulatório em comparação com outro tipo de câncer ou em comparação com administração com uma diferente terapia com célula T CAR.

Em alguns aspectos, os métodos fornecidos podem realçar, aumentar ou potenciar a terapia com célula T, tal como superar a ausência de persistência e/ou exaustão de células T, por exemplo, em indivíduos em que, no ou próximo ao dia 12 a 15 após a iniciação da administração da terapia com célula T, menos do que 10  $\mu$ L, tal como menos do que 5  $\mu$ L ou menos do que 1  $\mu$ L de tais células, ou um subgrupo de CD8 ou CD3+ das mesmas, são detectável no sangue. Em algumas modalidades, um indivíduo que recebeu a administração de uma terapia com célula T, por exemplo, célula T CAR, é monitorado quanto à presença, ausência ou nível de células T da terapia no indivíduo, tal como em uma amostra biológica do indivíduo, por exemplo, no sangue do indivíduo. Em algumas modalidades, um composto imunomodulató-

rio, tal como um análogo ou derivado estrutural ou funcional de talidomida e/ou um inibidor de E3 ubiquitina ligase, por exemplo, lenalidomida, é administrado a um indivíduo que recebeu uma terapia com célula T (por exemplo, células T CAR), porém em que tais células fracamente se expandiram e/ou são em ou abaixo de um nível limiar em uma amostra do indivíduo, por exemplo, amostra de sangue, em um momento quando expansão forte ou robusta das células T CAR no indivíduo é tipicamente observada em uma pluralidade de indivíduos administrados com uma terapia com célula T (por exemplo, CAR-T), em alguns casos, esta mesma terapia com célula T (por exemplo, mesmas células T CAR). Em alguns aspectos, um composto imunomodulatório, tal como um análogo ou derivado estrutural ou funcional de talidomida e/ou um inibidor de E3 ubiquitina ligase, por exemplo, lenalidomida, é administrado se, no ou próximo ao dia 12 a 15 após a iniciação da administração da terapia com célula T, menos do que 10  $\mu$ L, tal como menos do que 5  $\mu$ L ou menos do que 1  $\mu$ L de tais células, ou um subgrupo de CD8 ou CD3+ da mesma, são detectáveis no sangue.

Em certos aspectos, os métodos fornecidos podem realçar, aumentar ou potenciar a terapia com célula T em indivíduos em que uma resposta máxima à terapia com célula T foi observada, porém em que a presença, por exemplo, presença de células T e/ou redução na carga tumoral, tornou-se reduzida ou não é mais detectável. Em alguns aspectos, um composto imunomodulatório, tal como um análogo ou derivado estrutural ou funcional de talidomida e/ou um inibidor de E3 ubiquitina ligase, por exemplo, lenalidomida, é administrada a um indivíduo dentro de uma semana, tal como dentro de 1, 2 ou 3 dias após: (i) pico ou nível máximo das células da terapia com célula T ser detectável no sangue do indivíduo; (ii) o número de células da terapia com célula T detectável no sangue, após ter sido detectável no sangue, é não detectável ou é reduzido, opcionalmente reduzido em comparação com

um ponto de tempo anterior após administração da terapia com célula T; (iii) o número de células da terapia com célula T detectável no sangue é diminuído em ou mais do que 1,5 vezes, 2,0 vezes, 3,0 vezes, 4,0 vezes, 5,0 vezes, 10 vezes ou mais o número de pico ou máximo de células da terapia com célula T detectável no sangue do indivíduo após a iniciação da administração da terapia com célula T; (iv) em um momento após um nível de pico ou máximo das células da terapia com célula T ser detectável no sangue do indivíduo, o número de células de ou derivado das células T detectável no sangue do indivíduo é menor do que menor do que 10%, menor do que 5%, menor do que 1% ou menor do que 0,1% de células mononucleares de sangue periférico total (PBMCs) no sangue do indivíduo; (v) o indivíduo exibe progressão de doença e/ou tem recaída após remissão após tratamento com a terapia com célula T; e/ou (iv) o indivíduo exibe carga tumoral aumentada em comparação com a carga tumoral em um momento antes de ou após a administração das células T e antes da iniciação da administração do composto imunomodulatório.

Em algumas modalidades, os métodos podem ser usados para o tratamento de uma doença ou condição, por exemplo, uma malignidade de célula B ou malignidade hematológica, e em particular, tais doenças, condições ou malignidades, em que as respostas, por exemplo, resposta completa, ao tratamento com a terapia com célula T sozinha, tal como uma composição incluindo células para terapia com célula adotiva, por exemplo, tal como uma terapia com célula T (por exemplo, células T expressando CAR), é relativamente baixa em comparação ao tratamento com outras terapias com célula T ou tratamento de outras doenças ou malignidades (por exemplo, uma CR menor do que ou menor do que cerca de 60%, menor do que cerca de 50% ou menor do que cerca de 45% do indivíduos assim tratados) e/ou em que o indivíduo é não responsivo ao tratamento com o composto imunomodulatório.

rio, tal como um análogo ou derivado estrutural ou funcional de talidomida e/ou um inibidor de E3 ubiquitina ligase, por exemplo, lenalidomida, sozinho.

Em algumas modalidades, a terapia de combinação é fornecido aqui para uso em um indivíduo tendo um câncer em que após a iniciação da administração da terapia com célula T, tal como uma composição incluindo células para terapia com célula adotiva, por exemplo, células T expressando CAR, o indivíduo tem recaída após remissão após tratamento com a terapia com célula T. Em algumas modalidades, indivíduos que recaíram após tal remissão são administrados com um composto imunomodulatório, tal como um análogo ou derivado estrutural ou funcional de talidomida e/ou um inibidor de E3 ubiquitina ligase, por exemplo, lenalidomida. Em algumas modalidades, a terapia de combinação é fornecida aqui para uso em um indivíduo tendo uma doença ou condição, por exemplo, câncer, em que a quantidade do composto imunomodulatório administrada é insuficiente, como um único agente e/ou na ausência de administração da terapia com célula T, para melhorar, reduzir ou impedir a doença ou condição ou um sintoma ou resultado da mesma, tal como é insuficiente para melhorar, reduzir ou impedir a doença ou condição no indivíduo ou um sintoma ou resultado da mesma. Em algumas modalidades, o método, desse modo, reduz ou melhora um sintoma ou resultado ou carga da doença ou condição para um grau que é menor do que a combinação (i) do grau de redução ou melhora realizada pela administração do agente imunomodulatório sozinho, opcionalmente, em média, em uma população de indivíduos tendo a doença ou condição, e (ii) do grau de redução ou melhora pela administração da terapia com célula T sozinha, opcionalmente, em média, em uma população de indivíduos tendo a doença ou condição. Em algumas modalidades, o método reduz ou melhora tais sintomas, os resultados ou cargas da doença, por exemplo, em

comparação com, em média, em uma população de indivíduos tendo a doença ou condição, em mais do que ou mais do que cerca de 1,5 vezes, 2,0 vezes, 3,0 vezes, 4,0 vezes, 5,0 vezes, 6,0 vezes, 7,0 vezes, 8,0 vezes, 9,0 vezes, 10,0 vezes 20,0 vezes, 30,0 vezes, 40,0 vezes, 50,0 vezes ou mais.

Em algumas modalidades, a terapia de combinação fornecida é usada em conexão com tratamento de certas doenças ou condições, por exemplo, câncer, em que estimulação ideal de um receptor de antígeno recombinante, por exemplo, célula T CAR, é difícil de obter e/ou não é consistentemente observado. Em algumas modalidades, menos do que a estimulação ideal pode ser um resultado de baixos ou inacessíveis níveis de antígeno de doença *in vivo*, por exemplo, em ou no tumor. Em algumas modalidades, certos cânceres, tal como LNH, por exemplo, LNH de risco elevado ou agressivo, tal como DLBCL, e/ou leucemia linfocítica crônica (LLC) pode estar associada com defeitos em ou redução na funcionalidade de célula T intrínseca, que, em alguns casos, é influenciada pela própria doença. Por exemplo, a patogênese de muitos cânceres, tais como LLC e LNH, por exemplo, DLBCL, pode estar associada com imunodeficiência, induzindo à promoção de crescimento de tumor e evasão imune, tal como devido à imunossupressão de células T, por exemplo, impulsionada por um ou mais fatores no microambiente tumoral. Em alguns casos, o alívio de defeitos de célula T intrínseca obtidos de cânceres de tais pacientes para uso em conexão com a terapia com célula adotiva forneceria respostas mais potentes à terapia com célula T adotiva, por exemplo, terapia com célula T CAR. Em alguns casos, estimulação menos do que ideal pode ser devido às diferenças no nível de expressão do CAR em células modificadas administradas ao indivíduo. Em qualquer uma de tais modalidades, a administração do composto imunomodulatório, tal como um análogo ou derivado estrutural ou funcional de talidomida



e/ou um inibidor de E3 ubiquitina ligase, por exemplo, lenalidomida, pode realçar a estimulação ou atividade de tais células T *in vivo* no indivíduo.

Em algumas modalidades dos métodos fornecidos, uma ou mais propriedades de células geneticamente modificadas administradas podem ser melhoradas ou aumentadas ou mais do que em comparação com células administradas de uma composição de referência, tal como expansão e/ou persistência aumentada ou mais longa de tais células administradas no indivíduo ou uma resposta de retorno aumentada ou maior na re-estimulação com antígeno. Em algumas modalidades, o aumento pode ser de pelo menos a 1,2 vezes, pelo menos 1,5 vezes, pelo menos 2 vezes, pelos menos 3 vezes, pelo menos 4 vezes, pelo menos 5 vezes, pelo menos 6 vezes, pelo menos 7 vezes, pelo menos 8 vezes, pelo menos 9 vezes, ou pelo menos 10 vezes aumentam em tal propriedade ou característica em comparação com a mesma propriedade ou característica na administração de uma composição de célula de referência. Em algumas modalidades, o aumento em uma ou mais de tais propriedades ou características pode ser observado ou é presente dentro de 7 dias, 14 dias, 21 dias, dentro de um mês, dois meses, três meses, quatro meses, cinco meses, seis meses, ou 12 meses após administração das células geneticamente modificadas e a iniciação da administração do composto imunomodulatório, tal como um análogo ou derivado estrutural ou funcional de talidomida e/ou um inibidor de E3 ubiquitina ligase, por exemplo, lenalidomida.

Em algumas modalidades, uma composição de célula de referência pode ser uma composição de células T do sangue de um indivíduo não tendo ou não suspeito de ter o câncer ou é uma população de células T obtida, isolada, gerada, produzida, incubada e/ou administrada sob as mesmas ou substancialmente as mesmas condições, exceto não tendo sido incubada ou administrada na presença do composto

imunomodulatório. Em algumas modalidades, a composição de célula de referência contém células geneticamente modificadas que são substancialmente iguais, incluindo expressão do mesmo receptor recombinante, por exemplo, CAR. Em alguns aspectos, tais células T são tratadas idênticas ou substancialmente idênticas, tal como fabricadas similarmente, formuladas similarmente, administrados na mesma ou acerca da mesma quantidade de dosagem e outros fatores similares.

Em algumas modalidades, os métodos fornecidos resultam em célula geneticamente modificada com persistência aumentada e/ou melhor potência em um indivíduo ao qual ela é administrada. Em algumas modalidades, a persistência de células geneticamente modificadas, tal como células T expressando CAR, no indivíduo é maior do que em comparação com aquele que seria obtida por métodos alternativos, tal como aqueles envolvendo administração de uma composição de célula de referência, por exemplo, administração da terapia com célula T porém na ausência de administração do composto imunomodulatório. Em algumas modalidades, a persistência é aumentada em pelo menos ou cerca de pelo menos 1,5 vezes, 2 vezes, 3 vezes, 4 vezes, 5 vezes, 6 vezes, 7 vezes, 8 vezes, 9 vezes, 10 vezes, 20 vezes, 30 vezes, 50 vezes, 60 vezes, 70 vezes, 80 vezes, 90 vezes, 100 vezes ou mais.

Em algumas modalidades, o grau ou extensão de persistência de células administradas pode ser detectado ou quantificado após administração a um indivíduo. Por exemplo, em alguns aspectos, PCR quantitativa (qPCR) é usada para avaliar a quantidade de células expressando o receptor recombinante (por exemplo, células expressando CAR) no sangue ou soro ou órgão ou tecido (por exemplo, sítio de doença) do indivíduo. Em alguns aspectos, a persistência é quantificada como cópias de DNA ou plasmídeo codificando o receptor, por exemplo, CAR,

por micrograma de DNA, ou como o número de células expressando receptor, por exemplo, expressando CAR por microlitro da amostra, por exemplo, de sangue ou soro, ou por número total de células mononucleares de sangue periférico (PBMCs) ou células de glóbulos brancos ou T células por microlitro da amostra. Em algumas modalidades, ensaios citométricos de fluxo detectando células expressando o receptor geralmente usando anticorpos específicos para os receptores também podem ser realizados. Ensaio com base em célula podem também ser usados para detectar o número ou porcentagem de células funcionais, tais como células capazes de ligar-se a e/ou neutralizar e/ou induzir respostas, por exemplo, respostas citotóxicas, contra células da doença ou condição ou expressão do antígeno reconhecido pelo receptor. Em qualquer uma de tais modalidades, a extensão ou nível de expressão de outro marcador associado com o receptor recombinante (por exemplo, células expressando CAR) pode ser usado para distinguir as células administradas de células endógenas em um indivíduo.

São também fornecidos métodos para modificação, preparação e produção das células, composições contendo as células e/ou compostos imunomodulatórios, e *kits* e dispositivos contendo e usando, produzindo e administrando as células e/ou compostos imunomodulatórios, tal como de acordo com os métodos de terapia de combinação fornecidos.

Todas as publicações, incluindo documentos de patente, artigos científicos e bases de dados, referidos neste pedido são incorporados por referência em sua totalidade para todos os propósitos na mesma medida como se cada publicação individual fosse individualmente incorporada por referência. Se uma definição estabelecida aqui for contrária a ou de outro modo inconsistente com uma definição estabelecida nas patentes, pedidos, pedidos publicados e outras purificações que são

aqui incorporados por referência, a definição estabelecida aqui prevalecerá sobre a definição que é incorporada aqui por referência.

O cabeçalho da seção usado aqui é apenas para propósitos de organização e não deve ser interpretado como limitando o assunto individual descrito.

### TERAPIA DE COMBINAÇÃO

São fornecidos aqui métodos para terapia de combinação para o tratamento de uma doença ou distúrbio, por exemplo, um câncer ou doença proliferativa, que inclui administrar a um indivíduo uma terapia de combinação de 1) um composto imunomodulatório, tal como um análogo ou derivado estrutural ou funcional de talidomida e/ou um inibidor de E3 ubiquitina ligase, por exemplo, lenalidomida, e 2) uma terapia com célula T, por exemplo, célula expressando CAR, por exemplo, células T. Em algumas modalidades, a terapia com célula T é uma terapia com célula imune adotiva compreendendo células T que especificamente reconhecem e/ou alvejam um antígeno associado com uma doença ou distúrbio, por exemplo, um câncer ou doença proliferativa. São também fornecidos combinações e artigos de fabricação, tais como *kits*, que contêm uma composição compreendendo a terapia com célula T e/ou uma composição compreendendo o composto imunomodulatório, e usos de tais composições e combinações para tratar ou impedir doenças, condições, e distúrbios, incluindo cânceres.

Em algumas modalidades, tais métodos podem incluir a administração do composto imunomodulatório, tal como um análogo ou derivado estrutural ou funcional de talidomida e/ou um inibidor de E3 ubiquitina ligase, por exemplo, lenalidomida, antes de, simultaneamente com, durante, durante o curso de (incluindo uma vez e/ou periodicamente durante o curso de), e/ou subsequentemente à administração (por exemplo, a iniciação da administração) da terapia com célula T (por exemplo, células T expressando CAR). Em algumas modalidades, as

administrações podem envolver as administrações sequenciais ou intermitentes do composto imunomodulatório e terapia com célula T.

Em algumas modalidades, a terapia celular é terapia com célula adotiva. Em algumas modalidades, a terapia celular é ou compreende a terapia de linfocítica (TL) infiltrante de tumor, uma terapia com TCR transgênica ou uma terapia celular expressando o receptor recombinante (opcionalmente terapia com célula T), que opcionalmente é uma terapia celular expressando receptor de antígeno quimérico (CAR). Em algumas modalidades, a terapia é uma terapia direcionada à célula B. Em algumas modalidades, a terapia alveja antígeno de maturação de célula B (BCMA). Em algumas modalidades, a terapia alveja CD19. Em algumas modalidades, as células e regimes de dosagem para administração das células podem incluir como descrito na seguinte subseção A sob "Administração de terapia com célula T."

Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório potencializa funcionalidade de célula T. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório regula a atividade antimieloma. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório altera o microambiente supressivo. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é um análogo ou derivado estrutural ou funcional de talidomida. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é um inibidor de E3 ubiquitina ligase. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é lenalidomida ou um composto com as mesmas propriedades ou similares de lenalidomida, incluindo análogos ou derivados, um estereoisômero de lenalidomida ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmacologicamente aceitável do mesmo. Em algumas modalidades, os regimes de dosagem para administração do composto imunomodulatório podem incluir qualquer um como descrito na seguinte subseção B sob "Administração do composto imunomodulatório."

Em algumas modalidades, a terapia com célula T (por exemplo, células T expressando *CAR*) e compostos imunomodulatórios são fornecidos como composições farmacêuticas para administração ao indivíduo. Em algumas modalidades, as composições farmacêuticas contêm quantidades terapeuticamente eficazes de um ou ambos os agentes para terapia de combinação, por exemplo, T células para terapia com célula adotiva e um composto imunomodulatório como descrito. Em algumas modalidades, os agentes são formulados para administração em composições farmacêuticas separadas. Em algumas modalidades, qualquer uma das composições farmacêuticas fornecidas aqui podem ser formuladas em formas de dosagem apropriadas para cada rotina de administração.

Em algumas modalidades, a terapia de combinação, que inclui administrar a terapia com célula T, incluindo células modificadas, tal como terapia com célula T *CAR*, e o composto imunomodulatório é administrado a um indivíduo ou paciente tendo uma doença ou condição a ser tratado (por exemplo, câncer) ou em risco de ter a doença ou condição (por exemplo, câncer). Em alguns aspectos, os métodos para tratar, por exemplo, melhorar um ou mais sintomas de, a doença ou condição, tal como diminuindo a carga tumoral em um câncer expressando um antígeno reconhecido pela imunoterapia ou agente imunoterapêutico, por exemplo, reconhecido por uma célula T modificada.

Em algumas modalidades, a doença ou condição que é tratada pode ser qualquer uma, em que expressão de um antígeno é associada com e/ou envolvida na etiologia de uma doença, condição ou distúrbio, por exemplo, causa, exacerba ou de outro modo está envolvida em tal doença, condição, ou distúrbio. Doenças e condições exemplares podem incluir doenças ou condições associadas com malignidade ou transformação de células (por exemplo, câncer), doença autoimune ou inflamatória, ou uma doença infecciosa, por exemplo, causada por pató-

genos bacterianos, virais ou outros. Antígenos exemplares, que incluem antígenos associados com várias doenças e condições que podem ser tratadas, incluem qualquer um dos antígenos descritos aqui. Em modalidades particulares, o receptor recombinante expresso em células modificadas de uma terapia de combinação, incluindo um receptor de antígeno quimérico ou transgênico TCR, especificamente liga-se a um antígeno associado com a doença ou condição.

Em algumas modalidades, a doença ou condição é um tumor, tal como um tumor sólido, linfoma, leucemia, tumor sanguíneo, tumor metastático, ou outro câncer ou tipo de tumor.

Em algumas modalidades, o câncer ou doença proliferativa é uma malignidade de célula B ou malignidade hematológica. Em algumas modalidades o câncer ou doença proliferativa é leucemia linfoblástica aguda (LLA), linfoma de não Hodgkin (LNH), ou leucemia linfocítica crônica (LLC). Em algumas modalidades, o câncer é CLL. Em algumas modalidades, os métodos podem ser usados para tratar um mieloma, um linfoma ou uma leucemia. Em algumas modalidades, os métodos podem ser usados para tratar um linfoma não Hodgkin (LNH), uma leucemia linfoblástica aguda (LLA), uma leucemia linfocítica crônica (LLC), um linfoma de célula B grande difusa (DLBCL), leucemia mieloide aguda (LMA), ou um mieloma, por exemplo, um mieloma múltiplo (MM). Em algumas modalidades, os métodos podem ser usados para tratar a MM ou a DBCBL.

Em algumas modalidades, o antígeno associado com a doença ou distúrbio é selecionado do grupo que consiste em ROR1, antígeno de maturação de célula B (BCMA), tEGFR, Her2, LI-CAM, CD19, CD20, CD22, mesotelina, CEA, e antígeno de superfície de hepatite B, receptor antifolato, CD23, CD24, CD30, CD33, CD38, CD44, EGFR, EGP-2, EGP-4, EPHa2, ErbB2, 3, ou 4, erbB dimers, EGFR vIII, FBP, FCRL5, FCRH5, fetal acetylcholine e receptor, GD2, GD3, HMW-MAA, IL-

22R-alfa, IL-13R-alfa2, kdr, cadeia kappa leve, Lewis Y, molécula de adesão de célula L1, (L1-CAM), antígeno associado com melanoma (MAGE)-A1, MAGE-A3, MAGE-A6, Antígeno preferencialmente expresso de melanoma (PRAME), survivina, EGP2, EGP40, TAG72, B7-H6, IL-13 receptor  $\alpha 2$  (IL-13Ra2), CA9, GD3, HMW-MAA, CD171, G250/CAIX, HLA-AI MAGE AI, HLA-A2 NY-ESO-1, PSCA, receptor-a de folato, CD44v6, CD44v7/8, avb6 integrin, 8H9, NCAM, receptores de VEGF, 5T4, Foetal AchR, ligantes de NKG2D, CD44v6, antígeno dual, e um antígeno associado com um rótulo universal, um antígeno de câncer de testículos, mesotelina, MUC1, MUC16, PSCA, ligantes de NKG2D, NY-ESO-1, MART-1, gp100, receptor acoplado à proteína G 5D (GPCR5D), antígeno oncofetal, ROR1, TAG72, VEGF-R2, antígeno carcinoembrionário (CEA), prostate specific antígeno, PSMA, Her2/neu, receptor de estrogênio, receptor de progesterona, efrinaB2, CD123, c-Met, GD-2, GD2 O-acetilado (OGD2), CE7, Tumor de Wilms 1 (WT-1), uma ciclina, ciclina A2, CCL-1, CD138, e um antígeno específico de patógeno. Em algumas modalidades, o antígeno é associada com ou é um rótulo universal.

Em algumas modalidades, o câncer ou doença proliferativa expressa BCMA. Em algumas modalidades, os métodos fornecidos empregam uma célula T expressando o receptor recombinante (por exemplo, célula T CAR) que alveja BCMA.

Em algumas modalidades, os métodos podem ser usados para tratar um câncer não hematológico, tal como um tumor sólido. Em algumas modalidades, os métodos podem ser usados para tratar um melanoma de bexiga, pulmão, cérebro (por exemplo, melanoma pulmonar de célula pequena), cânceres de mama, cervical, ovariano, colorretal, pancreático, endométrico, esofágico, rim, fígado, próstata, pele, tireoide, ou uterino cânceres. Em algumas modalidades, câncer ou doença proliferativa é câncer é um câncer pancreático, cancer de bexiga, câncer co-



lorretal, câncer de mama, câncer de próstata, câncer renal, câncer hepatocelular, cancer pulmonar, câncer ovariano, câncer cervical, câncer pancreático, câncer retal, câncer da tireoide, câncer uterino, cancer gástrico, câncer esofágico, câncer da cabeça e pescoço, melanoma, cânceres neuroendócrinos, cânceres do SNC, tumores cerebrais, cancer ósseo, ou sarcoma do tecido mole.

Em algumas modalidades, a doença ou condição é uma doença infecciosa ou condição, tal como, porém não limitada às, infecções virais, retrovirais, bacterianas e protozoárias, imunodeficiência, Citomegalovírus (CMV), vírus Epstein-Barr (EBV), adenovírus, BK poliomavírus. Em algumas modalidades, a doença ou condição é uma doença autoimune ou inflamatória ou condição, tal como artrite, por exemplo, artrite reumatoide (RA), diabetes do tipo I, lúpus eritematoso sistêmico (SLE), doença inflamatória do intestino, psoríase, escleroderma, doença autoimune da tireoide, doença de Graves, doença de Crohn, esclerose múltipla, asma, e/ou uma doença ou condição associada com transplante.

Para a prevenção ou tratamento de doença, a dosagem apropriada de compostos imunomodulatórios (por exemplo, lenalidomida) e/ou imunoterapia, tal como uma terapia com célula T (por exemplo, células T expressando CAR), pode depender do tipo de doença a ser tratada, os compostos imunomodulatórios particulares, células e/ou receptores recombinantes expressos nas células, a gravidade e curso da doença, rotina de administração, se o composto imunomodulatório e/ou a terapia com célula T são administrados para propósitos preventivos ou terapêuticos, terapia anterior, frequência de administração, o histórico clínico do indivíduo e resposta às células, e o critério do médico assistente. As composições e células são, em algumas modalidades, adequadamente administradas ao indivíduo em um momento ou durante uma série de tratamentos. Regimes e programas de dosagem exemplares

para a terapia de combinação fornecidos são descritos.

Em algumas modalidades, a terapia com célula T e o composto imunomodulatório são administrados como parte de um outro tratamento de combinação, que pode ser administrado simultaneamente com ou sequencialmente a, em qualquer ordem, outra intervenção terapêutica. Em alguns contextos, a terapia com célula T, por exemplo, células modificadas, tal como células T expressando CAR, são coadministradas com outra terapia suficientemente próxima em tempo, de modo que a terapia com célula T realce o efeito de um ou mais agentes terapêuticos adicionais, ou *vice versa*. Em algumas modalidades, as células são administradas antes de um ou mais agentes terapêuticos adicionais. Em algumas modalidades, a terapia com célula T, por exemplo, células modificadas, tal como células T expressando CAR, são administradas após um ou mais agentes terapêuticos adicionais. Em algumas modalidades, os métodos de terapia de combinação também incluem uma terapia de depleção linfática, tal como administração de um agente quimioterapêutico. Em algumas modalidades, a terapia de combinação também compreende administrar outro agente terapêutico, tal como um agente anticâncer, um inibidor de ponto de verificação, ou outro agente imunomodulador. Usos incluem usos das terapias de combinação em tais métodos e tratamentos, e usos de tais composições na preparação de um medicamento a fim de realizar tais métodos de terapia de combinação. Em algumas modalidades, os métodos e usos desse modo tratam a doença ou condição ou distúrbio, tal como um câncer ou doença proliferativa, no indivíduo.

Antes de, durante ou após administração da imunoterapia (por exemplo, terapia com célula T, tal como terapia com célula T CAR) e/ou um composto imunomodulatório, a atividade biológica da terapia com célula T, por exemplo, a atividade biológica das populações de célula modificada, em algumas modalidades é medida, por exemplo, por qual-

quer um dos diversos métodos conhecidos. Parâmetros para avaliar incluem a capacidade das células modificadas de destruir células alvo, persistência e outras medidas de atividade de célula T, tal como medida usando qualquer método adequado conhecido na técnica, tal como ensaios descritos também abaixo na Seção III. Em algumas modalidades, a atividade biológica das células, por exemplo, células T administradas para a terapia com base na célula T, é medida avaliando a morte celular citotóxica, expressão e/ou secreção de uma ou mais citocinas, proliferação ou expansão, tal como na re-estimulação com antígeno. Em alguns aspectos, a atividade biológica é medida avaliando a carga de doença e/ou resultado clínico, tal como redução na carga ou carga tumoral. Em algumas modalidades, administração de um ou ambos agentes da terapia de combinação e/ou qualquer administração repetida da terapia, pode ser determinada com base nos resultados dos ensaios antes, durante, durante o curso de ou após administração de um ou ambos agentes da terapia de combinação.

Em algumas modalidades, o efeito combinado do composto imunomodulatório em combinação com a terapia celular pode ser sinérgico em comparação com tratamentos envolvendo apenas o composto imunomodulatório ou monoterapia com a terapia celular. Por exemplo, em algumas modalidades, os métodos fornecidos aqui resultam em um aumento ou uma melhora em um efeito terapêutico desejado, tal como um aumento ou uma melhora na redução ou inibição de um ou mais sintomas associados com câncer.

Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório aumenta a expansão ou proliferação das células modificadas, tal como células T CAR. Em algumas modalidades, o aumento na expansão ou proliferação é observado *in vivo* na administração a um indivíduo. Em algumas modalidades, o aumento no número de células modificadas, por exemplo, células T CAR, é aumentado em mais do que ou mais do

que cerca de 1,2 vezes, 1,5 vezes, 2,0 vezes, 3,0 vezes, 4,0 vezes, 5,0 vezes, 6,0 vezes, 7,0 vezes, 8,0 vezes, 9,0 vezes, 10,0 vezes ou mais.

A. ADMINISTRAÇÃO DE TERAPIA COM CÉLULA T

Em algumas modalidades dos métodos, composições, combinações, *kits* e usos fornecidos aqui, a terapia de combinação inclui administrar a um indivíduo uma terapia celular imune, tal como uma terapia com célula T (por exemplo, células T expressando CAR). Administração de tais terapias pode ser iniciada antes de, subsequente à, simultaneamente com administração de one ou mais compostos imunomodulatórios como descrito.

Em algumas modalidades, a terapia com base em célula é ou compreende administração de células, tal como células imunes, por exemplo, célula T ou células NK, que alvejam uma molécula expressa sobre a superfície de uma lesão, tal como um tumor ou um câncer. Em algumas modalidades, as células imunes expressam um receptor de célula T (TCR) ou outro receptor de ligação ao antígeno. Em algumas modalidades, as células imunes expressam um receptor recombinante, tal como um TCR transgênico ou um receptor de antígeno quimérico (CAR). Em algumas modalidades, as células são autólogas ao indivíduo. Em algumas modalidades, as células são alogênicas ao indivíduo.

Em alguns aspectos, a terapia com célula T é ou compreende a terapia de linfocítica (TL) infiltrante de tumor, uma terapia com TCR transgênica ou uma terapia com célula T compreendendo células geneticamente modificadas, tal como uma terapia celular expressando o receptor recombinante. Em algumas modalidades, o receptor recombinante especificamente liga-se a um ligante, tal como um associado com uma doença ou condição, por exemplo, associado com ou expresso em uma célula de um tumor ou câncer. Em algumas modalida-

des, a terapia com célula T inclui administrar T células modificadas para expressar um receptor de antígeno quimérico (CAR).

Em algumas modalidades, as células fornecidas expressam e/ou são modificadas para expressar receptores, tal como receptores recombinantes, incluindo aqueles contendo domínios de ligação ao ligante ou fragmentos de ligação dos mesmos, e receptores de célula T (TCRs) e componentes dos mesmos, e/ou receptores de antígeno de não TCR funcional, tal como receptores de antígeno quiméricos (CARs). Em algumas modalidades, o receptor recombinante contém um domínio de ligação ao ligante extracelular que especificamente se liga a um antígeno. Em algumas modalidades, o receptor recombinante é um CAR que contém um domínio de reconhecimento de antígeno extracelular que especificamente se liga a um antígeno. Em algumas modalidades, o ligante, tal como an antígeno, é uma proteína expressa sobre a superfície de células. Em algumas modalidades, o CAR é um CAR semelhante ao TCR e o antígeno é um antígeno peptídico processado, tal como um antígeno peptídico de uma proteína intracelular, que semelhante a um TCR, é reconhecido na superfície celular no contexto de uma molécula de complexo principal de histocompatibilidade (MHC).

Entre as células modificadas, incluindo células modificadas contendo receptores recombinantes, são descritas na Seção II abaixo. Receptores recombinantes exemplares, incluindo CARs e TCRs recombinantes, bem como métodos para modificação e introdução dos receptores em células, incluem aqueles descritos, por exemplo, nas publicações de pedido de patente internacional números WO200014257, WO2013126726, WO2012/129514, WO2014031687, WO2013/166321, WO2013/071154, WO2013/123061, WO2016/0046724, WO2016/014789, WO2016/090320, WO2016/094304, WO2017/025038, WO2017/173256, publicações de pedido de patente dos Estados Unidos números US2002131960, US2013287748, US20130149337, Pa-

tente dos Estados Unidos nºs 6.451.995, 7.446.190, 8.252.592, 8.339.645, 8.398.282, 7.446.179, 6.410.319, 7.070.995, 7.265.209, 7.354.762, 7.446.191, 8.324.353, 8.479.118, e 9.765.342, e Pedido de patente Europeia número EP2537416, e/ou aqueles descritos por Sadelain *et al.*, *cancer Discov.*, 3(4): 388–398 (2013); Davila *et al.*, *PLoS ONE* 8(4): e61338 (2013); Turtle *et al.*, *Curr. Opin. Immunol.*, 24(5): 633-39 (2012); Wu *et al.*, *cancer*, 18(2): 160-75 (2012). Em alguns aspectos, os receptores de antígenos geneticamente modificados incluem um CAR como descrito na Patente dos Estados Unidos nº: 7.446.190, e aqueles descritos na Publicação de Pedido de Patente Internacional nº: WO/2014055668 A1.

Em algumas modalidades, o antígeno é ou inclui  $\alpha\beta 6$  integrina (avb6 integrin), antígeno de maturação de célula B (BCMA), B7-H3, B7-H6, anidrase carbônica 9 (CA9, também conhecida como CAIX ou G250), um antígeno de câncer-testículo, antígeno de câncer/testículo 1B (CTAG, também conhecido como NY-ESO-1 e LAGE-2), antígeno carcinoembrionário (CEA), uma ciclina, ciclina A2, ligante de quimiocina de C-C *Motivo 1* (CCL-1), CD19, CD20, CD22, CD23, CD24, CD30, CD33, CD38, CD44, CD44v6, CD44v7/8, CD123, CD133, CD138, CD171, proteoglicano de sulfato de condroitina 4 (CSPG4), proteína de fator de crescimento epidérmico (EGFR), proteína truncada de fator de crescimento epidérmico (tEGFR), mutação de receptor de crescimento epidérmico do tipo III (EGFR VIII), glicoproteína epitelial 2 (EPG-2), glicoproteína epitelial 40 (EPG-40), efrinaB2, receptor de efrina A2 (EPHa2), receptor de estrogênio, receptor de Fc tipo 5 (FCRL5; também conhecido como homólogo de receptor de Fc 5 ou FCRH5), receptor de acetilcolina fetal (AChR fetal), a proteína de ligação ao folato (FBP), receptor alfa de folato, ganglioside GD2, GD2 O-acetilado (OGD2), gangliosídeo GD3, glicoproteína 100 (gp100), glipican-3 (GPC3), receptor acoplado à proteína G 5D (GPCR5D), Her2/neu (ti-

rosina cinase receptora erb-B2), Her3 (erb-B3), Her4 (erb-B4), dímeros de erbB, antígeno associado com melanoma de alto peso molecular humano (HMW-MAA), antígeno de superfície de hepatite B, antígeno de leucócito humano A1 (HLA-A1), antígeno de leucócito humano A2 (HLA-A2), receptor alfa de IL-22 (IL-22R $\alpha$ ), receptor alfa de IL-13 2 (IL-13R $\alpha$ 2), receptor de domínio de inserção de cinase (kdr), cadeia kappa leve, molécula de adesão de célula L1 (L1-CAM), epítipo de CE7 de L1-CAM, Repetição rica em leucina cotendo 8 membros de família A (LRRC8A), Lewis Y, antígeno associado com melanoma (MAGE)-A1, MAGE-A3, MAGE-A6, MAGE-A10, mesotelina (MSLN), c-Met, citomegalovírus de murino (CMV), mucina 1 (MUC1), MUC16, ligantes de membro D de grupo exterminador natural (NKG2D), melan A (MART-1), molécula de adesão de célula neural (NCAM), antígeno oncofetal, antígeno preferencialmente expresso de melanoma (PRAME), receptor de progesterona, um antígeno específico de próstata, antígeno de célula tronco de próstata (PSCA), antígeno de membrana específico de próstata (PSMA), Tirosina cinase receptora semelhante ao receptor órfão 1 (ROR1), survivina, Glicoproteína de trofoblasto (TPBG também conhecido como 5T4), glicoproteína associada ao tumor 72 (TAG72), proteína relacionada à tirosinase 1 (TRP1, também conhecida como TYRP1 ou gp75), proteína relacionada à tirosinase 2 (TRP2, também conhecida como dopacromo tautomerase, dopacromo delta-isomerase ou DCT), receptor de fator de crescimento endotelial vascular (VEGFR), receptor de fator de crescimento endotelial vascular 2 (VEGFR2), Tumor de Wilms 1 (WT-1), um antígeno específico de patógeno ou antígeno expresso por patógeno, ou um antígeno associado com um rótulo universal, e/ou moléculas biotiniladas, e/ou moléculas expressas por HIV, HCV, HBV ou outros patógenos. Antígenos alvejados pelos receptores, em algumas modalidades, incluem antígenos associados com uma malignidade de célula B, tal como qualquer um

dos diversos marcadores de célula B conhecidos. Em algumas modalidades, o antígeno é ou inclui CD20, CD19, CD22, ROR1, CD45, CD21, CD5, CD33, Igkappa, Iglambda, CD79a, CD79b ou CD30.

Em algumas modalidades, o antígeno é ou inclui um antígeno específico de patógeno ou antígeno expresso por patógeno. Em algumas modalidades, o antígeno é um antígeno viral (tal como um antígeno viral de HIV, HCV, HBV, etc.), antígenos bacterianos, e/ou antígenos parasíticos.

Em algumas modalidades, a terapia de combinação inclui administração a um indivíduo de células, por exemplo, células T, expressando um receptor recombinante que especificamente reconhece e/ou alveja um antígeno associado com o câncer e/ou presente em um rótulo universal. Em algumas modalidades, o antígeno reconhecido ou alvejado pelas células T é ROR1, antígeno de maturação de célula B (BCMA), anidrase carbônica 9 (CAIX), tEGFR, Her2/neu (tirosina cinase receptora erbB2), L1-CAM, CD19, CD20, CD22, mesotelina, CEA, e antígeno de superfície de hepatite B, receptor antifolato, CD23, CD24, CD30, CD33, CD38, CD44, EGFR, glicoproteína epitelial 2 (EPG-2), glicoproteína epitelial 40 (EPG-40), EPHA2, dímeros de erb-B2, erb-B3, erb-B4, erbB, EGFR VIII, proteína de ligação ao folato (FBP), FCRL5, FCRH5, receptor de acetilcolina fetal, GD2, GD3, HMW-MAA, IL-22R-alfa, IL-13R-alfa2, receptor de domínio de inserção de cinase (kdr), cadeia kappa leve, Lewis Y, molécula de adesão de célula L1, (L1-CAM), antígeno associado com melanoma (MAGE)-A1, MAGE-A3, MAGE-A6, antígeno preferencialmente expresso de melanoma (PRA-ME), survivina, TAG72, B7-H6, receptor alfa de IL-13 2 (IL-13Ra2), CA9, GD3, HMW-MAA, CD171, G250/CAIX, HLA-AI MAGE AI, HLA-A2, PSCA, receptor-a de folato, CD44v6, CD44v7/8, avb6 integrina, 8H9, NCAM, receptores de VEGF, 5T4, Foetal AchR, ligantes de NKG2D, CD44v6, antígeno dual, um antígeno de câncer de testículos,



mesotelina, CMV murino, mucina 1 (MUC1), MUC16, PSCA, NKG2D, NY-ESO-1, MART-1, gp100, receptor acoplado à proteína G 5D (GPCR5D), antígeno oncofetal, ROR1, TAG72, VEGF-R2, antígeno carcinoembrionário (CEA), Her2/neu, receptor de estrogênio, receptor de progesterona, efrinaB2, CD123, c-Met, GD-2, GD2 O-acetilado (OGD2), CE7, Tumor de Wilms 1 (WT-1), uma ciclina, ciclina A2, CCL-1, CD138, opcionalmente um antígeno humano de qualquer um dos anteriores; um antígeno específico de patógeno.

Métodos para administração de células modificadas para terapia com célula adotiva são conhecidas e podem ser usadas em conexão com os métodos fornecidos e composições. Por exemplo, métodos de terapia com célula T adotiva são descritos, por exemplo, na Publicação de Pedido de Patente dos Estados Unidos nº 2003/0170238 por Gruenberg *et al.*; Patente dos Estados Unidos nº 4.690.915 por Rosenberg; Rosenberg (2011) *Nat Rev Clin Oncol.* 8(10):577-85). Veja, por exemplo, Themeli *et al.*, (2013) *Nat Biotechnol.* 31(10): 928-933; Tsukahara *et al.*, (2013) *Biochem Biophys Res Commun* 438(1): 84-9; Davila *et al.*, (2013) *PLoS ONE* 8(4): e61338.

Em algumas modalidades, a terapia celular, por exemplo, terapia com célula T adotiva, é realizada por transferência autóloga, em que as células são isoladas e/ou de outro modo preparadas do indivíduo que deve receber terapia celular, ou de uma amostra derivada de tal um indivíduo. Desse modo, em alguns aspectos, as células são derivadas de um indivíduo, por exemplo, paciente, em necessidade de tal tratamento e as células, após isolamento e processamento, são administradas ao mesmo indivíduo.

Em algumas modalidades, a terapia celular, por exemplo, terapia com célula T adotiva, é realizada por transferência alogênica, em que as células são isoladas e/ou de outro modo preparadas de um indivíduo diferente de um indivíduo que deve receber ou que finalmente recebe

a terapia celular, por exemplo, um primeiro indivíduo. Em tais modalidades, as células em seguida são administradas a um indivíduo diferente, por exemplo, um segundo indivíduo, da mesma espécie. Em algumas modalidades, o primeiro e segundo indivíduos são geneticamente idênticos. Em algumas modalidades, o primeiro e segundo indivíduos são geneticamente similares. Em algumas modalidades, o segundo indivíduo expressa a mesma classe ou subtipo de HLA como um primeiro indivíduo.

Em certas modalidades, as células, ou populações individuais de subtipos de células, são administradas ao indivíduo em uma faixa de cerca de um milhão a cerca 100 bilhões de células e/ou tal quantidade de células por quilograma de peso corporal, tal como, por exemplo, 1 milhão a cerca 50 bilhões de células (por exemplo, cerca de 5 milhões de células, cerca de 25 milhões de células, cerca de 500 milhões de células, cerca de 1 bilhões de células, cerca de 5 bilhões de células, cerca de 20 bilhões de células, cerca de 30 bilhões de células, cerca de 40 bilhões de células, ou uma faixa definida por quaisquer dois dos valores anteriores), tal como cerca de 10 milhão a cerca 100 bilhões de células (por exemplo, cerca de 20 milhões de células, cerca de 30 milhões de células, cerca de 40 milhões de células, cerca de 60 milhões de células, cerca de 70 milhões de células, cerca de 80 milhões de células, cerca de 90 milhões de células, cerca de 10 bilhões de células, cerca de 25 bilhões de células, cerca de 50 bilhões de células, cerca de 75 bilhões de células, cerca de 90 bilhões de células, ou uma faixa definida por quaisquer dois dos valores anteriores), e em alguns casos cerca de 100 milhões de células a cerca 50 bilhões de células (por exemplo, cerca de 120 milhões de células, cerca de 250 milhões de células, cerca de 350 milhões de células, cerca de 450 milhões de células, cerca de 650 milhões de células, cerca de 800 milhões de células, cerca de 900 milhões de células, cerca de 3 bilhões de células,

cerca de 30 bilhões de células, cerca de 45 bilhões de células) ou qualquer valor entre estas faixas e/ou por quilograma de peso corporal. As dosagens podem variar dependendo dos atributos particulares para a doença ou distúrbio e/ou paciente e/ou outros tratamentos.

Em algumas modalidades, por exemplo, onde o indivíduo é um humano, a dose inclui menos do que cerca de  $1 \times 10^8$  células expressando o receptor recombinante (por exemplo CAR) totais, células T, ou células mononucleares de sangue periférico (PBMCs), por exemplo, na faixa de cerca de  $1 \times 10^6$  a  $1 \times 10^8$  de tais células, tal como  $2 \times 10^6$ ,  $5 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $5 \times 10^7$ , ou  $1 \times 10^8$  ou de tais células totais, ou a faixa entre quaisquer dois dos valores anteriores.

As células podem ser administradas por quaisquer meios adequados. As células são administradas em um regime de dosagem para obter um efeito terapêutico, tal como a redução na carga tumoral. A dosagem e administração podem depender, em parte, da programação de administração do composto imunomodulatório, que pode ser administrado antes de, subsequente à e/ou simultaneamente com a iniciação da administração da terapia com célula T. Vários esquemas posológicos de dosagem da terapia com célula T incluem, porém são estão limitados à, administrações únicas ou múltiplas durante vários pontos de tempo, administração em *bolus*, e infusão de pulso.

### 1. Composições e Formulações

Em algumas modalidades, uma dose de células da terapia com célula T, tal terapia com célula T compreendendo células modificadas com um receptor de antígeno recombinante, por exemplo, CAR ou TCR, é fornecidos como uma composição ou formulation, tal como uma composição farmacêutica ou formulação. Tais composições podem ser usadas de acordo com os métodos fornecidos, tal como na prevenção ou tratamento de doenças, condições, e distúrbios.

Em algumas modalidades, as terapias com célula T, tal como células

modificadas (por exemplo, células T CAR), são formuladas com um veículo farmacêuticamente aceitável. Em alguns aspectos, a escolha de veículo é determinada, em parte, pela célula ou agente particular e/ou pelo método de administração. Consequentemente, existe uma variedade de formulações adequadas. Por exemplo, a composição farmacêutica pode conter conservantes. Conservantes adequados podem incluir, por exemplo, metilparabeno, propilparabeno, benzoato de sódio e cloreto de benzalcônio. Em alguns aspectos, uma mistura de dois ou mais conservantes é usada. O conservante ou misturas do mesmo estão tipicamente presentes em uma quantidade de cerca de 0,0001% a cerca 2% por peso da composição total. Veículos são descritos, por exemplo, por Remington's Pharmaceutical Sciences, 16<sup>a</sup> edição, Osol, A. Ed. (1980). Veículos farmacêuticamente aceitáveis são geralmente não tóxicos aos receptores nas dosagens e concentrações empregadas, e incluem, porém não são limitadas aos: tampões tais como fosfato, citrato, e outros ácidos orgânicos; antioxidantes incluindo ácido ascórbico e metionina; conservantes (tais como cloreto de octadecildimetilbenzil amônio; cloreto de hexametônio; cloreto de benzalcônio; cloreto de benzetônio; fenol, álcool butílico ou benzílico; alquil parabenos tais como metil ou propil parabeno; catecol; resorcinol; ciclo-hexanol; 3-pentanol; e m-cresol); polipeptídeos de baixo peso molecular (menor do que cerca de 10 resíduos); proteínas, tais como albumina de soro, gelatina, ou imunoglobulinas; polímeros hidrofílicos tal como polivinilpirrolidona; aminoácidos tais como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina ou lisina; monossacarídeos, dissacarídeos e outros carbo-hidratos, incluindo glicose, manose ou dextrinas; agentes quelantes tal como EDTA; açúcares tais como sacarose, manitol, trealose ou sorbitol; contra-íons formadores de sal tal como sódio; complexos metálicos (por exemplo, complexos de proteína Zn); e/ou tensoativos não iônicos tal como polietileno glicol (PEG).

Agentes de tamponamento, em alguns aspectos, são incluídos nas composições. Agentes de tamponamento adequados incluem, por exemplo, ácido cítrico, citrato de sódio, ácido fosfórico, fosfato de potássio, e vários outros ácidos e sais. Em alguns aspectos, uma mistura de dois ou mais agentes de tamponamento é usada. Os agentes de tamponamento ou misturas dos mesmos estão tipicamente presentes em uma quantidade de cerca de 0,001% a cerca 4% por peso da composição total. Métodos para a preparação de composições farmacêuticas administráveis são conhecidos. Métodos exemplares são descritos em maiores detalhes em, por exemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott Williams & Wilkins; 21ª edição (1 de Maio de 2005).

As formulações podem incluir soluções aquosas. A formulação ou composição pode também conter mais do que um ingrediente ativo útil para a indicação específica, doença ou condição sendo impedida ou tratada com as células ou agentes, onde as respectivas atividades não afetam adversamente uma à outra. Tais ingredientes ativos são usados em combinação em quantidades que são eficazes para a finalidade pretendida. Desse modo, em algumas modalidades, a composição farmacêutica também inclui outros agentes ou fármacos farmacêuticamente ativos, tais como agentes quimioterapêuticos, por exemplo, asparaginase, bussulfano, carboplatina, cisplatina, daunorrubicina, doxorubicina, fluorouracil, gemcitabina, hidroxiureia, metotrexato, paclitaxel, rituxima, vinblastina, vincristina, etc.

A composição farmacêutica em algumas modalidades contém células em quantidades eficazes para tratar ou impedir a doença ou condição, tal como uma quantidade terapeuticamente eficaz ou profilaticamente eficaz. A eficácia terapêutica ou profilática, em algumas modalidades é monitorada por avaliação periódica de indivíduos tratados. Para administrações repetidas durante diversos dias ou mais longas, dependen-

do da condição, o tratamento é repetido até uma supressão desejada de sintomas de doença ocorra. Entretanto, outros regimes de dosagem podem ser úteis e podem ser determinados. A dosagem desejada pode ser liberada por uma única administração em *bolus* da composição, por múltiplas administrações em *bolus* da composição ou por administração por infusão contínua da composição.

As células podem ser administradas usando técnicas padrão de administração, formulações, e/ou dispositivos. São fornecidos formulações e dispositivos, tais como seringas e frascos, para armazenagem e administração das composições. Com respeito às células, administração pode ser autóloga ou heteróloga. Por exemplo, células imunorresponsivas ou progenitores podem ser obtidos de um indivíduo, e administradas ao mesmo indivíduo, ou um indivíduo diferente, compatível. Células imunorresponsivas derivadas de sangue periférico ou sua prole (por exemplo, derivadas *in vivo*, *ex vivo* ou *in vitro*) podem ser administradas por meio de injeção localizada, incluindo administração por cateter, injeção sistêmica, injeção localizada, injeção intravenosa, ou administração parenteral. Quando administrando uma composição terapêutica (por exemplo, uma composição farmacêutica contendo uma célula imunorresponsiva geneticamente modificada), será geralmente formulada em uma forma injetável de dosagem unitária (solução, suspensão, emulsão).

[0253] As formulações incluem aquelas para administração oral, intravenosa, intraperitoneal, subcutânea, pulmonar, transdérmica, intramuscular, intranasal, bucal, sublingual ou supositório. Em algumas modalidades, as populações de agentes ou células são administradas parenteralmente. O termo "parenteral", como aqui usado, inclui administração intravenosa, intramuscular, subcutânea, retal, vaginal e intraperitoneal. Em algumas modalidades, as populações de agentes ou células são administradas a um indivíduo usando administração sistê-

mica periférica por injeção intravenosa, intraperitoneal ou subcutânea.

[0254] As composições em algumas modalidades são fornecidas como preparações líquidas estéreis, por exemplo, soluções aquosas isotônicas, suspensões, emulsões, dispersões ou composições viscosas, que podem em alguns aspectos ser tamponadas para um pH selecionado. As preparações líquidas são normalmente mais fáceis de preparar do que os géis, outras composições viscosas e composições sólidas. Além disso, as composições líquidas são um pouco mais convenientes para administrar, especialmente por injeção. As composições viscosas, por outro lado, podem ser formuladas dentro da faixa de viscosidade apropriada para proporcionar períodos de contato mais longos com tecidos específicos. As composições líquidas ou viscosas podem compreender veículos, que podem ser um solvente ou meio dispersante contendo, por exemplo, água, solução salina, solução salina tamponada com fosfato, poliol (por exemplo, glicerol, propileno glicol, polietileno glicol líquido) e misturas adequadas dos mesmos.

[0255] Soluções injetáveis estéreis podem ser preparadas incorporando as células em um solvente, como em mistura com um veículo, diluente ou excipiente adequado, como água estéril, solução salina fisiológica, glicose, dextrose ou similares. As composições também podem ser liofilizadas. As composições podem conter substâncias auxiliares, como agentes umectantes, dispersantes ou emulsificantes (por exemplo, metilcelulose), agentes tamponantes de pH, aditivos gelificantes ou melhoradores de viscosidade, conservantes, agentes aromatizantes, cores e similares, dependendo da via de administração e da preparação desejada. Em alguns aspectos, os textos padrão podem ser consultados para preparar as preparações adequadas.

[0256] Podem ser adicionados vários aditivos que melhoram a estabilidade e esterilidade das composições, incluindo conservantes antimicrobianos, antioxidantes, agentes quelantes e tampões. A preven-

ção da ação de micro-organismos pode ser assegurada por vários agentes antibacterianos e antifúngicos, por exemplo, parabenos, clo-robutanol, fenol, ácido sórbico e similares. A absorção prolongada da forma farmacêutica injetável pode ser provocada pelo uso de agentes que retardam a absorção, por exemplo, monoestearato de alumínio e gelatina.

[0257] As formulações a serem usadas para administração *in vivo* são geralmente estéreis. A esterilidade pode ser facilmente alcançada, por exemplo, por filtração através de membranas de filtração estéreis.

[0258] Para a prevenção ou tratamento da doença, a dosagem apropriada pode depender do tipo de doença a ser tratada, do tipo de agente ou agentes, do tipo de células ou receptores recombinantes, da gravidade e do curso da doença, se um agente ou células são administrados para propósitos preventivos ou terapêuticos, da terapia anterior, histórico clínico e resposta do indivíduo ao agente ou às células e do critério do médico assistente. As composições são, em algumas modalidades, adequadamente administradas ao indivíduo ao mesmo tempo ou durante uma série de tratamentos.

[0259] Em alguns casos, a terapia celular é administrada como uma única composição farmacêutica que compreende as células. Em algumas modalidades, uma determinada dose é administrada por uma única administração em *bolus* das células ou agente. Em algumas modalidades, é administrado por múltiplas administrações em *bolus* das células ou agente, por exemplo, durante um período não superior a 3 dias, ou por administração de infusão contínua das células ou agente.

## **2. Esquema posológico e Administração de Dosagens**

[0260] Em algumas modalidades, uma dose de células é administrada aos indivíduos de acordo com os métodos de terapia combinada fornecidos. Em algumas modalidades, o tamanho ou o momento das doses é determinado em função da doença ou condição específica no



indivíduo. Pode-se determinar empiricamente o tamanho ou o momento das doses para uma doença em particular, tendo em vista a descrição fornecida.

[0261] Em certas modalidades, as células, ou populações individuais de subtipos de células, são administradas ao indivíduo a uma faixa de cerca de 0,1 milhão a cerca de 100 bilhões de células e/ou essa quantidade de células por quilograma de peso corporal de o indivíduo, como, por exemplo, 0,1 milhão a cerca de 50 bilhões de células (por exemplo, cerca de 5 milhões de células, cerca de 25 milhões de células, cerca de 500 milhões de células, cerca de 1 bilhão de células, cerca de 5 bilhões de células, cerca de 20 bilhões de células, cerca de 30 bilhões de células, cerca de 40 bilhões de células ou um intervalo definido por dois dos valores anteriores), de 1 a 50 bilhões de células (por exemplo, cerca de 5 milhões de células, cerca de 25 milhões de células, cerca de 500 milhões de células, cerca de 1 bilhão de células, cerca de 5 bilhões de células, cerca de 20 bilhões de células, cerca de 30 bilhões de células, cerca de 40 bilhões de células ou uma faixa definida por dois dos valores anteriores), como cerca de 10 a 100 bilhões de células (por exemplo, cerca de 20 milhões de células, cerca de 30 milhões de células, cerca de 40 milhões de células, cerca de 60 milhões de células, cerca de 70 milhões de células, cerca de 80 milhões de células, cerca de 90 milhões de células, cerca de 10 bilhões de células, cerca de 25 bilhões de células, cerca de 50 bilhões de células, cerca de 75 bilhões de células, cerca de 90 bilhões de células ou uma faixa definida por dois os valores anteriores) e, em alguns casos, cerca de 100 milhões de células a cerca de 50 bilhões de células (por exemplo, cerca de 120 milhões de células, cerca de 250 milhões de células, cerca de 350 milhões de células, cerca de 450 milhões de células, cerca de 650 milhões de células, cerca de 800 milhões de células, cerca de 900 milhões de células, cerca de 3 bilhões de células, cerca de 30 bi-

lhões de células, cerca de 45 bilhões de células) ou qualquer valor entre estes intervalos e/ou por quilograma de peso corporal do indivíduo. As dosagens podem variar dependendo dos atributos particulares da doença ou distúrbio e/ou paciente e/ou outros tratamentos. Em algumas modalidades, estes valores se referem aos números de células expressando receptores recombinantes; em outras modalidades, se referem ao número de células T ou PBMCs ou células totais administradas.

[0262] Em algumas modalidades, a terapia celular compreende a administração de uma dose compreendendo um número de células de ou de cerca de  $1 \times 10^5$  a  $1 \times 10^8$  células expressando receptores recombinantes totais, células T totais ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), de ou de cerca de  $5 \times 10^5$  a  $1 \times 10^7$  total de células expressando receptores recombinantes, células T totais ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs) ou de ou de cerca de  $1 \times 10^6$  a  $1 \times 10^7$  total de células recombinantes que expressam, células T totais ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), cada uma, inclusive. Em algumas modalidades, a terapia celular compreende a administração de uma dose de células compreendendo um número de células de pelo menos ou cerca de  $1 \times 10^5$  células expressando receptores recombinantes totais, células T totais ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), pelo menos ou pelo menos  $1 \times 10^6$ , pelo menos ou cerca de pelo menos  $1 \times 10^7$ , pelo menos ou cerca de pelo menos  $1 \times 10^8$  destas células.

[0263] Em algumas modalidades, por exemplo, onde o indivíduo é humano, a dose inclui menos de cerca de  $5 \times 10^8$  células totais de expressão de receptor recombinante (por exemplo, CAR), células T ou células mononucleares do sangue periférico (PBMCs), por exemplo, na faixa de cerca de  $1 \times 10^6$  a  $5 \times 10^8$  destas células, tal como  $2 \times 10^6$ ,

$5 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $5 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$  ou  $5 \times 10^8$  destas células totais, ou na faixa entre dois dos valores anteriores.

[0264] Em algumas modalidades, o número é com referência ao número total de CD3+ ou CD8+, em alguns casos também células expressando o receptor recombinante (por exemplo, CAR+). Em algumas modalidades, a terapia celular compreende administração da dose compreendendo um número de célula de ou de cerca de  $1 \times 10^5$  a  $1 \times 10^8$  CD3+ ou CD8+ células T totais ou células expressando o receptor recombinante de CD3+ ou CD8+, de ou de cerca de  $5 \times 10^5$  a  $1 \times 10^7$  CD3+ ou CD8+ células T totais ou células expressando o receptor recombinante de CD3+ ou CD8+, ou de ou de cerca de  $1 \times 10^6$  a  $1 \times 10^7$  células T CD3+ ou CD8+ totais ou células expressando o receptor recombinante de CD3+ ou CD8+, cada qual inclusive. Em algumas modalidades, a terapia celular compreende administração da dose compreendendo um número de célula de ou de cerca de  $1 \times 10^5$  a  $1 \times 10^8$  total CD3+/CAR+ ou CD8+/CAR+ células, de ou de cerca de  $5 \times 10^5$  a  $1 \times 10^7$  total CD3+/CAR+ ou CD8+/CAR+ células, ou de ou de cerca de  $1 \times 10^6$  a  $1 \times 10^7$  células CD3+/CAR+ ou CD8+/CAR+ totais, cada qual inclusive.

[00265] Em algumas modalidades, a dose de células geneticamente modificadas compreende de ou de cerca de  $1 \times 10^5$  a  $5 \times 10^8$  células T expressando CAR totais,  $1 \times 10^5$  a  $2,5 \times 10^8$  células T expressando CAR totais,  $1 \times 10^5$  a  $1 \times 10^8$  células T expressando CAR totais,  $1 \times 10^5$  a  $5 \times 10^7$  células T expressando CAR totais,  $1 \times 10^5$  a  $2,5 \times 10^7$  células T expressando CAR totais,  $1 \times 10^5$  a  $1 \times 10^7$  células T expressando CAR totais,  $1 \times 10^5$  a  $5 \times 10^6$  células T expressando CAR totais,  $1 \times 10^5$  a  $2,5 \times 10^6$  células T expressando CAR totais,  $1 \times 10^5$  a  $1 \times 10^6$  células T expressando CAR totais,  $1 \times 10^6$  a  $5 \times 10^8$  células T expressando CAR totais,  $1 \times 10^6$  a  $2,5 \times 10^8$  células T expressando CAR totais,  $1 \times 10^6$  a  $1 \times 10^8$  células T expressando CAR totais,  $1 \times 10^6$  a  $5 \times 10^7$  célu-

las T expressando CAR totais,  $1 \times 10^6$  a  $2,5 \times 10^7$  células T expressando CAR totais,  $1 \times 10^6$  a  $1 \times 10^7$  células T expressando CAR totais,  $1 \times 10^6$  a  $5 \times 10^6$  células T expressando CAR totais,  $1 \times 10^6$  a  $2,5 \times 10^6$  células T expressando CAR totais,  $2,5 \times 10^6$  a  $5 \times 10^8$  células T expressando CAR totais,  $2,5 \times 10^6$  a  $2,5 \times 10^8$  células T expressando CAR totais,  $2,5 \times 10^6$  a  $1 \times 10^8$  células T expressando CAR totais,  $2,5 \times 10^6$  a  $5 \times 10^7$  células T expressando CAR totais,  $2,5 \times 10^6$  a  $2,5 \times 10^7$  células T expressando CAR totais,  $2,5 \times 10^6$  a  $1 \times 10^7$  células T expressando CAR totais,  $2,5 \times 10^6$  a  $5 \times 10^6$  células T expressando CAR totais,  $5 \times 10^6$  a  $5 \times 10^8$  células T expressando CAR totais,  $5 \times 10^6$  a  $2,5 \times 10^8$  células T expressando CAR totais,  $5 \times 10^6$  a  $1 \times 10^8$  células T expressando CAR totais,  $5 \times 10^6$  a  $5 \times 10^7$  células T expressando CAR totais,  $5 \times 10^6$  a  $2,5 \times 10^7$  células T expressando CAR totais,  $5 \times 10^6$  a  $1 \times 10^7$  células T expressando CAR totais,  $1 \times 10^7$  a  $5 \times 10^8$  células T expressando CAR totais,  $1 \times 10^7$  a  $2,5 \times 10^8$  células T expressando CAR totais,  $1 \times 10^7$  a  $1 \times 10^8$  células T expressando CAR totais,  $1 \times 10^7$  a  $5 \times 10^7$  células T expressando CAR totais,  $1 \times 10^7$  a  $2,5 \times 10^7$  células T expressando CAR totais,  $2,5 \times 10^7$  a  $5 \times 10^8$  células T expressando CAR totais,  $2,5 \times 10^7$  a  $2,5 \times 10^8$  células T expressando CAR totais,  $2,5 \times 10^7$  a  $1 \times 10^8$  células T expressando CAR totais,  $2,5 \times 10^7$  a  $5 \times 10^7$  células T expressando CAR totais,  $5 \times 10^7$  a  $5 \times 10^8$  células T expressando CAR totais,  $5 \times 10^7$  a  $2,5 \times 10^8$  células T expressando CAR totais,  $5 \times 10^7$  a  $1 \times 10^8$  células T expressando CAR totais,  $1 \times 10^8$  a  $5 \times 10^8$  células T expressando CAR totais,  $1 \times 10^8$  a  $2,5 \times 10^8$  células T expressando CAR totais, ou  $2,5 \times 10^8$  a  $5 \times 10^8$  total células T expressando CAR.

Em algumas modalidades, a dose de células geneticamente modificadas compreende pelo menos ou pelo menos cerca de  $1 \times 10^5$  células expressando CAR, pelo menos ou pelo menos cerca de  $2,5 \times 10^5$  células expressando CAR, pelo menos ou pelo menos cerca de  $5 \times 10^5$

células expressando CAR, pelo menos ou pelo menos cerca de  $1 \times 10^6$  células expressando CAR, pelo menos ou pelo menos cerca de  $2,5 \times 10^6$  células expressando CAR, pelo menos ou pelo menos cerca de  $5 \times 10^6$  células expressando CAR, pelo menos ou pelo menos cerca de  $1 \times 10^7$  células expressando CAR, pelo menos ou pelo menos cerca de  $2,5 \times 10^7$  células expressando CAR, pelo menos ou pelo menos cerca de  $5 \times 10^7$  células expressando CAR, pelo menos ou pelo menos cerca de  $1 \times 10^8$  células expressando CAR, pelo menos ou pelo menos cerca de  $2,5 \times 10^8$  células expressando CAR, ou pelo menos ou pelo menos cerca de  $5 \times 10^8$  células expressando CAR.

Em algumas modalidades, a terapia celular compreende administração da dose compreendendo um número de célula de ou de cerca de  $1 \times 10^5$  to  $5 \times 10^8$  células expressando o receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), de ou de cerca de  $5 \times 10^5$  a  $1 \times 10^7$  células expressando o receptor recombinante total, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs) ou de ou de cerca de  $1 \times 10^6$  a  $1 \times 10^7$  células expressando o receptor recombinante total, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), cada qual inclusive. Em algumas modalidades, a terapia celular compreende administração da dose de células compreendendo um número de células pelo menos ou pelo menos cerca de  $1 \times 10^5$  células expressando o receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), tal como pelo menos ou pelo menos  $1 \times 10^6$ , pelo menos ou pelo menos cerca de  $1 \times 10^7$ , pelo menos ou pelo menos cerca de  $1 \times 10^8$  de tais células. Em algumas modalidades, o número é com referência ao número total de CD3+ ou CD8+, em alguns casos também células expressando o receptor recombinante (por exemplo, CAR+). Em algumas modalidades, a terapia celular compreende a administração da dose compreenden-

do um número de célula de ou de cerca de  $1 \times 10^5$  a  $5 \times 10^8$  células T CD3+ ou CD8+ totais ou células expressando o receptor recombinante de CD3+ ou CD8+, de ou de cerca de  $5 \times 10^5$  a  $1 \times 10^7$  células T CD3+ ou CD8+ totais ou células expressando o receptor recombinante de CD3+ ou CD8+, ou de ou de cerca de  $1 \times 10^6$  a  $1 \times 10^7$  células T CD3+ ou CD8+ totais ou células expressando o receptor recombinante de CD3+ ou CD8+, cada qual inclusive. Em algumas modalidades, a terapia celular compreende administração da dose compreendendo um número de célula de ou de cerca de  $1 \times 10^5$  a  $5 \times 10^8$  total CD3+/CAR+ ou CD8+/CAR+ células, de ou de cerca de  $5 \times 10^5$  a  $1 \times 10^7$  total CD3+/CAR+ ou CD8+/CAR+ células, ou de ou de cerca de  $1 \times 10^6$  a  $1 \times 10^7$  células CD3+/CAR+ ou CD8+/CAR+ totais, cada qual inclusive.

Em algumas modalidades, as células T da dose incluem células T CD4+, células T CD8+ ou células CD4+ e CD8+.

Em algumas modalidades, por exemplo, onde o indivíduo é humano, as células T CD8+ da dose, incluindo em uma dose incluindo células CD4+ e CD8+, inclui entre cerca de  $1 \times 10^6$  e  $5 \times 10^8$  células CD8+ expressando o receptor recombinante (por exemplo, CAR) totais, por exemplo, na faixa de cerca de  $5 \times 10^6$  a  $1 \times 10^8$  de tais células, de tais células  $1 \times 10^7$ ,  $2,5 \times 10^7$ ,  $5 \times 10^7$ ,  $7,5 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$ , ou  $5 \times 10^8$  de tais células totais, ou a faixa entre quaisquer dois dos valores anteriores. Em algumas modalidades, o paciente é administrado com múltiplas doses, e cada uma das doses ou a dose total pode estar dentro de qualquer um dos valores anteriores. Em algumas modalidades, a dose de células compreende a administração de ou de cerca de  $1 \times 10^7$  a  $0,75 \times 10^8$  células T CD8+ expressando o receptor recombinantes totais,  $1 \times 10^7$  a  $2,5 \times 10^7$  células T CD8+ expressando o receptor recombinantes totais, de ou de cerca de  $1 \times 10^7$  a  $0,75 \times 10^8$  células T CD8+ expressando o receptor recombinantes totais, cada qual inclusive. Em algumas modalidades, a dose de células compreende a admi-

nistração de ou cerca de  $1 \times 10^7$ ,  $2,5 \times 10^7$ ,  $5 \times 10^7$ ,  $7,5 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$ , ou  $5 \times 10^8$  células T CD8+ expressando o receptor recombinantes totais.

Em algumas modalidades, a dose de células, por exemplo, células T expressando o receptor recombinante, é administrada ao indivíduo como uma dose única ou é administrada apenas uma vez dentro de um período de duas semanas, um mês, três meses, seis meses, 1 ano ou mais.

Em algumas modalidades, a terapia celular compreende administração da dose compreendendo um número de células que é pelo menos ou pelo menos cerca de ou é ou é cerca de  $0,1 \times 10^6$  células/kg de peso corporal do indivíduo,  $0,2 \times 10^6$  células/kg,  $0,3 \times 10^6$  células/kg,  $0,4 \times 10^6$  células/kg,  $0,5 \times 10^6$  células/kg,  $1 \times 10^6$  células/kg,  $2,0 \times 10^6$  células/kg,  $3 \times 10^6$  células/kg ou  $5 \times 10^6$  células/kg.

Em algumas modalidades, a terapia celular compreende administração da dose compreendendo um número de células é entre ou entre cerca de  $0,1 \times 10^6$  células/kg de peso corporal do indivíduo e  $1,0 \times 10^7$  células/kg, entre ou entre cerca de  $0,5 \times 10^6$  células/kg e  $5 \times 10^6$  células/kg, entre ou entre cerca de  $0,5 \times 10^6$  células/kg e  $3 \times 10^6$  células/kg, entre ou entre cerca de  $0,5 \times 10^6$  células/kg e  $2 \times 10^6$  células/kg, entre ou entre cerca de  $0,5 \times 10^6$  células/kg e  $1 \times 10^6$  cell/kg, entre ou entre cerca de  $1,0 \times 10^6$  células/kg de peso corporal do indivíduo e  $5 \times 10^6$  células/kg, entre ou entre cerca de  $1,0 \times 10^6$  células/kg e  $3 \times 10^6$  células/kg, entre ou entre cerca de  $1,0 \times 10^6$  células/kg e  $2 \times 10^6$  células/kg, entre ou entre cerca de  $2,0 \times 10^6$  células/kg de peso corporal do indivíduo e  $5 \times 10^6$  células/kg, entre ou entre cerca de  $2,0 \times 10^6$  células/kg e  $3 \times 10^6$  células/kg, ou entre ou entre cerca de  $3,0 \times 10^6$  células/kg de peso corporal do indivíduo e  $5 \times 10^6$  células/kg, cada qual inclusive.

Em algumas modalidades, a dose de células compreende entre em ou

cerca de  $2 \times 10^5$  das células/kg e em ou cerca de  $2 \times 10^6$  das células/kg, tal como entre em ou cerca de  $4 \times 10^5$  das células/kg e em ou cerca de  $1 \times 10^6$  das células/kg ou entre em ou cerca de  $6 \times 10^5$  das células/kg e em ou cerca de  $8 \times 10^5$  das células/kg. Em algumas modalidades, a dose de células compreende não mais do que  $2 \times 10^5$  das células (por exemplo, expressando antígeno, tal como células expressando CAR) por quilograma de peso corporal do indivíduo (células/kg), tal como não mais do que em ou cerca de  $3 \times 10^5$  células/kg, não mais do que em ou cerca de  $4 \times 10^5$  células/kg, não mais do que em ou cerca de  $5 \times 10^5$  células/kg, não mais do que em ou cerca de  $6 \times 10^5$  células/kg, não mais do que em ou cerca de  $7 \times 10^5$  células/kg, não mais do que em ou cerca de  $8 \times 10^5$  células/kg, nor mais do que em ou cerca de  $9 \times 10^5$  células/kg, não mais do que em ou cerca de  $1 \times 10^6$  células/kg, ou não mais do que em ou cerca de  $2 \times 10^6$  células/kg. Em algumas modalidades, a dose de células compreende pelo menos ou pelo menos cerca de ou em ou cerca de  $2 \times 10^5$  das células (por exemplo, expressando antígeno, tal como células expressando CAR) por quilograma de peso corporal do indivíduo (células/kg), tal como pelo menos ou pelo menos cerca de ou em ou cerca de  $3 \times 10^5$  células/kg, pelo menos ou pelo menos cerca de ou em ou cerca de  $4 \times 10^5$  células/kg, pelo menos ou pelo menos cerca de ou em ou cerca de  $5 \times 10^5$  células/kg, pelo menos ou pelo menos cerca de ou em ou cerca de  $6 \times 10^5$  células/kg, pelo menos ou pelo menos cerca de ou em ou cerca de  $7 \times 10^5$  células/kg, pelo menos ou pelo menos cerca de ou em ou cerca de  $8 \times 10^5$  células/kg, pelo menos ou pelo menos cerca de ou em ou cerca de  $9 \times 10^5$  células/kg, pelo menos ou pelo menos cerca de ou em ou cerca de  $1 \times 10^6$  células/kg, ou pelo menos ou pelo menos cerca de ou em ou cerca de  $2 \times 10^6$  células/kg.

[00266] No contexto da terapia celular adotiva, a administração de uma determinada "dose" de células abrange a administração da quan-



tidade ou número determinado de células como uma composição única e/ou administração ininterrupta única, por exemplo, como uma injeção única ou infusão contínua, e também abrange a administração da quantidade ou número especificado de células como uma dose dividida, fornecida em várias composições ou infusões individuais, durante um período de tempo especificado, que não é superior a 3 dias. Assim, em alguns contextos, a dose é uma administração única ou contínua do número especificado de células, administrado ou iniciado em um único momento. Em alguns contextos, no entanto, a dose é administrada em várias injeções ou infusões por um período não superior a três dias, como uma vez ao dia por três dias ou por dois dias ou por múltiplas infusões durante um único dia.

[00267] Desse modo, em alguns aspectos, as células da dose são administradas em uma única composição farmacêutica. Em algumas modalidades, as células da dose são administradas em uma pluralidade de composições, contendo coletivamente as células da dose.

[00268] O termo "dose dividida" refere-se a uma dose que é dividida para que seja administrada por mais de um dia. Este tipo de dosagem é abrangido pelos presentes métodos e é considerado uma dose única. Em algumas modalidades, as células de uma dose dividida são administradas em uma pluralidade de composições, compreendendo coletivamente as células da dose, durante um período não superior a três dias.

[00269] Desse modo, a dose de células pode ser administrada como uma dose dividida. Por exemplo, em algumas modalidades, a dose pode ser administrada ao indivíduo durante 2 dias ou durante 3 dias. Métodos exemplares para dosagem dividida incluem administrar 25% da dose no primeiro dia e administrar os 75% restantes da dose no segundo dia. Em outras modalidades, 33% da dose podem ser administrados no primeiro dia e os restantes 67% administrados no segun-

do dia. Em alguns aspectos, 10% da dose são administrados no primeiro dia, 30% da dose são administrados no segundo dia e 60% da dose são administrados no terceiro dia. Em algumas modalidades, a dose dividida não é espalhada por mais de 3 dias.

[00270] Em algumas modalidades, a dose de células é geralmente grande o suficiente para ser eficaz na redução da carga da doença.

[00271] Em algumas modalidades, as células são administradas em uma dosagem desejada, que em alguns aspectos inclui uma dose ou número desejado de células ou tipo(s) de célula e/ou uma relação desejada de tipos de célula. Desse modo, a dosagem de células em algumas modalidades é baseada em um número total de células (ou número por kg de peso corporal) e uma relação desejada das populações ou subtipos individuais, tal como a relação de CD4<sup>+</sup> para CD8<sup>+</sup>. Em algumas modalidades, a dosagem de células é baseada em um número total desejado (ou número por kg de peso corporal) de células nas populações individuais ou nos tipos de células individuais. Em algumas modalidades, a dosagem é baseada em uma combinação de tais características, tal como um número desejado de células totais, relação desejada e número total desejado de células nas populações individuais.

[00272] Em algumas modalidades, as populações ou subtipos de células, como células T CD8<sup>+</sup> e CD4<sup>+</sup>, são administradas na ou dentro de uma diferença tolerada de uma dose desejada do total de células, como uma dose desejada de células T. Em alguns aspectos, a dose desejada é um número desejado de células ou um número desejado de células por unidade de peso corporal do indivíduo ao qual as células são administradas, por exemplo, células/kg. Em alguns aspectos, a dose desejada é igual ou superior a um número mínimo de células ou número mínimo de células por unidade de peso corporal. Em alguns aspectos, entre as células totais, administradas na dose dese-

jada, as populações ou subtipos individuais estão presentes em uma taxa de saída desejada ou próxima à mesma (tal como a relação  $CD4^+$  a  $CD8^+$ ), por exemplo, dentro de uma certa diferença tolerada ou erro de tal relação.

[00273] Em algumas modalidades, as células são administradas a uma diferença tolerada de uma dose desejada de uma ou mais das populações individuais ou subtipos de células, tal como uma dose desejada de células  $CD4^+$  e/ou uma dose desejada de células  $CD8^+$ . Em alguns aspectos, a dose desejada é um número desejado de células do subtipo ou população, ou um número desejado destas células por unidade de peso corporal do indivíduo ao qual as células são administradas, por exemplo, células/kg. Em alguns aspectos, a dose desejada é igual ou superior a um número mínimo de células da população ou subtipo ou número mínimo de células da população ou subtipo por unidade de peso corporal.

[00274] Desse modo, em algumas modalidades, a dosagem é baseada em uma dose fixa desejada de células totais e em uma relação desejada, e/ou em uma dose fixa desejada de um ou mais, por exemplo, cada um dos subtipos individuais ou subpopulações. Desse modo, em algumas modalidades, a dosagem é baseada em uma dose fixa ou mínima desejada de células T e em uma relação desejada de células  $CD4^+$  para  $CD8^+$ , e/ou é baseada em uma dose fixa ou mínima desejada de células  $CD4^+$  e/ou  $CD8^+$ .

[00275] Em algumas modalidades, as células são administradas em ou dentro de uma relação tolerada de uma taxa de saída desejada de várias populações ou subtipos de células, como células ou subtipos  $CD4^+$  e  $CD8^+$ . Em alguns aspectos, a relação desejada pode ser uma relação específica ou uma faixa de relações. Por exemplo, em algumas modalidades, a relação desejada (por exemplo, relação de células  $CD4^+$  para  $CD8^+$ ) está entre ou aproximadamente 5:1 e aproximada-

mente ou 5:1 (ou maior que cerca de 1:5 e menor que cerca de 5:1 ) ou entre aproximadamente 1:3 e aproximadamente 3:1 (ou maior que 1:3 e menor que 3:1), como entre 2:1 e aproximadamente 1:5 (ou maior que cerca de 1:5 e menor que cerca de 2:1, como em ou aproximadamente 5:1, 4,5:1, 4:1, 3,5:1, 3:1, 2,5:1, 2:1, 1,9 :1, 1,8:1, 1,7:1, 1,6:1, 1,5:1, 1,4:1, 1,3:1, 1,2:1, 1,1:1, 1:1, 1:1,1, 1:1,2, 1:1,3 , 1:1,4, 1:1,5, 1:1,6, 1:1,7, 1:1,8, 1:1,9:1:2, 1:2,5, 1:3, 1:3,5, 1:4, 1:4,5 ou 1:5. Em alguns aspectos, a diferença tolerada é de cerca de 1%, cerca de 2%, cerca de 3%, cerca de 4% cerca de 5%, cerca de 10%, cerca de 15%, cerca de 15%, cerca de 20%, cerca de 25%, cerca de 30 %, cerca de 35%, cerca de 40%, cerca de 45%, cerca de 50% da relação desejada, incluindo qualquer valor entre estas faixas.

[00276] Em modalidades particulares, os números e/ou concentrações de células se referem ao número de células expressando receptores recombinantes (por exemplo, CAR). Em outras modalidades, os números e/ou concentrações de células se referem ao número ou concentração de todas as células, células T ou células mononucleares do sangue periférico (PBMCs) administradas.

[00277] Em alguns aspectos, a intensidade da dose é determinada com base em um ou mais critérios, tais como resposta do indivíduo ao tratamento anterior, por exemplo, quimioterapia, carga de doença no indivíduo, tal como carga tumoral, volume, tamanho ou grau, extensão ou tipo de metástase, estágio e/ou probabilidade ou incidência de o indivíduo desenvolver resultados tóxicos, por exemplo, SRC, síndrome de ativação de macrófagos, síndrome de lise tumoral, neurotoxicidade e/ou uma resposta imune do hospedeiro contra as células e/ou receptores recombinantes sendo administrados.

[00278] Em algumas modalidades, a administração do composto imunomodulatório em combinação com as células é capaz de aumentar significativamente a expansão ou proliferação das células e, portan-

to, uma dose mais baixa de células pode ser administrada ao indivíduo. Em alguns casos, os métodos fornecidos permitem administrar uma dose mais baixa destas células, para obter a mesma ou eficácia melhor do tratamento que a dose em um método no qual a terapia celular é administrada sem administrar o composto imunomodulatório, como pelo menos 1,5 vezes, 2 vezes, 3 vezes, 4 vezes, 5 vezes ou 10 vezes menos que a dose em um método no qual a terapia celular é administrada sem administrar o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida.

[00279] Em algumas modalidades, por exemplo, a dose contém entre  $5,0 \times 10^6$  e  $2,25 \times 10^7$ ,  $5,0 \times 10^6$  e  $2,0 \times 10^7$ ,  $5,0 \times 10^6$  e  $1,5 \times 10^7$ ,  $5,0 \times 10^6$  e  $1,0 \times 10^7$ ,  $5,0 \times 10^6$  e  $7,5 \times 10^6$ ,  $7,5 \times 10^6$  e  $2,25 \times 10^7$ ,  $7,5 \times 10^6$  e  $2,0 \times 10^7$ ,  $7,5 \times 10^6$  e  $1,5 \times 10^7$ ,  $7,5 \times 10^6$  e  $1,0 \times 10^7$ ,  $1,0 \times 10^7$  e  $2,25 \times 10^7$ ,  $1,0 \times 10^7$  e  $2,0 \times 10^7$ ,  $1,0 \times 10^7$  e  $1,5 \times 10^7$ ,  $1,5 \times 10^7$  e  $2,25 \times 10^7$ ,  $1,5 \times 10^7$  e  $2,0 \times 10^7$ ,  $2,0 \times 10^7$  e  $2,25 \times 10^7$ . Em algumas modalidades, a dose de células contém um número de células, que está entre pelo menos ou pelo menos cerca de  $5 \times 10^6$ ,  $6 \times 10^6$ ,  $7 \times 10^6$ ,  $8 \times 10^6$ ,  $9 \times 10^6$ ,  $10 \times 10^6$  e cerca de  $15 \times 10^6$  células expressando receptores recombinantes, como aquelas que expressam receptores recombinantes células que são CD8<sup>+</sup>. Em algumas modalidades, tal dose, tal como o número alvo de células, refere-se ao total de células expressando receptores recombinantes na composição administrada.

[00280] Em algumas modalidades, por exemplo, a dose mais baixa contém menos de cerca de  $5 \times 10^6$  células, células expressando receptores recombinantes (por exemplo, CAR), células T e/ou PBMCs por quilograma de peso corporal do indivíduo, tal como menos de cerca de  $4,5 \times 10^6$ ,  $4 \times 10^6$ ,  $3,5 \times 10^6$ ,  $3 \times 10^6$ ,  $2,5 \times 10^6$ ,  $2 \times 10^6$ ,  $1,5 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $5 \times 10^5$ ,  $2,5 \times 10^5$  ou  $1 \times 10^5$  destas células por quilograma peso corporal do indivíduo. Em algumas modalidades, a dose mais baixa contém menos de cerca de  $1 \times 10^5$ ,  $2 \times 10^5$ ,  $5 \times 10^5$  ou  $1 \times 10^6$  destas

células por quilograma de peso corporal do indivíduo, ou um valor dentro da faixa entre quaisquer dois dos valores anteriores. Em algumas modalidades, tais valores se referem aos números de células expressando receptores recombinantes; em outras modalidades, eles se referem ao número de células T ou PBMCs ou células totais administradas.

[00281] Em algumas modalidades, o indivíduo recebe múltiplas doses, por exemplo, duas ou mais doses ou múltiplas doses consecutivas, das células. Em algumas modalidades, duas doses são administradas a um indivíduo. Em algumas modalidades, o indivíduo recebe a dose consecutiva, por exemplo, segunda dose, é administrada aproximadamente 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 ou 21 dias após a primeira dose. Em algumas modalidades, várias doses consecutivas são administradas após a primeira dose, de modo que uma dose ou doses adicionais sejam administradas após a administração da dose consecutiva. Em alguns aspectos, o número de células administradas ao indivíduo na dose adicional é igual ou similar à primeira dose e/ou dose consecutiva. Em algumas modalidades, a dose ou doses adicionais são maiores que as doses anteriores. Em algumas modalidades, uma ou mais doses subsequentes de células podem ser administradas ao indivíduo. Em algumas modalidades, a dose subsequente de células é administrada maior ou maior que cerca de 7 dias, 14 dias, 21 dias, 28 dias ou 35 dias após o início da administração da primeira dose de células. A dose subsequente de células pode ser maior que, aproximadamente a mesma ou menor que a primeira dose. Em algumas modalidades, a administração da terapia de células T, tal como a administração da primeira e/ou segunda dose de células, pode ser repetida.

[00282] Em algumas modalidades, o início da administração da terapia celular, por exemplo, a dose de células ou uma primeira dose de

uma dose dividida de células é administrada anterior à (antes de), concomitantemente com ou após (subsequente ou subsequentemente à) administração do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida.

[00283] Em algumas modalidades, a dose de células, ou a dose subsequente de células, é administrada simultaneamente com o início da administração do composto imunomodulatório de acordo com os métodos de terapia de combinação. Em algumas modalidades, a dose de células, ou a dose subsequente de células, é administrada no mesmo dia que o início da administração do composto imunomodulatório de acordo com os métodos de terapia de combinação. Em algumas modalidades, a dose de células, ou a dose subsequente de células, é administrada dentro de 1 dia, dentro de 2 dias, dentro de 3 dias, dentro de 4 dias, dentro de 5 dias, dentro de 6 dias ou dentro de 7 dias após o início da administração de o composto imunomodulatório de acordo com os métodos de terapia de combinação.

[00284] Em algumas modalidades, a dose de células, ou a dose subsequente de células, é administrada antes de iniciar ou iniciar a administração do composto imunomodulatório de acordo com a terapia de combinação fornecida. Em algumas modalidades, a dose de células é administrada pelo menos ou pelo menos cerca de 1 hora, pelo menos ou pelo menos cerca de 2 horas, pelo menos ou pelo menos cerca de 3 horas, pelo menos ou pelo menos cerca de 6 horas, pelo menos ou pelo menos pelo menos cerca de 12 horas, pelo menos ou pelo menos cerca de 1 dia, pelo menos ou pelo menos cerca de 2 dias, pelo menos ou pelo menos cerca de 3 dias, pelo menos ou cerca de pelo menos 4 dias, pelo menos ou pelo menos cerca de 5 dias, pelo menos ou cerca de pelo menos 6 dias, pelo menos ou pelo menos cerca de 7 dias, pelo menos ou cerca de pelo menos 12 dias, pelo menos ou pelo menos cerca de 14 dias, pelo menos ou cerca de pelo menos 15 dias,

pelo menos ou pelo menos cerca de 21 dias, pelo menos ou pelo menos cerca de 28 dias, pelo menos ou cerca de pelo menos 30 dias, pelo menos ou pelo menos cerca de 35 dias, pelo menos ou pelo menos cerca de 42 dias, pelo menos ou cerca de pelo menos 60 dias ou pelo menos pelo menos ou cerca de 90 dias antes da administração do composto imunomodulatório de acordo com a terapia de combinação fornecida.

[00285] Em algumas modalidades, a administração do composto imunomodulatório (por exemplo, lenalidomida) de acordo com a terapia de combinação fornecida é no momento em que a administração anterior da imunoterapia (por exemplo, terapia com células T, como terapia com células T CAR) está associada ou é provável que esteja associada a uma funcionalidade diminuída das células T em comparação com a funcionalidade das células T em um momento imediatamente antes do início da imunoterapia (por exemplo, terapia de células T, tal como terapia com células T CAR) ou em um momento anterior após o início da terapia com células T. Em algumas modalidades, o método envolve, subsequentemente à administração da dose de células da terapia de células T, por exemplo, terapia com células T adotivas, porém antes da administração do composto imunomodulatório, a avaliação de uma amostra do indivíduo quanto a uma ou mais funções das células T, tal como expansão ou persistência das células, por exemplo, como determinado pelo nível ou quantidade no sangue, ou outros fenótipos ou resultados desejados, como descrito aqui, por exemplo, tais como aqueles descritos na Seção III. Vários parâmetros para determinar ou avaliar o regime da terapia de combinação são descritos na Seção III.

#### B. ADMINISTRAÇÃO DO COMPOSTO IMUNOMODULATÓRIO

[00286] Os métodos, composições, combinações, *kits* e usos de terapia de combinação fornecidos envolvem a administração de um



composto imunomodulatório, tal como um análogo estrutural ou funcional ou derivado da talidomida e/ou um inibidor da u3 ubiquitina ligase, por exemplo, lenalidomida, que pode ser administrada antes, subsequentemente, durante, simultaneamente ou quase simultaneamente, sequencialmente e/ou intermitentemente com a administração da terapia com células T, por exemplo, administração de células T expressando um receptor de antígeno quimérico (CAR).

[00287] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é uma classe de compostos imunomodulatórios que é um análogo ou derivado estrutural ou funcional de talidomida e/ou um inibidor de E3 ubiquitina ligase.

[00288] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório liga-se ao cereblon (CRBN). Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório liga-se ao complexo de E3 ubiquitina CRBN-ligase. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório liga-se ao CRBN e ao complexo de E3 ubiquitina CRBN-ligase. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório super-regula a expressão de proteína ou gene de CRBN. Em alguns aspectos, CRBN é o adaptador de substrato para a CRL4<sup>CRBN</sup> E3 ubiquitina ligase, e modula a especificidade da enzima. Em algumas modalidades, a ligação ao CRB ou ao complexo de CRBN E3 ubiquitina ligase inibe a atividade de E3 ubiquitina ligase. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório induz a ubiquitinação de IKZF1 (Ikaros) e IKZF3 (Aiolos) e/ou induz a degradação de IKZF1 (Ikaros) e IKZF3 (Aiolos). Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório induz a ubiquitinação de caseína quinase 1A1 (CK1α) pela CRL4<sup>CRBN</sup> E3 ubiquitina ligase. Em algumas modalidades, a ubiquitinação de CK1α resulta na degradação de CK1α.

[00289] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é um inibidor do fator de transcrição de Ikaros (IKZF1). Em algumas mo-

dalidades, o composto imunomodulatório realça a ubiquitinação de Ikaros. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório realça a degradação de Ikaros. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório sub-regula a expressão de proteína ou gene de Ikaros. Em algumas modalidades, administração do composto imunomodulatório causa um decréscimo nos níveis de proteína Ikaros.

[00290] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é um inibidor do fator de transcrição de Aiolos (IKZF3). Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório realça a ubiquitinação de Aiolos. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório realça a degradação de Aiolos. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório sub-regula a expressão de proteína ou gene de Aiolos. Em algumas modalidades, administração do composto imunomodulatório causa um decréscimo nos níveis de Aiolos.

[00291] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é um inibidor tanto do fator de transcrição de Ikaros (IKZF1) quanto Aiolos (IKZF3). Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório realça a ubiquitinação tanto de Ikaros quanto Aiolos. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório realça a degradação tanto de Ikaros quanto Aiolos. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório realça a ubiquitinação e degradação tanto de Ikaros quanto Aiolos. Em algumas modalidades, administração do composto imunomodulatório faz com que tanto os níveis de proteína Aiolos quanto os níveis de proteína Ikaros diminuam.

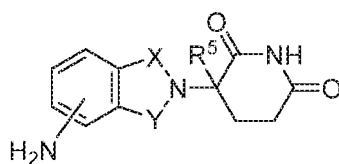
[00292] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é um fármaco inibidor de citocina seletivo (SelCID). Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório inibe a atividade de fosfodiesterase-4 (PDE4). Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório suprime a atividade enzimática das CDC25 fosfatases. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório altera o tráfico intra-

celular de CDC25 fosfatases.

[00293] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório na terapia de combinação é talidomida (2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1H-isoindol-1,3(2H)-diona) ou um análogo ou derivado de talidomida. Em certas modalidades, um derivado de talidomida inclui variants estruturais de talidomida que têm uma atividade biológica similar. Derivados de talidomida exemplares incluem, porém não estão limitados à lenalidomida (REVLIMMUNOMODULATORY COMPOUND™; Celgene Corporation), pomalidomida (também conhecida como ACTIMMUNOMODULATORY COMPOUND™ ou POMALYST™ (Celgene Corporation)), CC-1088, CDC-501, e CDC-801, e os compostos descritos nas Patentes dos Estados Unidos nºs 5.712.291; 7.320.991; e 8.716.315; Pedidos dos Estados Unidos nº 2016/0313300; e Publicações de PCT nºs WO 2002/068414 e WO 2008/154252.

[00294] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é 1-oxo- e 1,3 dioxo-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il) isoindolinas substituídas com amino no anel benzo como descrito na Patente dos Estados Unidos nº 5.635.517 que é incorporado aqui por referência.

[00295] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é um composto da seguinte fórmula:

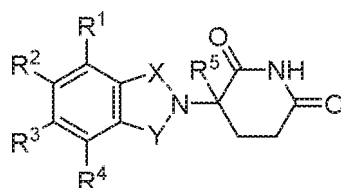


em que um de X e Y é  $-C(O)-$  e o outro de X e Y é  $-C(O)-$  ou  $-CH_2-$ , e  $R^5$  é hidrogênio ou alquila inferior, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo. Em algumas modalidades, X é  $-C(O)-$  e Y é  $-CH_2-$ . Em algumas modalidades, tanto X quanto Y são  $-C(O)-$ . Em algumas modalidades,  $R^5$  é hidrogênio. Em outras modalidades,  $R^5$  é metila.

[00296] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é um composto que pertence a uma classe de compostos 2-(2,6-dioxopi-

peridin-3-il)ftalimunomodulatórios substituídos e 2-(2,6-dioxopiperldin-3-il)-1-oxoisindóis imunomodulatórios, tais como aqueles descritos nas Patentes dos Estados Unidos nºs 6.281.230; 6.316.471; 6.335.349; e 6.476.052, e Pedido de Patente Internacional nº PCT/US97/13375 (Publicação Internacional nº WO 98/03502), cada um dos quais é incorporado aqui por referência.

[00297] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é um composto da seguinte fórmula:



em que

um de X e Y é  $-\text{C}(\text{O})-$  e o outro de X e Y é  $-\text{C}(\text{O})-$  ou  $-\text{CH}_2-$ ;

(1) cada um de  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$ ,  $\text{R}^3$ , e  $\text{R}^4$  são independentemente halo, alquila de 1 a 4 átomos de carbono, ou alcóxi ou 1 a 4 átomos de carbono, ou

(2) um de  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^3$ ,  $\text{R}^4$ , e  $\text{R}^5$  é  $-\text{NHR}^a$  e o restante de  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$ ,  $\text{R}^3$ , e  $\text{R}^4$  é são hidrogênio, em que  $\text{R}^a$  é hidrogênio ou alquila de 1 a 8 átomos de carbono;

$\text{R}^5$  é hidrogênio ou alquila de 1 a 8 átomos de carbono, benzila, ou halo;

contanto que  $\text{R}^5$  seja diferente de hidrogênio se X e Y forem  $-\text{C}(\text{O})-$  e (i) cada um de  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$ ,  $\text{R}^3$ , e  $\text{R}^4$  seja flúor; ou (ii) um de  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$ ,  $\text{R}^3$ , e  $\text{R}^4$  seja amino;

ou um sal farmaceuticamente aceitáveis dos mesmos.

[00298] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é um composto que pertence a uma classe de compostos isoindol-imunomodulatórios descritos nas Patente dos Estados Unidos nº 7.091.353, Publicação de Patente Internacional nº 2003/0045552, e Pedido Internacional nº PCT/US01/50401 (Publicação Internacional nº WO02/059106),

cada um dos quais são incorporados aqui por referência. Por exemplo, em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é [2-(2,6-dioxo-piperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-di-hidro-1H-isoindol-4-ilmetil]-amida; terc-butil éster de ácido (2-(2,6-dioxo-piperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-di-hidro-1H-isoindol-4-ilmetil)-carbâmico; 4-(aminometil)-2-(2,6-dioxo(3-piperidil))-isoindolina-1,3-diona; N-(2-(2,6-dioxo-piperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-di-hidro-1H-isoindol-4-ilmetil)-acetamida; N-{(2-(2,6-dioxo(3-piperidil))-1,3-dioxoisoindolin-4-il)metil}ciclopropil-carboxamida; 2-cloro-N-{(2-(2,6-dioxo(3-piperidil))-1,3-dioxoisoindolin-4-il)metil}acetamida; N-(2-(2,6-dioxo(3-piperidil))-1,3-dioxoisoindolin-4-il)-3-piridilcarboxamida; 3-{1-oxo-4-(benzilamino)isoindolin-2-il}piperidina-2,6-diona; 2-(2,6-dioxo(3-piperidil))-4-(benzilamino)isoindolina-1,3-diona; N-{(2-(2,6-dioxo(3-piperidil))-1,3-dioxoisoindolin-4-il)metil}propanamida; N-{(2-(2,6-dioxo(3-piperidil))-1,3-dioxoisoindolin-4-il)metil}-3-piridilcarboxamida; N-{(2-(2,6-dioxo(3-piperidil))-1,3-dioxoisoindolin-4-il)metil}heptanamida; N-{(2-(2,6-dioxo(3-piperidil))-1,3-dioxoisoindolin-4-il)metil}-2-furilcarboxamida; acetato de {N-(2-(2,6-dioxo(3-piperidil))-1,3-dioxoisoindolin-4-il)carbamoil}metila; N-(2-(2,6-dioxo(3-piperidil))-1,3-dioxoisoindolin-4-il)pentanamida; N-(2-(2,6-dioxo(3-piperidil))-1,3-dioxoisoindolin-4-il)-2-tienilcarboxamida; N-{[2-(2,6-dioxo(3-piperidil))-1,3-dioxoisoindolin-4-il]metil}(butilamino)carboxamida; N-{[2-(2,6-dioxo(3-piperidil))-1,3-dioxoisoindolin-4-il]metil}(octilamino)carboxamida; ou N-{[2-(2,6-dioxo(3-piperidil))-1,3-dioxoisoindolin-4-il]metil}(benzilamino)carboxamida.

[00299] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é um composto que pertence a uma classe de compostos isoindol-imunomodulatórios descrita na Publicações de Pedido de Patente dos Estados Unidos nºs 2002/0045643, Publicação Internacional nº WO 98/54170, e Patente dos Estados Unidos nº 6.395.754, cada uma das quais é incorporada aqui por referência. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é 2-(2,6-dioxopiperdin-3-il)-1-oxoisoindo-

linas tetra substituídas descritas na Patente dos Estados Unidos nº 5.798.368, que é incorporada aqui por referência. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é 1-oxo e 1,3-dioxo-2-(2,6-dioxo-piperidin-3-il) isoindolinas descritas na Patente dos Estados Unidos nº 6.403.613, que é incorporada aqui por referência. Em algumas modalidades o composto imunomodulatório é uma 1-oxo ou 1,3-dioxoisoindolina substituída na posição 4 ou 5 do anel indolina como descrito na Patente dos Estados Unidos nº 6,380,239 e Patente dos Estados Unidos nº 7.244.759, ambas as quais são incorporadas aqui por referência.

[00300] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é ácido 2-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-isoindol-2-il)-4-carbamoil-butírico ou ácido 4-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-isoindol-2-il)-4-carbamoil-butírico. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é ácido 4-carbamoil-4-{4-[(furan-2-il-metil)-amino]-1,3-dioxo-1,3-di-hidro-isoindol-2-il}-butírico, ácido 4-carbamoil-2-{4-[(furan-2-il-metil)-amino]-1,3-dioxo-1,3-di-hidro-isoindol-2-il}-butírico, ácido 2-{4-[(furan-2-il-metil)-amino]-1,3-dioxo-1,3-di-hidro-isoindol-2-il}-4-fenilcarbamoil-butírico, ou ácido 2-{4-[(furan-2-il-metil)-amino]-1,3-dioxo-1,3-di-hidro-isoindol-2-il}-pentanodioico.

[00301] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é uma isoindolina-1-ona ou isoindolina-1,3-diona substituída na posição 2 com 2,6-dioxo-3-hidroxipiperidin-5-ila como descrito na Patente dos Estados Unidos nº 6.458.810, que é incorporada aqui por referência. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, ou um enantiômero ou uma mistura de enantiômeros do mesmo; ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é 3-[4-(4-morfolin-4-ilmetil-benzilóxi)-1-oxo-1,3-di-hidro-isoindol-2-il]-piperi-

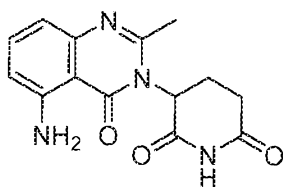
dina-2,6-diona.

[00302] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é como descrito em Oshima, K. *et al.*, *Nihon Rinsho.*, 72(6):1130-5 (2014); Millrine, D. *et al.*, *Trends Mol Med.*, 23(4):348-364 (2017); e Collins, *et al.*, *Biochem J.*, 474(7):1127-1147 (2017).

[00303] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é um inibidor de E3 ubiquitina ligase. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é um derivado de talidomida. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é um análogo funcional e/ou estrutural de talidomida. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é lenalidomida, pomalidomida, avadomida, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo.

[00304] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é lenalidomida, pomalidomida, avadomida, um estereoisômero de lenalidomida, pomalidomida, avadomida ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é lenalidomida, um estereoisômero de lenalidomida ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo.

[00305] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é avadomida, que é também conhecido como uma 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona tendo a seguinte estrutura



(Fórmula I), ou é um enantiômero ou uma mistura de enantiômeros do mesmo; ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo (aqui a seguir **Composto 1**).

[00306] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é um enantiômero ou uma mistura de enantiômeros de 3-(5-amino-2-

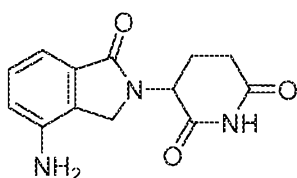
metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável de 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é um solvato de 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é um hidrato de 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório um sal farmaceuticamente aceitável de 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é um polimorfo de 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório tem a estrutura de Fórmula I.

[00307] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é lenalidomida, que é também conhecida como 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona, ou é um enantiômero ou uma mistura de enantiômeros do mesmo; ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo. Em algumas modalidades, lenalidomida é 2,6-piperidinadiona, 3-(4-amino-1,3-di-hidro-1-oxo-2H-isoindol-2-il)-, 3-(4-Amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-2,6-piperidinadiona, 3-(4-Amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-2,6-piperidinediona, 3-(4-Amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)piperidin-2,6-diona, 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona, 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona, todos os quais podem ser usados alternadamente, ou é um enantiômero ou uma mistura de enantiômeros do mesmo; ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável dos mesmos.

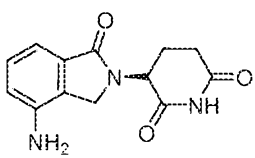


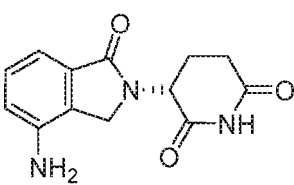
[00308] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é (*R*)-3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é (*S*)-3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é uma mistura de (*R*)-3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona e (*S*)-3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona.

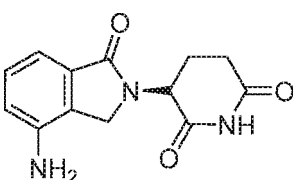
[00309] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é

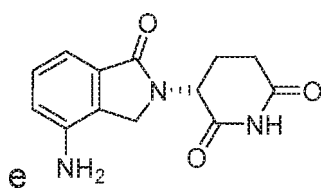


(Fórmula II), ou um enantiômero ou uma mistura de enantiômeros do mesmo; ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo. Em algumas

modalidades, o composto imunomodulatório é  (Fórmula IIA), ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo. Em outras modalidades, o

composto imunomodulatório é  (Fórmula IIB), ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo. Em certas modalidades, o composto imunomodulatório compreende uma mistura de

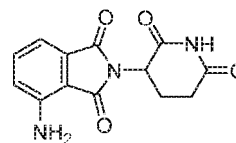
 (Fórmula IIA)



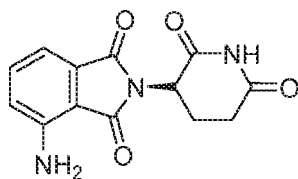
e (Fórmula IIB), ou sais, solvatos, hidratos, cocris-  
tais, clatratos ou polimorfos do mesmo.

[00310] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é um enantiômero ou uma mistura de enantiômeros de 3-(4-Amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável de 3-(4-Amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é um solvato de (*R*)-3-(4-Amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona e/ou (*S*)-3-(4-Amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é um hidrato de (*RS*)-3-(4-Amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona e/ou (*S*)-3-(4-Amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é um sal farmaceuticamente aceitável de (*R*)-3-(4-Amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona e/ou (*S*)-3-(4-Amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é lenalidomida, ou 3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório tem a estrutura de Fórmula II. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório tem a estrutura de Fórmula IIA ou Fórmula IIB ou uma mistura das mesmas.

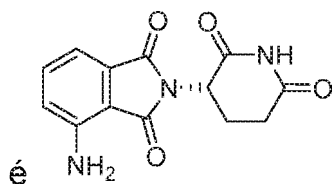
[00311] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é pomalidomida, que é também conhecida como 4-amino-2-(2,6-dioxo-piperidin-3-il)isoindolina-1,3-diona, ou é um enantiômero ou uma mistura de enantiômeros do mesmo; ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo. Em algumas



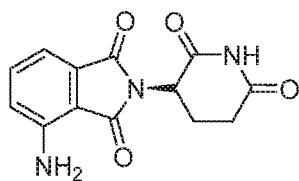
modalidades, o composto imunomodulatório é (Fórmula III), ou um enantiômero ou uma mistura de enantiômeros do mesmo; ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmacologicamente aceitável do mesmo. Em algumas modalidades, o composto



imunomodulatório é (Fórmula IIIA), ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmacologicamente aceitável do mesmo. Em outras modalidades, o composto imunomodulatório

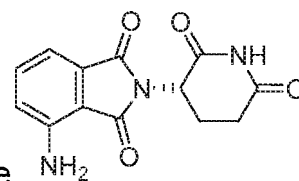


é (Fórmula IIIB), ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmacologicamente aceitável do mesmo. Em certas modalidades, o composto imunomodulatório compreende uma



mistura de

(Fórmula IIIA) e



(Fórmula IIIB), ou sais, solvatos, hidratos, cocrystals, clatratos ou polimorfos do mesmo.

[00312] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é um enantiômero ou uma mistura de enantiômeros de 4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindolina-1,3-diona, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmacologicamente aceitável de 4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindolina-1,3-diona. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é (*R*)-4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindolina-1,3-diona e/ou (*S*)-4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindolina-1,3-diona, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato

ou polimorfo farmaceuticamente aceitável de (*R*)-4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindolina-1,3-diona e/ou (*S*)-4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindolina-1,3-diona. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é um solvato de (*R*)-4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindolina-1,3-diona e/ou (*S*)-4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindolina-1,3-diona. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é um hidrato de (*R*)-4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindolina-1,3-diona e/ou (*S*)-4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindolina-1,3-diona. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é um sal farmaceuticamente aceitável de (*R*)-4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindolina-1,3-diona e/ou (*S*)-4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindolina-1,3-diona. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é (*R*)-4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindolina-1,3-diona, (*S*)-4-amino-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindolina-1,3-diona, ou uma mistura das mesmas em qualquer relação. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório tem a estrutura de Fórmula III. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório tem a estrutura de Fórmula IIIA ou Fórmula IIIB ou uma mistura das mesmas.

[00313] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é ou compreende lenalidomida. Lenalidomida é aprovada por FDA para o tratamento de mieloma múltiplo, síndrome mielodiplásica associada com deleção de 5q, e mais recentemente em linfoma da célula manto reincidente/refratário (LCM). Lenalidomida é um derivado sintético de talidomida, e é atualmente entendido ter múltiplos efeitos imunomodulatórios, incluindo reforço da formação de sinapse imune entre a célula T e células apresentadoras de antígeno (APCs). Por exemplo, em alguns casos, lenalidomida modula as respostas à célula T e resulta na produção aumentada de interleucina (IL)-2 em células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>, induz o desvio de respostas à T auxiliadora (Th) de Th2 a Th1, inibe a expansão de subgrupo regulatório de células T (Tregs), e melhora o

funcionamento das sinapses imunológicas (FL) e leucemia linfocítica crônica (LLC) (Otahal *et al.*, Oncoimmunology (2016) 5(4):e1115940). Lenalidomida também tem atividade tumoricida direta em pacientes com mieloma múltiplo (MM) e modula direta e indiretamente a sobrevivência de células tumorais de LLC afetando as células de suporte, tal como células tipo enfermeira encontradas no microambiente de tecidos linfóides.

### 1. Composições e formulações

[00314] Em algumas modalidades da terapia de combinação métodos, composições, combinações, *kits* e usos fornecidos aqui, a terapia de combinação pode ser administrada em uma ou mais composições, por exemplo, uma composição farmacêutica contendo um composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida.

[00315] Em algumas modalidades, a composição, por exemplo, uma composição farmacêutica contendo o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, pode incluir veículos tais como um diluente, adjuvante, excipiente, ou veículo com o qual o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, e/ou as células são administrados. Exemplos de veículos farmacêuticos adequados são descritos em "Remington's Pharmaceutical Sciences" por E. W. Martin. Tais composições conterão uma quantidade terapeuticamente eficaz do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, geralmente na forma purificada, juntamente com uma quantidade adequada de veículo, de modo a fornecer a forma de administração adequada ao paciente. Estes veículos farmacêuticos podem ser líquidos estéreis, tais como água e óleos, incluindo os de petróleo, animal, vegetal ou sintético, óleo de amendoim, óleo de soja, óleo mineral e óleo de gergelim. Soluções salinas e soluções aquosas de dextrose e glicerol também podem ser empregadas como veículos líquidos, principalmente para soluções injetáveis. As composições farmacêuticas podem

conter quaisquer um ou mais de um diluentes(s), adjuvante(s), antiaderente(s), aglutinante(s), revestimento(s), carga(s), aromatizante(s), cor(s), lubrificante(s), deslizante(s), conservante(s), detergente(s), sorbente(s), agente(s) emulsificante(s), excipiente(s) farmacêutico(s), agente(s) de tamponamento de pH, ou adoçante(s) e uma combinação dos mesmos. Em algumas modalidades, a composição farmacêutica pode ser líquida, sólida, um pó liofilizado, em forma de gel, e/ou combinação dos mesmos. Em alguns aspectos, a escolha de veículo é determinada em parte pelo inibidor particular e/ou pelo método de administração.

[00316] Os veículos farmacêuticamente aceitáveis são geralmente não tóxicos para os receptores nas dosagens e concentrações empregadas e incluem, porém não estão limitados a: tampões tais como fosfato, citrato e outros ácidos orgânicos; antioxidantes, incluindo ácido ascórbico e metionina; conservantes (como cloreto de octadecildimetilbenzil amônio; cloreto de hexametônio; cloreto de benzalcônio; cloreto de benzetônio; fenol, butil ou álcool benzílico; álcool parabeno como metil ou propil parabeno; catecol; resorcinol; ciclo-hexanol; 3-pentanol; e m-cresol); polipeptídeos de baixo peso molecular (menos de cerca de 10 resíduos); proteínas, como albumina sérica, gelatina ou imunoglobulinas; polímeros hidrofílicos tais como polivinilpirrolidona; aminoácidos tais como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina ou lisina; monossacarídeos, dissacarídeos e outros carboidratos, incluindo glicose, manose ou dextrinas; agentes quelantes tais como EDTA; açúcares tais como sacarose, manitol, trealose ou sorbitol; contra-íões formadores de sal, como sódio; complexos metálicos (por exemplo, complexos de proteína Zn); e/ou surfactantes não iônicos, como polietilenoglicol (PEG), estabilizadores e/ou conservantes. As composições contendo o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida também podem ser liofilizadas.

[00317] Em algumas modalidades, as composições farmacêuticas podem ser formuladas para administração por qualquer rotina conhecida, incluindo injeção intramuscular, intravenosa, intradérmica, intralesional, intraperitoneal, subcutânea, intratumoral, epidural, nasal, oral, vaginal, retal, tópica, local, ótica, administração inalatória, bucal (por exemplo, sublingual) e transdérmica ou qualquer rotina. Em algumas modalidades, outros modos de administração também são contemplados. Em algumas modalidades, a administração é por infusão em *bolus*, por injeção, por exemplo, injeções intravenosas ou subcutâneas, injeção intra-ocular, injeção periocular, injeção sub-retiniana, injeção intravítrea, injeção trans-septal, injeção subscleral, injeção intracoroide, injeção intracameral, injeção subconjunctal, injeção subconjuntival, injeção sub-Tenon, injeção retrobulbar, injeção peribulbar ou liberação justa-escleral posterior. Em algumas modalidades, a administração é por administração parentérica, intrapulmonar e intranasal e, se desejado para o tratamento local, administração intralesional. As infusões parenterais incluem administração intramuscular, intravenosa, intraarterial, intraperitoneal ou subcutânea. Em algumas modalidades, uma determinada dose é administrada por uma única administração em *bolus*. Em algumas modalidades, é administrada por várias administrações em *bolus*, por exemplo, durante um período não maior do que 3 dias, ou por administração de infusão contínua.

[00318] Em algumas modalidades, a administração pode ser local, tópica ou sistêmica, dependendo do local do tratamento. Em algumas modalidades, a administração local em uma área que necessita de tratamento pode ser alcançada, por exemplo, porém não limitado a, por infusão local durante a cirurgia, aplicação tópica, por exemplo, em conjunto com um curativo após a cirurgia, por injeção, por meio de um cateter, por meio de um supositório ou por meio de um implante. Em algumas modalidades, as composições também podem ser administra-

das com outros agentes biologicamente ativos, sequencialmente, intermitentemente ou na mesma composição. Em algumas modalidades, a administração também pode incluir sistemas de liberação controlada, incluindo formulações de liberação controlada e liberação controlada por dispositivo, tal como por meio de uma bomba. Em algumas modalidades, a administração é oral.

[00319] Em algumas modalidades, compostos farmacologicamente e terapeuticamente ativos e derivados dos mesmos são tipicamente formulados e administrados em formas de dosagem unitárias ou múltiplas formas de dosagem. Cada dose unitária contém uma quantidade predeterminada de composto terapeuticamente ativo suficiente para produzir o efeito terapêutico desejado, em associação com o portador, veículo ou diluente farmacêutico requerido. Em algumas modalidades, as formas de dosagem unitária incluem, entre outros, comprimidos, cápsulas, pílulas, pós, grânulos, soluções ou suspensões parenterais estéreis e soluções ou suspensões e emulsões orais e em água em óleo contendo quantidades adequadas dos compostos ou derivados farmacologicamente aceitáveis adequados dos mesmos. As formas de dose unitária podem conter ampolas e seringas ou comprimidos ou cápsulas embaladas individualmente. As formas de dose unitária podem ser administradas em frações ou múltiplas das mesmas. Em algumas modalidades, uma forma de múltiplas doses é uma pluralidade de formas de dosagem unitária idênticas embaladas em um único recipiente para serem administradas na forma de dose unitária segregada. Exemplos de formas de múltiplas doses incluem frascos, garrafas de comprimidos ou cápsulas ou frascos de *pints* ou galões.

[00320] Os ingredientes ativos podem ser capturados em microcápsulas, em sistemas de administração de fármacos coloidais (por exemplo, lipossomas, microcontas de albumina, microemulsões, nanopartículas e nanocápsulas) ou em macroemulsões. Em certas mo-



dalidades, a composição farmacêutica contendo o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é formulada como um complexo de inclusão, tal como o complexo de inclusão da ciclodextrina ou como um lipossoma. Os lipossomas podem servir para direcionar as células hospedeiras (por exemplo, células T ou células NK) para um tecido específico. Muitos métodos estão disponíveis para a preparação de lipossomas, tais como aqueles descritos em, por exemplo, Szoka *et al.*, Ann. Rev. Biophys. Bioeng., 9:467 (1980), e Patentes dos Estados Unidos 4.235.871, 4.501.728, 4.837.028 e 5.019.369.

[00321] A composição farmacêutica que contém o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, em alguns aspectos, pode empregar sistemas de liberação prolongada, liberação retardada e liberação sustentada, de modo que a liberação da composição ocorra antes e com tempo suficiente para causar, sensibilização do local a ser tratado. Muitos tipos de sistemas de liberação estão disponíveis e são conhecidos. Tais sistemas podem evitar administrações repetidas da composição, aumentando assim a conveniência para o indivíduo e o médico.

[00322] As composições contendo o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, também podem ser liofilizadas. As composições podem conter substâncias auxiliares, tais como agentes umectantes, dispersantes ou emulsificantes (por exemplo, metilcelulose), agentes tamponantes de pH, aditivos gelificantes ou melhoradores de viscosidade, conservantes, agentes aromatizantes, corantes e similares, dependendo da rotina de administração e da preparação desejada. Em alguns aspectos, os textos padrão podem ser consultados para preparar os preparativos adequados.

[00323] Podem ser adicionados vários aditivos que melhoram a estabilidade e esterilidade das composições, incluindo conservantes antimicrobianos, antioxidantes, agentes quelantes e tampões. A preven-

ção da ação de micro-organismos pode ser assegurada por vários agentes antibacterianos e antifúngicos, por exemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico e similares. A absorção prolongada da forma farmacêutica injetável pode ser provocada pelo uso de agentes que retardam a absorção, por exemplo, monoestearato de alumínio e gelatina.

[00324] Preparações de liberação sustentada podem ser preparadas. Exemplos adequados de preparações de liberação sustentada incluem matrizes semipermeáveis de polímeros hidrofóbicos sólidos contendo o anticorpo, cujas matrizes estão na forma de artigos moldados, por exemplo, películas ou microcápsulas.

[00325] Em algumas modalidades, a composição que contém o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrada na forma de um sal, por exemplo, um sal farmacêuticamente aceitável. Os sais de adição de ácido farmacêuticamente aceitáveis adequados incluem aqueles derivados de ácidos minerais, tais como ácidos hidrolórico, hidrobrômico, fosfórico, metafosfórico, nítrico e sulfúrico e ácidos orgânicos, tais como ácidos tartárico, acético, cítrico, málico, láctico, fumárico, benzoico, glicólico, glucônico, succínico e arilsulfônico, por exemplo, ácido p-toluenossulfônico.

## 2. Esquema Posológico de Dosagem do Composto Imunomodulatório

[00326] Em algumas modalidades, o método de terapia de combinação fornecido envolve a administração ao indivíduo de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um fármaco imunomodulatório (composto imunomodulatório), por exemplo, lenalidomida e a terapia celular, como uma terapia com células T (por exemplo, células T expressando CAR).

[00327] Em algumas modalidades, a administração do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é iniciada antes de, subsequentemente à, durante, durante o curso de, simultaneamente,

quase simultaneamente, sequencialmente e/ou intermitentemente com a administração da terapia celular, tal como uma terapia com células T (por exemplo, células T expressando CAR). Em algumas modalidades, o método envolve a iniciação da administração do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, antes da administração da terapia com células T. Em outras modalidades, o método envolve a iniciação da administração do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, após a administração da terapia com células T. Em algumas modalidades, o esquema posológico de dosagem compreende iniciar a administração do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, concorrente ou simultaneamente com a administração da terapia com células T.

[00328] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado em um ciclo. Em algumas modalidades, o ciclo compreende um período de administração em que o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado seguido por um período de descanso durante o qual o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, não é administrado. Em algumas modalidades, o número total de dias do ciclo, por exemplo, desde o início do começo da administração do composto imunomodulatório, é maior ou maior que cerca de ou cerca de 21 dias, 28 dias, 30 dias, 40 dias, 50 dias, 60 dias ou mais.

[00329] Em algumas modalidades, a iniciação da administração do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é realizada em pelo menos um ciclo e a iniciação da administração da terapia com células T é realizada no mesmo dia, opcionalmente simultaneamente. Em algumas modalidades, a iniciação da administração do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, em pelo menos um ciclo é antes do início da administração da terapia com células T. Em algumas modalidades, a iniciação da administração do composto imuno-

modulatório, por exemplo, lenalidomida, em pelo menos um ciclo é simultânea com ou no mesmo dia da iniciação da administração da terapia com células T. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado a partir de ou de cerca de 0 a 30 dias, como 0 a 15 dias, 0 a 6 dias, 0 a 96 horas, 0 a 24 horas, 0 a 12 horas, 0 a 6 horas ou 0 a 2 horas, 2 horas a 15 dias, 2 horas a 6 dias, 2 horas a 96 horas, 2 horas a 24 horas, 2 horas a 12 horas, 2 horas a 6 horas, 6 horas a 30 dias, 6 horas a 15 dias, 6 horas a 6 dias, 6 horas a 96 horas, 6 horas a 24 horas, 6 horas a 12 horas, 12 horas a 30 dias, 12 horas a 15 dias, 12 horas a 6 dias, 12 horas a 96 horas, 12 horas a 24 horas, 24 horas a 30 dias, 24 horas a 15 dias, 24 horas a 6 dias, 24 horas a 96 horas, 96 horas a 30 dias, 96 horas a 15 dias, 96 horas a 6 dias, 6 dias a 30 dias, 6 dias a 15 dias ou 15 dias a 30 dias antes do início da terapia com células T. Em alguns aspectos, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado em não mais do que cerca de 96 horas, 72 horas, 48 horas, 24 horas, 12 horas, 6 horas, 2 horas ou 1 hora antes do início da terapia com células T.

[00330] Em algumas destas modalidades nas quais o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado antes da terapia celular (por exemplo, terapia com células T, como terapia com células T CAR), a administração do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, continua em intervalos regulares até o início da terapia celular e/ou durante um tempo após o início da terapia celular.

[00331] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado ou é administrado adicionalmente após a administração da terapia celular (por exemplo, terapia com células T, tal como terapia com células T CAR). Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado dentro de ou dentro de aproximadamente 1 hora, 2 ho-

ras, 6 horas, 12 horas, 24 horas, 48 horas, 96 horas, 4 dias, 5 dias, 6 dias ou 7 dias, 14 dias, 15 dias, 21 dias, 24 dias, 28 dias, 30 dias, 36 dias, 42 dias, 60 dias, 72 dias ou 90 dias após o início da administração da terapia celular (por exemplo, terapia com células T). Em algumas modalidades, os métodos fornecidos envolvem administração continuada, tal como em intervalos regulares, do composto imunomodulatório após o início da administração da terapia celular.

[00332] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado até ou cerca de 1 dia, até ou até cerca de 2 dias, até ou até cerca de 3 dias, até ou até cerca de 3 dias, até ou aproximadamente 4 dias, até ou até 5 dias, até ou até 6 dias, até ou até 7 dias, até 12 dias, até 12 dias, até 14 dias, até 14 dias, até até 21 dias, até 24 dias, até 28 dias, até 28 dias, até 30 dias, até 35 dias, até 35 dias, até 42 dias, até 42 dias dias, até ou até cerca de 60 dias ou até ou até cerca de 90 dias, até ou até cerca de 120 dias, até ou até cerca de 180 dias, até ou até cerca de 240 dias, até ou cerca de 360 dias, ou até 720 dias ou mais após o início da administração da terapia celular (por exemplo, terapia com células T, tal como terapia com células T CAR).

[00333] Em algumas das modalidades acima, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado antes e após o início da administração da terapia celular (por exemplo, terapia com células T, tal como terapia com células T CAR).

[00334] Em algumas modalidades, a iniciação da administração do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é realizada em ou após, opcionalmente imediatamente após ou dentro de 1 a 3 dias após: (i) pico ou nível máximo das células da terapia com célula T ser detectável no sangue do indivíduo; (ii) o número de células da terapia com célula T detectável no sangue, após ter sido detectável no sangue, é não detectável ou é reduzido, opcionalmente reduzido em

comparação com um ponto de tempo anterior após administração da terapia com célula T; (iii) o número de células da terapia com célula T detectável no sangue é diminuído em ou mais do que 1,5 vezes, 2,0 vezes, 3,0 vezes, 4,0 vezes, 5,0 vezes, 10 vezes ou mais o número de pico ou máximo de células da terapia com célula T detectável no sangue do indivíduo após a iniciação da administração da terapia com célula T; (iv) em um momento após um nível de pico ou máximo das células da terapia com célula T ser detectável no sangue do indivíduo, o número de células de ou derivado das células T detectável no sangue do indivíduo é menor do que menor do que 10%, menor do que 5%, menor do que 1% ou menor do que 0,1% de células mononucleares de sangue periférico total (PBMCs) no sangue do indivíduo; (v) o indivíduo exibe progressão de doença e/ou tem recaída após remissão após tratamento com a terapia com célula T; e/ou (iv) o indivíduo exibe carga tumoral aumentada em comparação com a carga tumoral em um momento antes de ou após a administração das células T e antes da iniciação da administração do composto imunomodulatório.

[00335] Em algumas modalidades, a iniciação da administração do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, em pelo menos um ciclo é após a iniciação da administração da terapia com célula T. Em algumas modalidades, a iniciação da administração do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é pelo menos ou cerca de pelo menos 1 dia, pelo menos ou cerca de pelo menos 2 dias, pelo menos ou cerca de pelo menos 3 dias, pelo menos ou cerca de pelo menos 4 dias, pelo menos ou cerca de pelo menos 5 dias, pelo menos ou cerca de pelo menos 6 dias, pelo menos ou cerca de pelo menos 7 dias, pelo menos ou cerca de pelo menos 8 dias, pelo menos ou cerca de pelo menos 9 dias, pelo menos ou cerca de pelo menos 10 dias, pelo menos ou pelo menos cerca de 12 dias, pelo menos ou cerca de pelo menos 14 dias, pelo menos ou pelo menos cerca de 15

dias, pelo menos ou cerca de pelo menos 21 dias, pelo menos ou pelo menos cerca de 24 dias, pelo menos ou cerca de pelo menos 28 dias, pelo menos ou cerca de pelo menos 30 dias, pelo menos ou cerca de pelo menos 35 dias ou pelo menos ou cerca de pelo menos 42 dias, pelo menos ou cerca de pelo menos 60 dias, ou pelo menos ou cerca de pelo menos 90 dias após initiation da administração da terapia com célula T. Em algumas modalidades, a iniciação da administração do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é realizada pelo menos 2 dias após, pelo menos 1 semana após, pelo menos 2 semanas após, pelo menos 3 semanas após, ou pelo menos 4 semanas após, a iniciação da administração da terapia com célula T. Em algumas modalidades, a iniciação da administração do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é realizada 2 a 28 dias ou 7 a 21 dias após a iniciação da administração da terapia com célula T. Em algumas modalidades, a iniciação da administração do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é realizada em um momento que é maior do que ou maior do que cerca de 14 dias, 15 dias, 16 dias, 17 dias, 18 dias, 19, dias, 20 dias, 21 dias, 24 dias, ou 28 dias após initiation da administração da terapia com célula T. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado diversas vezes ao dia, duas vezes ao dia, diariamente, a cada dois dias, três vezes na uma semana, duas vezes na semana, ou uma vez na semana após iniciação da terapia celular. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado diária. Em algumas modalidades o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado twice a dia. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado três vezes ao dia. Em outras modalidades, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado a cada dois dias. Em algumas modalidades, o

composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado diariamente. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado durante um período de administração durante uma pluralidade de dias consecutivos, tal como durante até cerca de 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, ou mais do que 30 dias consecutivos. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado durante mais do que ou mais do que cerca de 7 dias consecutivos, mais do que ou mais do que cerca de 14 dias consecutivos, mais do que ou mais do que cerca de 21 dias consecutivos, mais do que ou mais do que cerca de 21 dias consecutivos, ou mais do que ou mais do que cerca de 28 dias consecutivos. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado durante um período de administração durante até 21 dias consecutivos. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado durante um período de administração durante até 21 dias consecutivos, em que o ciclo compreende mais do que 30 dias começando na iniciação da administração do composto imunomodulatório.

[00336] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado durante um período de administração durante não mais do que cerca de 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, ou não mais do que 30 dias consecutivos. Em certas modalidades, a lenalidomida é administrada uma vez diariamente durante 14 dias durante um ciclo de tratamento de 21 dias. Em certas modalidades, a lenalidomida é administrada uma vez diariamente for 21 dias durante um ciclo de tratamento de 28 dias. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado durante um período de administração durante não mais do que 14 dias conse-



cutivos.

[00337] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado em um ciclo, em que o ciclo compreende a administração do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida durante uma pluralidade de dias consecutivos seguida por um período de repouso durante o qual o composto imunomodulatório não é administrado. Em algumas modalidades, o período de repouso é maior do que cerca de 1 dia, maior do que cerca de 3 dias consecutivos, maior do que cerca de 5 dias consecutivos, maior do que cerca de 7 dias consecutivos, maior do que cerca de 8 dias consecutivos, maior do que cerca de 9 dias consecutivos, maior do que cerca de 10 dias consecutivos, maior do que cerca de 11 dias consecutivos, maior do que cerca de 12 dias consecutivos, maior do que cerca de 13 dias consecutivos, maior do que cerca de 14 dias consecutivos, maior do que cerca de 15 dias consecutivos, maior do que cerca de 16 dias consecutivos, maior do que cerca de 17 dias consecutivos, maior do que cerca de 18 dias consecutivos, maior do que cerca de 19 dias consecutivos, maior do que cerca de 20 dias consecutivos, ou maior do que cerca de 21 ou mais dias consecutivos. Em algumas modalidades, o período de repouso é maior do que 7 dias consecutivos, mais do que 14 dias consecutivos, mais do que 21 dias, ou mais do que 28 dias. Em algumas modalidades, o período de repouso é maior do que cerca de 14 dias consecutivos. Em algumas modalidades, o ciclo de administração do composto imunomodulatório não contém um período de repouso.

[00338] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado em um ciclo, em que o ciclo é repetido pelo menos uma vez. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado durante pelo menos 2 ciclos, pelo menos 3 ciclos, pelo menos 4 ciclos, pelo

menos 5 ciclos, pelo menos 6 ciclos, pelo menos 7 ciclos, pelo menos 8 ciclos, pelo menos 9 ciclos, pelo menos 10 ciclos, pelo menos 11 ciclos, ou pelo menos 12 ciclos. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado for 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, ou 24 ciclos.

[00339] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado seis vezes diariamente, cinco vezes diariamente, quatro vezes diariamente, três vezes diariamente, duas vezes diariamente, uma vez diariamente, a cada dois dias, a cada três dias, duas vezes semanalmente, uma vez semanalmente ou apenas uma vez antes de ou subsequentemente à iniciação da administração da terapia com célula T. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado em múltiplas doses em intervalos regulares antes de, durante, durante o curso de, e/ou após o período de administração da terapia com célula T. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado em uma ou mais doses em intervalos regulares antes de a administração da terapia com célula T. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado em uma ou mais doses em intervalos regulares após a administração da terapia com célula T. Em algumas modalidades, uma ou mais doses do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, podem ocorrer simultaneamente com a administração da dose da terapia com célula T.

[00340] Em algumas modalidades, a dose, frequência, duração, programação e/ou ordem de administração do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é determinado, com base em limiares ou critérios particulares de resultados da etapa de análise e/ou avaliação dos resultados de tratamento descritos aqui, por exemplo,

aqueles descritos na Seção III aqui.

[00341] Em algumas modalidades, o método envolve a administração da terapia celular a um indivíduo que foi anteriormente administrado com uma quantidade terapeuticamente eficaz do composto imunomodulatório. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é administrado a um indivíduo antes de administrar a dose de células expressando um receptor recombinante ao indivíduo. Em algumas modalidades, o tratamento com o composto imunomodulatório ocorre ao mesmo tempo da administração da dose de células. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é administrado após a administração da dose de células.

[00342] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado diariamente durante 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, ou mais do que 21 dias. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado duas vezes ao dia durante 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, ou mais do que 21 dias. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado três vezes ao dia durante 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, ou mais do que 21 dias. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado a cada dois dias durante 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, ou mais do que 21 dias.

[00343] Em algumas modalidades dos métodos fornecidos aqui, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, e a terapia com célula T são administrados simultaneamente ou quase simultaneamente.

[00344] Em algumas modalidades, compostos imunomodulatórios, por exemplo, lenalidomida, é administrado em uma dose de ou de cerca de 0,1 mg a cerca 100 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 50 mg, de

ou de cerca de 0,1 mg a 25 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 10 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 5 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 1 mg, de ou de cerca de 1 mg a 100 mg, de ou de cerca de 1 mg a 50 mg, de ou de cerca de 1 mg a 25 mg, de ou de cerca de 1 mg a 10 mg, de ou de cerca de 1 mg a 5 mg, de ou de cerca de 5 mg a 100 mg, de ou de cerca de 5 mg a 50 mg, de ou de cerca de 5 mg a 25 mg, de ou de cerca de 5 mg a 10 mg, de ou de cerca de 10 mg a 100 mg, de ou de cerca de 10 mg a 50 mg, de ou de 10 mg a 25 mg, de ou de cerca de 25 mg a 100 mg, de ou de cerca de 25 mg a 50 mg ou de ou de cerca de 50 mg a 100 mg, cada qual inclusive. Em algumas modalidades, a quantidade é uma quantidade uma vez diariamente do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida.

[00345] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado em uma dosagem de cerca de 1 mg a cerca 20 mg, por exemplo, de cerca de 1 mg a cerca 10 mg, de cerca de 2,5 mg a cerca 7.5 mg, de cerca de 5 mg a cerca 15 mg, tal como cerca de 5 mg, 10 mg, 15 mg ou 20 mg. Em algumas modalidades, lenalidomida é administrada em uma dose de cerca de 10 µg/kg to 5 mg/kg, por exemplo, cerca de 100 µg/kg a cerca 2 mg/kg, cerca de 200 µg/kg a cerca 1 mg/kg, cerca de 400 µg/kg a cerca 600 µg/kg, tal como cerca de 500 µg/kg. Em algumas modalidades, a quantidade é uma quantidade uma vez diariamente do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida.

[00346] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrada em uma quantidade de dosagem diária total de pelo menos ou pelo menos cerca de 0,1 mg por dia, 0,5 mg por dia, 1,0 mg por dia, 2,5 mg por dia, 5 mg por dia, 10 mg por dia, 25 mg por dia, 50 mg por dia ou 100 mg por dia. Em algumas modalidades, a dose de lenalidomida é ou é cerca de 25 mg por dia. Em modalidades particulares, a dose de lenalidomida é ou cerca

de 10 mg por dia.

[00347] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado em uma quantidade maior do que ou maior do que cerca de 1 mg, 2,5 mg, 5 mg, 7,5 mg, 10 mg, 15 mg e menor do que 25 mg. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado em uma quantidade maior do que ou maior do que cerca de 1 mg por dia, 2,5 mg por dia, 5 mg por dia, 7,5 mg por dia, 10 mg por dia, 15 mg por dia e menor do que 25 mg por dia.

[00348] Em qualquer uma das modalidades anteriormente mencionadas, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, pode ser administrado oralmente. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é administrado como um comprimido ou cápsula.

[00349] Em algumas modalidades, dosagens, tal como dosagens diárias, são administradas em uma ou mais doses divididas, tais como 2, 3, ou 4 doses, ou em uma única formulação. O composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida pode ser administrado sozinho, na presença de um veículo farmacologicamente aceitável, ou na presença de outros agentes terapêuticos.

[00350] Entende-se que dosagens mais elevadas ou mais baixas do composto imunomodulatório podem ser usadas, por exemplo, dependendo do agente particular e da rotina de administração. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório pode ser administrado sozinho ou na forma de uma composição farmacêutica em que o composto está em mistura ou mistura com um ou mais veículos, excipientes ou diluentes farmacologicamente aceitáveis. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório pode ser administrado sistêmica ou localmente ao órgão ou tecido a ser tratado. Rotinas de administração exemplares incluem, porém não estão limitadas a, injeção tópica (tal

como subcutânea, intramuscular, intradérmica, intraperitoneal, intratumoral e intravenosa), oral, sublingual, retal, transdérmica, intranasal, vaginal e por inalação. Em algumas modalidades, a rotina de administração é oral, parenteral, retal, nasal, tópica ou ocular ou por inalação. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é administrado por rotina oral. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório é administrado por rotina oral em formas de dosagem sólidas, tais como cápsulas, comprimidos e pós, ou em formas de dosagem líquidas, tais como elixires, xaropes e suspensões.

[00351] Após a melhora da doença do paciente, a dose pode ser ajustada para tratamento preventivo ou de manutenção. Por exemplo, a dosagem ou a frequência da administração, ou ambas, podem ser reduzidas em função dos sintomas, para um nível em que o efeito terapêutico ou profilático desejado é mantido. Se os sintomas forem aliviados para um nível apropriado, o tratamento poderá cessar. Os pacientes podem, no entanto, exigir tratamento intermitente a longo prazo, após qualquer recorrência dos sintomas. Os pacientes também podem necessitar de tratamento crônico a longo prazo.

#### C. TRATAMENTO COM DEPLEÇÃO LINFÁTICA

[00352] Em alguns aspectos, os métodos fornecidos podem incluir também a administração de uma ou mais terapias de depleção linfática, tal como antes ou simultaneamente ao início da administração da terapia com células T. Em algumas modalidades, a terapia de depleção linfática compreende a administração de uma fosfamida, tal como a ciclofosfamida. Em algumas modalidades, a terapia de depleção linfática pode incluir a administração de fludarabina.

[00353] Em alguns aspectos, o pré-condicionamento de indivíduos com terapias de imunodepleção (por exemplo, depleção linfática) pode melhorar os efeitos da terapia celular adotiva (ACT). O pré-condicionamento com agentes de depleção linfática, incluindo combi-

nações de ciclosporina e fludarabina, tem sido eficaz para melhorar a eficácia das células de linfócitos infiltrantes de tumores transferidos (TIL) na terapia celular, inclusive para melhorar a resposta e/ou persistência das células transferidas. Veja, por exemplo, Dudley *et al.*, *Science*, 298, 850-54 (2002); Rosenberg *et al.*, *Clin Cancer Res*, 17 (13): 4550-4557 (2011). Igualmente, no contexto das células T CAR<sup>+</sup>, vários estudos incorporaram agentes de depleção linfática, mais comumente ciclofosfamida, fludarabina, bendamustina ou combinações das mesmas, algumas vezes acompanhados de irradiação em baixas doses. Veja Han *et al.* *Journal of Hematology & Oncology*, 6:47 (2013); Kochenderfer *et al.*, *Blood*, 119:2709-2720 (2012); Kalos *et al.*, *Sci Transl Med*, 3 (95):95ra73 (2011); Clinical Trial Study Records Nos.: NCT02315612; NCT01822652.

[00354] Este pré-condicionamento pode ser realizado com o objetivo de reduzir o risco de um ou mais vários resultados que podem prejudicar a eficácia da terapia. Isto inclui o fenômeno conhecido como "queda de citocinas", pelo qual células T, células B e células NK competem com TILs por citocinas homeostáticas e ativadoras, tais como IL-2, IL-7 e/ou IL-15; supressão de TILs por células T reguladoras, células NK ou outras células do sistema imunológico; impacto de reguladores negativos no microambiente tumoral. Muranski *et al.*, *Nat Clin Pract Oncol*. 3 de Dezembro (12):668–681 (2006).

[00355] Deste modo, em algumas modalidades, o método fornecido envolve também a administração de uma terapia de depleção linfática ao indivíduo. Em algumas modalidades, o método envolve a administração da terapia de depleção linfática ao indivíduo antes da administração da dose de células. Em algumas modalidades, a terapia de depleção linfática contém um agente quimioterapêutico, tal como fludarabina e/ou ciclofosfamida. Em algumas modalidades, a administração das células e/ou a terapia de depleção linfática é realizada por meio de

liberação ambulatorial.

[00356] Em algumas modalidades, os métodos incluem a administração de um agente de pré-condicionamento, tal como um agente quimioterapêutico ou quimioterápico, tal como ciclofosfamida, fludarabina ou combinações dos mesmos, a um indivíduo antes da administração da dose de células. Por exemplo, o indivíduo pode ser administrado um agente de pré-condicionamento pelo menos 2 dias antes, como pelo menos 3, 4, 5, 6 ou 7 dias antes, para a primeira dose ou subsequente. Em algumas modalidades, o indivíduo é administrado com um agente de pré-condicionamento em não mais que 7 dias antes, tal como não mais que 6, 5, 4, 3 ou 2 dias antes, para a administração da dose de células.

[00357] Em algumas modalidades, o indivíduo é pré-condicionado com ciclofosfamida em uma dose entre ou entre cerca de 20 mg/kg e 100 mg/kg, como entre ou entre cerca de 40 mg/kg e 80 mg/kg. Em alguns aspectos, o indivíduo é pré-condicionado com ou com cerca de 60 mg/kg de ciclofosfamida. Em algumas modalidades, a fludarabina pode ser administrada em uma dose única ou em uma pluralidade de doses, tal como administradas diariamente, a cada dois dias ou a cada três dias. Em algumas modalidades, a ciclofosfamida é administrada uma vez ao dia por um ou dois dias.

[00358] Em algumas modalidades, em que o agente de depleção linfática compreende fludarabina, o indivíduo recebe fludarabina em uma dose entre ou entre cerca de 1 mg/m<sup>2</sup> e 100 mg/m<sup>2</sup>, tal como entre ou entre cerca de 10 mg/m<sup>2</sup> e 75 mg/m<sup>2</sup>, 15 mg/m<sup>2</sup> e 50 mg/m<sup>2</sup>, 20 mg/m<sup>2</sup> e 30 mg/m<sup>2</sup> ou 24 mg/m<sup>2</sup> e 26 mg/m<sup>2</sup>. Em alguns casos, o indivíduo recebe 25 mg/m<sup>2</sup> de fludarabina. Em algumas modalidades, a fludarabina pode ser administrada em uma dose única ou em uma pluralidade de doses, tal como administrada diariamente, a cada dois dias ou a cada três dias. Em algumas modalidades, a fludarabina é admi-



nistrada diariamente, tal como durante 1 a 5 dias, por exemplo, por 3 a 5 dias.

[00359] Em algumas modalidades, o agente de depleção linfática compreende uma combinação de agentes, tal como uma combinação de ciclofosfamida e fludarabina. Desse modo, a combinação de agentes pode incluir ciclofosfamida em qualquer dose ou esquema posológico de administração, tais como aqueles descritos acima, e fludarabina em qualquer dose ou esquema de administração, tais como aqueles descritos acima. Por exemplo, em alguns aspectos, o indivíduo recebe 60 mg/kg ( $\sim 2 \text{ g/m}^2$ ) de ciclofosfamida e 3 a 5 doses de 25 mg/m<sup>2</sup> de fludarabina antes da dose das células.

[00360] Em um regime de dosagem exemplar, antes de receberem a primeira dose, os indivíduos recebem um composto imunomodulatório 1 dia antes da administração de células e uma quimioterapia pré-condicionante de depleção linfática de ciclofosfamida e fludarabina (CY/FLU), que é administrada durante pelo menos dois dias antes da primeira dose de células expressando CAR e geralmente não mais de 7 dias antes da administração das células. Em outro regime de dosagem exemplar, os indivíduos recebem o composto imunomodulatório simultaneamente com a administração de células, tal como no mesmo dia. Em ainda outro regime de dosagem exemplar, os indivíduos recebem o composto imunomodulatório vários dias após a administração das células, tal como 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 ou mais de 14 dias após. Em alguns casos, por exemplo, a ciclofosfadamida é administrada 24 a 27 dias após a administração do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida. Após o pré-condicionamento do tratamento, é administrada aos indivíduos a dose de células T expressando CAR, como descrito acima.

[00361] Em algumas modalidades, a administração do agente de pré-condicionamento antes da infusão da dose de células melhora um

resultado do tratamento. Por exemplo, em alguns aspectos, o pré-condicionamento melhora a eficácia do tratamento com a dose ou aumenta a persistência das células expressando receptores recombinantes (por exemplo, células expressando CAR, tal como células T expressando CAR) no indivíduo. Em algumas modalidades, o pré-condicionamento do tratamento aumenta a sobrevivência livre de doença, tal como a porcentagem de indivíduos que estão vivos e não exibem doença mínima residual ou molecularmente detectável após um determinado período de tempo após a dose das células. Em algumas modalidades, o tempo para sobrevivência livre de doença média é aumentado.

[00362] Depois que as células são administradas ao indivíduo (por exemplo, humano), a atividade biológica das populações de células modificadas em alguns aspectos é medida por qualquer um de vários métodos conhecidos. Os parâmetros para avaliar incluem a ligação específica de uma célula T manipulada ou natural ou outra célula imune ao antígeno, *in vivo*, por exemplo, por imageamento ou *ex vivo*, por exemplo, por ELISA ou citometria de fluxo. Em certas modalidades, a capacidade das células modificadas de destruir as células alvo pode ser medida usando qualquer método adequado conhecido na técnica, tal como ensaios de citotoxicidade descritos em, por exemplo, Kochenderfer *et al.*, *J. Immunotherapy*, 32 (7):689-702 (2009) e Herman *et al.* *J. Immunological Methods*, 285 (1):25-40 (2004). Em certas modalidades, a atividade biológica das células também pode ser medida testando a expressão e/ou secreção de certas citocinas, tais como CD107a, IFN $\gamma$ , IL-2 e TNF. Em alguns aspectos, a atividade biológica é medida pela avaliação do resultado clínico, tal como redução na carga ou carga do tumor. Em alguns aspectos, resultados tóxicos, persistência e/ou expansão das células e/ou presença ou ausência de uma resposta imune do hospedeiro são avaliados.

[00363] Em algumas modalidades, a administração do agente de pré-condicionamento antes da infusão da dose de células melhora um resultado do tratamento, tal como melhora a eficácia do tratamento com a dose ou aumenta a persistência das células expressando receptores recombinantes (por exemplo, células expressando CAR, tal como células T expressando CAR) no indivíduo. Portanto, em algumas modalidades, a dose de agente de pré-condicionamento fornecida no método, é uma terapia de combinação com o composto imunomodulatório e a terapia celular, é maior que a dose fornecida no método sem o composto imunomodulatório.

## II. TERAPIA CELULAR E MODIFICAÇÃO DE CÉLULAS

[00364] Em algumas modalidades, a terapia com células T para uso de acordo com os métodos de terapia de combinação fornecidos inclui a administração de células modificadas que expressam receptores recombinantes modificadas para reconhecer e/ou se ligar especificamente às moléculas associadas à doença ou condição e resultar em uma resposta, tal como uma resposta imune contra tais moléculas na ligação a tais moléculas. Os receptores podem incluir receptores quiméricos, por exemplo, receptores de antígeno quiméricos (CARs) e outros receptores de antígenos transgênicos, incluindo receptores de células T transgênicas (TCRs).

[00365] Em algumas modalidades, as células contêm ou são modificadas para conter um receptor modificado, por exemplo, um receptor de antígeno modificado, tal como um receptor de antígeno quimérico (CAR) ou um receptor de célula T (TCR). Também são fornecidas populações de tais células, composições que contêm tais células e/ou enriquecidas para tais células, tal como nas quais células de um determinado tipo, tal como células T ou células CD8<sup>+</sup> ou CD4<sup>+</sup>, são enriquecidas ou selecionadas. Entre as composições estão composições farmacêuticas e formulações para administração, tal como para terapia

celular adotiva. Também são fornecidos métodos terapêuticos para administrar as células e composições aos indivíduos, por exemplo, pacientes.

[00366] Desse modo, em algumas modalidades, as células incluem um ou mais ácidos nucleicos introduzidos por engenharia genética e, desse modo, expressam produtos recombinantes ou geneticamente modificados por estes ácidos nucleicos. Em algumas modalidades, a transferência de genes é realizada estimulando primeiro as células, tal como combinando-as com um estímulo que induz uma resposta como proliferação, sobrevivência e/ou ativação, por exemplo, como medido pela expressão de uma citocina ou marcador de ativação, seguido de transdução das células ativadas e expansão em cultura para números suficientes para aplicações clínicas.

#### A. RECEPTORES RECOMBINANTES

[00367] As células geralmente expressam receptores recombinantes, tal como receptores de antígeno, incluindo receptores funcionais de antígeno de não TCR, por exemplo, receptores de antígeno quiméricos (CARs) e outros receptores de ligação ao antígeno, tal como receptores de células T transgênicos (TCRs). Também entre os receptores estão outros receptores quiméricos.

##### 1. Receptores de antígeno quiméricos (CARs)

[00368] Em algumas modalidades, células modificadas, tal como células T, empregadas nas modalidades fornecidas expressam um CAR com especificidade para um antígeno específico (ou marcador ou ligante), tal como um antígeno expresso na superfície de um tipo de célula específico. Em algumas modalidades, o antígeno é um polipeptídeo. Em algumas modalidades, é um carbo-idrato ou outra molécula. Em algumas modalidades, o antígeno é seletivamente expresso ou superexpresso nas células da doença ou condição, por exemplo, tumor ou células patogênicas, em comparação com células ou tecidos

normais ou não alvejados. Em outras modalidades, o antígeno é expresso nas células normais e/ou é expresso nas células modificadas.

[00369] Em modalidades particulares, o receptor recombinante, tal como o receptor quimérico, contém uma região de sinalização intracelular, que inclui um domínio ou região de sinalização citoplasmática (também chamada de forma alternável de domínio ou região de sinalização intracelular), como uma região citoplasmática (intracelular) capaz de induzir um sinal de ativação primário em uma célula T, por exemplo, um domínio ou região de sinalização citoplasmática de um componente do receptor de célula T (TCR) (por exemplo, um domínio ou região de sinalização citoplasmático de uma cadeia zeta de um CD3-zeta (CD3 $\zeta$ ) ou uma variante funcional ou porção de sinalização da mesma) e/ou que compreende um *motivo* de ativação com base em tirosina imunorreceptora (ITAM).

[00370] Em algumas modalidades, o receptor quimérico contém também um domínio de ligação ao ligante extracelular que se liga especificamente a um antígeno do ligante (por exemplo, antígeno). Em algumas modalidades, o receptor quimérico é um CAR que contém um domínio de reconhecimento de antígeno extracelular que se liga especificamente a um antígeno. Em algumas modalidades, o ligante, tal como um antígeno, é uma proteína expressa na superfície das células.

[00371] Em algumas modalidades, o CAR é um CAR do tipo TCR e o antígeno é um antígeno peptídico processado, tal como um antígeno peptídico de uma proteína intracelular, que, como um TCR, é reconhecida na superfície celular no contexto de uma molécula do complexo principal de histocompatibilidade (MHC). Geralmente, um CAR contendo um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno que exhibe especificidade do tipo TCR direcionada contra complexos de peptídeo-MHC também pode ser referido como um CAR do tipo TCR. Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno extracelular espe-

cífico para um complexo de peptídeo-MHC de um CAR do tipo TCR está ligado a um ou mais componentes de sinalização intracelular, em alguns aspectos por meio de ligantes e/ou domínio(s) de transmembrana. Em algumas modalidades, tais moléculas podem tipicamente imitar ou aproximar um sinal através de um receptor de antígeno natural, tal como um TCR, e, opcionalmente, um sinal através deste receptor em combinação com um receptor coestimulatório.

[00372] Receptores de antígeno exemplares, incluindo CARs, e métodos para modificação e introdução de tais receptores nas células, incluem aqueles descritos, por exemplo, nas Publicações de Pedido de Patente Internacional n<sup>os</sup> WO200014257, WO2013126726, WO2012/129514, WO2014031687, WO2013/166321, WO2013/071154, WO2013/123061, WO2016/0046724, WO2016/014789, WO2016/090320, WO2016/094304, WO2017/025038, WO2017/173256, Publicações de Pedido de Patente dos Estados Unidos n<sup>os</sup> US2002131960, US2013287748, US20130149337, Patentes dos Estados Unidos n<sup>os</sup> 6.451.995, 7.446.190, 8.252.592, 8.339.645, 8.398.282, 7.446.179, 6.410.319, 7.070.995, 7.265.209, 7.354.762, 7.446.191, 8.324.353, 8.479.118, e 9.765.342, e Pedido de patente Europeia número EP2537416 e/ou aqueles descritos por Sadelain *et al.*, (4) *Cancer Discov.*:388-398 (2013); Davila *et al.*, *PLoS ONE* 8 (4):e61338 (2013); Turtle *et al.*, *Curr. Opin. Immunol.*, 24 (5):633-39 (2012); Wu *et al.*, *Cancer*, 18 (2):160-75 (2012). Em alguns aspectos, os receptores de antígeno incluem um CAR, tal como descrito na Patente dos Estados Unidos n<sup>o</sup> 7.446.190, e aqueles descritos na Publicação de Pedido de Patente Internacional N<sup>o</sup> WO/2014055668 A1. Exemplos de CARs incluem CARs, como descrito em qualquer uma das publicações mencionadas, tais como WO2014031687, US 8.339.645, US 7.446.179, US 2013/0149337, Patente Dos Estados Unidos n<sup>o</sup> 7.446.190, Patente Dos Estados Unidos n<sup>o</sup> 8.389.282, Kochenderfer *et al.*, *Nature Reviews*

*Clinical Oncology*, 10, 267-276 (2013); Wang *et al.*, *J. Immunother.* 35 (9):689-701 (2012); e Brentjens *et al.*, *Sci Transl Med.* 5 (177) (2013). Veja, também WO2014031687, US8.339.645, US7.446.179, US 2013/0149337, Patente Dos Estados Unidos nº 7.446.190 e Patente Dos Estados Unidos nº 8.389.282. Os receptores quiméricos, tal como CARs, geralmente incluem um domínio de ligação ao antígeno extracelular, como uma porção de uma molécula de anticorpo, geralmente uma região variável de cadeia pesada (VH) e/ou região variável de cadeia leve (VL) do anticorpo, por exemplo, um fragmento de anticorpo scFv.

[00373] Em algumas modalidades, o CAR é construído com uma especificidade para um antígeno específico (ou marcador ou ligante), tal como um antígeno expresso em um tipo de célula específico a ser alvo de terapia adotiva, por exemplo, um marcador de câncer e/ou um antígeno destinado a induzir uma resposta de amortecimento, tal como um antígeno expresso em um tipo de célula normal ou não doente. Desse modo, o CAR inclui tipicamente em sua porção extracelular uma ou mais moléculas de ligação ao antígeno, tal como um ou mais fragmento, domínio ou porção de ligação ao antígeno, ou um ou mais domínios variáveis de anticorpo e/ou moléculas de anticorpo. Em algumas modalidades, o CAR inclui uma porção ou partes de ligação ao antígeno de uma molécula de anticorpo, tal como um fragmento de anticorpo de cadeia única (scFv) derivado das cadeias variável pesada (VH) e variável leve (VL) de um anticorpo monoclonal (mAb) ou um anticorpo de domínio único (sdAb), tal como sdFv, nanocorpo, VHH e VNAR. Em algumas modalidades, um fragmento de ligação ao antígeno compreende regiões variáveis do anticorpo ligadas por um ligante flexível.

[00374] Entre os domínios de ligação ao antígeno incluídos nos CARs estão fragmentos de anticorpos. Um "fragmento de anticorpo"

ou "fragmento de ligação ao antígeno" refere-se a uma molécula que não é um anticorpo intacto que compreende uma porção de um anticorpo intacto que liga o antígeno ao qual o anticorpo intacto se liga. Exemplos de fragmentos de anticorpo incluem, porém não estão limitados a, Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')<sub>2</sub>; diacorpos; anticorpos lineares; regiões variáveis de cadeia pesada ( $v_H$ ), moléculas de anticorpo de cadeia única, como scFvs e anticorpos de domínio único, compreendendo apenas a região  $V_H$ ; e anticorpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticorpo. Em modalidades particulares, os anticorpos são fragmentos de anticorpo de cadeia única compreendendo uma região variável da cadeia pesada ( $v_H$ ) e/ou uma região variável da cadeia leve ( $v_L$ ), como scFvs.

[00375] Em certas modalidades, moléculas de ligação multiespecíficas, por exemplo, receptores quiméricos multiespecíficos, como CARs multiespecíficos, podem conter qualquer um dos anticorpos multiespecíficos, incluindo, por exemplo, anticorpos biespecíficos, anticorpos multiespecíficos de cadeia única, por exemplo, diacorpos, triacorpos e tetracorpos, di-scFvs em *tandem* e tri-scFvs em *tandem*.

[00376] Anticorpos de domínio único (sdAbs) são fragmentos de anticorpos que compreendem toda ou uma porção da região variável da cadeia pesada ou toda ou uma porção da região variável da cadeia leve de um anticorpo. Em certas modalidades, um anticorpo de domínio único é um anticorpo de domínio único humano.

[00377] Os fragmentos de anticorpos podem ser produzidos por várias técnicas, incluindo, entre outras, a digestão proteolítica de um anticorpo intacto, bem como a produção por células hospedeiras recombinantes. Em algumas modalidades, os anticorpos são fragmentos produzidos de forma recombinante, tais como fragmentos compreendendo arranjos que não ocorrem naturalmente, tal como aqueles com duas ou mais regiões ou cadeias de anticorpos ligadas por ligantes



sintéticos, por exemplo, ligantes peptídicos e/ou que podem não ser produzido pela digestão enzimática de um anticorpo intacto de ocorrência natural. Em alguns aspectos, os fragmentos de anticorpo são scFvs.

[00378] Em algumas modalidades, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno é um fragmento de anticorpo de cadeia única, como um fragmento variável de cadeia única (scFv) ou um diabody ou um anticorpo de domínio único (sdAb). Em algumas modalidades, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno é um anticorpo de domínio único que compreende apenas a região  $V_H$ . Em algumas modalidades, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno é um scFv compreendendo uma região variável da cadeia pesada ( $v_H$ ) e uma região variável da cadeia leve ( $v_L$ ).

[00379] Em algumas modalidades, o antígeno direcionado pelo receptor é um polipeptídeo. Em algumas modalidades, é um carboidrato ou outra molécula. Em algumas modalidades, o antígeno é seletivamente expresso ou superexpressado nas células da doença ou condição, por exemplo, tumor ou células patogênicas, em comparação com células ou tecidos normais ou não alvejados. Em outras modalidades, o antígeno é expresso nas células normais e/ou é expresso nas células modificadas.

[00380] Em certas modalidades, o antígeno ou inclui  $\alpha v\beta 6$  integrina (avb6 integrina), antígeno de maturação de célula B (BCMA), B7-H3, B7-H6, anidrase carbônica 9 (CA9, também conhecido como CAIX ou G250), um antígeno de câncer-testículo, antígeno de câncer/testículo 1B (CTAG, também conhecido como NY-ESO-1 e LAGE-2), antígeno carcinoembrionário (CEA), uma ciclina, ciclina A2, ligante de quimiocina de C-C *Motivo 1* (CCL-1), CD19, CD20, CD22, CD23, CD24, CD30, CD33, CD38, CD44, CD44v6, CD44v7/8, CD123, CD133, CD138, CD171, proteoglicano de sulfato de condroitina 4 (CSPG4), proteína

de fator de crescimento epidérmico (EGFR), proteína truncada de fator de crescimento epidérmico (tEGFR), mutação de receptor de crescimento epidérmico do tipo III (EGFR VIII), glicoproteína epitelial 2 (EPG-2), glicoproteína epitelial 40 (EPG-40), efrinaB2, receptor de efrina A2 (EPHa2), receptor de estrogênio, receptor de Fc tipo 5 (FCRL5; também conhecido como homólogo de receptor de Fc 5 ou FCRH5), receptor de acetilcolina fetal (fetal AchR), a proteína de ligação ao folato (FBP), receptor alfa de folato, gangliosídeo GD2, GD2 O-acetilado (OGD2), gangliosídeo GD3, glicoproteína 100 (gp100), glipican-3 (GPC3), receptor acoplado à proteína G 5D (GPCR5D), Her2/neu (tirosina cinase receptora erb-B2), Her3 (erb-B3), Her4 (erb-B4), dímeros de erbB, antígeno associado com melanoma de alto peso molecular humano (HMW-MAA), antígeno de superfície de hepatite B, antígeno de leucócito humano A1 (HLA-A1), antígeno de leucócito humano A2 (HLA-A2), receptor alfa de IL-22 (IL-22R $\alpha$ ), receptor alfa de IL-13 2 (IL-13R $\alpha$ 2), receptor de domínio de inserção de cinase (kdr), cadeia kappa leve, molécula de adesão de célula L1 (L1-CAM), epítipo de CE7 de L1-CAM, Repetição rica em leucina cotendo 8 membros de família A (LRRRC8A), Lewis Y, antígeno associado com melanoma (MAGE)-A1, MAGE-A3, MAGE-A6, MAGE-A10, mesotelina (MSLN), c-Met, citomegalovírus de murino (CMV), mucina 1 (MUC1), MUC16, ligantes de membro D de grupo exterminador natural (NKG2D), melan A (MART-1), molécula de adesão de célula neural (NCAM), antígeno oncofetal, Antígeno preferencialmente expresso de melanoma (PRAME), receptor de progesterona, um antígeno específico de próstata, antígeno de célula tronco de próstata (PSCA), antígeno de membrana específico de próstata (PSMA), Tirosina cinase receptora semelhante ao receptor órfão 1 (ROR1), survivina, Glicoproteína de trofoblasto (TPBG também conhecido como 5T4), glicoproteína associada ao tumor 72 (TAG72), proteína relacionada à tirosinase 1 (TRP1, também conhecido como

TYRP1 ou gp75), proteína relacionada à tirosinase 2 (TRP2, também conhecido como dopacrome tautomerase, dopacrome delta-isomerase ou DCT), receptor de fator de crescimento endotelial vascular (VEGFR), receptor de fator de crescimento endotelial vascular 2 (VEGFR2), Tumor de Wilms 1 (WT-1), um antígeno específico de patógeno ou antígeno expresso por patógeno, ou um antígeno associado com um rótulo universal, e/ou moléculas biotiniladas, e/ou moléculas expressas por HIV, HCV, HBV ou outros patógenos. Antígenos alvejados pelos receptores em algumas modalidades incluem antígenos associados com uma malignidade de célula B, tal como qualquer um dos diversos marcadores de célula B conhecidos. Em algumas modalidades, o antígeno é ou inclui CD20, CD19, CD22, ROR1, CD45, CD21, CD5, CD33, Igkappa, Iglambda, CD79a, CD79b ou CD30.

[00381] Em algumas modalidades, o antígeno é ou inclui um antígeno específico de patógeno ou antígeno expresso por patógeno. Em algumas modalidades, o antígeno é um antígeno viral (tal como um antígeno viral de HIV, HCV, HBV, etc.), antígenos bacterianos, e/ou antígenos parasíticos.

[00382] Em algumas modalidades, o CAR é um CAR anti-BCMA que é específico para BCMA, por exemplo, BCMA humano. Receptores de antígeno quiméricos contendo anticorpos anti-BCMA, incluindo anticorpos de BCMA anti-humano de camundongo e anticorpos de BCMA anti-humano humanos, e células expressando tais receptores quiméricos foram anteriormente descritas. Veja, Carpenter *et al.*, Clin cancer Res., 2013, 19(8):2048-2060, US 9.765.342, WO 2016/090320, WO2016090327, WO2010104949A2, WO2016/0046724, WO2016/014789, WO2016/094304, WO2017/025038, e WO2017173256. Em algumas modalidades, o CAR anti-BCMA contém um domínio de ligação ao antígeno, tal como um scFv, contendo uma região variável pesada (V<sub>H</sub>) e/ou variável leve (V<sub>L</sub>) derivada de um anticorpo descrito no

WO 2016/090320 ou WO2016090327. Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno é um fragmento de anticorpo contendo uma região de cadeia pesada variável ( $V_H$ ) e cadeia leve variável ( $V_L$ ). Em alguns aspectos, a região  $V_H$  é ou inclui uma sequência de aminoácido tendo pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% de identidade de sequência à sequência de aminoácido de região  $V_H$  mencionada em qualquer uma das SEQ ID NOs: 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 181, 183, 185 e 188; e/ou a região  $V_L$  é ou inclui uma sequência de aminoácido tendo pelo menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, ou 99% de identidade de sequência à sequência de aminoácido de região  $V_L$  mencionada em qualquer uma das SEQ ID NOs: 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 182, 184, 186 e 189.

[00383] Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno, tal como um scFv, contém uma  $V_H$  mencionada na SEQ ID NO: 30 e uma  $V_L$  mencionada na SEQ ID NO:31. Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno, tal como um scFv, contém uma  $V_H$  mencionada na SEQ ID NO: 32 e uma  $V_L$  mencionada na SEQ ID NO:33. Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno, tal como um scFv, contém uma  $V_H$  mencionada na SEQ ID NO: 34 e uma  $V_L$  mencionada na SEQ ID NO: 35. Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno, tal como um scFv, contém uma  $V_H$  mencionada na SEQ ID NO: 36 e uma  $V_L$  mencionada na SEQ ID NO:37. Em algumas modalidade, o domínio de ligação ao antígeno, tal como um scFv, contém uma  $V_H$  mencionada na SEQ ID NO: 38 e uma  $V_L$  mencionada na SEQ ID NO: 39. Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno, tal como um scFv, contém uma  $V_H$  mencionada na SEQ ID NO: 40 e uma  $V_L$  mencionada na SEQ ID NO: 41.

Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno, tal como um scFv, contém uma  $V_H$  mencionada na SEQ ID NO: 42 e uma  $V_L$  mencionada na SEQ ID NO: 43. Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno, tal como um scFv, contém uma  $V_H$  mencionada na SEQ ID NO: 77 e uma  $V_L$  mencionada na SEQ ID NO: 78. Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno, tal como um scFv, contém uma  $V_H$  mencionada na SEQ ID NO: 79 e uma  $V_L$  mencionada na SEQ ID NO: 80. Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno, tal como um scFv, contém uma  $V_H$  mencionada na SEQ ID NO: 81 e uma  $V_L$  mencionada na SEQ ID NO: 82. Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno, tal como um scFv, contém uma  $V_H$  mencionada na SEQ ID NO: 83 e uma  $V_L$  mencionada na SEQ ID NO: 84. Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno, tal como um scFv, contém uma  $V_H$  mencionada na SEQ ID NO: 85 e uma  $V_L$  mencionada na SEQ ID NO: 86. Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno, tal como um scFv, contém uma  $V_H$  mencionada na SEQ ID NO: 87 e uma  $V_L$  mencionada na SEQ ID NO: 88. Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno, tal como um scFv, contém uma  $V_H$  mencionada na SEQ ID NO: 89 e uma  $V_L$  mencionada na SEQ ID NO: 90. Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno, tal como um scFv, contém uma  $V_H$  mencionada na SEQ ID NO: 91 e uma  $V_L$  mencionada na SEQ ID NO: 92. Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno, tal como um scFv, contém uma  $V_H$  mencionada na SEQ ID NO: 93 e uma  $V_L$  mencionada na SEQ ID NO: 94. Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno, tal como um scFv, contém uma  $V_H$  mencionada na SEQ ID NO: 95 e uma  $V_L$  mencionada na SEQ ID NO: 96. Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno, tal como um scFv, contém uma  $V_H$  mencionada na SEQ ID NO: 97 e uma  $V_L$  mencionada na SEQ ID NO: 98. Em al-

gumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno, tal como um scFv, contém uma  $V_H$  mencionada na SEQ ID NO: 99 e uma  $V_L$  mencionada na SEQ ID NO: 100. Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno, tal como um scFv, contém uma  $V_H$  mencionada na SEQ ID NO: 101 e uma  $V_L$  mencionada na SEQ ID NO: 102. Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno, tal como um scFv, contém uma  $V_H$  mencionada na SEQ ID NO: 103 e uma  $V_L$  mencionada na SEQ ID NO: 104. Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno, tal como um scFv, contém uma  $V_H$  mencionada na SEQ ID NO: 105 e uma  $V_L$  mencionada na SEQ ID NO: 106. Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno, tal como um scFv, contém uma  $V_H$  mencionada na SEQ ID NO: 107 e uma  $V_L$  mencionada na SEQ ID NO: 106. Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno, tal como um scFv, contém uma  $V_H$  mencionada na SEQ ID NO: 30 e uma  $V_L$  mencionada na SEQ ID NO: 108. Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno, tal como um scFv, contém uma  $V_H$  mencionada na SEQ ID NO: 109 e uma  $V_L$  mencionada na SEQ ID NO: 110. Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno, tal como um scFv, contém uma  $V_H$  mencionada na SEQ ID NO: 111 e uma  $V_L$  mencionada na SEQ ID NO: 112. Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno, tal como um scFv, contém uma  $V_H$  mencionada na SEQ ID NO: 181 e uma  $V_L$  mencionada na SEQ ID NO: 182. Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno, tal como um scFv, contém uma  $V_H$  mencionada na SEQ ID NO: 183 e uma  $V_L$  mencionada na SEQ ID NO: 184. Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno, tal como um scFv, contém uma  $V_H$  mencionada na SEQ ID NO: 185 e uma  $V_L$  mencionada na SEQ ID NO: 186. Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno, tal como um scFv, contém uma  $V_H$  mencionada na SEQ ID NO: 187 e uma  $V_L$  mencionada na SEQ ID NO: 188. Em

algumas modalidades, a  $V_H$  ou  $V_L$  tem uma sequência de aminoácidos que exibe pelo menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou mais de identidade de sequência a qualquer uma das sequências de  $V_H$  ou  $V_L$  anteriores, e mantém ligação ao BCMA. Em algumas modalidades, a região  $V_H$  é amino-terminal à região  $V_L$ . Em algumas modalidades, a região  $V_H$  é carbóxi-terminal à região  $V_L$ . Em algumas modalidades, as cadeias variáveis pesadas e variáveis leves são conectadas por um. Em algumas modalidades, o ligador é mencionado na SEQ ID NO: 70, 72, 73, 74 ou 189.

[00384] Em algumas modalidades, o CAR é um CAR anti-CD19 que é específico para CD19, por exemplo, CD19 humano. Em algumas modalidades, o domínio de ligação ao antígeno inclui uma  $V_H$  e/ou  $V_L$  derivada de FMC63, que, em alguns aspectos, pode ser um scFv. Em algumas modalidades, os domínios de scFv e/ou  $V_H$  são derivados de FMC63. FMC63 geralmente refere-se a um anticorpo de IgG1 monoclonal de camundongo elevado contra células Nalm-1 e -16 expressando CD19 de origem humana (Ling, N. R., *et al.* (1987). *Leucocyte typing III*. 302). O anticorpo de FMC63 compreende CDRH1 e H2 mencionado na SEQ ID NOS: 44, 45 respectivamente, e CDRH3 mencionado na SEQ ID NOS: 46 ou 47 e CDRL1 mencionado na SEQ ID NOS: 48 e CDR L2 mencionado na SEQ ID NO: 49 ou 50 e sequências de CDR L3 mencionadas na SEQ ID NO: 51 ou 52. O anticorpo de FMC63 compreende a região variável de cadeia pesada ( $V_H$ ) compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 53 e a região variável de cadeia leve ( $V_L$ ) compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 54. Em algumas modalidades, o svFv compreende cadeia leve variável contendo a sequência de CDRL1 de SEQ ID NO:48, uma sequência de CDRL2 de SEQ ID NO:49, e uma sequência de CDRL3 de SEQ ID NO:51 e/ou a de cadeia pesada variável con-

tendo uma sequência de CDRH1 de SEQ ID NO:44, uma sequência de CDRH2 de SEQ ID NO:45, e uma sequência de CDRH3 de SEQ ID NO:46. Em algumas modalidades, o scFv compreende a região de cadeia pesada variável de FMC63 mencionada na SEQ ID NO:53 e região de cadeia leve variável de FMC63 mencionada na SEQ ID NO:54. Em algumas modalidades, as cadeias variáveis pesadas e variáveis leves são conectadas por um ligador. Em algumas modalidades, o ligador é mencionado na SEQ ID NO: 70, 72, 73, 74 ou 189. Em algumas modalidades, o scFv compreende, em ordem, uma  $V_H$ , um ligador, e uma  $V_L$ . Em algumas modalidades, o scFv compreende, em ordem, a  $V_L$ , um ligador, e uma  $V_H$ . Em algumas modalidades, o svFv é codificado por uma sequência de nucleotídeos mencionada na SEQ ID NO:69 ou uma sequência que exibe pelo menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, ou 99% de identidade de sequência à SEQ ID NO:69. Em algumas modalidades, o scFv compreende a sequência de aminoácidos mencionada na SEQ ID NO:55 ou uma sequência que exibe pelo menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, ou 99% de identidade de sequência à SEQ ID NO:55.

[00385] Em algumas modalidades o domínio de ligação ao antígeno inclui uma  $V_H$  e/ou  $V_L$  derivada de SJ25C1, que, em alguns aspectos, pode ser um scFv. SJ25C1 é um anticorpo IgG1 monoclonal de camundongo gerado contra células Nalm-1 e -16 expressando CD19 de origem humana (Ling, N. R., *et al.* (1987). *Leucocyte typing III*. 302). O anticorpo de SJ25C1 compreende sequências de CDRH1, H2 e H3 mencionadas na SEQ ID NOS: 59-61, respectivamente, e CDRL1, L2 e L3 mencionadas na SEQ ID NOS: 56-58, respectivamente. O anticorpo de SJ25C1 compreende a região variável de cadeia pesada ( $V_H$ ) compreendendo a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 62 e a região variável de cadeia leve ( $V_L$ ) compreendendo a sequência de



aminoácido de SEQ ID NO: 63. Em algumas modalidades, o svFv compreende cadeia leve variável contendo a sequência de CDRL1 de SEQ ID NO:56, uma sequência de CDRL2 de SEQ ID NO: 57, e uma sequência de CDRL3 de SEQ ID NO:58 e/ou a de cadeia pesada variável contendo uma sequência de CDRH1 de SEQ ID NO:59, uma sequência de CDRH2 de SEQ ID NO:60, e uma sequência de CDRH3 de SEQ ID NO:61. Em algumas modalidades, o scFv compreende a região de cadeia pesada variável de SJ25C1 mencionada na SEQ ID NO:62 e região de cadeia leve variável de SJ25C1 mencionada na SEQ ID NO:63. Em algumas modalidades, a cadeia pesada variável e cadeia leve variável são conectadas por um ligador. Em algumas modalidades, o ligador é mencionado na SEQ ID NO:64. Em algumas modalidades, o scFv compreende, em ordem, uma  $V_H$ , um ligador, e uma  $V_L$ . Em algumas modalidades, o scFv compreende, em ordem, uma  $V_L$ , um ligador, e uma  $V_H$ . Em algumas modalidades, o scFv compreende a sequência de aminoácidos mencionada na SEQ ID NO:65 ou uma sequência que exibe pelo menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, ou 99% de identidade de sequência à SEQ ID NO:65.

[00386] Em algumas modalidades, o anticorpo é um fragmento de ligação a antígeno, como um scFv, que inclui um ou mais ligantes que unem dois domínios ou regiões de anticorpo, como uma região variável de cadeia pesada ( $V_H$ ) e uma variável de cadeia leve ( $V_L$ ). Por conseguinte, os anticorpos incluem fragmentos de anticorpo de cadeia única, como scFvs e diacorpos, particularmente fragmentos de anticorpo de cadeia única humana, tipicamente compreendendo ligantes que ligam dois domínios ou regiões de anticorpo, tais como regiões  $V_H$  e  $V_L$ . O ligante é tipicamente um ligante peptídico, por exemplo, um ligante peptídico flexível e/ou solúvel, tal como aquele rico em glicina e serina. Entre os ligantes estão aqueles ricos em glicina e serina e/ou

em alguns casos treonina. Em algumas modalidades, os ligantes incluem também resíduos carregados, tal como lisina e/ou glutamato, que podem melhorar a solubilidade. Em algumas modalidades, os ligantes incluem também um ou mais prolinas.

[00387] Em alguns aspectos, os ligantes ricos em glicina e serina (e/ou treonina) incluem pelo menos 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% de tais aminoácidos. Em algumas modalidades, eles incluem pelo menos cerca de 50%, 55%, 60%, 70% ou 75% de glicina, serina e/ou treonina. Em algumas modalidades, o ligante é composto substancialmente inteiramente de glicina, serina e/ou treonina. Os ligantes geralmente têm entre cerca de 5 e cerca de 50 aminoácidos em comprimento, tipicamente entre aproximadamente 10 e aproximadamente 30, por exemplo, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 ou 30 e em alguns exemplos entre 10 e 25 aminoácidos em comprimento. Ligantes exemplares incluem ligantes com vários números de repetições da sequência GGGGS (4GS; SEQ ID NO:19) ou GGGS (3GS; SEQ ID NO:71), tal como entre 2, 3, 4 e 5 repetições desta sequência. Os ligantes exemplares incluem aqueles que possuem ou consistem em uma sequência mencionada na SEQ ID NO:72 (GGGGSGGGSGGGGS), SEQ ID NO:189 (ASGGGGSGGRASGGGS), SEQ ID NO:73 (GSTSGSGKPGSGEGSTKG) ou SEQ ID NO: 74 (SRGGGGSGGGSGGGGSLEMA).

[00388] Em algumas modalidades, o receptor recombinante, tal como o CAR, como a porção de anticorpo do receptor recombinante, por exemplo, CAR, inclui também um espaçador, que pode ser ou incluir pelo menos uma porção de uma região ou variante constante de imunoglobulina ou a versão modificada da mesma, tal como uma região de dobradiça, por exemplo, uma região de dobradiça de IgG4, uma região de dobradiça de IgG1, uma região de CH1/CL e/ou Fc. Em al-

gumas modalidades, o receptor recombinante compreende também um espaçador e/ou uma região de dobradiça. Em algumas modalidades, a região ou porção constante é de uma IgG humana, tal como IgG4 ou IgG1. Em alguns aspectos, a porção da região constante serve como uma região espaçadora entre o componente de reconhecimento de antígeno, por exemplo, scFv e domínio de transmembrana. O espaçador pode ter um comprimento que proporciona maior capacidade de resposta da célula após a ligação ao antígeno, em comparação com a ausência do espaçador.

[00389] Espaçadores exemplares, por exemplo, regiões de dobradiça, incluem aqueles descritos na publicação de pedido de patente internacional número WO2014031687. Em alguns exemplos, o espaçador tem ou tem cerca de 12 aminoácidos em comprimento ou não tem mais do que 12 aminoácidos em comprimento. Espaçadores exemplares incluem aqueles com pelo menos cerca de 10 a 229 aminoácidos, cerca de 10 a 200 aminoácidos, cerca de 10 a 175 aminoácidos, cerca de 10 a 150 aminoácidos, cerca de 10 a 125 aminoácidos, cerca de 10 a 125 aminoácidos, cerca de 10 a 100 aminoácidos, cerca de 10 a 75 aminoácidos, cerca de 10 a 50 aminoácidos, cerca de 10 a 40 aminoácidos, cerca de 10 a 30 aminoácidos, cerca de 10 a 20 aminoácidos ou cerca de 10 a 15 aminoácidos, e incluindo qualquer número inteiro entre os pontos finais de qualquer uma das faixas listadas. Em algumas modalidades, uma região espaçadora tem cerca de 12 aminoácidos ou menos, cerca de 119 aminoácidos ou menos, ou cerca de 229 aminoácidos ou menos. Em algumas modalidades, o espaçador é um espaçador com pelo menos um comprimento específico, tal como um comprimento que é de pelo menos 100 aminoácidos, tal como pelo menos 110, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240 ou 250 aminoácidos em comprimento. Espaçadores exemplares incluem dobradiça de IgG4 sozinha, dobradiça de IgG4 ligada

aos domínios C<sub>H2</sub> e C<sub>H3</sub> ou dobradiça de IgG4 ligada ao domínio C<sub>H3</sub>. Espaçadores exemplares incluem dobradiça de IgG4 sozinha, dobradiça de IgG4 ligada aos domínios C<sub>H2</sub> e C<sub>H3</sub> ou dobradiça de IgG4 vinculada ao domínio C<sub>H3</sub>. Espaçadores exemplares incluem, porém não estão limitados aos descritos em Hudecek *et al.*, *Clin. Cancer Res.*, 19:3153 (2013), Hudecek *et al.* (2015) *Cancer Immunol Res.* 3 (2):125–135, Publicação de Pedido de Patente Internacional nº WO2014031687, Patente dos Estados Unidos 8.822.647 ou Pedido Publicado US2014/0271635. Em algumas modalidades, o espaçador inclui uma sequência de uma região dobradiça de imunoglobulina, uma região C<sub>H2</sub> e C<sub>H3</sub>. Em algumas modalidades, uma das mais dobradiças C<sub>H2</sub> e C<sub>H3</sub> é derivada total ou parcialmente de IgG4 ou IgG2. Em alguns casos, a dobradiça C<sub>H2</sub> e C<sub>H3</sub> é derivada de IgG4. Em alguns aspectos, uma ou mais das dobradiças C<sub>H2</sub> e C<sub>H3</sub> são quiméricas e contêm sequência derivada de IgG4 e IgG2. Em alguns exemplos, o espaçador contém uma dobradiça quimérica de IgG4/2, uma região de IgG2/4 C<sub>H2</sub> e uma de IgG4 C<sub>H3</sub>.

[00390] Em algumas modalidades, o espaçador, que pode ser uma região ou porção constante de uma imunoglobulina, é de uma IgG humana, tal como IgG4 ou IgG1. Em algumas modalidades, o espaçador tem a sequência ESKYGPPCPPCP (mencionada na SEQ ID NO:1). Em algumas modalidades, o espaçador tem a sequência mencionada na SEQ ID NO:3. Em algumas modalidades, o espaçador tem a sequência mencionada na SEQ ID NO:4. Em algumas modalidades, o espaçador codificado é ou contém a sequência mencionada na SEQ ID NO:29. Em algumas modalidades, a região ou porção constante é de IgD. Em algumas modalidades, o espaçador tem a sequência mencionada na SEQ ID NO:5. Em algumas modalidades, o espaçador tem a sequência mencionada na SEQ ID NO:125.

[00391] Em algumas modalidades, o espaçador pode ser derivado

total ou parcialmente de IgG4 e/ou IgG2 e pode conter mutações, tal como uma ou mais mutações de aminoácidos isoladas em um ou mais domínios. Em alguns exemplos, a modificação de aminoácidos é uma substituição de uma prolina (P) por uma serina (S) na região de dobradiça de uma IgG4. Em algumas modalidades, a modificação de aminoácidos é uma substituição de uma asparagina (N) por uma glutamina (Q) para reduzir a heterogeneidade da glicosilação, como uma mutação N177Q na posição 177, na região C<sub>H</sub>2, da sequência IgG4 Fc completa ou um N176Q na posição 176, na região C<sub>H</sub>2, da sequência completa de IgG4 Fc.

[00392] Outras regiões espaçadoras exemplares incluem regiões charneiras derivadas de CD8a, CD28, CTLA4, PD-1 ou FcγRIIIa. Em algumas modalidades, o espaçador contém um domínio extracelular truncado ou região de dobradiça de um CD8a, CD28, CTLA4, PD-1 ou FcγRIIIa. Em algumas modalidades, o espaçador é uma região de dobradiça CD28 truncada. Em algumas modalidades, um ligante oligo- ou polipeptídico curto, por exemplo, um ligante de 2 a 10 aminoácidos em comprimento, tal como aquele que contém alaninas ou alanina e arginina, por exemplo, triplo de alanina (AAA) ou RAAA (SEQ ID NO:180), está presente e forma uma ligação entre o scFv e a região espaçadora do CAR. Em algumas modalidades, o espaçador tem a sequência mencionada na SEQ ID NO:114. Em algumas modalidades, o espaçador tem a sequência mencionada na SEQ ID NO:116. Em algumas modalidades, o espaçador tem a sequência mencionada em qualquer um dos SEQ ID NOs:117-119. Em algumas modalidades, o espaçador tem a sequência mencionada na SEQ ID NO:120. Em algumas modalidades, o espaçador tem a sequência mencionada na SEQ ID NO:122. Em algumas modalidades, o espaçador tem a sequência mencionada na SEQ ID NO:124.

[00393] Em algumas modalidades, o espaçador tem uma sequência

de aminoácidos que exibe pelo menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95 %, 96%, 97%, 98%, 99% ou mais de identidade de sequência a qualquer uma das SEQ ID NOS:1, 3, 4, 5 ou 29, 114, 116, 117, 118, 119, 120, 122, 124, ou 125.

[00394] Este domínio de reconhecimento de antígeno geralmente está ligado a um ou mais componentes de sinalização intracelular, como componentes de sinalização que imitam a estimulação e/ou ativação por meio de um complexo receptor de antígeno, como um complexo TCR, no caso de um CAR e/ou sinal através de outro receptor da superfície celular. Desse modo, em algumas modalidades, o componente de ligação ao antígeno (por exemplo, anticorpo) está ligado a um ou mais domínios de sinalização transmembranar e intracelular. Em algumas modalidades, o domínio de transmembrana é fundido ao domínio extracelular. Em uma modalidade, é usado um domínio de transmembrana que naturalmente está associado a um dos domínios no receptor, por exemplo, CAR. Em alguns casos, o domínio de transmembrana é selecionado ou modificado por substituição de aminoácidos para evitar a ligação de tais domínios aos domínios de transmembrana das proteínas da membrana de superfície iguais ou diferentes para minimizar as interações com outros membros do complexo receptor.

[00395] O domínio de transmembrana em algumas modalidades é derivado de uma fonte natural ou de uma fonte sintética. Onde a fonte é natural, em alguns aspectos, o domínio é derivado de qualquer proteína ligada à membrana ou transmembrana. As regiões transmembranares incluem aquelas derivadas (ou seja, compreendem pelo menos as regiões transmembranares) da cadeia alfa, beta ou zeta do receptor de células T, CD28, CD3 epsilon, CD45, CD4, CD5, CD8, CD8a, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD 134, CD137 (4-1BB), CD154, CTLA-4 ou PD-1. Alternativamente, o domínio

de transmembrana em algumas modalidades é sintético. Em alguns aspectos, o domínio de transmembrana sintético compreende resíduos predominantemente hidrofóbicos, tais como leucina e valina. Em alguns aspectos, um triplete de fenilalanina, triptofano e valina será encontrado em cada extremidade de um domínio de transmembrana sintético. Em algumas modalidades, a ligação é por ligantes, espaçadores e/ou domínios de transmembrana. Sequências exemplares de domínios de transmembrana são ou compreendem as sequências mencionadas nas SEQ ID NOs:8, 115, 121, 123, 178, ou 179.

[00396] Entre os domínios de sinalização intracelular estão aqueles que imitam ou se aproximam de um sinal através de um receptor de antígeno natural, um sinal através deste receptor em combinação com um receptor coestimulatório e/ou um sinal através de um receptor coestimulatório sozinho. Em algumas modalidades, um ligante oligo- ou polipeptídico curto, por exemplo, um ligante de 2 a 10 aminoácidos em comprimento, tal como um contendo glicina e serina, por exemplo, duplete de glicina-serina, está presente e forma uma ligação entre o domínio de transmembrana e de domínio citoplasmático de sinalização do CAR.

[00397] O receptor, por exemplo, o CAR, geralmente inclui pelo menos um componente ou componentes de sinalização intracelular. Em algumas modalidades, o receptor inclui um componente intracelular de um complexo TCR, tal como uma cadeia CDR CD3 que medeia a estimulação de células T e/ou ativação e citotoxicidade, por exemplo, cadeia zeta CD3. Desse modo, em alguns aspectos, a porção de ligação ao antígeno está ligada a um ou mais módulos de sinalização celular. Em algumas modalidades, os módulos de sinalização celular incluem o domínio de transmembrana CD3, domínios de sinalização intracelular CD3 e/ou outros domínios de transmembrana de CD. Em algumas modalidades, o receptor, por exemplo, CAR, inclui também

uma porção de uma ou mais moléculas adicionais, tais como o receptor Fcγ, CD8, CD4, CD25 ou CD16. Por exemplo, em alguns aspectos, o CAR ou outro receptor quimérico inclui uma molécula quimérica entre CD3-zeta (CD3-ζ) ou receptor Fcγ e CD8, CD4, CD25 ou CD16.

[00398] Em algumas modalidades, na ligação do CAR ou outro receptor quimérico, o domínio citoplasmático ou o domínio de sinalização intracelular do receptor estimula e/ou ativa pelo menos uma das funções ou respostas efetoras normais da célula imune, por exemplo, T célula modificada para expressar o CAR. Por exemplo, em alguns contextos, o CAR induz uma função de uma célula T, como atividade citolítica ou atividade auxiliar de T, tal como secreção de citocinas ou outros fatores. Em algumas modalidades, uma porção truncada de um domínio de sinalização intracelular de um componente receptor de antígeno ou molécula coestimulatória é usada no lugar de uma cadeia imunoestimuladora intacta, por exemplo, se ela transduz o sinal da função efetora. Em algumas modalidades, o domínio ou domínios de sinalização intracelular incluem as sequências citoplasmáticas do receptor de células T (TCR) e, em alguns aspectos, também aqueles de correceptores que no contexto natural agem em conjunto com estes receptores para iniciar a transdução de sinal após o antígeno envolvimento do receptor e/ou qualquer derivado ou variante de tais moléculas e/ou qualquer sequência sintética que tenha a mesma capacidade funcional.

[00399] No contexto de um TCR natural, a ativação completa geralmente requer não apenas sinalização através do TCR, porém também um sinal coestimulatório. Desse modo, em algumas modalidades, para promover a ativação completa, um componente para gerar sinal secundário ou coestimulador também é incluído no CAR. Em outras modalidades, o CAR não inclui um componente para gerar um sinal coestimulatório. Em alguns aspectos, um CAR adicional é expresso na



mesma célula e fornece o componente para gerar o sinal secundário ou coestimulatório.

[00400] A estimulação e/ou ativação de células T é, em alguns aspectos, descrita como sendo mediada por duas classes de sequências de sinalização citoplasmáticas: aquelas que iniciam a estimulação primária dependente de antígeno e/ou ativação através do TCR (regiões, domínios ou sequências primárias de sinalização citoplasmática)) e aquelas que agem de maneira independente do antígeno para fornecer um sinal secundário ou coestimulatório (regiões, domínios ou sequências de sinalização citoplasmática secundárias). Em alguns aspectos, o CAR inclui um ou ambos os componentes de sinalização.

[00401] Em alguns aspectos, o CAR inclui regiões primárias de sinalização citoplasmática, domínios ou sequência que regula a ativação primária do complexo TCR. As regiões de sinalização citoplasmática primárias, domínios ou sequências que atuam de maneira estimulatória podem conter motivos de sinalização que são conhecidos como motivos de ativação à base de tirosina imunorreceptora ou ITAMs. Exemplos de ITAM contendo sequências de sinalização citoplasmáticas primárias incluem aquelas derivadas de TCR zeta, FcR gama, FcR beta, CD3 gama, CD3 delta, CD3 epsilon, CD8, CD22, CD79a, CD79b e CD66d. Em algumas modalidades, a(s) molécula(s) de sinalização citoplasmática no CAR contém um domínio de sinalização citoplasmático, uma porção do mesmo ou uma sequência derivada do CD3 zeta. Em algumas modalidades, o CAR inclui uma região de sinalização e/ou porção transmembranar de um receptor coestimulatório, como CD28, 4-1BB, OX40 (CD134), CD27, DAP10, DAP12, ICOS e/ou outros receptores coestimulatórios. Em alguns aspectos, o mesmo CAR inclui a região de sinalização citoplasmática primária e os componentes de sinalização coestimulatórios.

[00402] Em algumas modalidades, um ou mais receptores recombi-

nantes diferentes podem conter uma ou mais diferentes regiões ou domínios de sinalização intracelular. Em algumas modalidades, a região de sinalização citoplasmática primária é incluída dentro de um CAR, enquanto o componente coestimulatório é fornecido por outro receptor, por exemplo, outro CAR reconhecendo outro antígeno. Em algumas modalidades, os CARs incluem CARs ativadores ou estimuladores e CARs coestimulatórios, ambos expressos na mesma célula (veja, WO2014/055668).

[00403] Em alguns aspectos, as células incluem um ou mais CARs estimuladores ou ativadores e/ou um CAR estimulador. Em algumas modalidades, as células incluem também CARs inibitórios (iCARs, consulte Fedorov *et al.*, *Sci. Transl. Medicine*, 5 (215) (2013), tal como um CAR que reconhece um antígeno diferente daquele associado a e/ou específico para a doença ou condição pela qual um sinal de ativação liberado através do CAR alvo da doença é diminuído ou inibido pela ligação do CAR inibidor ao seu ligante, por exemplo, para reduzir os efeitos fora do alvo.

[00404] Em certas modalidades, o domínio de sinalização intracelular compreende um domínio de transmembrana e de sinalização CD28 ligado a um domínio intracelular CD3 (por exemplo, CD3-zeta). Em algumas modalidades, o domínio de sinalização intracelular compreende um domínio coestimulatório quimérico CD28 e CD137 (4-1BB, TNFRSF9), ligado a um domínio intracelular zeta CD3.

[00405] Em algumas modalidades, o CAR engloba um ou mais, por exemplo, dois ou mais domínios coestimulatórios e região de sinalização citoplasmática primária, na porção citoplasmática. Exemplos de CARs incluem componentes intracelulares, tais como região(s) ou domínio(s) de sinalização intracelular, de CD3-zeta, CD28, CD137 (4-1BB), OX40 (CD134), CD27, DAP10, DAP12, NKG2D e/ou ICOS. Em algumas modalidades, o receptor de antígeno quimérico contém uma

região ou domínio de sinalização intracelular de uma molécula coestimuladora de células T, por exemplo, de CD28, CD137 (4-1BB), OX40 (CD134), CD27, DAP10, DAP12, NKG2D e/ou ICOS, em alguns casos, entre o domínio de transmembrana e a região ou domínio de sinalização intracelular. Em alguns aspectos, a molécula coestimuladora de células T é um ou mais dentre CD28, CD137 (4-1BB), OX40 (CD134), CD27, DAP10, DAP12, NKG2D e/ou ICOS.

[00406] Em alguns casos, os CARs são referidos como CARs de primeira, segunda e/ou terceira geração. Em alguns aspectos, um CAR de primeira geração é aquele que apenas fornece um sinal induzido pela cadeia CD3 após a ligação ao antígeno; em alguns aspectos, um CAR de segunda geração é aquele que fornece este sinal e sinal coestimulatório, como um que inclui um domínio de sinalização intracelular de um receptor coestimulatório tal como CD28 ou CD137; em alguns aspectos, um CAR de terceira geração é aquele que inclui múltiplos domínios coestimulatórios de diferentes receptores coestimulatórios.

[00407] Em algumas modalidades, o receptor de antígeno quimérico inclui uma porção extracelular contendo um anticorpo ou fragmento de anticorpo. Em alguns aspectos, o receptor de antígeno quimérico inclui uma porção extracelular contendo o anticorpo ou fragmento e um domínio de sinalização intracelular. Em algumas modalidades, o anticorpo ou fragmento inclui um scFv e o domínio intracelular contém um ITAM. Em alguns aspectos, o domínio de sinalização intracelular inclui um domínio de sinalização de uma cadeia zeta de uma cadeia CD3-zeta (CD3 $\zeta$ ). Em algumas modalidades, o receptor de antígeno quimérico inclui um domínio de transmembrana ligando o domínio extracelular e o domínio de sinalização intracelular. Em alguns aspectos, o domínio de transmembrana contém uma porção transmembranar de CD28. Em algumas modalidades, o receptor de antígeno quimérico

contém um domínio intracelular de uma molécula coestimulatória de células T. O domínio extracelular e o domínio de transmembrana podem ser ligados direta ou indiretamente. Em algumas modalidades, o domínio extracelular e a transmembrana estão ligados por um espaçador, tal como qualquer um aqui descrito. Em algumas modalidades, o receptor contém porção extracelular da molécula a partir da qual o domínio de transmembrana é derivado, como uma porção extracelular CD28. Em algumas modalidades, o receptor de antígeno quimérico contém um domínio intracelular derivado de uma molécula coestimulatória de células T ou uma variante funcional da mesma, tal como entre o domínio de transmembrana e o domínio de sinalização intracelular. Em alguns aspectos, a molécula coestimulatória de células T é CD28 ou 4-1BB.

[00408] Por exemplo, em algumas modalidades, o CAR contém um anticorpo, por exemplo, um fragmento de anticorpo, um domínio de transmembrana que é ou contém uma porção transmembranar de CD28 ou uma variante funcional do mesmo e um domínio de sinalização intracelular contendo uma porção de sinalização de CD28 ou sua variante funcional e uma porção de sinalização de CD3 zeta ou sua variante funcional. Em algumas modalidades, o CAR contém um anticorpo, por exemplo, fragmento de anticorpo, um domínio de transmembrana que é ou contém uma porção transmembranar de CD28 ou uma variante funcional do mesmo e um domínio de sinalização intracelular contendo uma porção de sinalização de um 4-1BB ou variante funcional e uma porção de sinalização de CD3 zeta ou sua variante funcional. Em algumas destas modalidades, o receptor inclui também um espaçador contendo uma porção de uma molécula de Ig, tal como uma molécula de Ig humana, tal como uma dobradiça de Ig, por exemplo, uma dobradiça IgG4, como um espaçador de única dobradiça.

[00409] Em algumas modalidades, o domínio de transmembrana do receptor recombinante, por exemplo, o CAR, é ou inclui um domínio de transmembrana do CD28 humano (por exemplo, Acesso nº P10747.1) ou CD8a (Acesso nº P01732.1) ou variante do mesmo, tal como um domínio de transmembrana que compreende a sequência de aminoácidos mencionada na SEQ ID NO:8, 115, 178 ou 179 ou uma sequência de aminoácidos que exibe pelo menos 85%, 86%, 87%, 88% , 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou mais de identidade de sequência da SEQ ID NO:8, 115, 178 ou 179; em algumas modalidades, a porção contendo domínio de transmembrana do receptor recombinante compreende a sequência de aminoácidos mencionada na SEQ ID NO:9 ou uma sequência de aminoácidos com pelo menos 85%, 86%, 87%, 88 %, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou mais de identidade de sequência.

[00410] Em algumas modalidades, o(s) componente(s) de sinalização intracelular do receptor recombinante, por exemplo, o CAR, contém um domínio de sinalização coestimulatório intracelular de CD28 humano ou uma variante funcional ou porção do mesmo, tal como um domínio com uma substituição de LL a GG nas posições 186-187 de uma proteína CD28 nativa. Por exemplo, o domínio de sinalização intracelular pode compreender a sequência de aminoácidos mencionada na SEQ ID NO:10 ou 11 ou uma sequência de aminoácidos que exibe pelo menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90 %, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou mais identidade de sequência com a SEQ ID NO:10 ou 11. Em algumas modalidades, o domínio intracelular compreende um domínio de sinalização coestimulatório intracelular de 4-1BB (por exemplo, Acesso nº Q07011.1) ou variante funcional ou parte do mesmo, tal como a sequência de aminoácidos mencionada na SEQ ID NO:12 ou uma sequência de aminoácidos que exibe pelo menos 85 %, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%,

96%, 97%, 98%, 99% ou mais de identidade de sequência para SEQ ID No:12.

[00411] Em algumas modalidades, o domínio de sinalização intracelular do receptor recombinante, por exemplo, o CAR, compreende um domínio de sinalização estimuladora de CD3 zeta humano ou uma variante funcional do mesmo, tal como um domínio citoplasmático 112 AA da isoforma 3 de CD3 $\zeta$  humano (Acesso nº P20963.2) ou um domínio de sinalização zeta de CD3 como descrito na Patente Dos Estados Unidos nº 7.446.190 ou Patente Dos Estados Unidos nº 8.911.993. Por exemplo, em algumas modalidades, o domínio de sinalização intracelular compreende a sequência de aminoácidos como mencionado na SEQ ID NO:13, 14 ou 15 ou uma sequência de aminoácidos que exibe pelo menos 85%, 86%, 87%, 88 %, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou mais de identidade de sequência da SEQ ID NO:13, 14 ou 15.

[00412] Em alguns aspectos, o espaçador contém apenas uma região de dobradiça de uma IgG, como apenas uma dobradiça de IgG4 ou IgG1, como o espaçador de dobradiça estabelecido nas SEQ ID NO:1 ou SEQ ID NO:125. Em outras modalidades, o espaçador é ou contém uma dobradiça de Ig, por exemplo, uma dobradiça derivada de IgG4, opcionalmente ligada a um domínio C<sub>H</sub>2 e/ou C<sub>H</sub>3. Em algumas modalidades, o espaçador é uma dobradiça de Ig, por exemplo, uma dobradiça de IgG4, ligada aos domínios C<sub>H</sub>2 e C<sub>H</sub>3, como estabelecido na SEQ ID NO:4. Em algumas modalidades, o espaçador é uma dobradiça de Ig, por exemplo, uma dobradiça de IgG4, ligada apenas a um domínio C<sub>H</sub>3, tal como estabelecido na SEQ ID NO:3. Em algumas modalidades, o espaçador é ou compreende uma sequência rica em glicina-serina ou outro ligante flexível, como ligantes flexíveis conhecidos. Em algumas modalidades, o espaçador é uma dobradiça de CD8a, como estabelecido em qualquer uma das SEQ ID NOs: 117-

119, uma dobradiça de FcγRIIIa, tal como estabelecido na SEQ ID NO:124, uma dobradiça de CTLA4, tal como estabelecido em SEQ ID NO:120 ou uma dobradiça de PD-1, tal como estabelecido na SEQ ID NO:122.

[00413] Por exemplo, em algumas modalidades, o CAR inclui um anticorpo, tal como um fragmento de anticorpo, incluindo scFvs, um espaçador, tal como um espaçador que contém uma porção de uma molécula de imunoglobulina, tal como uma região articulada e/ou uma ou mais regiões constantes de uma molécula de cadeia pesada, tal como um espaçador contendo dobradiça de Ig, um domínio de transmembrana contendo todo ou uma porção de um domínio de transmembrana derivado de CD28, um domínio de sinalização intracelular derivado de CD28 e um domínio de sinalização CD3 zeta.

Em algumas modalidades, o CAR inclui um anticorpo ou fragmento, tal como scFv, um espaçador como qualquer um dos espaçadores que contêm dobradiças de Ig, um domínio de transmembrana derivado de CD28, um domínio de sinalização intracelular derivado de 4-1BB e um CD3 zeta de sinalização derivado.

[00414] Os receptores recombinantes, tal como CARs, expressos pelas células administradas ao indivíduo geralmente reconhecem ou se ligam especificamente a uma molécula que é expressa em, associada a e/ou específica para a doença ou condição ou células a serem tratadas. Após ligação específica à molécula, por exemplo, antígeno, o receptor geralmente libera um sinal imunoestimulatório, tal como um sinal transduzido por ITAM, na célula, promovendo assim uma resposta imune direcionada à doença ou condição. Por exemplo, em algumas modalidades, as células expressam um CAR que se liga especificamente a um antígeno expresso por uma célula ou tecido da doença ou condição ou associado à doença ou condição. Sequências CAR exemplificativas não limitativas são mencionadas nas SEQ ID

NOs:126-177.

[00415] Em algumas modalidades, o CAR pode codificado em sequência pode incluir também uma sequência de sinal ou peptídeo de sinal que direciona ou libera o CAR para a superfície da célula na qual o CAR é expresso. Em algumas modalidades, o sinal peptídico é derivado de uma proteína transmembranar. Em alguns exemplos, o sinal peptídico é derivado de CD8a, CD33 ou uma IgG. Os peptídeos de sinal exemplificativos incluem as sequências apresentadas nas SEQ ID NOs:21, 75 e 76 ou variante das mesmas.

[00416] Em algumas modalidades, o CAR inclui um anticorpo anti-CD19, tal como um fragmento de anticorpo, incluindo scFvs, um espaçador, tal como um espaçador que contém uma porção de uma molécula de imunoglobulina, tal como uma região de dobradiça e/ou um ou mais regiões constantes de uma molécula de cadeia pesada, tal como qualquer um dos espaçadores que contêm dobradiças de Ig ou outros espaçadores aqui descritos, um domínio de transmembrana contendo todo ou uma porção de um domínio de transmembrana derivado de CD28, um domínio de sinalização intracelular derivado de CD28 e um CD3 domínio de sinalização zeta. Em algumas modalidades, o CAR inclui um anticorpo ou fragmento anti-CD19, tal como scFv, um espaçador como qualquer um dos espaçadores que contêm dobradiças de Ig ou outros espaçadores aqui descritos, um domínio de transmembrana derivado de CD28, um derivado de 4-1BB domínio de sinalização intracelular e um domínio de sinalização derivado de zeta CD3. Em algumas modalidades, tais construções de CAR incluem também um elemento de *skip* ribossômico T2A e/ou uma sequência de tEGFR, por exemplo, a jusante do CAR.

[00417] Em algumas modalidades, o CAR inclui um anticorpo ou fragmento anti-BCMA, tal como qualquer um dos anticorpos anti-BCMA humanos, incluindo sdAbs e scFvs, aqui descritos, um espaça-



dor como qualquer espaçador que contenha dobradiça de Ig ou outros espaçadores aqui descritos, um domínio de transmembrana de CD28, um domínio de sinalização intracelular de CD28 e um domínio de sinalização de CD3 zeta. Em algumas modalidades, o CAR inclui um anticorpo ou fragmento anti-BCMA, como qualquer um dos anticorpos anti-BCMA humanos, incluindo sdAbs e scFvs aqui descritos, um espaçador como qualquer um dos espaçadores que contêm dobradiças de Ig ou outros espaçadores aqui descritos, um domínio de transmembrana CD28, um domínio de sinalização intracelular 4-1BB e um domínio de sinalização zeta CD3. Em algumas modalidades, tais construções de CAR incluem também um elemento de *skip* ribossômico T2A e/ou uma sequência de tEGFR, por exemplo, a jusante do CAR.

## 2. Receptor Quimérico de AutoAnticorpo (CAAR)

[00418] Em algumas modalidades, o receptor recombinante é um receptor de autoanticorpo quimérico (CAAR). Em algumas modalidades, o CAAR liga, por exemplo, liga especificamente, ou reconhece, um autoanticorpo. Em algumas modalidades, uma célula expressando o CAAR, tal como uma célula T modificada para expressar um CAAR, pode ser usada para se ligar e exterminar células expressando autoanticorpos, porém não células expressando anticorpos normais. Em algumas modalidades, as células expressando CAAR podem ser usadas para tratar uma doença autoimune associada à expressão de autoantígenos, tal como doenças autoimunes. Em algumas modalidades, as células expressando CAAR podem atingir células B que, em última análise, produzem os autoanticorpos e exibem os autoanticorpos em suas superfícies celulares, marcam tais células B como alvos específicos da doença para intervenção terapêutica. Em algumas modalidades, as células expressando CAAR podem ser usadas para direcionar e exterminar eficientemente as células B patogênicas em doenças autoimunes, direcionando as células B causadoras de doenças usando

um receptor de autoanticorpo quimérico específico de antígeno. Em algumas modalidades, o receptor recombinante é um CAAR, tal como qualquer um descrito na Publicação de Pedido de Patente dos Estados Unidos nº US 2017/0051035.

[00419] Em algumas modalidades, o CAAR compreende um domínio de ligação de autoanticorpo, um domínio de transmembrana e uma ou mais região ou domínio de sinalização intracelular (também alternadamente chamado de domínio ou região de sinalização citoplasmática). Em algumas modalidades, a região de sinalização intracelular compreende um domínio de sinalização intracelular. Em algumas modalidades, o domínio de sinalização intracelular é ou compreende uma região de sinalização primária, um domínio de sinalização que é capaz de estimular e/ou induzir um sinal de ativação primário em uma célula T, um domínio de sinalização de um componente receptor de célula T (TCR) (por exemplo, um domínio de sinalização intracelular ou região de uma cadeia zeta de uma cadeia CD3-zeta (CD3ζ) ou uma variante funcional ou porção de sinalização da mesma) e/ou um domínio de sinalização compreendendo um motivo de ativação baseado em tirosina imunorreceptora (ITAM).

[00420] Em algumas modalidades, o domínio de ligação do autoanticorpo compreende um autoantígeno ou um fragmento do mesmo. A escolha do autoantígeno pode depender do tipo de autoanticorpo que está sendo alvejado. Por exemplo, o autoantígeno pode ser escolhido porque reconhece um autoanticorpo em uma célula alvo, tal como uma célula B, associada a um estado de doença específico, por exemplo, uma doença autoimune, tal como uma doença autoimune mediada por autoanticorpos. Em algumas modalidades, a doença autoimune inclui o pênfigo vulgar (PV). Autoantígenos exemplares incluem desmogleína 1 (Dsg1) e Dsg3.

### 3. TCRs

[00421] Em algumas modalidades, são fornecidas células modificadas, como células T, que expressam um receptor de células T (TCR) ou uma porção de ligação ao antígeno que reconhece um epítopo peptídico ou epítopo da célula T de um polipeptídeo alvo, tal como um antígeno de um tumor, proteína viral ou autoimune. Em alguns aspectos, o TCR é ou inclui um TCR recombinante.

[00422] Em algumas modalidades, um "receptor de célula T" ou "TCR" é uma molécula que contém cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  variáveis (também conhecidas como TCR $\alpha$  e TCR $\beta$ , respectivamente) ou cadeias  $\gamma$  e  $\delta$  variáveis (também conhecidas como TCR $\alpha$  e TCR $\beta$ , respectivamente), ou porções de ligação ao antígeno das mesmas, e que é capaz de se ligar especificamente a um peptídeo ligado a uma molécula de MHC. Em algumas modalidades, o TCR está na forma  $\alpha\beta$ . Tipicamente, os TCRs que existem nas formas  $\alpha\beta$  e  $\gamma\delta$  são geralmente estruturalmente similares, porém as células T que as expressam podem ter locais ou funções anatômicas distintas. Um TCR pode ser encontrado na superfície de uma célula ou na forma solúvel. Geralmente, um TCR é encontrado na superfície das células T (ou linfócitos T), onde geralmente é responsável pelo reconhecimento de antígenos ligados às moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC).

[00423] A menos que de outro modo indicado, o termo "TCR" deve ser entendido como abrangendo TCRs completos, bem como porções de ligação ao antígeno ou seus fragmentos de ligação ao antígeno. Em algumas modalidades, o TCR é um TCR intacto ou de tamanho natural, incluindo TCRs na forma  $\alpha\beta$  ou  $\gamma\delta$ . Em algumas modalidades, o TCR é uma porção de ligação a antígeno que é menor que um TCR de tamanho natural, porém que se liga a um peptídeo específico ligado a uma molécula de MHC, como se liga a um complexo de peptídeo de MHC. Em alguns casos, uma porção ou fragmento de ligação ao antígeno de um TCR pode conter apenas uma porção dos domínios estru-

turais de um TCR de tamanho natural ou intacto, porém também é capaz de ligar o epítopo peptídico, tal como o complexo MHC-peptídeo, ao qual o TCR de tamanho natural se liga. Em alguns casos, uma porção de ligação ao antígeno contém os domínios variáveis de um TCR, como a cadeia  $\alpha$  variável e a cadeia  $\beta$  variável de um TCR, suficientes para formar um local de ligação para a ligação a um complexo específico de peptídeo MHC. Geralmente, as cadeias variáveis de um TCR contêm regiões determinantes de complementaridade envolvidas no reconhecimento do complexo peptídeo, MHC e/ou MHC-peptídeo.

[00424] Em algumas modalidades, os domínios variáveis do TCR contêm alças hipervariáveis, ou regiões determinantes de complementaridade (CDRs), que geralmente são os principais contribuintes para o reconhecimento de antígenos e capacidades e especificidade de ligação. Em algumas modalidades, uma CDR de um TCR ou uma combinação dos mesmos forma todo ou substancialmente todo o local de ligação ao antígeno de uma determinada molécula de TCR. As várias CDRs dentro de uma região variável de uma cadeia de TCR geralmente são separadas por regiões estruturais (FRs), que geralmente exibem menos variabilidade entre as moléculas de TCR em comparação com as CDRs (veja, por exemplo, Jores *et al.*, *Proc. Nat'l Acad Sci. USA* 87:9138, 1990; Chothia *et al.*, *EMBO J.* 7:3745, 1988; veja, também Lefranc *et al.*, *Dev. Comp. Immunol.* 27:55, 2003). Em algumas modalidades, CDR3 é a CDR principal responsável pela ligação ou especificidade ao antígeno, ou é a mais importante entre as três CDRs em uma determinada região variável do TCR para reconhecimento de antígeno e/ou para interação com a porção peptídica processada do complexo de peptídeo-MHC. Em alguns contextos, o CDR1 da cadeia alfa pode interagir com a parte N-terminal de certos peptídeos antigênicos. Em alguns contextos, CDR1 da cadeia beta pode interagir com a parte C-terminal do peptídeo. Em alguns contextos, a CDR2 contribui

mais fortemente para ou é a principal CDR responsável pela interação ou reconhecimento da porção MHC do complexo MHC-peptídeo. Em algumas modalidades, a região variável da cadeia  $\beta$  pode conter uma região hipervariável adicional (CDR4 ou HVR4), que geralmente está envolvida na ligação de superantígenos e não no reconhecimento de antígenos (Kotb (1995) *Clinical Microbiology Reviews*, 8:411-426).

[00425] Em algumas modalidades, um TCR também pode conter um domínio constante, um domínio de transmembrana e/ou uma cauda citoplasmática curta (veja, por exemplo, Janeway *et al.*, *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease*, 3ª Edição, Current Biology Publications, p. 4:33, 1997). Em alguns aspectos, cada cadeia do TCR pode possuir um domínio variável da imunoglobulina N-terminal, um domínio constante da imunoglobulina, uma região transmembranar e uma cauda citoplasmática curta na extremidade C-terminal. Em algumas modalidades, um TCR está associado às proteínas invariantes do complexo CD3 envolvidas na mediação da transdução de sinal.

[00426] Em algumas modalidades, uma cadeia de TCR contém um ou mais domínio constante. Por exemplo, a porção extracelular de uma determinada cadeia de TCR (por exemplo, cadeia  $\alpha$  ou cadeia  $\beta$ ) pode conter dois domínios do tipo imunoglobulina, tal como um domínio variável (por exemplo, V $\alpha$  ou V $\beta$ ; tipicamente os aminoácidos 1 a 116 com base na numeração Kabat Kabat *et al.*, "Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Dept. Health and Human Services, National Institutes of Health, 1991, 5ª ed.) e um domínio constante (por exemplo, domínio constante da cadeia  $\alpha$  ou C $\alpha$ , tipicamente posições 117 a 259 da cadeia com base na numeração de Kabat ou no domínio constante da cadeia  $\beta$  ou C $\beta$ , tipicamente posições 117 a 295 da cadeia com base em Kabat) adjacente à membrana celular. Por exemplo, em alguns casos, a porção extracelular do TCR formada pelas duas

cadeias contém dois domínios constantes proximais à membrana e dois domínios variáveis distais à membrana, cujos domínios variáveis contêm CDRs. O domínio constante do TCR pode conter sequências de conexão curtas nas quais um resíduo de cisteína forma uma ligação dissulfeto, ligando assim as duas cadeias do TCR. Em algumas modalidades, um TCR pode ter um resíduo de cisteína adicional em cada uma das cadeias  $\alpha$  e  $\beta$ , de modo que o TCR contenha duas ligações dissulfeto nos domínios constantes.

[00427] Em algumas modalidades, as cadeias de TCR contêm um domínio de transmembrana. Em algumas modalidades, o domínio de transmembrana é carregado positivamente. Em alguns casos, a cadeia TCR contém uma cauda citoplasmática. Em alguns casos, a estrutura permite que o TCR se associe a outras moléculas tais como CD3 e subunidades das mesmas. Por exemplo, um TCR contendo domínios constantes com uma região transmembranar pode ancorar a proteína na membrana celular e associar-se a subunidades invariantes do aparelho ou complexo de sinalização CD3. As caudas intracelulares das subunidades de sinalização de CD3 (por exemplo, cadeias CD3 $\gamma$ , CD3 $\delta$ , CD3 $\epsilon$  e CD3 $\zeta$ ) contêm um ou mais *motivos* de ativação com base em tirosina imunorreceptora ou ITAM que estão envolvidas na capacidade de sinalização do complexo TCR.

[00428] Em algumas modalidades, o TCR pode ser um heterodímero de duas cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  (ou opcionalmente  $\gamma$  e  $\delta$ ) ou pode ser uma construção de TCR de cadeia única. Em algumas modalidades, o TCR é um heterodímero contendo duas cadeias separadas (cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  ou cadeias  $\gamma$  e  $\delta$ ) que estão ligadas, tal como por uma ligação dissulfeto ou ligações dissulfeto.

[00429] Em algumas modalidades, o TCR pode ser gerado a partir de uma sequência conhecida de TCR, como sequências de cadeias V $\alpha$ ,  $\beta$ , para as quais uma sequência de codificação substancialmente

completa está facilmente disponível. Os métodos para obter sequências de TCR de tamanho completo, incluindo sequências da cadeia V, de fontes celulares são bem conhecidos. Em algumas modalidades, os ácidos nucleicos que codificam o TCR podem ser obtidos a partir de uma variedade de fontes, como por amplificação por reação em cadeia da polimerase (PCR) de ácidos nucleicos que codificam o TCR dentro ou isolados de uma determinada célula ou células, ou síntese de TCR disponível publicamente Sequências de DNA.

[00430] Em algumas modalidades, os receptores recombinantes incluem TCRs e/ou TCRs recombinantes clonados a partir de células T de ocorrência natural. Em algumas modalidades, um clone de células T de alta afinidade para um antígeno alvo (por exemplo, um antígeno de câncer) é identificado, isolado de um paciente e introduzido nas células. Em algumas modalidades, o clone de TCR para um antígeno alvo foi gerado em camundongos transgênicos modificados com genes do sistema imunológico humano (por exemplo, o sistema de antígeno leucocitário humano, ou HLA). Veja, por exemplo, antígenos tumorais (veja, por exemplo, Parkhurst *et al.* (2009) *Clin Cancer Res.* 15:169-180 e Cohen *et al.* (2005) *J. Immunol.* 175:5799-5808. Em algumas modalidades, exibição de fagos é usado para isolar TCRs contra um antígeno alvo (veja, por exemplo, Varela-Rohena *et al.* (2008) *Nat Med.* 14:1390–1395 e Li (2005) *Nat Biotechnol.* 23:349–354.

[00431] Em algumas modalidades, o TCR é obtido a partir de uma fonte biológica, como células de uma célula T (por exemplo, célula T citotóxica), hibridomas de células T ou outra fonte disponível publicamente. Em algumas modalidades, as células T podem ser obtidas a partir de células isoladas *in vivo*. Em algumas modalidades, o TCR é um TCR timidamente selecionado. Em algumas modalidades, o TCR é um TCR restrito aos neoepítomos. Em algumas modalidades, as células T podem ser um hibridoma ou clone de célula T cultivado. Em al-

gumas modalidades, o TCR ou porção de ligação ao antígeno do mesmo pode ser gerado sinteticamente a partir do conhecimento da sequência do TCR.

[00432] Em algumas modalidades, o TCR é gerado a partir de um TCR identificado ou selecionado a partir da análise de uma biblioteca de TCRs candidatos contra um antígeno polipeptídico alvo ou epítipo de célula T alvo do mesmo. As bibliotecas de TCR podem ser geradas por amplificação do repertório de  $V\alpha$  e  $V\beta$  a partir de células T isoladas de um indivíduo, incluindo células presentes em PBMCs, baço ou outro órgão linfóide. Em alguns casos, as células T podem ser amplificadas a partir de linfócitos infiltrantes de tumores (TILs). Em algumas modalidades, as bibliotecas de TCR podem ser geradas a partir de células  $CD4^+$  ou  $CD8^+$ . Em algumas modalidades, os TCRs podem ser amplificados a partir de uma fonte de células T de um indivíduo saudável normal, isto é, bibliotecas normais de TCR. Em algumas modalidades, os TCRs podem ser amplificados a partir de uma fonte de células T de um indivíduo doente, isto é, bibliotecas de TCR doente. Em algumas modalidades, os iniciadores degenerados são usados para amplificar o repertório genético de  $V\alpha$  e  $V\beta$ , como por RT-PCR em amostras, tal como células T, obtidas de seres humanos. Em algumas modalidades, as bibliotecas de scTv podem ser montadas a partir de bibliotecas  $V\alpha$  e  $V\beta$  *naïves* nas quais os produtos amplificados são clonados ou montados para serem separados por um ligante. Dependendo da fonte do indivíduo e das células, as bibliotecas podem ser específicas do alelo HLA. Alternativamente, em algumas modalidades, as bibliotecas de TCR podem ser geradas por mutagênese ou diversificação de uma molécula de TCR parental ou de andaime. Em alguns aspectos, os TCRs são submetidos à evolução alvejada, tal como por mutagênese, por exemplo, da cadeia  $\alpha$  ou  $\beta$ . Em alguns aspectos, resíduos específicos nas CDRs do TCR são alterados. Em algumas mo-



dalidades, os TCRs selecionados podem ser modificados por maturação por afinidade. Em algumas modalidades, as células T específicas do antígeno podem ser selecionadas, tal como por meio de triagem para avaliar a atividade dos CTL contra o peptídeo. Em alguns aspectos, TCRs, por exemplo, presente nas células T específicas do antígeno, podem ser selecionados, tal como por atividade de ligação, por exemplo, afinidade ou avidéz particular para o antígeno.

[00433] Em algumas modalidades, o TCR ou porção de ligação ao antígeno do mesmo é aquela que foi modificada ou projetada. Em algumas modalidades, métodos de evolução direcionada são usados para gerar TCRs com propriedades alteradas, como com maior afinidade para um complexo específico de MHC-peptídeo. Em algumas modalidades, a evolução direcionada é alcançada por métodos de exibição, incluindo, porém, não limitado a, exibição de leveduras (Holler *et al.*, (2003) *Nat Immunol*, 4, 55-62; Holler *et al.*, (2000) *Proc Natl Acad Sci USA*, 97, 5387-92), exibição de fagos (Li *et al.*, (2005) *Nat Biotechnol*, 23, 349-54) ou exibição de células T (Chervin *et al.*, (2008) *J Immunol Methods*, 339, 175 -84). Em algumas modalidades, os métodos de exibição envolvem engenharia ou modificação de um TCR conhecido, de origem ou referência. Por exemplo, em alguns casos, um TCR do tipo selvagem pode ser usado como modelo para produzir TCRs mutagenizados nos quais um ou mais resíduos das CDRs são mutados e mutantes com uma propriedade alterada desejada, tal como maior afinidade para um antígeno alvo desejado, são selecionados.

[00434] Em algumas modalidades, peptídeos de um polipeptídeo alvo para uso na produção ou geração de um TCR de interesse são conhecidos ou podem ser facilmente identificados como uma questão de rotina. Em algumas modalidades, os peptídeos adequados para uso na geração de TCRs ou porções de ligação ao antígeno podem

ser determinados com base na presença de um motivo restrito a HLA em um polipeptídeo alvo de interesse, tal como um polipeptídeo alvo descrito abaixo. Em algumas modalidades, os peptídeos são identificados usando modelos de previsão por computador como uma rotina. Em algumas modalidades, para prever locais de ligação ao MHC classe I, estes modelos incluem, porém não estão limitados a, ProPred1 (Singh e Raghava (2001) *Bioinformatics* 17 (12):1236-1237 e SYFPEITHI (veja, Schuler *et al.*, (2007) *Methods Immunoinformatics in Molecular Biology*, 409 (1):75-93, 2007. Em algumas modalidades, o epítipo restrito ao MHC é HLA-A0201, que é expresso em aproximadamente 39 a 46% de todos os caucasianos e, portanto, representa uma escolha adequada do antígeno MHC para uso na preparação de um TCR ou outra molécula de ligação ao MHC-peptídeo.

[00435] São conhecidos *motivos* de ligação a HLA-A0201 e os locais de clivagem para proteassomas e imunoproteassomas usando modelos de previsão por computador. Para prever locais de ligação ao MHC classe I, estes modelos incluem, porém não estão limitados a, ProPred1 (descrito em maiores detalhes em ProPred: prediction of HLA-DR binding sites. *BIOINFORMATICS* 17(12):1236-1237 2001), e SYFPEITHI (see Schuler *et al.*, SYFPEITHI, Database for Searching e T-Cell Epitope Prediction. in *Immunoinformatics Methods in Molecular Biology*, vol 409(1): 75-93 2007).

[00436] Em algumas modalidades, um TCR ou porção de ligação ao antígeno do mesmo pode ser uma proteína natural produzida de forma recombinante ou uma forma mutada na qual uma ou mais propriedades, tal como característica de ligação, foram alteradas. Em algumas modalidades, um TCR pode ser derivado de uma de várias espécies animais, tais como humano, camundongo, rato ou outro mamífero. Um TCR pode estar ligado à célula ou na forma solúvel. Em algumas modalidades, para propósitos dos métodos fornecidos, o TCR

está na forma ligada à célula, expressa na superfície de uma célula.

[00437] Em algumas modalidades, o TCR é um TCR de tamanho natural. Em algumas modalidades, o TCR é uma porção de ligação ao antígeno. Em algumas modalidades, o TCR é um TCR dimérico (dTCR). Em algumas modalidades, o TCR é um TCR de cadeia única (sc-TCR). Em algumas modalidades, um dTCR ou scTCR tem as estruturas descritas nos documentos WO 03/020763, WO 04/033685, WO2011/044186.

[00438] Em algumas modalidades, o TCR contém uma sequência correspondente à sequência transmembranar. Em algumas modalidades, o TCR contém uma sequência correspondente às sequências citoplasmáticas. Em algumas modalidades, o TCR é capaz de formar um complexo de TCR com CD3. Em algumas modalidades, qualquer um dos TCRs, incluindo um dTCR ou scTCR, pode ser ligado a domínios de sinalização que produzem um TCR ativo na superfície de uma célula T. Em algumas modalidades, o TCR é expresso na superfície das células.

[00439] Em algumas modalidades, um dTCR contém um primeiro polipeptídeo em que uma sequência correspondente a uma sequência da região variável da cadeia  $\alpha$  de TCR é fundida ao terminal N de uma sequência correspondente a uma sequência extracelular da região constante da cadeia  $\alpha$  de TCR e um segundo polipeptídeo em que uma sequência correspondente a uma sequência da região variável da cadeia TCR- $\beta$  é fundida ao terminal N; uma sequência correspondente a uma sequência extracelular da região constante da cadeia TCR- $\beta$ , sendo o primeiro e o segundo polipeptídeos ligados por uma ligação dissulfeto. Em algumas modalidades, a ligação pode corresponder à ligação de dissulfeto inter-cadeia nativa presente nos  $\alpha\beta$  TCRs diméricos nativos. Em algumas modalidades, as ligações de dissulfeto inter-cadeia não estão presentes em um TCR nativo. Por exemplo, em al-

gumas modalidades, uma ou mais cisteínas podem ser incorporadas nas sequências extracelulares da região constante do par de polipeptídeo dTCR. Em alguns casos, tanto uma ligação de dissulfeto nativa quanto uma não nativa podem ser desejáveis. Em algumas modalidades, o TCR contém uma sequência transmembranar para ancorar na membrana.

[00440] Em algumas modalidades, um dTCR contém uma cadeia  $\alpha$  de TCR contendo um domínio  $\alpha$  variável, um domínio  $\alpha$  constante e um primeiro *motivo* de dimerização ligado ao C-terminal do domínio  $\alpha$  constante e uma cadeia  $\beta$  de TCR compreendendo uma variável  $\beta$  domínio, um domínio  $\beta$  constante e um primeiro *motivo* de dimerização ligado ao C-terminal do domínio  $\beta$  constante, em que o primeiro e o segundo *motivos* de dimerização interagem facilmente para formar uma ligação covalente entre um aminoácido no primeiro *motivo* de dimerização e um aminoácido no segundo *motivo* de dimerização que liga a cadeia TCR  $\alpha$  e a cadeia TCR  $\beta$  juntas.

[00441] Em algumas modalidades, o TCR é um scTCR. Tipicamente, um scTCR pode ser gerado usando métodos conhecidos adequados, veja, por exemplo, Soo Hoo, W.F. *et al.*, PNAS (USA) 89, 4759 (1992); Wülfing, C. e Plückthun, A., *J. Mol. Biol.* 242, 655 (1994); Kurucz, I. *et al.*, PNAS (EUA) 90 3830 (1993); PCTs Internacionais publicados n<sup>os</sup> WO 96/13593, WO 96/18105, WO99/60120, WO99/8129, WO 03/020763, WO2011/044186; e Schlueter, C.J. *et al.*, *J. Mol. Biol.* 256, 859 (1996). Em algumas modalidades, um scTCR contém uma ligação de dissulfeto inter-cadeia não nativa introduzida para facilitar a associação das cadeias de TCR (veja, por exemplo, a publicação de PCT internacional publicada n<sup>o</sup> WO 03/020763). Em algumas modalidades, um scTCR é um TCR truncado não ligado a dissulfeto no qual zíperes de leucina heterólogos fundidos com C-terminais dos mesmos facilitam a associação de cadeias (veja, por exemplo, o PCT internaci-

onal publicado nº WO99/60120). Em algumas modalidades, um scTCR contém um domínio variável de TCR $\alpha$  covalentemente ligado a um domínio variável de TCR $\beta$  por meio de um ligante peptídico (veja, por exemplo, PCT internacional publicado No. WO99/18129).

[00442] Em algumas modalidades, um scTCR contém um primeiro segmento constituído por uma sequência de aminoácidos correspondente a uma região variável da cadeia  $\alpha$  do TCR, um segundo segmento constituído por uma sequência de aminoácidos correspondente a uma sequência da região variável da cadeia  $\beta$  do TCR fundida ao N-terminal de uma sequência de aminoácidos correspondente a uma sequência extracelular de domínio constante da cadeia TCR  $\beta$  e uma sequência ligante que liga o C-terminal do primeiro segmento ao N-terminal do segundo segmento.

[00443] Em algumas modalidades, um scTCR contém um primeiro segmento constituído por uma sequência de região variável da cadeia  $\alpha$  fundida ao N-terminal de uma sequência de domínio constante extracelular da cadeia  $\alpha$  e um segundo segmento constituído por uma sequência de região variável da cadeia  $\beta$  fundida ao N-terminal de uma constante extracelular da cadeia  $\beta$  da sequência e sequência transmembranar e, opcionalmente, uma sequência de ligante que liga o C-terminal do primeiro segmento ao N-terminal do segundo segmento.

[00444] Em algumas modalidades, um scTCR contém um primeiro segmento constituído por uma sequência de região variável de cadeia TCR  $\beta$  fundida ao N-terminal de uma sequência de domínio constante extracelular de cadeia  $\beta$  e um segundo segmento constituído por uma sequência de região variável de cadeia  $\alpha$  fundida a o N-terminal de uma sequência extracelular constante da cadeia  $\alpha$  e sequência transmembranar e, opcionalmente, uma sequência ligante que liga o C-terminal do primeiro segmento ao N-terminal do segundo segmento.

[00445] Em algumas modalidades, o ligante de um scTCRs que liga o primeiro e o segundo segmentos de TCR pode ser qualquer ligante capaz de formar uma única fita polipeptídica, mantendo a especificidade de ligação ao TCR. Em algumas modalidades, a sequência do ligante pode, por exemplo, ter a fórmula -P-AA-P- em que P é prolina e AA representa uma sequência de aminoácidos em que os aminoácidos são glicina e serina. Em algumas modalidades, o primeiro e o segundo segmentos são emparelhados de modo que as sequências da região variável dos mesmos sejam orientadas para tal ligação. Portanto, em alguns casos, o vinculador tem um comprimento suficiente para abranger a distância entre o C-terminal do primeiro segmento e o N-terminal do segundo segmento, ou vice-versa, porém não é muito longo para bloquear ou reduzir a ligação do scTCR para o ligando alvo. Em algumas modalidades, o ligante pode conter de ou de cerca de 10 a 45 aminoácidos, como 10 a 30 aminoácidos ou 26 a 41 resíduos de aminoácidos, por exemplo, 29, 30, 31 ou 32 aminoácidos. Em algumas modalidades, o ligante tem a fórmula -PGGG- (SGGGG) 5-P- em que P é prolina, G é glicina e S é serina (SEQ ID NO:16). Em algumas modalidades, o ligador tem a sequência GSADDAKKDAKKDGKS (SEQ ID NO:17)

[00446] Em algumas modalidades, o scTCR contém uma ligação dissulfeto covalente que liga um resíduo da região de imunoglobulina do domínio constante da cadeia  $\alpha$  a um resíduo da região de imunoglobulina do domínio constante da cadeia  $\beta$ . Em algumas modalidades, a ligação dissulfeto inter-cadeia em um TCR nativo não está presente. Por exemplo, em algumas modalidades, uma ou mais cisteínas podem ser incorporadas nas sequências extracelulares da região constante dos primeiro e segundo segmentos do polipeptídeo scTCR. Em alguns casos, tanto uma ligação dissulfeto nativa quanto uma não nativa podem ser desejáveis.

[00447] Em algumas modalidades de um dTCR ou scTCR contendo ligações de dissulfeto intercadeias introduzidas, as ligações dissulfeto nativas não estão presentes. Em algumas modalidades, a uma ou mais das cisteínas nativas que formam uma ligação de dissulfeto intercadeia nativa são substituídas por outro resíduo, tal como uma serina ou alanina. Em algumas modalidades, uma ligação dissulfeto introduzida pode ser formada pela mutação de resíduos não cisteína no primeiro e segundo segmentos em cisteína. Exemplos de ligações dissulfeto não nativas de um TCR são descritas no PCT Internacional nº WO2006/000830 publicado.

[00448] Em algumas modalidades, o TCR ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo exibe uma afinidade com uma constante de ligação de equilíbrio para um antígeno alvo entre ou entre cerca de  $10^{-5}$  e  $10^{-12}$ M e todos os valores e faixas individuais. Em algumas modalidades, o antígeno alvo é um complexo ou ligante do MHC-peptídeo.

[00449] Em algumas modalidades, o ácido nucleico ou ácidos nucleicos que codificam um TCR, tal como as cadeias  $\alpha$  e  $\beta$ , podem ser amplificados por PCR, clonagem ou outros meios adequados e clonados em um vetor ou vetores de expressão adequados. O vetor de expressão pode ser qualquer vetor de expressão recombinante adequado e pode ser usado para transformar ou transfectar qualquer hospedeiro adequado. Os vetores adequados incluem aqueles modificados para propagação e expansão ou expressão ou ambos, tal como plasmídeos e vírus.

[00450] Em algumas modalidades, o vetor pode um vetor da série pUC (Fermentas Life Sciences), da série pBluescript (Stratagene, La Jolla, Califórnia), da série pET (Novagen, Madison, Wis.), da série pGEX (Pharmacia Biotech, Uppsala, Suécia) ou a série pEX (Clontech, Palo Alto, Califórnia). Em alguns casos, vetores de bacteriófagos, tais como  $\lambda$ G10,  $\lambda$ GT11,  $\lambda$ ZapII (Stratagene),  $\lambda$ EMBL4, e  $\lambda$ NM1149, tam-

bém podem ser usados. Em algumas modalidades, os vetores de expressão de plantas podem ser usados e incluem pBI01, pBI101.2, pBI101.3, pBI121 e pBIN19 (Clontech). Em algumas modalidades, os vetores de expressão de animal incluem pEUK-CI, pMAM e pMAMneo (Clontech). Em algumas modalidades, um vetor viral é usado, tal como um vetor retroviral.

[00451] Em algumas modalidades, os vetores de expressão recombinantes podem ser preparados usando técnicas padrão de DNA recombinante. Em algumas modalidades, os vetores podem conter sequências reguladoras, tais como códons de iniciação e terminação da transcrição e tradução, que são específicos para o tipo de hospedeiro (por exemplo, bactéria, fungo, planta ou animal) no qual o vetor deve ser introduzido, como apropriado e levando em consideração se o vetor é baseado em DNA ou RNA. Em algumas modalidades, o vetor pode conter um promotor não nativo operacionalmente ligado à sequência de nucleotídeos que codifica o TCR ou a porção de ligação ao antígeno (ou outra molécula de ligação ao peptídeo MHC). Em algumas modalidades, o promotor pode ser um promotor não viral ou um promotor viral, tal como um promotor de citomegalovírus (CMV), um promotor SV40, um promotor de RSV e um promotor encontrado na repetição terminal longa do vírus da célula-tronco de murino. Outros promotores conhecidos também são contemplados.

[00452] Em algumas modalidades, para gerar um vetor que codifica um TCR, as cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  são amplificadas por PCR a partir do cDNA total isolado de um clone de células T expressando o TCR de interesse e clonadas em um vetor de expressão. Em algumas modalidades, as cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  são clonadas no mesmo vetor. Em algumas modalidades, as cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  são clonadas em diferentes vetores. Em algumas modalidades, as cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  geradas são incorporadas a um retroviral, por exemplo, vetor lentiviral.



#### 4. Multi-direcionamento

[00453] Em algumas modalidades, as células e métodos incluem estratégias de multi-direcionamento, tal como expressão de dois ou mais receptores geneticamente modificados na célula, cada um reconhecendo o mesmo de um antígeno diferente e tipicamente cada um incluindo um componente de sinalização intracelular diferente. Tais estratégias de multi-direcionamento são descritas, por exemplo, na Publicação de PCT WO 2014055668 A1 (descrevendo combinações de CARs ativadores e coestimulatórios, por exemplo, alvejando dois antígenos diferentes presentes individualmente em alvo externo, por exemplo, células normais, porém presentes apenas em células da doença ou condição a ser tratada) e Fedorov *et al.*, *Sci. Transl. Medicine*, 5 (215) (2013) (descrevendo células expressando um CAR ativador e um inibidor, tal como aquelas nas quais o CAR ativador se liga a um antígeno expresso em células normais ou não doentes e nas células da doença ou condição a ser tratada, e o CAR inibitório liga-se a outro antígeno expresso apenas nas células normais ou células que não se deseja tratar).

[00454] Por exemplo, em algumas modalidades, as células incluem um receptor expressando um primeiro receptor de antígeno geneticamente modificado (por exemplo, CAR ou TCR) que é capaz de induzir um sinal de ativação na célula, geralmente mediante ligação específica ao antígeno reconhecido por o primeiro receptor, por exemplo, o primeiro antígeno. Em algumas modalidades, a célula inclui também um segundo receptor de antígeno geneticamente modificado (por exemplo, CAR ou TCR), por exemplo, um receptor coestimulatório quimérico, que é capaz de induzir um sinal coestimulatório para a célula imune, geralmente mediante ligação específica a um segundo antígeno reconhecido pelo segundo receptor. Em algumas modalidades, o primeiro antígeno e o segundo antígeno são os mesmos. Em algumas

modalidades, o primeiro antígeno e o segundo antígeno são diferentes.

[00455] Em algumas modalidades, o primeiro e/ou o segundo receptor de antígeno geneticamente modificado (por exemplo, CAR ou TCR) é capaz de induzir um sinal de ativação para a célula. Em algumas modalidades, o receptor inclui um componente de sinalização intracelular contendo *motivos* ITAM ou ITAM. Em algumas modalidades, a ativação induzida pelo primeiro receptor envolve uma transdução de sinal ou alteração na expressão de proteínas na célula, resultando no início de uma resposta imune, como a fosforilação de ITAM e/ou o início da cascata de transdução de sinal mediada por ITAM, a formação de uma sinapse imunológica e/ou agrupamento de moléculas próximas ao receptor ligado (por exemplo, CD4 ou CD8, etc.), ativação de um ou mais fatores de transcrição, como NF- $\kappa$ B e/ou AP-1, e/ou indução da expressão gênica de fatores tais como proliferação e/ou sobrevivência de citocinas.

[00456] Em algumas modalidades, o primeiro e/ou o segundo receptores incluem domínios de sinalização intracelular de receptores coestimulatórios, tais como CD28, CD137 (4-1 BB), OX40 e/ou ICOS. Em algumas modalidades, o primeiro e o segundo receptores incluem um domínio de sinalização intracelular de um receptor coestimulatório que são diferentes. Em uma modalidade, o primeiro receptor contém uma região de sinalização coestimuladora de CD28 e o segundo receptor contém uma região de sinalização coestimuladora de 4-1BB ou *vice-versa*.

[00457] Em algumas modalidades, o primeiro e/ou o segundo receptores incluem um domínio de sinalização intracelular contendo *motivos* de ITAM ou similares a ITAM e um domínio de sinalização intracelular de um receptor coestimulatório.

[00458] Em algumas modalidades, o primeiro receptor contém um

domínio de sinalização intracelular contendo *motivos* de ITAM ou ITAM e o segundo receptor contém um domínio de sinalização intracelular de um receptor coestimulatório. O sinal coestimulatório em combinação com o sinal de ativação induzido na mesma célula é aquele que resulta em uma resposta imune, tal como uma resposta imune robusta e sustentada, tal como aumento da expressão gênica, secreção de citocinas e outros fatores e funções efetoras mediadas por células T, tal como morte celular.

[00459] Em algumas modalidades, nem a ligação do primeiro receptor isoladamente nem a ligação do segundo receptor isoladamente induz uma resposta imune robusta. Em alguns aspectos, se apenas um receptor é ligado, a célula torna-se tolerada ou não responde ao antígeno ou inibida e/ou não é induzida para proliferar ou secretar fatores ou realizar funções efetoras. Em algumas destas modalidades, no entanto, quando a pluralidade de receptores é ligada, como no encontro de uma célula expressando o primeiro e o segundo antígenos, é alcançada uma resposta desejada, tal como ativação ou estimulação imune completa, por exemplo, como indicado pela secreção de receptores. Uma ou mais citocinas, proliferação, persistência e/ou realização de uma função efetora imunológica, como a morte citotóxica de uma célula alvo.

[00460] Em algumas modalidades, as células expressando o receptor recombinante incluem também CARs inibitórios (iCARs, ver Fedorov *et al.*, *Sci. Transl. Medicine*, 5 (215) (2013), tal como um CAR que reconhece um antígeno diferente daquele não associado a e/ou específico para a doença ou condição pela qual um sinal de ativação liberado através do CAR que alvejada a doença é diminuído ou inibido pela ligação do inibidor de CAR ao seu ligante, por exemplo, para reduzir os efeitos fora do alvo.

[00461] Em algumas modalidades, os dois receptores induzem,

respectivamente, um sinal de ativação e inibitório à célula, de modo que a ligação de um dos receptores ao antígeno do mesmo ative a célula ou induza uma resposta, porém a ligação pelo segundo receptor inibidor ao antígeno do mesmo induza um sinal que suprime ou amortece tal resposta. Exemplos são combinações de CARs ativadores e CARs inibidores ou iCARs. Tal estratégia pode ser usada, por exemplo, na qual o CAR ativador liga um antígeno expresso em uma doença ou condição, porém que também é expresso em células normais, e o receptor inibitório se liga a um antígeno separado que é expresso nas células normais, porém não células da doença ou condição.

[00462] Em alguns aspectos, o receptor quimérico é ou inclui um CAR inibitório (por exemplo, iCAR) e inclui componentes intracelulares que amortecem ou suprimem uma resposta imune, tal como uma resposta promovida por ITAM e/ou coestimuladora na célula. Exemplos de tais componentes de sinalização intracelular são aqueles encontrados nas moléculas do ponto de verificação imune, incluindo PD-1, CTLA4, LAG3, BTLA, OX2R, TIM-3, TIGIT, LAIR-1, receptores PGE2, receptores EP2/4 de adenosina, incluindo A2AR. Em alguns aspectos, a célula modificada inclui um CAR inibitório incluindo um domínio de sinalização ou derivado de uma molécula inibidora, de modo que sirva para amortecer a resposta da célula, por exemplo, aquela induzida por um CAR ativador e/ou coestimulatório.

[00463] Em algumas modalidades, a estratégia de multi-direcionamento é empregada em um caso em que um antígeno associado a uma doença ou condição específica é expresso em uma célula não doente e/ou é expresso na própria célula modificada, seja de forma transitória (por exemplo, no estímulo associado à engenharia genética) ou permanentemente. Em tais casos, requerendo a ligação de dois receptores de antígeno separados e individualmente específicos, a especificidade, a seletividade e/ou a eficácia podem ser melhoradas

[00464] Em algumas modalidades, a pluralidade de antígenos, por exemplo, o primeiro e o segundo antígenos, são expressos na célula, tecido ou doença ou condição alvejada, tal como na célula cancerígena. Em alguns aspectos, a célula, tecido, doença ou condição é mieloma múltiplo ou uma célula de mieloma múltiplo. Em algumas modalidades, um ou mais da pluralidade de antígenos geralmente também é expressa em uma célula que não é desejável direcionar com a terapia celular, tal como uma célula ou tecido normal ou não doente e/ou as próprias células modificadas. Em tais modalidades, exigindo a ligação de múltiplos receptores para obter uma resposta da célula, é alcançada especificidade e/ou eficácia.

#### B. CÉLULAS E PREPARAÇÃO DE CÉLULAS PARA ENGENHARIA GENÉTICA

[00465] Entre as células expressando os receptores e administradas pelos métodos fornecidos estão as células modificadas. A engenharia genética geralmente envolve a introdução de um ácido nucleico que codifica o componente recombinante ou modificado em uma composição contendo as células, tal como por transdução, transfecção ou transformação retroviral.

[00466] Em algumas modalidades, os ácidos nucleicos são heterólogos, ou seja, normalmente não estão presentes em uma célula ou amostra obtida da célula, tal como uma obtida de outro organismo ou célula que, por exemplo, normalmente não é encontrado na célula que está sendo modificada e/ou um organismo do qual tal célula é derivada. Em algumas modalidades, os ácidos nucleicos não ocorrem naturalmente, tal como um ácido nucleico não encontrado na natureza, incluindo aquele que compreende combinações quiméricas de ácidos nucleicos que codificam vários domínios de vários tipos de células diferentes.

[00467] As células geralmente são células eucarióticas, tal como

células de mamíferos, e tipicamente são células humanas. Em algumas modalidades, as células são derivadas do sangue, medula óssea, linfa ou órgãos linfoides, são células do sistema imunológico, tal como células da imunidade inata ou adaptativa, por exemplo, células mieloides ou linfoides, incluindo linfócitos, tipicamente T células e/ou células NK. Outras células exemplares incluem células-tronco, tais como células-tronco multipotentes e pluripotentes, incluindo células-tronco pluripotentes induzidas (iPSCs). As células são tipicamente células primárias, tais como aquelas isoladas diretamente de um indivíduo e/ou isoladas de um indivíduo e congeladas. Em algumas modalidades, as células incluem um ou mais subconjuntos de células T ou outros tipos de células, tal como populações inteiras de células T, células CD4<sup>+</sup>, células CD8<sup>+</sup> e subpopulações das mesmas, tal como aquelas definidas por função, estado de ativação, maturidade, potencial para capacidades de diferenciação, expansão, recirculação, localização e/ou persistência, especificidade de antígeno, tipo de receptor de antígeno, presença em um órgão ou compartimento específico, perfil de secreção de marcador ou citocina e/ou grau de diferenciação. Com referência ao indivíduo a ser tratado, as células podem ser alogênicas e/ou autólogas. Entre os métodos incluem métodos prontos para uso. Em alguns aspectos, tal como para tecnologias prontas para uso, as células são pluripotentes e/ou multipotentes, tais como células-tronco, como células-tronco pluripotentes induzidas (iPSCs). Em algumas modalidades, os métodos incluem isolamento de células do indivíduo, preparação, processo, cultivo e/ou modificação das mesmas e reintrodução das no mesmo indivíduo, antes ou depois da criopreservação.

[00468] Entre os subtipos e subpopulações de células T e/ou CD4<sup>+</sup> e/ou CD8<sup>+</sup>, estão as células T *naïves* (T<sub>N</sub>), as células T efetoras (T<sub>EFF</sub>), as células T de memória e subtipos das mesmas, tais como células T memória genealógicas (T<sub>SCM</sub>), T de memória central (T<sub>CM</sub>), T de memó-

ria efetora ( $T_{EM}$ ) ou células T de memória efetora terminalmente diferenciada, linfócitos infiltrantes de tumor (TIL), células T imaturas, células T maduras, células T auxiliares, células T citotóxicas, células T in-variantes associadas à mucosa (CIT), células T reguladoras adaptativas e de ocorrência natural ( $T_{reg}$ ), células T auxiliares, tal como células TH1, células TH2, células TH3, células TH3, células TH17, células TH9, células TH22, células T foliculares auxiliares, células T alfa/beta e células T delta/gama

[00469] Em algumas modalidades, as células são células exterminadoras naturais (NK). Em algumas modalidades, as células são monócitos ou granulócitos, por exemplo, células mieloides, macrófagos, neutrófilos, células dendríticas, mastócitos, eosinófilos e/ou basófilos.

[00470] Em algumas modalidades, as células incluem um ou mais ácidos nucleicos introduzidos por engenharia genética e, desse modo, expressam produtos recombinantes ou geneticamente modificados por tais ácidos nucleicos. Em algumas modalidades, os ácidos nucleicos são heterólogos, ou seja, normalmente não estão presentes em uma célula ou amostra obtida da célula, tal como uma obtida de outro organismo ou célula, que, por exemplo, não é normalmente encontrada na célula que está sendo modificada e/ou um organismo do qual tal célula é derivada. Em algumas modalidades, os ácidos nucleicos não ocorrem naturalmente, tal como um ácido nucleico não encontrado na natureza, incluindo um que compreende combinações quiméricas de ácidos nucleicos que codificam vários domínios de vários tipos de células diferentes.

[00471] Em algumas modalidades, a preparação das células modificadas inclui uma ou mais etapas de cultura e/ou preparação. As células para introdução do ácido nucleico que codifica o receptor transgênico, tal como o CAR, podem ser isoladas de uma amostra, tal como uma amostra biológica, por exemplo, uma obtida ou derivada de um

indivíduo. Em algumas modalidades, o indivíduo do qual a célula é isolada é aquele que tem a doença ou condição ou precisa de uma terapia celular ou ao qual a terapia celular será administrada. O indivíduo em algumas modalidades é um ser humano que precisa de uma intervenção terapêutica específica, tal como a terapia celular adotiva para a qual as células estão sendo isoladas, processadas e/ou modificadas.

[00472] Consequentemente, as células em algumas modalidades são células primárias, por exemplo, células humanas primárias. As amostras incluem tecido, fluido e outras amostras colhidas diretamente do indivíduo, bem como amostras resultantes de uma ou mais etapas de processamento, tais como separação, centrifugação, engenharia genética (por exemplo, transdução com vetor viral), lavagem e/ou incubação. A amostra biológica pode ser uma amostra obtida diretamente de uma fonte biológica ou de uma amostra que é processada. As amostras biológicas incluem, entre outros, fluidos corporais, tais como sangue, plasma, soro, líquido cefalorraquidiano, líquido sinovial, urina e suor, amostras de tecidos e órgãos, incluindo amostras processadas derivadas dos mesmos.

[00473] Em alguns aspectos, a amostra da qual as células são derivadas ou isoladas é sangue ou uma amostra derivada de sangue, ou é derivada de um produto de aférese ou leucaférese. Exemplos de amostras incluem sangue total, células mononucleares do sangue periférico (PBMCs), leucócitos, medula óssea, timo, biópsia de tecido, tumor, leucemia, linfoma, linfonodo, tecido linfoide associado ao intestino, tecido linfoide associado à mucosa, baço, outros tecidos linfoides, fígado pulmão, estômago, intestino, cólon, rim, pâncreas, mama, osso, próstata, colo do útero, testículos, ovários, amígdalas ou outro órgão e/ou células derivados dos mesmos. As amostras incluem, no contexto da terapia celular, por exemplo, terapia celular adotiva, amostras de fontes autólogas e alogênicas.



[00474] Em algumas modalidades, as células são derivadas de linhagens celulares, por exemplo, linhagens de células T. As células, em algumas modalidades, são obtidas a partir de uma fonte xenogênica, por exemplo, de camundongo, rato, primata não humano e porco.

[00475] Em algumas modalidades, o isolamento das células inclui uma ou mais etapas de preparação e/ou separação por células sem afinidade. Em alguns exemplos, as células são lavadas, centrifugadas e/ou incubadas na presença de um ou mais reagentes, por exemplo, para remover componentes indesejados, enriquecer componentes desejados, lisar ou remover células sensíveis a reagentes específicos. Em alguns exemplos, as células são separadas com base em uma ou mais propriedades, tais como densidade, propriedades aderentes, tamanho, sensibilidade e/ou resistência a componentes específicos.

[00476] Em alguns exemplos, as células do sangue circulante de um indivíduo são obtidas, por exemplo, por aférese ou leucaférese. As amostras, em alguns aspectos, contêm linfócitos, incluindo células T, monócitos, granulócitos, células B, outros glóbulos brancos nucleados, glóbulos vermelhos e/ou plaquetas e, em alguns aspectos, contêm outras células diferentes de glóbulos vermelhos e plaquetas.

[00477] Em algumas modalidades, as células sanguíneas coletadas do indivíduo são lavadas, por exemplo, para remover a fração plasmática e colocar as células em um tampão ou meio apropriado para etapas subsequentes de processamento. Em algumas modalidades, as células são lavadas com solução salina tamponada com fosfato (PBS). Em algumas modalidades, a solução de lavagem necessita de cálcio e/ou magnésio e/ou muitos ou todos os cátions divalentes. Em alguns aspectos, uma etapa de lavagem é realizada por uma centrífuga semi-automatizada de "fluxo contínuo" (por exemplo, o processador de células Cobe 2991, Baxter) de acordo com as instruções do fabricante. Em alguns aspectos, uma etapa de lavagem é realizada por filtração de

fluxo tangencial (TFF) de acordo com as instruções do fabricante. Em algumas modalidades, as células são ressuspensas em uma variedade de tampões biocompatíveis após a lavagem, tal como, por exemplo, PBS livre de  $\text{Ca}^{++}/\text{Mg}^{++}$ . Em certas modalidades, os componentes de uma amostra de células sanguíneas são removidos e as células ressuspensas diretamente nos meios de cultura.

[00478] Em algumas modalidades, os métodos incluem métodos de separação de células com base na densidade, tal como a preparação de glóbulos brancos a partir de sangue periférico através da lise dos glóbulos vermelhos e centrifugação através de um gradiente de Percoll ou Ficoll.

[00479] Em algumas modalidades, os métodos de isolamento incluem a separação de diferentes tipos de células com base na expressão ou presença na célula de uma ou mais moléculas específicas, tais como marcadores de superfície, por exemplo, proteínas de superfície, marcadores intracelulares ou ácido nucleico. Em algumas modalidades, qualquer método conhecido para separação com base em tais marcadores pode ser usado. Em algumas modalidades, a separação é uma separação com base em afinidade ou imunoafinidade. Por exemplo, o isolamento em alguns aspectos inclui a separação de células e populações de células com base na expressão ou nível de expressão das células de um ou mais marcadores, tipicamente marcadores de superfície celular, por exemplo, por incubação com um anticorpo ou parceiro de ligação que se liga especificamente a tais marcadores, seguidos geralmente por etapas de lavagem e separação de células que se ligaram ao anticorpo ou parceiro de ligação, daquelas células que não se ligaram ao anticorpo ou parceiro de ligação.

[00480] Tais etapas de separação podem ser baseadas na seleção positiva, na qual as células que ligaram os reagentes são retidas para uso posterior e/ou seleção negativa, na qual as células que não se li-

gam ao anticorpo ou parceiro de ligação são retidas. Em alguns exemplos, ambas as frações são retidas para uso posterior. Em alguns aspectos, a seleção negativa pode ser particularmente útil onde nenhum anticorpo está disponível que identifique especificamente um tipo de célula em uma população heterogênea, de modo que a separação seja melhor realizada com base em marcadores expressos por células diferentes da população desejada.

[00481] A separação não precisa resultar em 100% de enriquecimento ou remoção de uma determinada população de células ou células expressando um determinado marcador. Por exemplo, seleção positiva ou enriquecimento para células de um tipo específico, tal como aquelas que expressam um marcador, refere-se ao aumento do número ou porcentagem destas células, porém não precisa resultar em uma ausência completa de células que não expressam o marcador. Da mesma forma, seleção negativa, remoção ou depleção de células de um tipo específico, tal como aquelas que expressam um marcador, refere-se à diminuição do número ou porcentagem destas células, porém não precisa resultar na remoção completa de todas tais células.

[00482] Em alguns exemplos, várias rodadas de etapas de separação são realizadas, onde a fração selecionada positiva ou negativamente de uma etapa é sujeita a outra etapa de separação, tal como uma seleção positiva ou negativa subsequente. Em alguns exemplos, uma única etapa de separação pode depauperar as células expressando vários marcadores simultaneamente, tal como incubando células com uma pluralidade de anticorpos ou parceiros de ligação, cada um específico para um marcador direcionado para seleção negativa. Da mesma forma, vários tipos de células podem ser simultaneamente selecionados positivamente através da incubação de células com uma pluralidade de anticorpos ou parceiros de ligação expressos nos vários tipos de células.

[00483] Por exemplo, em alguns aspectos, subpopulações específicas de células T, tal como células positivas ou expressando altos níveis de um ou mais marcadores de superfície, por exemplo, CD28<sup>+</sup>, CD62L<sup>+</sup>, CCR7<sup>+</sup>, CD27<sup>+</sup>, CD127<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD45RA<sup>+</sup> e/ou células T CD45RO<sup>+</sup>, são isoladas por técnicas de seleção positiva ou negativa.

[00484] Por exemplo, as células T CD3<sup>+</sup>, CD28<sup>+</sup> podem ser selecionadas positivamente usando contas magnéticas conjugadas com anti-CD3/anti-CD28 (por exemplo, DYNABEADS® M-450 CD3/CD28 T Cell Expander).

[00485] Em algumas modalidades, o isolamento é realizado por enriquecimento de uma população celular específica por seleção positiva, ou depleção de uma população celular específica, por seleção negativa. Em algumas modalidades, a seleção positiva ou negativa é realizada incubando células com um ou mais anticorpos ou outro agente de ligação que se ligam especificamente a um ou mais marcadores de superfície expressos ou (marcador<sup>+</sup>) em um nível relativamente mais elevado (marcador <sup>elevado</sup>) nas células positiva ou no negativamente selecionadas, respectivamente.

[00486] Em algumas modalidades, as células T são separadas de uma amostra de PBMC por seleção negativa de marcadores expressos em células não T, tais como células B, monócitos ou outros glóbulos brancos, como CD14. Em alguns aspectos, uma etapa de seleção CD4<sup>+</sup> ou CD8<sup>+</sup> é usada para separar as células T citotóxicas auxiliares CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>. Tais populações CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> podem ser também classificadas em subpopulações por seleção positiva ou negativa para marcadores expressos em um grau relativamente mais elevado em uma ou mais subpopulações de células T *naïves*, de memória e/ou efectoras.

[00487] Em algumas modalidades, as células CD8<sup>+</sup> são também enriquecidas ou depauperadas de células tronco *naïves*, de memória

central, de memória efetiva e/ou de células tronco da memória central, tal como por seleção positiva ou negativa com base em antígenos de superfície associados à respectiva subpopulação. Em algumas modalidades, o enriquecimento das células T de memória central ( $T_{CM}$ ) é realizado para aumentar a eficácia, tal como para melhorar a sobrevivência a longo prazo, a expansão e/ou o enxerto após a administração, que em alguns aspectos é particularmente robusto em tais subpopulações. Veja, Terakura *et al.*, *Blood* 1:72–82 (2012); Wang *et al.*, *J. Immunother.* 35 (9):689-701 (2012). Em algumas modalidades, a combinação de células T  $CD8^+$  enriquecidas com TCM e células T  $CD4^+$  também realça a eficácia.

[00488] Em algumas modalidades, as células T de memória estão presentes nos subconjuntos  $CD62L^+$  e  $CD62L^-$  dos linfócitos do sangue periférico  $CD8^+$ . O PBMC pode ser enriquecido ou depauperado das frações  $CD62L^-CD8^+$  e/ou  $CD62L^+ CD8^+$ , tal como usando anticorpos anti- $CD8$  e anti- $CD62L$ .

[00489] Em algumas modalidades, o enriquecimento para células T de memória central (TCM) é baseado na expressão superficial positiva ou elevada de  $CD45RO$ ,  $CD62L$ ,  $CCR7$ ,  $CD28$ ,  $CD3$  e/ou  $CD127$ ; em alguns aspectos, é baseado na seleção negativa para células expressando ou que expressam  $CD45RA$  e/ou granzima B. Em alguns aspectos, o isolamento de uma população de  $CD8^+$  enriquecida para células TCM é realizado pela depleção de células expressando  $CD4$ ,  $CD14$ ,  $CD45RA$ , e seleção ou enriquecimento positivo para células expressando  $CD62L$ . Em um aspecto, o enriquecimento das células T da memória central ( $T_{CM}$ ) é realizado começando com uma fração negativa de células selecionadas com base na expressão de  $CD4$ , que é submetida a uma seleção negativa com base na expressão de  $CD14$  e  $CD45RA$  e uma seleção positiva com base em  $CD62L$ . Tais seleções em alguns aspectos são realizadas simultaneamente e em outros as-

pectos são realizadas sequencialmente, em qualquer ordem. Em alguns aspectos, a mesma etapa de seleção baseada na expressão de CD4 usada na preparação da população ou subpopulação de células CD8<sup>+</sup>, também é usada para gerar a população ou subpopulação de células CD4<sup>+</sup>, de modo que as frações positivas e negativas da separação baseada em CD4 sejam retidas e usadas nas etapas subsequentes dos métodos, seguindo opcionalmente uma ou mais etapas de seleção positivas ou negativas.

[00490] Em um exemplo particular, uma amostra de PBMCs ou outra amostra de glóbulos brancos é submetida à seleção de células CD4<sup>+</sup>, onde são mantidas as frações negativa e positiva. A fração negativa é então submetida à seleção negativa com base na expressão de CD14 e CD45RA ou CD19, e seleção positiva com base em um marcador característico das células T da memória central, tais como CD62L ou CCR7, onde as seleções positiva e negativa são realizadas em ordem.

[00491] As células auxiliares CD4<sup>+</sup> T são classificadas em células *naïves*, de memória central e efectoras, identificando populações de células que possuem antígenos na superfície celular. Os linfócitos CD4<sup>+</sup> podem ser obtidos por métodos padrão. Em algumas modalidades, os linfócitos T CD4<sup>+</sup> *naïves* são células CD45RO<sup>-</sup>, CD45RA<sup>+</sup>, CD62L<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>. Em algumas modalidades, as células CD4<sup>+</sup> da memória central são CD62L<sup>+</sup> e CD45RO<sup>+</sup>. Em algumas modalidades, as células CD4<sup>+</sup> efectoras são CD62L<sup>-</sup> e CD45RO<sup>-</sup>.

[00492] Em um exemplo, para enriquecer as células CD4<sup>+</sup> por seleção negativa, um coquetel de anticorpos monoclonais normalmente inclui anticorpos para CD14, CD20, CD11b, CD16, HLA-DR e CD8. Em algumas modalidades, o anticorpo ou parceiro de ligação está ligado a um suporte ou matriz sólida, tal como uma conta magnética ou conta paramagnética, para permitir a separação de células por seleção

positiva e/ou negativa. Por exemplo, em algumas modalidades, as células e as populações de células são separadas ou isoladas usando técnicas de separação imunomagnética (ou afinidade magnética) (revisadas em *Molecular Medicine*, vol. 58: *Metastasis Research Protocols*, Vol. 2: *Cell Behavior In vitro e In vivo*, p 17-25 Editado por: SA Brooks e U. Schumacher © Humana Press Inc., Totowa, NJ).

[00493] Em alguns aspectos, a amostra ou composição de células a serem separadas é incubada com material pequeno, magnetizável ou responsivo magneticamente, tal como partículas ou micropartículas responsivas magneticamente, tal como contas paramagnéticas (por exemplo, contas Dynalbeads ou MACS). O material responsivo magneticamente, por exemplo, partícula, geralmente é direta ou indiretamente ligado a um parceiro de ligação, por exemplo, um anticorpo que se liga especificamente a uma molécula, por exemplo, marcador de superfície, presente na célula, células ou população de células que é desejável separar, por exemplo, que é desejável selecionar negativa ou positivamente.

[00494] Em algumas modalidades, a partícula ou conta magnética compreende um material responsivo magneticamente ligado a um membro de ligação específico, tal como um anticorpo ou outro parceiro de ligação. Existem muitos materiais responsivos magneticamente conhecidos usados nos métodos de separação magnética. Partículas magnéticas adequadas incluem as descritas em Molday, Patente dos Estados Unidos nº 4.452.773, e na Especificação de Patente Europeia EP 452342 B, que são incorporadas aqui por referência. Partículas de tamanho coloidal, tais como aquelas descritas em Owen, Patente dos Estados Unidos nº 4.795.698, e Liberti *et al.*, Patente dos Estados Unidos nº 5.200.084 são outros exemplos.

[00495] A incubação geralmente é realizada sob condições pelas quais os anticorpos ou parceiros de ligação, ou moléculas, tais como

anticorpos secundários ou outros reagentes, que se ligam especificamente a tais anticorpos ou parceiros de ligação, que estão ligados à partícula ou conta magnética, especificamente ligam-se às moléculas da superfície celular, se presentes nas células da amostra.

[00496] Em alguns aspectos, a amostra é colocada em um campo magnético e as células que possuem partículas magneticamente responsivas ou magnetizáveis ligadas a ele serão atraídas para o ímã e separadas das células não rotuladas. Para seleção positiva, as células atraídas pelo ímã são retidas; para seleção negativa, as células que não são atraídas (células não rotuladas) são retidas. Em alguns aspectos, uma combinação de seleção positiva e negativa é realizada durante a mesma etapa de seleção, onde as frações positiva e negativa são retidas e processadas posteriormente ou submetidas às etapas de separação adicionais.

[00497] Em certas modalidades, as partículas magneticamente responsivas são revestidas em anticorpos primários ou outros parceiros de ligação, anticorpos secundários, lectinas, enzimas ou estreptavidina. Em certas modalidades, as partículas magnéticas são conectadas às células através de um revestimento de anticorpos primários específicos para um ou mais marcadores. Em certas modalidades, as células, em vez das contas, são rotuladas com um anticorpo primário ou parceiro de ligação e, em seguida, são adicionadas partículas magnéticas revestidas com anticorpo secundário específico do tipo de célula ou outro parceiro de ligação (por exemplo, estreptavidina). Em certas modalidades, partículas magnéticas revestidas com estreptavidina são usadas em conjunto com anticorpos primários ou secundários biotinilados.

[00498] Em algumas modalidades, as partículas responsivas magneticamente são deixadas ligar-se às células que devem ser subsequentemente incubadas, cultivadas e/ou modificadas; em alguns as-



pectos, as partículas são deixadas ligar-se às células para administração a um paciente. Em algumas modalidades, as partículas magnetizáveis ou magneticamente responsivas são removidas das células. Os métodos para remover partículas magnetizáveis das células são conhecidos e incluem, por exemplo, o uso de anticorpos não marcados concorrentes e partículas ou anticorpos magnetizáveis conjugados com ligantes cliváveis. Em algumas modalidades, as partículas magnetizáveis são biodegradáveis.

[00499] Em algumas modalidades, a seleção com base na afinidade é por meio de classificação celular ativada magneticamente (MACS) (Miltenyi Biotec, Auburn, CA). Os sistemas de Classificação Magnética de Células Ativadas (MACS) são capazes de selecionar pureza elevada de células com partículas magnetizadas ligadas a eles. Em certas modalidades, o MACS opera em um modo, em que as espécies não alvo e alvo são sequencialmente eluídas após a aplicação do campo magnético externo. Ou seja, as células ligadas às partículas magnetizadas são mantidas no lugar enquanto as espécies não acopladas são eluídas. Então, após a conclusão desta primeira etapa de eluição, as espécies que foram capturadas no campo magnético e impedidas de serem eluídas são liberadas de alguma maneira, de forma que possam ser eluídas e recuperadas. Em certas modalidades, as células não alvo são rotuladas e depauperadas da população heterogênea de células.

[00500] Em certas modalidades, o isolamento ou separação é realizado usando um sistema, dispositivo ou aparelho que realiza uma ou mais das etapas de isolamento, preparação celular, separação, processamento, incubação, cultura e/ou formulação dos métodos. Em alguns aspectos, o sistema é usado para realizar cada uma destas etapas em um ambiente fechado ou estéril, por exemplo, para minimizar erros, manipulação do usuário e/ou contaminação. Em um exemplo, o

sistema é um sistema tal como descrito na Publicação de PCT nº WO2009/072003, ou US 20110003380 A1.

[00501] Em algumas modalidades, o sistema ou aparelho realiza uma ou mais, por exemplo, todas as etapas de isolamento, processamento, modificação e formulação em um sistema integrado ou independente, e/ou de maneira automatizada ou programável. Em alguns aspectos, o sistema ou aparelho inclui um computador e/ou programa de computador em comunicação com o sistema ou aparelho, que permite ao usuário programar, controlar, avaliar o resultado e/ou ajustar vários aspectos das etapas de processamento, isolamento, modificação e formulação.

[00502] Em alguns aspectos, a separação e/ou outras etapas são realizadas usando o sistema CliniMACS (Miltenyi Biotec), por exemplo, para separação automatizada de células em nível de escala clínica em um sistema fechado e estéril. Os componentes podem incluir um microcomputador integrado, unidade de separação magnética, bomba peristáltica e várias válvulas de manga flexível. O computador integrado, em alguns aspectos, controla todos os componentes do instrumento e controla o sistema para executar procedimentos repetidos em uma sequência padronizada. A unidade de separação magnética, em alguns aspectos, inclui um ímã permanente móvel e um suporte para a coluna de seleção. A bomba peristáltica controla a vazão em todo o conjunto de tubulação e, juntamente com as válvulas de manga flexível, garante o fluxo controlado de tampão através do sistema e a suspensão contínua das células.

[00503] O sistema CliniMACS, em alguns aspectos, usa partículas magnetizáveis acopladas a anticorpos que são fornecidas em uma solução estéril e não pirogênica. Em algumas modalidades, após a marcação das células com partículas magnéticas, as células são lavadas para remover o excesso de partículas. Uma bolsa de preparação de

células é então conectada ao conjunto de tubos, que por sua vez é conectado a uma bolsa contendo tampão e uma bolsa de coleta de células. O conjunto de tubos consiste em tubos estéreis pré-montados, incluindo uma pré-coluna e uma coluna de separação, e são apenas para uso único. Após o início do programa de separação, o sistema aplica automaticamente a amostra de células na coluna de separação. As células rotuladas são retidas na coluna, enquanto as células não rotuladas são removidas por uma série de etapas de lavagem. Em algumas modalidades, as populações de células para uso com os métodos descritos aqui não são rotuladas e não são retidas na coluna. Em algumas modalidades, as populações de células para uso com os métodos descritos aqui são rotuladas e retidas na coluna. Em algumas modalidades, as populações de células para uso com os métodos descritos aqui são eluídas da coluna após a remoção do campo magnético e são coletadas dentro do saco de coleta de células.

[00504] Em certas modalidades, a separação e/ou outras etapas são realizadas usando o sistema CliniMACS Prodigy (Miltenyi Biotec). O sistema CliniMACS Prodigy, em alguns aspectos, é equipado com uma unidade de processamento celular que permite a lavagem e o fracionamento automatizados de células por centrifugação. O sistema CliniMACS Prodigy também pode incluir uma câmera integrada e um *software* de reconhecimento de imagem que determina o ponto final ideal de fracionamento da célula, discernindo as camadas macroscópicas do produto da célula de origem. Por exemplo, o sangue periférico é automaticamente separado em eritrócitos, glóbulos brancos e camadas plasmáticas. O sistema CliniMACS Prodigy também pode incluir uma câmara de cultivo celular integrada que realiza protocolos de cultura de células tais como, por exemplo, diferenciação e expansão celular, carregamento de antígeno e cultura celular de longo prazo. As portas de entrada podem permitir a remoção estéril e a reposi-

ção de mídia e as células podem ser monitoradas usando um microscópio integrado. Veja, por exemplo, Klebanoff *et al.*, *J. Immunother.* 35 (9):651–660 (2012), Terakura *et al.*, *Blood* 117:72–82 (2012) e Wang *et al.*, *J. Immunother.* 35 (9):689-701 (2012).

[00505] Em algumas modalidades, uma população de células aqui descrita é coletada e enriquecida (ou depauperada) por citometria de fluxo, na qual as células manchadas para vários marcadores de superfície celular são transportadas em uma corrente fluídica. Em algumas modalidades, uma população de células descrita aqui é coletada e enriquecida (ou depauperada) por meio de classificação em escala preparativa (FACS). Em certas modalidades, uma população de células aqui descrita é coletada e enriquecida (ou depauperada) pelo uso de *chips* de sistemas microeletromecânicos (MEMS) em combinação com um sistema de detecção com base em FACS (consulte, por exemplo, WO 2010/033140, Cho *et al.*, *Lab Chip* 10, 1567-1573 (2010) e Godin *et al.*, *J. Biophoton.* 1 (5):355–376 (2008). Em ambos os casos, as células podem ser rotuladas com vários marcadores, permitindo o isolamento de subconjuntos de células T bem definidos com pureza elevada.

[00506] Em algumas modalidades, os anticorpos ou parceiros de ligação são marcados com um ou mais marcadores detectáveis, para facilitar a separação para seleção positiva e/ou negativa. Por exemplo, a separação pode ser baseada na ligação aos anticorpos marcados com fluorescência. Em alguns exemplos, a separação de células com base na ligação de anticorpos ou outros parceiros de ligação específicos para um ou mais marcadores de superfície celular é realizada em uma corrente fluídica, como por classificação celular ativada por fluorescência (FACS), incluindo escala preparativa (FACS) e/ou *chips* de sistemas microeletromecânicos (MEMS), por exemplo, em combinação com um sistema de detecção citométrica de fluxo. Tais métodos permi-

tem a seleção positiva e negativa com base em vários marcadores simultaneamente.

[00507] Em algumas modalidades, os métodos de preparação incluem etapas para o congelamento, por exemplo, a criopreservação, as células, antes ou depois do isolamento, incubação e/ou modificação. Em algumas modalidades, a etapa subsequente de congelamento e descongelamento remove os granulócitos e, até certo ponto, monócitos na população celular. Em algumas modalidades, as células são suspensas em uma solução de congelamento, por exemplo, após uma etapa de lavagem para remover o plasma e as plaquetas. Qualquer uma de uma variedade de soluções e parâmetros de congelamento conhecidos em alguns aspectos pode ser usada. Um exemplo envolve o uso de PBS contendo 20% de DMSO e 8% de albumina sérica humana (HSA) ou outro meio de congelamento celular adequado. Este é então diluído 1:1 com meio, de modo que a concentração final de DMSO e HSA seja de 10% e 4%, respectivamente. As células são geralmente congeladas a  $-80^{\circ}\text{C}$  a uma taxa de  $1^{\circ}$  por minuto e armazenadas na fase de vapor de um tanque de armazenamento de nitrogênio líquido.

[00508] Em algumas modalidades, as células são incubadas e/ou cultivadas antes ou em conexão com a engenharia genética. As etapas de incubação podem incluir cultura, cultivo, estimulação, ativação e/ou propagação. A incubação e/ou engenharia pode ser realizada em um recipiente de cultura, tal como uma unidade, câmara, cavidade, coluna, tubo, conjunto de tubulação, válvula, frasco, prato de cultura, saco ou outro recipiente para células de cultura ou cultivo. Em algumas modalidades, as composições ou células são incubadas na presença de condições estimulantes ou de um agente estimulador. Tais condições incluem aquelas modificadas para induzir a proliferação, expansão, ativação e/ou sobrevivência de células na população, para

imitar a exposição ao antígeno e/ou preparar as células para engenharia genética, como para a introdução de um receptor de antígeno recombinante.

[00509] As condições podem incluir um ou mais meios específicos, temperatura, teor de oxigênio, teor de dióxido de carbono, tempo, agentes, por exemplo, nutrientes, aminoácidos, antibióticos, íons e/ou fatores estimulantes, como citocinas, quimiocinas, antígenos, parceiros de ligação, proteínas de fusão, receptores solúveis recombinantes e quaisquer outros agentes modificados para ativar as células.

[00510] Em algumas modalidades, as condições ou agentes estimulantes incluem um ou mais agentes, por exemplo, ligante, que é capaz de ativar um domínio de sinalização intracelular de um complexo de TCR. Em alguns aspectos, o agente liga ou inicia a cascata de sinalização intracelular do TCR/CD3 em uma célula T. Tais agentes podem incluir anticorpos, tais como os específicos para um TCR, por exemplo, anti-CD3. Em algumas modalidades, as condições estimulantes incluem um ou mais agentes, por exemplo, ligante, que é capaz de estimular um receptor coestimulatório, por exemplo, anti-CD28. Em algumas modalidades, tais agentes e/ou ligantes podem estar ligados a um suporte sólido, tal como um cordão, e/ou uma ou mais citocinas. Opcionalmente, o método de expansão pode também compreender a etapa de adição de anticorpo anti-CD3 e/ou anti CD28 ao meio de cultura (por exemplo, a uma concentração de pelo menos cerca de 0,5 ng/ml). Em algumas modalidades, os agentes estimulantes incluem IL-2, IL-15 e/ou IL-7. Em alguns aspectos, a concentração de IL-2 é de pelo menos cerca de 10 unidades/mL.

[00511] Em alguns aspectos, a incubação é realizada de acordo com técnicas como aquelas descritas na Patente dos Estados Unidos nº 6.040.177 de Riddell *et al.*, Klebanoff *et al.*, *J. Immunother.* 35 (9):651–660 (2012), Terakura *et al.*, *Blood* 117:72–82 (2012) e/ou Wang

*et al., J. Immunother.* 35 (9):689-701 (2012).

[00512] Em algumas modalidades, as células T são expandidas adicionando a uma composição células iniciadoras de cultura, tal como células mononucleares do sangue periférico (PBMC) não divididas (por exemplo, de modo que a população resultante de células contenha pelo menos cerca de 5, 10, 20 ou 40 ou mais células alimentadoras de PBMC para cada linfócito T na população inicial a ser expandida); e incubar a cultura (por exemplo, durante um tempo suficiente para expandir o número de células T). Em alguns aspectos, as células alimentadoras que não se dividem podem compreender células alimentadoras de PBMC irradiadas com gama. Em algumas modalidades, o PBMC é irradiado com raios gama na faixa de cerca de 3000 a 3600 rads para impedir a divisão celular. Em alguns aspectos, as células alimentadoras são adicionadas ao meio de cultura antes da adição das populações de células T.

[00513] Em algumas modalidades, as condições estimulantes incluem temperatura adequada para o crescimento de linfócitos T humanos, por exemplo, pelo menos cerca de 25 graus Celsius, geralmente pelo menos 30 graus e geralmente a ou cerca de 37 graus Celsius. Opcionalmente, a incubação pode também compreender a adição de células linfoblastoides transformadas por EBV não divididas (LCL) como células alimentadoras. O LCL pode ser irradiado com raios gama na faixa de cerca de 6000 a 10.000 rads. As células alimentadoras de LCL, em alguns aspectos, são fornecidas em qualquer quantidade adequada, tal como uma relação de células alimentadoras de LCL para linfócitos T iniciais de pelo menos cerca de 10:1.

[00514] Em modalidades, as células T específicas do antígeno, como as células T CD4<sup>+</sup> e/ou CD8<sup>+</sup> específicas do antígeno, são obtidas estimulando linfócitos T *naïves* ou específicos do antígeno com antígeno. Por exemplo, linhagens ou clones de células T específicas do

antígeno podem ser geradas para antígenos do citomegalovírus, isolando células T de indivíduos infectados e estimulando as células *in vitro* com o mesmo antígeno.

### C. ÁCIDOS NUCLEICOS, VETORES E MÉTODOS PARA A ENGENHARIA GENÉTICA

[00515] Em algumas modalidades, as células, por exemplo, células T, são geneticamente modificadas para expressar um receptor recombinante. Em algumas modalidades, a engenharia é realizada através da introdução de moléculas de ácido nucleico que codificam o receptor recombinante. Também são fornecidas moléculas de ácido nucleico que codificam um receptor recombinante e vetores ou construções contendo tais ácidos nucleicos e/ou moléculas de ácido nucleico.

[00516] Em alguns casos, a sequência de ácido nucleico que codifica o receptor recombinante, por exemplo, receptor de antígeno quimérico (CAR), contém uma sequência de sinal que codifica um peptídeo de sinal. Em alguns aspectos, a sequência de sinal pode codificar um peptídeo de sinal derivado de um polipeptídeo nativo. Em outros aspectos, a sequência de sinal pode codificar um peptídeo de sinal heterólogo ou não nativo. Em algumas modalidades, o sinal peptídico é derivado de uma proteína transmembranar. Em alguns exemplos, o sinal peptídico é derivado de CD8a, CD33 ou uma IgG. Exemplos não limitativos de peptídeos de sinal exemplares incluem, por exemplo, o peptídeo de sinal CD33 mencionado na SEQ ID NO:21, peptídeo de sinal CD8a apresentado na SEQ ID NO:75 ou o peptídeo de sinal mencionado na SEQ ID NO:76 ou variante das mesmas modificada.

[00517] Em algumas modalidades, a molécula de ácido nucleico que codifica o receptor recombinante contém pelo menos um promotor que está operacionalmente ligado ao controle da expressão do receptor recombinante. Em alguns exemplos, a molécula de ácido nucleico contém dois, três ou mais promotores operacionalmente ligados para



controlar a expressão do receptor recombinante. Em algumas modalidades, a molécula de ácido nucleico pode conter sequências reguladoras, como códons de iniciação e terminação da transcrição e tradução, que são específicos para o tipo de hospedeiro (por exemplo, bactéria, fungo, planta ou animal) no qual a molécula de ácido nucleico deve ser introduzido, como apropriado, e levando em consideração se a molécula de ácido nucleico é baseada em DNA ou RNA. Em algumas modalidades, a molécula de ácido nucleico pode conter elementos reguladores/de controle, tais como um promotor, um intensificador, um íntron, um sinal de poliadenilação, uma sequência de consenso de Kozak e um receptor ou doador de ligação. Em algumas modalidades, a molécula de ácido nucleico pode conter um promotor não nativo operacionalmente ligado à sequência de nucleotídeos que codifica o receptor recombinante e/ou um ou mais polipeptídeos adicionais. Em algumas modalidades, o promotor é selecionado dentre um promotor de RNA pol I, pol II ou pol III. Em algumas modalidades, o promotor é reconhecido pela RNA polimerase II (por exemplo, um promotor tardio principal da região inicial de CMV, SV40 ou principal adenovírus). Em outra modalidade, o promotor é reconhecido pela RNA polimerase III (por exemplo, um promotor U6 ou H1). Em algumas modalidades, o promotor pode ser um promotor não viral ou um promotor viral, tal como um promotor de citomegalovírus (CMV), um promotor SV40, um promotor de RSV e um promotor encontrado na repetição terminal longa do vírus da célula-tronco de murino. Outros promotores conhecidos também são contemplados.

[00518] Em algumas modalidades, o promotor é ou compreende um promotor constitutivo. Promotores constitutivos exemplificativos incluem, por exemplo, promotor inicial do vírus símio 40 (SV40), promotor imediato do citomegalovírus (CMV), promotor de Ubiquitina C humano (UBC), promotor do fator de alongamento humano 1 $\alpha$  (EF1 $\alpha$ ), promo-

tor da fosfoglicerato cinase 1 de camundongo (PGK) e promotor de  $\beta$ -actina de frango acoplado ao realçador precoce de CMV (CAGG). Em algumas modalidades, o promotor constitutivo é um promotor sintético ou modificado. Em algumas modalidades, o promotor é ou compreende um promotor de MND, um promotor sintético que contém a região U3 de um MoMuLV LTR modificado com realçador de vírus de sarcoma mieloproliferativo (veja, Challita *et al.* (1995) *J. Virol.* 69 (2):748 - 755). Em algumas modalidades, o promotor é um promotor específico de tecido. Em outra modalidade, o promotor é um promotor viral. Em outra modalidade, o promotor é um promotor não viral.

[00519] Em outra modalidade, o promotor é um promotor regulado (por exemplo, promotor indutível). Em algumas modalidades, o promotor é um promotor induzível ou um promotor reprimível. Em algumas modalidades, o promotor compreende uma sequência de operador Lac, uma sequência de operador de tetraciclina, uma sequência de operador de galactose ou uma sequência de operador de doxíciclina, ou é um análogo do mesmo ou é capaz de ser ligado ou reconhecido por um repressor de Lac ou um repressor de tetraciclina, ou um seu análogo. Em algumas modalidades, a molécula de ácido nucleico não inclui um elemento regulador, por exemplo, promotor.

[00520] Em algumas modalidades, a molécula de ácido nucleico que codifica o receptor recombinante, por exemplo, CAR ou outro receptor de antígeno, inclui também sequências de ácido nucleico que codificam um marcador e/ou células expressando o CAR ou outro receptor de antígeno incluem também um marcador, por exemplo, um marcador substituto, tal como um marcador de superfície celular, que pode ser usado para confirmar a transdução ou engenharia da célula para expressar o receptor, tal como uma versão truncada de um receptor de superfície celular, como EGFR truncado (tEGFR). Em algumas modalidades, o um ou mais marcadores é um marcador de trans-

dução, marcador substituto e/ou um marcador de seleção.

[00521] Em algumas modalidades, o marcador é um marcador de transdução ou um marcador substituto. Um marcador de transdução ou um marcador substituto pode ser usado para detectar células que foram introduzidas com a molécula de ácido nucleico, por exemplo, uma molécula de ácido nucleico que codifica um receptor recombinante. Em algumas modalidades, o marcador de transdução pode indicar ou confirmar a modificação de uma célula. Em algumas modalidades, o marcador substituto é uma proteína que é feita para ser coexpressa na superfície celular com o receptor recombinante, por exemplo, CAR. Em modalidades particulares, este marcador substituto é uma proteína de superfície que foi modificada para ter pouca ou nenhuma atividade. Em certas modalidades, o marcador substituto é codificado na mesma molécula de ácido nucleico que codifica o receptor recombinante. Em algumas modalidades, a sequência de ácido nucleico que codifica o receptor recombinante está operacionalmente ligada a uma sequência de ácido nucleico que codifica um marcador, opcionalmente separado por um local interno de entrada do ribossomo (IRES), ou um ácido nucleico codificando um peptídeo de autoclivagem ou um peptídeo que com que o ribossomo salte, tal como uma sequência 2A, tal como T2A, P2A, E2A ou F2A. Genes marcadores extrínsecos podem, em alguns casos, ser usados em conexão com células modificadas para permitir a detecção ou seleção de células e, em alguns casos, também para promover o suicídio celular.

[00522] Marcadores substitutos exemplares podem incluir formas truncadas de polipeptídeos da superfície celular, tal como formas truncadas que não são funcionais e que não transduzem ou não são capazes de transduzir um sinal ou um sinal normalmente transduzido pela forma de tamanho natural do polipeptídeo de superfície celular e/ou não faz ou não é capaz de internalizar. Polipeptídeos de superfície ce-

lular truncados exemplares, incluindo formas truncadas de fatores de crescimento ou outros receptores, tal como um receptor de fator de crescimento epidérmico humano truncado 2 (tHER2), um receptor de fator de crescimento epidérmico truncado (tEGFR, sequência de tEGFR exemplar apresentada na SEQ ID NO:11 ou 76 ) ou um antígeno de membrana específico da próstata (PSMA) ou forma modificada do mesmo. O tEGFR pode conter um epítipo reconhecido pelo anticorpo, cetuximabe (Erbix®) ou outro anticorpo terapêutico anti-EGFR ou molécula de ligação, que pode ser usado para identificar ou selecionar células que foram modificadas com a construção de tEGFR e uma proteína exógena codificada e/ou eliminar ou separar células expressando a proteína exógena codificada. Veja, Patente dos Estados Unidos nº 8.802.374 e Liu *et al.*, *Nature Biotech.* Abril de 2016; 34 (4):430-434). Em alguns aspectos, o marcador, por exemplo, marcador substituto, inclui todo ou parte (por exemplo, forma truncada) de CD34, um NGFR, um CD19 ou um CD19 truncado, por exemplo, um CD19 não humano truncado ou receptor do fator de crescimento epidérmico (por exemplo, tEGFR). Em algumas modalidades, o marcador é ou compreende uma proteína fluorescente, tal como proteína verde fluorescente (GFP), proteína verde fluorescente melhorada (EGFP), tal como GFP dobrável em excesso (sfGFP), proteína fluorescente vermelha (RFP), tal como tdTomato, mCherry, mStrawberry, AsRed2, DsRed ou DsRed2, proteína fluorescente ciana (CFP), proteína fluorescente verde azul (BFP), proteína fluorescente azul melhorada (EBFP) e proteína fluorescente amarela (YFP) e variantes da mesma, incluindo variantes de espécies, variantes monoméricas e variantes otimizadas por códon e/ou melhoradas das proteínas fluorescentes. Em algumas modalidades, o marcador é ou compreende uma enzima, tal como uma luciferase, o gene lacZ de *E. coli*, fosfatase alcalina, fosfatase alcalina embrionária secretada (SEAP), cloranfenicol acetil

transferase (CAT). Exemplos de genes repórteres emissores de luz incluem luciferase (luc),  $\beta$ -galactosidase, cloranfenicol acetiltransferase (CAT),  $\beta$ -glucuronidase (GUS) ou variantes dos mesmos.

[00523] Em algumas modalidades, o marcador é um marcador de seleção. Em algumas modalidades, o marcador de seleção é ou compreende um polipeptídeo que confere resistência aos agentes ou fármacos exógenos. Em algumas modalidades, o marcador de seleção é um gene de resistência aos antibióticos. Em algumas modalidades, o marcador de seleção é um gene de resistência aos antibióticos que confere resistência aos antibióticos a uma célula de mamífero. Em algumas modalidades, o marcador de seleção é ou compreende um gene de resistência à Puromicina, um gene de resistência à Higromicina, um gene de resistência à Blasticidina, um gene de resistência à Neomicina, um gene de resistência à Geneticina ou um gene de resistência a Zeocina ou uma forma modificada do mesmo.

[00524] Em alguns aspectos, o marcador, por exemplo, marcador substituto, inclui todo ou parte (por exemplo, forma truncada) de CD34, um NGFR ou receptor de fator de crescimento epidérmico (por exemplo, tEGFR). Em algumas modalidades, o ácido nucleico que codifica o marcador está operacionalmente ligado a um polinucleotídeo que codifica uma sequência ligante, tal como uma sequência ligante clivável, por exemplo, T2A. Por exemplo, um marcador e, opcionalmente, uma sequência de ligação, pode ser qualquer uma como descrito na Publicação de PCT WO2014031687. Por exemplo, o marcador pode ser um EGFR truncado (tEGFR) que é, opcionalmente, ligado a uma sequência de ligante, tal como uma sequência de ligante clivável em T2A. Um polipeptídeo exemplar para um EGFR truncado (por exemplo, tEGFR) compreende a sequência de aminoácidos mencionada na SEQ ID NO:7 ou 28, ou uma sequência de aminoácidos que exibe pelo menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%,

97%, 98%, 99% ou mais de identidade de sequência com a SEQ ID NO:7 ou 28. Uma sequência de ligante T2A exemplar compreende a sequência de aminoácidos mencionada na SEQ ID NO:6 ou uma sequência de aminoácidos que exibe pelo menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93% , 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou mais identidade de sequência com a SEQ ID NO:6.

[00525] Em algumas modalidades, as moléculas de ácido nucleico que codificam tais construções de CAR incluem também uma sequência que codifica um elemento de salto ribossômico T2A e/ou uma sequência de tEGFR, por exemplo, a jusante da sequência que codifica o CAR. Em algumas modalidades, a sequência codifica um elemento de salto ribossômico T2A mencionado na SEQ ID NO:6, ou uma sequência de aminoácidos que exibe pelo menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91 %, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou mais de identidade de sequência com a SEQ ID NO:6. Em algumas modalidades, células T expressando um receptor de antígeno (por exemplo, CAR) também pode ser gerado para expressar um EGFR truncado (EGFRt) como um epítipo de seleção não imunogênico (por exemplo, através da introdução de uma construção que codifica o CAR e EGFRt separados por um permutador de ribossoma T2A para expressar duas proteínas da mesma construção), que podem então ser usado como um marcador para detectar tais células (veja, por exemplo, Patente dos Estados Unidos nº 8.802.374). Em algumas modalidades, a sequência codifica uma sequência de tEGFR mencionada na SEQ ID NO:7 ou 28, ou uma sequência de aminoácidos que exibe pelo menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91 %, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou mais de identidade de sequência da SEQ ID NO:7 ou 28.

[00526] Em algumas modalidades, um único promotor pode direcionar a expressão de um RNA que contém, em uma única estrutura de

leitura aberta (ORF), dois ou três genes (por exemplo, codificando a molécula envolvida na modulação de uma via metabólica e codificando o receptor recombinante) separados um do outro por sequências que codificam um peptídeo de autoclivagem (por exemplo, sequências 2A) ou um local de reconhecimento de protease (por exemplo, furina). A ORF codifica, desse modo, um único polipeptídeo, que, durante (no caso de 2A) ou após a transdução, é processado nas proteínas individuais. Em alguns casos, o peptídeo, tal como T2A, pode fazer com que o ribossomo salte (síntese do ribossomo) uma ligação peptídica no C-terminal de um elemento 2A, levando à separação entre o final da sequência 2A e o próximo peptídeo a jusante (veja, por exemplo, de Felipe. *Genetic Vaccines e Ther.* 2:13 (2004) e de Felipe *et al. Traf-*fic 5:616-626 (2004)). Muitos elementos 2A são conhecidos na técnica. Exemplos de sequências 2A que podem ser usadas nos métodos e ácidos nucleicos descritos aqui, sem limitação, sequências 2A do vírus da febre aftosa (F2A, por exemplo, SEQ ID NO:27), vírus da rinite A equina (E2A, por exemplo, SEQ ID NO:26), vírus *Thosea asigna* (T2A, por exemplo, SEQ ID NO:6 ou 23) e tescovírus-1 porcino (P2A, por exemplo, SEQ ID NO:24 ou 25), como descrito na Publicação de Patente dos EUA 20070116690.

[00527] Em algumas modalidades, o marcador é uma molécula, por exemplo, proteína da superfície celular, não encontrada naturalmente nas células T ou não encontrada naturalmente na superfície das células T ou em uma porção das mesmas. Em algumas modalidades, a molécula é uma molécula não auto, por exemplo, uma proteína não auto, isto é, aquela que não é reconhecida como "auto" pelo sistema imunológico do hospedeiro no qual as células serão transferidas adotivamente.

[00528] Em algumas modalidades, o marcador não tem função terapêutica e/ou produz outro efeito além de ser usado como marcador

para engenharia genética, por exemplo, para selecionar células modificadas com sucesso. Em outras modalidades, o marcador pode ser uma molécula ou molécula terapêutica que exerce algum efeito desejado, tal como um ligante para uma célula a ser encontrada *in vivo*, tal como uma molécula de ponto de verificação imunoestimulador ou imunológico para melhorar e/ou amortecer as respostas das células mediante transferência adotiva e encontro com ligante.

[00529] A introdução das moléculas de ácido nucleico que codificam o receptor recombinante na célula pode ser realizada usando qualquer um de vários vetores conhecidos. Tais vetores incluem sistemas virais e não virais, incluindo sistemas lentivirais e gammaretrovirais, bem como sistemas com base em *transposons*, tal como sistemas de transferência de genes com base em *PiggyBac* ou *Sleeping Beauty*. Métodos exemplificativos incluem aqueles para transferência de ácidos nucleicos que codificam os receptores, incluindo via viral, por exemplo, retroviral ou lentiviral, transdução, *transposons* e eletroporação.

[00530] Em algumas modalidades, a transferência de genes é realizada primeiro estimulando a célula, tal como combinando com um estímulo que induz uma resposta como proliferação, sobrevivência e/ou ativação, por exemplo, como medido pela expressão de uma citocina ou marcador de ativação, seguido de transdução das células ativadas e expansão em cultura para números suficientes para aplicações clínicas.

[00531] Em algumas modalidades, antes ou durante a transferência de genes, as células são incubadas ou cultivadas na presença de um composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, incluindo qualquer um descrito aqui. Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida é adicionado durante o processo de fabricação de células, por exemplo, durante o processo



de modificação de células CAR T. Em alguns aspectos, a presença do composto imunomodulatório pode melhorar a qualidade da população de células produzidas. Em alguns aspectos, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida pode aumentar a proliferação ou expansão de células ou alterar uma ou mais vias de sinalização, resultando em células com um fenótipo de superfície menos diferenciado ou menos ativado, apesar de exibir expansão e/ou efectoras substanciais função.

[00532] Em alguns contextos, a superexpressão de um fator estimulador (por exemplo, uma linfocina ou uma citocina) pode ser tóxica para um indivíduo. Desse modo, em alguns contextos, as células modificadas incluem segmentos de genes que fazem com que as células sejam suscetíveis à seleção negativa *in vivo*, como na administração em imunoterapia adotiva. Por exemplo, em alguns aspectos, as células são modificadas para que possam ser eliminadas como resultado de uma alteração na condição *in vivo* do paciente ao qual são administradas. O fenótipo selecionável negativo pode resultar da inserção de um gene que confere sensibilidade a um agente administrado, por exemplo, um composto. Genes selecionáveis negativos incluem o gene da timidina cinase do vírus Herpes simplex tipo I (HSV-I TK) (Wigler *et al.*, Cell 2:223, 1977) que confere sensibilidade ao ganciclovir; o gene da hipoxantina fosforibosiltransferase celular (HPRT), o gene da adenina fosforibosiltransferase celular (APRT), citosina desaminase bacteriana (Mullen *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:33 (1992)).

[00533] Em algumas modalidades, os ácidos nucleicos recombinantes são transferidos para as células usando partículas de vírus infecciosas recombinantes, tais como, por exemplo, vetores derivados do vírus símio 40 (SV40), adenovírus, vírus adenoassociado (AAV). Em algumas modalidades, os ácidos nucleicos recombinantes são transferidos para as células T usando vetores lentivirais recombinantes ou ve-

tores retrovirais, tal como vetores gama-retrovirais (veja, por exemplo, Koste *et al.* (2014) *Gene Therapy* 3 de Abril de 2014. doi:10.1038/gt.2014.25; Carlens *et al.* (2000) *Exp Hematol* 28 (10):1137-46; Alonso-Camino *et al.* (2013) *Mol Ther Nucl Acids* 2, e93; Park *et al.*, *Trends Biotechnol.* 29 de Novembro de 2011 (11):550-557.

[00534] Em algumas modalidades, o vetor retroviral tem uma longa sequência de repetição terminal (LTR), por exemplo, um vetor retroviral derivado do vírus da leucemia de murino de Moloney (MoMLV), vírus do sarcoma mieloproliferativo (MPSV), vírus da célula-tronco embrionária de murino (MESV), vírus da célula-tronco de murino (MSCV), vírus formador do foco do baço (SFFV) ou vírus adenoassociado (AAV). A maioria dos vetores retrovirais é derivada de retrovírus de murino. Em algumas modalidades, os retrovírus incluem aqueles derivados de qualquer fonte de células aviária ou de mamífero. Os retrovírus são tipicamente anfotrópicos, que significa que são capazes de infectar células hospedeiras de várias espécies, incluindo seres humanos. Em uma modalidade, o gene a ser expresso substitui as sequências retrovirais de gag, pol e/ou env. Diversos sistemas retrovirais ilustrativos foram descritos (por exemplo, patentes dos Estados Unidos 5.219.740; 6.207.453; 5.219.740; Miller e Rosman (1989) *BioTechniques* 7:980-990; Miller, AD (1990) *Human Gene Therapy* 1:5-14 Scarpa *et al.* (1991) *Virology* 180:849-852; Burns *et al.* (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:8033-8037; e Boris-Lawrie e Temin (1993) *Cur. Opin. Genet. Develop.* 3:102-109.

[00535] São conhecidos métodos de transdução lentiviral. Métodos exemplares são descritos em, por exemplo, Wang *et al.* (2012) *J. Immunother.* 35 (9):689-701; Cooper *et al.* (2003) *Blood*. 101:1637-1644; Verhoeven *et al.* (2009) *Methods Mol Biol.* 506:97-114; e Cavaliere *et al.* (2003) *Blood*. 102 (2):497-505.

[00536] Em algumas modalidades, os ácidos nucleicos recombinan-

tes são transferidos para as células T por eletroporação (veja, por exemplo, Chicaybam *et al.*, (2013) *PLoS ONE* 8 (3):e60298 e Van Te deloo *et al.* (2000) *Gene Therapy* 7 (16):1431-1437). Em algumas modalidades, os ácidos nucleicos recombinantes são transferidos para as células T por transposição (veja, por exemplo, Manuri *et al.* (2010) *Hum Gene Ther* 21 (4):427-437; Sharma *et al.* (2013) *Molec Ther Nucl Acids* 2, e74; e Huang *et al.* (2009) *Methods Mol Biol* 506:115-126). Outros métodos de introdução e expressão de material genético em células imunes incluem a transfecção de fosfato de cálcio (por exemplo, como descrito em *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, Nova Iorque, N.Y.), fusão de protoplastos, transfecção mediada por lipossomas catiônicos; bombardeamento de micropartículas facilitado por partículas de tungstênio (Johnston, *Nature*, 346:776-777 (1990)); e coprecipitação de DNA de fosfato de estrôncio (Brash *et al.*, *Mol. Cell Biol.*, 7:2031-2034 (1987)).

[00537] Outros métodos e vetores para transferência dos ácidos nucleicos que codificam os produtos recombinantes são descritos, por exemplo, na Publicação de pedido de patente internacional, Publicação nº: WO2014055668 e Patente dos Estados Unidos Nº 7.446.190.

[00538] Em algumas modalidades, as células, por exemplo, células T, podem ser transfectadas durante ou após a expansão, por exemplo, com um receptor de células T (TCR) ou um receptor de antígeno quimérico (CAR). Esta transfecção para a introdução do gene do receptor desejado pode ser realizada com qualquer vetor retroviral adequado, por exemplo. A população de células geneticamente modificadas pode então ser liberada do estímulo inicial (o estímulo CD3/CD28, por exemplo) e subsequentemente ser estimulada com um segundo tipo de estímulo, por exemplo via um receptor introduzido de novo). Este segundo tipo de estímulo pode incluir um estímulo antigênico na forma de uma molécula de peptídeo/MHC, o ligante cognato (reticulação) do

receptor geneticamente introduzido (por exemplo, ligante natural de um CAR) ou qualquer ligante (como um anticorpo) que liga-se diretamente à estrutura do novo receptor (por exemplo, ao reconhecer regiões constantes no receptor). Veja, por exemplo, Cheadle *et al.*, "Chimeric antigen receptors for T-cell based therapy" *Methods Mol Biol.* 2012; 907:645-66 ou Barrett *et al.*, Chimeric Antigen Receptor Therapy for Cancer *Annual Review of Medicine vol. 65:333-347* (2014).

[00539] Em alguns casos, um vetor pode ser usado que não requer que as células, por exemplo, células T, sejam ativadas. Em alguns destes casos, as células podem ser selecionadas e/ou transduzidas antes da ativação. Desse modo, as células podem ser modificadas antes ou após a cultura das células e, em alguns casos, ao mesmo tempo que ou durante pelo menos uma porção da cultura.

[00540] Em alguns aspectos, as células são modificadas para promover a expressão de citocinas ou outros fatores. Entre ácidos nucleicos adicionais, por exemplo, genes para introdução são aqueles que melhoram a eficácia da terapia, tal como, por exemplo, promovendo a viabilidade e/ou a função das células transferidas; genes para fornecer um marcador genético para seleção e/ou avaliação das células, como para avaliar a sobrevivência ou localização *in vivo*; genes para melhorar a segurança, por exemplo, tornando a célula suscetível à seleção negativa *in vivo*, como descrito por Lupton S. D. *et al.*, *Mol. e Cell Biol.*, 11:6 (1991); e Riddell *et al.*, *Human Gene Therapy* 3:319-338 (1992); veja, também as publicações de PCT/US91/08442 e PCT/US94/05601 de Lupton *et al.* descreve o uso de genes de fusão selecionáveis bifuncionais derivados da fusão de um marcador selecionável positivo dominante com um marcador selecionável negativo. Veja, por exemplo, Riddell *et al.*, Patente dos Estados Unidos nº 6.040.177, nas colunas 14-17.

### III. RESULTADOS E MÉTODOS DE TRATAMENTO EXEMPLARES

PARA AVALIAÇÃO DOS MESMOS

[00541] Em algumas modalidades dos métodos, composições, combinações, *kits* e usos aqui fornecidos, a terapia de combinação fornecida resulta em um ou mais resultados de tratamento, tal como uma característica associada a qualquer um ou mais dos parâmetros associados à terapia ou tratamento, como descrito abaixo. Em algumas modalidades, o método inclui avaliação da exposição, persistência e proliferação das células T, por exemplo, células T administradas para a terapia com base em células T. Em algumas modalidades, a exposição, ou expansão prolongada e/ou persistência das células, e/ou alterações nos fenótipos celulares ou na atividade funcional das células, por exemplo, células administradas para imunoterapia, por exemplo, a terapia com células T, nos métodos aqui fornecidos, pode ser medida avaliando as características das células T *in vitro* ou *ex vivo*. Em algumas modalidades, tais ensaios podem ser usados para determinar ou confirmar a função das células T, por exemplo, terapia com células T, antes ou depois da administração da terapia de combinação aqui fornecida.

[00542] Em algumas modalidades, a terapia de combinação pode incluir também uma ou mais etapas de triagem para identificar indivíduos para tratamento com a terapia de combinação e/ou continuar a terapia de combinação e/ou uma etapa para avaliação dos resultados do tratamento e/ou monitoramento dos resultados do tratamento. Em algumas modalidades, a etapa para avaliação dos resultados do tratamento pode incluir etapas para avaliar e/ou monitorar o tratamento e/ou identificar indivíduos para administração de etapas adicionais ou restantes da terapia e/ou para terapia repetida. Em algumas modalidades, a etapa de triagem e/ou avaliação dos resultados do tratamento pode ser usada para determinar a dose, frequência, duração, tempo e/ou ordem da terapia de combinação aqui fornecida.

[00543] Em algumas modalidades, qualquer uma das etapas de triagem e/ou avaliação dos resultados de tratamento descritos aqui pode ser usada antes, durante, durante o curso ou após a administração de uma ou mais etapas da terapia de combinação fornecida, por exemplo, administração da terapia com células T (por exemplo, células T expressando CAR) e/ou um composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida. Em algumas modalidades, a avaliação é feita antes, durante, durante o curso ou após a execução de qualquer um dos métodos aqui fornecidos. Em algumas modalidades, a avaliação é feita antes da execução dos métodos aqui fornecidos. Em algumas modalidades, a avaliação é feita após a execução de uma ou mais etapas dos métodos aqui fornecidos. Em algumas modalidades, a avaliação é realizada antes da administração da administração de uma ou mais etapas da terapia de combinação fornecida, por exemplo, para rastrear e identificar pacientes adequados e/ou suscetíveis a receber a terapia de combinação. Em algumas modalidades, a avaliação é realizada durante, durante o curso ou após a administração de uma ou mais etapas da terapia de combinação fornecida, por exemplo, para avaliar o resultado intermediário ou final do tratamento, por exemplo, para determinar a eficácia do tratamento e/ou para determinar se deve continuar ou repetir os tratamentos e/ou para determinar se deve administrar as etapas restantes da terapia de combinação.

[00544] Em algumas modalidades, os resultados do tratamento incluem a função imune melhorada, por exemplo, a função imune das células T administradas para terapia com base em células e/ou das células T endógenas no corpo. Em algumas modalidades, resultados exemplares de tratamento incluem, porém não estão limitados à, proliferação de células T melhorada, atividade funcional de célula T melhorada, alterações na expressão do marcador fenotípico de célula imune, tais como características sendo associadas às células T modificadas,

por exemplo, células T CAR, administradas ao indivíduo. Em algumas modalidades, resultados exemplares de tratamento incluem diminuição da carga da doença, por exemplo, carga do tumor, melhores resultados clínicos e/ou eficácia melhorada da terapia.

[00545] Em algumas modalidades, a etapa de análise e/ou avaliação dos resultados do tratamento incluem a avaliação da sobrevivência e/ou função das células T administradas para terapia com base em células. Em algumas modalidades, a etapa de análise e/ou avaliação dos resultados do tratamento incluem a avaliação dos níveis de citocinas ou fatores de crescimento. Em algumas modalidades, a etapa de análise e/ou avaliação dos resultados do tratamento incluem a avaliação da carga da doença e/ou melhoras, por exemplo, a avaliação da carga do tumor e/ou resultados clínicos. Em algumas modalidades, qualquer uma das etapas de análise e/ou avaliação dos resultados do tratamento pode incluir qualquer um dos métodos de avaliação e/ou ensaios descritos aqui e/ou conhecidos na técnica, e pode ser realizada uma ou mais vezes, por exemplo, antes a, durante, durante o curso ou subsequentemente à administração de uma ou mais etapas da terapia de combinação. Conjuntos exemplares de parâmetros associados a um resultado do tratamento, que podem ser avaliados em algumas modalidades dos métodos aqui fornecidos, incluem perfil da população de células imunes do sangue periférico e/ou carga tumoral.

[00546] Em algumas modalidades, os métodos afetam a eficácia da terapia celular no indivíduo. Em algumas modalidades, a persistência, expansão e/ou presença de células expressando receptores recombinantes, por exemplo, que expressam CAR, no indivíduo após a administração da dose de células no método com o composto imunomodulatório é maior em comparação com a alcançada via um método sem a administração do composto imunomodulatório. Em algumas modalidades dos métodos de imunoterapia aqui fornecidos, tal como uma tera-

pia com células T (por exemplo, células T expressando CAR), a avaliação do parâmetro inclui a avaliação da expansão e/ou persistência no indivíduo das células T administradas para a imunoterapia, por exemplo, terapia com células T, em comparação com um método no qual a imunoterapia é administrada ao indivíduo na ausência do composto imunomodulatório. Em algumas modalidades, os métodos resultam nas células T administradas exibindo expansão e/ou persistência aumentada ou prolongada no indivíduo, em comparação com um método no qual a terapia com células T é administrada ao indivíduo na ausência do composto imunomodulatório.

[00547] Em algumas modalidades, a administração do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida diminui a carga da doença, por exemplo, a carga tumoral, no indivíduo em comparação com um método no qual a dose de células expressando o receptor recombinante é administrada ao indivíduo na ausência do composto imunomodulatório. Em algumas modalidades, a administração do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida diminui os blastos na medula no indivíduo em comparação com um método no qual a dose de células expressando o receptor recombinante é administrada ao indivíduo na ausência do composto imunomodulatório.

Em algumas modalidades, a administração do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida resulta em melhores resultados clínicos, por exemplo, taxa de resposta objetiva (ORR), sobrevivência livre de progressão (PFS) e sobrevivência global (OS), em comparação com um método no qual a dose de células expressando o receptor recombinante é administrada ao indivíduo na ausência do composto imunomodulatório.

[00548] Em algumas modalidades, o indivíduo pode ser rastreado antes da administração de uma ou mais etapas da terapia de combinação. Por exemplo, o indivíduo pode ser rastreado quanto às caracte-



rísticas da doença e/ou carga da doença, por exemplo, carga do tumor, antes da administração da terapia de combinação, para determinar a adequação, capacidade de resposta e/ou suscetibilidade à administração da terapia de combinação. Em algumas modalidades, a etapa de análise e/ou avaliação dos resultados do tratamento pode ser usada para determinar a dose, frequência, duração, tempo e/ou ordem da terapia de combinação aqui fornecida.

[00549] Em algumas modalidades, o indivíduo pode ser rastreado após a administração de uma das etapas da terapia de combinação, para determinar e identificar indivíduos para receber as etapas restantes da terapia de combinação e/ou para monitorar a eficácia da terapia. Em algumas modalidades, o número, nível ou quantidade de células T administradas e/ou proliferação e/ou atividade das células T administradas é avaliado antes da administração e/ou após a administração do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida.

[00550] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida é administrado até que a concentração ou o número de células modificadas no sangue do indivíduo seja (i) pelo menos pelo menos 10 células modificadas por microlitro, (ii) pelo menos 20%, 30%, 40% ou 50% do número total de células mononucleares do sangue periférico (PBMCs), (iii) pelo menos ou pelo menos cerca de  $1 \times 10^5$  células modificadas; ou (iv) pelo menos 5.000 cópias de DNA codificador de receptor recombinante por micrograma de DNA; e/ou no dia 90 após o início da administração em (a), as células expressando CAR são detectáveis no sangue ou soro do indivíduo; e/ou no dia 90 após o início da administração em (a), o sangue do indivíduo contém pelo menos 20% de células expressando CAR, pelo menos 10 células expressando CAR por microlitro ou pelo menos  $1 \times 10^4$  células expressando CAR.

[00551] Em algumas modalidades, o composto imunomodulatório,

por exemplo, lenalidomida é administrado até que haja um benefício clínico no tratamento, tal como, pelo menos, ou mais que uma redução de 50% no volume total do tumor ou uma resposta completa (CR) em que o tumor detectável desapareceu, sobrevivência livre de progressão ou sobrevivência livre de doença durante mais de 6 meses ou mais de 1 ano ou mais.

[00552] Em algumas modalidades, uma alteração e/ou alteração, por exemplo, um aumento, uma elevação, uma diminuição ou uma redução nos níveis, valores ou medidas de um parâmetro ou resultado em comparação com os níveis, valores ou medidas do mesmo parâmetro ou resultado em um momento de avaliação diferente, uma condição diferente, um ponto de referência e/ou um indivíduo diferente é determinado ou avaliado. Por exemplo, em algumas modalidades, uma mudança de dobra, por exemplo, um aumento ou diminuição, em parâmetros específicos, por exemplo, número de células T modificadas em uma amostra, em comparação com o mesmo parâmetro em uma condição diferente, por exemplo, antes ou depois da administração de o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida pode ser determinado. Em algumas modalidades, os níveis, valores ou medições de dois ou mais parâmetros são determinados e os níveis relativos são comparados. Em algumas modalidades, os níveis, valores ou medições de parâmetros determinados são comparados com os níveis, valores ou medições de uma amostra de controle ou de uma amostra não tratada. Em algumas modalidades, os níveis, valores ou medições de parâmetros determinados são comparados aos níveis de uma amostra do mesmo indivíduo, porém em um momento temporal diferente. Os valores obtidos na quantificação de parâmetro individual podem ser combinados para propósitos de avaliação da doença, por exemplo, formando uma operação aritmética ou lógica nos níveis, valores ou medições de parâmetros usando análise multiparamétrica. Em

algumas modalidades, uma relação de dois ou mais parâmetros específicos pode ser calculada.

#### A. EXPOSIÇÃO, PERSISTÊNCIA E PROLIFERAÇÃO DE CÉLULAS

[00553] Em algumas modalidades, o parâmetro associado à terapia ou a um resultado do tratamento, que inclui parâmetros que podem ser avaliados quanto às etapas de análise e/ou avaliação dos resultados do tratamento e/ou monitoramento dos resultados do tratamento, é ou inclui a avaliação da exposição, persistência e proliferação das células T, por exemplo, células T administradas para a terapia com base em células T. Em algumas modalidades, a exposição aumentada, ou expansão prolongada e/ou persistência das células, e/ou alterações nos fenótipos celulares ou atividade funcional das células, por exemplo, células administradas para imunoterapia, por exemplo, terapia com células T, nos métodos aqui fornecidos, pode ser medida avaliando as características das células T *in vitro* ou *ex vivo*. Em algumas modalidades, tais ensaios podem ser usados para determinar ou confirmar a função das células T usadas para a imunoterapia, por exemplo, terapia com células T, antes ou depois da administração de uma ou mais etapas da terapia de combinação aqui fornecida.

[00554] Em algumas modalidades, a administração do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida é modificada para promover a exposição do indivíduo às células, por exemplo, células T administradas para terapia com base em células T, tal como promovendo sua expansão e/ou persistência hora extra. Em algumas modalidades, a terapia com células T exibe expansão e/ou persistência aumentada ou prolongada no indivíduo, em comparação com um método no qual a terapia com células T é administrada ao indivíduo na ausência do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida.

[00555] Em algumas modalidades, os métodos fornecidos aumentam a exposição do indivíduo às células administradas (por exemplo,

número aumentado de células ou duração ao longo do tempo) e/ou melhoram a eficácia e os resultados terapêuticos da imunoterapia, por exemplo, terapia com células T. Em alguns aspectos, os métodos são vantajosos porque um grau maior e/ou mais longo de exposição às células expressando os receptores recombinantes, por exemplo, células expressando CAR, melhora os resultados do tratamento em comparação com outros métodos. Tais resultados podem incluir a sobrevivência e remissão do paciente, mesmo em indivíduos com carga tumoral grave.

[00556] Em algumas modalidades, a administração do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida pode aumentar o máximo, total e/ou duração da exposição às células, por exemplo, Células T administradas para a terapia com base em células T, no indivíduo, em comparação com a administração das células T sozinhas na ausência do composto imunomodulatório. Em alguns aspectos, a administração do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, no contexto de alta carga de doenças (e, portanto, quantidades mais elevadas de antígeno) e/ou um câncer mais agressivo ou resistente, aumenta a eficácia em comparação com a administração das células T isoladamente. A ausência do composto imunomodulatório no mesmo contexto, que pode resultar em imunossupressão, anergia e/ou exaustão, que pode impedir a expansão e/ou persistência das células.

[00557] Em algumas modalidades, a presença e/ou quantidade de células expressando o receptor recombinante (por exemplo, células expressando CAR administradas para terapia com base em células T) no indivíduo após a administração das células T e antes, durante e/ou após a administração do composto imunomodulatório, por exemplo, a lenalidomida é detectada. Em alguns aspectos, a PCR quantitativa (qPCR) é usada para avaliar a quantidade de células expressando o receptor recombinante (por exemplo, células expressando CAR admi-

nistradas para terapia com base em células T) no sangue ou soro ou amostra de órgão ou tecido (por exemplo, local da doença por exemplo, amostra de tumor) do indivíduo. Em alguns aspectos, a persistência é quantificada como cópias de DNA ou plasmídeo que codifica o receptor, por exemplo, CAR, por micrograma de DNA, ou como o número de células expressando receptores, por exemplo, que expressam CAR, por microlitro da amostra, por exemplo, de sangue ou soro ou por número total de células mononucleares do sangue periférico (PBMCs) ou glóbulos brancos ou células T por microlitro da amostra.

[00558] Em algumas modalidades, as células são detectadas no indivíduo em pelo menos 4, 14, 15, 27 ou 28 dias após a administração das células T, por exemplo, células T expressando CAR. Em alguns aspectos, as células são detectadas em pelo menos 2, 4 ou 6 semanas após 3, 6 ou 12, 18 ou 24 ou 30 ou 36 meses ou 1, 2, 3, 4, 5, ou mais anos, após a administração das células T, por exemplo, células T expressando CAR e/ou o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida.

[00559] Em algumas modalidades, a persistência de células expressando receptores (por exemplo, células expressando CAR) no indivíduo pelos métodos, após a administração das células T, por exemplo, células T expressando CAR e/ou o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é maior em comparação com o que seria alcançado por métodos alternativos, tal como aqueles que envolvem apenas a administração da imunoterapia, por exemplo, a administração de células T, por exemplo, células T expressando CAR, na ausência do composto imunomodulatório.

[00560] A exposição, por exemplo, número de células, por exemplo, células T administradas para terapia com células T, indicativas de expansão e/ou persistência, podem ser indicadas em termos de número máximo de células às quais o indivíduo está exposto, duração de célu-

las ou células detectáveis acima de um determinado número ou porcentagem, área sob a área curva para número de células ao longo do tempo e/ou combinações das mesmas e seus indicadores. Tais resultados podem ser avaliados usando métodos conhecidos, tal como qPCR para detectar o número de cópias de ácido nucleico que codifica o receptor recombinante em comparação com a quantidade total de ácido nucleico ou DNA na amostra em particular, por exemplo, sangue, soro, plasma ou tecido, tal como um amostra de tumor e/ou ensaios citométricos de fluxo que detectam células expressando o receptor geralmente usando anticorpos específicos para os receptores. Os ensaios com base em células também podem ser usados para detectar o número ou porcentagem de células funcionais, como células capazes de se ligar e/ou neutralizar e/ou induzir respostas, por exemplo, respostas citotóxicas, contra células da doença ou condição ou expressar a antígeno reconhecido pelo receptor.

[00561] Em alguns aspectos, o aumento da exposição do indivíduo às células inclui aumento da expansão das células. Em algumas modalidades, as células expressando receptores, por exemplo, As células expressando CAR, expandem no indivíduo após a administração das células T, por exemplo, células T expressando CAR, e/ou após a administração de composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida. Em alguns aspectos, os métodos resultam em maior expansão das células em comparação com outros métodos, como aqueles que envolvem a administração das células T, por exemplo, células T expressando CAR, na ausência de administração do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida.

[00562] Em alguns aspectos, o método resulta em alta proliferação *in vivo* das células administradas, por exemplo, como medido por citometria de fluxo. Em alguns aspectos, elevadas relações de pico das células são detectadas. Por exemplo, em algumas modalidades, em

um nível máximo ou máximo após a administração das células T, por exemplo, células T expressando CAR e/ou o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, no sangue ou no local da doença do indivíduo ou fração de glóbulos brancos, por exemplo, fração PBMC ou fração de células T, pelo menos cerca de 10%, pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 80% ou pelo menos cerca de 90% das células expressam o receptor recombinante, por exemplo, o CAR.

[00563] Em algumas modalidades, o método resulta em uma concentração máxima, no sangue ou soro ou outro fluido ou órgão ou tecido corporal do indivíduo, de pelo menos 100, 500, 1000, 1500, 2000, 5000, 10.000 ou 15.000 cópias ou ácido nucleico que codifica o receptor, por exemplo, o CAR, por micrograma de DNA, ou pelo menos 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8 ou 0,9 células expressando o receptor, por exemplo, expressando CAR por número de células mononucleares do sangue periférico totais (PBMCs), número total de células mononucleares, número total de células T ou número total de microlitros. Em algumas modalidades, as células expressando o receptor são detectadas como pelo menos 10, 20, 30, 40, 50 ou 60% do total de PBMCs no sangue do indivíduo e/ou neste nível durante pelo menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 36, 48 ou 52 semanas após as células T, por exemplo, células T expressando CAR e/ou o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida ou por 1, 2, 3, 4 ou 5 ou mais anos após a administração.

[00564] Em alguns aspectos, o método resulta em um aumento de pelo menos 2 vezes, pelo menos 4 vezes, pelo menos 10 vezes ou pelo menos 20 vezes em cópias de ácido nucleico que codifica o receptor recombinante, por exemplo, CAR, por micrograma de DNA, por exemplo, no soro, plasma, sangue ou tecido, por exemplo, amostra de

tumor, do indivíduo.

[00565] Em algumas modalidades, as células expressando o receptor são detectáveis no soro, plasma, sangue ou tecido, por exemplo, amostra de tumor, do indivíduo, por exemplo, por um método especificado, tal como qPCR ou método de detecção com base em citometria de fluxo, pelo menos 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59 ou 60 ou mais dias após a administração das células T, por exemplo, células T expressando CAR, ou após a administração do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, durante pelo menos aproximadamente 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 ou 24 semanas ou mais após a administração das células T, por exemplo, células T expressando CAR e/ou o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida.

[00566] Em alguns aspectos, pelo menos cerca de  $1 \times 10^2$ , pelo menos cerca de  $1 \times 10^3$ , pelo menos cerca de  $1 \times 10^4$ , pelo menos cerca de  $1 \times 10^5$ , ou pelo menos cerca de  $1 \times 10^6$  ou pelo menos cerca de  $5 \times 10^6$  ou pelo menos cerca de  $1 \times 10^7$  ou pelo menos cerca de  $5 \times 10^7$  ou pelo menos cerca de  $1 \times 10^8$  células expressando os receptores recombinantes, por exemplos expressando CAR e/ou pelo menos 10, 25, 50, 100, 200, 300, 400, ou 500, ou 1000 células expressando receptores por microlitro, por exemplo, pelo menos 10 por microlitro, são detectáveis ou estão presentes no indivíduo ou fluido, plasma, soro, tecido ou compartimento do mesmo, como no sangue, por exemplo, sangue periférico ou local da doença, por exemplo, tumor. Em algumas modalidades, este número ou concentração de células é detectável no indivíduo durante pelo menos cerca de 20 dias, pelo menos cerca de 40 dias ou pelo menos cerca de 60 dias ou pelo menos cerca de 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ou 12 meses, ou pelo menos 2 ou 3 anos,



após a administração das células T, por exemplo, células T expressando CAR, e/ou após a administração do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida. Tais números de células podem ser detectados por métodos com base em PCR ou quantitativos com base em citometria de fluxo e extrapolação para o número total de células usando métodos conhecidos. Veja, por exemplo, Brentjens *et al.*, *Sci Transl Med.* 2013 5 (177), Park *et al.*, *Molecular Therapy* 15 (4):825–833 (2007), Savoldo *et al.*, *JCI* 121 (5):1822-1826 (2011), Davila *et al.*, (2013). PLoS ONE 8 (4):e61338, Davila *et al.*, *Oncoimmunology* 1 (9):1577-1583 (2012), Lamers, *Blood* 2011 117:72-82, Jensen *et al.*, *Biol Blood Marrow Transplant*, 16 de Setembro de 2010; 16 (9):1245–1256, Brentjens *et al.*, *Blood* 2011 118 (18):4817-4828.

[00567] Em alguns aspectos, o número de cópias de ácido nucleico que codifica o receptor recombinante, por exemplo, número de cópias de vetores, por 100 células, por exemplo, no sangue periférico ou medula óssea ou outro compartimento, tal como medido por imunohistoquímica, PCR e/ou citometria de fluxo, é pelo menos 0,01, pelo menos 0,1, pelo menos 1 ou pelo menos 10, por cerca de 1 semana, cerca de 2 semanas, cerca de 3 semanas, cerca de 4 semanas, cerca de 5 semanas ou pelo menos cerca de 6 semanas, ou pelo menos cerca de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ou 12 meses ou pelo menos 2 ou 3 anos após a administração das células, por exemplo, células T expressando CAR e/ou o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida. Em algumas modalidades, o número de cópias do vetor expressando o receptor, por exemplo, CAR, por micrograma de DNA genômico é de pelo menos 100, pelo menos 1000, pelo menos 5000, ou pelo menos 10.000, ou pelo menos 15.000 ou pelo menos 20.000 por vez, cerca de 1 semana, cerca de 2 semanas, cerca de 3 semanas ou pelo menos pelo menos cerca de 4 semanas após a administração das células T, por exemplo, células T expressando CAR ou composto

imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida ou pelo menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, ou 12 meses ou pelo menos 2 ou 3 anos após a administração.

[00568] Em alguns aspectos, o receptor, por exemplo, CAR, expresso pelas células, é detectável por PCR quantitativo (qPCR) ou por citometria de fluxo no indivíduo, plasma, soro, sangue, tecido e/ou local da doença, por exemplo, local do tumor, em um momento que seja pelo menos aproximadamente 3 meses, pelo menos cerca de 6 meses, pelo menos cerca de 12 meses, pelo menos 1 ano, pelo menos cerca de 2 anos, pelo menos cerca de 3 anos ou mais de 3 anos, após a administração das células, por exemplo, após a administração inicial da administração das células T, por exemplo, células T expressando CAR e/ou o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida.

[00569] Em algumas modalidades, a área sob a curva (AUC) para concentração de células expressando receptores (por exemplo, CAR-) em um local de fluido, plasma, soro, sangue, tecido, órgão e/ou doença, por exemplo, o local do tumor, do indivíduo ao longo do tempo após a administração das células T, por exemplo, células T expressando CAR e/ou composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, é maior em comparação com o alcançado através de um regime de dosagem alternativo, em que o indivíduo é administrado as células T, por exemplo, células T expressando CAR, na ausência de administração do composto imunomodulatório.

[00570] Em alguns aspectos, o método resulta em alta proliferação *in vivo* das células administradas, por exemplo, como medido por citometria de fluxo. Em alguns aspectos, elevadas relações de pico das células são detectadas. Por exemplo, em algumas modalidades, em um nível máximo ou máximo após as células T, por exemplo, células T expressando CAR e/ou composto imunomodulatório, por exemplo, le-

nalidomida, no sangue, plasma, soro, tecido ou local da doença do indivíduo ou fração de glóbulos brancos, por exemplo, fração de PBMC ou fração de células T, pelo menos cerca de 10%, pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 60 %, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 80% ou pelo menos cerca de 90% das células expressam o receptor recombinante, por exemplo, o CAR.

[00571] Em alguns aspectos, a expansão aumentada ou prolongada e/ou persistência da dose de células no indivíduo administrado com o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida está associada a um benefício nos resultados relacionados ao tumor no indivíduo. Em algumas modalidades, o resultado relacionado ao tumor inclui uma diminuição na carga do tumor ou uma diminuição nos blastos da medula no indivíduo. Em algumas modalidades, a carga do tumor é diminuída em pelo menos cerca de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 ou 100% após a administração do método. Em algumas modalidades, a carga da doença, o tamanho do tumor, o volume do tumor, a massa do tumor e/ou a carga ou volume do tumor são reduzidos após a dose das células em pelo menos cerca de 50%, 60%, 70%, 80%, 90% ou mais em comparação com um indivíduo que foi tratado com um método que não envolve a administração de um composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida.

#### B. ATIVIDADE FUNCIONAL DA CÉLULA

[00572] Em algumas modalidades, os parâmetros associados à terapia ou a um resultado do tratamento, que incluem parâmetros que podem ser avaliados para as etapas de análise e/ou avaliação dos resultados do tratamento e/ou monitoramento dos resultados do tratamento, incluem uma ou mais atividades, fenótipo , proliferação ou função das células T. Em algumas modalidades, qualquer um dos ensaios conhecidos na técnica para avaliar a atividade, fenótipos, proliferação

e/ou função das células T, por exemplo, células T administradas para terapia com células T, pode ser usado. Antes e/ou subsequentemente à administração das células e/ou composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, a atividade biológica das populações de células modificadas em algumas modalidades é medida, por exemplo, por qualquer um de vários métodos conhecidos. Os parâmetros para avaliar incluem a ligação específica de uma célula T modificada ou natural ou outra célula imune ao antígeno, *in vivo*, por exemplo, por imageamento ou *ex vivo*, por exemplo, por ELISA ou citometria de fluxo. Em certas modalidades, a capacidade das células modificadas para destruir as células alvo pode ser medida usando qualquer método adequado conhecido na técnica, tal como ensaios de citotoxicidade descritos em, por exemplo, Kochenderfer *et al.*, *J. Immunotherapy*, 32 (7):689-702 (2009) e Herman *et al.*, *J. Immunological Methods*, 285 (1):25-40 (2004). Em certas modalidades, a atividade biológica das células é medida testando a expressão e/ou secreção de uma ou mais citocinas, tais como CD107a, IFN $\gamma$ , IL-2, GM-CSF e TNF $\alpha$ , e/ou avaliando a atividade citolítica.

[00573] Em algumas modalidades, ensaios para a atividade, fenótipos, proliferação e/ou função das células T, por exemplo, células T administradas para terapia com células T incluem, porém não estão limitados a, ELISPOT, ELISA, proliferação celular, linfócitos citotóxicos (CTL), ligação ao epítipo da célula T, antígeno ou ligante ou coloração intracelular de citocinas, ensaios de proliferação, ensaios de secreção de linfocinas, ensaios diretos de citotoxicidade e ensaios de diluição limitante. Em algumas modalidades, as respostas proliferativas das células T podem ser medidas, por exemplo, por incorporação de  $^3\text{H}$ -timidina, BrdU (5-bromo-2'-desoxiuridina) ou 2'-desóxi-5-etiniluridina (EdU) em seus ensaios de diluição de DNA ou corante, usando corantes tais como o éster composto succinimunomodulatório de diacetato

de carboxifluoresceína (CFSE), CellTrace Violet ou corante de membrana PKH26.

[00574] Em algumas modalidades, a avaliação da atividade, fenótipos, proliferação e/ou função das células T, por exemplo, células T administradas para terapia com células T, inclui medir a produção de citocinas a partir de células T e/ou medir a produção de citocinas em um ambiente biológico. Amostra do indivíduo, por exemplo, amostras de plasma, soro, sangue e/ou tecido, por exemplo, amostras de tumor. Em alguns casos, tais citocinas medidas podem incluir, sem limitação, interleucina-2 (IL-2), interferon-gama (IFN $\gamma$ ), interleucina-4 (IL-4), TNF-alfa (TNF $\alpha$ ), interleucina-6 (IL-6), interleucina-10 (IL-10), interleucina-12 (IL-12), fator estimulador de colônias de granulócitos-macrófagos (GM-CSF), CD107a e/ou TGF-beta (TGF $\beta$ ). Os ensaios para medir citocinas são bem conhecidos na técnica e incluem, porém não estão limitados a, ELISA, coloração intracelular de citocinas, matriz de contas citométricas, RT-PCR, ELISPOT, citometria de fluxo e bioensaios nos quais as células responsivas à citocina relevante são testadas quanto à capacidade de resposta (por exemplo, proliferação) na presença de uma amostra de teste.

[00575] Em algumas modalidades, a avaliação da atividade, fenótipos, proliferação e/ou função das células T, por exemplo, células T administradas para terapia com células T, inclui a avaliação de fenótipos celulares, por exemplo, expressão de marcadores específicos da superfície celular. Em algumas modalidades, as células T, por exemplo, células T administradas para terapia com células T, são avaliadas quanto à expressão de marcadores de ativação de células T, marcadores de exaustão de células T e/ou marcadores de diferenciação de células T. Em algumas modalidades, o fenótipo celular é avaliado antes da administração. Em algumas modalidades, o fenótipo celular é avaliado após a administração. Marcadores de ativação de células T, mar-

cadadores de exaustão de células T e/ou marcadores de diferenciação de células T para avaliação incluem quaisquer marcadores conhecidos na técnica para subconjuntos específicos de células T, por exemplo, CD25, CD38, antígeno leucocitário humano-DR (HLA-DR), CD69, CD44, CD137, KLRG1, CD62L<sup>baixo</sup>, CCR7<sup>baixo</sup>, CD71, CD2, CD54, CD58, CD244, CD160, proteína de morte celular programada 1 (PD-1), proteína do gene 3 de ativação de linfócitos (LAG-3), imunoglobulina de células T proteína 3 do domínio e domínio da mucina (TIM-3), antígeno-linfócito T citotóxico-4 (CTLA-4), atenuador de linfócitos T da banda (BTLA) e/ou domínio de *motivo* inibitório com base em tirosina e imunoglobulina e células T (TIGIT) (veja, por exemplo, Liu *et al.*, Cell Death and Disease (2015) 6, e1792). Em algumas modalidades, o marcador de superfície celular avaliado é CD25, PD-1 e/ou TIM-3. Em algumas modalidades, o marcador de superfície celular avaliado é CD25.

[00576] Em alguns aspectos, a detecção dos níveis de expressão inclui a realização de um ensaio *in vitro*. Em algumas modalidades, o ensaio *in vitro* é um imunoensaio, um ensaio com base em aptâmero, um ensaio histológico ou citológico ou um ensaio de nível de expressão de mRNA. Em algumas modalidades, o parâmetro ou parâmetros para um ou mais de cada um dos fatores, efetores, enzimas e/ou marcadores de superfície são detectados por um ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA), imunotransferência, imunoprecipitação, radioimunoensaio (RIA), imunocoloração, ensaio de citometria de fluxo, ressonância plasmônica de superfície (SPR), ensaio de quimioluminescência, imunoensaio de fluxo lateral, ensaio de inibição ou ensaio de avides. Em algumas modalidades, a detecção de citocinas e/ou marcadores de superfície é determinada usando um reagente de ligação que se liga especificamente a pelo menos um biomarcador. Em alguns casos, o reagente de ligação é um anticorpo ou fragmento de

ligação ao antígeno do mesmo, um aptâmero ou uma sonda de ácido nucleico.

[00577] Em algumas modalidades, a administração do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida aumenta o nível de células T CAR circulantes.

### C. CARGA DA DOENÇA

[00578] Em algumas modalidades, os parâmetros associados à terapia ou a um resultado do tratamento, que incluem parâmetros que podem ser avaliados quanto às etapas de análise e/ou avaliação dos resultados do tratamento e/ou monitoramento dos resultados do tratamento, incluem carga de tumor ou doença. A administração da imunoterapia, tal como uma terapia com células T (por exemplo, células T expressando CAR) e/ou o composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, pode reduzir ou impedir a expansão ou carga da doença ou condição no indivíduo. Por exemplo, onde a doença ou condição é um tumor, os métodos geralmente reduzem o tamanho do tumor, volume, metástase, porcentagem de explosões na medula óssea ou câncer detectável molecularmente e/ou melhoram o prognóstico ou a sobrevivência ou outro sintoma associado à carga do tumor.

[00579] Em algumas modalidades, os métodos fornecidos resultam em uma carga tumoral reduzida em indivíduos tratados em comparação com métodos alternativos nos quais a imunoterapia, tal como uma terapia com células T (por exemplo, células T expressando CAR) é administrada sem administração do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida. Não é necessário que a carga tumoral seja realmente reduzida em todos os indivíduos que recebem a terapia de combinação, porém que a carga tumoral seja reduzida em média nos indivíduos tratados, como baseado em dados clínicos, nos quais a maioria dos indivíduos tratados com tal terapia de combinação exibem uma carga tumoral reduzida, tal como pelo menos 50%, 60%, 70%,

80%, 90%, 95% ou mais dos indivíduos tratados com a terapia de combinação, exibem uma carga tumoral reduzida.

[00580] A carga da doença pode abranger um número total de células da doença no indivíduo ou em um órgão, tecido ou fluido corporal do indivíduo, como o órgão ou tecido do tumor ou outro local, por exemplo, o que indicaria metástase. Por exemplo, as células tumorais podem ser detectadas e/ou quantificadas no sangue, linfa ou medula óssea no contexto de certas neoplasias hematológicas. A carga da doença pode incluir, em algumas modalidades, a massa de um tumor, o número ou extensão de metástases e/ou a porcentagem de células blásticas presentes na medula óssea.

[00581] Em algumas modalidades, o indivíduo tem um mieloma, um linfoma ou uma leucemia. Em algumas modalidades, o indivíduo tem um linfoma não Hodgkin (NHL), uma leucemia linfoblástica aguda (LLA), uma leucemia linfocítica crônica (CLL), um linfoma difuso de células B grandes (DLBCL) ou um mieloma, por exemplo, um múltiplo mieloma (MM). Em algumas modalidades, o indivíduo tem um MM ou um DBCBL. Em algumas modalidades, o indivíduo tem um linfoma folicular (FL).

[00582] Em algumas modalidades, o indivíduo tem um tumor sólido.

[00583] No caso de MM, parâmetros exemplares para avaliar a extensão da carga da doença incluem parâmetros, tais como número de células plasmáticas clonais (por exemplo, > 10% na biópsia da medula óssea ou em qualquer quantidade na biópsia de outros tecidos; plasmacitoma), presença de proteína monoclonal (paraproteína) no soro ou na urina, evidência de lesão de órgão terminal relacionada ao distúrbio das células plasmáticas (por exemplo, hipercalemia (cálcio corrigido > 2,75 mmol/l); insuficiência renal atribuível ao mieloma; anemia (hemoglobina) <10 g/dl) e/ou lesões ósseas (lesões líticas ou osteoporose com fraturas por compressão)).



[00584] No caso de DLBCL, parâmetros exemplares para avaliar a extensão da carga da doença incluem parâmetros como morfologia celular (por exemplo, células centroblasticas, imunoblasticas e anaplásicas), expressão de genes, expressão de miRNA e expressão de proteínas (por exemplo, expressão de BCL2 , BCL6, MUM1, LMO2, MYC e p21).

[00585] No caso da leucemia, a extensão da carga da doença pode ser determinada pela avaliação da leucemia residual no sangue ou na medula óssea. Em algumas modalidades, um indivíduo exibe doença morfológica se houver blastos maiores ou iguais a 5% na medula óssea, por exemplo, como detectado por microscopia óptica. Em algumas modalidades, um indivíduo exibe remissão completa ou clínica se houver menos de 5% de blastos na medula óssea.

[00586] Em algumas modalidades, para leucemia, um indivíduo pode exibir remissão completa, porém uma pequena relação de células leucêmicas residuais morfológicamente indetectáveis (por técnicas de microscopia de luz) estão presentes. Diz-se que um indivíduo exibe doença residual mínima (MRD) se o indivíduo exibir menos de 5% de explosões na medula óssea e exibir câncer detectável molecularmente. Em algumas modalidades, o câncer molecularmente detectável pode ser avaliado usando qualquer uma de uma variedade de técnicas moleculares que permitem a detecção sensível de um pequeno número de células. Em alguns aspectos, tais técnicas incluem ensaios de PCR, que podem determinar rearranjos únicos de genes de receptores de células Ig/T ou transcritos de fusão produzidos por translocações cromossômicas. Em algumas modalidades, a citometria de fluxo pode ser usada para identificar células cancerígenas com base em imunofenotipos específicos de leucemia. Em algumas modalidades, a detecção molecular de câncer pode detectar até 1 célula de leucemia em 100.000 células normais. Em algumas modalidades, um indivíduo exi-

be MRD que é detectável molecularmente se pelo menos ou maior que 1 célula de leucemia em 100.000 células for detectada, como por PCR ou citometria de fluxo. Em algumas modalidades, a carga de doença de um indivíduo é molecularmente indetectável ou MRD-, de modo que, em alguns casos, nenhuma célula de leucemia é capaz de ser detectada no indivíduo usando técnicas de PCR ou citometria de fluxo.

[00587] Em algumas modalidades, os métodos e/ou administração de uma imunoterapia, tal como uma terapia com células T (por exemplo, células T expressando CAR) e/ou composto imunomodulatório, por exemplo, diminuição da lenalidomida, carga (s) da doença em comparação com a doença carga imediatamente antes da administração da imunoterapia, por exemplo, terapia com células T e/ou composto imunomodulatório.

[00588] Em alguns aspectos, a administração da imunoterapia, por exemplo, A terapia com células T e/ou composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, pode impedir um aumento na carga da doença e isso pode ser evidenciado por nenhuma alteração na carga da doença.

[00589] Em algumas modalidades, o método reduz a carga da doença ou condição, por exemplo, número de células tumorais, tamanho do tumor, duração da sobrevivência do paciente ou sobrevivência livre de eventos, em maior grau e/ou por um período maior tempo em comparação com a redução que seria observada com um método comparável usando uma terapia alternativa, como aquela em que o indivíduo recebe imunoterapia, por exemplo, terapia com células T sozinha, na ausência de administração do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida. Em algumas modalidades, a carga da doença é reduzida em maior extensão ou por uma maior duração após a terapia de combinação de administração da imunoterapia, por exemplo, terapia com células T, e o composto imunomodulatório, por exemplo, lena-

lidomida, em comparação com a redução que seria efetuada pela administração de cada um dos agentes isoladamente, por exemplo, administração do composto imunomodulatório a um indivíduo que não recebeu a imunoterapia, por exemplo, terapia com células T; ou administrar a imunoterapia, por exemplo, terapia com células T, a um indivíduo que não recebeu o composto imunomodulatório.

[00590] Em algumas modalidades, a carga de uma doença ou condição no indivíduo é detectada, avaliada ou medida. A carga de doença pode ser detectada em alguns aspectos pela detecção do número total de doenças ou células associadas a doenças, por exemplo, células tumorais, no indivíduo, ou em um órgão, tecido ou fluido corporal do indivíduo, como sangue ou soro. Em algumas modalidades, carga de doença, por exemplo, carga do tumor, é avaliada medindo a massa de um tumor sólido e/ou o número ou extensão de metástases. Em alguns aspectos, a sobrevivência do indivíduo, a sobrevivência dentro de um determinado período de tempo, a extensão da sobrevivência, a presença ou a duração da sobrevivência livre de eventos ou sem sintomas, ou sobrevivência livre de recaída, é avaliada. Em algumas modalidades, qualquer sintoma da doença ou condição é avaliado. Em algumas modalidades, a medida da carga de doença ou condição é especificada. Em algumas modalidades, parâmetros exemplares para determinação incluem resultados clínicos particulares indicativos de melhoria ou melhoria na doença ou condição, por exemplo, tumor. Tais parâmetros incluem: duração do controle da doença, incluindo resposta completa (CR), resposta parcial (PR) ou doença estável (SD) (consulte, por exemplo, diretrizes de Critérios de Avaliação de Resposta em Tumores Sólidos (RECIST)), taxa de resposta objetiva (ORR), sobrevivência livre de progressão (PFS) e sobrevivência global (OS). Limiares específicos para os parâmetros podem ser definidos para determinar a eficácia do método de terapia de combinação aqui fornecido.

[00591] Em algumas modalidades, os indivíduos tratados de acordo com o método alcançam uma resposta mais durável. Em alguns casos, uma medida da duração da resposta (DOR) inclui o tempo desde a documentação da resposta do tumor até a progressão da doença. Em algumas modalidades, o parâmetro para avaliar a resposta pode incluir resposta durável, por exemplo, resposta que persiste após um período de tempo desde o início da terapia. Em algumas modalidades, a resposta durável é indicada pela taxa de resposta em aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18 ou 24 meses após o início da terapia. Em algumas modalidades, a resposta é durável por mais de 3 meses, maior que 6 meses ou maior que 12 meses. Em algumas modalidades particulares, os indivíduos tratados de acordo com o método alcançam uma resposta mais durável após o indivíduo ter reincidente anteriormente após remissão em resposta à administração das células geneticamente modificadas.

[00592] Em alguns aspectos, a carga da doença é medida ou detectada antes da administração da imunoterapia, por exemplo, terapia com células T, após a administração da imunoterapia, p. Terapia com células T, porém antes da administração do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida, após a administração do composto imunomodulatório, porém antes da administração da imunoterapia, por exemplo, terapia com células T e/ou após a administração de ambas a imunoterapia, por exemplo, terapia com células T e o composto imunomodulatório. No contexto da administração múltipla de uma ou mais etapas da terapia de combinação, a carga da doença em algumas modalidades pode ser medida antes ou após a administração de qualquer uma das etapas, doses e/ou ciclos de administração, ou em um momento entre a administração de qualquer uma das etapas, doses e/ou ciclos de administração.

[00593] Em algumas modalidades, a carga é diminuída em pelo

menos cerca de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 ou 100% pelos métodos fornecidos comparados imediatamente antes da administração do composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida e imunoterapia, por exemplo, terapia com células T. Em algumas modalidades, a carga da doença, tamanho do tumor, volume do tumor, massa do tumor e/ou carga ou volume tumoral é reduzida após a administração da imunoterapia, por exemplo, terapia com células T e o composto imunomodulatório, pelo menos em cerca de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90% ou mais em comparação com o imediatamente anterior à administração da imunoterapia, por exemplo, terapia com células T e/ou o composto imunomodulatório.

[00594] Em algumas modalidades, a redução da carga de doença pelo método compreende uma indução na remissão morfológica completa, por exemplo, como avaliada em 1 mês, 2 meses, 3 meses ou mais de 3 meses, após a administração de, por exemplo, iniciação da terapia de combinação.

[00595] Em alguns aspectos, um teste quanto à doença residual mínima, por exemplo, medida por citometria de fluxo multiparamétrica, é negativo ou o nível de doença residual mínima é menor que cerca de 0,3%, menor que cerca de 0,2%, menor que cerca de 0,1% ou menos que cerca de 0,05%.

[00596] Em algumas modalidades, a taxa de sobrevivência livre de eventos ou taxa de sobrevivência geral do indivíduo é melhorada pelos métodos, em comparação com outros métodos. Por exemplo, em algumas modalidades, a taxa ou probabilidade de sobrevivência livre de eventos para indivíduos tratados pelos métodos em 6 meses após o método de terapia de combinação aqui fornecido, é maior que cerca de 40%, maior que cerca de 50%, maior que cerca de 60% , maior do que cerca de 70%, maior do que cerca de 80%, maior do que cerca de 90% ou maior do que cerca de 95%. Em alguns aspectos, a taxa de

sobrevivência geral é maior do que cerca de 40%, maior do que cerca de 50%, maior do que cerca de 60%, maior do que cerca de 70%, maior do que cerca de 80%, maior do que cerca de 90% ou maior do que cerca de 95% . Em algumas modalidades, o indivíduo tratado com os métodos exibe sobrevivência livre de eventos, sobrevivência livre de recaída ou sobrevivência durante pelo menos 6 meses ou pelo menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, ou 10 anos. Em algumas modalidades, o tempo para progressão é melhorado, tal como um tempo para progressão maior do que cerca de 6 meses ou pelo menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10 anos.

[00597] Em algumas modalidades, após o tratamento pelo método, a probabilidade de recaída é reduzida em comparação com outros métodos. Por exemplo, em algumas modalidades, a probabilidade de recaída nos 6 meses após o método de terapia de combinação é menor que cerca de 80%, menor que cerca de 70%, menor que cerca de 60%, menor que cerca de 50%, menor que cerca de 40 %, menos que 30%, menos que 20% ou menos que 10%.

#### IV. ARTIGOS DE FABRICAÇÃO E KITS

[00598] Também são fornecidos artigos de fabricação contendo um fármaco imunomodulatório (composto imunomodulatório), tal como lenalidomida, e componentes para a imunoterapia, por exemplo, fragmento de ligação a anticorpo ou antígeno ou terapia com células T, por exemplo, células modificadas e/ou suas composições. Os artigos de fabricação podem incluir um recipiente e uma etiqueta ou bula ou associados ao recipiente. Recipientes adequados incluem, por exemplo, garrafas, frascos para injetáveis, seringas, sacos de solução IV, etc. Os recipientes podem ser formados a partir de uma variedade de materiais, tais como vidro ou plástico. O recipiente em algumas modalidades contém uma composição que é por si só ou combinada com outra composição eficaz para tratar, prevenir e/ou diagnosticar a condição.

Em algumas modalidades, o recipiente possui uma porta de acesso estéril. Recipientes exemplares incluem sacos de solução intravenosa, frascos, incluindo aqueles com rolhas perfuráveis por uma agulha para injeção, ou frascos ou frasconetes para agentes administrados por via oral. O rótulo ou bula pode indicar que a composição é usada para o tratamento de uma doença ou condição.

[00599] O artigo de fabricação pode incluir (a) um primeiro recipiente com uma composição contida nele, em que a composição inclui o anticorpo ou células modificadas usadas para a imunoterapia, por exemplo, terapia com células T; e (b) um segundo recipiente com uma composição contida nele, em que a composição inclui o segundo agente, tal como um composto imunomodulatório, por exemplo, lenalidomida. O artigo de fabricação pode também incluir uma bula indicando que as composições podem ser usadas para tratar uma condição específica. Alternativa, ou adicionalmente, o artigo de fabricação pode também incluir outro ou o mesmo recipiente compreendendo um tampão farmacologicamente aceitável. Pode também incluir outros materiais, tais como outros tampões, diluentes, filtros, agulhas e/ou seringas.

## V. DEFINIÇÕES

[00600] A menos que definido de outra forma, todos os termos da técnica, notações e outros termos ou terminologia técnicos e científicos usados neste documento têm o mesmo significado que é comumente entendido por alguém versado na técnica à qual o assunto reivindicado pertence. Em alguns casos, termos com significados comumente entendidos são aqui definidos para maior clareza e/ou referência imediata, e a inclusão de tais definições aqui não deve necessariamente ser interpretada como representando uma diferença substancial em relação ao que é geralmente entendido na técnica.

[00601] Como usado aqui, um "indivíduo" é um mamífero, tal como um humano ou outro animal, e tipicamente é humano. Em algumas

modalidades, o indivíduo, por exemplo, paciente, ao qual os polipeptídeos imunomodulatórios, células modificadas ou composições são administrados, é um mamífero, tipicamente um primata, tal como um humano. Em algumas modalidades, o primata é um macaco ou um símio. O indivíduo pode ser homem ou mulher e pode ter qualquer idade adequada, incluindo bebês, crianças, adolescentes, adultos e geriátricos. Em algumas modalidades, o indivíduo é um mamífero não primata, tal como um roedor.

[00602] Como usado neste documento, "tratamento" (e variações gramaticais dos mesmos, tais como "tratando" ou "tratar") refere-se à melhoria ou redução completa ou parcial de uma doença ou condição ou distúrbio, ou um sintoma, efeito adverso ou resultado, ou fenótipo associado a ele. Os efeitos desejáveis do tratamento incluem, entre outros, prevenção da ocorrência ou recorrência da doença, alívio dos sintomas, diminuição de quaisquer consequências patológicas diretas ou indiretas da doença, prevenção de metástases, diminuição da taxa de progressão da doença, melhora ou palição da doença, estado da doença e remissão ou prognóstico melhorado. Os termos não implicam a cura completa de uma doença ou a eliminação completa de qualquer sintoma(s) ou efeito(s) em todos os sintomas ou resultados.

[00603] Como usado aqui, "retardar o desenvolvimento de uma doença" significa adiar, impedir, diminuir, retardar, estabilizar, suprimir e/ou adiar o desenvolvimento da doença (como o câncer). Este atraso pode durar vários períodos de tempo, dependendo da história da doença e/ou do indivíduo a ser tratado. Como é evidente, um atraso suficiente ou significativo pode, com efeito, abranger a prevenção, na medida em que o indivíduo não desenvolve a doença. Por exemplo, um câncer em estágio avançado, tal como o desenvolvimento de metástases, pode demorar.

[00604] "Prevenção", como usado aqui, inclui o fornecimento de



profilaxia com relação à ocorrência ou recorrência de uma doença em um indivíduo que pode estar predisposto à doença, porém também não foi diagnosticado com a doença. Em algumas modalidades, as células e composições fornecidas são usadas para retardar o desenvolvimento de uma doença ou para retardar a progressão de uma doença.

[00605] Como usado neste documento, "suprimir" uma função ou atividade é reduzir a função ou atividade quando comparado com as mesmas condições, exceto por uma condição ou parâmetro de interesse, ou alternativamente, em comparação com outra condição. Por exemplo, as células que suprimem o crescimento do tumor reduzem a taxa de crescimento do tumor em comparação com a taxa de crescimento do tumor na ausência das células.

[00606] Uma "quantidade eficaz" de um agente, por exemplo, uma formulação, células ou composição farmacêutica, no contexto da administração, refere-se a uma quantidade eficaz, em dosagens/quantidades e durante períodos de tempo necessários, para atingir o resultado desejado, tal como um resultado terapêutico ou profilático.

[00607] Uma "quantidade terapeuticamente eficaz" de um agente, por exemplo, uma formulação farmacêutica ou células modificadas, refere-se a uma quantidade eficaz, em dosagens e por períodos de tempo necessários, para alcançar um resultado terapêutico desejado, como para o tratamento de uma doença, condição ou distúrbio e/ou efeito farmacocinético ou farmacodinâmico do tratamento. A quantidade terapeuticamente eficaz pode variar de acordo com fatores como o estado da doença, idade, sexo e peso do indivíduo e os polipeptídeos imunomodulatórios ou células modificadas administradas. Em algumas modalidades, os métodos fornecidos envolvem a administração de polipeptídeos imunomodulatórios, células modificadas ou composições em quantidades efetivas, por exemplo, quantidades terapeuticamente eficazes.

[00608] Uma "quantidade profilaticamente eficaz" refere-se a uma quantidade eficaz, em dosagens e por períodos de tempo necessários, para alcançar o resultado profilático desejado. Tipicamente, porém não necessariamente, uma vez que uma dose profilática é usada em indivíduos antes ou em uma fase anterior da doença, a quantidade profilaticamente eficaz será menor que a quantidade terapeuticamente eficaz.

[00609] O termo "formulação farmacêutica" refere-se a uma preparação que permite que a atividade biológica de um ingrediente ativo contido nele seja eficaz e que não contenha componentes adicionais que sejam inaceitavelmente tóxicos para um indivíduo ao qual a formulação seria administrada.

[00610] Um "veículo farmacêuticamente aceitável" refere-se a um ingrediente em uma formulação farmacêutica, que é um ingrediente ativo, que não é tóxico para um indivíduo. Um veículo farmacêuticamente aceitável inclui, porém não está limitado a, um tampão, excipiente, estabilizante ou conservante.

[00611] Como aqui usado, o relato de que as posições de nucleotídeos ou aminoácidos "correspondem às" posições de nucleotídeos ou aminoácidos em uma sequência descrita, tal como mencionado na listagem de Sequências, refere-se às posições de nucleotídeos ou aminoácidos identificadas após o alinhamento com as sequências descritas para maximizar a identidade usando um algoritmo de alinhamento padrão, tal como o algoritmo GAP. O alinhamento das sequências pode identificar resíduos correspondentes, por exemplo, usando resíduos de aminoácidos conservados e idênticos como guias. Em geral, para identificar posições correspondentes, as sequências de aminoácidos são alinhadas para que seja obtida a correspondência de ordem mais elevada (veja, por exemplo: Computational Molecular Biology, Lesk, AM, ed., Oxford University Press, Nova Iorque, 1988; Biocompu-

ting: Informatics and Genome Projects, Smith, DW, ed., Academic Press, Nova Iorque, 1993; Computer Analysis of Sequence Data, Parte I, Griffin, AM, e Griffin, HG, eds., Humana Press, New Jersey, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987; e Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. e Devereux, J., eds., M Stockton Press, Nova York, 1991; Carrillo *et al.* (1988 ) SI-AM J Applied Math 48:1073).

[00612] O termo "vetor", como usado aqui, refere-se a uma molécula de ácido nucleico capaz de propagar outro ácido nucleico ao qual está ligado. O termo inclui o vetor tal como uma estrutura de ácido nucleico autoreplicante, bem como o vetor incorporado no genoma de uma célula hospedeira na qual foi introduzido. Certos vetores são capazes de direcionar a expressão de ácidos nucleicos aos quais eles estão operacionalmente ligados. Tais vetores são referidos aqui como "vetores de expressão". Entre os vetores estão vetores virais, tal como retrovirais, por exemplo, vetores gammaretrovirais e lentivirais.

[00613] Os termos "célula hospedeira", "linhagem de célula hospedeira" e "cultura de células hospedeiras" são usados de forma intercambiável e se referem às células nas quais o ácido nucleico exógeno foi introduzido, incluindo a progênie de tais células. As células hospedeiras incluem "transformantes" e "células transformadas", que incluem a célula primária transformada e a progênie derivada da mesma, sem levar em consideração o número de passagens. A progênie pode não ser completamente idêntica no teor de ácido nucleico a uma célula origem, porém pode conter mutações. A progênie mutante que tem a mesma função ou atividade biológica como analisada ou selecionada na célula originalmente transformada está incluída aqui.

[00614] Como usado aqui, um relato de que uma célula ou população de células é "positiva" para um marcador específico refere-se à presença detectável na célula ou dentro de um marcador específico,

tipicamente um marcador de superfície. Quando se refere a um marcador de superfície, o termo refere-se à presença de expressão da superfície como detectada por citometria de fluxo, por exemplo, pelo manchamento com um anticorpo que se liga especificamente ao marcador e pela detecção do referido anticorpo, em que o manchamento é detectável por citometria de fluxo em um nível substancialmente acima do manchamento detectado executando o mesmo procedimento com um controle compatível com isotipo sob condições idênticas e/ou em um nível substancialmente similar ao da célula conhecida ser positiva para o marcador e/ou em um nível substancialmente mais alto do que para uma célula conhecida ser negativa para o marcador.

[00615] Como usado aqui, um relato de que uma célula ou população de células é "negativa" para um marcador específico refere-se à ausência de presença detectável substancial na ou na célula de um marcador específico, tipicamente um marcador de superfície. Quando se refere a um marcador de superfície, o termo refere-se à ausência de expressão da superfície como detectada por citometria de fluxo, por exemplo, pelo manchamento com um anticorpo que se liga especificamente ao marcador e pela detecção do referido anticorpo, em que a coloração não é detectada pela citometria de fluxo em um nível substancialmente acima do manchamento detectado realizando o mesmo procedimento com um controle compatível com isotipo em condições idênticas, e/ou em um nível substancialmente mais baixo do que o da célula conhecida como positiva para o marcador e/ou em um nível substancialmente similar ao de uma célula conhecida como negativa para o marcador.

[00616] Uma substituição de aminoácido pode incluir a substituição de um aminoácido em um polipeptídeo por outro aminoácido. A substituição pode ser uma substituição conservadora de aminoácidos ou uma substituição não conservadora de aminoácidos. As substituições

de aminoácidos podem ser introduzidas em uma molécula de ligação, por exemplo, anticorpo de interesse e os produtos pesquisados quanto a uma atividade desejada, por exemplo, ligação ao antígeno retida/melhorada, imunogenicidade reduzida ou ADCC ou CDC melhorado

[00617] Os aminoácidos geralmente podem ser agrupados de acordo com as seguintes propriedades comuns da cadeia lateral:

- (1) hidrofóbicos: Norleucina, Met, Ala, Val, Leu, Ile;
- (2) hidrofílicos neutros: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;
- (3) ácidos: Asp, Glu;
- (4) básicos: His, Lys, Arg;
- (5) resíduos que influenciam a orientação da cadeia: Gly, Pro;
- (6) aromáticos: Trp, Tyr, Phe.

[00618] Em algumas modalidades, as substituições conservadoras podem envolver a permuta de um membro de uma destas classes por outro membro da mesma classe. Em algumas modalidades, as substituições de aminoácidos não conservadoras podem envolver a permuta de um membro de uma destas classes por outra classe.

[00619] Como usado neste documento, "porcentagem (%)" de identidade de sequência de aminoácidos" e "porcentagem de identidade" quando usadas em relação a uma sequência de aminoácidos (sequência polipeptídica de referência) são definidas como a porcentagem de resíduos de aminoácidos em uma sequência candidata (por exemplo, o anticorpo ou fragmento em questão) que são idênticos aos resíduos de aminoácidos na sequência polipeptídica de referência, depois de alinhar as sequências e introduzir espaços, se necessário, para atingir a identidade percentual máxima da sequência e sem considerar substituições conservadoras como parte da identidade da sequência. O alinhamento para propósitos de determinação da porcentagem de identidade de sequência de aminoácidos pode ser obtido de várias maneiras, por exemplo, usando *software* de computador dispo-

nível publicamente, tal como o *software* BLAST, BLAST-2, ALIGN ou Megalign (DNASTAR). Parâmetros apropriados para alinhamento de sequências, incluindo quaisquer algoritmos necessários para obter o alinhamento máximo ao longo de todo o comprimento das sequências sendo comparadas, podem ser determinados.

[00620] Como usadas neste documento, as formas singulares "um, uma (a)", "um, uma (an)" e "o, a" incluem referentes plurais, a menos que o contexto indique claramente o contrário. Por exemplo, "um, uma (a)" ou "um, uma (an)" significa "pelo menos um" ou "um ou mais". Entende-se que aspectos e variações descritos aqui incluem "consistindo" e/ou "consistindo essencialmente em" aspectos e variações.

[00621] Ao longo desta descrição, vários aspectos do assunto objeto reivindicado são apresentados em um formato de faixa. Deve-se entender que a descrição no formato de faixa é meramente por conveniência e brevidade e não deve ser interpretada como uma limitação inflexível no escopo do assunto objeto reivindicado. Consequentemente, a descrição de uma faixa deve ser considerada como tendo descrito especificamente todas as subfaixas possíveis, bem como valores numéricos individuais dentro desta faixa. Por exemplo, quando uma faixa de valores é fornecida, entende-se que cada valor intermediário, entre o limite superior e inferior desta faixa e qualquer outro valor estabelecido ou intermediário nesta faixa estabelecida, é abrangido pelo assunto objeto reivindicado. Os limites superior e inferior destas faixas menores podem ser incluídos independentemente nas faixas menores e também estão incluídos no assunto objeto reivindicado, submetidos a qualquer limite especificamente excluído na faixa indicada. Quando a faixa estabelecida inclui um ou ambos os limites, as faixas excluindo um ou ambos os limites incluídos também são incluídas no assunto objeto reivindicado. Isto se aplica independentemente da amplitude da faixa.

[00622] O termo "de cerca de", como usado aqui, refere-se à faixa de erro usual para o respectivo valor facilmente conhecido neste campo técnico. Referência a um valor ou parâmetro "de cerca de" neste documento inclui (e descreve) as modalidades que são direcionadas a este valor ou parâmetro *per se*. Por exemplo, a descrição referindo-se a "cerca de X" inclui a descrição de "X".

[00623] Como usado aqui, uma composição refere-se a qualquer mistura de dois ou mais produtos, substâncias ou compostos, incluindo células. Pode ser uma solução, uma suspensão, líquido, pó, uma pasta, aquosa, não aquosa ou qualquer combinação dos mesmos.

## II. MODALIDADES EXEMPLARES

[00624] Entre as modalidades fornecidas estão:

1. Um método de tratamento, o método compreendendo:
  - (a) administração de uma terapia com célula T a um indivíduo tendo uma doença ou condição; e
  - (b) administração ao indivíduo de um composto imunomodulatório.
2. Um método de tratamento, o método compreendendo administração de uma terapia com célula T a um indivíduo tendo uma doença ou condição, em que, no momento da iniciação da administração da terapia com célula T, o indivíduo foi administrado, e/ou é submetido ao tratamento com, um composto imunomodulatório e/ou uma amostra de sangue ou biópsia do indivíduo contém níveis detectáveis de células T de uma terapia com célula T modificada.
3. Um método de tratamento, o método compreendendo administrar um composto imunomodulatório a um indivíduo tendo uma doença ou condição, em que, no momento da iniciação de administração do composto imunomodulatório, o indivíduo foi previamente administrado com uma terapia com célula T para o tratamento da doença ou condição e/ou uma amostra de sangue ou biópsia do indivíduo con-

têm níveis detectáveis de células T de uma terapia com célula T modificada.

4. O método de acordo com qualquer uma das modalidades 1 a 4 e 28 a 34, em que o método desse modo previne, reduz ou melhora um ou mais sintomas ou resultados da doença ou condição.

5. O método de acordo com qualquer uma das modalidades 1 a 4 e 28 a 34, em que:

(a) a quantidade do composto imunomodulatório administrada é insuficiente, como um único agente e/ou na ausência de administração da terapia com célula T, para melhorar, reduzir ou impedir a doença ou condição ou um sintoma ou resultado da mesma; e/ou

(b) a quantidade do composto imunomodulatório administrada é insuficiente, como um único agente e/ou na ausência de administração da terapia com célula T, para melhorar, reduzir ou impedir a doença ou condição no indivíduo ou um sintoma ou resultado da mesma; e/ou

(c) o método, desse modo, reduz ou melhora um sintoma ou resultado ou carga da doença ou condição para um grau que é menor do que a combinação (i) do grau de redução ou melhora realizada pela administração do agente imunomodulatório sozinho, opcionalmente, em média, em uma população de indivíduos tendo a doença ou condição, e (ii) do grau de redução ou melhora pela administração da terapia com célula T sozinha, opcionalmente, em média, em uma população de indivíduos tendo a doença ou condição; e/ou

(d) a quantidade do composto imunomodulatório administrada no método, ou administrada em uma ou mais doses, é uma dose no nível de manutenção do composto, ou corresponde à dose do composto administrada aos indivíduos tendo exibido uma resposta, opcionalmente uma resposta completa, após a administração do composto para o tratamento.



6. O método de acordo com qualquer uma das modalidades 1 a 5 e 28 a 34, em que a doença ou condição é refratária ou resistente ao composto imunomodulatório e/ou tornou-se refratária ou resistente aos mesmos após o tratamento com o composto imunomodulatório; e/ou o indivíduo ou doença ou condição foi determinado ter uma mutação ou fator que confere resistência da doença ou condição ao tratamento com o composto imunomodulatório.

7. O método de acordo com qualquer uma das modalidades 1 a 6 e 28 a 34, em que o composto imunomodulatório é selecionado do grupo que consiste em: fármacos imunomodulatórios (IMiDs), análogos de talidomida, derivados de talidomida, compostos que interagem com e/ou se ligam ao cereblon (CRBN) e/ou um ou mais membros do complexo de E3 ubiquitina CRBN-ligase, inibidores de Ikaros (IKZF1), inibidores de Aiolos (IKZF3), compostos que realçam ou promovem a ubiquitinação e/ou degradação de Ikaros (IKZF1) e/ou Aiolos (IKZF3).

8. O método de acordo com qualquer uma das modalidades 1 a 7 e 28 a 34, em que a administração do composto imunomodulatório compreende:

(i) pelo menos um ciclo de mais do que 30 dias começando na iniciação da administração do composto imunomodulatório, em que o ciclo compreende administração do composto, opcionalmente diária ou pelo menos diária, durante até 21 dias consecutivos e/ou em que a última administração do composto no ciclo está em ou menos do que 21 dias após a primeira administração do composto no ciclo; e/ou

(ii) pelo menos dois ciclos, cada um do pelo menos dois ciclos compreendendo administração do composto durante uma pluralidade de dias consecutivos seguida por um período de repouso durante o qual o composto imunomodulatório não é administrado, em que o período de repouso é maior do que 14 dias consecutivos; e/ou

(iii) administração, opcionalmente diária ou pelo menos diária, durante não mais do que 14 dias consecutivos.

9. O método de acordo com qualquer uma das modalidades 1 a 8 e 28 a 34, em que:

a iniciação da administração do composto imunomodulatório, ou a iniciação da administração do composto em pelo menos um ciclo, e a iniciação da administração da terapia com célula T são realizadas no mesmo dia ou dias consecutivos, opcionalmente de forma concorrente; e/ou

pelo menos uma dose do composto imunomodulatório é administrada no mesmo dia ou dentro de um ou dois dias, antes ou subsequente à, administração da dose da terapia com célula T.

10. O método de acordo com qualquer uma das modalidades 1 e 4 a 8 e 28 a 34, em que a iniciação da administração do composto imunomodulatório, ou a iniciação da administração do composto em pelo menos um ciclo, é antes da iniciação da administração da terapia com célula T.

11. Um método de tratamento, o método compreendendo administração de uma terapia com célula T a um indivíduo tendo uma doença ou condição, em que o indivíduo foi administrado, antes da iniciação da terapia com célula T, um composto imunomodulatório, em que o ciclo compreende:

(i) administração durante até 21 dias consecutivos, em que o ciclo compreende mais do que 30 dias começando na iniciação da administração do composto imunomodulatório; e/ou

(ii) administração durante uma pluralidade de dias consecutivos seguida por um período de repouso durante o qual o composto imunomodulatório não é administrado, em que o período de repouso é maior do que 14 dias consecutivos; e/ou

(iii) administração durante não mais do que 14 dias conse-

cutivos.

12. O método de acordo com qualquer uma das modalidades 1, 2 e 4 a 11 e 28 a 34, em que a iniciação da administração do composto imunomodulatório está dentro de 14 dias antes da iniciação da terapia com célula T.

13. O método de acordo com qualquer uma das modalidades 1, 2 e 4 a 12, e 28 a 34 em que administração do composto imunomodulatório é iniciada antes da administração da terapia com célula T começando:

(i) em ou dentro de uma semana antes de ou subsequente à coleta, do indivíduo, uma amostra compreendendo células T a serem processadas e/ou modificadas para produzir a terapia, opcionalmente em que a amostra é uma amostra de aférese; e/ou

(ii) dentro de 14 dias antes da iniciação da administração da terapia com célula T.

14. O método de acordo com qualquer uma das modalidades 1 a 13 e 28 to 34, em que a terapia com célula T compreende células modificadas para expressar um receptor recombinante.

15. O método de modalidade 14, em que the engineering compreende one ou mais steps do processo de fabricação *ex vivo*, opcionalmente selecionada dentre:

(1) isolamento de células de uma amostra biológica por leucaférese ou aférese;

(2) seleção ou enriquecimento de células por métodos com base em imunoafinidade;

(3) introdução de um ácido nucleico recombinante, opcionalmente um vetor viral, em células;

(4) incubação de células, opcionalmente células modificadas, na presença de uma ou mais condições de estimulação;

(5) formulação de células na presença de um crioprotetor;

e/ou

(6) formulação de células para administração a um indivíduo, opcionalmente na presença de um excipiente farmacologicamente aceitável.

16. O método de modalidade 14 ou 15, também compreendendo a realização do processo de fabricação e/ou também compreendendo células T modificadas para expressar um receptor recombinante, desse modo gerando a terapia com célula T.

17. O método de modalidade 16, também compreendendo contatar as células com um composto imunomodulatório durante uma ou mais das etapas do processo de fabricação *ex vivo*.

18. O método de acordo com qualquer uma das modalidades 1 a 16 e 28 a 34, em que a terapia com célula T compreende células modificadas produzidas pelo processo de fabricação compreendendo incubação de células, *ex vivo*, na presença do composto imunomodulatório.

19. O método de modalidade 17 ou modalidade 18, em que incubação de células na presença de uma ou mais condições de estimulação é realizada na presença de um composto imunomodulatório.

20. O método de acordo com qualquer uma das modalidades 1, 2, e 4 a 19 e 28 to 34, em que a iniciação da administração do composto imunomodulatório está dentro de 10 dias, 7 dias, 4 dias, 3 dias ou 2 dias antes da iniciação da administração da terapia com célula T.

21. O método de modalidade 1, em que iniciação de administração do composto imunomodulatório em pelo menos um ciclo é após a iniciação da administração da terapia com célula T.

22. Um método de tratamento, o método compreendendo administrar um composto imunomodulatório a um indivíduo, o indivíduo tendo uma doença ou condição e tendo sido administrado com,

uma terapia com célula T, em que o composto imunomodulatório é administrado em um ciclo compreendendo:

(i) administração do composto imunomodulatório durante até 21 dias consecutivos, em que o ciclo compreende mais do que 30 dias começando na iniciação da administração do composto imunomodulatório; e/ou

(ii) administração do composto imunomodulatório durante uma pluralidade de dias consecutivos seguida por um período de repouso durante o qual o composto imunomodulatório não é administrado, em que o período de repouso é maior do que 14 dias consecutivos; e/ou

(iii) administração do composto imunomodulatório durante não mais do que 14 dias consecutivos.

23. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 22, em que a terapia com célula T é uma em que o número máximo de uma população de células da terapia, que opcionalmente são células CD3+ ou CD8+ da terapia com célula T e/ou são opcionalmente células T CAR+, no sangue é (a) em média em uma pluralidade de indivíduos tratados com a terapia com célula T na ausência de administração do composto imunomodulatório, ou (b) no indivíduo following administração da terapia com célula T) menor do que 10 células por  $\mu\text{L}$ , menor do que 5 células por  $\mu\text{L}$  ou menor do que 1 célula por  $\mu\text{L}$ .

24. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 23, em que a terapia com célula T compreende células expressando um receptor recombinante, opcionalmente um CAR.

25. O método de modalidade 24, em que o receptor recombinante compreende um domínio de ligação ao antígeno específico para um antígeno de maturação de célula B (BCMA).

26. O método de modalidade 1, caracterizado pelo fato de que iniciação de administração do composto imunomodulatório em pe-

lo menos um ciclo é realizada após a iniciação da administração da terapia com célula T.

27. O método de acordo com qualquer uma das modalidades 1, e 3 a 26 e 28 a 34, em que a iniciação da administração do composto imunomodulatório é realizada pelo menos 2 dias após, pelo menos 1 semana após, pelo menos 2 semanas após, pelo menos 3 semanas após, ou pelo menos 4 semanas após, a iniciação da administração de, ou após a última dose de, a terapia com célula T, e/ou é realizada 2 a 28 dias ou 7 a 21 dias após a iniciação da administração de, ou após a última dose de, a terapia com célula T.

28. Um método de tratamento, o método compreendendo:

(a) administração de uma terapia com célula T a um indivíduo tendo uma doença ou condição; e

(b) administração ao indivíduo de um composto imunomodulatório, em que a iniciação da administração do composto imunomodulatório está em um tempo:

(1) pelo menos 2 dias após, pelo menos 1 semana após, pelo menos 2 semanas após, pelo menos 3 semanas após, ou pelo menos 4 semanas após, a iniciação da administração da terapia com célula T, e/ou é realizada 2 a 28 dias ou 7 a 21 dias após a iniciação da administração da terapia com célula T; e/ou

(2) em ou após, opcionalmente imediatamente após ou dentro de 1 a 3 dias após: (i) pico ou nível máximo das células da terapia com célula T ser detectável no sangue do indivíduo; (ii) o número de células da terapia com célula T detectável no sangue, após ter sido detectável no sangue, é não detectável ou é reduzido, opcionalmente reduzido em comparação com um ponto de tempo anterior após administração da terapia com célula T; (iii) o número de células da terapia com célula T detectável no sangue é diminuído em ou mais do que 1,5 vezes, 2,0 vezes, 3,0 vezes, 4,0 vezes, 5,0 vezes, 10 vezes ou mais o

número de pico ou máximo de células da terapia com célula T detectável no sangue do indivíduo após a iniciação da administração da terapia com célula T; (iv) em um momento após um nível de pico ou máximo das células da terapia com célula T ser detectável no sangue do indivíduo, o número de células de ou derivado das células T detectável no sangue do indivíduo é menor do que menor do que 10%, menor do que 5%, menor do que 1% ou menor do que 0,1% de células mononucleares de sangue periférico total (PBMCs) no sangue do indivíduo; (v) o indivíduo exibe progressão de doença e/ou tem recaída após remissão após tratamento com a terapia com célula T; e/ou (iv) o indivíduo exibe carga tumoral aumentada em comparação com a carga tumoral em um momento antes de ou após a administração das células T e antes da iniciação da administração do composto imunomodulatório.

29. Um método de tratamento, o método compreendendo administrar um composto imunomodulatório a um indivíduo tendo sido administrada, antes da iniciação da administração do composto imunomodulatório, uma terapia com célula T para o tratamento de uma doença ou condição, em que a iniciação da administração do composto imunomodulatório está em um tempo:

(1) pelo menos 2 dias após, pelo menos 1 semana após, pelo menos 2 semanas após, pelo menos 3 semanas após, ou pelo menos 4 semanas após, a iniciação da administração da terapia com célula T, e/ou é realizada 2 a 28 dias ou 7 a 21 dias após a iniciação da administração da terapia com célula T; e/ou

(2) em ou após, opcionalmente imediatamente após ou dentro de 1 a 3 dias após: (i) pico ou nível máximo das células da terapia com célula T ser detectável no sangue do indivíduo; (ii) o número de células da terapia com célula T detectável no sangue, após ter sido detectável no sangue, é não detectável ou é reduzido, opcionalmente reduzido em comparação com um ponto de tempo anterior após admi-

nistração da terapia com célula T; (iii) o número de células da terapia com célula T detectável no sangue é diminuído em ou mais do que 1,5 vezes, 2,0 vezes, 3,0 vezes, 4,0 vezes, 5,0 vezes, 10 vezes ou mais o número de pico ou máximo de células da terapia com célula T detectável no sangue do indivíduo após a iniciação da administração da terapia com célula T; (iv) em um momento após um nível de pico ou máximo das células da terapia com célula T ser detectável no sangue do indivíduo, o número de células de ou derivado das células T detectável no sangue do indivíduo é menor do que menor do que 10%, menor do que 5%, menor do que 1% ou menor do que 0,1% de células mononucleares de sangue periférico total (PBMCs) no sangue do indivíduo; (v) o indivíduo exibe progressão de doença e/ou tem recaída após remissão após tratamento com a terapia com célula T; e/ou (iv) o indivíduo exibe carga tumoral aumentada em comparação com a carga tumoral em um momento antes de ou após a administração das células T e antes da iniciação da administração do composto imunomodulatório.

30. O método de qualquer uma das modalidades 26 a 29, em que a iniciação da administração do composto imunomodulatório é realizada em um momento que é maior do que ou maior do que cerca de 14 dias, 15 dias, 16 dias, 17 dias, 18 dias, 19, dias, 20 dias, 21 dias, 24 dias, ou 28 dias após iniciação da administração da terapia com célula T.

31. O método de qualquer uma das modalidades 26 a 30, compreendendo, antes da iniciação da administração do composto imunomodulatório, seleção de um indivíduo em que: (i) pico ou nível máximo das células da terapia com célula T ser detectável no sangue do indivíduo; (ii) o número de células da terapia com célula T detectável no sangue, após ter sido detectável no sangue, é não detectável ou é reduzido, opcionalmente reduzido em comparação com um ponto de tempo anterior após administração da terapia com célula T; (iii) o nú-



mero de células da terapia com célula T detectável no sangue é diminuído em ou mais do que 1,5 vezes, 2,0 vezes, 3,0 vezes, 4,0 vezes, 5,0 vezes, 10 vezes ou mais o número de pico ou máximo de células da terapia com célula T detectável no sangue do indivíduo após a iniciação da administração da terapia com célula T; (iv) em um momento após um nível de pico ou máximo das células da terapia com célula T ser detectável no sangue do indivíduo, o número de células de ou derivado das células T detectável no sangue do indivíduo é menor do que menor do que 10%, menor do que 5%, menor do que 1% ou menor do que 0,1% de células mononucleares de sangue periférico total (PBMCs) no sangue do indivíduo; (v) o indivíduo exibe progressão de doença e/ou tem recaída após remissão após tratamento com a terapia com célula T; e/ou (iv) o indivíduo exibe carga tumoral aumentada em comparação com a carga tumoral em um momento antes de ou após a administração das células T e antes da iniciação da administração do composto imunomodulatório.

32. Um método de tratamento, compreendendo administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto imunomodulatório a um indivíduo tendo sido administrada, antes da iniciação da administração do composto imunomodulatório, uma terapia com célula T para o tratamento de uma doença ou condição, em que o indivíduo é aquele no qual no ou próximo ao dia 12 a 15, opcionalmente no ou próximo ao dia 14, após a iniciação da administração de uma terapia com célula T para o tratamento de uma doença ou condição:

(i) o número de células da terapia com célula T no indivíduo é menor do que 75% do número médio de células da terapia com célula T ao mesmo tempo em uma pluralidade de indivíduos administrados com a mesma dose ou similar da terapia com célula T; e/ou

(ii) o número de células CD3+ ou CD8+ da terapia com célula T, opcionalmente células T CAR+, no sangue é menor do que 10

células por  $\mu\text{L}$ , menor do que 5 células por  $\mu\text{L}$  ou menor do que 1 célula por  $\mu\text{L}$ .

33 Um método de tratamento, compreendendo:

(a) seleção de um indivíduo no qual no ou próximo ao dia 12 a 15, opcionalmente no ou próximo ao dia 14, após a iniciação da administração de uma terapia com célula T para o tratamento de uma doença ou condição:

(i) o número de células da terapia com célula T no indivíduo é menor do que 75% do número médio de células da terapia com célula T ao mesmo tempo em uma pluralidade de indivíduos administrados com a mesma dose ou similar da terapia com célula T; e/ou

(ii) o número de células  $\text{CD3}^+$  ou  $\text{CD8}^+$  da terapia com célula T, opcionalmente células T  $\text{CAR}^+$ , no sangue é menor do que 10 células por  $\mu\text{L}$ , menor do que 5 células por  $\mu\text{L}$  ou menor do que 1 célula por  $\mu\text{L}$ ; e

(b) administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto imunomodulatório ao indivíduo.

34. O método de qualquer uma das modalidades 33, em que o composto imunomodulatório é administrado diária, opcionalmente uma vez diariamente.

35. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 34, em que o composto imunomodulatório é administrado durante mais do que ou mais do que cerca de 7 dias consecutivos, mais do que ou mais do que cerca de 14 dias consecutivos, mais do que ou mais do que cerca de 21 dias consecutivos, mais do que ou mais do que cerca de 21 dias consecutivos, ou mais do que ou mais do que cerca de 28 dias consecutivos.

36. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 35, em que o composto imunomodulatório é administrado em um ciclo compreendendo administração diária durante uma pluralidade de dias con-

secutivos seguida por um período de repouso durante o qual o composto imunomodulatório não é administrado.

37. O método de modalidade 36, em que o período de repouso durante o qual o composto imunomodulatório não é administrado é mais do que 7 dias consecutivos, mais do que 14 dias consecutivos, mais do que 21 dias, ou mais do que 28 dias.

38. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 15, 11 a 16, 25 e 26, em que o ciclo de administração do composto imunomodulatório é repetido pelo menos uma vez.

39. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 39, em que o composto imunomodulatório é administrado durante pelo menos 2 ciclos, pelo menos 3 ciclos, pelo menos 4 ciclos, pelo menos 5 ciclos, pelo menos 6 ciclos, pelo menos 7 ciclos, pelo menos 8 ciclos, pelo menos 9 ciclos, pelo menos 10 ciclos, pelo menos 11 ciclos, ou pelo menos 12 ciclos.

40. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 39, em que a administração do composto imunomodulatório é continuada, de pelo menos após a iniciação da administração das células T, até:

o número de células de ou derivado da terapia com célula T administrada detectável no sangue do indivíduo é aumentado em comparação com o indivíduo em um ponto de tempo anterior exatamente antes da administração do composto imunomodulatório ou em comparação com um ponto de tempo anterior após administração da terapia com a célula T;

o número de células de ou derivado da terapia com célula T detectável no sangue está dentro de 2,0 vezes (maior ou menor) o número de pico ou máximo observado no sangue do indivíduo após a iniciação da administração das células T;

o número de células da terapia com célula T detectável no sangue do indivíduo é mais do que ou mais do que cerca de 10%,

15%, 20%, 30%, 40%, 50%, ou 60% de células mononucleares de sangue periférico total (PBMCs) no sangue do indivíduo; e/ou

o indivíduo exibe uma redução na carga tumoral em comparação com carga tumoral em um momento imediatamente antes da administração da terapia com célula T ou em um momento imediatamente antes da administração do composto imunomodulatório; e/ou

o indivíduo exibe remissão completa ou clínica.

41. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 40, em que o composto imunomodulatório liga-se ao cereblon (CRBN) e/ou ao complexo de E3 ubiquitina CRBN-ligase; e/ou é um inibidor de Ikaros (IKZF1) ou fator de transcrição de Aiolos (IKZF3); e/ou realça a ubiquitinação ou degradação de Ikaros (IKZF1) ou Aiolos (IKZF3).

42. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 41, em que o composto imunomodulatório é talidomida ou é um derivado ou análogo de talidomida.

43. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 42, em que o composto imunomodulatório é lenalidomida, pomalidomida, avadomida, um estereoisômero de lenalidomida, pomalidomida, avadomida, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmacologicamente aceitável do mesmo.

44. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 43, em que o composto imunomodulatório é 3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona, a stereoisomer ou um enantiômero ou uma mistura de enantiômeros do mesmo, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmacologicamente aceitável do mesmo.

45. O método de qualquer uma das modalidades 1-44, em que o composto imunomodulatório é 3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona.

46. O método de qualquer uma das modalidades 1-43, em

que o composto imunomodulatório é 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, um estereoisômero ou um enantiômero ou uma mistura de enantiômeros do mesmo, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo.

47. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 43 e 46, em que o composto imunomodulatório é 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona.

48. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 47, em que o composto imunomodulatório é administrado oral, subcutânea ou intravenosamente.

49. O método de modalidade 46, em que o composto imunomodulatório é administrado oralmente.

50. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 48, em que o composto imunomodulatório é administrado em uma cápsula ou comprimido.

51. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 50, em que o composto imunomodulatório é administrado em uma quantidade de ou de cerca de 0,1 mg a cerca 100 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 50 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 25 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 10 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 5 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 1 mg, de ou de cerca de 1 mg a 100 mg, de ou de cerca de 1 mg a 50 mg, de ou de cerca de 1 mg a 25 mg, de ou de cerca de 1 mg a 10 mg, de ou de cerca de 1 mg a 5 mg, de ou de cerca de 5 mg a 100 mg, de ou de cerca de 5 mg a 50 mg, de ou de cerca de 5 mg a 25 mg, de ou de cerca de 5 mg a 10 mg, de ou de cerca de 10 mg a 100 mg, de ou de cerca de 10 mg a 50 mg, de ou de 10 mg a 25 mg, de ou de cerca de 25 mg a 100 mg, de ou de cerca de 25 mg a 50 mg ou de ou de cerca de 50 mg a 100 mg, cada qual inclusive.

52. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 51, em

que o composto imunomodulatório é administrado uma vez diariamente, duas vezes diariamente, três vezes diariamente, quatro vezes diariamente, cinco vezes diariamente, ou seis vezes diariamente.

53. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 52, em que o composto imunomodulatório é administrado em uma quantidade de dosagem diária total de pelo menos ou pelo menos cerca de 0,1 mg por dia, 0,5 mg por dia, 1,0 mg por dia, 2,5 mg por dia, 5 mg por dia, 10 mg por dia, 25 mg por dia, 50 mg por dia ou 100 mg por dia.

54. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 53, em que:

o composto imunomodulatório é administrado em uma quantidade maior do que ou maior do que cerca de 1 mg, 2,5 mg, 5 mg, 7.5 mg, 10 mg, 15 mg e menor do que 25 mg; ou

o composto imunomodulatório é administrado em uma quantidade maior do que ou maior do que cerca de 1 mg por dia, 2,5 mg por dia, 5 mg por dia, 7.5 mg por dia, 10 mg por dia, 15 mg por dia e menor do que 25 mg por dia.

55. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 54, em que a administração da quantidade terapeuticamente eficaz de composto imunomodulatório estimula uma expansão aumentada de células T associadas com a terapia com célula T em comparação com a expansão da seguinte administração da terapia com célula T na ausência do composto imunomodulatório.

56. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 55, em que a administração da quantidade terapeuticamente eficaz de compostos imunomodulatórios estimula um aumento na atividade citolítica mediada de células T associadas com a terapia com célula T em comparação com a atividade citolítica após a administração das células T na ausência do composto imunomodulatório.

57. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 56, em

que a administração da quantidade terapeuticamente eficaz de composto imunomodulatório estimula um aumento na produção de citocina de células T associadas com a terapia com célula T em comparação com produção de citocina após a administração das células T na ausência do composto imunomodulatório.

58. O método de qualquer uma das modalidades 55 a 57, em que o aumento é maior do que ou maior do que cerca de 1,5 vezes, 2,0 vezes, 3,0 vezes, 4,0 vezes, 5,0 vezes, 10,0 vezes ou mais.

59. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 58, em que a terapia com célula T é ou compreende terapia de linfocítica (TL) infiltrante de tumor ou células geneticamente modificadas expressando um receptor recombinante que especificamente se liga a um antígeno.

60. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 59, em que a terapia com célula T é ou compreende células geneticamente modificadas expressando um receptor recombinante que especificamente se liga a um antígeno.

61. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 60, em que a terapia com célula T compreende células expressando um receptor recombinante que é ou compreende um receptor de antígeno não TCR funcional ou um TCR ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo.

62. O método de modalidade 61, em que o receptor de antígeno recombinante é um receptor de antígeno quimérico (CAR).

63. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 62, em que a terapia com célula T compreende um receptor de antígeno recombinante, que compreende um domínio extracelular domain compreendendo um domínio de ligação ao antígeno que especificamente se liga a um antígeno.

64. O método de qualquer uma das modalidades 62 ou 63, em que o antígeno é associado com, específico para, e/ou expresso

em uma célula ou tecido de uma doença, distúrbio ou condição.

65. O método de modalidade 64, em que a doença, distúrbio ou condição é uma doença ou distúrbio infeccioso, uma doença autoimune, uma doença inflamatória, ou um tumor ou um câncer.

66. O método de qualquer uma das modalidades 62 a 65, em que o antígeno é um antígeno de tumor.

67. O método de qualquer uma das modalidades 62 a 66, em que o antígeno é selecionado dentre ROR1, antígeno de maturação de célula B (BCMA), anidrase carbônica 9 (CAIX), tEGFR, Her2/neu (tirosina cinase receptora erbB2), L1-CAM, CD19, CD20, CD22, mesotelina, CEA, e antígeno de superfície de hepatite B, receptor antifolato, CD23, CD24, CD30, CD33, CD38, CD44, EGFR, glicoproteína epitelial 2 (EPG-2), glicoproteína epitelial 40 (EPG-40), EPHA2, dímeros de erb-B2, erb-B3, erb-B4, erbB, EGFR VIII, proteína de ligação ao folato (FBP), FCRL5, FCRH5, receptor de acetilcolina fetal, GD2, GD3, HMW-MAA, IL-22R-alfa, IL-13R-alfa2, receptor de domínio de inserção de cinase (kdr), cadeia kappa leve, Lewis Y, molécula de adesão de célula L1, (L1-CAM), antígeno associado com melanoma (MAGE)-A1, MAGE-A3, MAGE-A6, Antígeno preferencialmente expresso de melanoma (PRAME), survivina, TAG72, B7-H6, receptor alfa de IL-13 2 (IL-13Ra2), CA9, GD3, HMW-MAA, CD171, G250/CAIX, HLA-AI MAGE AI, HLA-A2 NY-ESO-1, PSCA, receptor-a de folato, CD44v6, CD44v7/8, avb6 integrin, 8H9, NCAM, receptores de VEGF, 5T4, Foetal AchR, ligantes de NKG2D, CD44v6, antígeno dual, um antígeno de câncer de testículos, mesotelina, CMV murino, mucina 1 (MUC1), MUC16, PSCA, NKG2D, NY-ESO-1, MART-1, gp100, receptor acoplado à proteína G 5D (GPCR5D), antígeno oncofetal, ROR1, TAG72, VEGF-R2, antígeno carcinoembriônico (CEA), Her2/neu, receptor de estrogênio, receptor de progesterona, efrinaB2, CD123, c-Met, GD-2, GD2 O-acetilado (OGD2), CE7, Tumor de Wilms



1 (WT-1), uma ciclina, ciclina A2, CCL-1, CD138, opcionalmente um antígeno humano de qualquer um dos anteriores; um antígeno específico de patógeno; e um antígeno associado com um rótulo universal.

68. O método de qualquer uma das modalidades 62 a 67, em que o antígeno é ou compreende CD19, opcionalmente CD19 humano.

69. O método de qualquer uma das modalidades 62 a 68, em que o antígeno é ou compreende um antígeno associado com mieloma múltiplo, opcionalmente um BCMA, opcionalmente BCMA humano.

70. O método de qualquer uma das modalidades 62 a 69, em que o domínio de ligação ao antígeno é ou compreende um anticorpo ou um fragmento de anticorpo do mesmo, que opcionalmente é um fragmento de cadeia simples.

71. O método de modalidade 70, em que o fragmento compreende regiões variáveis de anticorpo ligadas por um ligador flexível.

72. O método de modalidade 70 ou modalidade 71, em que o fragmento compreende um scFv.

73. O método de qualquer uma das modalidades 62 a 72, em que a terapia com célula T compreende um receptor recombinante que também compreende um espaçador, opcionalmente derivado de uma imunoglobulina, opcionalmente compreendendo uma região dobrada.

74. O método de qualquer uma das modalidades 62 a 73, em que o receptor de antígeno recombinante compreende uma região de sinalização intracelular.

75. O método de modalidade 74, em que a região de sinalização intracelular compreende um domínio de sinalização intracelular.

76. O método de modalidade 75, em que o domínio de sinalização intracelular é ou compreende um domínio de sinalização primária, um domínio de sinalização que é capaz de induzir um sinal de ativação primária em uma célula T, um domínio de sinalização de um componente de receptor de célula T (TCR), e/ou um domínio de sinalização compreendendo um *motivo* de ativação com base em tirosina imunorreceptora (ITAM).

77. O método de modalidade 75 ou modalidade 76, em que o domínio de sinalização intracelular é ou compreende um domínio de sinalização intracelular de uma cadeia CD, opcionalmente uma cadeia CD3-zeta (CD3 $\zeta$ ), ou uma porção de sinalização do mesmo.

78. O método de qualquer uma das modalidades 75 a 77, em que o receptor recombinante também compreende um domínio de transmembrana disposto entre o domínio extracelular e a região de sinalização intracelular, em que o domínio de transmembrana é opcionalmente domínio de transmembrana de CD8 ou CD28.

79. O método de qualquer uma das modalidades 75 a 78, em que a região de sinalização intracelular também compreende uma região de sinalização coestimulatória.

80. O método de modalidade 79, em que a região de sinalização coestimulatória compreende um domínio de sinalização intracelular de uma molécula coestimulatória de célula T ou uma porção de sinalização do mesmo.

81. O método de modalidade 79 ou modalidade 80, em que a região de sinalização coestimulatória compreende um domínio de sinalização intracelular de um CD28, um 4-1BB ou um ICOS ou uma porção de sinalização do mesmo.

82. O método de qualquer uma das modalidades 79 a 81, em que a região de sinalização coestimulatória compreendendo um domínio de sinalização intracelular de 4-1BB.

83. O método de qualquer uma das modalidades 79 a 82, em que a região de sinalização coestimulatória é entre o domínio de transmembrana e a região de sinalização intracelular.

84. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 83, em que a terapia com célula T compreende:

células T selecionadas do grupo que consiste em células T de memória central, células T de memória efetora, células T *naive*, células T de memória central genealógicas, células T efetoras e células T reguladoras; e/ou

uma pluralidade de células, a pluralidade compreendendo pelo menos 50 % de uma população de células selecionadas do grupo que consiste em células T CD4+, células T CD8+, células T de memória central, células T de memória efetora, células T *naive*, células T de memória central genealógicas, células T efetoras e células T reguladoras.

85. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 84, em que a terapia com célula T compreende células T que são CD4+ ou CD8+.

86. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 85, em que a terapia com célula T compreende células primárias derivadas de um indivíduo.

87. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 86, em que a terapia com célula T compreende células que são autólogas ao indivíduo.

88. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 87, em que a terapia com célula T compreende células T que são alogênicas ao indivíduo.

89. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 88, em que o indivíduo é um humano.

90. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 89,

em que a terapia com célula T compreende a administração de ou de cerca de  $1 \times 10^5$  a  $1 \times 10^8$  células expressando o receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), de ou de cerca de  $5 \times 10^5$  a  $1 \times 10^7$  células expressando o receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs) ou de ou de cerca de  $1 \times 10^6$  a  $1 \times 10^7$  células expressando o receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), cada qual inclusive.

91. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 90, em que a terapia com célula T compreende a administração de não mais do que  $1 \times 10^8$  células expressando o receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), não mais do que  $1 \times 10^7$  células expressando o receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), não mais do que  $0,5 \times 10^7$  células expressando o receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), não mais do que  $1 \times 10^6$  células expressando o receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), não mais do que  $0,5 \times 10^6$  células expressando o receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs).

92. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 91, em que a quantidade de células administradas na terapia com célula T é menor do que a quantidade em outro método em que a terapia com célula T é administrada sem administração do composto imunomodulatório, opcionalmente cujo outro método resulta em um grau similar ou menor de melhora ou redução ou prevenção da doença ou condição ou sintoma ou carga da mesma, como em comparação com aquele

resultante do método.

93. O método de modalidade 92, em que a quantidade de células administrada é 1,5 vezes, 2 vezes, 3 vezes, 4 vezes, 5 vezes, ou 10 vezes menor do que aquela administrada no outro método.

94. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 93, em que a terapia com célula T é administrada como uma única composição farmacêutica compreendendo as células.

95. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 94, em que a terapia com célula T compreende uma dose de célula que é uma dose dividida, em que as células da dose são administrado em uma pluralidade de composições, coletivamente compreendendo as células da dose, durante um período de não mais do que três dias.

96. O método de qualquer uma das modalidades 1-95, em que o método também compreende administrar uma quimioterapia de depleção linfática antes da administração da terapia com célula T.

97. O método de acordo com qualquer uma das modalidades 1 a 96, em que a doença ou condição é câncer.

98. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 97, em que o câncer é uma malignidade de célula B e/ou um mieloma, linfoma ou leucemia.

99. O método de modalidade 97 ou modalidade 98, em que o câncer é linfoma da célula manto (MCL), mieloma múltiplo (MM), leucemia linfoblástica aguda (LLA), LLA adulta, leucemia linfoblástica crônica (LLC), linfoma não Hodgkin (LNH), ou Linfoma de célula B grande difusa (DLBCL).

100. O método de modalidade 97, em que o câncer é um câncer não hematológico ou é um tumor sólido.

101. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 100, em que a terapia com célula T exibe expansão e/ou persistência aumentada ou prolongada no indivíduo como em comparação com um

método em que a terapia com célula T é administrada ao indivíduo na ausência do composto imunomodulatório.

102. O método de qualquer uma das modalidades 1 a 101, em que o método reduz a carga tumoral para um grau maior e/ou durante um período de tempo maior como em comparação com a redução que seria observada com um método comparável em que a terapia com célula T é administrada ao indivíduo na ausência do composto imunomodulatório e/ou em que o composto imunomodulatório é administrado na ausência da terapia com célula T, opcionalmente na mesma dose ou programa de dosagem.

103. Um *kit*, compreendendo:

(a) uma composição farmacêutica compreendendo uma dose unitária de uma terapia com célula T; e

(b) instruções para administração da composição a um indivíduo tendo uma doença ou condição em combinação com administração de uma composição compreendendo um composto imunomodulatório, em que as instruções especificam a administração do composto imunomodulatório em uma ou mais doses unitárias de acordo com um ciclo de administração compreendendo:

(i) administração do composto imunomodulatório durante até 21 dias consecutivos, em que o ciclo compreende mais do que 30 dias começando na iniciação da administração do composto imunomodulatório; e/ou

(ii) administração do composto imunomodulatório durante uma pluralidade de dias consecutivos seguida por um período de repouso durante o qual o composto imunomodulatório não é administrado, em que o período de repouso é maior do que 14 dias consecutivos; e/ou

(iii) administração do composto imunomodulatório durante não mais do que 14 dias consecutivos.

104. Um *kit*, compreendendo:

(a) uma composição farmacêutica compreendendo uma ou mais doses unitárias de um composto imunomodulatório; e

(b) instruções para administração do composto imunomodulatório a um indivíduo tendo uma doença ou condição em combinação com administração de uma dose unitária de uma composição farmacêutica compreendendo uma terapia com célula T, em que as instruções especificam a administração de uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório de acordo com um ciclo de administração compreendendo:

(i) administração do composto imunomodulatório durante até 21 dias consecutivos, em que o ciclo compreende mais do que 30 dias começando na iniciação da administração do composto imunomodulatório; e/ou

(ii) administração do composto imunomodulatório durante uma pluralidade de dias consecutivos seguida por um período de repouso durante o qual o composto imunomodulatório não é administrado, em que o período de repouso é maior do que 14 dias consecutivos; e/ou

(iii) administração do composto imunomodulatório durante não mais do que 14 dias consecutivos.

105. O *kit* de modalidade 103 ou modalidade 104, em que as instruções especificam a iniciação de uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório no mesmo dia, opcionalmente de forma concorrente, como iniciação de administração da terapia com célula T.

106. O *kit* de modalidade 103 ou modalidade 104, em que as instruções especificam a iniciação de uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório antes da iniciação da administração da terapia com célula T.

107. O *kit* de modalidade 106, em que as instruções especificam a iniciação de uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório:

(1) em ou dentro de uma semana antes de collecting, do indivíduo. uma amostra compreendendo células T a serem modificadas, opcionalmente em que a amostra é uma amostra de aférese; e/ou

(2) em um momento quando uma ou mais etapas de um processo de fabricação *ex vivo* para produção da terapia com célula T modificada; e/ou

(3) dentro de 14 dias antes da administração da terapia com célula T.

108. O *kit* de modalidade 107, em que a uma ou mais etapas do processo de fabricação *ex vivo* é selecionado de:

(1) isolamento de células de uma amostra biológica por leucaférese ou aférese;

(2) seleção ou enriquecimento de células por métodos com base em imunoafinidade;

(3) introdução de um ácido nucleico recombinante, opcionalmente um vetor viral, em células;

(4) incubação de células, opcionalmente engineered, na presença de uma ou mais condições de estimulação;

(5) formulação de células na presença de um crioprotetor; e/ou

(6) formulação de células para administração a um indivíduo, opcionalmente na presença de um excipiente farmacologicamente aceitável.

109. O *kit* de qualquer uma das modalidades 103 a 106, em que as instruções especificam a iniciação de uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório dentro de 10 dias, 7 dias, 4 dias, 3 dias ou 2 dias antes da iniciação da administração da terapia



com célula T.

110. O *kit* de modalidade 103 ou modalidade 104, em que as instruções especificam a iniciação de uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório após iniciação da administração da terapia com célula T.

111. O *kit* de modalidade 110, em que as instruções especificam a iniciação de uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório pelo menos 2 dias após, pelo menos 1 semana após, pelo menos 2 semanas após, pelo menos 3 semanas após, ou pelo menos 4 semanas após, a iniciação da administração da terapia com célula T, e/ou 2 a 28 dias ou 7 a 21 dias após iniciação da administração da terapia com célula T.

112. Um *kit*, compreendendo:

(a) uma composição farmacêutica compreendendo uma dose unitária de uma terapia com célula T; e

(b) instruções para administração da composição a um indivíduo tendo uma doença ou condição em combinação com administração de um composto imunomodulatório, em que as instruções especificam a iniciação da administração do composto imunomodulatório em uma ou mais doses unitárias em um momento:

(1) pelo menos 2 dias após, pelo menos 1 semana após, pelo menos 2 semanas após, pelo menos 3 semanas após, ou pelo menos 4 semanas após, iniciar a administração da terapia com célula T, e/ou é realizada 2 a 28 dias ou 7 a 21 dias após iniciar a administração da terapia com célula T; e/ou

(2) em ou após, opcionalmente imediatamente após ou dentro de 1 a 3 dias após: (i) pico ou nível máximo das células da terapia com célula T ser detectável no sangue do indivíduo; (ii) o número de células da terapia com célula T detectável no sangue, após ter sido detectável no sangue, é não detectável ou é reduzido, opcionalmente

reduzido em comparação com um ponto de tempo anterior após administração da terapia com célula T; (iii) o número de células da terapia com célula T detectável no sangue é diminuído em ou mais do que 1,5 vezes, 2,0 vezes, 3,0 vezes, 4,0 vezes, 5,0 vezes, 10 vezes ou mais o número de pico ou máximo de células da terapia com célula T detectável no sangue do indivíduo após a iniciação da administração da terapia com célula T; (iv) em um momento após um nível de pico ou máximo das células da terapia com célula T ser detectável no sangue do indivíduo, o número de células de ou derivado das células T detectável no sangue do indivíduo é menor do que menor do que 10%, menor do que 5%, menor do que 1% ou menor do que 0,1% de células mononucleares de sangue periférico total (PBMCs) no sangue do indivíduo; (v) o indivíduo exibe progressão de doença e/ou tem recaída após remissão após tratamento com a terapia com célula T; e/ou (iv) o indivíduo exibe carga tumoral aumentada em comparação com a carga tumoral em um momento antes de ou após a administração das células T e antes da iniciação da administração do composto imunomodulatório.

113. Um *kit*, compreendendo:

(a) uma composição farmacêutica compreendendo uma ou mais doses unitárias de um composto imunomodulatório; e

(b) instruções para administração do composto imunomodulatório a um indivíduo tendo uma doença ou condição em combinação com administração de uma dose unitária de uma composição farmacêutica compreendendo uma terapia com célula T, em que as instruções especificam a iniciação da administração da uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório em um momento:

(1) pelo menos 2 dias após, pelo menos 1 semana após, pelo menos 2 semanas após, pelo menos 3 semanas após, ou pelo menos 4 semanas após, iniciar a administração da terapia com célula T, e/ou é realizada 2 a 28 dias ou 7 a 21 dias após iniciar a administra-

ção da terapia com célula T; e/ou

(2) em ou após, opcionalmente imediatamente após ou dentro de 1 a 3 dias após: (i) pico ou nível máximo das células da terapia com célula T ser detectável no sangue do indivíduo; (ii) o número de células da terapia com célula T detectável no sangue, após ter sido detectável no sangue, é não detectável ou é reduzido, opcionalmente reduzido em comparação com um ponto de tempo anterior após administração da terapia com célula T; (iii) o número de células da terapia com célula T detectável no sangue é diminuído em ou mais do que 1,5 vezes, 2,0 vezes, 3,0 vezes, 4,0 vezes, 5,0 vezes, 10 vezes ou mais o número de pico ou máximo de células da terapia com célula T detectável no sangue do indivíduo após a iniciação da administração da terapia com célula T; (iv) em um momento após um nível de pico ou máximo das células da terapia com célula T ser detectável no sangue do indivíduo, o número de células de ou derivado das células T detectável no sangue do indivíduo é menor do que menor do que 10%, menor do que 5%, menor do que 1% ou menor do que 0,1% de células mononucleares de sangue periférico total (PBMCs) no sangue do indivíduo; (v) o indivíduo exibe progressão de doença e/ou tem recaída após remissão após tratamento com a terapia com célula T; e/ou (iv) o indivíduo exibe carga tumoral aumentada em comparação com a carga tumoral em um momento antes de ou após a administração das células T e antes da iniciação da administração do composto imunomodulatório.

114. O *kit* de modalidade 112 ou modalidade 113, em que as instruções especificam a iniciação de uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório em um momento que é maior do que ou maior do que cerca de 14 dias, 15 dias, 16 dias, 17 dias, 18 dias, 19, dias, 20 dias, 21 dias, 24 dias, ou 28 dias após iniciar a administração da terapia com célula T.

115. O *kit* de qualquer uma das modalidades 112 a 114,

em que as instruções especificam a seleção de um indivíduo para a administração da uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório, após ter sido administrada a terapia com célula T, em que: (i) pico ou nível máximo das células da terapia com célula T ser detectável no sangue do indivíduo; (ii) o número de células da terapia com célula T detectável no sangue, após ter sido detectável no sangue, é não detectável ou é reduzido, opcionalmente reduzido em comparação com um ponto de tempo anterior após administração da terapia com célula T; (iii) o número de células da terapia com célula T detectável no sangue é diminuído em ou mais do que 1,5 vezes, 2,0 vezes, 3,0 vezes, 4,0 vezes, 5,0 vezes, 10 vezes ou mais o número de pico ou máximo de células da terapia com célula T detectável no sangue do indivíduo após a iniciação da administração da terapia com célula T; (iv) em um momento após um nível de pico ou máximo das células da terapia com célula T ser detectável no sangue do indivíduo, o número de células de ou derivado das células T detectável no sangue do indivíduo é menor do que menor do que 10%, menor do que 5%, menor do que 1% ou menor do que 0,1% de células mononucleares de sangue periférico total (PBMCs) no sangue do indivíduo; (v) o indivíduo exibe progressão de doença e/ou tem recaída após remissão após tratamento com a terapia com célula T; e/ou (iv) o indivíduo exibe carga tumoral aumentada em comparação com a carga tumoral em um momento antes de ou após a administração das células T e antes da iniciação da administração do composto imunomodulatório.

116. Um *kit*, compreendendo:

(a) uma composição farmacêutica compreendendo uma dose unitária de uma terapia com célula T; e

(b) instruções para administração da composição a um indivíduo tendo uma doença ou condição em combinação com administração um composto imunomodulatório, em que as instruções especifi-

cam a administração do composto imunomodulatório a um indivíduo em uma ou mais doses unitárias se no ou próximo ao dia 12 a 15, opcionalmente no ou próximo ao dia 14, após a iniciação da administração da terapia com célula T para o tratamento de uma doença ou condição:

(i) o número de células da terapia com célula T no indivíduo é menor do que 75% do número médio de células da terapia com célula T ao mesmo tempo em uma pluralidade de indivíduos administrados com a mesma dose ou similar da terapia com célula T; e/ou

(ii) o número de células CD3+ ou CD8+ da terapia com célula T, opcionalmente células T CAR+, no sangue é menor do que 10 células por  $\mu\text{L}$ , menor do que 5 células por  $\mu\text{L}$  ou menor do que 1 célula por  $\mu\text{L}$ .

117. Um *kit*, compreendendo:

(a) uma composição farmacêutica compreendendo uma ou mais doses unitárias de um composto imunomodulatório; e

(b) instruções para administração da uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório a um indivíduo tendo uma doença ou condição em combinação com administração de uma composição farmacêutica compreendendo uma dose unitária de uma terapia com célula T, em que as instruções especificam a administração de uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório a um indivíduo no ou próximo ao dia 12 a 15, opcionalmente no ou próximo ao dia 14, após a iniciação da administração da terapia com célula T para o tratamento de uma doença ou condição:

(i) o número de células da terapia com célula T no indivíduo é menor do que 75% do número médio de células da terapia com célula T ao mesmo tempo em uma pluralidade de indivíduos administrados com a mesma dose ou similar da terapia com célula T; e/ou

(ii) o número de células CD3+ ou CD8+ da terapia com cé-

lula T, opcionalmente células T CAR+, no sangue é menor do que 10 células por  $\mu\text{L}$ , menor do que 5 células por  $\mu\text{L}$  ou menor do que 1 célula por  $\mu\text{L}$ .

118. O *kit* de qualquer uma das modalidades 103 a 117, em que o composto imunomodulatório é formulado em uma quantidade para administração diária e/ou as instruções especificam a administração do composto imunomodulatório diária.

119. O *kit* de qualquer uma das modalidades 103 a 118, em que as instruções especificam a administração do composto imunomodulatório durante mais do que ou mais do que cerca de 7 dias consecutivos, mais do que ou mais do que cerca de 14 dias consecutivos, mais do que ou mais do que cerca de 21 dias consecutivos, mais do que ou mais do que cerca de 21 dias consecutivos, ou mais do que ou mais do que cerca de 28 dias consecutivos.

120. O *kit* de qualquer uma das modalidades 103 a 119, em que as instruções especificam a administração do composto imunomodulatório em um ciclo de administração compreendendo administração diária durante uma pluralidade de dias consecutivos seguida por um período de repouso durante o qual o composto imunomodulatório não é administrado.

121. O *kit* de modalidade 120, em que as instruções especificam o período de repouso durante o qual o composto imunomodulatório não é administrado é mais do que 7 dias consecutivos, mais do que 14 dias consecutivos, mais do que 21 dias, ou mais do que 28 dias.

122. O *kit* de qualquer uma das modalidades 103 a 121, em que as instruções especificam o ciclo de administração do composto imunomodulatório é repetido pelo menos uma vez.

123. O *kit* de qualquer uma das modalidades 103 a 122, em que as instruções especificam a continuação da administração do

composto imunomodulatório, de pelo menos após a iniciação da administração das células T, até:

o número de células de ou derivado da terapia com célula T administrada detectável no sangue do indivíduo é aumentado em comparação com o indivíduo em um ponto de tempo anterior exatamente antes da administração do composto imunomodulatório ou em comparação com um ponto de tempo anterior após administração da terapia com a célula T;

o número de células de ou derivado da terapia com célula T detectável no sangue está dentro de 2,0 vezes (maior ou menor) o número de pico ou máximo observado no sangue do indivíduo após a iniciação da administração das células T;

o número de células da terapia com célula T detectável no sangue do indivíduo é mais do que ou mais do que cerca de 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50%, ou 60% de células mononucleares de sangue periférico total (PBMCs) no sangue do indivíduo; e/ou

o indivíduo exibe uma redução na carga tumoral em comparação com carga tumoral em um momento imediatamente antes da administração da terapia com célula T ou em um momento imediatamente antes da administração do composto imunomodulatório; e/ou

o indivíduo exibe remissão completa ou clínica.

124. O *kit* de qualquer uma das modalidades 103 a 123, em que o composto imunomodulatório liga-se ao cereblon (CRBN) e/ou ao complexo de E3 ubiquitina CRBN-ligase; e/ou é um inibidor de Ikaros (IKZF1) ou fator de transcrição de Aiolos (IKZF3); e/ou realça a ubiquitinação ou degradação de Ikaros (IKZF1) ou Aiolos (IKZF3).

125. O *kit* de qualquer uma das modalidades 103 a 124, em que o composto imunomodulatório é talidomida ou é um derivado ou análogo de talidomida.

126. O *kit* de qualquer uma das modalidades 103 a 125,

em que o composto imunomodulatório é lenalidomida, pomalidomida, avadomida, um estereoisômero de lenalidomida, pomalidomida, avadomida, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo.

127. O *kit* de qualquer uma das modalidades 103 a 126, em que o composto imunomodulatório is3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona, um estereoisômero ou um enantiômero ou uma mistura de enantiômeros do mesmo, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo.

128. O *kit* de qualquer uma das modalidades 103 a 127, em que o composto imunomodulatório é 3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona.

129. O *kit* de qualquer uma das modalidades 103 a 126, em que o composto imunomodulatório é 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, a stereoisomer ou um enantiômero ou uma mistura de enantiômeros do mesmo, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo.

130. O *kit* de qualquer uma das modalidades 103 a 127 e 129, em que o composto imunomodulatório é 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona.

131. O *kit* de qualquer uma das modalidades 103 a 130, em que o composto imunomodulatório é formulado para administração oral, subcutânea ou intravenosamente.

132. O *kit* de modalidade 131, em que o composto imunomodulatório é formulado para administração oral.

133. O *kit* de qualquer uma das modalidades 103 a 132 em que o composto imunomodulatório é formulado em uma cápsula ou comprimido.



134. O *kit* de qualquer uma das modalidades 103 a 133, em que:

cada uma das uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório compreende an amount de ou de cerca de 0,1 mg a cerca 100 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 50 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 25 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 10 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 5 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 1 mg, de ou de cerca de 1 mg a 100 mg, de ou de cerca de 1 mg a 50 mg, de ou de cerca de 1 mg a 25 mg, de ou de cerca de 1 mg a 10 mg, de ou de cerca de 1 mg a 5 mg, de ou de cerca de 5 mg a 100 mg, de ou de cerca de 5 mg a 50 mg, de ou de cerca de 5 mg a 25 mg, de ou de cerca de 5 mg a 10 mg, de ou de cerca de 10 mg a 100 mg, de ou de cerca de 10 mg a 50 mg, de ou de 10 mg a 25 mg, de ou de cerca de 25 mg a 100 mg, de ou de cerca de 25 mg a 50 mg ou de ou de cerca de 50 mg a 100 mg, cada qual inclusive; e/ou

cada uma das uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório compreende uma quantidade de pelo menos ou pelo menos cerca de 0,1 mg, 0,5 mg, 1,0 mg, 2,5 mg, 5 mg, 10 mg, 25 mg, 50 mg ou 100 mg.

135. O *kit* de qualquer uma das modalidades 103 a 134, em que cada uma das uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório compreende uma quantidade maior do que ou maior do que cerca de 1 mg, 2,5 mg, 5 mg, 7,5 mg, 10 mg, 15 mg e menor do que 25 mg.

136. O *kit* de qualquer uma das modalidades 103 a 135, em que a terapia com célula T é ou compreende terapia de linfocítica (TL) infiltrante de tumor ou células geneticamente modificadas expressando um receptor recombinante que especificamente se liga a um antígeno.

137. O *kit* de qualquer uma das modalidades 103 a 136,

em que a terapia com célula T é ou compreende células geneticamente modificadas expressando um receptor recombinante que especificamente se liga a um antígeno.

138. O *kit* de modalidade 136 ou modalidade 137, em que o receptor recombinante é ou compreende um receptor de antígeno não TCR funcional ou um TCR ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo.

139. O *kit* de qualquer uma das modalidades 136 a 138, em que o receptor de antígeno recombinante é um receptor de antígeno quimérico (CAR).

140. O *kit* de qualquer uma das modalidades 136 a 139, em que o receptor de antígeno recombinante compreende an extra-cellular domain compreendendo um domínio de ligação ao antígeno que especificamente se liga a um antígeno.

141. O *kit* de qualquer uma das modalidades 136 a 140, em que o antígeno é associado com, específico para, e/ou expresso em uma célula ou tecido de uma doença, distúrbio ou condição.

142. O *kit* de modalidade 141, em que a doença, distúrbio ou condição é uma doença ou distúrbio infeccioso, uma doença autoimune, uma doença inflamatória, ou um tumor ou um câncer.

143. O *kit* de qualquer uma das modalidades 136 a 142, em que o antígeno é um antígeno de tumor.

144. O *kit* de qualquer uma das modalidades 136 a 143, em que o antígeno é selecionado dentre ROR1, antígeno de maturação de célula B (BCMA), anidrase carbônica 9 (CAIX), tEGFR, Her2/neu (tirosina cinase receptora erbB2), L1-CAM, CD19, CD20, CD22, mesotelina, CEA, e antígeno de superfície de hepatite B, receptor antifolato, CD23, CD24, CD30, CD33, CD38, CD44, EGFR, glicoproteína epitelial 2 (EPG-2), glicoproteína epitelial 40 (EPG-40), EPHA2, dímeros de erb-B2, erb-B3, erb-B4, erbB, EGFR vIII, proteína

de ligação ao folato (FBP), FCRL5, FCRH5, receptor de acetilcolina fetal, GD2, GD3, HMW-MAA, IL-22R-alfa, IL-13R-alfa2, receptor de domínio de inserção de cinase (kdr), cadeia kappa leve, Lewis Y, molécula de adesão de célula L1, (L1-CAM), antígeno associado com melanoma (MAGE)-A1, MAGE-A3, MAGE-A6, Antígeno preferencialmente expresso de melanoma (PRAME), survivina, TAG72, B7-H6, receptor alfa de IL-13 2 (IL-13Ra2), CA9, GD3, HMW-MAA, CD171, G250/CAIX, HLA-AI MAGE AI, HLA-A2 NY-ESO-1, PSCA, receptor-a de folato, CD44v6, CD44v7/8, avb6 integrin, 8H9, NCAM, receptores de VEGF, 5T4, Foetal AchR, ligantes de NKG2D, CD44v6, antígeno dual, um antígeno de câncer de testículos, mesotelina, CMV murino, mucina 1 (MUC1), MUC16, PSCA, NKG2D, NY-ESO-1, MART-1, gp100, receptor acoplado à proteína G 5D (GPCR5D), antígeno oncofetal, ROR1, TAG72, VEGF-R2, antígeno carcinoembriônico (CEA), Her2/neu, receptor de estrogênio, receptor de progesterona, efrinaB2, CD123, c-Met, GD-2, GD2 O-acetilado (OGD2), CE7, Tumor de Wilms 1 (WT-1), uma ciclina, ciclina A2, CCL-1, CD138, opcionalmente um antígeno humano de qualquer um dos anteriores; um antígeno específico de patógeno; e um antígeno associado com um rótulo universal.

145. O *kit* de qualquer uma das modalidades 136 a 144, em que o antígeno é ou compreende CD19, opcionalmente CD19 humano.

146. O *kit* de qualquer uma das modalidades 136 a 145, em que o antígeno é ou compreende BCMA, opcionalmente BCMA humano.

147. O *kit* de qualquer uma das modalidades 136 a 146, em que o domínio de ligação ao antígeno é ou compreende um anticorpo ou um fragmento de anticorpo do mesmo, que opcionalmente é um fragmento de cadeia simples.

148. O *kit* de modalidade 147, em que o fragmento com-

preende regiões variáveis de anticorpo ligadas por um ligador flexível.

149. O *kit* de modalidade 147 ou modalidade 148, em que o fragmento compreende um scFv.

150. O *kit* de qualquer uma das modalidades 136 a 149, em que o receptor recombinante também compreende um espaçador, opcionalmente derivado de uma imunoglobulina, opcionalmente compreendendo uma região dobradiça.

151. O *kit* de qualquer uma das modalidades 136 a 150, em que o receptor de antígeno recombinante compreende uma região de sinalização intracelular.

156. O *kit* de modalidade 151, em que a região de sinalização intracelular compreende um domínio de sinalização intracelular.

153. O *kit* de modalidade 152, em que o domínio de sinalização intracelular é ou compreende um domínio de sinalização primária, um domínio de sinalização que é capaz de induzir um sinal de ativação primária em uma célula T, um domínio de sinalização de um componente de receptor de célula T (TCR), e/ou um domínio de sinalização compreendendo um *motivo* de ativação com base em tirosina imunorreceptora (ITAM).

154. O *kit* de modalidade 152 ou modalidade 153, em que o domínio de sinalização intracelular é ou compreende um domínio de sinalização intracelular de uma cadeia CD, opcionalmente uma cadeia CD3-zeta (CD3 $\zeta$ ), ou uma porção de sinalização do mesmo.

155. O *kit* de qualquer uma das modalidades 152 a 154, em que o receptor recombinante também compreende um domínio de transmembrana disposto entre o domínio extracelular e a região de sinalização intracelular, em que o domínio de transmembrana é opcionalmente domínio de transmembrana de CD8 ou CD28.

156. O *kit* de qualquer uma das modalidades 152 a 155, em que a região de sinalização intracelular também compreende uma

região de sinalização coestimulatória.

157. O *kit* de modalidade 156, em que a região de sinalização coestimulatória compreende um domínio de sinalização intracelular de uma molécula coestimulatória de célula T ou uma porção de sinalização do mesmo.

158. O *kit* de modalidade 156 ou modalidade 157, em que a região de sinalização coestimulatória compreende um domínio de sinalização intracelular de um CD28, um 4-1BB ou um ICOS ou uma porção de sinalização do mesmo.

159. O *kit* de qualquer uma das modalidades 156-158, em que a região de sinalização coestimulatória compreendendo um domínio de sinalização intracelular de 4-1BB.

160. O *kit* de qualquer uma das modalidades 156-159, em que a região de sinalização coestimulatória é entre o domínio de transmembrana e a região de sinalização intracelular.

161. O *kit* de qualquer uma das modalidades 103 a 160, em que a terapia com célula T compreende:

células T selecionadas do grupo que consiste em células T de memória central, células T de memória efetora, células T *naive*, células T de memória central genealógicas, células T efetoras e células T reguladoras; e/ou

uma pluralidade de células, a pluralidade compreendendo pelo menos 50 % de uma população de células selecionadas do grupo que consiste em células T CD4+, células T CD8+, células T de memória central, células T de memória efetora, células T *naive*, células T de memória central genealógicas, células T efetoras e células T reguladoras.

162. O *kit* de qualquer uma das modalidades 103 a 161, em que a terapia com célula T compreende células T que são CD4+ ou CD8+.

163. O *kit* de qualquer uma das modalidades 103 a 162, em que a terapia com célula T compreende células primárias derivadas de um indivíduo.

164. O *kit* de qualquer uma das modalidades 103 a 163, em que a terapia com célula T é autóloga ao indivíduo.

165. O método de qualquer uma das modalidades 103 a 164, em que a terapia com célula T é alogênicas ao indivíduo.

166. O *kit* de qualquer uma das modalidades 103 a 165, em que o indivíduo é um humano.

167. O *kit* de qualquer uma das modalidades 103 a 166, em que a dose unitária da terapia com célula T compreende de ou de cerca de  $1 \times 10^5$  a  $1 \times 10^8$  células expressando o receptor recombinante totais, células T totais, ou células monocleares de sangue periférico totais (PBMCs), de ou de cerca de  $5 \times 10^5$  a  $1 \times 10^7$  células expressando o receptor recombinante totais, células T totais, ou células monocleares de sangue periférico totais (PBMCs) ou de ou de cerca de  $1 \times 10^6$  a  $1 \times 10^7$  células expressando o receptor recombinante totais, células T totais, ou células monocleares de sangue periférico totais (PBMCs), cada qual inclusive.

168. O *kit* de qualquer uma das modalidades 103 a 167, em que a dose unitária da terapia com célula T compreende a administração de não mais do que  $1 \times 10^8$  células expressando o receptor recombinante totais, células T totais, ou células monocleares de sangue periférico totais (PBMCs), não mais do que  $1 \times 10^7$  células expressando o receptor recombinante totais, células T totais, ou células monocleares de sangue periférico totais (PBMCs), não mais do que  $0,5 \times 10^7$  células expressando o receptor recombinante totais, células T totais, ou células monocleares de sangue periférico totais (PBMCs), não mais do que  $1 \times 10^6$  células expressando o receptor recombinante totais, células T totais, ou células monocleares de sangue periférico to-

tais (PBMCs), não mais do que  $0,5 \times 10^6$  células expressando o receptor recombinante totais, células T totais, ou células monocleares de sangue periférico totais (PBMCs).

169. O *kit* de qualquer uma das modalidades 103 a 168, em que a dose unitária da terapia com célula T compreende uma dose de célula que é uma dose dividida, em que as células da dose são administrado em uma pluralidade de composições, coletativamente compreendendo as células da dose, durante um período de não mais do que três dias.

170. O *kit* de qualquer uma das modalidades 103 a 169, em que as instruções further especificam administrando uma quimioterapia de depleção linfática antes da administração da terapia com célula T.

171. O *kit* de acordo com qualquer uma das modalidades 103 a 170, em que a doença ou condição é câncer.

172. O *kit* de qualquer uma das modalidades 103 a 171, em que o câncer é uma malignidade de célula B e/ou um mieloma, linfoma ou leucemia.

173. O *kit* de modalidade 171 ou modalidade 172, em que o câncer é linfoma da célula manto (MCL), mieloma múltiplo (MM), leucemia linfoblástica aguda (LLA), LLA adulta, leucemia linfoblástica crônica (LLC), linfoma não Hodgkin (LNH), ou Linfoma de célula B grande difusa (DLBCL).

174. O *kit* de modalidade 171, em que o câncer é um câncer não hematológico ou é um tumor sólido.

175. Um artigo de fabricação, compreendendo o *kit* de qualquer uma das modalidades 103 a 174.

176. Uma composição farmacêutica compreendendo uma terapia com célula T, um composto imunomodulatório e um veículo farmaceuticamente aceitável.

177. A composição farmacêutica de modalidade 176, em que a terapia com célula T é formulado em uma quantidade de dose unitária.

178. A composição farmacêutica de modalidade 177, em que a dose unitária da terapia com célula T compreende de ou de cerca de  $1 \times 10^5$  a  $1 \times 10^8$  células expressando o receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), de ou de cerca de  $5 \times 10^5$  a  $1 \times 10^7$  células expressando o receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs) ou de ou de cerca de  $1 \times 10^6$  a  $1 \times 10^7$  células expressando o receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), cada qual inclusive.

179. A composição farmacêutica de modalidade 177 ou modalidade 178, em que a dose unitária da terapia com célula T compreende a administração de não mais do que  $1 \times 10^8$  células expressando o receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), não mais do que  $1 \times 10^7$  células expressando o receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), não mais do que  $0,5 \times 10^7$  células expressando o receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), não mais do que  $1 \times 10^6$  células expressando o receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), não mais do que  $0,5 \times 10^6$  células expressando o receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs).

180. A composição farmacêutica de qualquer uma das modalidades 176 a 179, em que o composto imunomodulatório liga-se ao cereblon (CRBN) e/ou ao complexo de E3 ubiquitina CRBN-ligase;



e/ou é um inibidor de Ikaros (IKZF1) ou fator de transcrição de Aiolos (IKZF3); e/ou realça a ubiquitinação ou degradação de Ikaros (IKZF1) ou Aiolos (IKZF3).

181. A composição farmacêutica de qualquer uma das modalidades 176 a 180, em que o composto imunomodulatório é talidomida ou é um derivado ou análogo de talidomida.

182. A composição farmacêutica de qualquer uma das modalidades 176-181, em que o composto imunomodulatório é lenalidomida, pomalidomida, avadomida, um estereoisômero de lenalidomida, pomalidomida, avadomida, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo.

183. A composição farmacêutica de qualquer uma das modalidades 176 a 182, em que o composto imunomodulatório é 3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona, a stereoisomer ou um enantiômero ou uma mistura de enantiômeros do mesmo, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo.

184. A composição farmacêutica de qualquer uma das modalidades 176 a 183, em que o composto imunomodulatório é 3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona.

185. A composição farmacêutica de qualquer uma das modalidades 176 a 182, em que o composto imunomodulatório é 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, a stereoisomer ou um enantiômero ou uma mistura de enantiômeros do mesmo, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo.

186. A composição farmacêutica de qualquer uma das modalidades 176 a 182 e 185, em que o composto imunomodulatório é 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona.

187. A composição farmacêutica de modalidades 176 a

186, em que o composto imunomodulatório é formulado em uma quantidade de dose unitária.

188. A composição farmacêutica de qualquer uma das modalidades 176-187, em que:

a quantidade do composto imunomodulatório na composição é de ou de cerca de 0,1 mg a cerca 100 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 50 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 25 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 10 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 5 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 1 mg, de ou de cerca de 1 mg a 100 mg, de ou de cerca de 1 mg a 50 mg, de ou de cerca de 1 mg a 25 mg, de ou de cerca de 1 mg a 10 mg, de ou de cerca de 1 mg a 5 mg, de ou de cerca de 5 mg a 100 mg, de ou de cerca de 5 mg a 50 mg, de ou de cerca de 5 mg a 25 mg, de ou de cerca de 5 mg a 10 mg, de ou de cerca de 10 mg a 100 mg, de ou de cerca de 10 mg a 50 mg, de ou de 10 mg a 25 mg, de ou de cerca de 25 mg a 100 mg, de ou de cerca de 25 mg a 50 mg ou de ou de cerca de 50 mg a 100 mg, cada qual inclusive; e/ou

a quantidade do composto imunomodulatório na composição é pelo menos ou pelo menos cerca de 0,1 mg, 0,5 mg, 1,0 mg, 2,5 mg, 5 mg, 10 mg, 25 mg, 50 mg ou 100 mg.

189. A composição farmacêutica de modalidade 187 ou modalidade 188, em que a quantidade do composto imunomodulatório na composição é maior do que ou maior do que cerca de 1 mg, 2,5 mg, 5 mg, 7,5 mg, 10 mg, 15 mg e menor do que 25 mg.

190. A composição farmacêutica de qualquer uma das modalidades 176 a 189, em que a terapia com célula T é ou compreende terapia de linfocítica (TL) infiltrante de tumor ou células geneticamente modificadas expressando um receptor recombinante que especificamente se liga a um antígeno.

191. A composição farmacêutica de qualquer uma das modalidades 176 a 190, em que a terapia com célula T é ou compreende

células geneticamente modificadas expressando um receptor recombinante que especificamente se liga a um antígeno.

192. A composição farmacêutica de modalidade 190 ou modalidade 191, em que o receptor recombinante é ou compreende um receptor de antígeno não TCR funcional ou um TCR ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo.

193. A composição farmacêutica de qualquer uma das modalidades 190 a 192, em que o receptor de antígeno recombinante é um receptor de antígeno quimérico (CAR).

194. A composição farmacêutica de qualquer uma das modalidades 190 a 193, em que o receptor de antígeno recombinante compreende an extracellular domain compreendendo um domínio de ligação ao antígeno que especificamente se liga a um antígeno.

195. A composição farmacêutica de qualquer uma das modalidades 190 a 194, em que o antígeno é associado com, específico para, e/ou expresso em uma célula ou tecido de uma doença, distúrbio ou condição.

196. A composição farmacêutica de modalidade 195, em que a doença, distúrbio ou condição é uma doença ou distúrbio infeccioso, uma doença autoimune, uma doença inflamatória, ou um tumor ou um câncer.

197. A composição farmacêutica de qualquer uma das modalidades 190 a 195, em que o antígeno é um antígeno de tumor.

198. A composição farmacêutica de qualquer uma das modalidades 190 a 197, em que o antígeno é selecionado dentre ROR1, antígeno de maturação de célula B (BCMA), anidrase carbônica 9 (CAIX), tEGFR, Her2/neu (tirosina cinase receptora erbB2), L1-CAM, CD19, CD20, CD22, mesotelina, CEA, e antígeno de superfície de hepatite B, receptor antifolato, CD23, CD24, CD30, CD33, CD38, CD44, EGFR, glicoproteína epitelial 2 (EPG-2), glicoproteína epitelial 40

(EPG-40), EPHa2, dímeros de erb-B2, erb-B3, erb-B4, erbB, EGFR VIII, proteína de ligação ao folato (FBP), FCRL5, FCRH5, receptor de acetilcolina fetal, GD2, GD3, HMW-MAA, IL-22R-alfa, IL-13R-alfa2, receptor de domínio de inserção de cinase (kdr), cadeia kappa leve, Lewis Y, molécula de adesão de célula L1, (L1-CAM), antígeno associado com melanoma (MAGE)-A1, MAGE-A3, MAGE-A6, Antígeno preferencialmente expresso de melanoma (PRAME), survivina, TAG72, B7-H6, receptor alfa de IL-13 2 (IL-13Ra2), CA9, GD3, HMW-MAA, CD171, G250/CAIX, HLA-AI MAGE AI, HLA-A2 NY-ESO-1, PSCA, receptor-a de folato, CD44v6, CD44v7/8, avb6 integrin, 8H9, NCAM, receptores de VEGF, 5T4, Foetal AchR, ligantes de NKG2D, CD44v6, antígeno dual, um antígeno de câncer de testículos, mesotelina, CMV murino, mucina 1 (MUC1), MUC16, PSCA, NKG2D, NY-ESO-1, MART-1, gp100, receptor acoplado à proteína G 5D (GPCR5D), antígeno oncofetal, ROR1, TAG72, VEGF-R2, antígeno carcinoembrionário (CEA), Her2/neu, receptor de estrogênio, receptor de progesterona, efrinaB2, CD123, c-Met, GD-2, GD2 O-acetilado (OGD2), CE7, Tumor de Wilms 1 (WT-1), uma ciclina, ciclina A2, CCL-1, CD138, opcionalmente um antígeno humano de qualquer um dos anteriores; um antígeno específico de patógeno; e um antígeno associado com um rótulo universal.

199. A composição farmacêutica de qualquer uma das modalidades 190 a 198, em que o antígeno é ou compreende CD19, opcionalmente CD19 humano.

200. A composição farmacêutica de qualquer uma das modalidades 190 a 199, em que o antígeno é ou compreende BCMA, opcionalmente BCMA humano.

201. A composição farmacêutica de qualquer uma das modalidades 190 a 200, em que o domínio de ligação ao antígeno é ou compreende um anticorpo ou um fragmento de anticorpo do mesmo,

que opcionalmente é um fragmento de cadeia simples.

202. A composição farmacêutica de modalidade 201, em que o fragmento compreende regiões variáveis de anticorpo ligadas por um ligador flexível.

203. A composição farmacêutica de modalidade 201 ou modalidade 202, em que o fragmento compreende um scFv.

204. A composição farmacêutica de qualquer uma das modalidades 190 a 203, em que o receptor recombinante também compreende um espaçador, opcionalmente derivado de uma imunoglobulina, opcionalmente compreendendo uma região dobradiça.

205. A composição farmacêutica de qualquer uma das modalidades 190 a 204, em que o receptor de antígeno recombinante compreende uma região de sinalização intracelular.

206. A composição farmacêutica de modalidade 205, em que a região de sinalização intracelular compreende um domínio de sinalização intracelular.

207. A composição farmacêutica de modalidade 206, em que o domínio de sinalização intracelular é ou compreende um domínio de sinalização primária, um domínio de sinalização que é capaz de induzir um sinal de ativação primária em uma célula T, um domínio de sinalização de um componente de receptor de célula T (TCR), e/ou um domínio de sinalização compreendendo um *motivo* de ativação com base em tirosina imunorreceptora (ITAM).

208. A composição farmacêutica de modalidade 206 ou modalidade 207, em que o domínio de sinalização intracelular é ou compreende um domínio de sinalização intracelular de uma cadeia CD, opcionalmente uma cadeia CD3-zeta (CD3ζ), ou uma porção de sinalização do mesmo.

209. A composição farmacêutica de qualquer uma das modalidades 205 a 208, em que o receptor recombinante também com-

preende um domínio de transmembrana disposto entre o domínio extracelular e a região de sinalização intracelular, em que o domínio de transmembrana é opcionalmente domínio de transmembrana de CD8 ou CD28.

210. A composição farmacêutica de qualquer uma das modalidades 205 a 209, em que a região de sinalização intracelular também compreende uma região de sinalização coestimulatória.

211. A composição farmacêutica de modalidade 210, em que a região de sinalização coestimulatória compreende um domínio de sinalização intracelular de uma molécula coestimulatória de célula T ou uma porção de sinalização do mesmo.

212. A composição farmacêutica de modalidade 210 ou modalidade 211, em que a região de sinalização coestimulatória compreende um domínio de sinalização intracelular de um CD28, um 4-1BB ou um ICOS ou uma porção de sinalização do mesmo.

213. A composição farmacêutica de qualquer uma das modalidades 210-212, em que a região de sinalização coestimulatória compreendendo um domínio de sinalização intracelular de 4-1BB.

214. A composição farmacêutica de qualquer uma das modalidades 210-213, em que a região de sinalização coestimulatória é entre o domínio de transmembrana e a região de sinalização intracelular.

215. A composição farmacêutica de qualquer uma das modalidades 210-214, em que o receptor recombinante é ou compreende um receptor de antígeno quimérico compreendendo um domínio de ligação ao antígeno, um espaçador, a transmembrane domain de CD28, um domínio de sinalização intracelular compreendendo a cadeia CD3-zeta (CD3ζ) e um domínio de sinalização intracelular de 4-1BB.

216. A composição farmacêutica de qualquer uma das mo-

dalidades 176 a 215, em que a terapia com célula T compreende:

células T selecionadas do grupo que consiste em células T de memória central, células T de memória efetora, células T *naïve*, células T de memória central genealógicas, células T efetoras e células T reguladoras; e/ou

uma pluralidade de células, a pluralidade compreendendo pelo menos 50 % de uma população de células selecionadas do grupo que consiste em células T CD4+, células T CD8+, células T de memória central, células T de memória efetora, células T *naïve*, células T de memória central genealógicas, células T efetoras e células T reguladoras.

217. A composição farmacêutica de qualquer uma das modalidades 176 a 216, em que a terapia com célula T compreende células T que são CD4+ ou CD8+.

218. A composição farmacêutica de modalidade 217, em que a relação de célula T CD4+ para CD8+ é de ou de cerca de 1:3 a 3:1, opcionalmente 1:1.

219. A composição farmacêutica de qualquer uma das modalidades 176 a 218, em que a terapia com célula T compreende células primárias derivadas de um indivíduo.

220. A composição farmacêutica de modalidade 219, em que o indivíduo é um humano.

221. A composição farmacêutica de qualquer uma das modalidades 176 a 220, compreendendo um volume de ou de cerca de 1 mL a 100 mL, 1 mL a 75 mL, 1 mL a 50 mL, 1 mL a 25 mL, 1 mL a 10 mL, 1 mL a 5 mL, 5 mL a 100 mL, 5 mL a 75 mL, 5 mL a 50 mL, 5 mL a 25 mL, 5 mL a 10 mL, 10 mL a 100 mL, 10 mL a 75 mL, 10 mL a 50 mL, 10 mL a 25 mL, 25 mL a 100 mL, 25 mL a 75 mL, 25 mL a 50 mL, 50 mL a 100 mL, 50 mL a 75 mL ou 75 mL a 100 mL.

222. A composição farmacêutica de qualquer uma das mo-

dalidades 176 a 221, compreendendo um volume de pelo menos ou cerca de pelo menos ou cerca de 1 mL, 5 mL, 10 mL, 20 mL, 25 mL, 30 mL, 40 mL, 50 mL, 60 mL, 70 mL, 80 mL, 90 mL ou 100 mL.

223. A composição farmacêutica de qualquer uma das modalidades 176 a 222, também compreendendo um crioprotetor.

224. A composição farmacêutica de qualquer uma das modalidades 176 a 223 que é estéril.

225. Um artigo de fabricação compreendendo a composição farmacêutica de qualquer uma das modalidades 176 a 223.

226. Um método de tratamento, compreendendo administrar a composição farmacêutica de qualquer uma das modalidades 176 a 225 a um indivíduo para o tratamento de uma doença ou condição.

227. O método de modalidade 226, em que a doença ou condição é câncer.

228. O método de modalidade 227, em que o câncer é uma malignidade de célula B e/ou um mieloma, linfoma ou leucemia.

229. O método de modalidade 216 ou modalidade 228, em que o câncer é linfoma da célula manto (MCL), mieloma múltiplo (MM), leucemia linfoblástica aguda (LLA), LLA adulta, leucemia linfoblástica crônica (LLC), linfoma não Hodgkin (LNH), ou Linfoma de célula B grande difusa (DLBCL).

230. O método de modalidade 227, em que o câncer é um câncer não hematológico ou é um tumor sólido.

## VII. EXEMPLOS

[00625] Os exemplos a seguir são incluídos apenas para propósitos ilustrativos e não se destinam a limitar o escopo da invenção.

Exemplo 1 Atividade citolítica de células T CAR anti-BCMA e produção de citocinas após incubação com linhagens de células alvo expressando BCMA na presença ou na ausência de lenalidomida

[00626] As células T foram isoladas por enriquecimento à base de



imunoafinidade a partir de amostras de leucaférese de doadores saudáveis. As células isoladas foram transduzidas com um vetor viral que codifica um dos vários CARs anti-BCMA exemplares. Cada CAR anti-BCMA continha um scFv anti-BCMA humano, uma região espaçadora, um domínio de transmembrana CD28, uma sequência de cossinalização intracelular derivada de 4-1BB e um domínio de sinalização intracelular derivado de CD3-zeta. A construção do vetor viral codificou ainda um EGFR truncado (EGFRt), que serviu como um marcador substituto para a expressão de CAR; a região de codificação de EGFRt foi separada da sequência CAR por uma sequência de salto T2A. Após a transdução, as células foram expandidas e as composições resultantes foram congeladas por criopreservação.

[00627] As células T CAR anti-BCMA criocongeladas foram descongeladas e avaliadas quanto a várias respostas após cocultura com células alvo que expressam BCMA na presença ou ausência de lenalidomida. Os ensaios *in vitro* para avaliar a morte de célula alvo e a produção de citocinas foram conduzidos usando duas linhagens celulares de mieloma múltiplo alvo expressando BCMA diferentes, RPMI-8226 ou OPM-2. **FIG. 1A** mostra a expressão de BCMA de superfície, avaliada por citometria de fluxo após coloração com um anticorpo anti-BCMA, de linhagens celulares de mieloma múltiplo exemplares, incluindo RPMI-8226 e OPM-2. A linha pontilhada indica a base de uma linhagem celular negativa para BCMA manchada com anticorpo anti-BCMA. MFI, intensidade de fluorescência média. A expressão de BCMA foi relativamente baixa para ambas as linhagens celulares (veja, Lee *et al.* (2016) *Br J. Haematol.* 174:911-922). Demonstrou-se que o RPMI-8226 é mais sensível à lenalidomida em comparação com o OPM-2 (6,43 e 37,4  $\mu$ M, respectivamente) (Wellcome Sanger Institute. Genomics of sensitivity of drugs in cancer. [www.cancerrxgene.org/translation/Drug/1020](http://www.cancerrxgene.org/translation/Drug/1020). Acessado em 7 de fevereiro de 2018).

A. RPMI-82261.1. Atividade Citolítica

[00628] As células da linhagem de células alvo que expressam BCMA (RPMI-8226) foram incubadas com células T CAR anti-BCMA exemplares que expressam um CAR com um scFv anti-BCMA humano em uma proporção de efector para célula alvo (E:T) de 0,3:1 na presença de 1  $\mu$ M ou 10  $\mu$ M de lenalidomida ou na ausência de lenalidomida (veículo). Coculturas com células T que não expressam o CAR (simulação) ou culturas apenas com células alvo (sem T CAR) foram usadas como controles, cada uma na presença ou ausência (veículo) de 10  $\mu$ M ou 1  $\mu$ M de lenalidomida. As células de cada condição foram semeadas em triplicado.

[00629] As células alvo RPMI-8226 foram rotuladas com NucLight Red (NLR) para permitir seu rastreamento por microscopia. A atividade citolítica foi avaliada medindo-se a perda de células alvo viáveis durante um período de seis dias, como determinado pelo sinal fluorescente vermelho (usando o IncuCyte® IncuCyte® Live Cell Analysis System, Essen Bioscience). Os números normalizados de células alvo foram gerados dividindo-se as contagens de células alvo nas contagens de células no início de cada cultura. A porcentagem de morte alvo foi avaliada medindo-se a área sob a curva (AUC) para contagem normalizada de células alvo ao longo do tempo e normalizando os valores inversos de AUC ( $1/\text{AUC}$ ), definindo um valor de 0% (apenas células alvo) e 100% valor (células T CAR+ cocultivadas com células alvo no controle do veículo).

[00630] Como mostrado, a cocultura na presença de lenalidomida 1  $\mu$ M (FIG. 1C) ou 10  $\mu$ M (FIG. 1B, 1C) resultou em um maior grau de morte celular alvo por células T CAR+ anti-BCMA no dia 6 da cocultura, em comparação com a incubação de células alvo com células T CAR+ anti-BCMA na ausência de lenalidomida (fixada em 100% na

**FIG. 1B).** Como mostrado na **FIG. 1C**, o efeito observado da lenalidomida na atividade citolítica foi responsivo à dose e retardado, não emergindo até depois de aproximadamente 50 horas em cultura. Os resultados foram consistentes com o papel da lenalidomida na promoção continuada da função e/ou sobrevivência (tal como prevenindo a exaustão ou morte celular) das células T CAR, após a ativação inicial. Resultados similares foram observados para células modificadas para expressar uma série de outros CARs anti-BCMA, cada um com diferentes domínios de ligação ao scFv.

## 2. Produção/Acúmulo de Citocinas.

[00631] Os níveis de várias citocinas foram avaliados em sobrenadantes da cultura após incubação de células T CAR anti-BCMA com células da linhagem de células alvo que expressam BCMA RPMI-8226 na relação de 0,3:1 célula efetora para alvo (E:T) na presença ou ausência de 10  $\mu$ M de lenalidomida. A cultura de células T que não expressam o CAR anti-BCMA (simulação) foi usada como controle. As quantidades de IL-2 (**FIG. 2A**), IFN $\gamma$  (**FIG. 2B**) e TNF- $\alpha$  (**FIG. 2C**) em sobrenadantes da cultura foram avaliadas 48 horas após o início da cultura. Como mostrado nas **FIGs. 2A-2C**, a presença de lenalidomida foi associada a um aumento na produção e/ou acúmulo de citocinas dependentes de CAR após a cocultura de células alvo de células T CAR anti-BCMA com células alvo específicas de antígeno. Estes resultados foram consistentes com o papel da lenalidomida na promoção de funções efetoras mediadas por CAR. Resultados similares foram observados com células expressando vários outros CAR anti-BCMA, cada um com diferentes domínios de ligação ao scFv.

## B. OPM-23.

### 3. Atividade Citolítica

[00632] As células alvo de mieloma múltiplo OPM-2 foram incubadas com células T humanas (isoladas de quatro doadores independen-

tes diferentes) expressando um CAR anti-BCMA exemplar) em uma relação de célula efetora para alvo (E:T) de 1:1 na presença de lenalidomida 0,01  $\mu$ M, 0,1  $\mu$ M, 1,0  $\mu$ M ou 10  $\mu$ M ou na ausência de lenalidomida durante um período de 7 dias. As células OPM-2 foram rotuladas com NucLight Red (NLR) para permitir o rastreamento das células alvo por microscopia substancialmente como descrito acima. A atividade citolítica foi avaliada medindo a perda de células alvo viáveis no final da incubação. O grau de atividade citolítica observado para as culturas incubadas na ausência de lenalidomida foi estabelecido como linha de base, 100%. Os resultados são mostrados na **Fig. 3A**. A adição de lenalidomida foi observada aumentar a atividade citolítica das células T CAR+ anti-BCMA contra as células alvo OPM-2, de uma maneira dependente de dose. Resultados similares foram observados em outras células T expressando CAR anti-BCMA, incluindo aquelas expressando CARs anti-BCMA diferentes, cada uma com diferentes domínios de ligação ao scFv e/ou manipuladas usando células de diferentes doadores.

#### 4. Citocina

[00633] As células T CAR anti-BCMA, produzidas a partir de quatro doadores independentes, foram incubadas com a linhagem celular alvo expressando BCMA OPM-2 em uma relação de célula efetora para alvo (E:T) de 1:1 na presença de 0,01  $\mu$ M, 0,1  $\mu$ M, 1,0  $\mu$ M ou 10  $\mu$ M de lenalidomida ou na ausência de lenalidomida (linha de base, definida em 100%). Após 24 horas de cultura, foi avaliada a presença de IFN $\gamma$  (**FIG. 3B**), IL-2 (**FIG. 3C**) e TNF- $\alpha$  (**FIG. 3D**) em sobrenadantes da cultura. Como mostrado nas **FIGS 3B-3D**, observou-se que a lenalidomida melhora a produção e/ou acúmulo de citocinas por células T CAR+ anti-BCMA estimuladas por antígeno de uma maneira dependente de dose.

#### C. COMPARAÇÃO DE ATIVIDADE DE CÉLULAS T CAR ANTI-BCMA

DERIVADAS DE MÚLTIPLOS DOADORES

[00634] Em outro estudo, as células T CAR anti-BCMA de um doador saudável representativo e um paciente com mieloma múltiplo (o paciente era refratário à pomalidomida) foram incubadas com células alvo OPM-2 rotuladas com fluorescência em uma relação de célula efetora para alvo (E:T) de 0,3:1 na presença de concentrações variáveis de lenalidomida (0,01  $\mu$ M, 0,1  $\mu$ M, 1,0  $\mu$ M ou 10  $\mu$ M de lenalidomida) ou na ausência de lenalidomida durante 6 a 7 dias. A atividade citolítica foi medida pela perda de células fluorescentes vermelhas. Para avaliar a produção de citocinas, células T CAR anti-BCMA derivadas de pacientes saudáveis e doador de mieloma foram cocultivadas com células alvo OPM-2 rotuladas com fluorescência na relação de célula efetora para alvo (E:T) de 1:1 na presença de concentrações variáveis de lenalidomida (0,01  $\mu$ M, 0,1  $\mu$ M, 1,0  $\mu$ M ou 10  $\mu$ M de lenalidomida) ou na ausência de lenalidomida. Após 24 horas, os meios foram amostrados para avaliar a presença de IFN $\gamma$  e IL-2. Os resultados, como mostrado na **FIG. 3E**, que são uma média de duas experiências; observou-se que a atividade citolítica de T CAR anti-BCMA es-pecífica do antígeno e a produção de citocinas aumentaram pela lenalidomida de maneira dependente da concentração.

[00635] Os estudos acima foram estendidos em células T CAR+ anti-BCMA geradas a partir de células de dois doadores saudáveis adicionais. A atividade de células T CAR+ anti-BCMA de três doadores saudáveis e um paciente refratário a IMiD (o doador foi refratário à pomalidomida) foi comparada com as linhagens celulares de mieloma múltiplo expressando OPM-2 e RPMI-8226 BCMA. A atividade citolítica e a produção de citocinas (IFN $\gamma$ , IL-2 e TNF- $\alpha$ ) foram testadas substancialmente como descrito acima. Mudanças absolutas nos níveis de citocinas em relação ao controle de veículo foram calculadas. As experiências foram realizadas 2 a 3 vezes em cada doador.

[00636] Foi observada atividade citolítica anti-BCMA CAR T aumentada contra células alvo OPM-2 tituladas com concentrações aumentadas de lenalidomida em todos os doadores ( $P = 6,2 \times 10^{-5}$ ) (**FIG. 3F**). Como mostrado na **FIG. 3F**, o efeito do tratamento da lenalidomida na atividade citolítica do T CAR parecia ser dependente do doador em cocultura com RPMI-8226, com o paciente doador mostrando um aumento significativo na atividade citolítica ( $P = 1,9 \times 10^{-8}$ ). Além disso, todos os doadores de CAR T aumentaram significativamente a produção de IFN- $\gamma$ , IL-2 e TNF- $\alpha$  de maneira dependente da concentração de lenalidomida na cocultura com células OPM-2 ( $P < 0,002$ , **FIG. 3G**). A produção de citocinas por células T expressando CAR na cocultura de RPMI-8226 também aumentou significativamente em todos os doadores e citocinas após tratamento com lenalidomida ( $P < 0,003$ , **FIG. 3H**).

Exemplo 2 - Efeito da lenalidomida na expansão de células T CAR e na função específica de antígeno com re-estimulação serial

#### A. Expansão de Células T CAR

[00637] A capacidade das células T CAR de expandir e exibir função específica do antígeno *ex vivo* após ciclos repetidos de estimulação de antígeno pode correlacionar-se com a função *in vivo* e/ou a capacidade das células de persistirem *in vivo* (por exemplo, após administração e ativação inicial em resposta ao encontro com o antígeno) (Zhao *et al.* (2015) *Cancer Cell*, 28:415-28). As células T CAR+ anti-BCMA geradas como descrito acima foram semeadas em triplicado a  $1 \times 10^5$  células/cavidade em placas de 96 cavidades. As células alvo que expressam BCMA irradiadas (células MM1.S) foram adicionadas a uma relação de efetora-alvo (E:T) de 1:2 na presença ou ausência de várias concentrações (0,01  $\mu$ M, 0,1  $\mu$ M, 1,0  $\mu$ M ou 10  $\mu$ M) de lenalidomida.

[00638] A cada 3 a 4 dias (início de cada novo ciclo), as células T CAR eram contadas. As células foram então colhidas e recolocadas na densidade inicial de semeadura com meio fresco, lenalidomida recém-

adicionada na mesma concentração, quando aplicável, e células alvo recém descongeladas e recém irradiadas. Foram realizadas 8 rodadas de estimulação durante um período de cultura de 31 dias. Em algumas rodadas, na ressemeadura, as células foram avaliadas quanto a marcadores fenotípicos por citometria de fluxo.

[00639] Resultados Exemplares são mostrados na FIG. 4A. Como mostrado, o aumento da expansão das células anti-BCMA CAR T foi observado no dia 14 para todas as concentrações de lenalidomida, comparado com cavidades sem lenalidomida. O ensaio foi realizado em várias composições de células T CAR+ anti-BCMA, cada uma gerada pela introdução do CAR em células T derivadas de um dos seis doadores diferentes. O ensaio foi realizado através de células de seis doadores independentes diferentes modificadas para expressar o CAR. Para cada doador, foi observado um aumento ou nenhuma mudança na expansão do CAR-T na concentração de lenalidomida de 0,1  $\mu$ M. A FIG. 4B mostra os resultados de um ensaio similar, no qual células modificadas para expressar dois diferentes CARs humanos anti-BCMA foram submetidos aos múltiplos ciclos de estimulação de células alvo na presença ou ausência de lenalidomida. Como mostrado, a presença de lenalidomida nas culturas foi observada aumentar a expansão em ambas as populações celulares, começando entre o dia 21 e o dia 28. Os resultados foram consistentes com uma conclusão de que a lenalidomida pode promover a expansão contínua das células T CAR+ e/ou sobrevivência após encontro repetido com antígeno cognato.

#### B. Contagem de células T CAR, produção e ativação de citocinas

[00640] Células T CAR+ anti-BCMA de 3 doadores gerados como descrito acima foram semeadas em triplicado em placas de 96 cavidades com células alvo expressando BCMA irradiadas (células MM1S) em uma relação efetora-alvo (E:T) de 1:2, na presença de lenalidomida de 0,1  $\mu$ M ou controle de veículo. As condições de cultura foram redefini-

das a cada 3 a 4 dias. A replicação foi mantida durante 28 dias ou até que a contagem de células fosse  $< 50.000$  células. Os experimentos foram realizados em triplicata em 3 doadores. Os níveis de citocinas (IFN $\gamma$ , IL-2 e TNF- $\alpha$ ) foram avaliados 24 horas após a ressemeadura nos dias 5, 8 e 15. A ativação das células T CAR foi medida em células coletadas nos dias 4, 7 e 14 por citometria de fluxo para CD25.

[00641] A **FIG. 5A** mostra as contagens de células (duplicações modificadas da população) das células T CAR+ anti-BCMA para cada ponto de tempo de re-estimulação. O "x" indica células insuficientes para ressemeadura no ensaio. Os resultados mostraram que após estimulação repetida com células alvo, todos os 3 doadores de CAR T tratados com lenalidomida tinham aumentado as contagens de células modificadas em 28 dias em relação aos controles ( $P < 0,003$ ). A **FIG. 5B** mostra intensidade fluorescente mediana (MFI) de CD25 (controlada em CD3 $^{+}$  CAR $^{+}$  vivas) e **FIG. 5C** mostra produção de citocinas normalizada para o número de células semeadas. O aumento da contagem de células foi associado a um aumento significativo na expressão de CD25 de T CAR ( $P < 3,4 \times 10^{-4}$ ; **FIG. 5B**) e IL-2, IFN- $\gamma$ , e produção de TNF- $\alpha$  na mídia ( $P < 0,5$ ; **FIG. 5C**). Os resultados mostraram que a contagem de células T CAR anti-BCMA, a produção e a ativação de citocinas foram aumentadas pela lenalidomida após repetidas estimulações *in vitro*.

Exemplo 3 - Efeitos da lenalidomida na proliferação de CAR-T de BCMA e ativação no modelo de mieloma múltiplo 3

[00642] Para avaliar a função celular no contexto de um microambiente tridimensional (3-D) de tecido de expressão de BCMA humano, uma medula óssea reconstruída (rBone $^{\text{TM}}$ ) (zPREDICTA, San Jose, CA) foi incorporada com o RPMI-8226 de expressão de BCMA. 20.000 células T expressando outro CAR anti-BCMA humano exemplar (ou células T simuladas não expressando o CAR) foram incubadas no modelo 3-D na presença ou ausência de 1,0  $\mu\text{M}$  lenalidomida.



[00643] Após 2 ou 7 dias, as células foram isoladas e avaliadas por citometria de fluxo quanto à expressão superficial de CD3, CD25, CD4 e CD8. Como mostrado na FIG. 6A, observou-se que a presença de lenalidomida resultou em um aumento no número total de células CD3+ em culturas com células T CAR+ anti-BCMA no dia 7. Um aumento na expressão de CD25+ nas populações de células T CD4+ (FIG. 6B) e CD8+ (FIG. 6C) também foi observado na presença de lenalidomida. Os resultados foram consistentes com uma conclusão de que a lenalidomida pode promover o aumento da expansão, sobrevivência e/ou função das células T CAR+ anti-BCMA em um microambiente de tumor com expressão de antígeno.

Exemplo 4 Efeito da lenalidomida na função das células T do CAR *in vivo*

[00644] Os efeitos antitumorais das células anti-BCMA CAR T, sozinhas e em combinação com lenalidomida, foram avaliados em dois modelos diferentes de tumores de camundongo com expressão de BCMA - um modelo RPMI 8226 de camundongo humano de múltiplos mielomas xenográficos (modelo de implante subcutâneo) e um modelo OPM-2 de rato humano de múltiplos mielomas xenográficos (modelo de medula óssea ortotópico).

A. MODELO RPMI-8226

[00645] Camundongos foram injetados no subcutâneo (s.c.) com  $5 \times 10^6$  células RPMI-8226, e o volume tumoral cresceu até aproximadamente  $150 \text{ mm}^3$ . No dia 0, uma composição contendo uma dose subideal (baixa) de células T CAR+ anti-BCMA (geradas por células transdutoras derivadas de amostras de doadores humanos essencialmente como descrito acima) foi administrada intravenosamente aos camundongos (com uma composição similar de células T não expressando um CAR (simulação) usada como controle). Especificamente, a composição continha aproximadamente  $5 \times 10^5$  células T CAR+ (ou simulação) CD4+ e  $5 \times 10^5$  células T CAR+ (ou simulação) CD8+. As

células T foram transferidas adotivamente para camundongos, sozinhas ou em combinação com lenalidomida, administradas diariamente, a 25 mg/kg, intraperitoneal (p.i.), iniciando no d=0 (com administração de células T), continuando até o dia 21. Em outro grupo controle, ratos foram administrados com lenalidomida sozinha, sem administração de células T. O volume do tumor e a sobrevivência dos animais foram monitorados durante todo o estudo. Um sangramento retro-orbital (RO) foi realizado semanalmente para os níveis plasmáticos de BCMA e IFN-gama e para a avaliação farmacocinética (PK) das células T CAR+.

[00646] Medidas de volume de tumor são mostradas para animais individuais na **FIG. 7A**, a administração de lenalidomida e a baixa dose de células T CAR+ anti-BCMA em combinação foi observada para resultar no crescimento tumoral mais lento comparado aos camundongos tratados com lenalidomida ou células T CAR+ anti-BCMA sozinhas. O efeito observado foi mais evidente em pontos de tempo posteriores, incluindo aqueles subsequentes à última administração diária de lenalidomida (isto é, depois do dia 21). Os resultados são consistentes com a capacidade da lenalidomida de aumentar a capacidade das células T de persistirem e/ou funcionarem a longo prazo.

[00647] Como mostrado na **FIG. 7B**, camundongos que tinham lenalidomida e células T CAR+ anti-BCMA exibiram maior sobrevivência em comparação com outros grupos de tratamento. A sobrevivência média (ms) de camundongos administrados com células T CAR+ anti-BCMA e lenalidomida foi de 85 dias (o dobro, comparado com os outros grupos de tratamento, que exibiram sobrevivência média de 38 a 43,5 dias).

[00648] Além disso, o número de células T CAR+ de CD4+ e CD8+ e células T de não CAR no sangue periférico de cada animal foi determinado nos dias 7, 14, 21 e 34. Os números de células T CAR CD4+ e células T não CAR são mostrados nas **FIGs. 8A e 8E** (dias 7 e 14), respectivamente, e **FIG. 8B e 8F** (dias 21 e 34), respectivamente.

Os números de células TCAR CD8+, T não CAR são mostrados em **FIGs. 8C e 8G** (dias 7 e 14), respectivamente, e **Figs. 8D e 8H** (dias 21 e 34), respectivamente. Como mostrado, um aumento no número de células T CAR+ CD4+ e CD8+ (porém não de células T não CAR+) no sangue foi observado no dia 36 em camundongos que receberam a combinação de células T CAR+ anti-BCMA e lenalidomida, comparado aos outros grupos de tratamento.

## B. MODELO OPM-2

### i. Estudo 1

[00649] O efeito da lenalidomida em combinação com o CAR T anti-BCMA também foi avaliado em um modelo de tumor ortotópico de murino usando células OPM-2. Camundongos (camundongos NOD.Cg-Prkdc<sup>scid</sup>IL-2rg<sup>tm1Wjl</sup>/SzJ (NSG; Jackson Labs)) foram injetados intravenosamente (i.v.) com  $2 \times 10^5$  células OPM2 (mieloma múltiplo) transfectadas com vagalume luciferase (OPM2-ffluc). O enxerto tumoral foi permitido por 13 dias antes da adaptação (14 dias antes da administração das células T CAR) e verificado por imagens de bioluminescência. Aos camundongos foi administrada uma ou mais composições em vários grupos de tratamento, como segue e é sumariado na Tabela E1.

[00650] Alguns grupos receberam 10 mg/kg de lenalidomida em solução salina tamponada com fosfato via injeção intraperitoneal, ou (A) começando no dia -1 (um dia antes da administração de células T CAR+) (lenalidomida (A)); ou (B) no dia 14 (dia 14 após o início da administração de células T CAR+) (lenalidomida (B)), em cada caso, diariamente, durante o curso do estudo. Em grupos que receberam células T CAR+, CAR anti-BCMA (gerado por células transdutoras derivadas de amostras de doadores humanos essencialmente como descrito acima) foram administradas no dia 0 (dia 14 após a injeção de células tumorais), em uma dose de  $5 \times 10^5$  (baixa) ou  $1 \times 10^6$  (elevada) células T com expressão de CAR. A Tabela E1 sumaria os regimes de dosagem.

Tabela E1: Projeto de estudo		
Grupo nº	Descrição do grupo	Células T CAR administradas (ou células T simuladas-transduzidas)
1	Tumor, apenas	0
2	Simulação (elevada)	$(1 \times 10^6)$
3	lenalidomida (A)	n/a
4	lenalidomida (B)	n/a
5	Simulação + lenalidomida (A)	$(1 \times 10^6)$
6	Simulação + lenalidomida (B)	$(1 \times 10^6)$
7	Células T CAR+ anti-BCMA (elevada)	$1 \times 10^6$
8	Células T CAR+ anti-BCMA (baixa)	$5 \times 10^5$
9	Células T CAR+ anti-BCMA (elevada) + lenalidomida (A)	$1 \times 10^6$
10	Células T CAR+ anti-BCMA (baixa) + lenalidomida (A)	$5 \times 10^5$
11	Células T CAR+ anti-BCMA (elevada) + lenalidomida (B)	$1 \times 10^6$
12	Células T CAR+ anti-BCMA (baixa) + lenalidomida (B)	$5 \times 10^5$

[00651] A carga tumoral em animais entre os vários grupos foi monitorada por imagens de bioluminescência até o dia 39 de dosagem de células T pós-CAR+. Para imagens de bioluminescência, ratos receberam injeções intraperitoneais (i.p.) de substrato de luciferina (CaliperLife Sciences, Hopkinton, MA) ressuspensão em PBS ( $15 \mu\text{g/g}$  de peso corporal). O fluxo total (fóton/s) foi determinado em cada momento.

[00652] **FIG. 9A** e **FIG. 9B** mostram resultados de carga tumoral até o dia 46, em camundongos tratados com lenalidomida diariamente começando no dia -1 (lenalidomida A) na presença ou ausência de alta ( $1 \times 10^6$ ; **FIG. 9A**) ou baixa ( $5 \times 10^5$ ; **FIG. 9B**) dose de células T CAR+. **FIG. 9C** mostra gráficos para carga tumoral de animais individuais até o dia 53. **FIG. 9D** mostra gráficos e resultados de imagens de tumores (dia 46 após a administração de células CAR+) para animais individuais que receberam a dose mais alta de CAR+, com lenalidomida no dia -1 (lenalidomida A). **FIG. 9E** mostra gráficos e resultados de imagens de tumores (dia 46 após a administração de células

CAR+) para animais individuais que receberam a dose mais alta de CAR+, sem lenalidomida no dia -1 (lenalidomida A). Asteriscos indicam morte ou sacrifício de um animal individual no ponto de tempo indicado no gráfico. Como mostrado, a adição de lenalidomida foi observada resultar em crescimento tumoral mais lento e carga tumoral reduzida em camundongos administrados com células T CAR+ em ambas as doses de células T CAR+.

[00653] As FIG. 9F e FIG. 9G descrevem resultados de carga tumoral em um ponto de tempo em um estudo para camundongos administrados a lenalidomida começando no dia 14 da administração pós-CAR+T (lenalidomida B) (linhas verticais nas FIGs. 9F e 9G) na presença ou ausência da alta ( $1 \times 10^6$ , FIG. 9F) ou baixa ( $5 \times 10^5$ , FIG. 9G) dose de células T CAR+. FIG. 9H mostra gráficos para carga tumoral de animais individuais até o dia 53. A FIG. 9I mostra gráficos e resultados de imagens de tumores (dia 46 após administração de células CAR+) para animais individuais que receberam a dose mais alta de CAR+, com lenalidomida no dia -1 (lenalidomida A). A FIG. 9J mostra gráficos e resultados de imagens de tumores (dia 46 após a administração de células CAR+) para animais individuais tendo recebido a dose mais alta de CAR+, sem lenalidomida no dia -1 (lenalidomida A). Como mostrado, enquanto que a lenalidomida sozinha não foi observada para reduzir o crescimento tumoral ou carga tumoral, a adição de lenalidomida foi observada para resultar em uma tendência para um crescimento tumoral mais lento e carga tumoral reduzida em camundongos administrados ambas as doses de células T CAR, com claras diferenças observadas começando no dia 30-40 após a injeção de células T CAR para a dose mais alta ( $1 \times 10^6$ ) de células T CAR+. Com esta dose, a combinação com lenalidomida foi observada retardar o crescimento do tumor se fornecida no dia -1 ou via dosagem retardada.

[00654] Resultados de sobrevivência em um ponto de tempo no

estudo são mostrados nas FIGs. 10A e 10B (para grupos que recebem lenalidomida via regimes (d-1) e B (d.14 pós-CAR (retardado), respectivamente), e FIGs. 10C e 10D (para grupos que recebem doses altas e baixas de CAR, respectivamente). Como mostrado, a adição de lenalidomida melhorou os efeitos de sobrevivência observados em camundongos tratados com as células T CAR+ anti-BCMA (tanto nas doses altas quanto baixas avaliadas), quando administradas no dia -1 (A) ou via dosagem retardada (d.14) (B).

[00655] A Tabela E2 lista a média de sobrevivência (ms) (como avaliado no dia 56 da administração de células T pós-CAR+) e o número de camundongos no grupo que sobrevivem até o dia 56 da administração de células T pós-CAR+, para cada grupo animal avaliado neste estudo.

Tabela E2: Sobrevivência			
Grupo	Dose de célula	Sobrevivência média (avaliada no dia 6)	# animais sobreviventes 56 dias pós-CART
Simulação elevada	1,00E+06	24	0/8
lenalidomida (A)	N/A	28	0/8
lenalidomida (B)	N/A	25	0/8
Simulado+lenalidomida (A)	1,00E+06	28	0/8
Simulado+lenalidomida (B)	1,00E+06	25	0/8
Células T CAR+ (elev)	1,00E+06	56	2/8
Células T CAR+ (baixa)	5,00E+05	35	0/8
Células T CAR+ (elev) + lenalidomida (A)	1,00E+06	N/A	6/8
Células T CAR+ (baixa) + lenalidomida (A)	5,00E+05	52	1/8
Células T CAR+ (elev) + lenalidomida (B)	1,00E+06	N/A	6/8
Células T CAR+ (baixa) + lenalidomida (B)	5,00E+05	36	2/8

## (ii.) Estudo 2

[00656] Em outro estudo, camundongos NOD/Scid/gc<sup>-/-</sup> (NSG) foram injetados (i.v.) com células OPM-2-luciferase como descrito no Estudo 1, acima e deixados enxertar por 14 dias antes da célula CAR-T (ou simulação); infusão (i.v.). Em alguns grupos, a administração intraperitoneal diária de 10 mg/kg de lenalidomida ou controle veicular foi iniciada no dia -1 (um dia antes da administração de CAR-T) (lenalidomida simultânea (le-

nalidomida (C) ou veículo (veículo (C)) ou no dia 14 pós-CAR-T (ou simulação) administração celular (lenalidomida, retardada (D)).

[00657] Em 14 dias após a injeção de células tumorais (dia 0), uma dose subterapêutica de células T CAR+ ( $1 \times 10^6$  células T CAR (geradas de dois doadores diferentes)) ou células de controle simuladas foi injetada intravenosamente. Os resultados são mostrados nas FIGs. 10E, 10F, 10G e 10H. Os dados são apresentados como média  $\pm$  MEV. Para a sobrevivência *in vivo*, um teste de Gehan-Breslow-Wilcoxon foi usado para comparar grupos.

[00658] A FIG. 10E descreve os resultados da avaliação da carga tumoral até o 60º dia, como analisado pela bioluminescência medida por citometria de fluxo. A adição de lenalidomida foi observada resultar em crescimento tumoral mais lento e carga tumoral reduzida em camundongos administrados com células T CAR+ geradas a partir de ambas as células doadoras. Como mostrado na FIG. 10F, a adição de lenalidomida foi observada melhorar os efeitos de sobrevivência em camundongos tratados com as células T CAR+ anti-BCMA, particularmente após a administração simultânea de lenalidomida. Modelos lineares de efeito fixo ou de efeito misto foram usados para avaliar a significância dos tratamentos com lenalidomida na atividade citolítica, com tratamento, doador e tempo tratados como efeitos fixos e animal tratado como um efeito aleatório, aninhado com o tempo quando medições repetidas foram derivadas do mesmo animal. Os valores de P foram obtidos por testes de relação de probabilidade comparando o modelo completo com o efeito de interesse contra o modelo sem o efeito de interesse. A adição de lenalidomida simultânea levou a uma diminuição significativa na carga tumoral para o doador 1 ( $P = 0,02$ ) e aumento da sobrevivência para o doador 1 ( $P = 0,057$ ) e o doador 2 ( $P = 0,04$ ) em comparação com animais tratados com veículo injetado com o anti-BCMA CAR T sozinho. Animais no regime concorrente de dosagem de lenalidomida

também mostraram contagens de CAR T aumentadas no sangue periférico após 7 dias ( $P = 7,3 \times 10^{-6}$ ), porém não em pontos de tempo posteriores. Lenalidomida teve um pequeno, porém significativo efeito CAR T simulado sobre a carga tumoral para o doador 1 ( $P = .003$ ) sozinho. Neste estudo, a adição da dosagem tardia de lenalidomida não melhorou a depuração do tumor e a sobrevivência para ambos os doadores de CAR T. Os resultados mostraram que a sobrevivência e a depuração do tumor por uma dose subterapêutica de anti-BCMA CAR-T foram aumentadas pela lenalidomida no modelo de tumor OPM-2 *in vivo*.

[00659] O sangue dos camundongos tratados foi coletado para análise farmacocinética de CAR-T, e as células foram manchadas com anticorpos para excluir células específicas de camundongos (H2-kd, TER119 e muCD45) e analisadas por citometria de fluxo. As células foram controladas em CD45+CD3+CAR+ e as células por microlitro de sangue foram determinadas. Para as medidas farmacocinéticas, cada ponto de tempo foi analisado por ANOVA unidirecional e teste post-hoc de Tukey. As FIGs. 10G e 10H mostram a análise citométrica de fluxo de células de controle simuladas e células T CAR no sangue dos camundongos nos dias 8, 14, 22 e 28 após a injeção das células T CAR de dois doadores. Os resultados mostraram que o aumento da contagem de células T CAR foi observado no sangue periférico em momentos iniciais, particularmente após a administração simultânea de lenalidomida (\*\*  $P < .01$ ).

#### Exemplo 5 Efeitos da lenalidomida sobre a proliferação do CAR anti-CD19 na estimulação subideal

[00660] As células T expressando anti-CD19 foram geradas por células T modificadas CD4+ e CD8+ (que foram isoladas por enriquecimento baseado em imunoafinidade de indivíduos humanos saudáveis) com vetor viral codificando o CAR anti-CD19. O CAR continha um scFv anti-CD19, um espaçador derivado de Ig, um domínio de trans-



membrana humano derivado de CD28, um domínio de sinalização intracelular humano derivado de 4-1BBB e um domínio de sinalização humano derivado de CD3 zeta. A construção do ácido nucleico que codifica o CAR também incluiu uma sequência de EGFR truncada (tEGFR) para uso como marcador de transdução, separada da sequência CAR por uma sequência T2A de auto-limpeza.

[00661] As células CAR T anti-CD19 foram submetidas à estimulação subideal através da incubação com anti-CD3 (sem um segundo reagente tal como o anti-CD28, designado para fornecer um sinal co-estimulador), na presença de 5  $\mu$ M de lenalidomida ou controle do veículo. As células T expressando CAR anti-CD19 foram rotuladas com o corante CELLTRACE VIOLET (CTV; ThermoFisher Scientific, Waltham MA) antes da incubação; a proliferação foi avaliada pela avaliação da diluição do corante via citometria de fluxo. Como mostrado na FIG. 11, no contexto das condições estimulatórias subideais durante um período de 72 horas, observou-se que a lenalidomida aumentou a proliferação das células T CAR+.

Exemplo 6 - Relação observada entre os resultados do tratamento e os níveis de células T CAR+ do sangue periférico no grupo de indivíduos humanos aos quais as células expressando CAR anti-CD19 foram administradas

[00662] Os resultados do tratamento e o número de células T CAR+ no sangue foram avaliados em vinte e oito indivíduos adultos com linfoma não Hodgkin (LNH) recorrente ou refratário (R/R) que haviam sido administrados células T autólogas, expressando um receptor de antígeno quimérico (CAR) CD19, incluindo um anticorpo de scFv anti-CD19 e um domínio de sinalização intracelular 4-1BBB (administrado na relação de aproximadamente 1:1 de células T CAR+ CD4+ para CD8+).

[00663] Antes da administração das células T com expressão CAR, os indivíduos tinham sido tratados com 30 mg/m<sup>2</sup> de fludarabina diária-

mente durante 3 dias e 300 mg/m<sup>2</sup> de ciclofosfamida diariamente durante 3 dias. A d=0, os indivíduos haviam sido tratados com 5 x 10<sup>7</sup> (DL-1) ou 1 x 10<sup>8</sup> (DL-2) células T expressando CAR por infusão intravenosa.

[00664] As taxas de resposta observadas em um determinado momento em um estudo em andamento são mostradas na Tabela E3 para uma coorte de 20 indivíduos com linfoma difuso de células B grandes (DLBCL) tratados com uma dose única de DL-1. Como mostrado, foi observada uma taxa de resposta global (ORR) de 80% (16/20) e 60% (12/20) dos indivíduos obtiveram remissão completa (CR). 20% (4/20) dos indivíduos exibiram resposta parcial (RP) e 20% (4/20) exibiram doença progressiva (DP). Dos indivíduos que foram quimiorrefratários (tendo apresentado doença estável ou progressiva após a última quimioterapia ou reincidência menos de 12 meses após a administração autóloga de SCT) antes da administração de células T CAR+, a taxa de resposta global foi de 83% (10 ORR, 7 CR, 3 PR, 2 PD, n=12). Entre os indivíduos que foram refratários (tendo apresentado menos que remissão completa após o último tratamento, porém não considerados quimiorrefratários), a taxa de resposta global foi de 77% (13 ORR, 9 CR, 4 PR, 4PD, n=17).

Tabela E3 Reposta Global

	Coorte de DLBCL, esquema posológico de dose única de DL1		
	Todos (n=20)	Refratário <sup>*</sup> (n=17)	Quimiorrefratário <sup>†</sup> (n=12)
ORR, n (%) [95% de CI]	16 (80) [56, 94]	13 (77) [50, 93]	10 (83) [52, 98]
CR, n (%) [95% de CI]	12 (60) [36, 81]	9 (53) [28, 77]	7 (58) [28, 85]
PR	4 (20)	4 (24)	3 (25)
PD	4 (20)	4 (24)	2 (17)

\*<CR para última terapia

<sup>†</sup>SD ou PD para a última quimioterapia ou reincidência <12 meses após SCT autólogo

[00665] Dos três indivíduos com DLBCL que, no momento da avali-

ação, haviam sido tratados com duas doses de DL-1, dois apresentaram resposta parcial (RP) e um apresentou doença progressiva (DP). Entre os dois indivíduos que, no momento da avaliação, haviam sido tratados com uma dose única de DL-2, ambos os indivíduos foram observados alcançar a RC. Entre uma coorte de LMCL com um total de dois indivíduos tratados no momento da avaliação com dose única de DL-11 PR e 1 PD foram observados. Dois indivíduos com *double-hits*, três indivíduos com *triple-hits* e quatro indivíduos com dupla expressão DLBCL foram observados para alcançar respostas (7 CR, 2 PR).

[00666] O número de células T CAR<sup>+</sup> no sangue periférico foi determinado em certos momentos pós-tratamento com um reagente transgênico específico. O número de células T CD3<sup>+</sup>/CAR<sup>+</sup> no sangue periférico medido em determinados momentos pós-infusão é mostrado para indivíduos agrupados quanto a melhor resposta global na FIG. 12A. Picos de células T CD3<sup>+</sup>/CAR<sup>+</sup> mais elevados foram observados em respondedores (CR/PR) do que em indivíduos com doença progressiva (PD). As FIGs. 12B-D mostram níveis de células T CD3<sup>+</sup>/CAR<sup>+</sup>, células T CD4<sup>+</sup>/CAR<sup>+</sup> e células T CD8<sup>+</sup>/CAR<sup>+</sup> (células/ $\mu$ L sangue; média  $\pm$  MEV) em indivíduos que alcançaram uma resposta ao tratamento, agrupados por durabilidade da resposta (resposta contínua (CR/PR) ou DP aos 3 meses). O C<sub>máx</sub> (células CAR<sup>+</sup>/ $\mu$ L sangue) e a área sob a curva (AUC) para respondedores (CR/PR) e PD são mostrados na Tabela E4. Os resultados foram consistentes com a conclusão de que respostas duráveis se correlacionaram com níveis mais elevados de células T CD3<sup>+</sup>/CAR<sup>+</sup> no sangue, ao longo do tempo e na expansão máxima.

Tabela E4. $C_{\text{máx}}$ e $AUC_{0-28}$ Mais elevado em Pacientes com CR/PR vs PD						
	CD3		CD4		CD8	
	CR/PR (n=16)	PD (n=4)	CR/PR (n=16)	PD (n=4)	CR/PR (n=16)	PD (n=4)
$C_{\text{máx}}$ (CAR <sup>+</sup> células/ $\mu$ L de sangue )						
Média (SD)	612 (1919)	2 (1)	220 (754)	1 (0,6)	426 (1314)	0,5 (0,5)
Mediana (Min, Máx)	33 (1, 7726)	1 (1, 3)	8 (1, 3040)	1 (0, 2)	4 (0, 5238)	0.3 (0, 1)
Q1, Q3	7, 123	0,7, 2	2, 46	0,6, 2	0,8, 104	0,1, 0,9
$AUC_{0-28}$						
Média (SD)	5883 (18821)	16 (13)	2369 (8388)	10 (7)	3873 (11963)	6 (6)
Mediana (Min, Máx)	196 (11, 75773)	14 (4, 31)	47 (7, 33740)	9 (3, 17)	23 (1, 47834)	4 (1, 14)
Q1, Q3	52, 781	5, 26	16, 261	4, 16	4, 761	1, 10

[00667] Para um indivíduo com DLBCL quimiorrefratário transformado (subtipo de centro germinal com rearranjo BCL2 e cópias múltiplas de *MYC* e *BCL6*) ao qual foram administradas as células T CAR<sup>+</sup> em DL-1, os números de células T CD3<sup>+</sup>/CAR<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>/CAR<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>/CAR<sup>+</sup> no sangue periférico, medidos em determinados momentos, são mostrados na FIG. 13A. O indivíduo havia sido anteriormente tratado com, e foi refratário a, cinco linhas de terapia anteriores, incluindo etoposídeo ajustado à dose, doxorrubicina e ciclofosfamida com vincristina e prednisona mais rituximabe (DA-EPOCH-R) e transplante de células-tronco alogênicas de intensidade intermediária de um doador não relacionado com HLA 8/8. Após o transplante de células-tronco alogênicas e antes de receber células T CAR<sup>+</sup>, o indivíduo mostrou 100% de quimerismo do doador em todas as linhagens sanguíneas, que parou de fazer a terapia imunossupressora e não apresentou doença enxerto versus hospedeiro (DECH). Antes da administração das células T CAR<sup>+</sup>, o indivíduo apresentava massa periauricular e lesão do lobo temporal observada por tomografia por emissão de pósitrons e tomografia computadorizada (PET-CT) (FIG. 13B) e confirmada por resso-

nância magnética (RM) (FIG. 13D).

[00668] Após receber tratamento com células T CAR anti-CD19, o indivíduo atingiu CR 28 dias após a infusão, como demonstrado por PET-CT (FIG. 13C) e RM do cérebro (FIG. 13E), sem sinais observados de neurotoxicidade ou RNSC. Três meses após a infusão das células T CAR, observou-se reincidente da massa periauricular (FIG. 13F) e foi realizada biópsia incisional. Como mostrado na FIG. 13A, após biópsia, o tumor visível recuou sem nenhuma terapia adicional. A análise farmacocinética mostrou uma re-expansão realçada das células T CAR<sup>+</sup> no sangue periférico (para um nível superior à expansão inicial observada, com níveis de pico observados cerca de 113 dias após a infusão), que coincidiu com a regressão tumoral. O indivíduo então passou a alcançar uma segunda RC, como confirmado pelo restabelecimento do PET-CT um mês após a biópsia (FIG. 13G), e permaneceu em RC nos 6 meses após a infusão da célula T CAR. Uma avaliação mais aprofundada do indivíduo mostrou que a resposta do SNC foi durável e o indivíduo permaneceu em RC nos 12 meses.

[00669] Os resultados são consistentes com a conclusão de que a re-expansão e ativação de células T CAR<sup>+</sup> podem ser iniciadas *in vivo* após redução ou perda de células T CAR<sup>+</sup> funcionais ou ativas e/ou reincidência após resposta antitumoral à terapia com células T CAR. Além disso, após a re-expansão *in vivo* tardia após a infusão inicial de células T CAR<sup>+</sup>, as células T CAR<sup>+</sup> são capazes de re-exercer a atividade antitumoral. Este resultado suporta que a re-expansão e ativação das células T CAR<sup>+</sup> pode ser desencadeada *in vivo* e que os métodos de reativação das células T CAR<sup>+</sup> podem aumentar ainda mais a sua eficácia.

#### Exemplo 7 - Efeitos da Lenalidomida Sobre a Atividade de Célula T CAR anti-CD19 Após Re-estimulação Serial

[00670] As células T CAR<sup>+</sup> anti-CD19, geradas substancialmente

como descrito no Exemplo 5, foram descongeladas e incubadas com células expressando CD19 (células K562 transduzidas para expressar CD19) em uma relação célula efetora para alvo (E:T) de 2,5:1 na presença ou ausência de lenalidomida a 1 nM, 5 nM, 60 nM, 550 nM ou 5000 nM ou na ausência de lenalidomida (controle). As células alvo K562-CD19 foram rotuladas com NucLight Red (NLR) como descrito no Exemplo 1 para permitir o rastreamento das células alvo por microscopia. A atividade citolítica foi avaliada através da medição da perda de células alvo viáveis durante um período de cerca de 120 horas, como determinado pelo sinal fluorescente vermelho (usando o IncuCyte® Live Cell Analysis System, Esten Bioscience). As células de cada condição foram semeadas em triplicata. Como mostrado na **FIG. 14**, os resultados foram consistentes com uma conclusão de que a presença de lenalidomida reduziu a atividade citolítica mediada por CAR neste ensaio. Em ensaios similares, os resultados variaram dependendo das relações E:T e com diferentes composições de células T CAR<sup>+</sup> anti-CD19 (por exemplo, geradas em diferentes momentos e/ou a partir de células de diferentes doadores).

[00671] Em outro estudo, células T CAR<sup>+</sup> anti-CD19 foram incubadas com células efetoras K562-CD19 em uma relação de 2,5:1 E:T na presença de lenalidomida a 100 nM ou 1600 nM, 2 nM ou 166 nM de um composto alternativo alvejando uma cinase, controle de veículo ou na ausência de composto adicionado (controle CAR-T). Após 120 horas de cultura, as células foram isoladas e avaliadas por citometria de fluxo para expressão superficial de CD25 ou PD-1 em subconjuntos de células T CD4<sup>+</sup> ou CD8<sup>+</sup>. Como mostrado na **FIG. 15A**, a incubação de células T CAR<sup>+</sup> anti-CD19 com células efetoras K562-CD19 na presença da maior concentração de lenalidomida (por exemplo, 1600 nM) resultou em maiores níveis de expressão CD25 tanto nas células T CD4<sup>+</sup> quanto CD8<sup>+</sup> em comparação com outras condições. Nenhuma

diferença na expressão superficial de PD-1 foi observada em células T CD4<sup>+</sup> ou CD8<sup>+</sup> na presença de lenalidomida, mesmo na maior concentração de 1600 nM (FIG. 15B).

[00672] Em outro estudo, a quantidade de IL-10 foi avaliada em sobrenadantes de cultura após incubação, durante 24 horas, de células T anti-CD19 CAR<sup>+</sup> com células efetoras K562-CD19 em uma relação célula efetora para alvo (E:T) de 3:1 ou 9:1, na presença ou ausência de várias concentrações de lenalidomida. Como mostrado na FIG. 16, lenalidomida dependente da dose aumentou a secreção e/ou acúmulo de IL-10 em sobrenadantes de culturas de células T.

#### Exemplo 8 Efeitos da Lenalidomida na Expansão da Célula T CAR Anti-CD19 após a Re-estimulação Serial

[00673] A capacidade das células T CAR<sup>+</sup>anti-CD19 de expandir-se *ex vivo* após estímulos repetidos foi avaliada usando métodos substancialmente como descrito no Exemplo 2. As células T CAR<sup>+</sup> anti-CD19, geradas a partir de dois doadores (pt1 e pt2) substancialmente como descrito no Exemplo 5, foram cultivadas com células K562 irradiadas transduzidas para expressar CD19 (células K562-CD19) em uma relação de alvo para efetora 2,5:1 na presença ou ausência de 1 µM de lenalidomida ou 50 nM ou 500 nM de um composto alternativo alvejando uma cinase. Para cada doador, as células foram coletadas a cada 3 a 5 dias de cada condição experimental nas cavidades e contadas, e re-estimuladas com novas células alvo usando as mesmas condições de cultura após a reposição do número de células para a densidade de semeadura inicial para cada ciclo. Um total de 4 ciclos de estimulação durante um período de cultura de 12 dias foi realizado. Para cada ciclo de estimulação, o número total de células foi determinado, e os resultados foram descritos como a mudança de duplicação do número de células após a estimulação (FIG. 17A) ou número de duplicações em comparação com o número inicial (FIG. 17B). Como

mostrado na **FIG. 17A e 17B**, nenhuma mudança ou apenas um efeito menor na expansão celular de células T CAR<sup>+</sup> anti-CD19 foi observado neste ensaio de re-estimulação quando as células foram cultivadas na presença de lenalidomida versus na ausência de lenalidomida.

[00674] Em cada reposição após o pré-tratamento, a atividade citolítica foi avaliada através da incubação das células re-etimuladas com as células K562-CD19 (rotuladas com NucLight Red (NLR)) em uma relação de célula efetora para alvo (E:T) de 1  $\mu$ M de lenalidomida ou 50 nM ou 500 nM do composto alternativo. A atividade citolítica foi avaliada através da medição da perda de células alvo viáveis durante um período de até 40 a 60 horas, como determinado pelo sinal fluorescente vermelho (usando o IncuCyte® Live Cell Analysis System, Esten Bioscience). As células de cada condição foram semeadas em triplicata. A morte celular representativa observada na 2<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> re-estimulação para ambos os doadores é mostrado em **FIGS. 18A** (como normalizado para células K562-CD19-Nuc rotuladas com t=0) ou em **FIG. 18B** (% de morte celular em comparação com o controle apenas veículo (fixado em 100%)). Como mostrado na **FIG. 18A e 18B**, a incubação com lenalidomida foi observada resultar em uma diminuição na atividade citolítica de células T CAR<sup>+</sup> anti-CD19 neste ensaio, sob as condições de estimulação testadas.

#### Exemplo 9 - Geração de Contas Conjugadas com BCMA

[00675] O antígeno de maturação de células B (BCMA) foi conjugado às contas por acoplamento covalente de um polipeptídeo de fusão de BCMA-Fc, contendo BCMA humano solúvel fundido em seu C-terminal a uma região Fc de IgG, à superfície de contas magnéticas ativadas por tosila (ThermoFisher, Waltham MA) comercialmente disponíveis. As contas são superparamagnéticas, não porosas, monodispersas, tosilatizadas que ligam covalentemente grupos amino primários e grupos sulfidrílicos. A conjugação foi realizada usando contas



com diâmetro aproximado de 2,8  $\mu\text{m}$  (designado M-280) ou 4,5  $\mu\text{m}$  (designado M-450).

[00676] O BCMA-Fc (SEQ ID NO:22) continha o domínio extracelular de BCMA humano (GenBank Nº NP\_001183.2) e um Fc de IgG1 humana conectado com um ligador como segue:

MLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRCSSNTPPLTCQRYCNASVT  
NSVKGTNA (domínio extracelular do BCMA; SEQ ID NO:18)

GGGGS (ligador; SEQ ID NO:19)

PKSSDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV  
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL  
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD  
ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGGS  
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(Hu  
m Fc de IgG1; SEQ ID NO:20).

[00677] O clone que codifica a construção de fusão de BCMA-Fc humano com a sequência líder N-C-terminalD33 (SEQ ID NO:21) foi inserido em um vetor de expressão e expresso em células HEK 293. A proteína de fusão de BCMA-Fc resultante foi determinada como tendo uma pureza superior a 95%, como avaliado pela cromatografia de permeação em gel. Para testar a ligação, a proteína de fusão de BCMA-Fc foi incubada com células T expressando CARs anti-BCMA e células T expressando CARs que não se ligam ao BCMA. Os resultados da citometria de fluxo indicaram que a proteína de fusão de BCMA-Fc especificamente ligada às células T expressando CAR anti-BCMA.

[00678] Foram adicionadas várias concentrações da proteína de fusão de BCMA-Fc variando de 5  $\mu\text{g}$  a 200  $\mu\text{g}$  a aproximadamente 1 mL de contas tocilativadas (por exemplo, contendo cerca de  $4 \times 10^9$  contas tocilativadas com um diâmetro de 2,8  $\mu\text{m}$  ou cerca de  $4 \times 10^8$  contas tocilativadas com um diâmetro de 4,5  $\mu\text{m}$ ). O acoplamento covalente foi realizado por incubação durante a noite a 37°C em solução

tampão fosfato (PBS) contendo 0,1% de albumina sérica humana (HSA). As contas foram lavadas e ressuspensas em 1 mL de PBS com 0,1% de HSA. Após a conjugação, a concentração de contas foi determinada por meio de um Cellometer. Nos exemplos abaixo, as contas conjugadas com BCMA usadas em vários estudos são referidas com referência à quantidade de antígeno de BCMA-Fc adicionado por mL ou à concentração de antígeno ( $\mu\text{g/mL}$ ) durante a conjugação, por exemplo, 5  $\mu\text{g}$  ou 5  $\mu\text{g/mL}$ ; 50  $\mu\text{g}$  ou 50  $\mu\text{g/mL}$ ; 200  $\mu\text{g}$  ou 200  $\mu\text{g/mL}$  e assim por diante.

Exemplo 10 - Avaliação de Marcadores de células T em Células T CAR<sup>+</sup> Anti-BCMA Estimuladas com Contas Conjugadas com BCMA na Presença ou Ausência de Lenalidomida

[00679] As contas conjugadas com BCMA (diâmetro de 4,5  $\mu\text{m}$ ) conjugadas com várias quantidades de antígeno de BCMA como descrito no Exemplo 9 foram incubadas com células T CAR<sup>+</sup> anti-BCMA na presença ou ausência de lenalidomida, e a expressão dos marcadores de células T foi avaliada.

[00680] Aproximadamente  $1,5 \times 10^6$  células T CAR<sup>+</sup> foram adicionadas às cavidades de uma placa de 12 cavidades e foram incubadas com contas de 200  $\mu\text{g/mL}$  de composição de contas conjugadas com BCMA em uma relação de células T CAR<sup>+</sup> para contas conjugadas com BCMA de 1:0,3, 1:1 ou 1:3 (aproximadamente  $0,5 \times 10^6$ ,  $1,5 \times 10^6$ , e  $4,5 \times 10^6$  contas por cavidade, respectivamente). Como controles, 5  $\mu\text{g/mL}$  de anticorpo anti-CD3 foram revestidos nas cavidades (concentração subideal para estimulação) ou as células foram semeadas na ausência de qualquer agente (sem controle de estimulação). Cada condição foi incubada na presença ou ausência de 5  $\mu\text{M}$  de lenalidomida. As células foram incubadas durante quatro dias e depois analisadas por citometria de fluxo quanto à expressão superficial de CD4, CD8, Tim3, PD-1, CD25 e CD69.

[00681] Como mostrado na FIG. 19A, a presença de 5  $\mu$ M de lenalidomida aumentou a capacidade proliferativa das células T (observada pela diminuição da intensidade do corante CTV) após incubação durante três dias com contas conjugadas com 200  $\mu$ g de antígeno BCMA em uma relação de células T 1:1 para contas comparada à incubação com as contas na ausência de lenalidomida (controle de veículo). Como mostrado em FIGS. 19B e 19C, a presença de lenalidomida durante a incubação aumentou ainda mais a extensão da expressão superficial de CD25 em células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> induzida após a incubação de células T CAR<sup>+</sup> anti-BCMA com contas conjugadas com BCMA (FIG. 19B) ou estimulação anti-CD3 (FIG. 19C).

[00682] Em um experimento adicional, as composições de células T CAR anti-BCMA produzidas substancialmente como descrito no Exemplo 1 foram revestidas em placas de 96 cavidades a uma densidade de  $5 \times 10^5$  células por cavidade. As composições de células T CAR testadas continham, em média, aproximadamente 45% de células anti-BCMA CAR<sup>+</sup> na semeadura. As células de cada composição foram incubadas durante 18 horas na presença de contas de um 5  $\mu$ g/ml, 50  $\mu$ g/ml, ou 200  $\mu$ g/ml de composição de contas conjugadas com BCMA em uma relação de células T 1:1 para contas. Como controle, as células foram incubadas com contas conjugadas com anticorpos anti-CD3/anti-CD28 (controle positivo) ou sem agente adicionado (controle negativo). As incubações foram realizadas na ausência de lenalidomida ou na presença de 0,5  $\mu$ M ou 5  $\mu$ M de lenalidomida. Após a incubação, as células foram tratadas com reagentes que permitiram o manchamento de anticorpos extracelulares e intracelulares por citometria de fluxo para os fatores de transcrição Blimp1, EOMES, GATA-3, *Ikaros*, *helios* e Tbet e marcadores CD25, CD31 e PD-1.

[00683] Níveis de marcadores após a incubação de uma composição de células T CAR<sup>+</sup> de um doador exemplar são mostrados para

BLIMP-1 (FIG. 20A), CD25 (FIG. 20B), CD31 (FIG. 20C), PD-1 (FIG. 20D), Tbet (FIG. 20E), e EOMES (FIG. 20F), GATA-3 (FIG. 20G) Helios (FIG. 20H), e *Ikaros* (FIG. 20I). Como mostrado, a expressão de um número de fatores de transcrição associados às células T efetoras avaliadas e marcadores de ativação foram aumentados após estimulação com as contas conjugadas com BCMA. Para muitos dos marcadores avaliados, a extensão da expressão aumentada foi similar à expressão induzida pela estimulação com contas anti-CD3/anti-CD28. Em alguns casos, o grau de estimulação com contas conjugadas com BCMA foi maior na presença de contas de 5 µg. Como mostrado na FIG. 20I, o nível de expressão de *Ikaros* foi diminuído na presença de lenalidomida em todas as condições. Resultados similares foram observados a partir da composição de uma célula T CAR<sup>+</sup> gerada a partir de um segundo doador, exceto que nenhuma alteração na expressão de Helios foi observada a partir de células deste doador quando estimuladas sob as condições testadas.

Exemplo 11 Avaliação da Atividade das Células T CAR Anti-BCMA Estimuladas com Contas Conjugadas com BCMA na Presença ou Ausência de Lenalidomida

#### A. Respostas Efetoras

[00684] Células T CAR anti-BCMA criogênicas, produzidas substancialmente como descrito no Exemplo 2 e formuladas na relação de 1:1 de células T CD4<sup>+</sup> para CD8<sup>+</sup>, foram descongeladas. A menos que de outro modo indicado, as contas (diâmetro de cerca de 4,5 µm de uma composição de 5 µg/ml ou 50 µg/ml de contas conjugadas com BCMA, geradas como descrito no Exemplo 9, foram adicionadas às cavidades em uma relação de células T para contas de 1:1 na presença ou ausência de 5 µM de lenalidomida. As células foram incubadas até 14 dias e analisadas em vários momentos quanto à secreção de citocinas, expansão celular por citometria de fluxo quanto ao marcador

substituto de EGFRt e quanto à atividade citolítica.

a. Expressão de citocinas

i) Presença de citocinas no sobrenadante

[00685] Vinte e quatro horas após a adição das contas conjugadas com BCMA, a presença de TNF- $\alpha$ , IFN $\gamma$  e IL-2 nos sobrenadantes de cultura foi avaliada. Como demonstrado nas **FIGS. 21A-21C**, a incubação com contas conjugadas com BCMA induziu a secreção de IFN $\gamma$  (**FIG. 21A**), IL-2 (**FIG. 21B**) e TNF- $\alpha$  (**FIG. 21C**) em sobrenadantes de cultura. O grau de produção de citocinas foi maior quando as células foram incubadas com contas da composição de 50  $\mu$ g/mL de contas conjugadas com BCMA, em comparação com a composição de 5  $\mu$ g/mL de contas conjugadas com BCMA, demonstrando que a estimulação de CAR via contas de BCMA era dependente de dose. Como mostrado, a lenalidomida aumentou a produção de citocinas de células T CAR $^{+}$  induzida por BCMA após estimulação com as contas conjugadas com BCMA.

[00686] Em um outro estudo exemplar, dois diferentes anti-BCMA CAR T composições celulares foram gerados a partir de diferentes doadores, cada um contendo células T expressando CAR anti-BCMA dos mesmos. As células foram descongeladas e incubadas com contas (diâmetro de cerca de 4,5  $\mu$ m) de um 5  $\mu$ g/mL ou 200  $\mu$ g/mL de composição de contas conjugada com BCMA gerada como descrito no Exemplo 1. A incubação foi realizada em uma relação de células T para contas de 1:1 na presença ou ausência de 1  $\mu$ M ou 5  $\mu$ M lenalidomida. Vinte e quatro horas após a adição das contas conjugadas com BCMA, a produção de IL-2 pelas células T CAR $^{+}$  anti-BCMA foi avaliada nos sobrenadantes de cultura. Como demonstrado na **FIG. 21D**, observou-se uma maior produção de IL-2 na presença de estimulação antigênica elevada (200  $\mu$ g/mL de contas conjugadas com BCMA) em comparação com uma menor estimulação antigênica (5  $\mu$ g/mL de con-

tas conjugadas com BCMA). Lenalidomida, em 1  $\mu$ M ou 5  $\mu$ M, aumentou a produção de citocinas na presença de alta e baixa estimulação antigênica.

*ii) Níveis de citocinas intracelulares*

[00687] As células T CAR<sup>+</sup> anti-BCMA foram incubadas na presença de 1  $\mu$ M de lenalidomida ou veículo e 50  $\mu$ g/mL de contas conjugadas com BCMA-Fc durante 2 horas, e as células foram avaliadas por citometria de fluxo quanto ao STAT 5 fosforilado. Para avaliar os níveis de citocinas IFN $\gamma$  e TNF $\alpha$ , as células T CAR<sup>+</sup> anti-BCMA foram incubadas na presença de 0,1  $\mu$ M ou 1  $\mu$ M de lenalidomida ou um veículo e 5  $\mu$ g/mL, 50  $\mu$ g/mL ou 200  $\mu$ g/mL de contas conjugadas BCMA-Fc durante 24 horas. As células foram bloqueadas em células CD3<sup>+</sup> transduzidas, vivas, e avaliadas por citometria de fluxo quanto ao acúmulo de citocinas intracelulares de IFN $\gamma$  e TNF $\alpha$  em células CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>.

[00688] Como mostrado na FIG. 22A, uma estimulação de 2 horas com antígeno aumentou a porcentagem de células positivas para o STAT5 fosforilado em comparação com o controle sem estimulação (mostrado com a linha pontilhada). Os resultados para os níveis de citocinas intracelulares de IFN $\gamma$  e TNF $\alpha$  de células T CAR anti-BCMA geradas a partir de um doador de células T CAR normal representativo são mostrados na FIG 22B. Neste estudo, a produção de citocinas de células T CAR anti-BCMA foi aumentada pela lenalidomida em uma ampla gama de níveis e concentrações de antígenos.

*b. Proliferação celular*

[00689] A contagem total de células, monitorizada no dia 4 (FIG. 21E) e dia 7 (FIG. 21F), foi aumentada após estimulação de células T CAR<sup>+</sup> anti-BCMA com contas de 50  $\mu$ g/mL de composição de contas conjugada com BCMA, porém não 5  $\mu$ g/mL de composição de contas conjugada com BCMA, em comparação com as células presentes no

momento do início da incubação (linha tracejada). Um pequeno aumento na proliferação foi observado em células incubadas com contas de 50 $\mu$ g na presença de lenalidomida no dia 7.

[00690] Para também avaliar a proliferação, as células contendo células T expressando CAR anti-BCMA foram rotuladas com o corante marcador de proliferação CELLTRACE VIOLET (CTV; ThermoFisher Scientific, Waltham MA) de acordo com o protocolo do fabricante antes da incubação com as contas conjugadas com BCMA. A proliferação foi avaliada por diluição do corante usando citometria de fluxo em células que foram estimuladas com contas da composição de 50  $\mu$ g/mL de contas conjugadas com BCMA. Em comparação com a proliferação na ausência de lenalidomida, houve um ligeiro atraso na proliferação como avaliado pela diluição do CTV na presença de lenalidomida no 4º dia, porém não no 7º dia (FIG. 21G).

### c. Expansão

[00691] Quatro dias e sete dias após a adição de contas conjugadas com BCMA, as células incubadas foram manchadas com CD4 ou CD8 e com um anticorpo anti-EGFRt para determinar a percentagem de células positivas para EGFRt como substituto das células T CAR<sup>+</sup>. No momento da semeadura, 26% das células CD4<sup>+</sup> expressaram CAR anti-BCMA e 39% das células CD8<sup>+</sup> expressaram CAR anti-BCMA como determinado pela coloração com BCMA-Fc. A percentagem de células T EGFRt<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> aumentou em cerca de 26% no início da incubação para mais de 40% no dia 4 (FIG. 21H) e mais de 60% no dia 7 (FIG. 21I) quando as células foram incubadas na presença de contas de uma composição de 50  $\mu$ g/mL de contas conjugadas com BCMA. Como mostrado na FIG. 21I, a percentagem de células T EGFRt<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> aumentou no dia 7 em cerca de 38% no início da incubação para mais de 60% quando as células foram incubadas na presença de contas da composição de 50  $\mu$ g/mL de contas conjugadas com BCMA. A exten-

são da expansão celular foi maior quando as células foram incubadas na presença de contas de 50 µg/mL de composição de contas conjugados com BCMA em comparação com contas de 5 µg/mL de composição de contas conjugados com BCMA. A presença de lenalidomida não impactou substancialmente a extensão da expansão da célula T CAR<sup>+</sup> neste estudo.

d. Atividade Citolítica

[00692] A atividade citolítica das células T CAR<sup>+</sup> após incubação com contas conjugadas com BCMA foi avaliada por incubação com a linhagem celular alvo RPMI-8226 expressando BCMA, que é uma linhagem celular de mieloma múltiplo BCMA<sup>+</sup>. Após sete dias de incubação das células T CAR<sup>+</sup> anti-BCMA com contas conjugadas com BCMA (5 µg/ml ou 50 µg/ml) na presença ou ausência de lenalidomida, as contas foram removidas das culturas e as células foram revestidas com as células alvo RPMI-8226 em uma relação de células efetoras para células alvo de 3:1 ou 1:1 na presença ou ausência de lenalidomida 5 µM. Para realizar o ensaio citolítico, as células RPMI-8226 alvo foram rotuladas com NucLight Red (NLR) para permitir o rastreamento de células alvo por microscopia. A atividade citolítica foi avaliada através da medição da perda de células alvo viáveis durante um período de quatro dias, como determinado pelo sinal fluorescente vermelho (usando o INCUCYTE® IncuCyte® Live Cell Analysis System, Esten Bioscience). O número de células viáveis foi normalizado para células no dia 0 antes da incubação com as células alvo RPMI-8226.

[00693] Resultados Exemplares na relação 1:1 de células efetoras alvo são mostrados na FIG. 21J. Como mostrado, as células T CAR<sup>+</sup> anti-BCMA demonstraram extermínio eficaz no ensaio. Células T CAR<sup>+</sup> anti-BCMA que foram estimuladas com contas de 5 µg/ml de composição de contas conjugadas com BCMA foram ligeiramente menos eficientes no extermínio de células do que as células T CAR<sup>+</sup> anti-



BCMA que foram estimuladas com contas de 5 µg/ml de composição de contas conjugadas com BCMA. Para todas as condições, a pré-incubação com lenalidomida durante a incubação de sete dias antes do ensaio de morte celular aumentou a atividade citolítica das células T CAR<sup>+</sup>. A presença de lenalidomida durante o ensaio de occisão de células não afetou substancialmente a atividade de extermínio. Nenhuma morte celular foi observada quando as células RPMI 8226 foram cultivadas sozinhas ou na presença de lenalidomida, demonstrando que a lenalidomida não influenciou diretamente a viabilidade da célula alvo neste ensaio.

#### B. Re-estimulação em Série

[00694] As composições das células T CAR anti-BCMA foram geradas a partir de três doadores diferentes, cada um contendo células T expressando o mesmo CAR anti-BCMA, descongeladas, e foram incubadas durante sete dias com contas (diâmetro de cerca de 4,5 µm) em uma relação de 1:1 de contas para células a partir de uma composição de contas conjugadas com BCMA de 50 µg/mL gerada como descrito no Exemplo 9. A incubação foi realizada na presença de 5 µM de lenalidomida ou na ausência de lenalidomida (controle de veículo). As células foram colhidas após 7 dias e ressemeadas por três novos ciclos até 28 dias, cada ciclo envolvendo a reposição para a densidade de semeadura inicial e incubação durante mais 7 dias na presença da mesma concentração de lenalidomida.

[00695] Em cada reinicialização após o pré-tratamento, a atividade citolítica foi avaliada por incubação com a linhagem celular alvo RPMI-8226 (rotulada com NucLight Red (NLR)) em uma relação entre célula efetora para alvo (E:T) de 1:1 na presença ou ausência adicional de lenalidomida. A atividade citolítica foi avaliada através da medição da perda de células alvo viáveis durante um período de até 80 a 150 horas, como determinado pelo sinal fluorescente vermelho (usando o In-

cuCyte® Live Cell Analysis System, Esten Bioscience). As células de cada condição foram revestidas em triplicata. A % de morte de células em comparação com o controle apenas de veículo (definido em 100%) foi determinado.

[00696] A **FIG. 23A** mostra resultados de atividade citolítica de células T CAR<sup>+</sup> anti-BCMA de um doador exemplar após pré-tratamento durante 7 dias, 14 dias ou 21 dias. Como mostrado, células T CAR<sup>+</sup> anti-BCMA que foram pré-incubadas com lenalidomida durante 7 dias ou 14 dias exibiram maior atividade citolítica em comparação com células que não foram pré-incubadas na presença de lenalidomida. Neste doador, uma diminuição geral na eficácia de extermínio foi observada por células T CAR<sup>+</sup> anti-BCMA que foram pré-incubadas com lenalidomida durante 14 ou 21 dias em comparação ao dia 7. Efeitos similares na atividade citolítica de células T CAR<sup>+</sup> anti-BCMA após pré-tratamento com lenalidomida durante 7 ou 14 dias foram observados no doador; atividade citolítica após 21 dias de pré-tratamento com lenalidomida não foi avaliada neste doador. Como mostrado na **FIG. 23B**, o aumento da eficácia de exterminar as células T CAR<sup>+</sup> anti-BCMA foi observado neste doador em células que foram pré-incubadas com lenalidomida em todos os momentos.

Exemplo 12 - Efeitos da lenalidomida sobre a Expressão de PD-1 e Sinalização de PD-L1

[00697] Células T CAR anti-BCMA, geradas a partir de amostras de doadores saudáveis representativos ou de material derivado de doentes com mieloma múltiplo, e cultivadas com 50 µg/mL de contas conjugadas com BCMA-Fc (geradas como descrito no Exemplo 9) em uma relação de 1:1 contas:célula CAR<sup>+</sup> T durante 7 dias, na presença de 1 de 1 µM de lenalidomida ou de um controle de veículo. A expressão de CD25, PD-1, Tim3 e Lag3 em células CAR T (usando um anticorpo para o marcador CAR de substituição) cultivadas sob as diferentes

condições foi em seguida avaliada por citometria de fluxo.

[00698] Tais células T CAR anti-BCMA pré-estimuladas com contas na presença ou ausência de lenalidomida, ou células T CAR anti-BCMA recentemente descongeladas geradas a partir de amostras de doadores comparáveis, foram então *debeaded*, lavadas e cultivadas com células RPMI-8226 alvo (rotuladas com NucLight Red (NLR) para permitir o seu rastreamento por microscopia), na presença de 1  $\mu$ M de lenalidomida ou um controle de veículo. Especificamente, para células pré-tratadas nas quais o pré-tratamento foi conduzido na presença de lenalidomida, as células foram cultivadas com as células alvo na presença de lenalidomida; igualmente, para células pré-tratadas nas quais o pré-tratamento foi conduzido na presença de veículo, as células foram cultivadas com as células alvo na presença de veículo. Após a cocultura, a atividade citolítica foi avaliada medindo a perda de células alvo viáveis durante um período de sete dias, como determinado pelo sinal fluorescente vermelho. Porcentagem de morte foi normalizada para células T CAR anti-BCMA pré-estimuladas em contas na presença de veículo. A produção de citocinas foi avaliada pelo ELISA a partir do sobrenadante após cultura com células alvo durante 24 horas. As experiências foram realizadas duas vezes em 3 doadores. Modelos lineares de efeito fixo ou de efeito misto foram usados para avaliar a significância dos tratamentos com lenalidomida na atividade citolítica e produção de citocinas, tal com tratamento, doador e tempo tratado como efeitos fixos e animal tratado como efeito aleatório, aninhados com o tempo quando medições repetidas foram derivadas do mesmo animal. Os valores de P foram obtidos por testes de relação de probabilidade comparando o modelo completo com o efeito de interesse em relação ao modelo sem o efeito de interesse.

[00699] FIG. 24A mostra resultados para atividade citolítica específica de antígeno CAR e a FIG. 24B mostra resultados para produção

de citocinas para células T CAR anti-BCMA que haviam sido pré-estimuladas com contas BCMA (comparadas com células T CAR anti-BCMA recém-adquiridas (não pré-estimuladas)) nas coculturas, comparando células cultivadas na presença versus ausência de lenalidomida. Células CAR T pré-estimuladas mostraram diminuição da atividade citolítica ( $P = 2,1 \times 10^{-4}$ ) e produção de citocinas ( $P = 0,03$  para IFN- $\gamma$ ) em comparação com as células T CAR anti-BCMA recentemente descongeladas. Na ausência de lenalidomida no pré-tratamento e cocultura subsequente, as células T CAR pré-estimuladas exibiram redução no extermínio de células e produção de citocinas em comparação com as células T CAR frescas, indicando que a pré-estimulação crônica leva ao comprometimento funcional. Estes resultados são consistentes com um fenótipo tipo exaustão tendo sido induzido por pré-estimulação nas contas conjugadas com BCMA. A presença de lenalidomida durante o período de pré-estimulação preservada função citolítica ( $P = 0,04$ ), e houve uma tendência para o aumento da produção de citocinas em comparação com as células expostas ao veículo durante o período de pré-estimulação (FIG. 24B). A presença de lenalidomida neste ensaio foi consistente com uma observação de que a lenalidomida pode reduzir os efeitos indicativos do fenótipo tipo exaustão funcional nas células T CAR pré-estimuladas.

[00700] Como mostrado na FIG. 24C, o fenótipo de células T CAR anti-BCMA estimuladas durante 7 dias em contas BCMA foi avaliado, e a adição de lenalidomida aumentou significativamente a viabilidade CAR<sup>+</sup> do material T CAR anti-BCMA em 3 doadores saudáveis ( $P = 0,04$ ). A adição de lenalidomida não alterou a contagem total de células através de todos os doadores neste período de 7 dias, e não foram observadas diferenças significativas na porcentagem de CAR<sup>+</sup> entre as células T CAR tratadas com veículo e lenalidomida. A FIG. 24D mostra resultados representativos da análise citométrica de fluxo da expres-

são de superfície CD25 e PD-1 (intensidade fluorescente média (MFI), para células T CAR anti-BCMA CD4<sup>+</sup> ou CD8<sup>+</sup> após estimulação (pré-tratamento) com contas BCMA durante 7 dias, na presença ou ausência de 1  $\mu$ M de lenalidomida. Como mostrado, os resultados indicaram que a lenalidomida reduziu a expressão PD-1 de células T CAR BCMA, enquanto aumentava a expressão CD25 após estimulação prolongada. Como mostrado na FIG. 24E, a análise citométrica de fluxo através dos três doadores de T CAR indicou que a adição de lenalidomida aumentou a expressão superficial de Tim3 na população CD8<sup>+</sup> ( $P = 4,0 \times 10^{-4}$ ), com efeitos mistos na população CD4<sup>+</sup> CAR<sup>+</sup>. Em todos os doadores e nas populações CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> CAR<sup>+</sup>, a lenalidomida aumentou CD25 (CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>;  $P = 2,2 \times 10^{-16}$ ) e o percentual positivo para expressão de Lag3 (CD8<sup>+</sup>  $P < 0,03$ ; CD4<sup>+</sup>  $P = 0,002$ ). Notadamente, uma diminuição no percentual de células PD-1<sup>+</sup> também foi observada na população CD4<sup>+</sup> ( $P = 0,04$ ), com 2 dos 3 doadores mostrando também uma diminuição na população CD8<sup>+</sup>.

[00701] Em outro estudo, contas humanas recombinantes conjugadas com BCMA foram usadas para estimular as células T CAR em várias concentrações para titular a magnitude da estimulação, seja estimulação baixa (5  $\mu$ g/mL), média (50  $\mu$ g/mL), e elevada (200  $\mu$ g/mL). Em uma condição de estimulação média, a produção de citocinas secretadas 24 horas após a estimulação foi medida, e um aumento de 200% nas concentrações de IL-2 e TNF- $\alpha$  foi observado em comparação com o controle de veículo, com aumentos dependentes de doadores em IFN- $\gamma$  (FIG. 25A). As células foram estimuladas com contas conjugadas com BCMA durante 24 horas na presença de 0,1  $\mu$ M ou 1,0  $\mu$ M de lenalidomida, ou controle de veículo. Um inibidor de transporte de proteína foi adicionado nas últimas horas de incubação, e as células foram manchadas por IL-2 intracelular, IFN- $\gamma$ , e TNF- $\alpha$ .

[00702] As células T CAR anti-BCMA ativadas em contas BCMA

mostraram efeitos de estimulação dependentes do nível de estimulação na produção de citocinas, com 5 µg de contas de BCMA causando produção limitada de citocinas com efeito T CAR em comparação com 50 µg e 200 µg de contas BCMA (**FIG. 25B**). Lenalidomida aumentou a percentagem de coloração com IFN-γ<sup>+</sup> e TNF-α<sup>+</sup> intracelular em todos os níveis de estimulação para as células T CAR CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>. A magnitude da estimulação aumentou ou diminuiu IL-2 em resposta à lenalidomida, com a lenalidomida diminuindo a percentagem de células T CAR<sup>+</sup> IL-2<sup>+</sup> em 50 µg e 200 µg de estimulação, porém aumentando a percentagem de células T CAR<sup>+</sup> IL-2<sup>+</sup> na condição de estimulação de 5 µg. Na ausência de estimulação, a lenalidomida não teve efeito sobre a produção de citocinas T CAR, indicando que o reforço de citocinas fornecido pela lenalidomida requer estimulação.

[00703] Em outro estudo, para explorar se a potencialização induzida pela lenalidomida da ativação de T CAR e produção de citocinas poderia substituir a inibição mediada por PD-L1, as células foram cultivadas na presença de contas de BCMA geradas como descrito no Exemplo 9, com ou sem conjugação adicional de PD-L1-Fc recombinante humano. Células T CAR saudáveis derivadas de doadores ou pacientes foram estimuladas na presença de contas conjugadas com BCMA ou contas conjugadas com BCMA/PD-L1 durante 24 horas na presença de 1 µM de lenalidomida. A produção de citocinas foi medida no sobrenadante. Os resultados são apresentados na **FIG. 25C**. Como mostrado na **FIG. 25C**, a avaliação das células T CAR saudáveis e do paciente demonstrou que a adição de PD-L1 recombinante às contas de BCMA recombinantes reduziu IFN-γ, IL-2 e TNF-α. Foi demonstrado que o tratamento com lenalidomida potenciou os níveis de citocinas secretadas, além daqueles das células T CAR tratadas com veículo na presença de PD-L1. Os resultados foram consistentes com a conclusão de que a produção de citocinas T CAR anti-BCMA após a incuba-

ção com contas conjugadas com BCMA foi aumentada pela lenalidomida na presença de inibição mediada por PD-L1.

Exemplo 13 - Expressão do gene e análise de acessibilidade de cromatina em células T CAR na presença ou ausência de lenalidomida

[00704] A expressão gênica e a acessibilidade à cromatina foram avaliadas nas células T CAR após estimulação, na presença ou não de lenalidomida. As células T expressando CAR anti-BCMA, geradas a partir de quatro (4) doadores independentes diferentes, foram estimuladas com 50 µg/mL de contas conjugadas com BCMA durante 24 horas (24 horas + estímulo) ou 7 dias (d7 + estímulo), ou cultivadas sem estimulação durante 24 horas (24 horas), na presença ou ausência de lenalidomida (1 µM). Os experimentos foram realizados duas vezes em 3 a 4 doadores. As células expressando CAR foram avaliadas por sequenciamento de RNA (RNA-seq) quanto à expressão gênica e ensaiadas quanto à cromatina acessível à transposase usando sequenciamento (ATAC-seq) para análise de acessibilidade à cromatina. Os ensaios foram realizados em 50.000 células em cada momento.

[00705] O sequenciamento de RNA foi realizado nas amostras de DNA complementar (cDNA) preparadas a partir do RNA isolado das células expressando CAR anti-BCMA cultivadas. ATAC-seq foi realizado geralmente como descrito em Buenrostro *et al.*, *Nat Methods*. (2013) 10(12):1213-1218. As leituras do ATAC de extremidade emparelhada foram aparadas, alinhadas com Bowtie2, e filtradas para qualidade, comprimento do fragmento, duplicação e contribuição mitocondrial. Os picos de acessibilidade do ATAC-seq foram chamados usando o MACS2 ( $q < 0,01$ ) e um conjunto de consenso foi gerado a partir de picos sobrepostos presentes em 2 ou mais amostras, usando DiffBind. A análise de componentes principais (ACP) foi realizada para os conjuntos de dados RNA-seq e ATAC-seq, gerados a partir de contagens normalizadas DESeq2. A expressão diferencial (DE, para RNA-

seq) ou a acessibilidade de pico de consenso (DA, para ATAC-seq) foram calculadas, modelando os efeitos do doador (Doadores 1-4) e os efeitos do tratamento (lenalidomida vs. veículo) em 24 horas e no dia 7. O corte na seleção do local diferencial foi de  $q \leq 0,05$  e a mudança de duplicação  $\log_2$  em  $\geq 0,5$  para RNA-seq ou  $q \leq 0,1$  para ATAC-seq. A análise do enriquecimento da ontologia genética (GO) foi realizada e o escore z de ativação foi determinado no subconjunto de genes expresso diferencialmente em  $q < 0,1$  usando o *software* Ingenuity Pathway Analysis (Qiagen, Inc.), contabilizando os efeitos dos doadores em cada condição de tratamento. Uma análise de enriquecimento do *motivo* foi realizada quanto aos picos que se mostraram mais acessíveis na presença de lenalidomida, com *software* HOMER, usando o pico de consenso como base, para a estimulação de 7 dias (d7 + stim) dados ATAC-seq.

[00706] Os mapas de calor de RNA-seq foram gerados em dados de expressão normalizados (transcrições por milhão), em média entre doadores por condição, e normalizados por linha usando escores z. O enriquecimento do *motivo* em picos de DA no dia 7 foi realizado com HOMER, usando o pico de consenso definido como base.

[00707] Os resultados da PCA, que representam a diversidade global através da expressão genética ou da acessibilidade da cromatina no genoma, são apresentados na FIG. 26A (expressão genética; com base nos resultados do RNA-seq) e FIG. 26B (acessibilidade da cromatina; com base nos resultados do ATAC-seq). As elipses foram desenhadas para indicar os grupos como foi observado que os principais fatores que contribuíram para a variação na expressão gênica ou acessibilidade da cromatina foram tempo de cultura e presença de estimulação. Células cultivadas na presença de lenalidomida (círculos) exibiram diferentes expressões genéticas gerais e acessibilidade à cromatina em comparação com células cultivadas na ausência de le-



nalidomida (triângulos, veículo), mostrando um efeito de tratamento com lenalidomida em cada doador e condição de cultura. Para o tratamento com lenalidomida, a direção geral da mudança (mostrada pela linha pontilhada entre triângulo e círculo) foi similar em cada doador, e o grau de mudança foi geralmente maior em células cultivadas durante 7 dias com estimulação, comparado com a mudança em células cultivadas durante 24 horas, com ou sem estimulação. Assim, a PCA demonstrou agrupamento com base na estimulação (estimulação ou não estimulação) e tempo (24 horas ou 7 dias) para ambos os conjuntos de dados de RNA-seq (**Figura 26A**) e ATAC-seq (**Figura 26B**).

[00708] O papel da lenalidomida após 24 horas ou 7 dias de estimulação após a contabilização da variabilidade do doador para doador foi então examinado. **FIGS. 27A-27D** mostram alterações na expressão gênica (**FIGS. 27A e 27B**, após culturas de 24 horas e 7 dias com estimulação, respectivamente) ou acessibilidade à cromatina (**FIGS. 27C e 27D**, após culturas de 24 horas e 7 dias com estimulação, respectivamente) na presença de lenalidomida. A análise de RNA-seq mostrou a aceleração de um pequeno conjunto de genes (214) em 24 horas, e um número maior de genes (583) mudou após 7 dias de estimulação na presença de lenalidomida (**Figuras 27A e 27B**). A análise ATAC-seq revelou um conjunto limitado de mudanças na acessibilidade da cromatina associadas com o tratamento com lenalidomida após 24 horas de estimulação, com uma mudança dramática no perfil e um aumento no número de locais com mudanças na acessibilidade da cromatina (mudança na acessibilidade da cromatina em 2804 picos) após 7 dias de estimulação na presença de lenalidomida (**Figuras 27C e 27D**). Estes resultados indicaram que o tratamento com lenalidomida alterou tanto o perfil transcricional quanto o epigenético das células T CAR.

[00709] Para identificar ainda mais as alterações transcricionais es-

pecíficas associadas ao tratamento com lenalidomida, a análise de ontologia genética foi aplicada ao conjunto de dados de RNA-seq, e as vias de sinalização biológica que foram enriquecidas em genes diferencialmente expressos (FIGS. 28A e 28B) foram identificadas. A direcionalidade e significância dos efeitos sobre as vias biológicas são mostradas em 24 horas (FIG. 28A) ou 7 dias (FIG. 28B). Os resultados mostraram que a presença de lenalidomida resultou no aumento da expressão de genes envolvidos na ativação e sinalização de células T. Os resultados mostraram que as vias diferencialmente reguladas na presença e ausência de lenalidomida mostraram um enriquecimento de genes associado à sinapse imune, genes envolvidos na sinalização de citocinas e genes envolvidos nas vias de ativação de células T. Especificamente, as vias associadas com a quimiotaxia de células T (extravasamento de leucócitos, integrina, ILK, e genes associados a CXCR4), sinalização intracelular, e citoesqueleto (Rac/Rho/Cdc42) foram super-reguladas na presença de lenalidomida dentro de 24 horas após a estimulação comparada com controles de veículos. Além disso, estes dados suportam um aumento nas vias de sinalização relacionadas à ICOS - um achado que está em linha com publicações anteriores demonstrando um aumento na ICOS e ICOSL na população CD3<sup>+</sup> de células mononucleares de sangue periférico tratadas com lenalidomida *ex vivo* (Gorgun *et al.* (2010) Blood, 116:3227-3237). Após 7 dias de estimulação, as vias super-reguladas de lenalidomida associadas com a resposta de células T Th1 e coestimulação, enquanto diminuem as assinaturas de genes associados a Th2.

[00710] Para um subconjunto selecionado de genes, incluindo genes envolvidos na ativação e sinalização de células T, as mudanças na expressão gênica e acessibilidade da cromatina na presença de lenalidomida foram comparadas às células cultivadas durante 7 dias com estimulação para determinar se a acessibilidade da cromatina es-

tá correlacionada com a transcrição. A **FIG. 29** mostra picos individuais de acessibilidade à cromatina (diamante) e a mudança média de acessibilidade à cromatina para cada gene (círculo) plotado contra as alterações de expressão gênica correspondentes medidas pelo RNA-seq mostrando concordância de sinal entre os dois métodos. Entre os doadores, um aumento significativo na acessibilidade da cromatina foi observado em múltiplos *loci* associados com IFN- $\gamma$  e IL-2RA (CD25), e estas alterações foram correlacionadas com um aumento significativo na transcrição. É importante ressaltar que a a super-regulação de IFN- $\gamma$  e CD25 suportou achados anteriores de experimentos de estimulação crônica. Além disso, também foi observada uma diminuição na acessibilidade à cromatina CD69 e CCR7 e na transcrição gênica no tratamento com lenalidomida.

[00711] O conjunto de dados de ATAC-seq para enriquecimento do *motivo* foi analisado, e os resultados da análise de enriquecimento do *motivo* para picos com maior acessibilidade na presença de lenalidomida nas culturas do dia 7 são mostrados na **FIG. 30**. *Motivos* previstos ligar vários fatores de transcrição, entendidos como envolvidos na ativação e sinalização de células T, incluindo AP-1/Jun e fator nuclear  $\kappa$ B, foram enriquecidos em picos com maior acessibilidade na presença de lenalidomida. Os resultados foram consistentes com um aumento na atividade funcional nas células T expressando CAR na presença de lenalidomida.

[00712] Sem desejar estar ligado à teoria, os estudos de RNA- e ATAC-seq resultaram em vários *insights* sobre possíveis mecanismos para aumentos induzidos pela lenalidomida na função T do CAR. Primeiro, o número de mudanças na acessibilidade transcricional e cromatina associadas à estimulação e ao tempo foram predominantes em comparação com os efeitos da lenalidomida, indicando um efeito relativamente sutil da lenalidomida em redes transcripcionais. Em segundo

lugar, as alterações associadas à lenalidomida foram amplas, incluindo alterações precoces nas transcrições associadas à remodelação citoesquelética e à quimiotaxia. Após a estimulação crônica, surgiu uma assinatura transcricional distinta que incluiu uma diminuição nas transcrições associadas com a resposta Th2, ponto de verificação G2/M, e ATM junto com um aumento em Th1, receptor  $\gamma$  ativado por proliferador de peroxissoma, e genes associados ao citoesqueleto de actina. Estes efeitos podem apoiar um papel para o tratamento da lenalidomida e controle do ciclo celular e ativação da célula T. Estudos anteriores também demonstraram os efeitos das IMiDs sobre as assinaturas associadas a Th1 e Th2, bem como mudanças nos elementos associados à remodelação citoesquelética e migração de células T. As alterações precoces demonstradas na produção de citocinas pela lenalidomida podem contribuir para um estado alterado das células T que é capaz de melhorar aspectos da memória e da função efetora simultaneamente. Em geral, estes resultados sugerem que fatores adicionais além daqueles relatados anteriormente estão envolvidos no prolongamento induzido pela lenalidomida da função T CAR, incluindo possíveis mudanças no controle do ciclo celular.

[00713] A aplicação do ATAC-seq forneceu mais informações sobre potenciais mecanismos de ação da lenalidomida. Embora tanto a estimulação como o tempo tenham sido os principais impulsionadores das alterações na acessibilidade da cromatina, o tratamento com lenalidomida foi associado aos aumentos na acessibilidade da cromatina em *loci* enriquecidos com motivos associados à ativação e função da célula T após estimulação crônica. Estas alterações epigenéticas foram coincidentes com as alterações funcionais marcantes nas células T CAR incubadas com lenalidomida. As alterações nas assinaturas de acessibilidade da cromatina têm sido associadas à exaustão das células T e podem ser um indicador mais robusto de exaustão em compa-

ração com a expressão de ligantes de superfície das células T. Estes dados demonstraram que a estimulação crônica com lenalidomida resultou em aumento da acessibilidade da cromatina e expressão gênica de IL-2 e CD25 e diminuição da expressão gênica e acessibilidade da cromatina de CCR7 e CD69. Estudos anteriores sugeriram que as células expressando CCR7 produziam níveis mais altos de IL-2; entretanto, os estudos atuais indicaram que a via de IL-2 poderia ser alterada independentemente pela lenalidomida, resultando em um estado alternativo de células T. CD69, um marcador da ativação da célula T, tem um elemento responsivo ao fator nuclear  $\kappa B$  que é necessário para a resposta de CD69 ao TNF- $\alpha$ . O fechamento da cromatina associada à CD69 e a diminuição nas transcrições podem ser uma reação aos aumentos sustentados na produção de TNF- $\alpha$  por células T CAR cultivadas com lenalidomida, ou pode ser uma resposta de célula T ao aumento da ativação na presença de lenalidomida. As células tratadas com lenalidomida demonstraram aumento do enriquecimento do *motivo* do fator de transcrição de fatores associados à ativação de células T, apoiando a ideia de que estas células são expostas à sinalização de ativação sustentada. Em geral, o estado de célula T CAR induzido por lenalidomida tem elementos de ambas as funções de célula T efetora, incluindo produção aumentada de IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ , e função de célula T de memória, incluindo IL-2 aumentada e proliferação a longo prazo.

Exemplo 14 - Avaliação da resposta farmacodinâmica do fator de transcrição de *Ikaros* em células T expressando CAR na presença do Composto 1 ou lenalidomida

[00714] As composições de células T contendo células T expressando CAR anti-CD19 foram geradas a partir de amostras de leucáfereze de três doadores humanos adultos saudáveis por um processo que incluiu a seleção de células T com base na imunoafinidade (incluindo células CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>) das amostras, resultando em duas compo-

sições, enriquecidas para células CD8<sup>+</sup> e CD4<sup>+</sup>, respectivamente. As células foram incubadas na presença de 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona (Composto 1) ou lenalidomida, e a expressão do fator de transcrição de *Ikaros* foi avaliada.

[00715] As células das composições CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> enriquecidas foram ativadas separadamente com contas anti-CD3/anti-CD28 e submetidas à transdução lentiviral com codificação vetorial e CAR anti-CD19. O CAR anti-CD19 continha um scFv anti-CD19 derivado de um anticorpo de murino (região variável derivada de FMC63), um espaçador derivado de imunoglobulina, um domínio de transmembrana derivado de CD28, uma região coestimulatória derivada de 4-1BBB e um domínio de sinalização intracelular CD3-zeta. A construção da expressão no vetor viral continha ainda sequências que codificavam um receptor truncado, que serviu como marcador substituto da expressão de CAR, que foi separado da sequência de CAR por uma sequência de *skip* de ribossoma T2A. As populações transduzidas foram então incubadas separadamente na presença de reagentes estimulantes para expansão celular. As células CD8<sup>+</sup> e CD4<sup>+</sup> expandidas foram formuladas e crioconservadas separadamente e armazenadas. As células expressando CAR CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> crioconservadas de cada doador foram descongeladas e combinadas aproximadamente em uma relação 1:1 CAR<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup>:CD8<sup>+</sup> antes do uso.

[00716] Aproximadamente  $2,5 \times 10^5$  células (células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> combinadas em uma relação de 1:1) da composição celular T CAR<sup>+</sup> gerada foram estimuladas durante a noite com um reagente específico para o CAR, e então as células foram incubadas com lenalidomida (100 nM - 10.000 nM), Composto 1 (10 nM - 3000 nM) ou um controle de veículo durante a noite a 37°C, CO<sub>2</sub> a 5%. As concentrações avaliadas do Composto 1 e da lenalidomida englobaram o C<sub>máx</sub> e C<sub>mín</sub> clínico relatado. Após a incubação, as células T expressando CAR anti-

CD19 foram manchadas com anticorpos e analisadas por citometria de fluxo para avaliar a expressão superficial de CD4, CD8 e o marcador substituto para expressão de CAR, e níveis intracelulares de *Ikaros* em células CD4<sup>+</sup>CAR<sup>+</sup> ou CD8<sup>+</sup>CAR<sup>+</sup>. Os valores medianos de intensidade de fluorescência (MFI) para *Ikaros* foram normalizados e calculados como uma porcentagem em relação ao controle veicular.

[00717] Como mostrado na FIG. 31, uma diminuição da expressão intracelular de *Ikaros* dependente de concentração foi observada tanto nas células T expressando CAR CD4<sup>+</sup> anti-CD19 quanto nas células T expressando CAR CD8<sup>+</sup> anti-CD19 após incubação com Composto 1 ou lenalidomida. Uma maior redução na expressão de *Ikaros* foi observada nas células na presença do Composto 1 em comparação com a lenalidomida. O EC<sub>50</sub> para redução da expressão de *Ikaros* foi calculado como determinado a partir da concentração do inibidor que reduziu MFI de *Ikaros* em 50% de sua MFI máxima na ausência do inibidor. Os valores de EC50 para Composto 1 e lenalidomida são mostrados na Tabela E5.

Tabela E5. EC50 de *Ikaros* (nM) em células T CD4<sup>+</sup>CAR<sup>+</sup> e células T CD8<sup>+</sup>CAR<sup>+</sup>

	CD4 <sup>+</sup>		CD8 <sup>+</sup>	
	Lenalidomida	Composto 1	Lenalidomida	Composto 1
Doador 1	61,2	67	80,9	100,9
Doador 2	ND	41,5	ND	60,8
Doador 3	169,8	99,8	235,5	161,1

ND = não determinado

Exemplo 15 - Avaliação dos efeitos funcionais sobre células T expressando CAR após incubação com células alvo na presença do composto 1 ou lenalidomida

[00718] As composições das células T expressando CAR anti-CD19 T (contendo células CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> combinadas em uma relação de 1:1)

foram geradas substancialmente como descrito no Exemplo 14, e foram incubadas com células K562 alvo transduzidas com CD19 humano (K562.CD19) na presença de 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona (Composto 1) (em concentrações de 10 nM, 100 nM, 500 nM, e 1000 nM), lenalidomida (em concentrações de 100 nM, 1000 nM, e 10.000 nM), ou um controle de veículo a 37 °C, CO<sub>2</sub> a 5%. Expressão de citocinas, citólise de células alvo e expressão de marcadores de superfície de células T expressando CAR anti-CD19 T foram avaliadas.

#### A. Produção de citocinas

[00719] Para avaliar a produção de citocinas, foram incubadas  $1 \times 10^5$  células CAR<sup>+</sup>anti-CD19 (células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> combinadas em uma relação de 1:1) com células alvo K562.CD19 em uma relação E:T de 5:1 ou 2,5:1 na presença ou ausência de lenalidomida ou composto 1 como descrito acima. Após 24 horas, os sobrenadantes foram colhidos e analisados quanto à produção de citocinas IFN-, IL-2 e TNF.

[00720] Como mostrado nas FIGS. 32A (Composto 1) e 32B (lenalidomida), a produção de citocinas foi aumentada na presença do Composto 1 ou lenalidomida, respectivamente, de forma dependente da concentração em relação ao controle do veículo, em ambas as relações E:T de 5:1 e 2,5:1. Houve diferenças nos níveis de citocinas entre os diferentes doadores. O tratamento com o composto 1 resultou em maior produção de citocinas em múltiplas condições em comparação com o tratamento com lenalidomida em concentrações equivalentes. O aumento foi estatisticamente significativo como determinado pelo aumento na produção de citocinas na presença de Composto 1 a 100 nM e 1000 nM comparado à concentração equivalente de lenalidomida na relação 2,5:1 e 5:1 E:T como determinado usando um teste t paramétrico não pareado com a execução de correção de Welch, veja, Tabela E6 (Valores P em 2,5:1 E:1 E:T/Valores p em 5:1 E:T).



Tabela E6. Produção de citocina de células T expressando CAR anti-CD19 tratadas com Composto 1 ou lenalidomida.

	Doador 1		Doador 2		Doador 3	
Concentração (nM):	100	1000	100	1000	100	1000
IFN- $\gamma$	***/*	*/ns	ns/ns	ns/**	***/**	***/**
IL-2	**/*	*/*	**/*	ns/ns	ns/*	ns/ns
TNF- $\alpha$	***/*	***/**	**/*	***/**	**/*	**/*

$p \leq 0,05$  : \*;  $p \leq 0,01$  : \*\*;  $p \leq 0,001$  : \*\*\*; ns: não significante

### B. Função Citolítica

[00721] Para avaliar a função citolítica, as células  $1 \times 10^5$  ou  $5 \times 10^4$  CAR<sup>+</sup> anti-CD19 (células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> combinadas em uma relação de 1:1) foram incubadas com  $2 \times 10^4$  células alvo K562.CD19 em uma relação E:T de 5:1 ou 2,5:1 na presença ou ausência de lenalidomida ou Composto 1 ou controle de veículo como descrito acima. As células alvo K562.CD19 foram transduzidas com *NucLight Red* para permitir a sua localização por microscopia. A atividade citolítica foi avaliada através da medição da perda de células alvo viáveis durante um período de cinco dias, como determinado pelo sinal fluorescente vermelho (usando o IncuCyte® Live Cell Analysis System, Esten Bioscience). Um índice de extermínio foi determinado usando a fórmula:  $1/AUC$ , e o índice de extermínio foi normalizado para células CAR<sup>+</sup> cocultivadas com células alvo que haviam sido incubadas com um controle de veículo (definido em 100% de extermínio).

[00722] Como mostrado na FIG. 33, Composto 1 e lenalidomida geralmente tiveram um efeito limitado na função citolítica das células T expressando CAR anti-CD19. Quando o CAR foi estimulado na presença de antígeno maior, tal como presente em coculturas contendo uma relação de 2.5:1 E:T, Composto 1 e lenalidomida reduziram ligeiramente a atividade citolítica de células expressando CAR anti-CD19 para alguns doadores. Quando o CAR foi estimulado na presença de

antígeno menor, como presente em coculturas contendo uma relação de 5:1 E:T, um ligeiro, porém consistente aumento na atividade citolítica de células T expressando CAR anti-CD19 contra células alvo foi observado a partir de células que haviam sido incubadas na presença de altas concentrações de Composto 1 ou lenalidomida para o Doador 2 enquanto nenhum efeito foi observado com os Doadores 1 e 3.

#### C. Expressão dos marcadores de superfície celular

[00723] Para avaliar a expressão de superfície de vários marcadores de células T, as células alvo  $1 \times 10^5$  K562.CD19 foram incubadas com células CAR<sup>+</sup>anti-CD19 (células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> combinadas em uma relação 1:1) em uma relação E:T de 5:1 ou 2,5:1 na presença ou ausência de lenalidomida ou Composto 1 ou controle de veículo, como descrito acima. Após 24 horas, as células T expressando CAR foram manchadas quanto ao CD3, CD4, CD8 e o marcador substituto quanto à expressão de CAR, e também quanto aos seguintes marcadores de superfície: CD69, CD107a, PD-1, CD25, CD62L, CCR7, CD45RO, CD27 e LAG3.

[00724] Os níveis de expressão de marcadores selecionados em células T expressando CAR CD4<sup>+</sup> e células T expressando CAR CD8<sup>+</sup> foram alterados, geralmente menos de duas vezes, em relação às coculturas de controle de veículo. As alterações na expressão do marcador na presença de lenalidomida ou Composto 1 foram dependentes do doador, embora para os marcadores de memória avaliados quanto à expressão do CD45RO tenha aumentado e do CD27 tenha diminuído em todos os doadores e as relações E:T. A expressão de CD27 foi desregulada de forma dependente da concentração em resposta ao Composto 1 ou lenalidomida. A expressão de CD69 e LAG3 foi aumentada de forma dependente da concentração para células derivadas do doador 3 após incubação com o Composto 1, porém não após incubação das mesmas células CAR<sup>+</sup> derivadas do doador com lenali-

domida. A expressão dos outros marcadores de ativação avaliados manteve-se inalterada nos doadores tratados com lenalidomida ou Composto 1. Os resultados são consistentes com uma observação de que o Composto 1 e a lenalidomida têm o potencial de modular intrinsecamente os fenótipos de ativação precoce das células T expressando CAR.

Exemplo 16 - Avaliação da produção de citocinas e da expressão do marcador de superfície de células T expressando CAR após estimulação anti-idiotípica de anticorpos na presença do composto 1 ou lenalidomida

[00725] Estudos similares aos descritos no Exemplo 15 foram realizados para avaliar a produção de citocinas e a expressão do marcador de superfície após estimulação dependente de CAR de células T expressando CAR na presença ou 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona (Composto 1) ou lenalidomida, exceto que células expressando CAR foram estimuladas com um anticorpo anti-idiotípico. O anticorpo anti-idiotípico foi usado para simular níveis variáveis de estimulação em coculturas, o que geralmente não é possível com células alvo K562.CD19 porque a expressão do antígeno é uniformemente elevada em células K562.CD19.

[00726] As composições das células T expressando CAR anti-CD19 T (contendo células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> combinadas em uma relação de 1:1) foram geradas substancialmente como descrito no Exemplo 14. Aproximadamente  $1 \times 10^5$  células expressando CAR foram adicionadas às cavidades de uma placa de 96 cavidades que tinha sido pré-revestida com um anticorpo anti-idiotípico específico para o scFv das células T expressando CAR anti-CD19 em concentrações de 0, 0,3, 3 e 30 g/ml. As células foram cultivadas na presença do Composto 1 (em concentrações de 100 nM e 1000 nM), lenalidomida (em concentrações de 500 nM e 5000 nM), ou um controle de veículo a 37 °C,

CO<sub>2</sub> a 5%. A expressão de citocinas e a expressão de marcadores de superfície de células T expressando CAR anti-CD19 T foram avaliadas.

#### A. Produção de citocinas

[00727] Os sobrenadantes das culturas estimuladas foram colhidos após 24 horas e analisados para produção de citocinas. Nas **FIGS. 34A e 34B**, o nível de produção de citocinas na ausência do Composto 1 ou lenalidomida (controle do veículo) é indicado por uma linha tracejada. Como mostrado nas **FIGS. 34A e 34B**, a produção de IFN- $\gamma$ , IL-2 e TNF- $\alpha$  foram aumentadas em relação ao controle de veículo após o tratamento com Composto 1 ou lenalidomida, respectivamente. O aumento foi particularmente evidente em um nível intermediário de estimulação com 3g/mL de anticorpo anti-idiotípico.

#### B. Expressão dos marcadores de superfície das células T

[00728] A expressão do marcador de superfície em células T expressando CAR anti-CD19 foi avaliada após 4 dias em cultura com várias concentrações do anticorpo anti-idiotípico na presença do Composto 1 ou lenalidomida. As células T expressando CAR foram manchadas quanto ao CD3, CD4, CD8 e o marcador substituto quanto à expressão de CAR, e também quanto aos seguintes marcadores: CD25, PD-1 e CD69.

[00729] As **FIGs. 35A e 35B** mostram a expressão do marcador de superfície celular em células expressando CAR CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>, respectivamente, em células estimuladas na presença do Composto 1, e **FIGs. 36A e 36B** mostram a expressão do marcador de superfície celular em células expressando CAR CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>, respectivamente, em células estimuladas na presença de lenalidomida. Nas figuras, o nível de expressão do marcador de superfície na ausência do Composto 1 ou lenalidomida (controle de veículo) é indicado pela linha tracejada. Como mostrado, um aumento nos marcadores de superfície CD25 e

CD69 foi observado nas células T expressando CAR CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> na presença do Composto 1 ou lenalidomida em algumas células expressando CAR derivadas de doadores e dependendo da quantidade de estimulação através de CAR. A expressão de PD-1 também foi aumentada na presença de Composto 1 ou lenalidomida em células geradas de pelo menos um doador, embora, os níveis de PD-1 tenham permanecido inalterados ou diminuído em células geradas de outros doadores. O aumento da expressão do marcador substituto quanto à expressão CAR foi observado após a adição do Composto 1 ou lenalidomida em uma dose subideal do anticorpo anti-idiotípico de 0,3g/ml, porém em concentrações mais elevadas da expressão de anticorpos anti-idiotípicos do marcador substituto foi inalterada ou diminuída.

Exemplo 17 - Avaliação da expressão do marcador de superfície e do potencial de expansão das células T expressando CAR após estimulação em série na presença do composto 1 ou da lenalidomida

[00730] Estimulação serial de células T expressando CAR anti-CD19 foi realizada para avaliar os efeitos a curto e longo prazo de 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona (Composto 1) e lenalidomida. As composições de células T expressando CAR anti-CD19 (contendo células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> combinadas em uma relação de 1:1) foram geradas substancialmente como descrito no Exemplo 14. As combinações de células T CAR<sup>+</sup> geradas foram adicionadas a 1x10<sup>5</sup> células por cavidade a uma placa de 96 cavidades e incubadas com células K562.CD19 alvo positivas para vermelho fluorescente irradiado na presença de Composto 1, lenalidomida, ou um controle de veículo a 37°C, CO<sub>2</sub> a 5% em dois diferentes relações de efetora-alvo (E:T) de 10:1 de 2,5:1. A incubação foi realizada na presença do Composto 1 (10, 100 ou 500 nM), lenalidomida (100 ou 1000 nM) ou controle do veículo. A cada 3-4 dias (início de cada nova rodada), as células eram contadas. Células então foram colhidas e resse-

meadas em  $1 \times 10^5$  células expressando CAR anti-CD19 com meios frescos, recentemente adicionado o Composto 1 ou lenalidomida na mesma concentração, e células alvo K562.CD19 recém irradiadas. Isto foi repetido durante 7 ciclos de estimulação em série, e as células foram avaliadas em vários momentos quanto à expressão do marcador de superfície, atividade citolítica e potencial de expansão.

#### A. Expressão dos marcadores de superfície

[00731] A expressão de marcadores de superfície selecionados foi avaliada nas células no dia 4 (ou seja, 4 dias após a primeira estimulação) e dia 28 (ou seja, 4 dias após a sétima estimulação). Especificamente, as células colhidas foram analisadas por citometria de fluxo quanto ao CD3, CD4, CD8 e ao marcador substituto quanto à expressão de CAR, e também quanto aos seguintes marcadores de superfície: CD69, CD107a, PD-1, CD25, CD62L, CCR7, CD45RO, CD27 e LAG3.

[00732] Foram observadas alterações nos marcadores de superfície avaliados em células expressando CAR CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> após incubação com o Composto 1 e lenalidomida em todos os doadores e relações de E:T, embora as alterações de expressão tenham sido mais pronunciadas no dia 28 em relação ao dia 4. No dia 4, CD25 e LAG3 foram super-reguladas em todos os três doadores em resposta ao tratamento com o Composto 1 ou lenalidomida, com uma maior diminuição observada nas células a partir do dia 28 em comparação com o dia 4. O CCR7 foi geralmente diminuído no dia 28 em todos os grupos tratados, que é consistente com a possibilidade de que a incubação com células alvo na presença do Composto 1 ou lenalidomida pode ter regulado ao produto de células T para um fenótipo associado a um início efetor terminalmente diferenciado. A PD-1 foi sub-regulada em algum grau em todos os doadores e em ambos as relações de E:T nas células no dia 4 e dia 28 após o tratamento com Composto 1 ou lenalidomida,

com uma sub-regulação maior ocorrendo nas células no dia 28. Como mostrado nas **FIGs. 37A e 37B**, a expressão de CD28 foi diminuída de maneira dependente de dose na presença de concentrações crescentes de Composto 1 e lenalidomida, respectivamente, em ambas as células T expressando CAR CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> dos três doadores. Juntas, as mudanças nos marcadores de superfície no dia 28 comparadas ao dia 4 são consistentes com a capacidade do Composto 1 e lenalidomida de impactar as células T CAR<sup>+</sup> após tratamento a longo prazo.

#### B. Função citolítica

[00733] No dia 24 após a estimulação serial, a atividade citolítica das células T expressando CAR anti-CD19 de DC19 foi avaliada geralmente como descrito no Exemplo 15B. Como mostrado na **FIG. 38**, o tratamento a longo prazo com Composto 1 e lenalidomida foi ambos capaz de aumentar a atividade citolítica das células T expressando CAR anti-CD19.

#### C. Expansão

[00734] Para avaliar o efeito do Composto 1 e da lenalidomida na expansão potencial das células T CAR<sup>+</sup>, os números de células das células T expressando CAR anti-CD19 foram contados após cada ciclo de estimulação e as duplicações de células foram calculadas.

[00735] Como mostrado na **FIG. 39A**, na relação 2.5:1 E:T, células T expressando CAR anti-CD19 tratadas com Composto 1 em concentrações de 500nM tiveram uma contagem de células comparável como o grupo de controle tratado até 3-4 ciclos de estimulação para todos os doadores. Resultados similares foram observados na relação 10:1 de E:T para dois doadores. Na concentração 500 nM mais elevada do Composto 1, o número de duplicações de células CAR<sup>+</sup> em ciclos subsequentes foi menor do que os grupos de controle não tratados. Ao contrário, após 24 dias de tratamento com o Composto 1 em concentrações mais baixas do que 10 nM e 100 nM, as contagens de células

das células T expressando CAR anti-CD19 foram maiores do que os controles não tratados para dois em cada três doadores (FIG. 39B).

[00736] Como mostrado em FIG. 40A, na relação 2.5:1 E:T em células tratadas com lenalidomida a 1000 nM, duplicações de células mais baixas foram observadas apenas em dois dos doadores e não até os últimos ciclos de estimulação. Este resultado indica algumas diferenças na atividade do Composto 1 e lenalidomida, visto que que Composto 1 a 500 nM diminuiu a contagem de células em todos os doadores nesta relação E:T. Na relação 10:1 de E:T, duplicações de células diminuídas foram observadas após 3 a 4 ciclos de estimulação na presença de lenalidomida a 1000 nM por células geradas de todos os doadores (FIG. 40A). Como mostrado na FIG. 40B, o tratamento com lenalidomida em uma concentração mais baixa de 100 nM aumentou a contagem de células T CAR<sup>+</sup> para dois em cada três doadores.

[00737] O resultado é consistente com uma observação de que o tratamento prolongado de células T com Composto 1 ou lenalidomida em concentrações fisiologicamente relevantes pode aumentar o potencial de proliferação a longo prazo de células T expressando CAR, enquanto concentrações mais altas podem ser prejudiciais ao desempenho a longo prazo.

Exemplo 18 Avaliação da eficácia antitumoral das células T expressando CAR em combinação com o composto 1 *in vivo*

[00738] A eficácia antitumoral das células T expressando CAR em combinação com o Composto 1 foi avaliada através da monitorização de tumores em um modelo de xenoenxerto tumoral. As composições de células T expressando CAR anti-CD19, contendo células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> combinadas em uma relação de 1:1, foram geradas substancialmente como descrito no Exemplo 1. As composições de células T foram geradas a partir de três doadores diferentes.



[00739] Camundongos NOD.Cg.Prkdc<sup>scid</sup>IL2rg<sup>tm1Wjl</sup>/SzJ (NSG) foram injetados intravenosamente (i.v.) com células tumorais de linfoma Raji (uma linhagem celular de linfócito B humano imortalizado que expressa CD19) que foram transfectadas com vagalume luciferase (Raji-ffluc). O enxerto tumoral foi deixado ocorrer durante 6 dias e verificado por meio de imagens de bioluminescência. No sétimo dia, os camundongos não receberam tratamento, ou uma única injeção intravenosa (i.v.) de células expressando CAR anti-CD19 em dose baixa ( $0,5 \times 10^6$  células) ou em dose elevada ( $1,0 \times 10^6$  células). Em um grupo de estudo (denominado "Concorrente"), foram administrados aos camundongos 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona (Composto 1) na dose de 0,3 mg/kg ou controle de veículo por injeção intraperitoneal um dia antes da administração das células expressando CAR (dia 6), que foi mantida uma vez por dia durante o curso do estudo. Em um segundo grupo (denominado "Retardado"), foi administrado aos camundongos um controle de veículo ou 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona (Composto 1) na dose de 0,3 mg/kg via injeção intraperitoneal a partir do 14º dia, que foi após o pico de expansão das células T expressando CAR, e a administração foi continuada uma vez por dia durante o estudo. A carga tumoral foi avaliada por bioluminescência a cada 10 dias. Para imagens de bioluminescência, os camundongos receberam injeções intraperitoneais (p.i.) de substrato de luciferina (CaliperLife Sciences, Hopkinton, MA) ressuspenso em PBS ( $15 \mu\text{g/g}$  de peso corporal). A radiância média ( $\text{p/s/cm}^2/\text{sr}$ ) foi determinada.

[00740] Neste estudo, a combinação com o Composto 1 foi observada reduzir a carga tumoral e melhorar os dados de sobrevivência tanto no grupo "Concorrente" quanto no grupo "Retardado", em comparação com a administração de células expressando CAR sozinha.

[00741] A presente invenção não se destina a ser limitada em seu

escopo às modalidades particulares descritas, que são fornecidas, por exemplo, para ilustrar vários aspectos da invenção. Várias modificações nas composições e métodos descritos tornar-se-ão evidentes a partir da descrição e dos ensinamentos contidos aqui. Tais variações podem ser praticadas sem afastar-se do real escopo e espírito da invenção e são destinadas incluir-se no escopo da presente invenção.

## SEQUÊNCIAS

SEQ ID NO.	SEQUÊNCIA	DESCRIÇÃO
1	ESKYGPPCPPCP	Espaçador (IgG4dobradiça) (aa) Homo sapiens
2	GAATCTAAGTACGGACCGCCCTGCCCCCTTGCCCT	Espaçador (IgG4dobradiça) (nt) Homo sapiens
3	ESKYGPPCPPCPGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK	Espaçador de dobradiça-CH3 Homo sapiens
4	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ FNSTYRVVSVLTVHLQDVLNNGKEYCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK	Espaçador de dobradiça-CH2-CH3 Homo sapiens
5	RWPESPKAQASSVPTAQPAEGSLAKATTAPATTRNTGRGGEEKKKEKEKEEQEERETKTPECPSTHTQPLGVYLLTP AVQDLWLRLDKATFTCFVVGSDLKDAHLTWEVAGKVPTGGVEEGLLERHSNGSQSQHSRLTLPRSL WNAGTSVTCTLNHPSLPPQRLMALREPAQAQPVKLSLNLASSDPPEAASWLLCEVSGFSPPNILLMWLEDQREVNTS GFAPARPPPPQPGSTTFWAWSVLRVPAPPSPQPATYTCVSHEDSRTLLNASRSLEVSIVTDH	IgD-dobradiça-Fc Homo sapiens
6	LEGGGEGRGSLLTCGDVEENPGPR	T2A artificial
7	RKVCNGIGIGEFKDSLSINATNIKHFKNCTISISGDLHILPVAFRGDSFHTHTPLDPQELDILKTVKEITGFLLIQAWPENRT DLHAFENLEIIRGRKQHGQFSLAVVSLNITSLGLRSLKEISDGDVHISGNKNLCYANTINWKKLFGTSGQKTKIISNRGEN SCKATGQVCHALCSPEGCWGPEPRDCVSCRNVSRGECVDKCNLLEGEPRFVENSECICQCHPECLPQAMNITCTG RGPDNCIQCAHYIDGPHCVKTCAPAGVMGENNTLVWKYADAGHVCHLCHPNCTYGCTGPGLEGCPNGPKIPSIATGM VGALLLLLVVALGIGLFM	tEGFR artificial
8	FWVLVVVGGLVACYSLLVTVAFIIFWV	CD28 (aminoácidos 153-179 de Acesso nº P10747) Homo sapiens
9	IEVMYPPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFLPGPSKP FWVLVVVGGLVACYSLLVTVAFIIFWV	CD28 (aminoácidos 114-179 de Acesso nº P10747) Homo sapiens
10	RSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS	CD28 (aminoácidos 180-220 de

382/402

SEQ ID NO.	SEQUÊNCIA	DESCRIÇÃO
		P10747) Homo sapiens
11	RSKRSRGGHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS	CD28 (LL a GG) Homo sapiens
12	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL	4-1BB (aminoácidos 214-255 de Q07011.1) Homo sapiens
13	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYN ELQKDKMAEA YSEIGMKGER RRGKGHDGLY QGLSTATKDTYDALHMQALP PR	CD3 zeta Homo sapiens
14	RVKFSRSAEPPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYN ELQKDKMAEA YSEIGMKGER RRGKGHDGLY QGLSTATKDTYDALHMQALP PR	CD3 zeta Homo sapiens
15	RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYN ELQKDKMAEA YSEIGMKGER RRGKGHDGLY QGLSTATKDTYDALHMQALP PR	CD3 zeta Homo sapiens
16	PGGG-(SGGGG)5-P- em que P é prolina, G é glicina e S é serina	Ligador
17	GSADDAKKDAKKDGKS	Ligador
18	MLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRCSSNTPPLTCQRYCNASVTNSVKGTNA	Domínio extracelular de BCMA humano (GenBank No. NP_001183.2)
19	GGGGS	Sequência de ligador
20	PKSSDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Fc de IgG1 umana modificada
21	MPLLLLLPLWAGALA	Peptídeo de sinal CD33
22	MPLLLLLPLWAGALAMLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRCSSNTPPLTCQRYCNASVTNSVKGTNAGGGGSPK SSDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Construção de BCMA-Fc
23	EGRGSLLTCGDVEENPGP	T2A
24	GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP	P2A

SEQ ID NO.	SEQUÊNCIA	DESCRIÇÃO
25	ATNFSLLKQAGDVEENPGP	P2A
26	QCTNYALLKLAGDVESNPGP	E2A
27	VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP	F2A
28	RKVCNGIGIGEFKDSLSINATNIKHFKNCTISISGDLHILPVAFRGDSFTHTPPLDPQELDILKTVKEITGFLLIQAWPENRTDLHAFENLEIIRGRTKQHGQFSLAVVSLNITSLGLRSLKEISDGDVHISGNKNLCYANTINWKKLFGTSGQKTKIISNRGENSCKATGQVCHALCSPEGCWGPEPRDCVSCRNVSRGRECVDKCNLLEGEPRFVENSECIQCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIQCAHYIDGPHCVKTCPAGVMGENNTLVWKYADAGHVCHLCHPNCTYGCTGPGLEGCPNTPGKIPSIATGMVGALLLLLVVALGIGLFM	tEGFR artificial
29	ESKYGPPCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK	Espaçador de Dobradiça-CH2-CH3 Homo sapiens
30	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYFTDYSINWVKRAPGKGLKWMGWINTETREPAYAYDFRGRFAFSLETSASTAYLQINNLYEDTATYFCALDYSYAMDYWGQGSTVTVSS	Anti-BCMA Variável pesada (VH)
31	DIVLTQSPPSLAMSGLKRAISCRASESVTILGSHLIHWYQQKPGQPPTLLIQLASNVQTGVPARFSGSGSRTDFTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSRITPRTFGGGTKLEIK	Anti-BCMA variável leve (VL)
32	QIQLVQSGPDLKKPGETVKLSCKASGYFTFTNFGMNWVKQAPGKGFKWMWINTYTGESYFADDFKGRFAFSVETSAITAYLQINNLTEDTATYFCARGEIYYGYDGGFAYWGQGTSLTVSA	Anti-BCMA variável pesada (VH)
33	DVVMQTQSHRFMSTSVGDRVSITCRASQDVNTAVSWYQQKPGQSPKLLIFSASYRYTGVPDRFTGSGSGADFTLTISSVQAEDLAVYYCQQHYSTPWTFGGGTCLDIK	Anti-BCMA variável leve (VL)
34	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIPGDSSTRYSPSFQGHVTISADKSISTAYLQWSSSLKASDTAMYCYARYSGSFDNWGQGTSLTVSS	Anti-BCMA variável pesada (VH)
35	SYELTQPPSASGTPGQRVTMSCSGTSSNIGSHSVNWWYQQLPGTAPKLLIYTNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDGSNLGLVFGGGTKLTVLG	Anti-BCMA variável leve (VL)
36	EVQLVQSGAEMKKPGASLKLSCASGYTFIDYYVYWMRQAPGGGLESMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTEDTSTISLAYMELSLRSDDTAMYCARSGQRDGYMDYWGQGTSLTVSS	Anti-BCMA variável pesada (VH)
37	QSALTQPASVSASPGQSIASCTGTSSDVGWYQQHPGKAPKLMIEDSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDADYYCSSNTRSSTLVFGGGTKLTVLG	Anti-BCMA variável leve (VL)
38	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYAIWVRQAPGGGLEWMGRIPILGIANIYAQKFQGRVTMTEDTSTDITAYMELSSLRSEDTAVYYCARSGYSKSIYSYMDYWGQGTSLTVSS	Anti-BCMA variável pesada (VH)

SEQ ID NO.	SEQUÊNCIA	DESCRIÇÃO
39	LPVLTQPPSTSGTPGQRVTVSCSGSSSNIGSNVFWYQQLPGTAPKLVIRNNQRPSGVPDRFSVSKSGTSASLAISG LRSEDEADYYCAAWDDSLSGYVFGTGKVTVLG	Anti-BCMA variável leve (VL)
40	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAIWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGTANYAQKFQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDYAVYYCARSGYGSYRWEDSWGQGTLTVSS	Anti-BCMA variável pesada (VH)
41	QAVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNVFWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISG LRSEDEADYYCAAWDDSLSASYVFGTGKVTVLG	Anti-BCMA variável leve (VL)
42	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTDYYMHWVRQAPGQRLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQDRITVTRDTS SNTGYMELTRLRSDDTAVYYCARSPYSGVLDKWGQGTLTVSS	Anti-BCMA variável pesada (VH)
43	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGFDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAIT GLQAEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGKVTVLG	Anti-BCMA variável leve (VL)
44	DYGVS	FMC63 CDR H1
45	VIWGSETTYNSALKS	FMC63 CDR H2
46	YAMDYWG	FMC63 CDR H3
47	HYYYGGSYAMDY	FMC63 HC-CDR3
48	RASQDISKYLN	FMC63 CDR L1
49	SRLHSGV	FMC63 CDR L2
50	HTSRLHS	FMC63 LC-CDR2
51	GNTLPYTFG	FMC63 CDR L3
52	QQGNTLPYT	FMC63 LC-CDR3
53	EVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYNSALKSRLLTIKDNSKSQV FLKMNSLQTDDTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGSTVTSS	FMC63 VH
54	DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLE QEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLEIT	FMC63 VL
55	DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLE QEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLEITGSTSGSGKPGSGEGSTKGEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDY GVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYNSALKSRLLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWG GQGSTVTSS	FMC63 scFv
56	KASQNVGTNVA	SJ25C1 CDR L1

SEQ ID NO.	SEQUÊNCIA	DESCRIÇÃO
57	SATYRNS	SJ25C1 CDR L2
58	QQYNRYPYT	SJ25C1 CDR L3
59	SYWMN	SJ25C1 CDR H1
60	QIYPGDGDTNYNGKFKG	SJ25C1 CDR H2
61	KTISSVDFYFDY	SJ25C1 CDR H3
62	EVKLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWKQRPGQGLEWIGQIYPGDGDTNYNGKFKGQATLTADKSS STAYMQLSGLTSEDSAVYFCARKTISSVDFYFDYWGQGTTVTVSS	SJ25C1 VH
63	DIELTQSPKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNVAWYQQKPGQSPKPLIYSATYRNSGVPDRFTGSGSGTDFTLTITNV QSKDLADYFCQQYNRYPYTSGGGTKLEIKR	SJ25C1 VL
64	GGGSGGGSGGGGS	Ligador
65	EVKLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWKQRPGQGLEWIGQIYPGDGDTNYNGKFKGQATLTADKSS STAYMQLSGLTSEDSAVYFCARKTISSVDFYFDYWGQGTTVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGSDIELTQSPKFMSTSV GDRVSVTCKASQNVGTNVAWYQQKPGQSPKPLIYSATYRNSGVPDRFTGSGSGTDFTLTITNVQSKDLADYFCQQYN RYPYTSGGGKLEIKR	SJ25C1 scFv
66	HYYYGGSYAMDY	FMC63 HC-CDR3
67	HTSRLHS	FMC63 LC-CDR2
68	QQGNTLPYT	FMC63 LC-CDR3
69	gacatccagatgacccagaccacctccagcctgagcgcagcctggcgaccgggtgaccatcagctgccgggcccagccaggacatcagcaagtacctgaact ggtatcagcagaagcccgacggcaccgtcaagctgctgatctaccacaccagccggctgcacagcggcgtgccagccggttagcggcagcggctccggcacc gactacagcctgacatctccaacctggaacaggaagatatcgccactactttgcccagcagggaacacactgcctacaccttggcggcggaacaaagctgg aaatcacccggcagcacctccggcagcggcaagcctggcagcggcgagggcagcaccaagggcgagggtgaagctgcaggaaagcggccctggcctggtggcc cccagccagagcctgagcgtgacctgcaccgtgagcggcgtgagcctgcccactacggcgtgagctggatccggcagccccccaggaagggcctggaatggct gggcgctgatctggggcagcgagaccacctactacaacagcgccctgaagagccggctgaccatcatcaaggacaacagcaagagccaggtgttctgaagatga acagcctgcagaccgacgacccgcatctactactcgccaagcactactactacggcggcagctacgccaaggactactggggccagggcaccagcgtgacc gtgagcagc	Sequence codificando scFv
70	GSTSGSGKPGSGEGSTKG	Ligador
71	GGGS	Ligador
72	GGGSGGGSGGGGS	Ligador

SEQ ID NO.	SEQUÊNCIA	DESCRIÇÃO
73	GSTSGSGKPGSGEGSTKG	Ligador
74	SRGGGSGGGGSGGGGSLEMA	Ligador
75	MALPVTALLPLALLHAARP	peptídeo de sinal CD8a
76	METDTLLLWVLLLVPGSTG	peptídeo de sinal
77	EVQLLESGGGLVQPGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWWSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAEMGAVFDIWGQGTMTVSS	Anti-BCMA variável pesada (VH)
78	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSRYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELP EDFAVYYCQQRISWPFTFGGGTKVEIK	Anti-BCMA variável leve (VL)
79	QVQLVESGGGVVQPGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGTYLGGLWYFDLWGRGTLTVSS	Anti-BCMA variável pesada (VH)
80	DIVMTQSPSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHNSGNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDFRSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCMQGLGLPLTFGGGTKVEIK	Anti-BCMA variável leve (VL)
81	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPGGGSTSYAQKFQGRVTMTDR TS TSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARESWPMDVWGQGTITVTVSS	Anti-BCMA variável pesada (VH)
82	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGA STRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSE LQ SEDFAVYYCQYAAYPFTFGGGTKVEIK	Anti-BCMA variável leve (VL)
83	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWRQPPGKGLEWIGSISYSGSTYYNPSLKSRTISVDT SKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCARGRGYATSLAFDIWGQGTMTVTVSS	Anti-BCMA variável pesada (VH)
84	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSE LP EDFAVYYCQQRHVWPPTFGGGTKVEIK	Anti-BCMA variável leve (VL)
85	EVQLVESGGGLVQPGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSTISSSSSTIYADSVKGRFTISRDN AKN SLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSQEHLIFDYWGQGTITVTVSS	Anti-BCMA variável pesada (VH)
86	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSRYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSE LP EDFAVYYCQQRFYYPWTFGGGTKVEIK	Anti-BCMA variável leve (VL)
87	QVQLVESGGGVVQPGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTDFWGSPPGLDYWGQGTITVTVSS	Anti-BCMA variável pesada (VH)
88	DIQLTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGSSWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSE LQ PEDFATYYCQIYTFPFTFGGGTKVEIK	Anti-BCMA variável leve (VL)



SEQ ID NO.	SEQUÊNCIA	DESCRIÇÃO
89	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAIWVRQAPGQGLEWMGGIIPFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARTPEYSSSIWHYYYGMDVWGQGTITVTVSS	Anti-BCMA variável pesada (VH)
90	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQFAHTPFTFGGGTKVEIK	Anti-BCMA variável leve (VL)
91	QVQLVESGGGVVQPGRLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRRAEDTAVYYCVKGPLQEPPYDYGMVWGQGTITVTVSS	Anti-BCMA variável pesada (VH)
92	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLIYSASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQHHVWPLTFGGGKVEIK	Anti-BCMA variável leve (VL)
93	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAIWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGIANYAQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGGYYSHDMWSEDWGQGTITVTVSS	Anti-BCMA variável pesada (VH)
94	LPVLTQPPSASGTPGQRTVITSCSGRSSNIGSNSVNWYRQLPGAAPKLLIYSNNQRPPGVPVRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEATYYCATWDDNLNVHYVFGTGKVTVLG	Anti-BCMA variável leve (VL)
95	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFDYSINWVRQAPGQGLEWMGWINTETREPAYAYDFRGRFVFLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARDYSYAMDYWGQGTITVTVSS	Anti-BCMA variável pesada (VH)
96	DIVLTQSPASLAVSLGERATINCRASESVSVIGAHLIHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLETGVPARFSGSGSGTDFTLTISLQAEDAAIYYCLQSRIFPRTFGGQTKLEIK	Anti-BCMA variável leve (VL)
97	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNARNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTITVTVSS	Anti-BCMA variável pesada (VH)
98	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQSYSTPYTFGGGKVEIK	Anti-BCMA variável leve (VL)
99	QVQLVESGGGLVQPGRLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLGWVSGISRSGENTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRDEDTAVYYCARSPAHYYGGMDVWGQGTITVTVSS	Anti-BCMA variável pesada (VH)
100	DIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSISSFLAWYQQKPGQAPRLIYGASRRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDSAVYYCQQYHSSPSWTFGGGKLEIK	Anti-BCMA variável leve (VL)
101	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNARNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTITVTVSS	Anti-BCMA variável pesada (VH)
102	DIRLTQSPSPLSASVGDRTITCQASEDINKFLNWYHQTGKAPKLLIYDASTLQTGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLQPEDIGTYCQQYESLPLTFGGGKVEIK	Anti-BCMA variável leve (VL)
103	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNARN	Anti-BCMA variável pesada (VH)

SEQ ID NO.	SEQUÊNCIA	DESCRIÇÃO
	TLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSS	
104	EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSI GSSSLAWYQQKPGQAPRLLMYGASSRASGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYAGSPPTFGQGKVEIK	Anti-BCMA variável leve (VL)
105	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFRHYSMNWVKQAPGKGLKWMGRINTESGVPIYADDFKGRFAFSVETSAST AYLVINNLDKEDTASYFCSNDYLYSLDFWGGGTALT VSS	Anti-BCMA variável pesada (VH)
106	DIVLTQSPPSLAMS LGKRATISCRASESVTILGSHLIYWYQQKPGQPPTLLIQLASNVQTGVPARFSGSGSRTDFTLTID PVEEDDVAVYYCLQSRTPRTFGGGTKLEIK	Anti-BCMA variável leve (VL)
107	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTHYSMNWVKQAPGKGLKWMGRINTETGEPLYADDFKGRFAFSLETSAST AYLVINNLDKEDTATFFCSNDYLYSCDYWGQGTTLTVSS	Anti-BCMA variável pesada (VH)
108	DIVLTQSPASLAMS LGKRATISCRASESVSVIGAHLIHWYQQKPGQPPLL IYLASNLETGVPARFSGSGSGTDFTLTID PVEEDDVAIYSCLSRIFPRTFGGGTKLEIK	Anti-BCMA variável leve (VL)
109	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFPDYINWVRQAPGQGLEWMGW IYFASGNSEYNQKFTGRVTMTRDTSI NTAYMELSSLTSED TAVYFCASLYDYDWYFDVWGQGTMTVTVSS	Anti-BCMA variável pesada (VH)
110	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVS NRFSGV PDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGIYYCSQSSIYPWTFGQGKLEIK	Anti-BCMA variável leve (VL)
111	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFPDYINWVRQAPGQGLEWMGW IYFASGNSEYNQKFTGRVTMTRDTS SSTAYMELSSLRSED TAVYFCASLYDYDWYFDVWGQGTMTVTVSS	Anti-BCMA variável pesada (VH)
112	DIVMTQTPLSLSVTPGEPASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVS NRFSGV PDRFSGSGSGADFTL KISRVEAEDVGVIYCAETSHVPWTFGQGKLEIK	Anti-BCMA variável leve (VL)
113	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCEASGFTLDYYAIGWFRQAPGKEREGVICIS RSDGSTYYADSVKGRFTISRDNAKKT VYLQMISLKPEDTAAYYCAAGADCSGYLRDYEFRGQGTQVTVSS	Anti-BCMA sdAb
114	IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSP LFPGPSKP	Espaçador de CD28
115	IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCN	CD8a TM
116	LDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSP LFPGPSKP	espaçador de CD28 (truncado)
117	PTTTPAPRPPTPAPT IASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD	CD8a dobradiça
118	TTTPAPRPPTPAPT IASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD	CD8a dobradiça
119	FVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPT IASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD	CD8a dobradiça
120	DTGLYICKVELMYPPPYLG I GNGTQIYVIDPEPCPDSD	CTLA4 dobradiça

SEQ ID NO.	SEQUÊNCIA	DESCRIÇÃO
121	FLLWILAAVSSGLFFYSFLLTAVS	CTLA4 TM
122	QIKESLRAELRVTERRAEVPTAHPSPSPRPAGQFQTLV	PD-1 dobradiça
123	VGVVGGLLGSLVLLVWVLAVI	PD-1 TM
124	GLAVSTISSFFPPGYQ	FcyRIIIa dobradiça
125	EPKSPDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMiARTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	IgG1 dobradiça
126	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWWSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAEMGAVFDIWGQGTMTVTVSSGSTSGSGKPGSGEGSTKGEIVLTQSPATLSLSPGE RATLSCRASQSVSRYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRTGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQRISWP FTFGGGTKVEIKRAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLPFGPSKPFWVLVVVGGLVACYSLLVTVAFIIFWVRSKR LHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGR DPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	anti-BCMA CAR
127	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSRYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRTGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELE EDFAVYYCQQRISWPFITFGGGTKVEIKRGSTSGSGKPGSGEGSTKGEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YAMSWVRQAPGKGLEWWSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAEMGAVFDI WGQGTMTVTVSSAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLPFGPSKPFWVLVVVGGLVACYSLLVTVAFIIFWVRSKR HSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRD PEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	anti-BCMA CAR
128	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKKYYADSVKGRFTISRDN NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGTYLGGLWYFDLWGRGTLTVTVSSGSTSGSGKPGSGEGSTKGDIVMTQSPLSLP VTPGEPASISCRSSQSLHNSGYNLYDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCMQGLGLPLTFGGGTKEIKRAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLPFGPSKPFWVLVVVGGLVACYSLLVTVAFI FWVRSKRSLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREE YDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR	anti-BCMA CAR
129	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHNSGYNLYDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCMQGLGLPLTFGGGTKEIKRGSTSGSGKPGSGEGSTKGQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCA ASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARD	anti-BCMA CAR

SEQ ID NO.	SEQUÊNCIA	DESCRIÇÃO
	GTYLGGWLWYFDLWGRGTLTVSSAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFWWLVVVGGLACYSLLVTVAFI IFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREE YDVLDKRRGRDPGEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR	
130	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVWRQAPGQGLEWMGIINPGGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTS TSTVYMESSLRSEDVAVYYCARESWPMDVWGQGTITVTVSSGSTSGSGKPGSGEGSTKGEIVMTQSPATLSVSPGE RATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQYAAYP TFGGGTKEIKRAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFWWLVVVGGLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLL HSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRD PEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMALPPR	anti-BCMA CAR
131	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQ SEDFAVYYCQYAAYPTEGGGTKEIKRGSTSGSGKPGSGEGSTKQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT SYMHVWRQAPGQGLEWMGIINPGGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCARESWPMDV WGQGTITVTVSSAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFWWLVVVGGLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLL HSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRD PEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMALPPR	anti-BCMA CAR
132	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWIRQPPGKGLEWIGSISYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCARGRGYATSLAFDIWGQGTMTVTVSSGSTSGSGKPGSGEGSTKGEIVLTQSPATLSLSPGE RATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRTGIPARFSGSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQQRHVWP PTFGGGTKVEIKRAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFWWLVVVGGLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRL LHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGR DPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMALPPR	anti-BCMA CAR
133	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRTGIPARFSGSGSGTDFTLTISLLEP EDFAVYYCQQRHVWPPTFGGGTKVEIKRGSTSGSGKPGSGEGSTKQQLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSIS SSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSISYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGRGYATSLAF DIWGQGTMTVTVSSAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFWWLVVVGGLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSR LLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRG RDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMALPPR	anti-BCMA CAR
134	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSTISSSSSTIYADSVKGRFTISRDAKN SLYLQMNSLRADTAVYYCARGSQEHLIFDYWGQGTITVTVSSGSTSGSGKPGSGEGSTKGEIVLTQSPATLSLSPGE	anti-BCMA CAR

SEQ ID NO.	SEQUÊNCIA	DESCRIÇÃO
	RATLSCRASQSVSRYLAWYQQKPGQAPRLIYDASNRTGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQRFFYP WTFGGGTKVEIKRAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFWWLVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRL LHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGR DPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	
135	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSRYLAWYQQKPGQAPRLIYDASNRTGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELP EDFAVYYCQQRFFYPWTFGGGTKVEIKRGSTSGSGKPGSGEGSTKGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS SYSMNWVRQAPGKGLEWVSTISSSSSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSQEHLIFDY WGQGTLVTVSSAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFWWLVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRL HSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRD PEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	anti-BCMA CAR
136	QVQLVESGGGVVQGRSLRLSCAASGFTFSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTDFWGSPPGLDYWGQGTLVTVSSGSTSGSGKPGSGEGSTKGDILQTLQSPSSVS ASVGDRVITICRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQI YTFPFTFGGGTKVEIKRAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFWWLVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSK RSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKR RGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	anti-BCMA CAR
137	DIQLTQSPSSVSASVGDRVITICRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQ PEDFATYYCQIYTFPFTFGGGTKVEIKRGSTSGSGKPGSGEGSTKQVQLVESGGGVVQGRSLRLSCAASGFTFS SYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTDFWGS PGLDYWGQGTLVTVSSAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFWWLVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSK RSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKR RGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	anti-BCMA CAR
138	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFTFSYAIWVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDVAVYYCARTPEYSSSIWHYYYGMDVWGQGTITVTVSSGSTSGSGKPGSGEGSTKGDIVMTQSPDS LAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAE VAVYYCQQFAHTPFTFGGGTKVEIKRAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFWWLVVGGVLACYSLLVT AFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGR EEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDAL HMQALPPR	anti-BCMA CAR
139	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDF	anti-BCMA CAR

SEQ ID NO.	SEQUÊNCIA	DESCRIÇÃO
	TLTISSLQAEDVAVYYCQQFAHTPFTFGGGTKVEIKRGSTSGSGKPGSGEGSTKGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSC KASGGTFSSYAIWVRQAPGQGLEWMGGIIPFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARTP EYSSSIWHYYYGMDVWGQGTITVTVSSAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFLPGPSKPFWWLVVVGGLVACYSLLVT VAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGR REEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDA LHMQUALPPR	
140	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVKGPLQEPPYDYGMVWGQGTITVTVSSGSTSGSGKPGSGEGSTKGEIVMTQSPATL SVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLIYSASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQ QHHWWPLTFGGGTKEIKRAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFLPGPSKPFWWLVVVGGLVACYSLLVTVAFIIFWV RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVL DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALP PR	CAR anti-BCMA
141	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLIYSASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQ SEDFAVYYCQQHHWWPLTFGGGTKEIKRGSTSGSGKPGSGEGSTKGQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTF SSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVKGPLQEPP YDYGMVWGQGTITVTVSSAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFLPGPSKPFWWLVVVGGLVACYSLLVTVAFIIFWV RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVL DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALP PR	CAR anti-BCMA
142	QSALTQPASVSASPGQSIASCTGTSSDVGWYQQHPGKAPKLMYEDSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAED EADYYCSSNTRSTLVFGGGTKLTVLGSRRGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGASLKLSCKASGY TFIDYYVYWMRQAPGQGLESMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTTRDTSISTAYMELSRLSDDTAMYYCARSQRDG YMDYWGQGTITVTVSSAAAEVMPYPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFLPGPSKPFWWLVVVGGLVACYSLLVTVA FIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRRE EYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALH MQALPPR	CAR anti-BCMA
143	QSVLTQPPSVSGAPGQRTVTSCTGSSSNIGAGFDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNNSRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAIT GLQAEDADYYCQSYDSSLGYYVFGTGTQVTVLGSRRGGGSGGGGSGGGGSLEMAQVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTDYYMHWRQAPGQRLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQDRITVTRDTSNTGYMELTRLRSDDTAVYY	CAR anti-BCMA

SEQ ID NO.	SEQUÊNCIA	DESCRIÇÃO
	CARSPYSGVLDKWGQGT LVT VSSAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSP LFPGPSKPFWWLVVVGGLAC YSLLVTVAFIIFWVR SKRSRL LHSDY MNMT PRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYN ELNLGRREEYDVL DKRRGRDP EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGHDGLYQGLSTAT KDTYDALHMQALPPR	
144	SYELTQPPSASGTPGQRTVMSCSGTSSNIGSHSVNWYQQLPGTAPKLLIYTNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAIS GLQSEDEADYYCAAWDGSNLGLVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKI SCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIPYGDSDTRYSPSFQGHVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCAR YSGSFDNWGQGT LVT VSSAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSP LFPGPSKPFWWLVVVGGLACYSLL VTVAFIIFWVR SKRSRL LHSDY MNMT PRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNL GRREEYDVL DKRRGRDP EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGHDGLYQGLSTATKDTY DALHMQALPPR	CAR anti-BCMA
145	LPVLTQPPSASGTPGQRTVISCGRSSNIGSNSVNWYRQLPGAAPKLLIYSNNQRPPGVPVRFSGSKSGTSASLAISG LQSEDEATYYCATWDDNLNVHYVFGTGKVTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAQVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSY AISWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGIANYAQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARG GYYSHDMWSEDWGQGT LVT VSSAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSP LFPGPSKPFWWLVVVGGLAC YSLLVTVAFIIFWVR SKRSRL LHSDY MNMT PRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYN ELNLGRREEYDVL DKRRGRDP EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGHDGLYQGLSTAT KDTYDALHMQALPPR	CAR anti-BCMA
146	QAVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSSNIGSNYVFWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISG LRSEDEADYYCAAWDDSLAS YVFGTGKVTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAQVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSY AISWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGTANYA QKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR SGYGSYRWEDSWGQGT LVT VSSAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSP LFPGPSKPFWWLVVVGGLAC YSLLVTVAFIIFWVR SKRSRL LHSDY MNMT PRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYN ELNLGRREEYDVL DKRRGRDP EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGHDGLYQGLSTAT KDTYDALHMQALPPR	CAR anti-BCMA
147	LPVLTQPPSASGTPGQRTVISCGRSSNIGSNSVNWYRQLPGAAPKLLIYSNNQRPPGVPVRFSGSKSGTSASLAISG LQSEDEATYYCATWDDNLNVHYVFGTGKVTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAQVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSY AISWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGIANYAQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARG GYYSHDMWSEDWGQGT LVT VSSAAAPTTPAPRPPTPAPTASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPL AGTCGVLLLSLVITLYCNKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSAEPPAYQQGQN	CAR anti-BCMA

SEQ ID NO.	SEQUÊNCIA	DESCRIÇÃO
	QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGL STATKDTYDALHMQALPPR	
148	SYELTQPPSASGTPGQRTVMSCSGTSSNIGSHSVNWWYQQLPGTAPKLLIYTNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAIS GLQSEDEADYYCAAWDGSNLGLVFGGGTKLTVLGSRRGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKI SCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGHVTISADKSiSTAYLQWSSLKASDTAMYICA RYSGSFDNWGQGT LTVTVSSAAPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGT CGVLLLSLVITLYCNKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSAEPPAYQQGQNQLY NELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTA TKDTYDALHMQALPPR	CAR anti-BCMA
149	QAVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSSNiGSNYVFWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISG LRSEDEADYYCAAWDDSLASASYVFGTGT KVTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAQVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAIWVRQAPGQGLEWMGRiIPLGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCAR SGYGSYRWEDSWGQGT LTVTVSSAAPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPL AGTCGVLLLSLVITLYCNKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSAEPPAYQQGQN QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGL STATKDTYDALHMQALPPR	CAR anti-BCMA
150	QSVLTQPPSVSGAPGQRTVISCSSSSNiGAGFDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAIT GLQAEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGT KVTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAQVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTDYYMHVVRQAPGQRLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQDRITVTRDTSSNTGYMELTRLRSDDTAVYY CARSPYSGVLDKWGQGT LTVTVSSAAPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAP LAGTCGVLLLSLVITLYCNKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSAEPPAYQQGQ NQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGL LSTATKDTYDALHMQALPPR	CAR anti-BCMA
151	QSALTQPASVSASPGQSIASCTGTSSDVGWYQQHPGKAPKLMIEDSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAE EADYYCSSNTRSSTLVFGGGTKLTVLGSRRGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGASLKLSCKASGY TFIDYVYVWMRQAPGQGLESMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSiSTAYMELSRRLRSDDTAMYICARSQRDG YMDYWGQGT LTVTVSSAAPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGV LLSLVITLYCNKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSAEPPAYQQGQNQLYNELN LGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDT YDALHMQALPPR	CAR anti-BCMA



SEQ ID NO.	SEQUÊNCIA	DESCRIÇÃO
152	DIVLTQSPPSLAMS LGKRATISCRASESVTILGSHLIHWYQQKPGQPPTLLIQLASNVQTGVPARFSGSGSRTDFTLTIDPVE EDDVAVYYCLQSRTIPRTFGGGTKLEIKGSTSGSGKPGSGEGSTKGQIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSIN WVKRAPGKGLKWMGWINTETREPAYAYDFRGRFAFSLETSASTAYLQINNLYEDTATYFCALDYSYAMDYWGQGSTVT VSSAAATTTAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLL YIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPE MGGKPRRKNPQEGLYNELQKD KMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	CAR anti-BCMA
153	DIVLTQSPASLAVSLGERATINCRASESVSVIGAHLIHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLETGVPARFSGSGSGTDFTLTISLQ AEDAAIYYCLQSRIFPRTFGQGTKLEIKGSTSGSGKPGSGEGSTKGQVQLVQSGSELKKPGASVKVSKASGYTFTDYSIN WVRQAPGQGLEWMGWINTETREPAYAYDFRGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARDYSYAMDYWGQGLVT VSSAAATTTAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLL YIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPE MGGKPRRKNPQEGLYNELQKD KMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	CAR anti-BCMA
154	DIVLTQSPASLAVSLGERATINCRASESVSVIGAHLIHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLETGVPARFSGSGSGTDFTLTIS LQAEDAAIYYCLQSRIFPRTFGQGTKLEIKGSTSGSGKPGSGEGSTKGQVQLVQSGSELKKPGASVKVSKASGYTFT DYSINWVRQAPGQGLEWMGWINTETREPAYAYDFRGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARDYSYAMDYW GQGLTVTVSSAAADTGLYICKVELMYPPPYLYGIGNGTQIYVIDPEPCPDSDFLWILA AVSSGLFFYSFLLTAVSKRGR KKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRR GRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKD KMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	CAR anti-BCMA
155	DIVLTQSPASLAVSLGERATINCRASESVSVIGAHLIHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLETGVPARFSGSGSGTDFTLTIS LQAEDAAIYYCLQSRIFPRTFGQGTKLEIKGSTSGSGKPGSGEGSTKGQVQLVQSGSELKKPGASVKVSKASGYTFT DYSINWVRQAPGQGLEWMGWINTETREPAYAYDFRGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARDYSYAMDYW GQGLTVTVSSAAAQIKESLRAELRVTERRAEVPTAHPSPSPRPAGQFQTLVGVVGGLLGSLVLLVWVLAVICKRGR KKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRR GRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKD KMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	CAR anti-BCMA
156	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLS CAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNS LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVDGDTEDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSQALTQPASVSGSPGQSITIS CTGSSSDVGKYNLVSWYQQPPGKAPKLIYDVNKRPSGVSNRFGSGSKSGNTATLTISGLQGDDEADYYCSSYGGSR YVFGTGKVTVLESKYGPPCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQFQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQ	CAR anti-BCMA

SEQ ID NO.	SEQUÊNCIA	DESCRIÇÃO
	KSLSLSLGKMFWWLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCE LRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIG MKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	
157	EVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYAMSWFKQAPGKGLEWVGFIRSKAYGGTTEYAASVKGRFTISRDD SKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYCAAWSAPTDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPAFLSASVGDR VTVTCRASQGI SNYLAWYQKPGNAPRLLIYSASTLQSGVPSRFRGTGYGTEFSLTIDSLQPEDFATYYCQQSYTSRQ TFGPGTRLDIKESKYGPPCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQFQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGFSFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLGLKMFWWLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL RV KFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMK GERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	CAR anti-BCMA
158	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNS LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVDGPPSFDIWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSVLTQPPSVSVAPGQTARIT CGANNIGSKSVHWYQKPGQAPMLVVYDDDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGVEAGDEADYFCHLWDRSRDHY VFGTGTKLTVLESKYGPPCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQFQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGFSFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLGLKMFWWLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIG MKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	CAR anti-BCMA
159	SYELTQPPSASGTPGQRVTMSCSGTSSNIGSHSVNWYQQLPGTAPKLLIYTNNQRPSGVPDRFSGSGKSGTSASLAIS GLQSEDEADYYCAAWDGSNLGLVFGGGTKLTVLGSRRGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKI SCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGHVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYICA RYSGSFDNWGGGLTVTVSSSKYGPPCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQFQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQ EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGFSFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSLGKMFWWLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEE EEGGCEL RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMA EAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	CAR anti-BCMA

SEQ ID NO.	SEQUÊNCIA	DESCRIÇÃO
160	QSALTQPASVSASPGQSIAISCTGTSSDVGWYQQHPGKAPKLMIEDSKRPSGVSNRFGSGSKSGNTASLTISGLQAED EADYYCSSNTRSSTLVFGGGTKLTVLGSRRGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGASLKLSCKASGY TFIDYYVYWMRQAPGGQLES MGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAMYYCARSQRDG YMDYWGGGTLTVVSSESKYGPPCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQFQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSLGKMFWWLVVVGGLACYSLLVTVAFIIFWVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEE GGCEL RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVL DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAY YSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	CAR anti-BCMA
161	QSALTQPASVSASPGQSIAISCTGTSSDVGWYQQHPGKAPKLMIEDSKRPSGVSNRFGSGSKSGNTASLTISGLQAED EADYYCSSNTRSSTLVFGGGTKLTVLGSRRGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGASLKLSCKASGY TFIDYYVYWMRQAPGGQLES MGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAMYYCARSQRDG YMDYWGGGTLTVVSSESKYGPPCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQFQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSLGKMFWWLVVVGGLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFA AYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVL DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAY SEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	CAR anti-BCMA
162	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALS NHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDN SRN TLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGT TTVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFG QGQTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRG RKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVL DKR RGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	CAR anti-BCMA
163	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLGWVSGISRSGENTYYADSVKGRFTISRDN SK NTLYLQMNSLRDEDTAVYYCARSPAHYYGMDVWGQGT TTVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIVLTQSPGTL SLS PGERATLSCRASQSISSSFLAWYQQKPGQAPRLLIYGASRRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDSAVYYCQY HSSPSWTFGQGQTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSL VITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGR EEYDVL DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDAL	CAR anti-BCMA

SEQ ID NO.	SEQUÊNCIA	DESCRIÇÃO
	HMQALPPR	
164	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDN SRN TLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGT TVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIRLTQSPSPLSASVGDRVTI TCQASEDINKFLNWHYHQTGPKAPKLLIYDASTLQTGVPSRFSGSGSGTDFLTINSLQPEDIGTYQCQYESLPLTFGG GTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGR KKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVL DKRR GRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	CAR anti-BCMA
165	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDN SRNTLY LQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGT TVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRAS QSIGSSSLAWYQQKPGQAPRLLMYGASSRASGIPDRFSGSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQYAGSPPTFGGQTKV EIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFK QPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVL DKRRGRDPEM GGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	CAR anti-BCMA
166	QIQLVQSGPDLKKPGETVKLSCKASGYFTNFGMNWVKQAPGKGFKWMWINTYTGESYFADDFKGRFAFSVETSATTA YLQINNLTEDTATYFCARGEIYYGYDGGFAYWGQGT LTVTSAGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSHRFMSTSVGDRVS ITCRASQDVNTAVSWYQQKPGQSPKLLIFSASYRYTGPDRFTGSGSGADFTLTISSVQAEDLAVYYCQQHSTPWTFGG GTKLDIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLL YIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVL DKRRGRDPE MGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	CAR anti-BCMA
167	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYFTDYSINWVKRAPGKGLKWMGWINTETREPAYAYDFRGRFAFSLETSAST AYLQINNLTEDTATYFCALDYSYAMDYWGQGT SVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGQIQLVQSGPELKKPGETVKISC KASGYFTDYSINWVKRAPGKGLKWMGWINTETREPAYAYDFRGRFAFSLETSASTAYLQINNLTEDTATYFCALDY SYAMDYWGQGT SVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLS SLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGR REEYDVL DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDA LHMQALPPR	CAR anti-BCMA
168	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYFTDYSINWVKRAPGKGLKWMGWINTETREPAYAYDFRGRFAFSLETSAST AYLQINNLTEDTATYFCALDYSYAMDYWGQGT SVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQSPASLAMS LGKRATISC RASESVSVIGAHLIHWYQQKPGQP KLLIYLASNLETGVPARFSGSGSGTDFLTIDPVEEDDVAIYSCLQSRIFPRTFG GGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRG	CAR anti-BCMA

SEQ ID NO.	SEQUÊNCIA	DESCRIÇÃO
	RKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKR RGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	
169	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFRHYSMNWVKQAPGKGLKWMGRINTESGVPIYADDFKGRFAFSVETSAST AYLVINNLIKDEDTASYFCSNDYLYSLDFWGGGTALTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQSPPSLAMSLGKRATISC RASESVTILGSHLIYWYQQKPGQPPTLLIQLASNVQTGVPARFSGSGSRTDFTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSRTIPRTFG GGTKLEIKTTTTAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRG RKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKR RGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	CAR anti-BCMA
170	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTHYSMNWVKQAPGKGLKWMGRINTETGEPLYADDFKGRFAFSLETSAST AYLVINNLIKNEDTATFFCSNDYLYSCDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQSPPSLAMSLGKRATISC RASESVTILGSHLIYWYQQKPGQPPTLLIQLASNVQTGVPARFSGSGSRTDFTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSRTIPRTFG GGTKLEIKTTTTAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRG RKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKR RGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	CAR anti-BCMA
171	DIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRASESVTILGSHLIHWYQQKPGQPPTLLIQLASNVQTGVPARFSGSGSRTDFTLTID PVEEDDVAVYYCLQSRTIPRTFGGGTKLEIKGSTSGSGKPGSGEGSTKGQIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFT DYSINWVKRAPGKGLKWMGWINTETREPAYAYDFRGRFAFSLETSASTAYLQINNLYEDTATYFCALDYSYAMDYW GQGTSTVTVSSFPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGV LLSLVITLYCNHRNRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYN ELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTAT KDTYDALHMQALPPR	CAR anti-BCMA
172	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSPDYINWVRQAPGGLEWMGWIFYASGNSEYNQKFTGRVTMTRDTSI NTAYMELSSLTSEDYAVYFCASLYDYDWYFDVWGQGTMTVTSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGQ PASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCSQ SSIYPWTFGQGTLEIKGLAVSTISSFFPPGYQIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQE EDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEG LYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	CAR anti-BCMA
173	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSPDYINWVRQAPGGLEWMGWIFYASGNSEYNQKFTGRVTMTRDTSI NTAYMELSSLTSEDYAVYFCASLYDYDWYFDVWGQGTMTVTSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGQ PASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCSQ	CAR anti-BCMA

SEQ ID NO.	SEQUÊNCIA	DESCRIÇÃO
	SSIYPWTFGQGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSL VITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRR EEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDAL HMQALPPR	
174	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSPFDYYINWVRQAPGQGLEWMGWYIFASGNSEYNQKFTGRVTMTRDTSI NTAYMELSSLTSEDVAVYFCASLYDYDWYFDVWGQGTMTVTSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGQ PASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCSQ SSIYPWTFGQGTKLEIKEPKSPDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIAARTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVSMHEALH NHYTQKSLSLSPGKIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCE LRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIG MKGERRRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	CAR anti-BCMA
175	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSPFDYYINWVRQAPGQGLEWMGWYIFASGNSEYNQKFTGRVTMTRDTS SSTAYMELSSLRSEDVAVYFCASLYDYDWYFDVWGQGTMTVTSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPG EPASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGADFTLKISRVEAEDVGVYYCA ETSHVPWTFGQGTKLEIKGLAVSTISSFFPPGYQIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQ EEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQ GLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	CAR anti-BCMA
176	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSPFDYYINWVRQAPGQGLEWMGWYIFASGNSEYNQKFTGRVTMTRDTS SSTAYMELSSLRSEDVAVYFCASLYDYDWYFDVWGQGTMTVTSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPG EPASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGADFTLKISRVEAEDVGVYYCA ETSHVPWTFGQGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLS SLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYD ALHMQALPPR	CAR anti-BCMA
177	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSPFDYYINWVRQAPGQGLEWMGWYIFASGNSEYNQKFTGRVTMTRDTS SSTAYMELSSLRSEDVAVYFCASLYDYDWYFDVWGQGTMTVTSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPG EPASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGADFTLKISRVEAEDVGVYYCA ETSHVPWTFGQGTKLEIKEPKSPDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIAARTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN	CAR anti-BCMA

SEQ ID NO.	SEQUÊNCIA	DESCRIÇÃO
	WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKIYWAPLAGTCTGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	
178	IYIWAPLAGTCTGVLLLSLVITLYCNHRN	CD8a TM
179	IYIWAPLAGTCTGVLLLSLVIT	CD8a TM
180	RAAA	Peptídeo de ligação
181	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVDGDYTEDYWGQGTLLTVSS	Anti-BCMA variável pesada (VH)
182	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGSSSDVGKYNLVSWYQQPPGKAPKLIYDVNKRPSGVSNNRFSGSKSGNTATLTISGLQGDDEADYYCSSYGGSRSYVFGTGKVTVL	Anti-BCMA variável leve (VL)
183	EVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYAMSWFRQAPGKGLEWVGFIIRSKAYGGTTEYAASVKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYCAAWSAPTDYWGQGTLLTVSS	Anti-BCMA variável pesada (VH)
184	DIQMTQSPAFLSASVGDRVTVTCTASQGISNYLAWYQQKPGNAPRLIYSASTLQSGVPSRFRGTGYGTEFSLTIDSLQPEDFATYYCQSYTSRQTFGPGTRLDIK	Anti-BCMA variável leve (VL)
185	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVDGPPSFDIWGQGTMTVSS	Anti-BCMA variável pesada (VH)
186	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGANNIGSKSVHWYQQKPGQAPMLVYDDDDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGVEAGDEADYFCHLWDRSRDHYVFGTGKLTVL	Anti-BCMA variável leve (VL)
187	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAIWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGIANYAQKFQGRVTMTEDTSTDYAYMELSSLRSEDYAVYYCARSGYSKIVSYMDYWGQGTLLTVSS	Anti-BCMA variável pesada (VH)
188	LPVLTQPPSTSGTPGQRVTVSCSGSSSNIGSNVFWYQQLPGTAPKLVIRNNQRPSGVPDRFSVSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSGYVFGTGKVTVLG	Anti-BCMA variável leve (VL)
189	ASGGGGSGGRASGGGGGS	Ligador

## REIVINDICAÇÕES

1. Método de tratamento, caracterizado pelo fato de o método compreender:

(a) administrar uma terapia de célula T a um indivíduo tendo uma doença ou condição; e

(b) administrar ao indivíduo um composto imunomodulatório, em que o referido composto imunomodulatório é selecionado do grupo que consiste em: análogos de talidomida; derivados de talidomida; compostos que interagem com e/ou se ligam ao cereblon (CRBN) e/ou um ou mais membros do complexo de E3 ubiquitina CRBN-ligase; inibidores de Ikaros (IKZF1); inibidores de Aiolos (IKZF3); e compostos que realçam ou promovem a ubiquitinação e/ou degradação de Ikaros (IKZF1) e/ou Aiolos (IKZF3).

2. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a iniciação de administração do composto imunomodulatório em pelo menos um ciclo é realizada após a iniciação da administração da terapia de célula T.

3. Método de tratamento, caracterizado pelo fato de o método compreender a administração de uma terapia de célula T a um indivíduo tendo uma doença ou condição, em que, no momento da iniciação da administração da terapia de célula T, o indivíduo foi administrado, e/ou é submetido ao tratamento com, um composto imunomodulatório e/ou uma amostra de sangue ou biópsia do indivíduo contém níveis detectáveis de células T de uma terapia de célula T modificada, em que o referido composto imunomodulatório é selecionado do grupo que consiste em: análogos de talidomida; derivados de talidomida; compostos que interagem com e/ou se ligam ao cereblon (CRBN) e/ou um ou mais membros do complexo de E3 ubiquitina CRBN-ligase; inibidores de Ikaros (IKZF1); inibidores de Aiolos (IKZF3); e compostos que realçam ou promovem a ubiquitinação e/ou degradação de Ikaros



(IKZF1) e/ou Aiolos (IKZF3).

4. Método de tratamento, caracterizado pelo fato de o método compreender a administração de um composto imunomodulatório a um indivíduo tendo uma doença ou condição, em que, no momento da iniciação de administração do composto imunomodulatório, o indivíduo foi previamente administrado com uma terapia de célula T para o tratamento da doença ou condição e/ou uma amostra de sangue ou biópsia do indivíduo contém níveis detectáveis de células T de uma terapia de célula T modificada, em que o referido composto imunomodulatório é selecionado do grupo que consiste em: análogos de talidomida; derivados de talidomida; compostos que interagem com e/ou se ligam ao cereblon (CRBN) e/ou um ou mais membros do complexo de E3 ubiquitina CRBN-ligase; inibidores de Ikaros (IKZF1); inibidores de Aiolos (IKZF3); e compostos que realçam ou promovem a ubiquitinação e/ou degradação de Ikaros (IKZF1) e/ou Aiolos (IKZF3).

5. Método de tratamento, caracterizado pelo fato de o método compreender:

(a) administrar uma terapia de célula T a um indivíduo tendo uma doença ou condição; e

(b) administrar ao indivíduo de um composto imunomodulatório, em que o referido composto imunomodulatório é selecionado do grupo que consiste em: análogos de talidomida; derivados de talidomida; compostos que interagem com e/ou se ligam ao cereblon (CRBN) e/ou um ou mais membros do complexo de E3 ubiquitina CRBN-ligase; inibidores de Ikaros (IKZF1); inibidores de Aiolos (IKZF3); e compostos que realçam ou promovem a ubiquitinação e/ou degradação de Ikaros (IKZF1) e/ou Aiolos (IKZF3), e em que a iniciação da administração do composto imunomodulatório está em um momento:

(1) pelo menos 2 dias após, pelo menos 1 semana após, pelo menos 2 semanas após, pelo menos 3 semanas após, ou pelo

menos 4 semanas após, a iniciação da administração da terapia de célula T, e/ou é realizada 2 a 28 dias ou 7 a 21 dias após a iniciação da administração da terapia de célula T; e/ou

(2) em ou após, opcionalmente imediatamente após ou dentro de 1 a 3 dias após: (i) pico ou nível máximo das células da terapia de célula T ser detectável no sangue do indivíduo; (ii) o número de células da terapia de célula T detectável no sangue, após ter sido detectável no sangue, é não detectável ou é reduzido, opcionalmente reduzido em comparação com um ponto de tempo anterior após administração da terapia de célula T; (iii) o número de células da terapia de célula T detectável no sangue é diminuído em ou mais do que 1,5 vezes, 2,0 vezes, 3,0 vezes, 4,0 vezes, 5,0 vezes, 10 vezes ou mais o número de pico ou máximo de células da terapia de célula T detectável no sangue do indivíduo após a iniciação da administração da terapia de célula T; (iv) em um momento após um nível de pico ou máximo das células da terapia de célula T ser detectável no sangue do indivíduo, o número de células de ou derivado das células T detectável no sangue do indivíduo é menor do que 10%, menor do que 5%, menor do que 1% ou menor do que 0,1% de células mononucleares de sangue periférico total (PBMCs) no sangue do indivíduo; (v) o indivíduo exibe progressão de doença e/ou tem recaída após remissão após tratamento com a terapia de célula T; e/ou (iv) o indivíduo exibe carga tumoral aumentada em comparação com a carga tumoral em um momento antes de ou após a administração das células T e antes da iniciação da administração do composto imunomodulatório.

6. Método de tratamento, caracterizado pelo fato de o método compreender a administração de um composto imunomodulatório a um indivíduo tendo sido administrado com, antes da iniciação da administração do composto imunomodulatório, uma terapia de célula T para o tratamento de uma doença ou condição, em que o referido

composto imunomodulatório é selecionado do grupo que consiste em: análogos de talidomida; derivados de talidomida; compostos que interagem com e/ou se ligam ao cereblon (CRBN) e/ou um ou mais membros do complexo de E3 ubiquitina CRBN-ligase; inibidores de Ikaros (IKZF1); inibidores de Aiolos (IKZF3); e compostos que realçam ou promovem a ubiquitinação e/ou degradação de Ikaros (IKZF1) e/ou Aiolos (IKZF3), e em que a iniciação da administração do composto imunomodulatório está em um tempo:

(1) pelo menos 2 dias após, pelo menos 1 semana após, pelo menos 2 semanas após, pelo menos 3 semanas após, ou pelo menos 4 semanas após, a iniciação da administração da terapia de célula T, e/ou é realizada 2 a 28 dias ou 7 a 21 dias após a iniciação da administração da terapia de célula T; e/ou

(2) em ou após, opcionalmente imediatamente após ou dentro de 1 a 3 dias após: (i) pico ou nível máximo das células da terapia de célula T ser detectável no sangue do indivíduo; (ii) o número de células da terapia de célula T detectável no sangue, após ter sido detectável no sangue, é não detectável ou é reduzido, opcionalmente reduzido em comparação com um ponto de tempo anterior após administração da terapia de célula T; (iii) o número de células da terapia de célula T detectável no sangue é diminuído em ou mais do que 1,5 vezes, 2,0 vezes, 3,0 vezes, 4,0 vezes, 5,0 vezes, 10 vezes ou mais o número de pico ou máximo de células da terapia de célula T detectável no sangue do indivíduo após a iniciação da administração da terapia de célula T; (iv) em um momento após um nível de pico ou máximo das células da terapia de célula T ser detectável no sangue do indivíduo, o número de células de ou derivado das células T detectável no sangue do indivíduo é menor do que menor do que 10%, menor do que 5%, menor do que 1% ou menor do que 0,1% de células mononucleares de sangue periférico total (PBMCs) no sangue do indivíduo; (v)

o indivíduo exibe progressão de doença e/ou tem recaída após remissão após tratamento com a terapia de célula T; e/ou (iv) o indivíduo exibe carga tumoral aumentada em comparação com a carga tumoral em um momento antes de ou após a administração das células T e antes de a iniciação da administração do composto imunomodulatório.

7. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 2, 5 e 6, caracterizado pelo fato de que a iniciação da administração do composto imunomodulatório é realizada em um momento que é maior do que ou maior do que cerca de 14 dias, 15 dias, 16 dias, 17 dias, 18 dias, 19 dias, 20 dias, 21 dias, 24 dias, ou 28 dias após iniciação da administração da terapia de célula T.

8. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 2 e 5 a 7, caracterizado pelo fato de compreender, antes da iniciação da administração do composto imunomodulatório, a seleção de um indivíduo em que: (i) pico ou nível máximo das células da terapia de célula T ser detectável no sangue do indivíduo; (ii) o número de células da terapia de célula T detectável no sangue, após ter sido detectável no sangue, é não detectável ou é reduzido, opcionalmente reduzido em comparação com um ponto de tempo anterior após administração da terapia de célula T; (iii) o número de células da terapia de célula T detectável no sangue é diminuído em ou mais do que 1,5 vezes, 2,0 vezes, 3,0 vezes, 4,0 vezes, 5,0 vezes, 10 vezes ou mais o número de pico ou máximo de células da terapia de célula T detectável no sangue do indivíduo após a iniciação da administração da terapia de célula T; (iv) em um momento após um nível de pico ou máximo das células da terapia de célula T ser detectável no sangue do indivíduo, o número de células de ou derivado das células T detectável no sangue do indivíduo é menor do que menor do que 10%, menor do que 5%, menor do que 1% ou menor do que 0.1% de células mononucleares de sangue periférico total (PBMCs) no sangue do indivíduo; (v) o indivíduo exibe

progressão de doença e/ou tem recaída após remissão após tratamento com a terapia de célula T; e/ou (iv) o indivíduo exibe carga tumoral aumentada em comparação com a carga tumoral em um momento antes de ou após a administração das células T e antes da iniciação da administração do composto imunomodulatório.

9. Método de tratamento, caracterizado pelo fato de compreender a administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto imunomodulatório, em que o referido composto imunomodulatório é selecionado do grupo que consiste em: análogos de talidomida; derivados de talidomida; compostos que interagem com e/ou se ligam ao cereblon (CRBN) e/ou um ou mais membros do complexo de E3 ubiquitina CRBN-ligase; inibidores de Ikaros (IKZF1); inibidores de Aiolos (IKZF3); e compostos que realçam ou promovem a ubiquitinação e/ou degradação de Ikaros (IKZF1) e/ou Aiolos (IKZF3), a um indivíduo tendo sido administrado com, antes da iniciação da administração do composto imunomodulatório, uma terapia de célula T para o tratamento de uma doença ou condição, em que o indivíduo é um em que no ou cerca do dia 12 ao 15, opcionalmente no ou cerca do dia 14, após a iniciação da administração de uma terapia de célula T para o tratamento de uma doença ou condição:

(i) o número de células da terapia de célula T no indivíduo é menor do que 75% do número médio de células da terapia de célula T ao mesmo tempo em uma pluralidade de indivíduos administrados com a mesma dose ou similar da terapia de célula T; e/ou

(ii) o número de células CD3+ ou CD8+ da terapia de célula T, opcionalmente células CAR+ T, no sangue é menor do que 10 células por  $\mu\text{L}$ , menor do que 5 células por  $\mu\text{L}$  ou menor do que por 1 células por  $\mu\text{L}$ .

10. Método de tratamento, caracterizado pelo fato de compreender:

(a) selecionar um indivíduo, em que no ou cerca do dia 12 a 15, opcionalmente no ou cerca do dia 14, após a iniciação da administração de uma terapia de célula T para o tratamento de uma doença ou condição:

(i) o número de células da terapia de célula T no indivíduo é menor do que 75% do número médio de células da terapia de célula T ao mesmo tempo em uma pluralidade de indivíduos administrados com a mesma dose ou similar da terapia de célula T; e/ou

(ii) o número de células CD3+ ou CD8+ da terapia de célula T, opcionalmente células CAR+ T, no sangue é menor do que 10 células por  $\mu\text{L}$ , menor do que 5 células por  $\mu\text{L}$  ou menor do que por 1 células por  $\mu\text{L}$ ; e

(b) administrar uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto imunomodulatório ao indivíduo, em que o referido composto imunomodulatório é selecionado do grupo que consiste em: análogos de talidomida; derivados de talidomida; compostos que interagem com e/ou se ligam ao cereblon (CRBN) e/ou um ou mais membros do complexo de E3 ubiquitina CRBN-ligase; inibidores de Ikaros (IKZF1); inibidores de Aiolos (IKZF3); e compostos que realçam ou promovem a ubiquitinação e/ou degradação de Ikaros (IKZF1) e/ou Aiolos (IKZF3).

11. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 10, caracterizado pelo fato de que o método desse modo impede, reduz ou melhora um ou mais sintomas ou resultados da doença ou condição.

12. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 11, caracterizado pelo fato de que:

(a) a quantidade do composto imunomodulatório administrada é insuficiente, como um único agente e/ou na ausência de administração da terapia de célula T, para melhorar, reduzir ou impedir a

doença ou condição ou um sintoma ou resultado da mesma; e/ou

(b) a quantidade do composto imunomodulatório administrada é insuficiente, como um único agente e/ou na ausência de administração da terapia de célula T, para melhorar, reduzir ou impedir a doença ou condição no indivíduo ou um sintoma ou resultado da mesma; e/ou

(c) o método, desse modo, reduz ou melhora um sintoma ou resultado ou carga da doença ou condição para um grau que é maior do que a combinação de (i) o grau de redução ou melhora realizada pela administração do agente imunomodulatório sozinho, opcionalmente em media, em uma população de indivíduos tendo a doença ou condição, e (ii) o grau de redução ou melhora pela administração da terapia de célula T sozinha, opcionalmente em media, em uma população de indivíduos tendo a doença ou condição; e/ou

(d) a quantidade do composto imunomodulatório administrada no método, ou administrada em uma ou mais doses, é uma dose em nível de manutenção do controle, ou corresponde a uma dose do composto administrado aos indivíduos tendo exibido uma resposta, opcionalmente uma resposta completa, após administração do composto para tratamento.

13. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 12, caracterizado pelo fato de que a doença ou condição é refratária ou resistente ao composto imunomodulatório e/ou tornou-se refratária ou resistente a ele após tratamento com o composto imunomodulatório; e/ou o indivíduo ou doença ou condição foi determinado ter uma mutação ou fator que confere resistência da doença ou condição ao tratamento com o composto imunomodulatório.

14. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 13, caracterizado pelo fato de que a administração do composto imunomodulatório compreende:

(i) pelo menos um ciclo de mais do que 30 dias que começa na iniciação da administração do composto imunomodulatório, em que o ciclo compreende a administração do composto, opcionalmente diariamente ou pelo menos diariamente, durante até 21 dias consecutivos e/ou em que a última administração do composto no ciclo é em ou menos do que 21 dias após a primeira administração do composto no ciclo; e/ou

(ii) pelo menos dois ciclos, cada um dos pelo menos dois ciclos compreendendo administrar o composto durante uma pluralidade de dias consecutivos seguidos por um período de repouso durante o qual o composto imunomodulatório não é administrado, em que o período de repouso é maior do que 14 dias consecutivos; e/ou

(iii) administrar, opcionalmente diariamente ou pelo menos diariamente, durante não mais do que 14 dias consecutivos.

15. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 14, caracterizado pelo fato de que:

a iniciação da administração do composto imunomodulatório, ou a iniciação da administração do composto em pelo menos um ciclo, e a iniciação da administração da terapia de célula T são realizadas no mesmo dia ou dias consecutivos, opcionalmente, concorrentemente; e/ou

pelo menos uma dose do composto imunomodulatório é administrada no mesmo dia ou dentro de um ou dois dias, antes ou subsequente à, administração de uma dose da terapia de célula T.

16. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 15, caracterizado pelo fato de que a iniciação da administração do composto imunomodulatório, ou a iniciação da administração do composto em pelo menos um ciclo, é antes da iniciação da administração da terapia de célula T.

17. Método de tratamento, método caracterizado pelo fato



de compreender administrar uma terapia de célula T a um indivíduo tendo uma doença ou condição, em que o indivíduo foi administrado, antes de iniciação da terapia de célula T, um composto imunomodulatório, em que o referido composto imunomodulatório é selecionado do grupo que consiste em: análogos de talidomida; derivados de talidomida; compostos que se ligam ao cereblon (CRBN) e/ou um ou mais membros do complexo de E3 ubiquitina CRBN-ligase; inibidores de Ikaros (IKZF1); inibidores de Aiolos (IKZF3); e compostos que realçam ou promovem a ubiquitinação e/ou degradação de Ikaros (IKZF1) e/ou Aiolos (IKZF3), e em que o composto imunomodulatório é administrado em um ciclo compreendendo:

(i) administrar durante até 21 dias consecutivos, em que o ciclo compreende mais do que 30 dias começando na iniciação da administração do composto imunomodulatório; e/ou

(ii) administrar durante uma pluralidade de dias consecutivos seguidos por um período de repouso durante o qual o composto imunomodulatório não é administrado, em que o período de repouso é maior do que 14 dias consecutivos; e/ou

(iii) administrar durante não mais do que 14 dias consecutivos.

18. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 3 e 11 a 17, caracterizado pelo fato de que a iniciação da administração do composto imunomodulatório é dentro de 14 dias antes da iniciação da terapia de célula T.

19. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 3 e 11 a 18, caracterizado pelo fato de que a administração do composto imunomodulatório é iniciada antes da administração da terapia de célula T começar:

(i) em ou dentro de uma semana antes de ou subsequente à coleta, do indivíduo, de uma amostra compreendendo células T a ser

processada e/ou modificada para produzir a, opcionalmente em que a amostra é uma amostra de aférese; e/ou

(ii) dentro de 14 dias antes de iniciação da administração da terapia de célula T.

20. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 19, caracterizado pelo fato de que a terapia de célula T compreende células modificadas para expressar um receptor recombinante.

21. Método de acordo com a reivindicação 20, caracterizado pelo fato de que a modificação compreende uma ou mais etapas do processo de fabricação *ex vivo*, opcionalmente selecionadas dentre:

(1) isolar células de uma amostra biológica por leucaférese ou aférese;

(2) selecionar ou enriquecer células por métodos com base em imunoafinidade;

(3) introduzir um ácido nucleico recombinante, opcionalmente um vetor viral, em células;

(4) incubar células, opcionalmente células modificadas, na presença de uma ou mais condições estimulantes;

(5) formular células na presença de um crioprotetor; e/ou

(6) formular células para administração a um indivíduo, opcionalmente na presença de um excipiente farmacologicamente aceitável.

22. Método de acordo com a reivindicação 21, caracterizado pelo fato de também compreender o contato de células com um composto imunomodulatório durante uma ou mais das etapas do processo de fabricação *ex vivo*.

23. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 20, caracterizado pelo fato de que a terapia de célula T compreende células T modificadas produzidas pelo processo de fabricação

compreendendo a incubação de células, *ex vivo*, na presença do composto imunomodulatório.

24. Método de acordo com a reivindicação 22 ou 23, caracterizado pelo fato de que a incubação de células na presença de uma ou mais condições estimulantes é realizada na presença de um composto imunomodulatório.

25. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3 e 11 a 24, caracterizado pelo fato de que a iniciação da administração do composto imunomodulatório é dentro de 10 dias, 7 dias, 4 dias, 3 dias ou 2 dias antes da iniciação da administração da terapia de célula T.

26. Método de tratamento, método caracterizado pelo fato de compreender a administração de um composto imunomodulatório a um indivíduo, o indivíduo tendo a doença ou condição e tendo sido administrado com, uma terapia de célula T, em que o referido composto imunomodulatório é selecionado do grupo que consiste em: análogos de talidomida; derivados de talidomida; compostos que se ligam ao cereblon (CRBN) e/ou um ou mais membros do complexo de E3 ubiquitina CRBN-ligase; inibidores de Ikaros (IKZF1); inibidores de Aiolos (IKZF3); e compostos que realçam ou promovem a ubiquitinação e/ou degradação de Ikaros (IKZF1) e/ou Aiolos (IKZF3), e em que o composto imunomodulatório é administrado em um ciclo compreendendo:

(i) administrar o composto imunomodulatório durante até 21 dias consecutivos, em que o ciclo compreende mais do que 30 dias começando na iniciação da administração do composto imunomodulatório; e/ou

(ii) administrar o composto imunomodulatório durante uma pluralidade de dias consecutivos seguidos por um período de repouso durante o qual o composto imunomodulatório não é administrado, em

que o período de repouso é maior do que 14 dias consecutivos; e/ou

(iii) administrar o composto imunomodulatório durante não mais do que 14 dias consecutivos.

27. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 26, caracterizado pelo fato de que a terapia de célula T é uma em que o número de pico de uma população de células da terapia, que opcionalmente são células CD3+ ou CD8+ da terapia de célula T e/ou são opcionalmente células CAR+ T, no sangue é (a) em média em uma pluralidade de indivíduos tratados com a terapia de célula T na ausência de administração do composto imunomodulatório, ou (b) no indivíduo após administração da terapia de célula T) menor do que 10 células por  $\mu\text{L}$ , menor do que 5 células por  $\mu\text{L}$  ou menor do que por 1 células por  $\mu\text{L}$ .

28. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 27, caracterizado pelo fato de que a terapia de célula T compreende células que expressam um receptor recombinante, opcionalmente um CAR.

29. Método de acordo com a reivindicação 28, caracterizado pelo fato de que o receptor recombinante compreende um domínio de ligação ao antígeno específico para um antígeno de maturação de célula B (BCMA).

30. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2, 4 a 17, 20 a 24 e 25 a 29, caracterizado pelo fato de que a iniciação da administração do composto imunomodulatório é realizada pelo menos 2 dias após, pelo menos 1 semana após, pelo menos 2 semanas após, pelo menos 3 semanas após, ou pelo menos 4 semanas após, a iniciação da administração de, ou após a última dose, da terapia de célula T, e/ou é realizada 2 a 28 dias ou 7 a 21 dias após a iniciação da administração de, ou após a última dose de, a terapia de célula T.

31. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 30, caracterizado pelo fato de que o composto imunomodulatório é administrado durante mais do que ou mais do que cerca de 7 dias consecutivos, mais do que ou mais do que cerca de 14 dias consecutivos, mais do que ou mais do que cerca de 21 dias consecutivos, mais do que ou mais do que cerca de 21 dias consecutivos, ou mais do que ou mais do que cerca de 28 dias consecutivos.

32. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 31, caracterizado pelo fato de que o composto imunomodulatório é administrado em um ciclo compreendendo administração diária durante uma pluralidade de dias consecutivos seguidos por um período de repouso durante o qual o composto imunomodulatório não é administrado.

33. Método de acordo com a reivindicação 32, caracterizado pelo fato de que o período de repouso durante o qual o composto imunomodulatório não é administrado é maior do que 7 dias consecutivos, maior do que 14 dias consecutivos, maior do que 21 dias, ou maior do que 28 dias.

34. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 2, 7, 8, e 14 a 33, caracterizado pelo fato de que o ciclo de administração do composto imunomodulatório é repetido pelo menos uma vez.

35. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 2, 7, 8, e 14 a 34, caracterizado pelo fato de que o composto imunomodulatório é administrado durante pelo menos 2 ciclos, pelo menos 3 ciclos, pelo menos 4 ciclos, pelo menos 5 ciclos, pelo menos 6 ciclos, pelo menos 7 ciclos, pelo menos 8 ciclos, pelo menos 9 ciclos, pelo menos 10 ciclos, pelo menos 11 ciclos, ou pelo menos 12 ciclos.

36. Método de acordo com qualquer uma das reivindica-

ções 1 a 35, caracterizado pelo fato de que a administração do composto imunomodulatório é continuada, de pelo menos após a iniciação da administração das células T, até:

o número de células de ou derivado da terapia de célula T administrada detectável no sangue do indivíduo é aumentado em comparação ao indivíduo em um ponto de tempo anterior imediatamente antes da administração do composto imunomodulatório ou em comparação a um ponto de tempo anterior após administração da terapia de célula T;

o número de células de ou derivado da terapia de célula T detectável no sangue está dentro de 2,0 vezes (mais ou menos) o número de pico ou máximo observado no sangue do indivíduo após a iniciação da administração das células T;

o número de células da terapia de célula T detectável no sangue do indivíduo é maior do que ou maior do que cerca de 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50%, ou 60% de células mononucleares de sangue periférico total (PBMCs) no sangue do indivíduo; e/ou

o indivíduo exibe uma redução na carga tumoral em comparação uma carga tumoral em um momento imediatamente antes da administração da terapia de célula T ou em um momento imediatamente antes da administração do composto imunomodulatório; e/ou

o indivíduo exibe remissão completa ou clínica.

37. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 36, caracterizado pelo fato de que o composto imunomodulatório é 3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona, pomalidomida, ou 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, um estereoisômero de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona, pomalidomida, 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatarato ou polimorfo farmaceuticamente aceitá-

vel dos mesmos.

38. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 37, caracterizado pelo fato de que o composto imunomodulatório é 3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona, ou um estereoisômero do mesmo, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatarato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo.

39. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 38, caracterizado pelo fato de que o composto imunomodulatório é 3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona.

40. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 37, caracterizado pelo fato de que o composto imunomodulatório é 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, ou um estereoisômero do mesmo, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatarato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo.

41. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 37 e 40, caracterizado pelo fato de que o composto imunomodulatório é 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona.

42. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 41, caracterizado pelo fato de que o composto imunomodulatório é administrado oralmente, subcutaneamente, ou intravenosamente.

43. Método de acordo com a reivindicação 42, caracterizado pelo fato de que o composto imunomodulatório é administrado oralmente.

44. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 43, caracterizado pelo fato de que o composto imunomodula-

tório é administrado em uma cápsula ou um comprimido.

45. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 44, caracterizado pelo fato de que o composto imunomodulatório é administrado em uma quantidade de ou de cerca de 0,1 mg a cerca de 100 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 50 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 25 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 10 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 5 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 1 mg, de ou de cerca de 1 mg a 100 mg, de ou de cerca de 1 mg a 50 mg, de ou de cerca de 1 mg a 25 mg, de ou de cerca de 1 mg a 10 mg, de ou de cerca de 1 mg a 5 mg, de ou de cerca de 5 mg a 100 mg, de ou de cerca de 5 mg a 50 mg, de ou de cerca de 5 mg a 25 mg, de ou de cerca de 5 mg a 10 mg, de ou de cerca de 10 mg a 100 mg, de ou de cerca de 10 mg a 50 mg, de ou de cerca de 10 mg a 25 mg, de ou de cerca de 25 mg a 100 mg, de ou de cerca de 25 mg a 50 mg ou de ou de cerca de 50 mg a 100 mg, cada qual inclusivo.

46. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 45, caracterizado pelo fato de que o composto imunomodulatório é administrado uma vez diariamente, duas vezes ao dia, três vezes ao dia, quatro vezes ao dia, cinco vezes ao dia ou seis vezes ao dia.

47. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 46, caracterizado pelo fato de que o composto imunomodulatório é administrado em uma quantidade de dosagem diária total de pelo menos ou pelo menos cerca de 0,1 mg por dia, 0,5 mg por dia, 1,0 mg por dia, 2,5 mg por dia, 5 mg por dia, 10 mg por dia, 25 mg por dia, 50 mg por dia ou 100 mg por dia.

48. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 47, caracterizado pelo fato de que:

o composto imunomodulatório é administrado em uma quantidade maior do que ou maior do que cerca de 1 mg, 2,5 mg, 5



mg, 7,5 mg, 10 mg, 15 mg e menor do que 25 mg; ou

o composto imunomodulatório é administrado em uma quantidade maior do que ou maior do que cerca de 1 mg por dia, 2,5 mg por dia, 5 mg por dia, 7,5 mg por dia, 10 mg por dia, 15 mg por dia e menor do que 25 mg por dia.

49. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 48, caracterizado pelo fato de que a administração da quantidade terapeuticamente eficaz de composto imunomodulatório estimula uma expansão aumentada de células T associadas com a terapia de célula T em comparação a expansão da administração posterior da terapia de célula T na ausência do composto imunomodulatório.

50. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 49, caracterizado pelo fato de que a administração da quantidade terapeuticamente eficaz de composto imunomodulatório estimula um aumento na atividade citolítica mediada por célula T de células T associadas com a terapia de célula T em comparação com a atividade citolítica após administração das células T na ausência do composto imunomodulatório.

51. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 50, caracterizado pelo fato de que a administração da quantidade terapeuticamente eficaz de composto imunomodulatório estimula um aumento na produção de citocina de células T associadas com a terapia de célula T em comparação com uma produção de citocina após a administração das células T na ausência do composto imunomodulatório.

52. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 49 a 51, caracterizado pelo fato de que o aumento é maior do que ou maior do que cerca de 1,5 vezes, 2,0 vezes, 3,0 vezes, 4,0 vezes, 5,0 vezes, 10,0 vezes ou mais.

53. Método de acordo com qualquer uma das reivindica-

ções 1 a 52, caracterizado pelo fato de que a terapia de célula T é ou compreende terapia linfocítica infiltrante de tumor (TIL) ou células geneticamente modificadas expressando um receptor recombinante que especificamente se liga a um antígeno.

54. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 53, caracterizado pelo fato de que a terapia de célula T é ou compreende células geneticamente modificadas expressando um receptor recombinante que especificamente se liga a um antígeno.

55. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 54, caracterizado pelo fato de que a terapia de célula T compreende células expressando um receptor recombinante que é ou compreende um receptor de antígeno não TCR funcional ou um TCR ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo.

56. Método de acordo com a reivindicação 55, caracterizado pelo fato de que o receptor de antígeno recombinante é um receptor de antígeno quimérico (CAR).

57. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 56, caracterizado pelo fato de que a terapia de célula T compreende um receptor de antígeno recombinante, que compreende um domínio extracelular compreendendo um domínio de ligação ao antígeno que especificamente se liga a um antígeno.

58. Método de acordo com a reivindicação 56 ou 57, caracterizado pelo fato de que o antígeno é associado com, específico para, e/ou expresso em uma célula ou tecido de uma doença, distúrbio ou condição.

59. Método de acordo com a reivindicação 58, caracterizado pelo fato de que a doença, distúrbio ou condição é uma doença ou distúrbio infeccioso, uma doença autoimune, uma doença inflamatória, ou um tumor ou um câncer.

60. Método de acordo com qualquer uma das reivindica-

ções 56 a 59, caracterizado pelo fato de que o antígeno um antígeno tumoral.

61. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 56 a 60, caracterizado pelo fato de que o antígeno é selecionado dentre ROR1, antígeno de maturação de célula B (BCMA), anidrase carbônica 9 (CAIX), Her2/neu (tirosina cinase receptora erbB2), L1-CAM, CD19, CD20, CD22, mesotelina, CEA, e antígeno de superfície de hepatite B, receptor de antifolato, CD23, CD24, CD30, CD33, CD38, CD44, EGFR, glicoproteína epitelial 2 (EPG-2), glicoproteína epitelial 40 (EPG-40), dímeros de EPHA2, erb-B2, erb-B3, erb-B4, erbB, EGFR vIII, proteína de ligação de folato (FBP), FCRL5, FCRH5, receptor de acetilcolina fetal, GD2, GD3, HMW-MAA, IL-22R-alfa, IL-13R-alfa2, receptor de domínio de inserção de cinase (kdr), cadeia kappa leve, Lewis Y, molécula de adesão de célula L1, (L1-CAM), antígeno associado ao melanoma (MAGE)-A1, MAGE-A3, MAGE-A6, antígeno preferencialmente expresso de melanoma (PRAME), survivina, TAG72, B7-H6, receptor alfa 2 de IL-13 (IL-13Ra2), CA9, GD3, HMW-MAA, CD171, G250/CAIX, HLA-AI MAGE AI, HLA-A2 NY-ESO-1, PSCA, receptor-a de folato, CD44v6, CD44v7/8, avb6 integrina, 8H9, NCAM, receptores de VEGF, 5T4, AchR fetal, ligantes de NKG2D, CD44v6, antígeno dual, um antígeno de câncer de testículos, mesotelina, CMV de murino, mucina 1 (MUC1), MUC16, PSCA, NKG2D, NY-ESO-1, MART-1, gp100, Receptor 5D Acoplado à Proteína G (GPCR5D), antígeno oncofetal, ROR1, TAG72, VEGF-R2, antígeno carcinoembrionário (CEA), Her2/neu, receptor de estrogênio, receptor de progesterona, efrinB2, CD123, c-Met, GD-2, O-acetilado GD2 (OGD2), CE7, Tumor de Wilms 1 (WT-1), uma ciclina, ciclina A2, CCL-1, CD138, opcionalmente um antígeno humano de qualquer um dos anteriores; um antígeno específico de patógeno; e um antígeno associado com um rótulo universal.

62. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 56 a 61, caracterizado pelo fato de que o antígeno é ou compreende CD19, opcionalmente CD19 humano.

63. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 56 a 61, caracterizado pelo fato de que o antígeno é ou compreende um antígeno associado com mieloma múltiplo, opcionalmente um BCMA, opcionalmente BCMA humano.

64. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 56 a 63, caracterizado pelo fato de que o domínio de ligação ao antígeno é ou compreende um anticorpo ou um fragmento de anticorpo do mesmo, que opcionalmente é um fragmento de cadeia simples.

65. Método de acordo com a reivindicação 64, caracterizado pelo fato de que o fragmento compreende regiões variáveis de anticorpo ligados por um ligante flexível.

66. Método de acordo com a reivindicação 64 ou 65, caracterizado pelo fato de que o fragmento compreende um scFv.

67. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 56 a 66, caracterizado pelo fato de que a terapia de célula T compreende um receptor recombinante que também compreende um espaçador, opcionalmente derivado de uma imunoglobulina, opcionalmente compreendendo uma região dobradiça.

68. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 56 a 67, caracterizado pelo fato de que o receptor de antígeno recombinante compreende uma região de sinalização intracelular.

69. Método de acordo com a reivindicação 68, caracterizado pelo fato de que a região de sinalização intracelular compreende um domínio de sinalização intracelular.

70. Método de acordo com a reivindicação 69, caracterizado pelo fato de que o domínio de sinalização intracelular é ou compreende um domínio de sinalização primária, um domínio de sinalização

que é capaz de induzir um sinal de ativação primária em uma célula T, um domínio de sinalização de um componente de receptor de célula T (TCR), e/ou um domínio de sinalização compreendendo um *motivo* de ativação com base em tirosina imunorreceptora (ITAM).

71. Método de acordo com a reivindicação 69 ou 70, caracterizado pelo fato de que o domínio de sinalização intracelular é ou compreende um domínio de sinalização intracelular de uma cadeia CD3, opcionalmente uma cadeia CD3-zeta (CD3 $\zeta$ ), ou uma porção de sinalização do mesmo.

72. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 69 a 71, caracterizado pelo fato de que o receptor recombinante também compreende o domínio de transmembrana disposto entre o domínio extracelular e a região de sinalização intracelular, em que o domínio de transmembrana é opcionalmente domínio de transmembrana de CD8 ou CD28.

73. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 69 a 72, caracterizado pelo fato de que a região de sinalização intracelular também compreende uma região de sinalização coestimulatória.

74. Método de acordo com a reivindicação 73, caracterizado pelo fato de que a região de sinalização coestimulatória compreende um domínio de sinalização intracelular de uma molécula coestimulatória de célula T ou uma porção de sinalização da mesma.

75. Método de acordo com a reivindicação 73 ou 74, caracterizado pelo fato de que a região de sinalização coestimulatória compreende um domínio de sinalização intracelular de um CD28, um 4-1BB ou um ICOS ou uma porção de sinalização dos mesmos.

76. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 73 a 75, caracterizado pelo fato de que a região de sinalização coestimulatória compreende um domínio de sinalização intracelular de

4-1BB.

77. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 73 a 76, caracterizado pelo fato de que a região de sinalização coestimulatória está entre o domínio de transmembrana e a região de sinalização intracelular.

78. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 77, caracterizado pelo fato de que a terapia de célula T compreende:

células T selecionadas do grupo que consiste em células T de memória central, células T de memória efetora, células T naive, células T de memória-tronco central, células T efetoras e células T regulatórias; e/ou

uma pluralidade de células, a pluralidade compreendendo pelo menos 50 % de uma população de células selecionada do grupo que consiste em células T CD4+, células T CD8+, células T de memória central, células T de memória efetora, células T naive, células T de memória-tronco central, células T efetoras e células T regulatórias.

79. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 78, caracterizado pelo fato de que a terapia de célula T compreende células T que são CD4+ ou CD8+.

80. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 79, caracterizado pelo fato de que a terapia de célula T compreende células primárias derivadas do indivíduo.

81. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 80, caracterizado pelo fato de que a terapia de célula T compreende células que são autólogas ao indivíduo.

82. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 81, caracterizado pelo fato de que a terapia de célula T compreende células T que são alogeneicas ao indivíduo.

83. Método de acordo com qualquer uma das reivindica-

ções 1 a 82, caracterizado pelo fato de que o indivíduo é um ser humano.

84. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 83, caracterizado pelo fato de que a terapia de célula T compreende a administração de ou de cerca de  $1 \times 10^5$  a  $1 \times 10^8$  células expressando receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), de ou de cerca de  $5 \times 10^5$  a  $1 \times 10^7$  células expressando receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs) ou de ou de cerca de  $1 \times 10^6$  a  $1 \times 10^7$  células expressando receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), cada qual inclusive.

85. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 84, caracterizado pelo fato de que a terapia de célula T compreende a administração de não mais do que  $1 \times 10^8$  células expressando receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), não mais do que  $1 \times 10^7$  células expressando receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), não mais do que  $0,5 \times 10^7$  células expressando receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), não mais do que  $1 \times 10^6$  células expressando receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), não mais do que  $0,5 \times 10^6$  células expressando receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs).

86. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 85, caracterizado pelo fato de que a quantidade de células administradas na terapia de célula T é menor do que a quantidade em outro método em que a terapia de célula T é administrada sem admi-

nistração do composto imunomodulatório, opcionalmente que o outro método resulta em um grau similar ou menor de melhora ou redução ou prevenção da doença ou condição ou sintoma ou carga da mesma, como comparado àquele resutante do método.

87. Método de acordo com a reivindicação 86, caracterizado pelo fato de que a quantidade de células administradas é 1,5 vezes, 2 vezes, 3 vezes, 4 vezes, 5 vezes, ou 10 vezes menor do que aquela administrada no outro método.

88. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 87, caracterizado pelo fato de que a terapia de célula T é administrada como uma única composição farmacêutica compreendendo as células.

89. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 88, caracterizado pelo fato de que a terapia de célula T compreende uma dose de célula que é uma dose dividida, em que as células da dose são administradas em uma pluralidade de composições, coletivamente compreendendo as células da dose, durante um período de não mais do que três dias.

90. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 89, caracterizado pelo fato de que o método também compreende administrar uma quimioterapia de linfodepleção antes da administração da terapia de célula T.

91. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 90, caracterizado pelo fato de que a doença ou condição é cancer.

92. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 91, caracterizado pelo fato de que o câncer é uma malignidade de célula B e/ou um mieloma, linfoma ou leucemia.

93. Método de acordo com a reivindicação 91 ou 92, caracterizado pelo fato de que o câncer é linfoma da célula do manto (MCL),



mieloma múltiplo (MM), leucemia linfoblástica aguda (LLA), LLA adulta, leucemia linfoblástica crônica (LLC), linfoma não Hodgkin (NHL), Linfoma de célula B Grande Difusa (DLBCL) ou linfoma folicular (FL).

94. Método de acordo com a reivindicação 91, caracterizado pelo fato de que o câncer é um câncer não hematológico ou é um tumor sólido.

95. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 94, caracterizado pelo fato de que a terapia de célula T exibe expansão e/ou persistência aumentada ou prolongada no indivíduo como comparado a um método, no qual a terapia de célula T é administrada ao indivíduo na ausência do composto imunomodulatório.

96. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 95, caracterizado pelo fato de que o método reduz a carga tumoral para um grau maior e/ou durante um maior período de tempo, como comparado à redução que seria observada com um método comparável, no qual a terapia de célula T é administrada ao indivíduo na ausência do composto imunomodulatório e/ou no qual o composto imunomodulatório é administrado na ausência da terapia de célula T, opcionalmente na mesma dose ou esquema posológico de dosagem.

97. Kit, caracterizado pelo fato de compreender:

(a) uma composição farmacêutica compreendendo uma dose unitária de uma terapia de célula T; e

(b) instruções para administração da composição a um indivíduo tendo uma doença ou condição em combinação com administração de uma composição compreendendo um composto imunomodulatório, em que o referido composto imunomodulatório é selecionado do grupo que consiste em: análogos de talidomida; derivados de talidomida; compostos que se ligam ao cereblon (CRBN) e/ou um ou mais membros do complexo de E3 ubiquitina CRBN-ligase; inibidores de Ikaros (IKZF1); inibidores de Aiolos (IKZF3); e compostos que realçam

ou promovem a ubiquitinação e/ou degradação de Ikaros (IKZF1) e/ou Aiolos (IKZF3), e em que as instruções especificam a administração do composto imunomodulatório em uma ou mais doses unitárias de acordo com um ciclo de administração compreendendo:

(i) administração do composto imunomodulatório durante até 21 dias consecutivos, em que o ciclo compreende mais do que 30 dias começando na iniciação da administração do composto imunomodulatório; e/ou

(ii) administração do composto imunomodulatório durante uma pluralidade de dias consecutivos seguidos por um período de repouso durante o qual o composto imunomodulatório não é administrado, em que o período de repouso é maior do que 14 dias consecutivos; e/ou

(iii) administração do composto imunomodulatório durante não mais do que 14 dias consecutivos.

98. Kit, caracterizado pelo fato de compreender:

(a) uma composição farmacêutica compreendendo uma ou mais doses unitárias de um composto imunomodulatório; e

(b) instruções para administração do composto imunomodulatório a um indivíduo tendo uma doença ou condição em combinação com administração de uma dose unitária de uma composição farmacêutica compreendendo uma terapia de célula T, em que o referido composto imunomodulatório é selecionado do grupo que consiste em: análogos de talidomida; derivados de talidomida; compostos que se ligam ao cereblon (CRBN) e/ou um ou mais membros do complexo de E3 ubiquitina CRBN-ligase; inibidores de Ikaros (IKZF1); inibidores de Aiolos (IKZF3); e compostos que realçam ou promovem a ubiquitinação e/ou degradação de Ikaros (IKZF1) e/ou Aiolos (IKZF3), e em que as instruções especificam a administração da uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório de acordo com um ciclo de ad-

ministração compreendendo:

(i) administração do composto imunomodulatório durante até 21 dias consecutivos, compreendendo mais do que 30 dias começando na iniciação da administração do composto imunomodulatório; e/ou

(ii) administração do composto imunomodulatório durante uma pluralidade de dias consecutivos seguidos por um período de repouso durante o qual o composto imunomodulatório não é administrado, em que o período de repouso é maior do que 14 dias consecutivos; e/ou

(iii) administração do composto imunomodulatório durante não mais do que 14 dias consecutivos.

99. Kit de acordo com a reivindicação 97 ou 98, caracterizado pelo fato de que as instruções especificam a iniciação da administração da uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório no mesmo dia, opcionalmente concorrentemente, como a iniciação da administração da terapia de célula T.

100. Kit de acordo com a reivindicação 97 ou 98, caracterizado pelo fato de que as instruções especificam a iniciação da administração da uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório antes da iniciação da administração da terapia de célula T.

101. Kit de acordo com a reivindicação 100, caracterizado pelo fato de que as instruções especificam a iniciação da administração da uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório:

(1) em ou dentro de uma semana antes de coleta, do indivíduo, de uma amostra compreendendo células T a serem modificadas, opcionalmente em que a amostra é uma amostra de aférese; e/ou

(2) em um momento quando uma ou mais etapas de um processo de fabricação *ex vivo* para produção da terapia de célula T

modificada; e/ou

(3) dentro de 14 dias antes de administração da terapia de célula T.

102. Kit de acordo com a reivindicação 101, caracterizado pelo fato de que uma ou mais etapas do processo de fabricação *ex vivo* são selecionadas de:

(1) isolamento de células de uma amostra biológica por leucaférese ou aférese;

(2) seleção ou enriquecimento de células por métodos com base em imunoafinidade;

(3) introdução de um ácido nucleico recombinante, opcionalmente um vetor viral, em células;

(4) incubação de células, opcionalmente modificadas, na presença de uma ou mais condições estimulantes;

(5) formulação de células na presença de um crioprotetor; e/ou

(6) formulação de células para administração a um indivíduo, opcionalmente na presença de um excipiente farmacologicamente aceitável.

103. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 97 a 102, caracterizado pelo fato de que as instruções especificam a iniciação da administração da uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório dentro de 10 dias, 7 dias, 4 dias, 3 dias ou 2 dias antes da iniciação da administração da terapia de célula T.

104. Kit de acordo com a reivindicação 97 ou 98, caracterizado pelo fato de que as instruções especificam a iniciação da administração da uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório após a iniciação da administração da terapia de célula T.

105. Kit de acordo com a reivindicação 104, caracterizado pelo fato de que as instruções especificam a iniciação da administra-

ção da uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório pelo menos 2 dias após, pelo menos 1 semana após, pelo menos 2 semanas após, pelo menos 3 semanas após, ou pelo menos 4 semanas após, a iniciação da administração da terapia de célula T, e/ou 2 a 28 dias ou 7 a 21 dias após a iniciação da administração da terapia de célula T.

106. Kit, caracterizado pelo fato de compreender:

(a) uma composição farmacêutica compreendendo uma dose unitária de uma terapia de célula T; e

(b) instruções para administração da composição a um indivíduo tendo uma doença ou condição em combinação com administração de um composto imunomodulatório, em que o referido composto imunomodulatório é selecionado do grupo que consiste em: análogos de talidomida; derivados de talidomida; compostos que se ligam ao cereblon (CRBN) e/ou um ou mais membros do complexo de E3 ubiquitina CRBN-ligase; inibidores de Ikaros (IKZF1); inibidores de Aiolos (IKZF3); e compostos que realçam ou promovem a ubiquitinação e/ou degradação de Ikaros (IKZF1) e/ou Aiolos (IKZF3), e em que as instruções especificam iniciação da administração do composto imunomodulatório em uma ou mais doses unitárias em um momento:

(1) pelo menos 2 dias após, pelo menos 1 semana após, pelo menos 2 semanas após, pelo menos 3 semanas após, ou pelo menos 4 semanas após, a iniciação da administração da terapia de célula T, e/ou é realizada 2 a 28 dias ou 7 a 21 dias após a iniciação da administração da terapia de célula T; e/ou

(2) em ou após, opcionalmente imediatamente após ou dentro de 1 a 3 dias após: (i) pico ou nível máximo das células da terapia de célula T ser detectável no sangue do indivíduo; (ii) o número de células da terapia de célula T detectável no sangue, após ter sido detectável no sangue, é não detectável ou é reduzido, opcionalmente

reduzido em comparação com um ponto de tempo anterior após administração da terapia de célula T; (iii) o número de células da terapia de célula T detectável no sangue é diminuído em ou mais do que 1,5 vezes, 2,0 vezes, 3,0 vezes, 4,0 vezes, 5,0 vezes, 10 vezes ou mais o número de pico ou máximo de células da terapia de célula T detectável no sangue do indivíduo após a iniciação da administração da terapia de célula T; (iv) em um momento após um nível de pico ou máximo das células da terapia de célula T ser detectável no sangue do indivíduo, o número de células de ou derivado das células T detectável no sangue do indivíduo é menor do que menor do que 10%, menor do que 5%, menor do que 1% ou menor do que 0,1% de células mononucleares de sangue periférico total (PBMCs) no sangue do indivíduo; (v) o indivíduo exibe progressão de doença e/ou tem recaída após remissão após tratamento com a terapia de célula T; e/ou (iv) o indivíduo exibe carga tumoral aumentada em comparação com a carga tumoral em um momento antes de ou após a administração das células T e antes da iniciação da administração do composto imunomodulatório.

107. Kit, caracterizado pelo fato compreender:

(a) uma composição farmacêutica compreendendo uma ou mais doses unitárias de um composto imunomodulatório, em que o referido composto imunomodulatório é selecionado do grupo que consiste em: análogos de talidomida; derivados de talidomida; compostos que se ligam ao cereblon (CRBN) e/ou um ou mais membros do complexo de E3 ubiquitina CRBN-ligase; inibidores de Ikaros (IKZF1); inibidores de Aiolos (IKZF3); e compostos que realçam ou promovem a ubiquitinação e/ou degradação de Ikaros (IKZF1) e/ou Aiolos (IKZF3); e

(b) instruções para administração do composto imunomodulatório a um indivíduo tendo uma doença ou condição em combinação com administração de uma dose unitária de uma composição farma-

cêutica compreendendo uma terapia de célula T, em que as instruções especificam a iniciação da administração da uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório em um momento:

(1) pelo menos 2 dias após, pelo menos 1 semana após, pelo menos 2 semanas após, pelo menos 3 semanas após, ou pelo menos 4 semanas após, a iniciação da administração da terapia de célula T, e/ou é realizada 2 a 28 dias ou 7 a 21 dias após a iniciação da administração da terapia de célula T; e/ou

(2) em ou após, opcionalmente imediatamente após ou dentro de 1 a 3 dias após: (i) pico ou nível máximo das células da terapia de célula T ser detectável no sangue do indivíduo; (ii) o número de células da terapia de célula T detectável no sangue, após ter sido detectável no sangue, é não detectável ou é reduzido, opcionalmente reduzido em comparação com um ponto de tempo anterior após administração da terapia de célula T; (iii) o número de células da terapia de célula T detectável no sangue é diminuído em ou mais do que 1,5 vezes, 2,0 vezes, 3,0 vezes, 4,0 vezes, 5,0 vezes, 10 vezes ou mais o número de pico ou máximo de células da terapia de célula T detectável no sangue do indivíduo após a iniciação da administração da terapia de célula T; (iv) em um momento após um nível de pico ou máximo das células da terapia de célula T ser detectável no sangue do indivíduo, o número de células de ou derivado das células T detectável no sangue do indivíduo é menor do que menor do que 10%, menor do que 5%, menor do que 1% ou menor do que 0,1% de células mononucleares de sangue periférico total (PBMCs) no sangue do indivíduo; (v) o indivíduo exibe progressão de doença e/ou tem recaída após remissão após tratamento com a terapia de célula T; e/ou (iv) o indivíduo exibe carga tumoral aumentada em comparação com a carga tumoral em um momento antes de ou após a administração das células T e antes da iniciação da administração do composto imunomodulatório.

108. Kit de acordo com a reivindicação 106 ou 107, caracterizado pelo fato de que as instruções especificam a iniciação da administração da uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório em um momento que é maior do que ou maior do que cerca de 14 dias, 15 dias, 16 dias, 17 dias, 18 dias, 19, dias, 20 dias, 21 dias, 24 dias, ou 28 dias após a iniciação da administração da terapia de célula T.

109. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 106 a 108, caracterizado pelo fato de que as instruções especificam a seleção de um indivíduo para a administração da uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório, após ter sido administrada a terapia de célula T, em que: (i) pico ou nível máximo das células da terapia de célula T ser detectável no sangue do indivíduo; (ii) o número de células da terapia de célula T detectável no sangue, após ter sido detectável no sangue, é não detectável ou é reduzido, opcionalmente reduzido em comparação com um ponto de tempo anterior após administração da terapia de célula T; (iii) o número de células da terapia de célula T detectável no sangue é diminuído em ou mais do que 1.5 vezes, 2,0 vezes, 3,0 vezes, 4,0 vezes, 5,0 vezes, 10 vezes ou mais o número de pico ou máximo de células da terapia de célula T detectável no sangue do indivíduo após a iniciação da administração da terapia de célula T; (iv) em um momento após um nível de pico ou máximo das células da terapia de célula T ser detectável no sangue do indivíduo, o número de células de ou derivado das células T detectável no sangue do indivíduo é menor do que menor do que 10%, menor do que 5%, menor do que 1% ou menor do que 0,1% de células mononucleares de sangue periférico total (PBMCs) no sangue do indivíduo; (v) o indivíduo exibe progressão de doença e/ou tem recaída após remissão após tratamento com a terapia de célula T; e/ou (iv) o indivíduo exibe carga tumoral aumentada em comparação com a carga tumoral



em um momento antes de ou após a administração das células T e antes da iniciação da administração do composto imunomodulatório.

110. Kit, caracterizado pelo fato de compreender:

(a) uma composição farmacêutica compreendendo uma dose unitária de uma terapia de célula T; e

(b) instruções para administração da composição a um indivíduo tendo uma doença ou condição em combinação com administração um composto imunomodulatório, em que o referido composto imunomodulatório é selecionado do grupo que consiste em: análogos de talidomida; derivados de talidomida; compostos que se ligam ao cereblon (CRBN) e/ou um ou mais membros do complexo de E3 ubiquitina CRBN-ligase; inibidores de Ikaros (IKZF1); inibidores de Aiolos (IKZF3); e compostos que realçam ou promovem a ubiquitinação e/ou degradação de Ikaros (IKZF1) e/ou Aiolos (IKZF3), e em que as instruções especificam a administração do composto imunomodulatório a um indivíduo em uma ou mais doses unitárias se no ou cerca do dia 12 a 15, opcionalmente no ou cerca do dia 14, após a iniciação da administração da terapia de célula T para o tratamento de uma doença ou condição:

(i) o número de células da terapia de célula T no indivíduo for menor do que 75% do número médio de células da terapia de célula T ao mesmo tempo em uma pluralidade de indivíduos administrados com a mesma dose ou similar da terapia de célula T; e/ou

(ii) o número de células CD3<sup>+</sup> ou CD8<sup>+</sup> da terapia de célula T, opcionalmente células CAR<sup>+</sup> T, no sangue for menor do que 10 células por  $\mu\text{L}$ , menor do que 5 células por  $\mu\text{L}$  ou menor do que por 1 células por  $\mu\text{L}$ .

111. Kit, caracterizado pelo fato de compreender:

(a) uma composição farmacêutica compreendendo uma ou mais doses unitárias de um composto imunomodulatório, em que o

referido composto imunomodulatório é selecionado do grupo que consiste em: análogos de talidomida; derivados de talidomida; compostos que se ligam ao cereblon (CRBN) e/ou um ou mais membros do complexo de E3 ubiquitina CRBN-ligase; inibidores de Ikaros (IKZF1); inibidores de Aiolos (IKZF3); e compostos que realçam ou promovem a ubiquitinação e/ou degradação de Ikaros (IKZF1) e/ou Aiolos (IKZF3); e

(b) instruções para administração da uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório a um indivíduo tendo uma doença ou condição em combinação com administração de uma composição farmacêutica compreendendo uma dose unitária de uma terapia de célula T, em que as instruções especificam a administração da uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório a um indivíduo se no ou cerca do dia 12 a 15, opcionalmente no ou cerca do dia 14, após a iniciação da administração da terapia de célula T para o tratamento de uma doença ou condição:

(i) o número de células da terapia de célula T no indivíduo for menor do que 75% do número médio de células da terapia de célula T ao mesmo tempo em uma pluralidade de indivíduos administrados com a mesma dose ou similar da terapia de célula T; e/ou

(ii) o número de células CD3+ ou CD8+ da terapia de célula T, opcionalmente células CAR+ T, no sangue for menor do que 10 células por  $\mu\text{L}$ , menor do que 5 células por  $\mu\text{L}$  ou menor do que por 1 células por  $\mu\text{L}$ .

112. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 97 a 111, caracterizado pelo fato de que o composto imunomodulatório é formulado em uma quantidade para administração diária e/ou as instruções especificam a administração do composto imunomodulatório diariamente.

113. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 97

a 112, caracterizado pelo fato de que as instruções especificam a administração do composto imunomodulatório durante mais do que ou mais do que cerca de 7 dias consecutivos, mais do que ou mais do que cerca de 14 dias consecutivos, mais do que ou mais do que cerca de 21 dias consecutivos, mais do que ou mais do que cerca de 21 dias consecutivos, ou mais do que ou mais do que cerca de 28 dias consecutivos.

114. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 97 a 113, caracterizado pelo fato de que as instruções especificam a administração do composto imunomodulatório em um ciclo de administração compreendendo administração diária durante uma pluralidade de dias consecutivos seguidos por um período de repouso durante o qual o composto imunomodulatório não é administrado.

115. Kit de acordo com a reivindicação 114, caracterizado pelo fato de que as instruções especificam o período de repouso, durante o qual o composto imunomodulatório não é administrado, que é maior do que 7 dias consecutivos, maior do que 14 dias consecutivos, maior do que 21 dias, ou maior do que 28 dias.

116. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 97 a 115, caracterizado pelo fato de que as instruções especificam que o ciclo de administração do composto imunomodulatório é repetido pelo menos uma vez.

117. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 97 a 116, caracterizado pelo fato de que as instruções especificam a continuação da administração do composto imunomodulatório, a partir de pelo menos após a iniciação da administração das células T, até:

o número de células de ou derivado da terapia de célula T administrada detectável no sangue do indivíduo ser aumentado em comparação ao indivíduo em um ponto de tempo anterior exatamente antes de administração do composto imunomodulatório ou em compa-

ração a um ponto de tempo anterior após administração da terapia de célula T;

o número de células de ou derivado da terapia de célula T detectável no sangue estiver dentro de 2,0 vezes (mais ou menos) o número de pico ou máximo observado no sangue do indivíduo após a iniciação da administração das células T;

o número de células da terapia de célula T detectável no sangue do indivíduo ser maior do que ou maior do que cerca de 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50%, ou 60% de células mononucleares de sangue periférico total (PBMCs) no sangue do indivíduo; e/ou

o indivíduo exibir uma redução na carga tumoral em comparação com uma carga tumoral em um momento imediatamente antes a administração da terapia de célula T ou em um momento imediatamente antes de a administração do composto imunomodulatório; e/ou

o indivíduo exibir remissão completa ou clínica.

118. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 97 a 117, caracterizado pelo fato de que o composto imunomodulatório é 3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona, pomalidomida, ou 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, um estereoisômero de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona, pomalidomida, 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatarato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável dos mesmos.

119. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 97 a 118, caracterizado pelo fato de que o composto imunomodulatório é ou 3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona, ou um estereoisômero do mesmo, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatarato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo.

120. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 97

a 119, caracterizado pelo fato de que o composto imunomodulatório é 3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona.

121. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 97 a 118, caracterizado pelo fato de que o composto imunomodulatório é 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, ou um estereoisômero do mesmo, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatarato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo.

122. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 97 a 118 e 121, caracterizado pelo fato de que o composto imunomodulatório é 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona.

123. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 97 a 122, caracterizado pelo fato de que o composto imunomodulatório é formulado para a administração oralmente, subcutaneamente, ou intravenosamente.

124. Kit de acordo com a reivindicação 123, caracterizado pelo fato de que o composto imunomodulatório é formulado para administração oral.

125. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 97 a 124, caracterizado pelo fato de que o composto imunomodulatório é formulado em uma cápsula ou um comprimido.

126. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 97 a 125, caracterizado pelo fato de que:

Cada uma das uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório compreende uma quantidade de ou de cerca de 0,1 mg a cerca de 100 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 50 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 25 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 10 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 5 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 1 mg, de ou de cerca de 1 mg a 100 mg, de ou de cerca de 1 mg a 50 mg, de ou de cerca de 1 mg a 25 mg, de ou de cerca de 1 mg a 10 mg, de ou de

cerca de 1 mg a 5 mg, de ou de cerca de 5 mg a 100 mg, de ou de cerca de 5 mg a 50 mg, de ou de cerca de 5 mg a 25 mg, de ou de cerca de 5 mg a 10 mg, de ou de cerca de 10 mg a 100 mg, de ou de cerca de 10 mg a 50 mg, de ou de cerca de 10 mg a 25 mg, de ou de cerca de 25 mg a 100 mg, de ou de cerca de 25 mg a 50 mg ou de ou de cerca de 50 mg a 100 mg, cada qual inclusive; e/ou

Cada uma das uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório compreende uma quantidade de pelo menos ou pelo menos cerca de 0,1 mg, 0,5 mg, 1,0 mg, 2,5 mg, 5 mg, 10 mg, 25 mg, 50 mg ou 100 mg.

127. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 97 a 126, caracterizado pelo fato de que cada uma das uma ou mais doses unitárias do composto imunomodulatório compreende uma quantidade maior do que ou maior do que cerca de 1 mg, 2,5 mg, 5 mg, 7,5 mg, 10 mg, 15 mg e menor do que 25 mg.

128. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 97 a 127, caracterizado pelo fato de que a terapia de célula T é ou compreende terapia linfocítica infiltrante de tumor (TIL) ou células geneticamente modificadas expressando um receptor recombinante que especificamente se liga a um antígeno.

129. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 97 a 128, caracterizado pelo fato de que a terapia de célula T é ou compreende células geneticamente modificadas expressando um receptor recombinante que especificamente se liga a um antígeno.

130. Kit de acordo com a reivindicação 128 ou 129, caracterizado pelo fato de que o receptor recombinante é ou compreende um receptor de antígeno não TCR funcional ou um TCR ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo.

131. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 128 a 130, caracterizado pelo fato de que o receptor de antígeno re-

combinante é um receptor de antígeno quimérico (CAR).

132. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 128 a 131, caracterizado pelo fato de que o receptor de antígeno recombinante compreende um domínio extracelular compreendendo um domínio de ligação ao antígeno que especificamente se liga a um antígeno.

133. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 128 a 132, caracterizado pelo fato de que o antígeno é associado com, específico para, e/ou expresso em uma célula ou tecido de uma doença, distúrbio ou condição.

134. Kit de acordo com a reivindicação 133, caracterizado pelo fato de que a doença, distúrbio ou condição é uma doença ou distúrbio infeccioso, uma doença autoimune, uma doença inflamatória, ou um tumor ou um câncer.

135. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 128 a 134, caracterizado pelo fato de que o antígeno é um antígeno tumoral.

136. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 128 a 135, caracterizado pelo fato de que o antígeno é selecionado dentre ROR1, antígeno de maturação de célula B (BCMA), anidrase carbônica 9 (CAIX), Her2/neu (tirosina cinase receptora erbB2), L1-CAM, CD19, CD20, CD22, mesotelina, CEA, e antígeno de superfície de hepatite B, receptor de antifolato, CD23, CD24, CD30, CD33, CD38, CD44, EGFR, glicoproteína epitelial 2 (EPG-2), glicoproteína epitelial 40 (EPG-40), dímeros de EPHA2, erb-B2, erb-B3, erb-B4, erbB, EGFR vIII, proteína de ligação de folato (FBP), FCRL5, FCRH5, receptor de acetilcolina fetal, GD2, GD3, HMW-MAA, IL-22R-alfa, IL-13R-alfa2, receptor de domínio de inserção de cinase (kdr), cadeia kappa leve, Lewis Y, molécula de adesão de célula L1, (L1-CAM), antígeno associado ao melanoma (MAGE)-A1, MAGE-A3, MAGE-A6,

antígeno preferencialmente expresso de melanoma (PRAME), survivina, TAG72, B7-H6, receptor alfa 2 de IL-13 (IL-13Ra2), CA9, GD3, HMW-MAA, CD171, G250/CAIX, HLA-AI MAGE AI, HLA-A2 NY-ESO-1, PSCA, receptor-a de folato, CD44v6, CD44v7/8, avb6 integrina, 8H9, NCAM, receptores de VEGF, 5T4, AchR fetal, ligantes de NKG2D, CD44v6, antígeno dual, um antígeno de câncer de testículos, mesotelina, CMV de murino, mucina 1 (MUC1), MUC16, PSCA, NKG2D, NY-ESO-1, MART-1, gp100, Receptor 5D Acoplado à Proteína G (GPCR5D), antígeno oncofetal, ROR1, TAG72, VEGF-R2, antígeno carcinoembriônico (CEA), Her2/neu, receptor de estrogênio, receptor de progesterona, efrinB2, CD123, c-Met, GD-2, O-acetilado GD2 (OGD2), CE7, Tumor de Wilms 1 (WT-1), uma ciclina, ciclina A2, CCL-1, CD138, opcionalmente um antígeno humano de qualquer um dos anteriores; um antígeno específico de patógeno; e um antígeno associado com um rótulo universal.

137. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 128 a 136, caracterizado pelo fato de que o antígeno é ou compreende CD19, opcionalmente CD19 humano.

138. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 128 a 137, caracterizado pelo fato de que o antígeno é ou compreende BCMA, opcionalmente BCMA humano.

139. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 128 a 138, caracterizado pelo fato de que o domínio de ligação ao antígeno é ou compreende um anticorpo ou um fragmento de anticorpo do mesmo, que opcionalmente é um fragmento de cadeia simples.

140. Kit de acordo com a reivindicação 139, caracterizado pelo fato de que o fragmento compreende regiões variáveis de anticorpo ligados por um ligante flexível.

141. Kit de acordo com a reivindicação 139 ou 140, caracterizado pelo fato de que o fragmento compreende um scFv.



142. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 128 a 141, caracterizado pelo fato de que o receptor recombinante também compreende um espaçador, opcionalmente derivado de uma imunoglobulina, opcionalmente compreendendo uma região dobradiça.

143. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 128 a 142, caracterizado pelo fato de que o receptor de antígeno recombinante compreende uma região de sinalização intracelular.

144. Kit de acordo com a reivindicação 143, caracterizado pelo fato de que a região de sinalização intracelular compreende um domínio de sinalização intracelular.

145. Kit de acordo com a reivindicação 144, caracterizado pelo fato de que o domínio de sinalização intracelular é ou compreende um domínio de sinalização primária, um domínio de sinalização que é capaz de induzir um sinal de ativação primária em uma célula T, um domínio de sinalização de um componente de receptor de célula T (TCR), e/ou um domínio de sinalização compreendendo um *motivo* de ativação com base em tirosina imunorreceptora (ITAM).

146. Kit de acordo com a reivindicação 144 ou 145, caracterizado pelo fato de que o domínio de sinalização intracelular é ou compreende um domínio de sinalização intracelular de uma cadeia CD3, opcionalmente uma cadeia CD3-zeta (CD3ζ), ou uma porção de sinalização do mesmo.

147. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 144 a 146, caracterizado pelo fato de que o receptor recombinante também compreende o domínio de transmembrana disposto entre o domínio extracelular e a região de sinalização intracelular, em que o domínio de transmembrana é opcionalmente domínio de transmembrana de CD8 ou CD28.

148. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 144 a 147, caracterizado pelo fato de que a região de sinalização in-

tracelular também compreende uma região de sinalização coestimulatória.

149. Kit de acordo com a reivindicação 148, caracterizado pelo fato de que a região de sinalização coestimulatória compreende um domínio de sinalização intracelular de uma molécula coestimulatória de célula T ou uma porção de sinalização do mesmo.

150. Kit de acordo com a reivindicação 148 ou 149, caracterizado pelo fato de que a região de sinalização coestimulatória compreende um domínio de sinalização intracelular de um CD28, um 4-1BB ou um ICOS ou uma porção de sinalização do mesmo.

151. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 148 a 150, caracterizado pelo fato de que a região de sinalização coestimulatória compreendendo um domínio de sinalização intracelular de 4-1BB.

152. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 148 a 151, caracterizado pelo fato de que a região de sinalização coestimulatória está entre o domínio de transmembrana e a região de sinalização intracelular.

153. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 97 a 152, caracterizado pelo fato de que a terapia de célula T compreende:

Células T selecionadas do grupo que consiste em células T de memória central, células T de memória efetora, células T naive, células T de memória-tronco central, células T efetoras e células T regulatórias; e/ou

uma pluralidade de células, a pluralidade compreendendo pelo menos 50 % de uma população de células selecionada do grupo que consiste em células T CD4+, células T CD8+, células T de memória central, células T de memória efetora, células T naive, células T de memória-tronco central, células T efetoras e células T regulatórias.

154. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 97 a 153, caracterizado pelo fato de que a terapia de célula T compreende células T que são CD4+ ou CD8+.

155. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 97 a 154, caracterizado pelo fato de que a terapia de célula T compreende células primárias derivadas do indivíduo.

156. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 97 a 155, caracterizado pelo fato de que a terapia de célula T é autóloga para o indivíduo.

157. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 97 a 156, caracterizado pelo fato de que a terapia de célula T é alogênea para o indivíduo.

158. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 97 a 157, caracterizado pelo fato de que o indivíduo é um ser humano.

159. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 97 a 158, caracterizado pelo fato de que a dose unitária da terapia de célula T compreende de ou de cerca de  $1 \times 10^5$  a  $1 \times 10^8$  células expressando receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), de ou de cerca de  $5 \times 10^5$  a  $1 \times 10^7$  células expressando receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs) ou de ou de cerca de  $1 \times 10^6$  a  $1 \times 10^7$  células expressando receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), cada qual inclusive.

160. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 97 a 159, caracterizado pelo fato de que a dose unitária da terapia de célula T compreende a administração de não mais do que  $1 \times 10^8$  células expressando receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), não mais do que  $1 \times 10^7$  células expressando receptor recombinante totais, células T

totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), não mais do que  $0,5 \times 10^7$  células expressando receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), não mais do que  $1 \times 10^6$  células expressando receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), não mais do que  $0,5 \times 10^6$  células expressando receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs).

161. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 97 a 160, caracterizado pelo fato de que a dose unitária da terapia de célula T compreende uma dose de célula que é uma dose dividida, em que as células da dose são administradas em uma pluralidade de composições, coletivamente compreendendo as células da dose, durante um período de não mais do que três dias.

162. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 97 a 161, caracterizado pelo fato de que as instruções também especificam a administração de uma quimioterapia de linfodepleção antes da administração da terapia de célula T.

163. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 97 a 162, caracterizado pelo fato de que a doença ou condição é câncer.

164. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 97 a 163, caracterizado pelo fato de que o câncer é uma malignidade de célula B e/ou um mieloma, linfoma ou leucemia.

165. Kit de acordo com a reivindicação 163 ou 164, caracterizado pelo fato de que o câncer é linfoma da célula do manto (MCL), mieloma múltiplo (MM), leucemia linfoblástica aguda (LLA), LLA adulta, leucemia linfoblástica crônica (LLC), linfoma não Hodgkin (NHL), Linfoma de célula B Grande Difusa (DLBCL) ou linfoma folicular (FL).

166. Kit de acordo com a reivindicação 163, caracterizado pelo fato de que o câncer é um câncer não hematológico ou é um tu-

mor sólido.

167. Artigo de fabricação, caracterizado pelo fato de compreender o kit como definido em qualquer uma das reivindicações 97 a 166.

168. Composição, caracterizada pelo fato de compreender uma terapia de célula T, um composto imunomodulatório e um veículo farmaceuticamente aceitável, em que o referido composto imunomodulatório é selecionado do grupo que consiste em: análogos de talidomida; derivados de talidomida; compostos que se ligam ao cereblon (CRBN) e/ou um ou mais membros do complexo de E3 ubiquitina CRBN-ligase; inibidores de Ikaros (IKZF1); inibidores de Aiolos (IKZF3); e compostos que realçam ou promovem a ubiquitinação e/ou degradação de Ikaros (IKZF1) e/ou Aiolos (IKZF3).

169. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 168, caracterizada pelo fato de que a terapia de célula T é formulada em uma quantidade de dose unitária.

170. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 169, caracterizada pelo fato de que a dose unitária da terapia de célula T compreende de ou de cerca de  $1 \times 10^5$  a  $1 \times 10^8$  células expressando receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), de ou de cerca de  $5 \times 10^5$  a  $1 \times 10^7$  células expressando receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs) ou de ou de cerca de  $1 \times 10^6$  a  $1 \times 10^7$  células expressando receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), cada qual inclusive.

171. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 169 ou 170, caracterizada pelo fato de que a dose unitária da terapia de célula T compreende a administração de não mais do que  $1 \times 10^8$  células expressando receptor recombinante totais, células T totais,

ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), não mais do que  $1 \times 10^7$  células expressando receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), não mais do que  $0,5 \times 10^7$  células expressando receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), não mais do que  $1 \times 10^6$  células expressando receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs), não mais do que  $0,5 \times 10^6$  células expressando receptor recombinante totais, células T totais, ou células mononucleares de sangue periférico totais (PBMCs).

172. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 168 a 171, caracterizada pelo fato de que o composto imunomodulatório é 3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona, pomalidomida, ou 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, um estereoisômero de 3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona, pomalidomida, 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatarato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável dos mesmos.

173. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 168 a 172, caracterizada pelo fato de que o composto imunomodulatório é 3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona, ou um estereoisômero do mesmo, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatarato ou polimorfo farmaceuticamente aceitável do mesmo.

174. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 168 a 173, caracterizada pelo fato de que o composto imunomodulatório é 3-(4-amino-1-oxo-1,3-di-hidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona.

175. Composição farmacêutica de acordo com qualquer

uma das reivindicações 168 a 172, caracterizada pelo fato de que o composto imunomodulatório é 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, ou um estereoisômero da mesma, ou um sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatarato ou polimorfo farmacêuticamente aceitável da mesma.

176. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 168 a 172 e 175, caracterizada pelo fato de que o composto imunomodulatório é 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona.

177. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 168 a 173, caracterizada pelo fato de que o composto imunomodulatório é formulado em uma quantidade de dose unitária.

178. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 168 a 177, caracterizada pelo fato de que:

a quantidade do composto imunomodulatório na composição é de ou de cerca de 0,1 mg a cerca de 100 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 50 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 25 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 10 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 5 mg, de ou de cerca de 0,1 mg a 1 mg, de ou de cerca de 1 mg a 100 mg, de ou de cerca de 1 mg a 50 mg, de ou de cerca de 1 mg a 25 mg, de ou de cerca de 1 mg a 10 mg, de ou de cerca de 1 mg a 5 mg, de ou de cerca de 5 mg a 100 mg, de ou de cerca de 5 mg a 50 mg, de ou de cerca de 5 mg a 25 mg, de ou de cerca de 5 mg a 10 mg, de ou de cerca de 10 mg a 100 mg, de ou de cerca de 10 mg a 50 mg, de ou de cerca de 10 mg a 25 mg, de ou de cerca de 25 mg a 100 mg, de ou de cerca de 25 mg a 50 mg ou de ou de cerca de 50 mg a 100 mg, cada qual inclusive; e/ou

a quantidade do composto imunomodulatório na composição é pelo menos ou pelo menos cerca de 0,1 mg, 0,5 mg, 1,0 mg, 2,5 mg, 5 mg, 10 mg, 25 mg, 50 mg ou 100 mg.

179. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 177 ou 178, caracterizada pelo fato de que a quantidade do composto imunomodulatório na composição é maior do que ou maior do que cerca de 1 mg, 2,5 mg, 5 mg, 7,5 mg, 10 mg, 15 mg e menor do que 25 mg.

180. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 168 a 179, caracterizada pelo fato de que a terapia de célula T é ou compreende terapia linfocítica infiltrante de tumor (TIL) ou células geneticamente modificadas expressando um receptor recombinante que especificamente se liga a um antígeno.

181. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 168 a 180, caracterizada pelo fato de que a terapia de célula T é ou compreende células geneticamente modificadas expressando um receptor recombinante que especificamente se liga a um antígeno.

182. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 180 ou 181, caracterizada pelo fato de que o receptor recombinante é ou compreende um receptor de antígeno não TCR funcional ou um TCR ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo.

183. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 180 a 182, caracterizada pelo fato de que o receptor de antígeno recombinante é um receptor de antígeno quimérico (CAR).

184. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 180 a 183, caracterizada pelo fato de que o receptor de antígeno recombinante compreende um domínio extracelular compreendendo um domínio de ligação ao antígeno que especificamente se liga a um antígeno.

185. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 180 a 184, caracterizada pelo fato de que o



antígeno é associado com, específico para, e/ou expresso em uma célula ou tecido de uma doença, distúrbio ou condição.

186. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 185, caracterizada pelo fato de que a doença, distúrbio ou condição é uma doença ou distúrbio infeccioso, uma doença autoimune, uma doença inflamatória, ou um tumor ou um câncer.

187. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 180 a 185, caracterizada pelo fato de que o antígeno um antígeno tumoral.

188. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 180 a 187, caracterizada pelo fato de que o antígeno é selecionado dentre ROR1, antígeno de maturação de célula B (BCMA), anidrase carbônica 9 (CAIX), Her2/neu (tirosina cinase receptora erbB2), L1-CAM, CD19, CD20, CD22, mesotelina, CEA, e antígeno de superfície de hepatite B, receptor de antifolato, CD23, CD24, CD30, CD33, CD38, CD44, EGFR, glicoproteína epitelial 2 (EPG-2), glicoproteína epitelial 40 (EPG-40), dímeros de EPHA2, erbB2, erb-B3, erb-B4, erbB, EGFR VIII, proteína de ligação de folato (FBP), FCRL5, FCRH5, receptor de acetilcolina fetal, GD2, GD3, HMW-MAA, IL-22R-alfa, IL-13R-alfa2, receptor de domínio de inserção de cinase (kdr), cadeia kappa leve, Lewis Y, molécula de adesão de célula L1, (L1-CAM), antígeno associado ao melanoma (MAGE)-A1, MAGE-A3, MAGE-A6, antígeno preferencialmente expresso de melanoma (PRAME), survivina, TAG72, B7-H6, receptor alfa 2 de IL-13 (IL-13Ra2), CA9, GD3, HMW-MAA, CD171, G250/CAIX, HLA-AI MAGE AI, HLA-A2 NY-ESO-1, PSCA, receptor-a de folato, CD44v6, CD44v7/8, avb6 integrina, 8H9, NCAM, receptores de VEGF, 5T4, AchR fetal, ligantes de NKG2D, CD44v6, antígeno dual, um antígeno de câncer de testículos, mesotelina, CMV de murino, mucina 1 (MUC1), MUC16, PSCA, NKG2D, NY-ESO-1, MART-1, gp100, Recep-

tor 5D Acoplado à Proteína G (GPCR5D), antígeno oncofetal, ROR1, TAG72, VEGF-R2, antígeno carcinoembrionário (CEA), Her2/neu, receptor de estrogênio, receptor de progesterona, efrinB2, CD123, c-Met, GD-2, O-acetilado GD2 (OGD2), CE7, Tumor de Wilms 1 (WT-1), uma ciclina, ciclina A2, CCL-1, CD138, opcionalmente um antígeno humano de qualquer um dos anteriores; um antígeno específico de patógeno; e um antígeno associado com um rótulo universal.

189. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 180 a 188, caracterizada pelo fato de que o antígeno é ou compreende CD19, opcionalmente CD19 humano.

190. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 180 a 189, caracterizada pelo fato de que o antígeno é ou compreende BCMA, opcionalmente BCMA humano.

191. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 180 a 190, caracterizada pelo fato de que o domínio de ligação ao antígeno é ou compreende um anticorpo ou um fragmento de anticorpo do mesmo, que opcionalmente é um fragmento de cadeia simples.

192. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 191, caracterizada pelo fato de que o fragmento compreende regiões variáveis de anticorpo ligados por um ligante flexível.

193. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 191 ou 192, caracterizada pelo fato de que o fragmento compreende um scFv.

194. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 180 a 193, caracterizada pelo fato de que o receptor recombinante também compreende um espaçador, opcionalmente derivado de uma imunoglobulina, opcionalmente compreendendo uma região dobradiça.

195. Composição farmacêutica de acordo com qualquer

uma das reivindicações 180 a 194, caracterizada pelo fato de que o receptor de antígeno recombinante compreende uma região de sinalização intracelular.

196. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 195, caracterizada pelo fato de que a região de sinalização intracelular compreende um domínio de sinalização intracelular.

197. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 196, caracterizada pelo fato de que o domínio de sinalização intracelular é ou compreende um domínio de sinalização primária, um domínio de sinalização que é capaz de induzir um sinal de ativação primária em uma célula T, um domínio de sinalização de um componente de receptor de célula T (TCR), e/ou um domínio de sinalização compreendendo um *motivo* de ativação om base em tirosina imunorreceptora (ITAM).

198. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 196 ou 197, caracterizada pelo fato de que o domínio de sinalização intracelular é ou compreende um domínio de sinalização intracelular de uma cadeia CD3, opcionalmente uma cadeia CD3-zeta (CD3ζ), ou uma porção de sinalização do mesmo.

199. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 195 a 198, caracterizada pelo fato de que o receptor recombinante também compreende o domínio de transmembrana disposto entre o domínio extracelular e a região de sinalização intracelular, em que o domínio de transmembrana é opcionalmente domínio de transmembrana de CD8 ou CD28.

200. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 195 a 199, caracterizada pelo fato de que a região de sinalização intracelular também compreende uma região de sinalização coestimulatória.

201. Composição farmacêutica de acordo com a reivindica-

ção 200, caracterizada pelo fato de que a região de sinalização coestimulatória compreende um domínio de sinalização intracelular de uma molécula coestimulatória de célula T ou uma porção de sinalização do mesmo.

202. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 200 ou 201, caracterizada pelo fato de que a região de sinalização coestimulatória compreende um domínio de sinalização intracelular de um CD28, um 4-1BB ou um ICOS ou uma porção de sinalização do mesmo.

203. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 200 a 202, caracterizada pelo fato de que a região de sinalização coestimulatória compreendendo um domínio de sinalização intracelular of 4-1BB.

204. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 200 a 203, caracterizada pelo fato de que a região de sinalização coestimulatória está entre o domínio de transmembrana e a região de sinalização intracelular.

205. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 200 a 204, caracterizada pelo fato de que o receptor recombinante é ou compreende um receptor de antígeno quimérico compreendendo um domínio de ligação ao antígeno, um espaçador, um domínio de transmembrana de CD28, um domínio de sinalização intracelular compreendendo a cadeia CD3-zeta (CD3 $\zeta$ ) e um domínio de sinalização intracelular de 4-1BB.

206. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 168 a 205, caracterizada pelo fato de que a terapia de célula T compreende:

Células T selecionadas do grupo que consiste em células T de memória central, células T de memória efetora, células T naive, células T de memória-tronco central, células T efetoras e células T regu-

latórias; e/ou

uma pluralidade de células, a pluralidade compreendendo pelo menos 50 % de uma população de células selecionada do grupo que consiste em células T CD4+, células T CD8+, células T de memória central, células T de memória efetora, células T naive, células T de memória-tronco central, células T efectoras e células T regulatórias.

207. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 168 a 206, caracterizada pelo fato de que a terapia de célula T compreende células T que são CD4+ ou CD8+.

208. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 207, caracterizada pelo fato de que a relação de células T CD4+ para CD8+ é de ou de cerca de 1:3 a 3:1, opcionalmente 1:1.

209. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 168 a 208, caracterizada pelo fato de que a terapia de célula T compreende células primárias derivadas do indivíduo.

210. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 209, caracterizada pelo fato de que o indivíduo é um ser humano.

211. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 168 a 210, caracterizada pelo fato de que compreende um volume de ou de cerca de 1 mL a 100 mL, 1 mL a 75 mL, 1 mL a 50 mL, 1 mL a 25 mL, 1 mL a 10 mL, 1 mL a 5 mL, 5 mL a 100 mL, 5 mL a 75 mL, 5 mL a 50 mL, 5 mL a 25 mL, 5 mL a 10 mL, 10 mL a 100 mL, 10 mL a 75 mL, 10 mL a 50 mL, 10 mL a 25 mL, 25 mL a 100 mL, 25 mL a 75 mL, 25 mL a 50 mL, 50 mL a 100 mL, 50 mL a 75 mL ou 75 mL a 100 mL.

212. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 168 a 211, caracterizada pelo fato de que compreende um volume de pelo menos ou cerca de pelo menos ou cerca de 1 mL, 5 mL, 10 mL, 20 mL, 25 mL, 30 mL, 40 mL, 50 mL, 60

mL, 70 mL, 80 mL, 90 mL ou 100 mL.

213. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 168 a 212, caracterizada pelo fato de que também compreende um crioprotetor.

214. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 168 a 213, caracterizada pelo fato de que é estéril.

215. Artigo de fabricação, caracterizado pelo fato de compreender composição farmacêutica como definida em qualquer uma das reivindicações 168 a 213.

216. Método de tratamento, caracterizado pelo fato de compreender a administração da composição farmacêutica como definida em qualquer uma das reivindicações 168 a 215 a um indivíduo para o tratamento de uma doença ou condição.

217. Método de acordo com a reivindicação 216, caracterizado pelo fato de que a doença ou condição é câncer.

218. Método de acordo com a reivindicação 217, caracterizado pelo fato de que o câncer é uma malignidade de célula B e/ou um mieloma, linfoma ou leucemia.

219. Método de acordo com a reivindicação 217 ou 218, caracterizado pelo fato de que o câncer é linfoma da célula do manto (MCL), mieloma múltiplo (MM), leucemia linfoblástica aguda (LLA), LLA adulta, leucemia linfoblástica crônica (LLC), linfoma não Hodgkin (NHL), Linfoma de célula B Grande Difusa (DLBCL) ou linfoma folicular (FL).

220. Método de acordo com a reivindicação 217, caracterizado pelo fato de que o câncer é um câncer não hematológico ou é um tumor sólido.

FIG. 1A

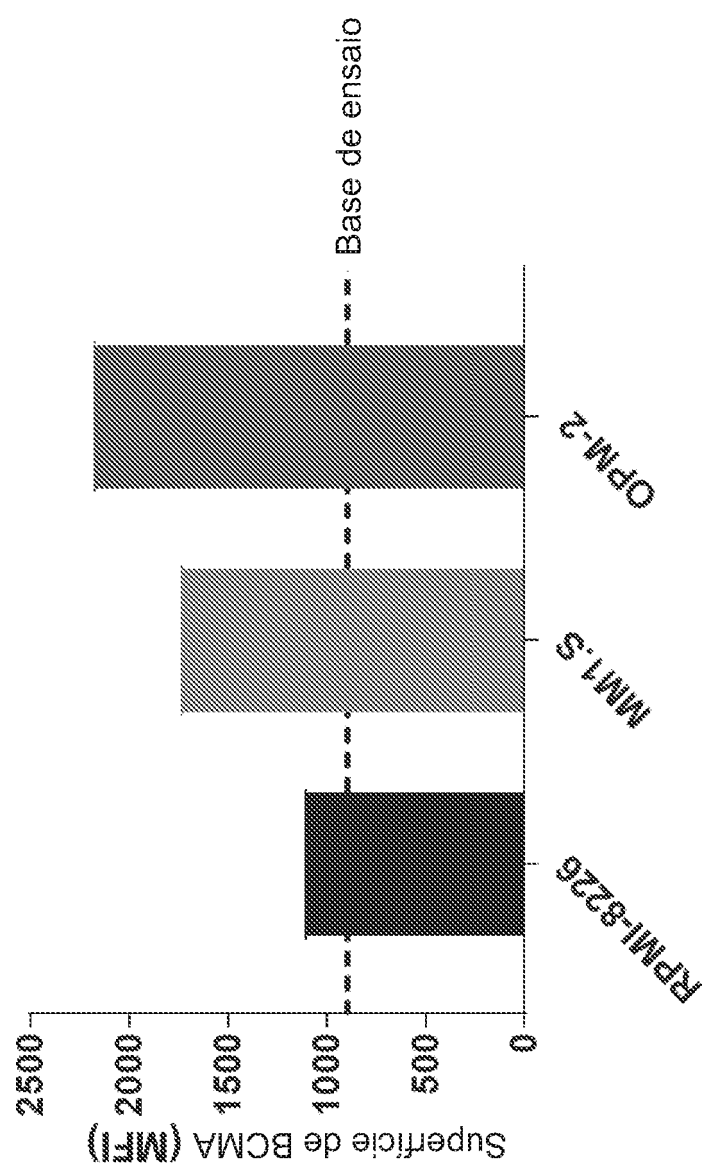


FIG. 1B

BCMA célula alvo : RPMI-8226

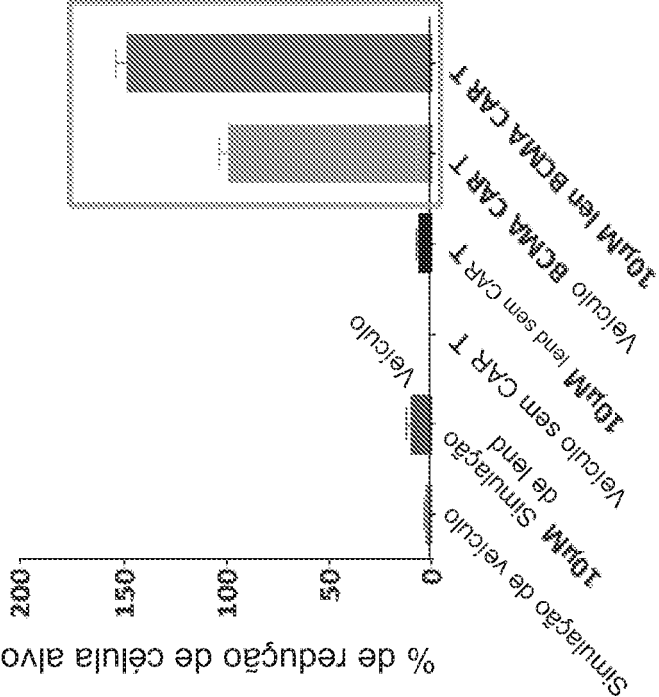
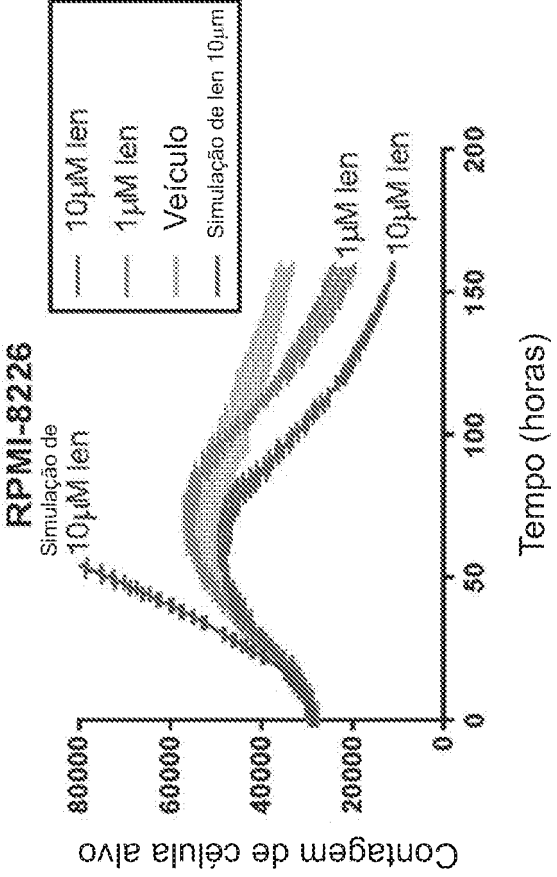


FIG. 1C





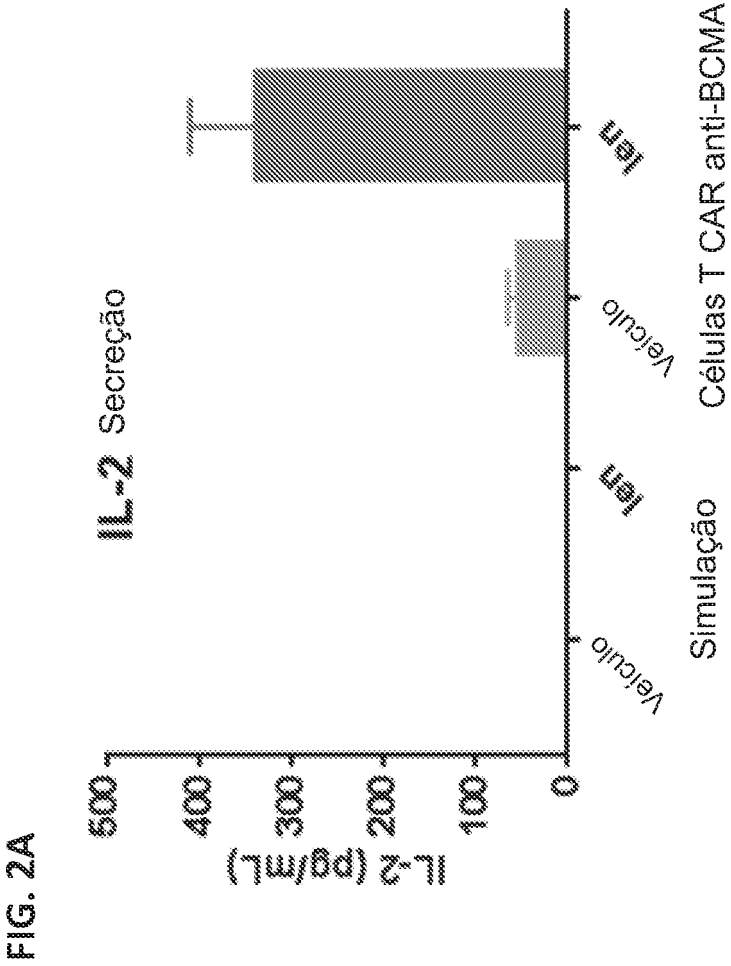
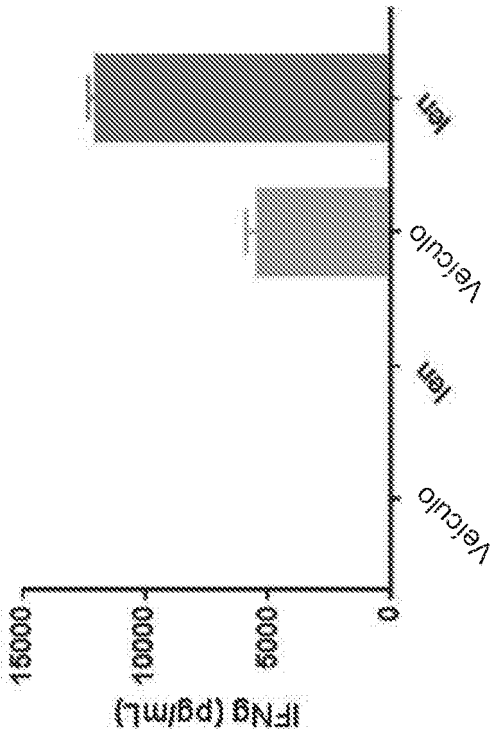


FIG. 2B

IFN $\gamma$  Secreção

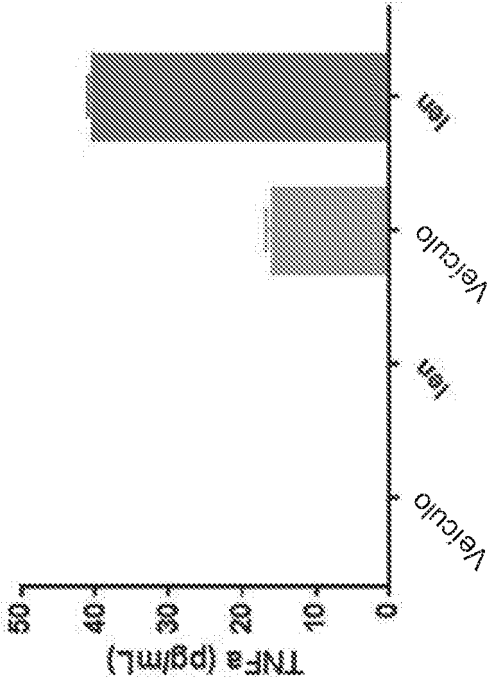


Simulação

Células T CAR anti-BCMA

FIG. 2C

TNF $\alpha$  Secreção



Simulação

Células T CAR anti-BCMA

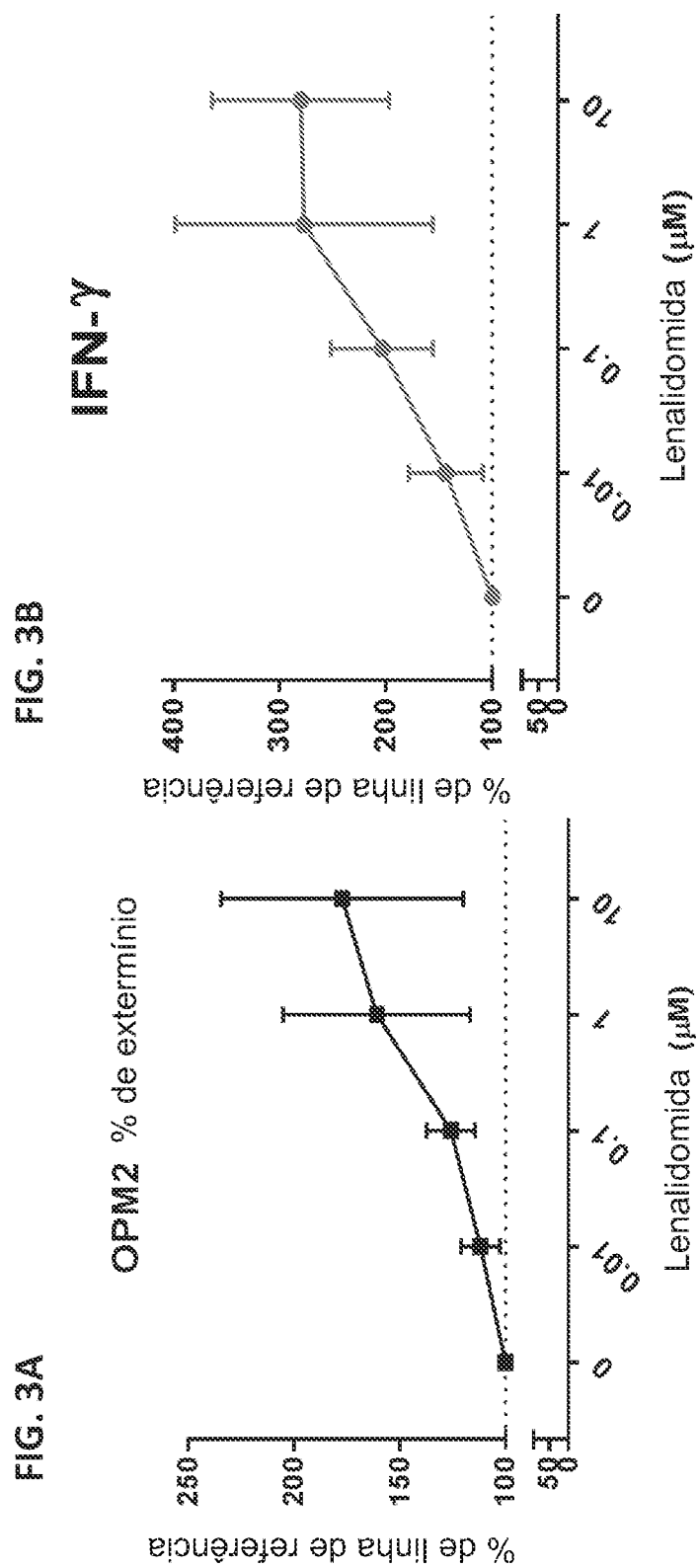


FIG. 3D

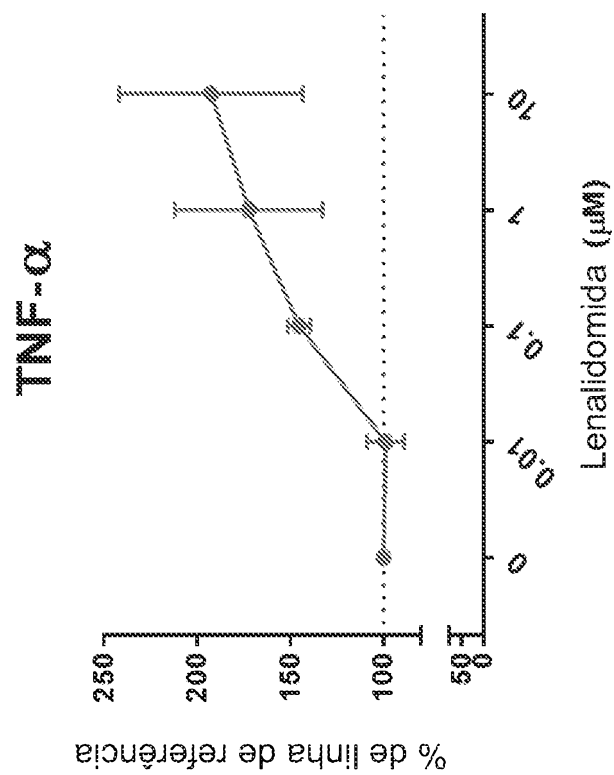


FIG. 3C

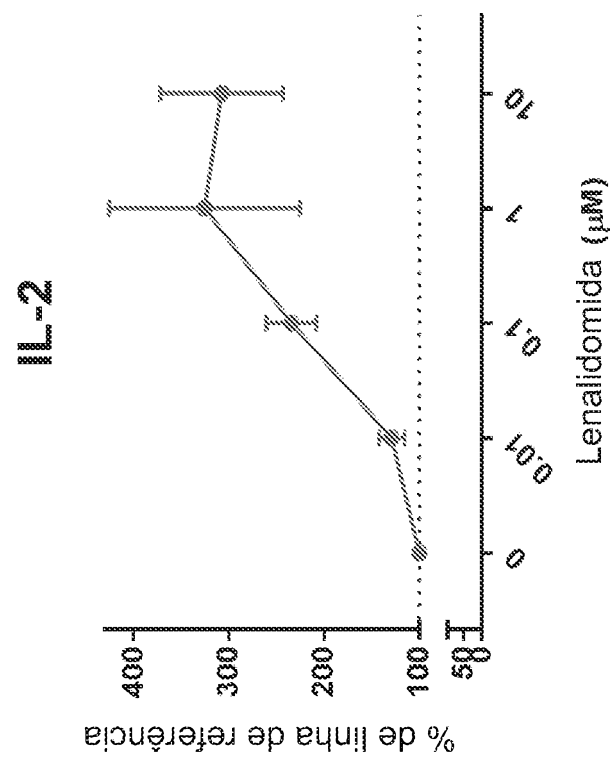


FIG. 3E

Saudável

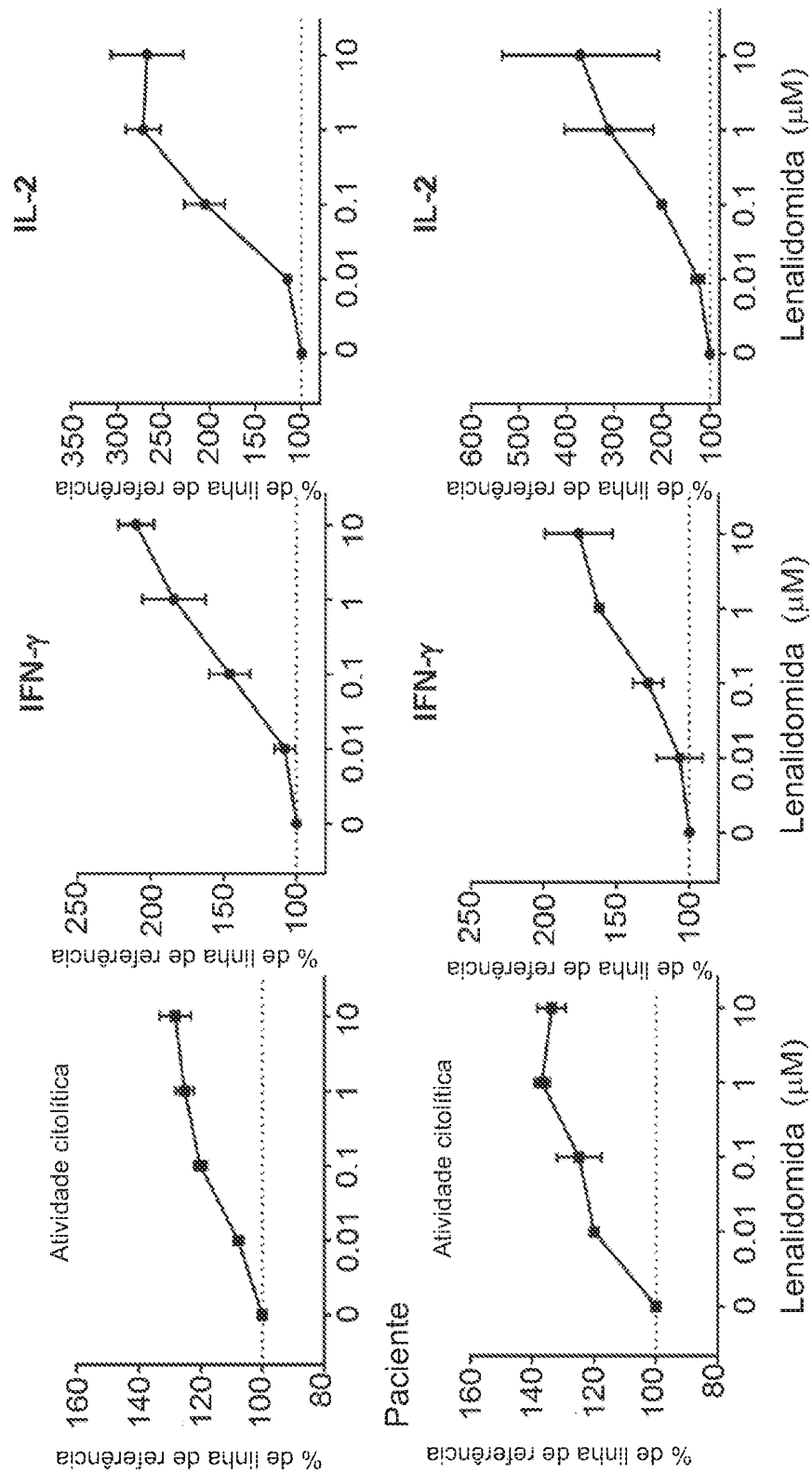


FIG. 3F

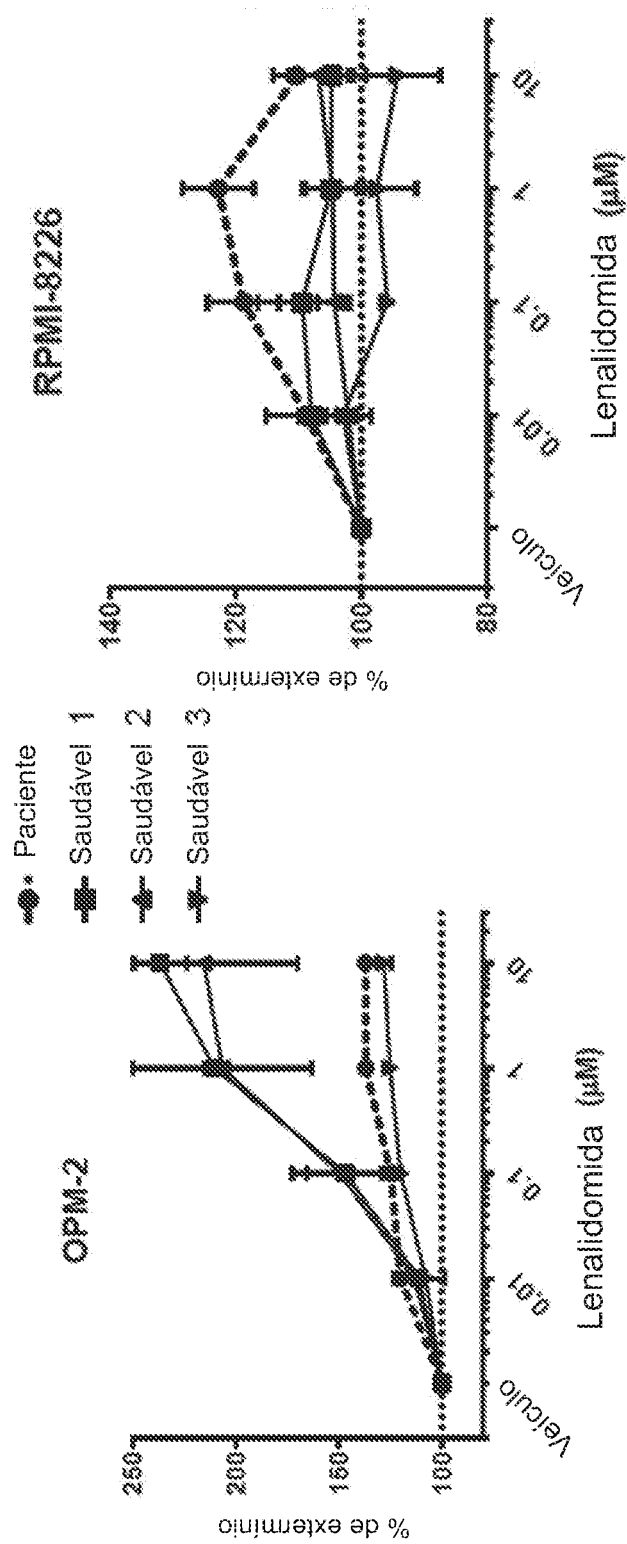
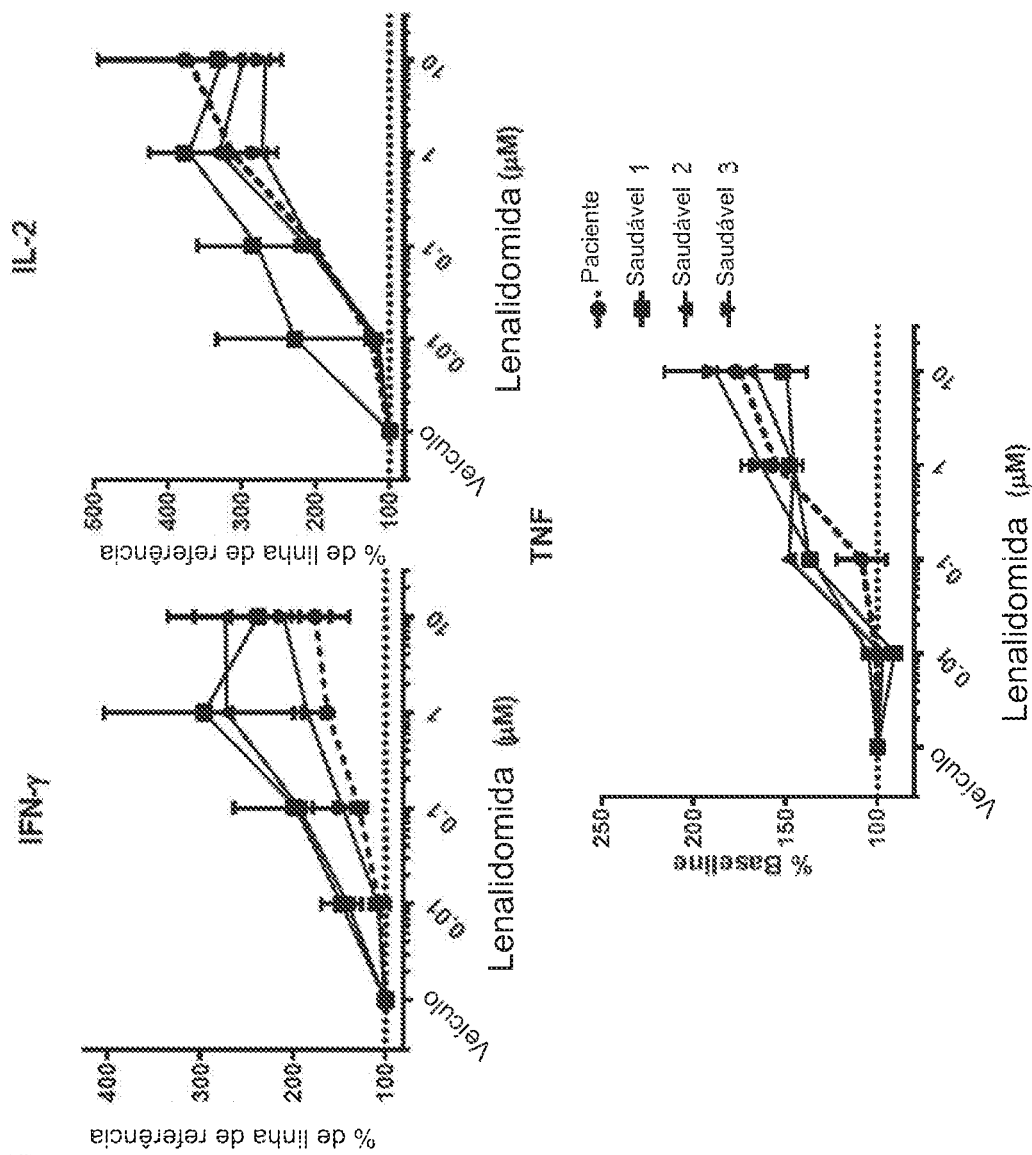
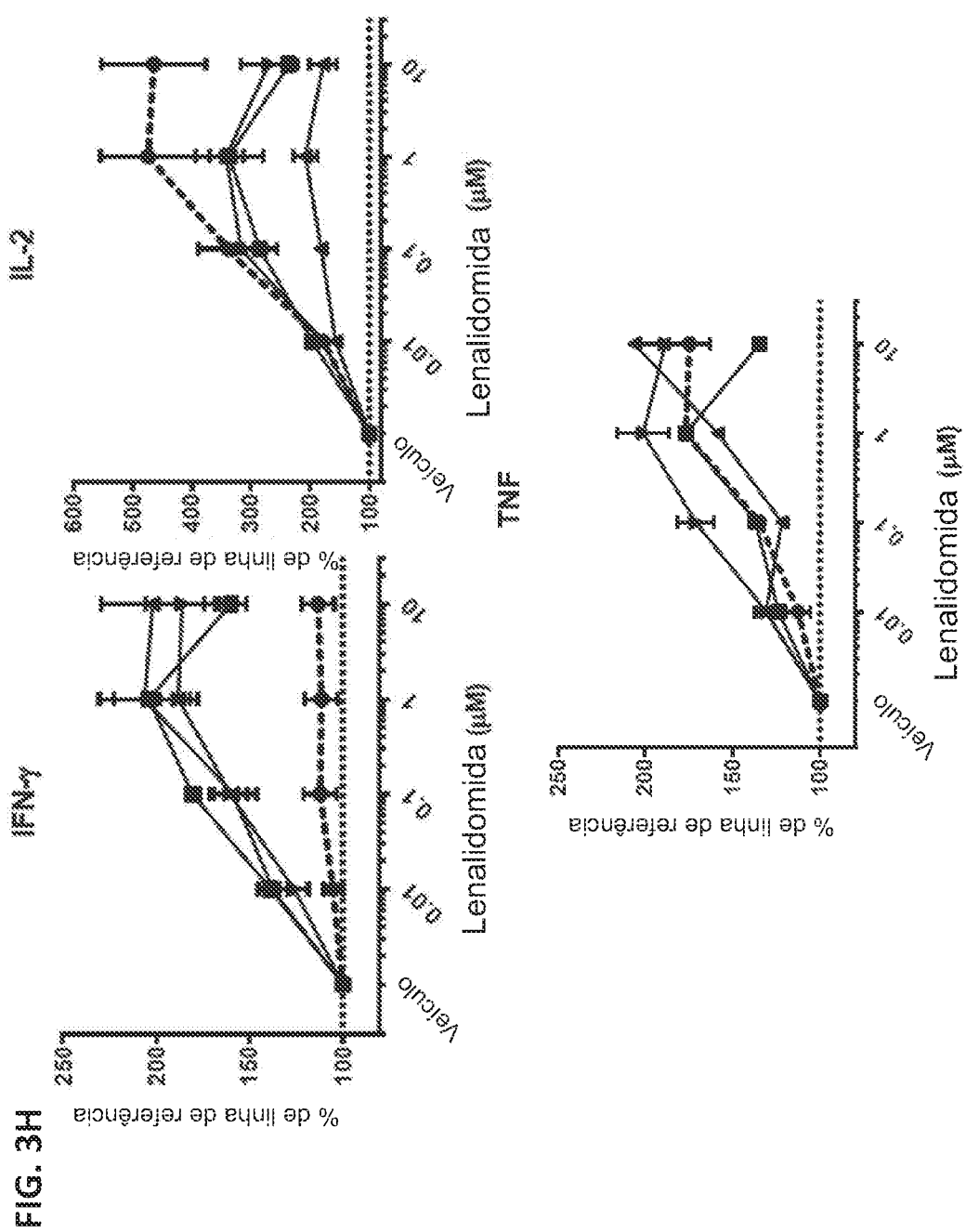
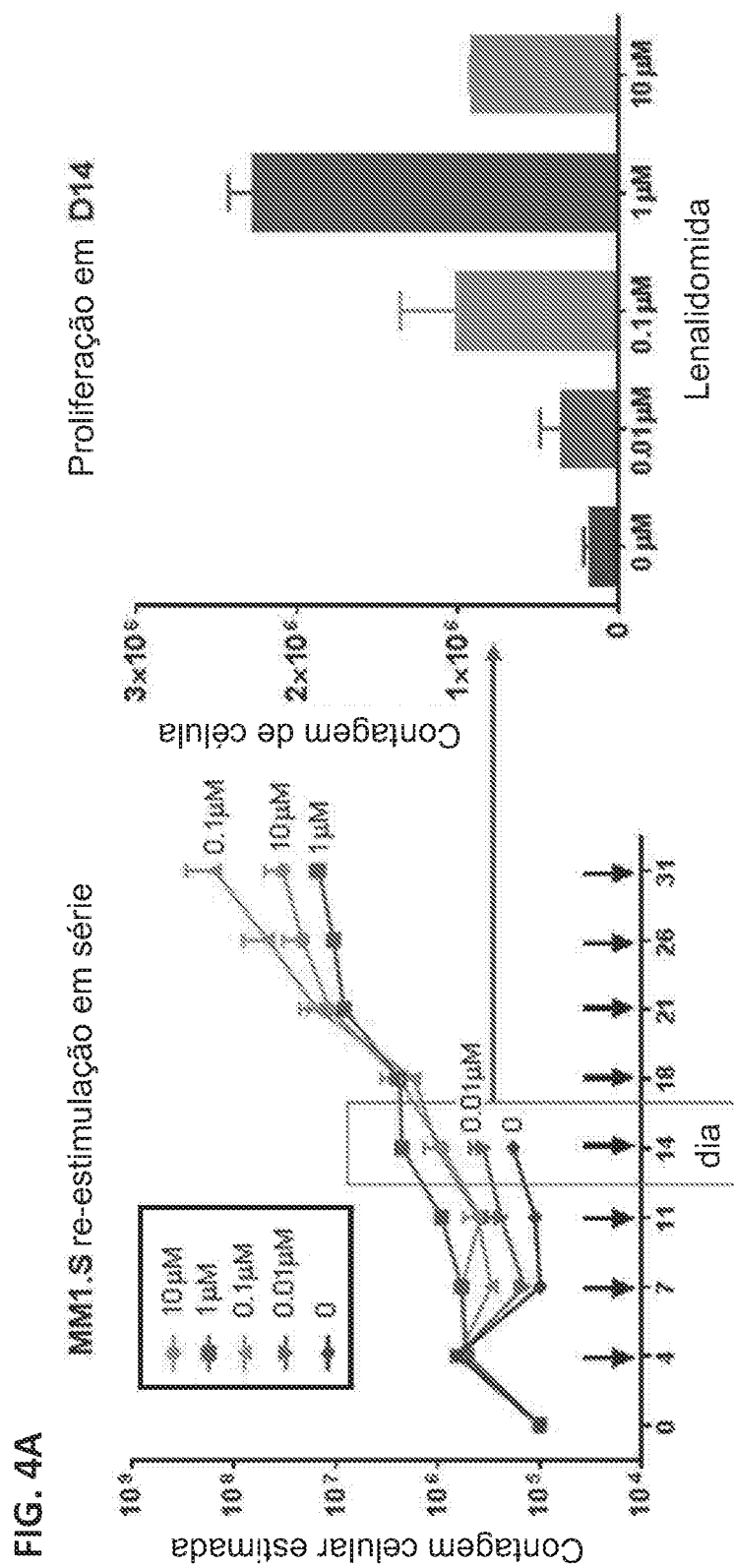


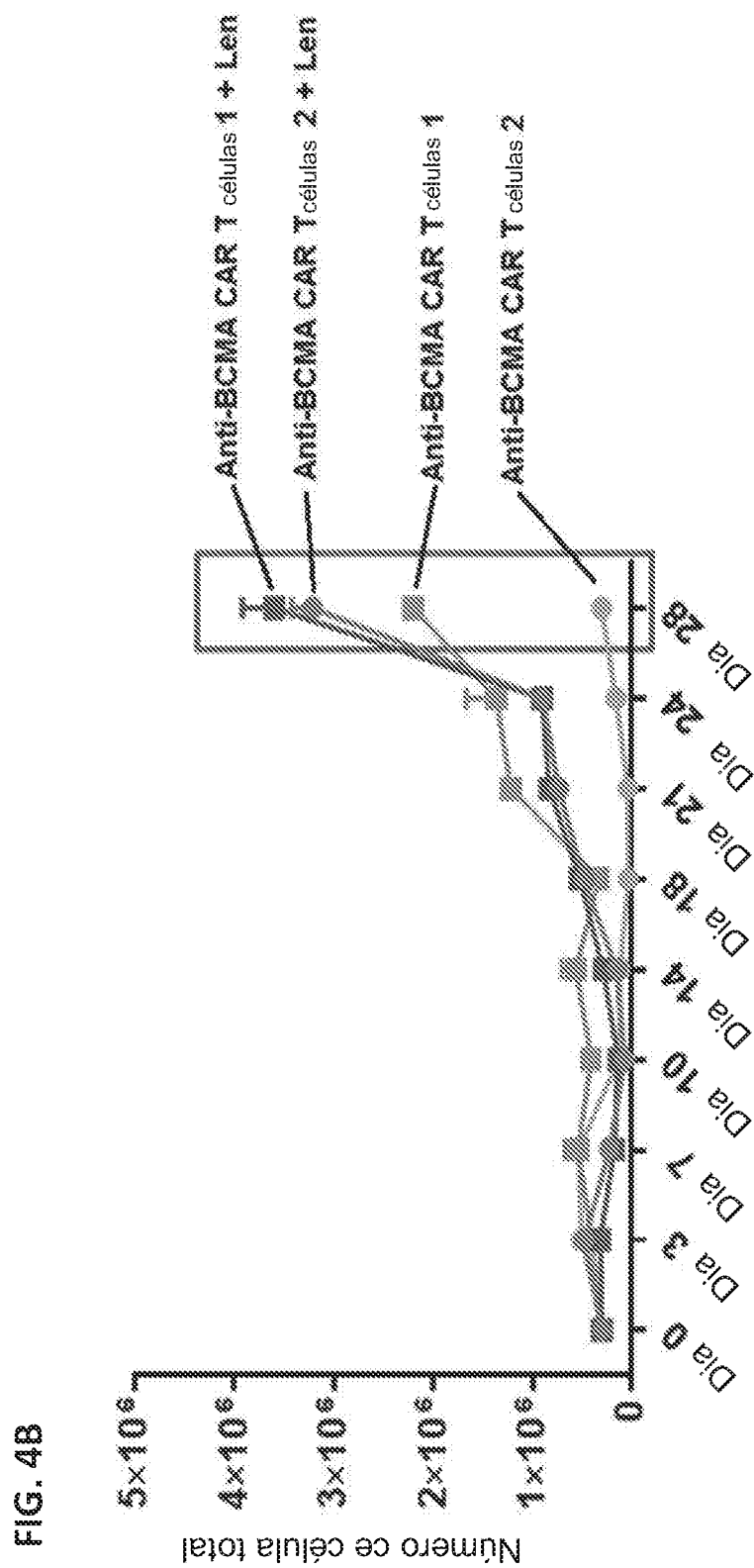
FIG. 3G











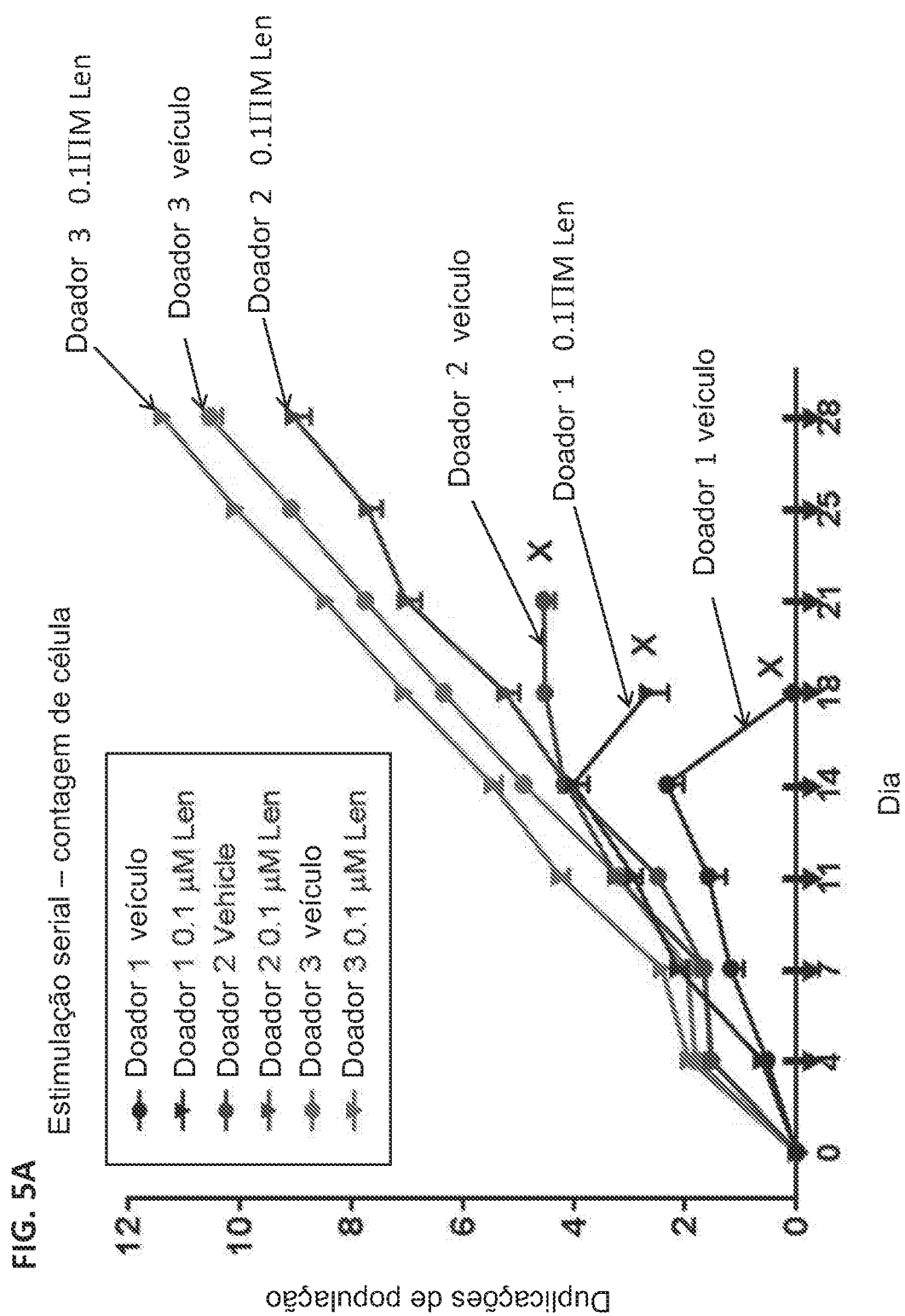


FIG. 5B

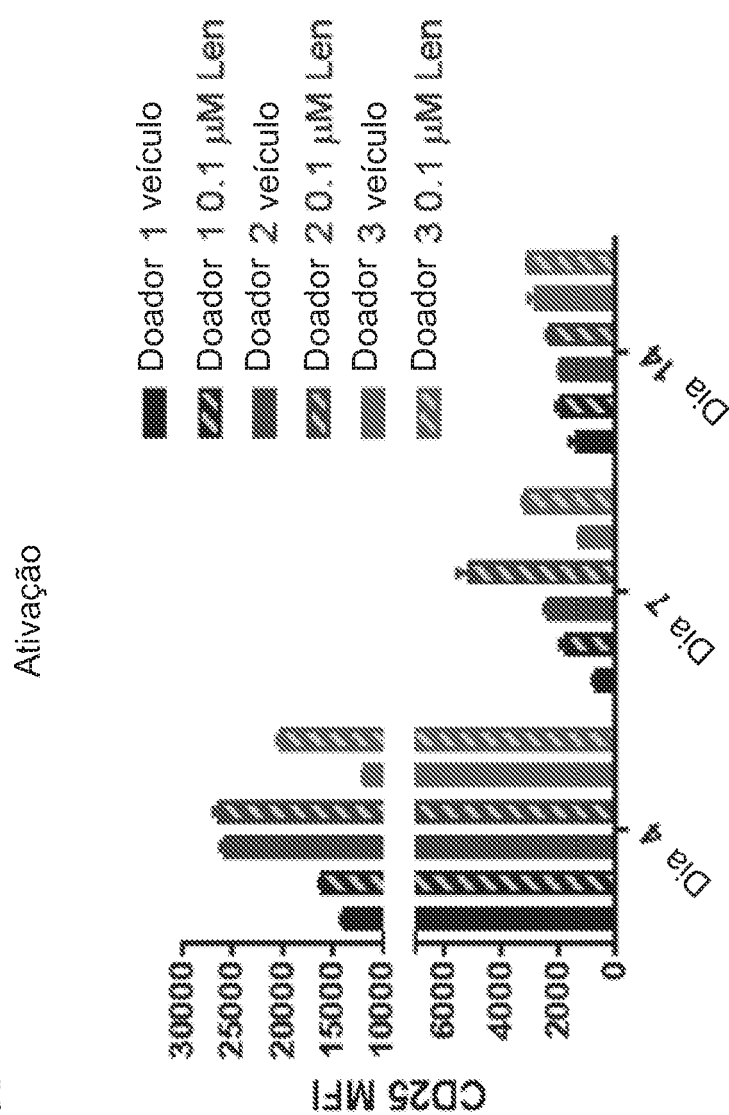
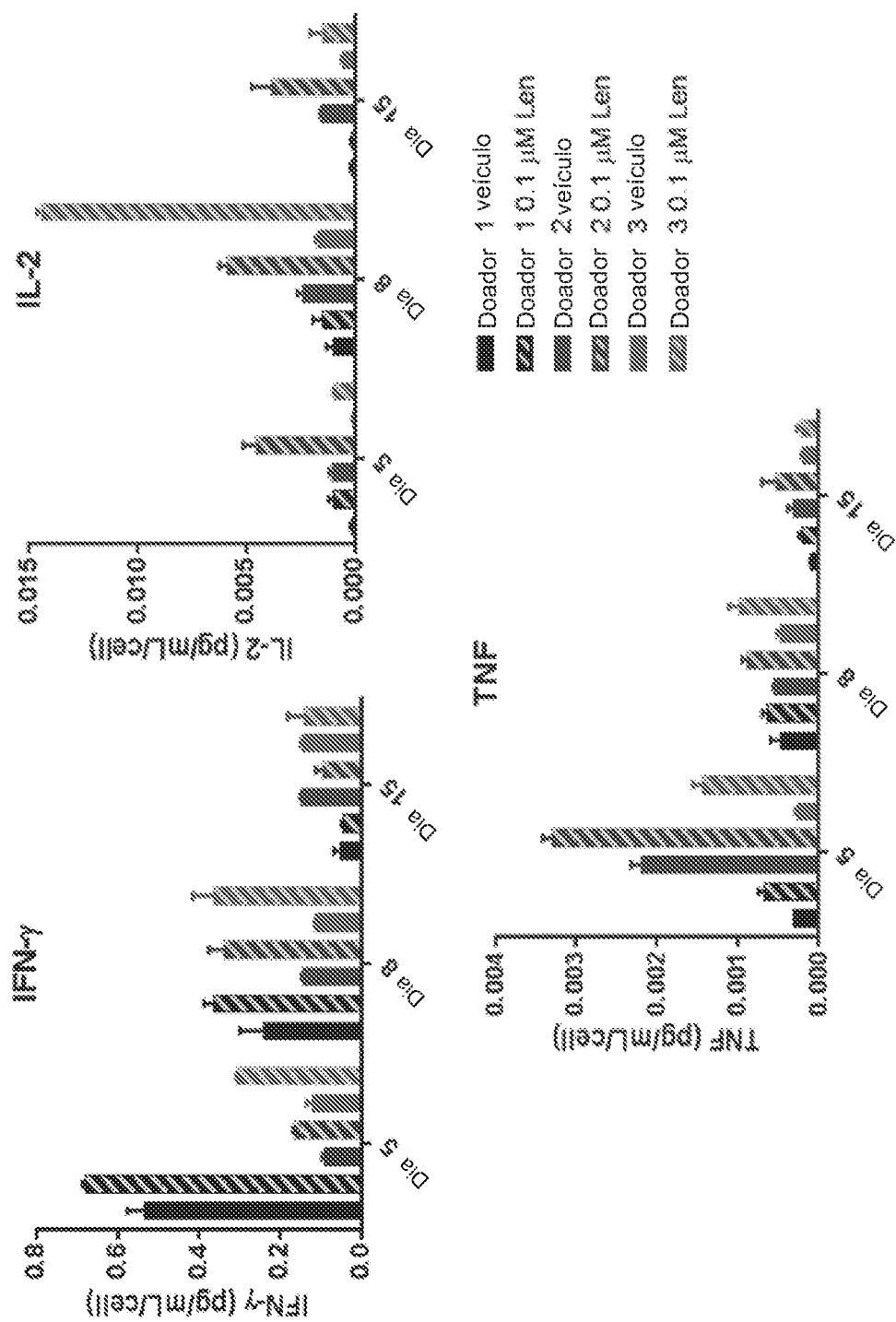
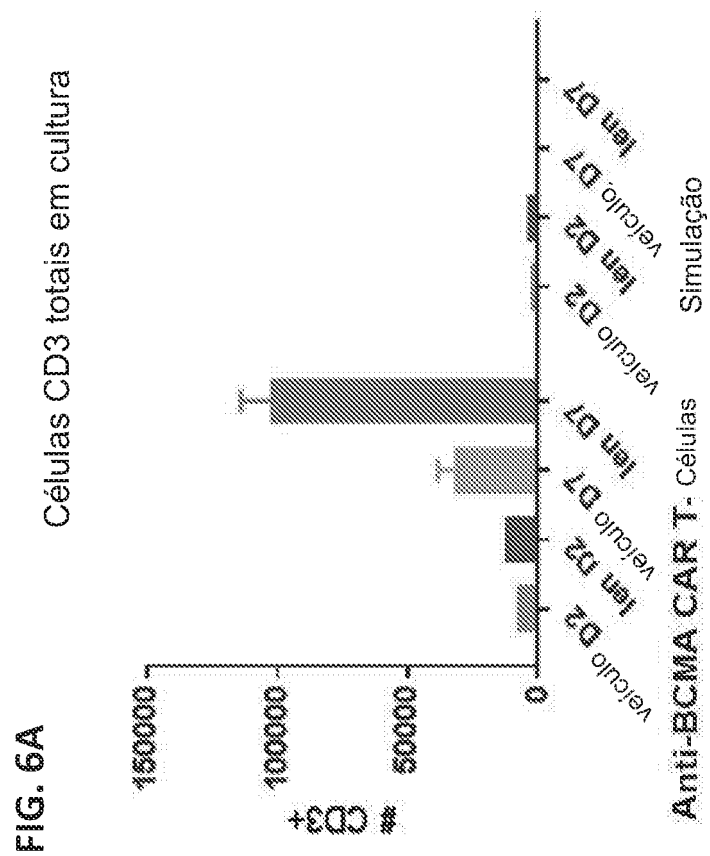


FIG. 5C





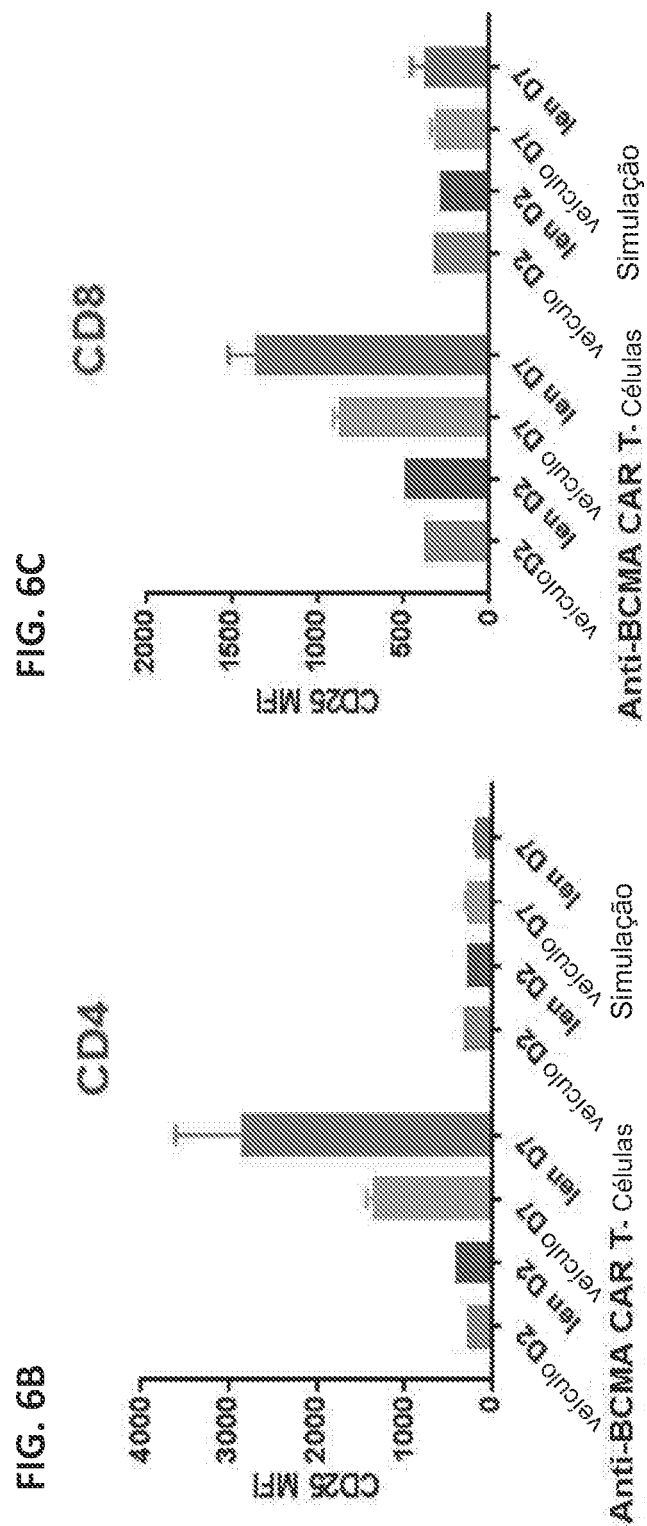


FIG. 7A

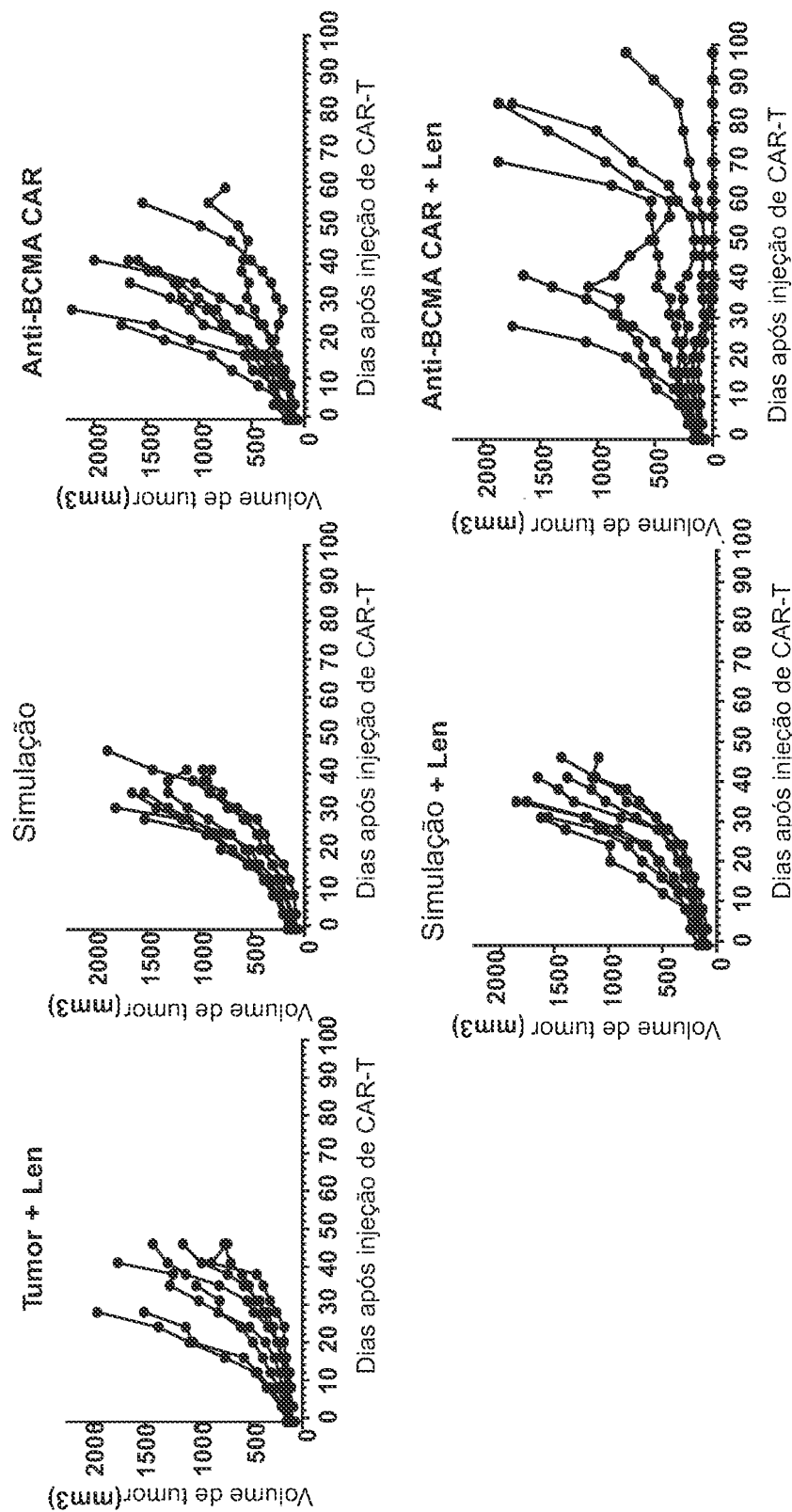




FIG. 7B

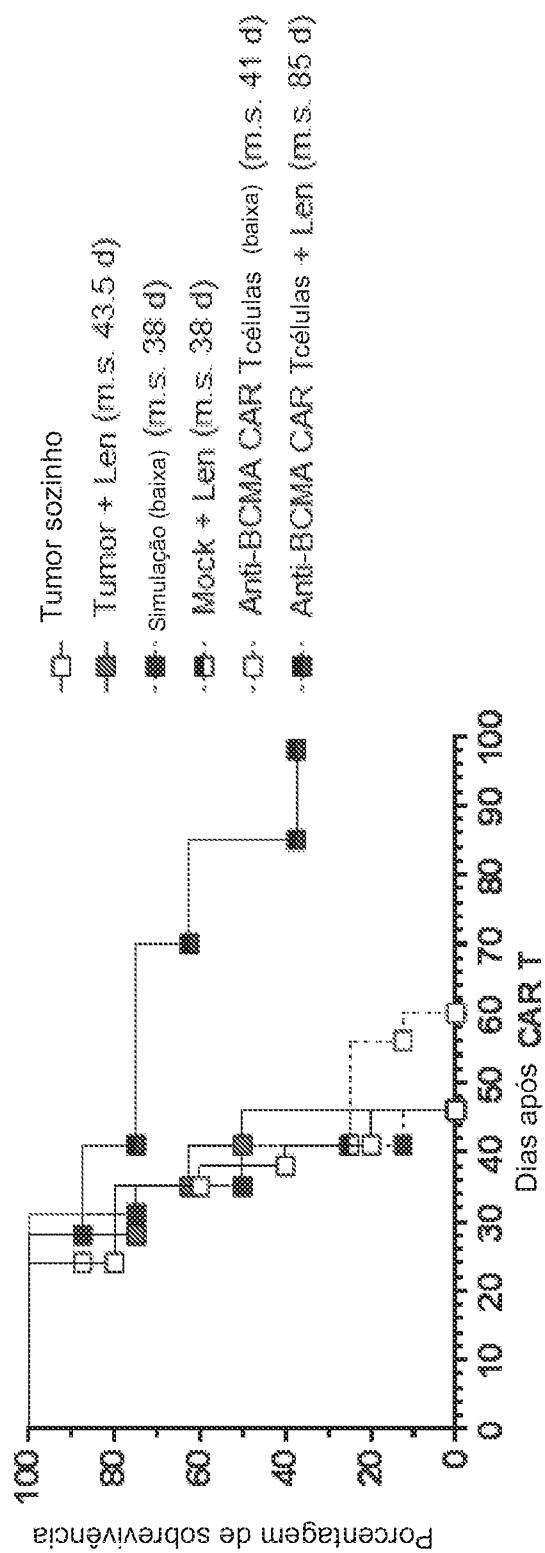


FIG. 8A

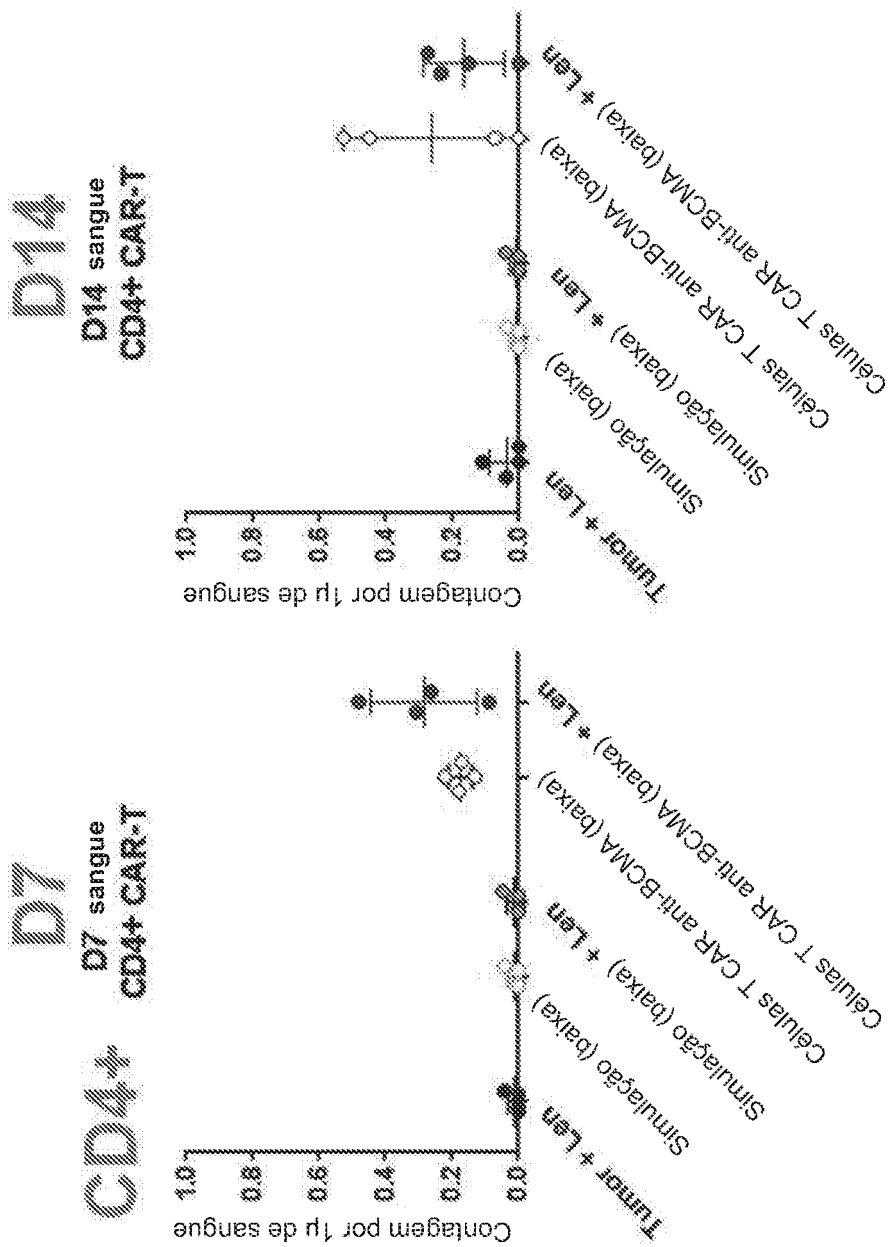


FIG. 8B

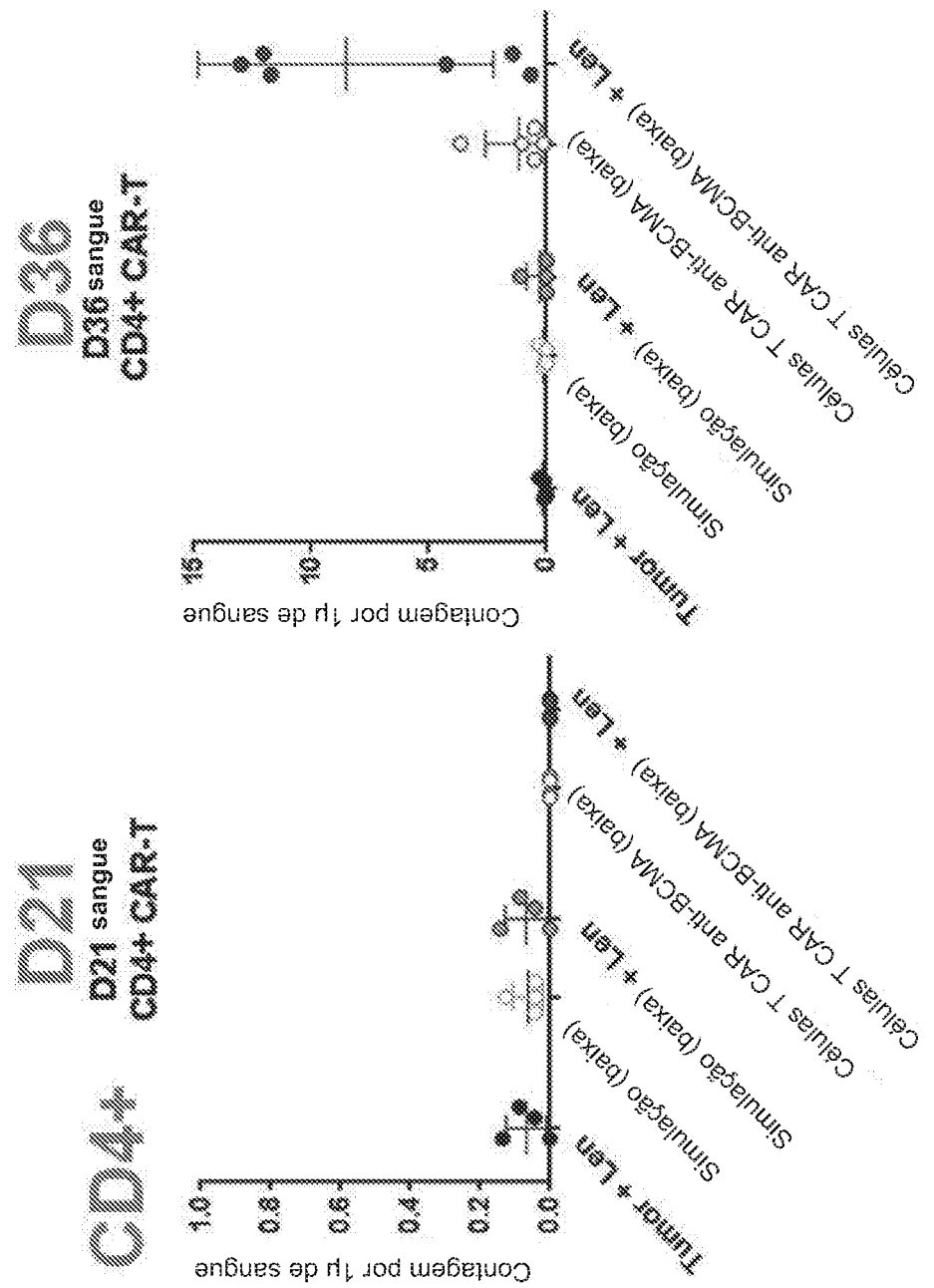


FIG. 8C

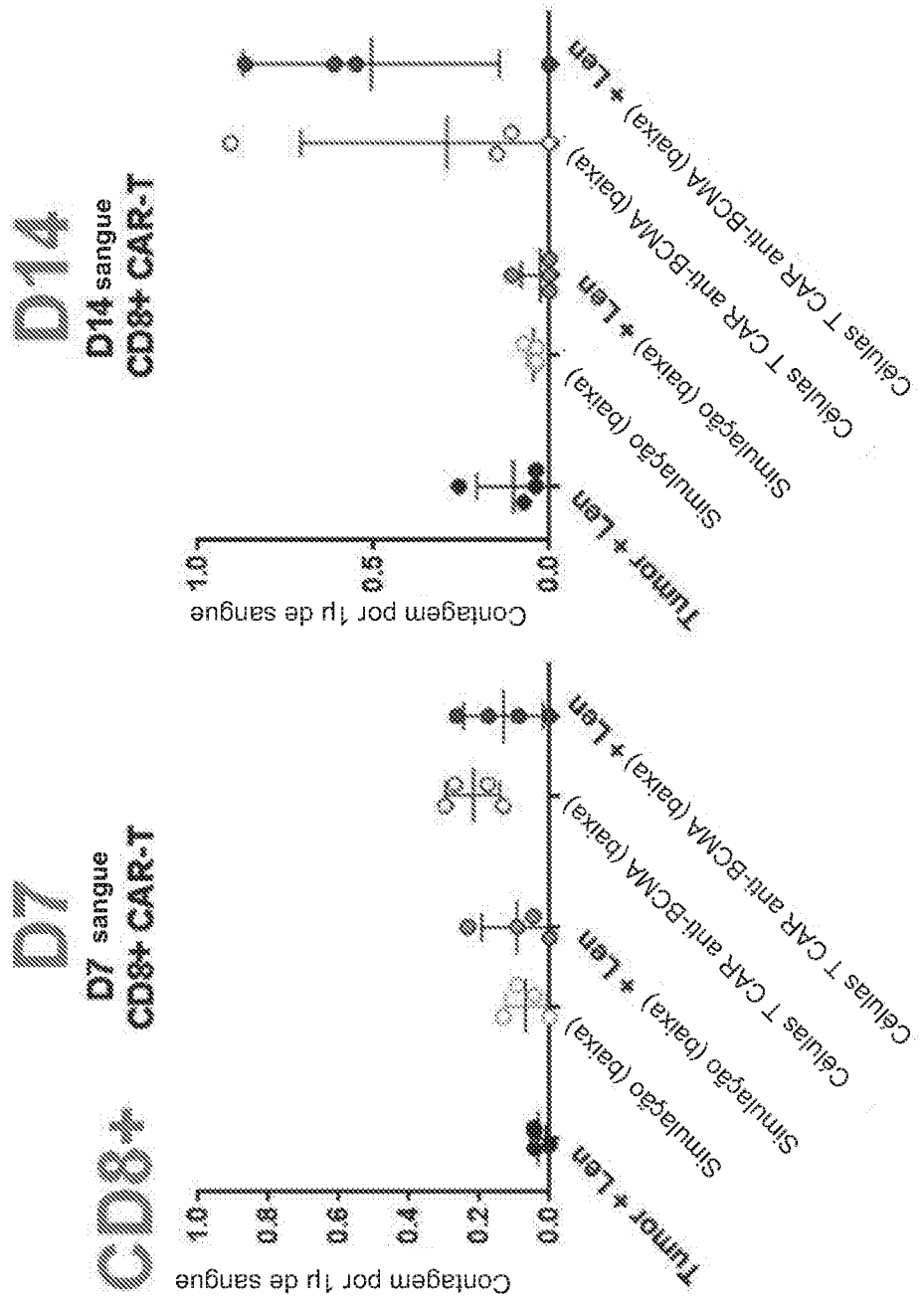


FIG. 8D

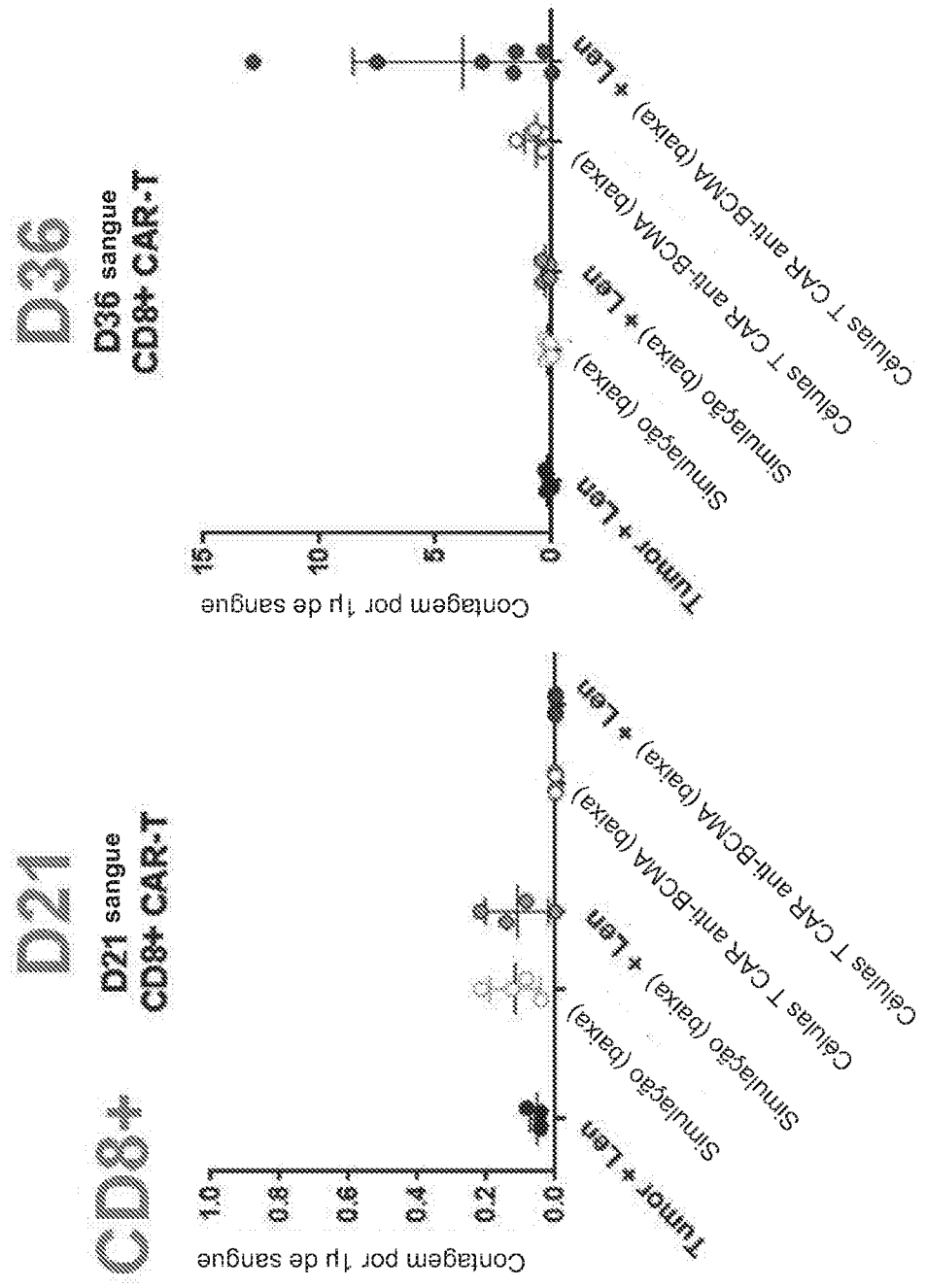


FIG. 8E

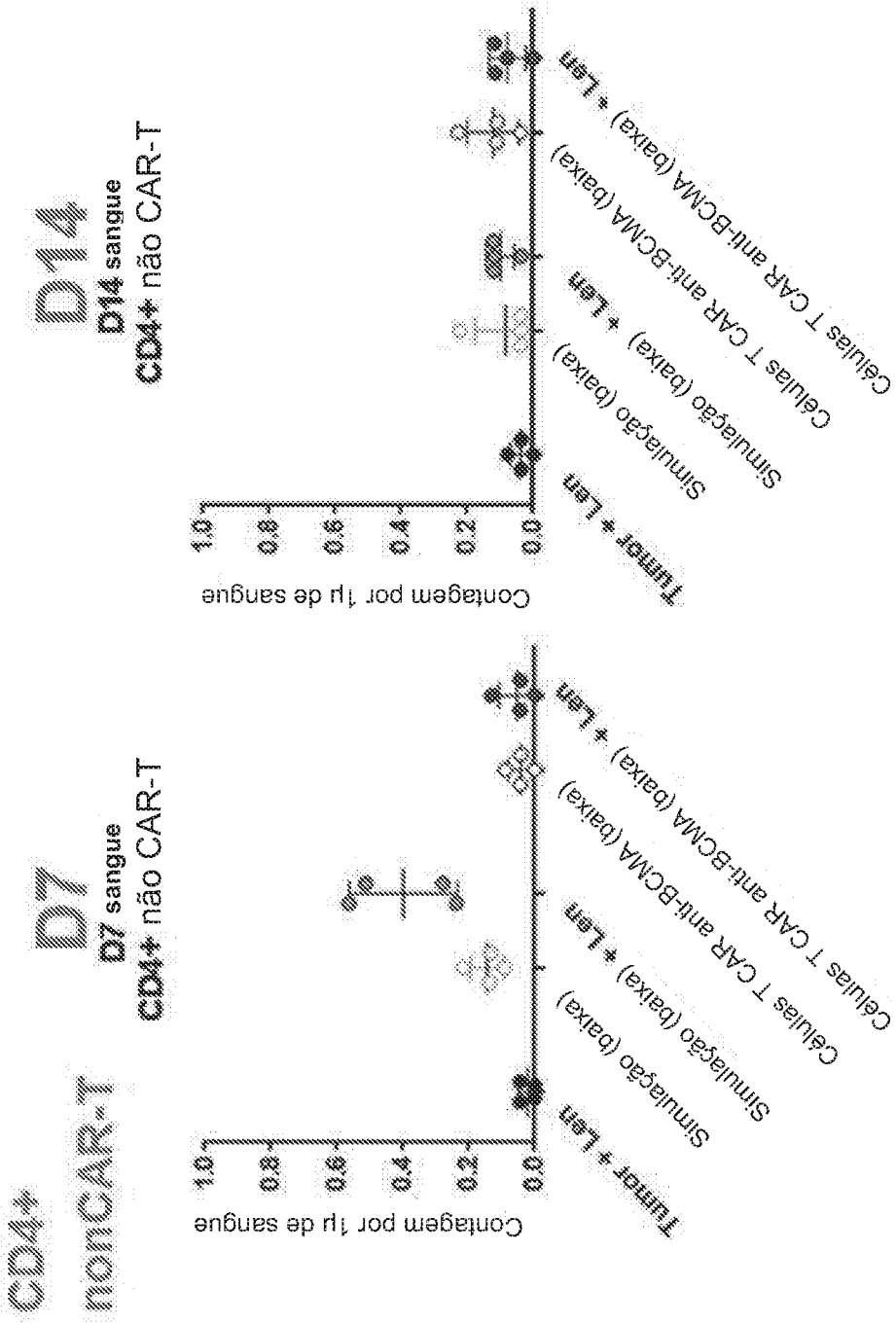


FIG. 8F

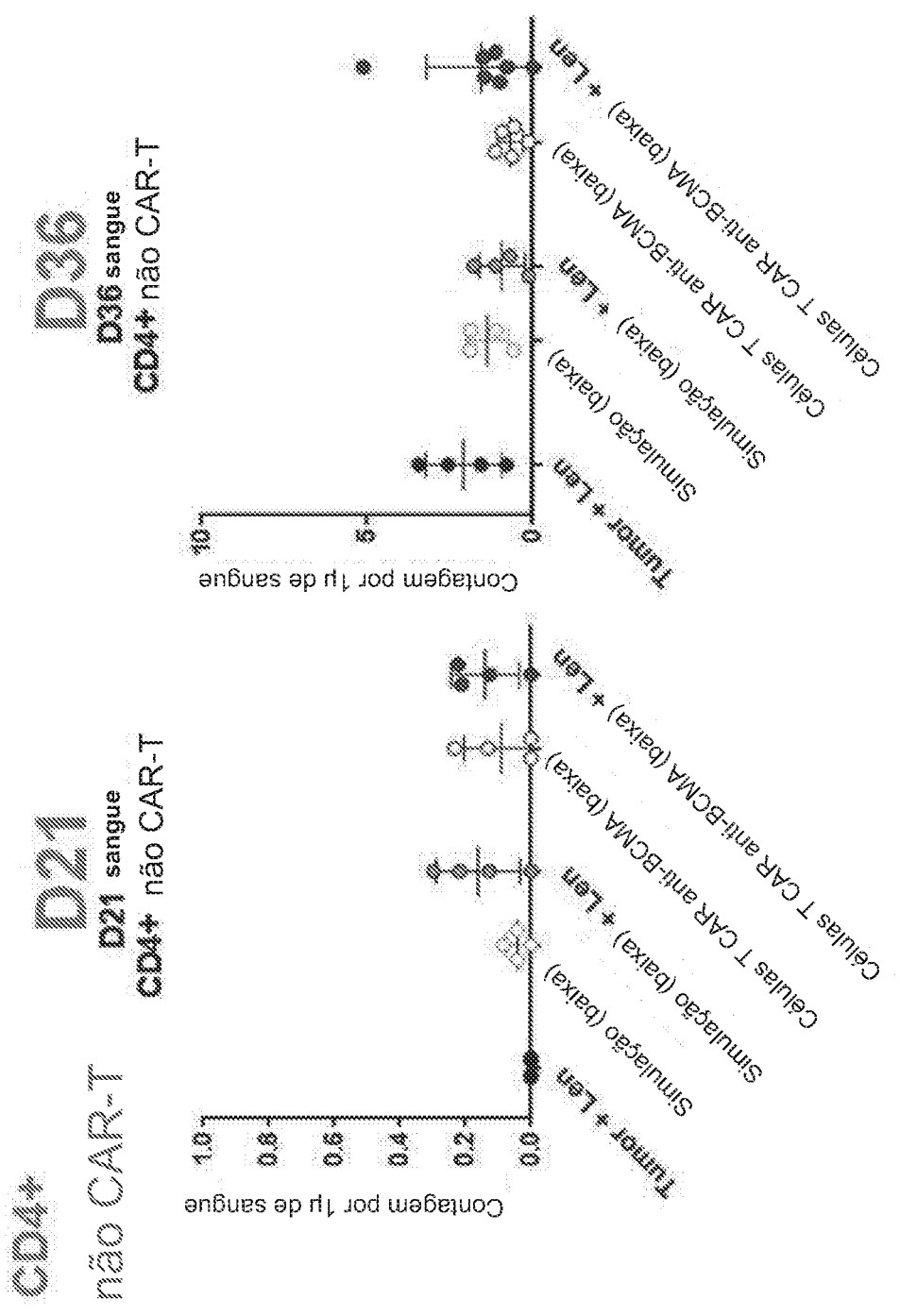


FIG. 8G

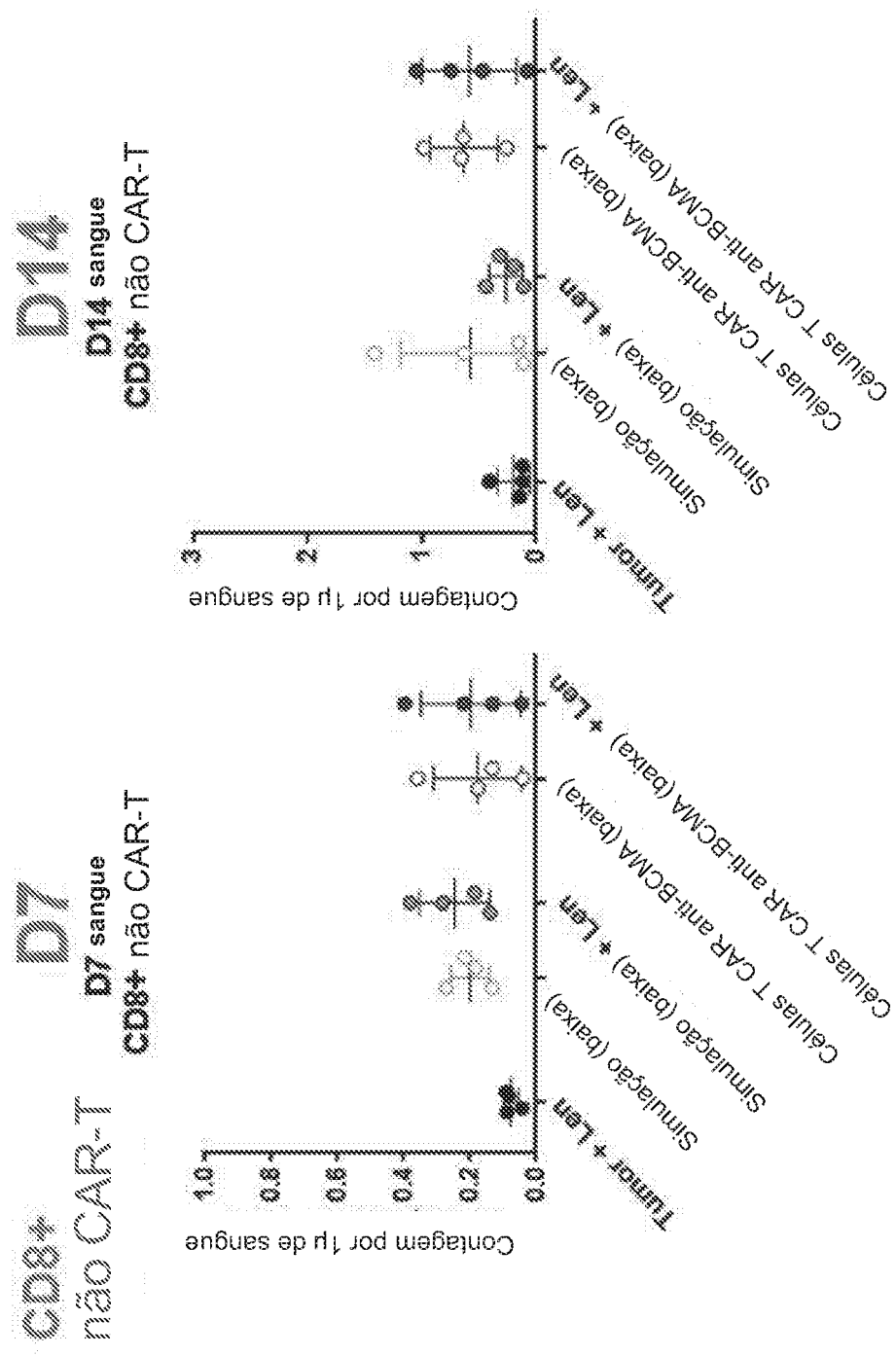
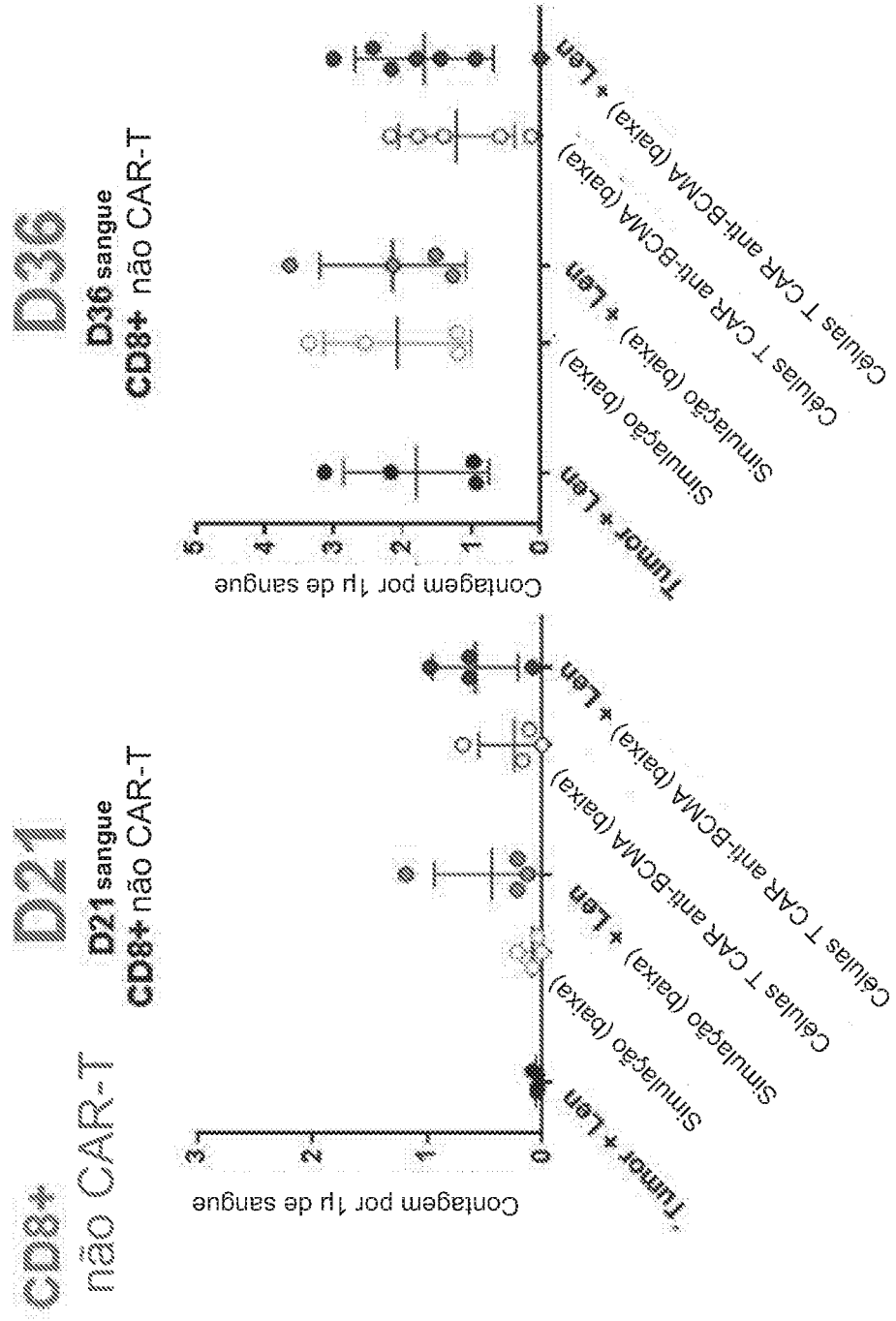




FIG. 8H



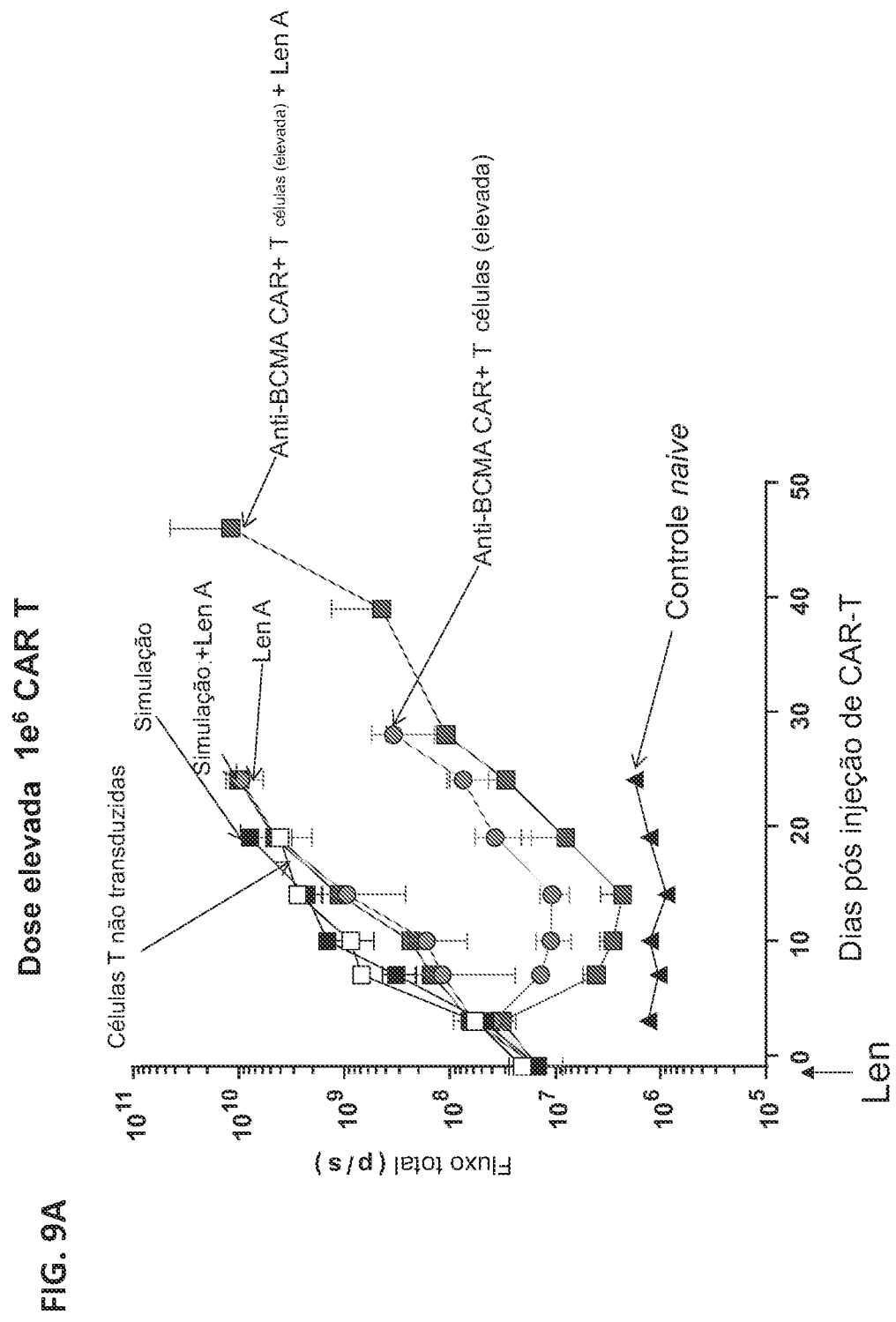
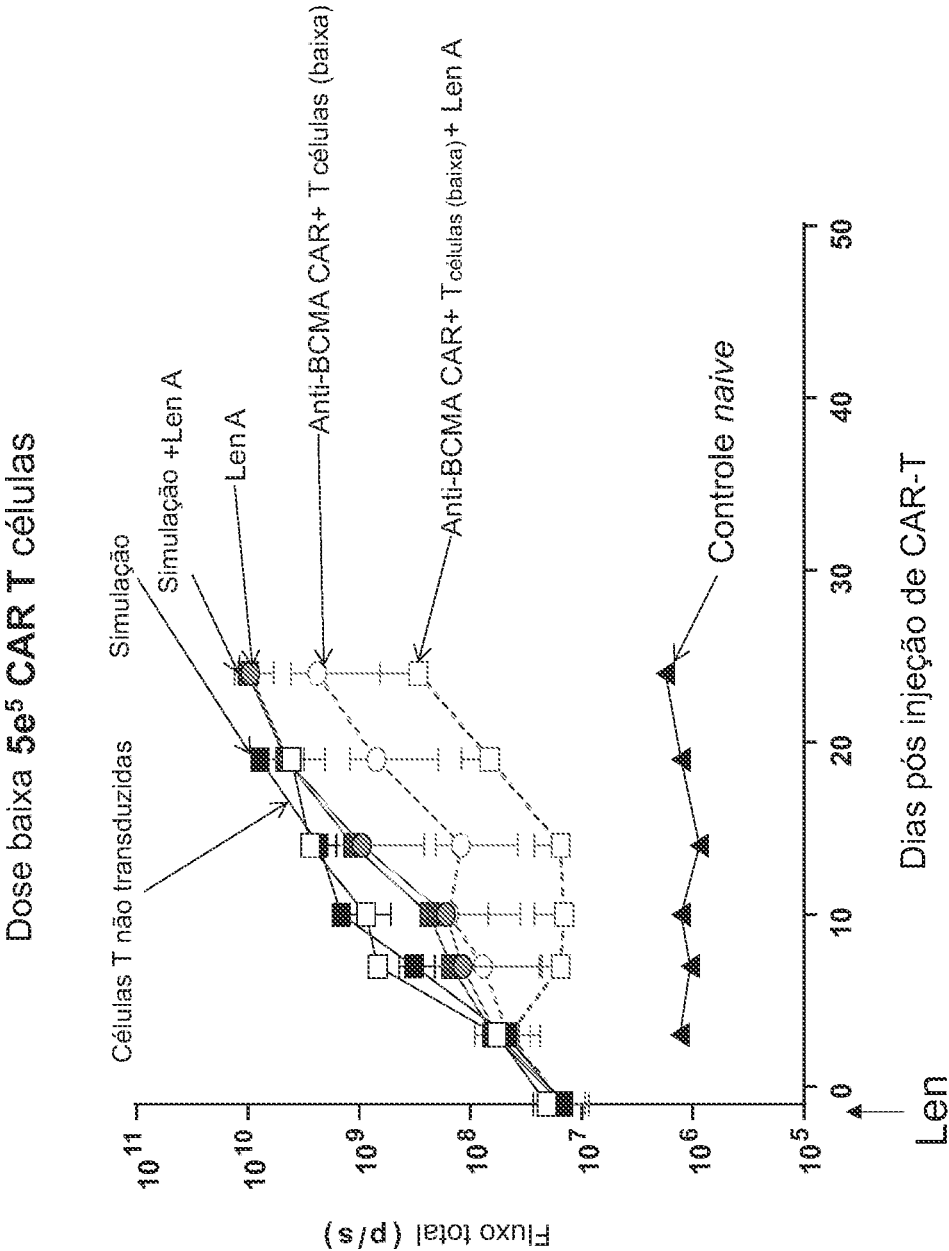


FIG. 9B



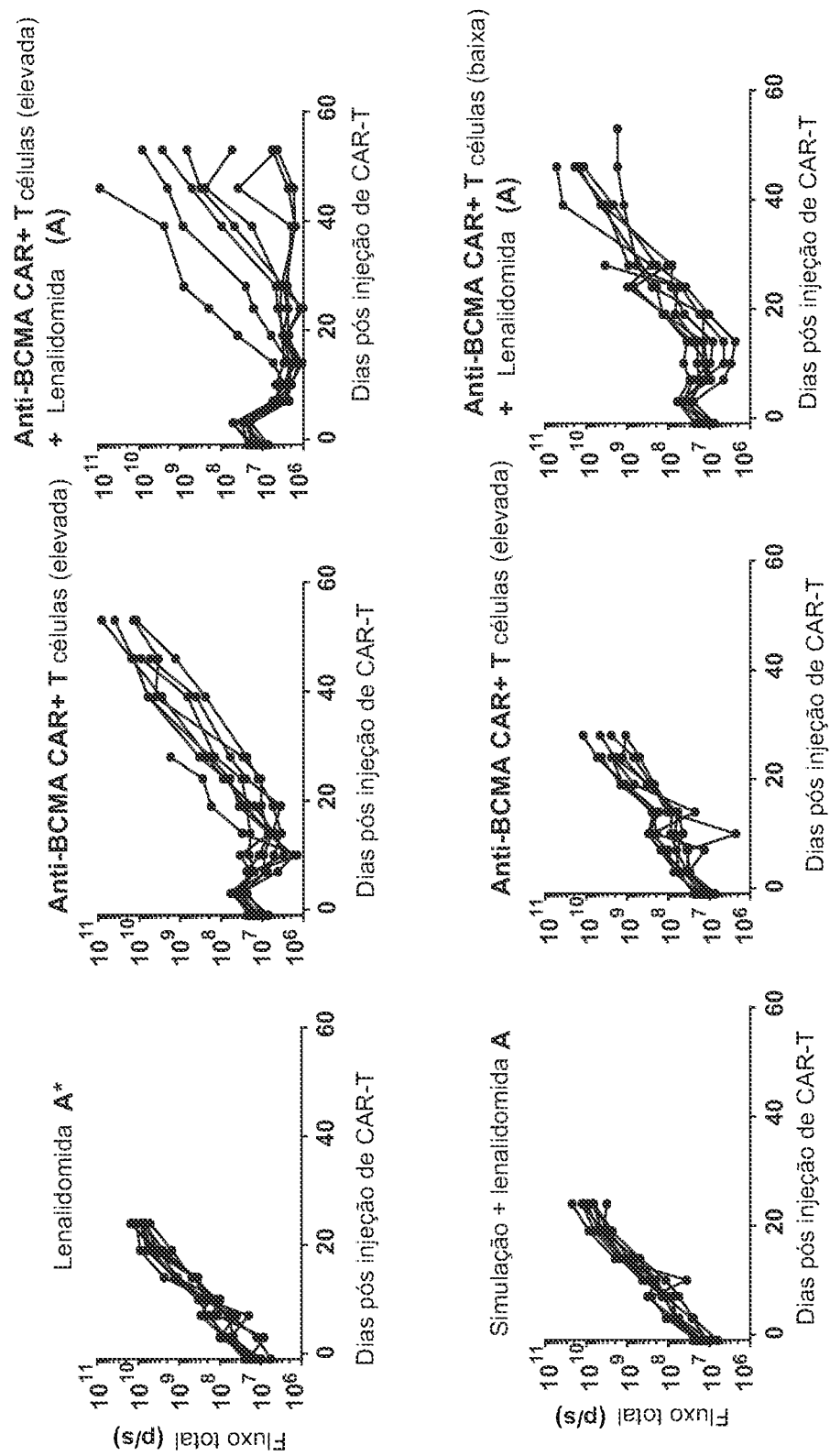
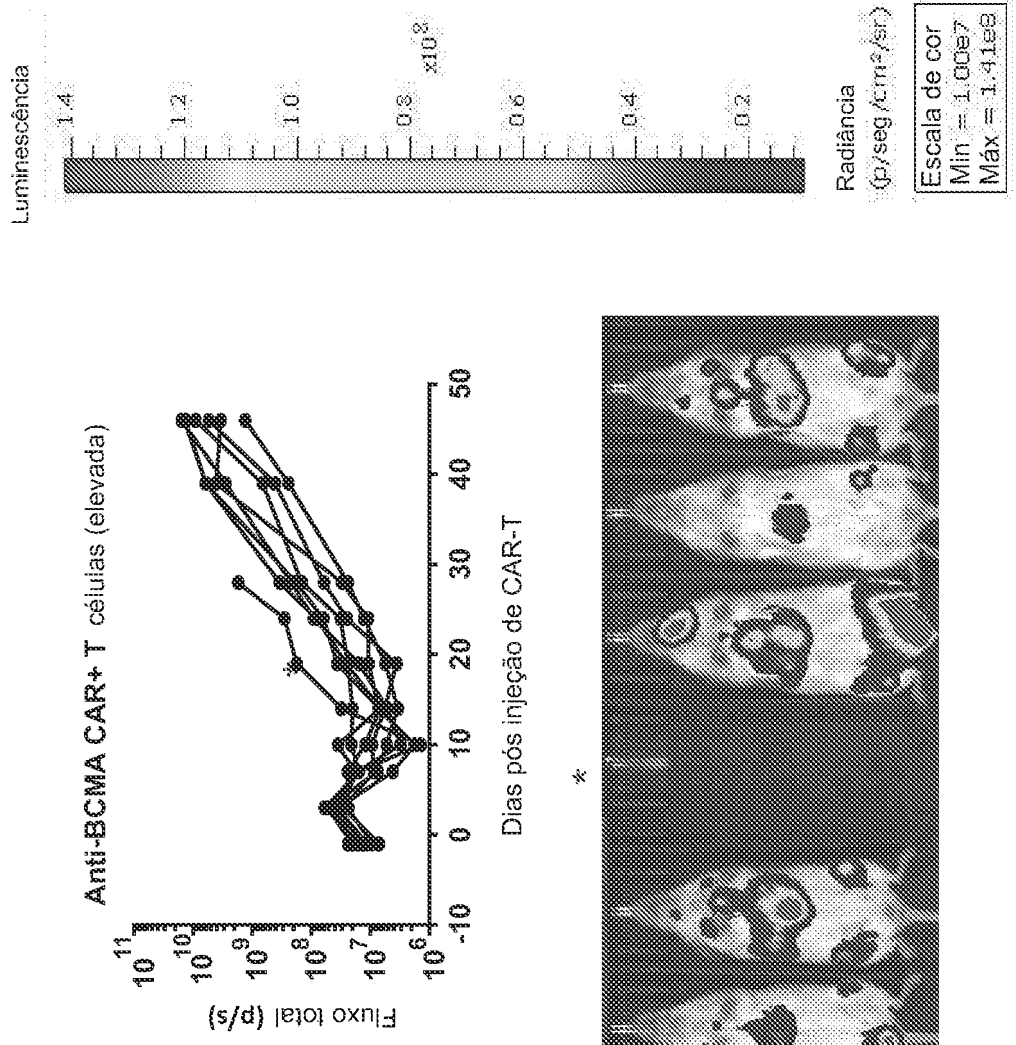
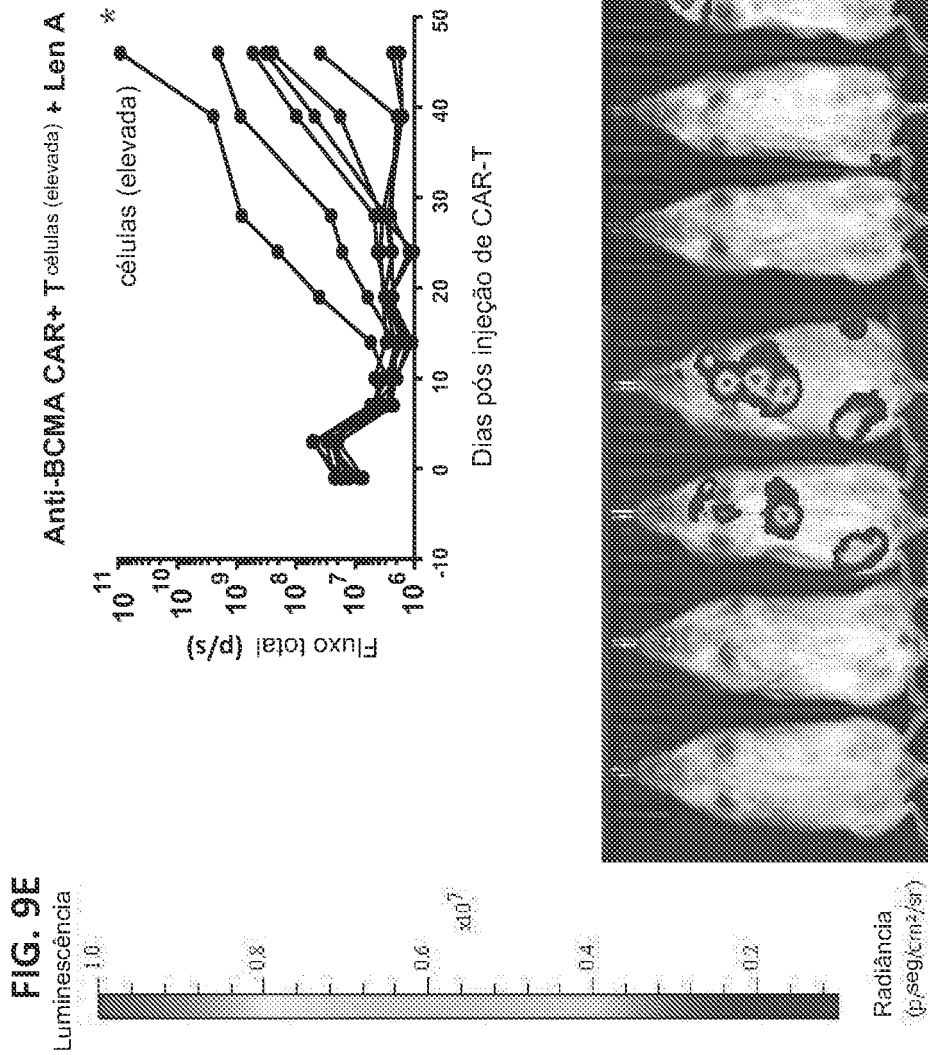
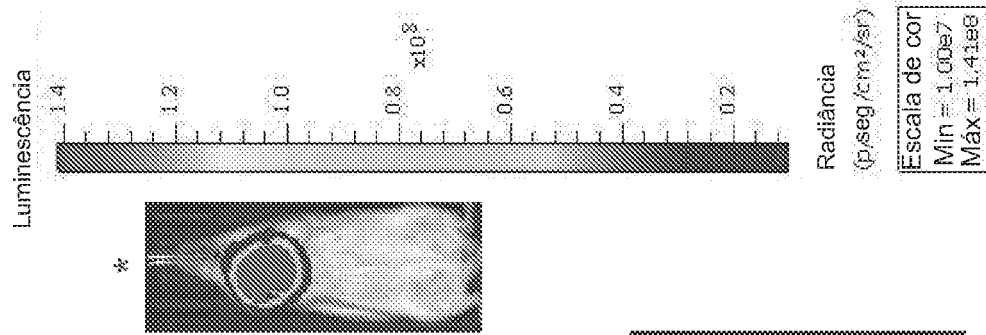
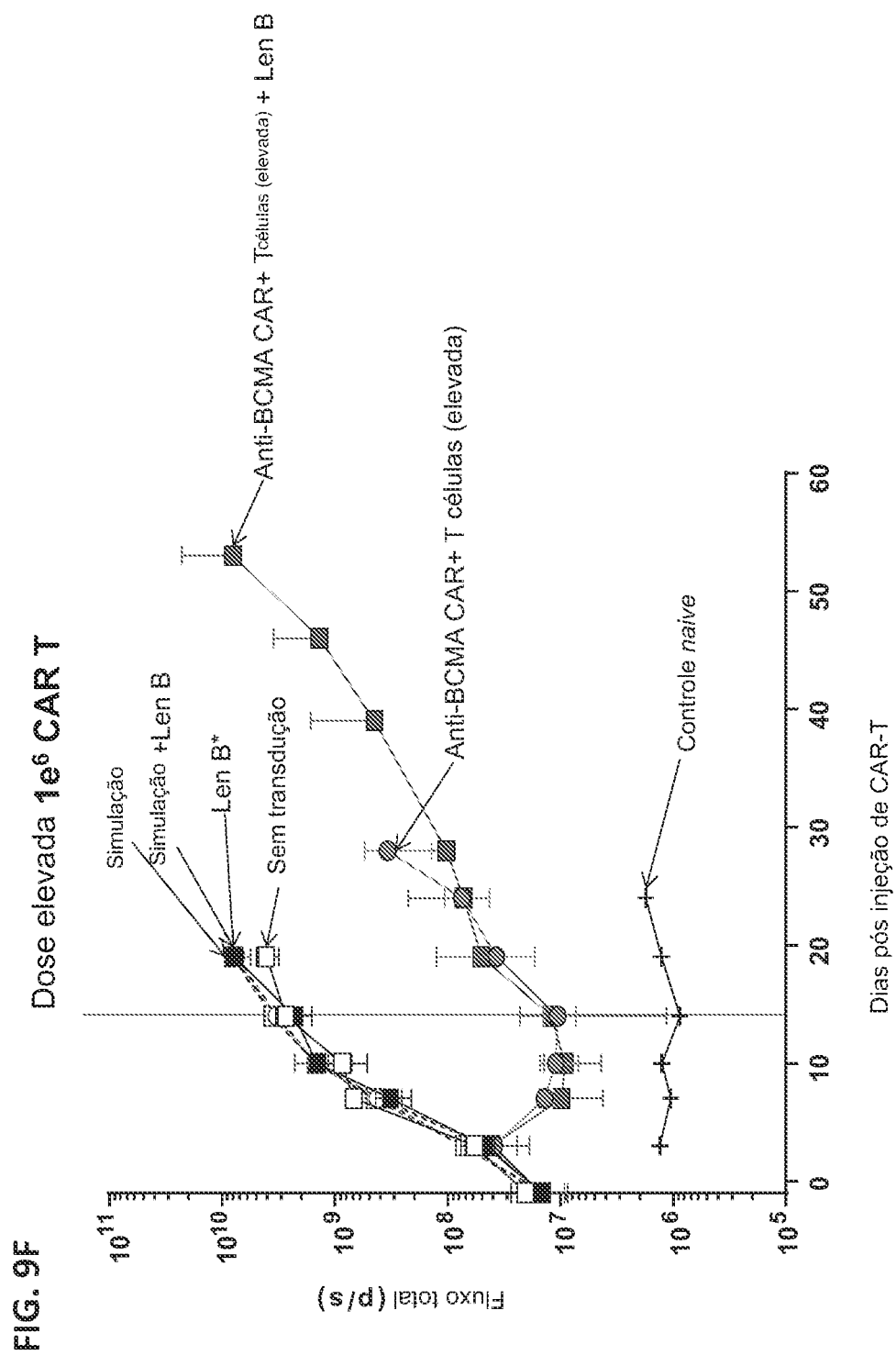
**FIG. 9C**

FIG. 9D





உதயசூரியன்



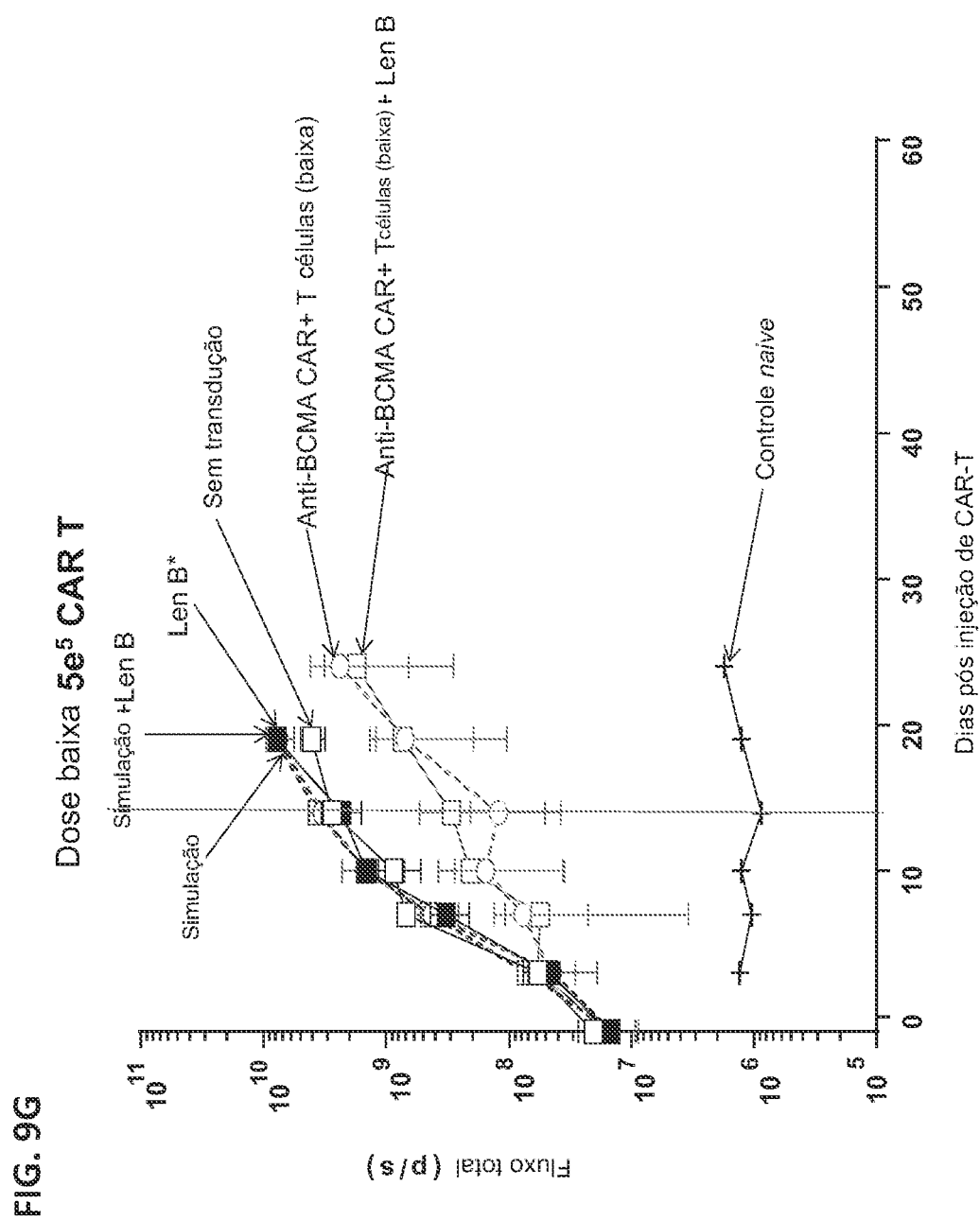
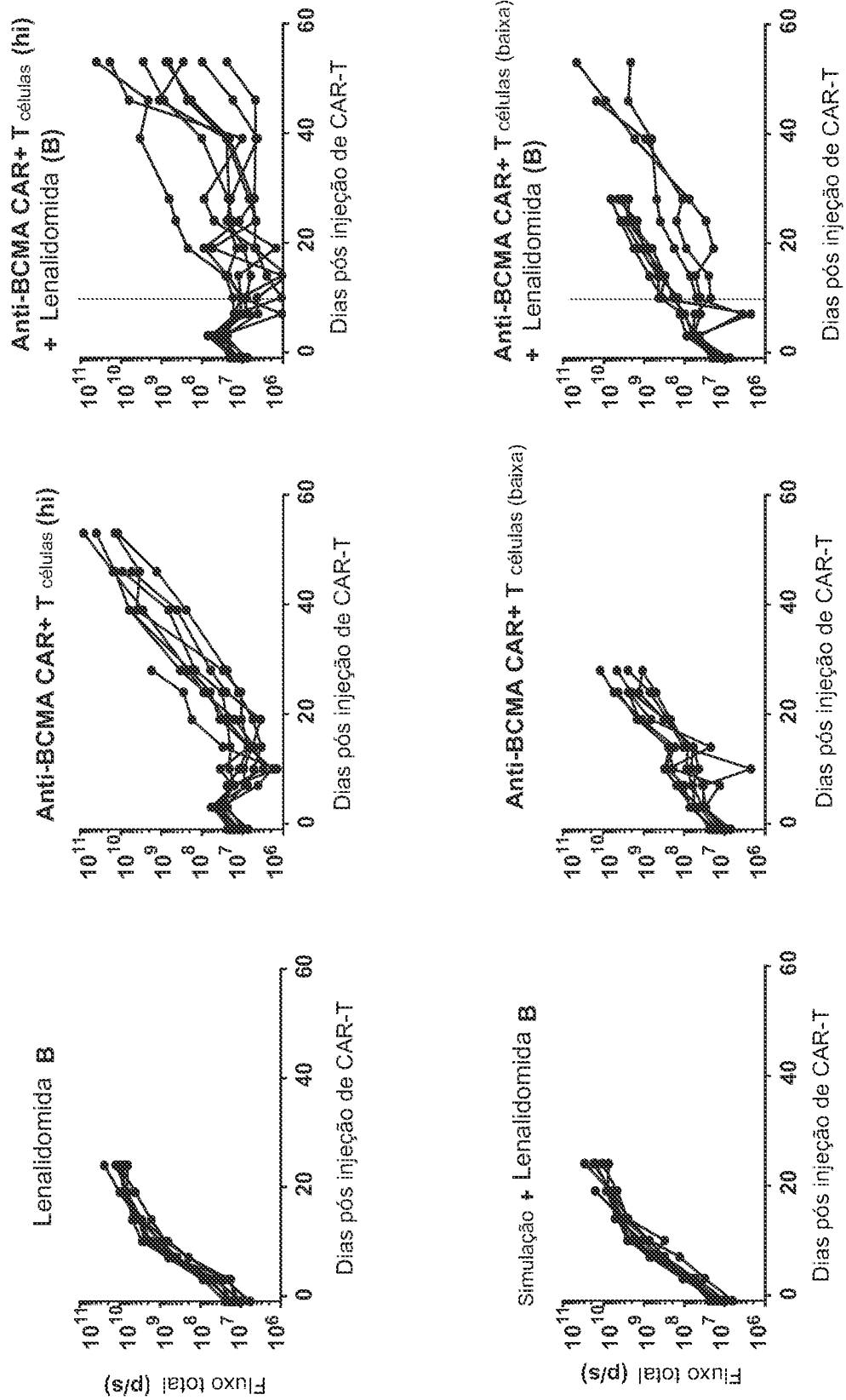
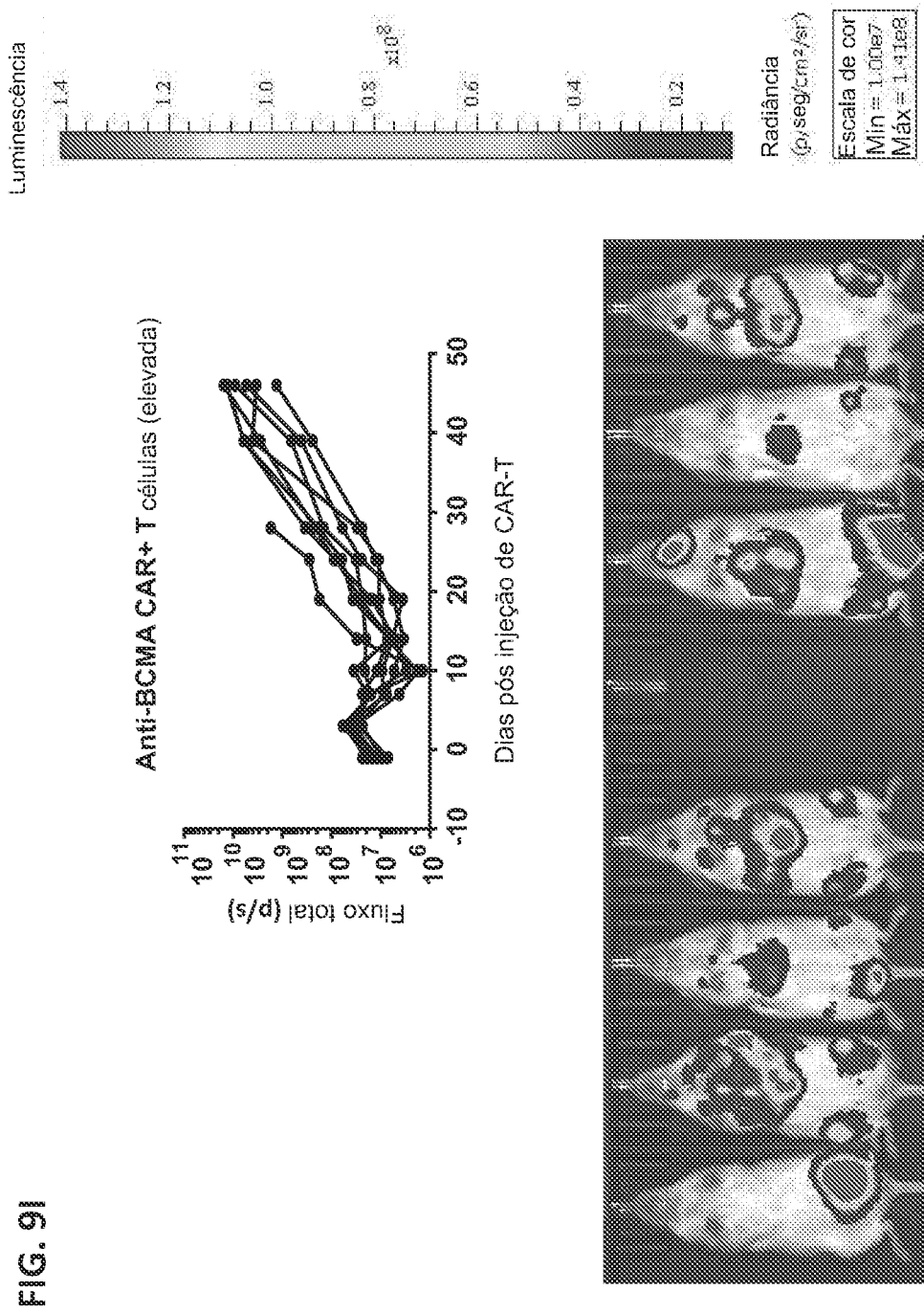




FIG. 9H





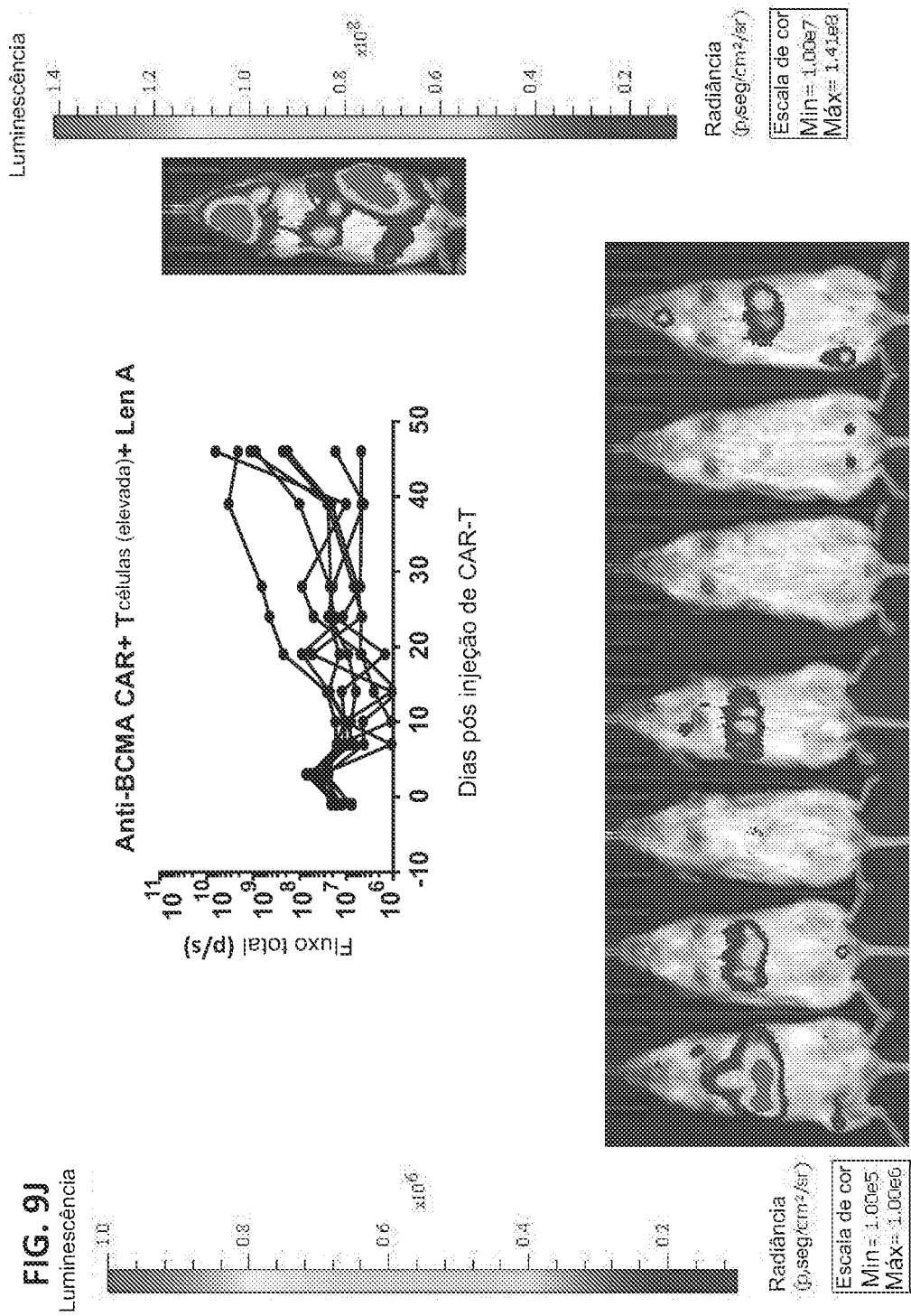


FIG. 10A

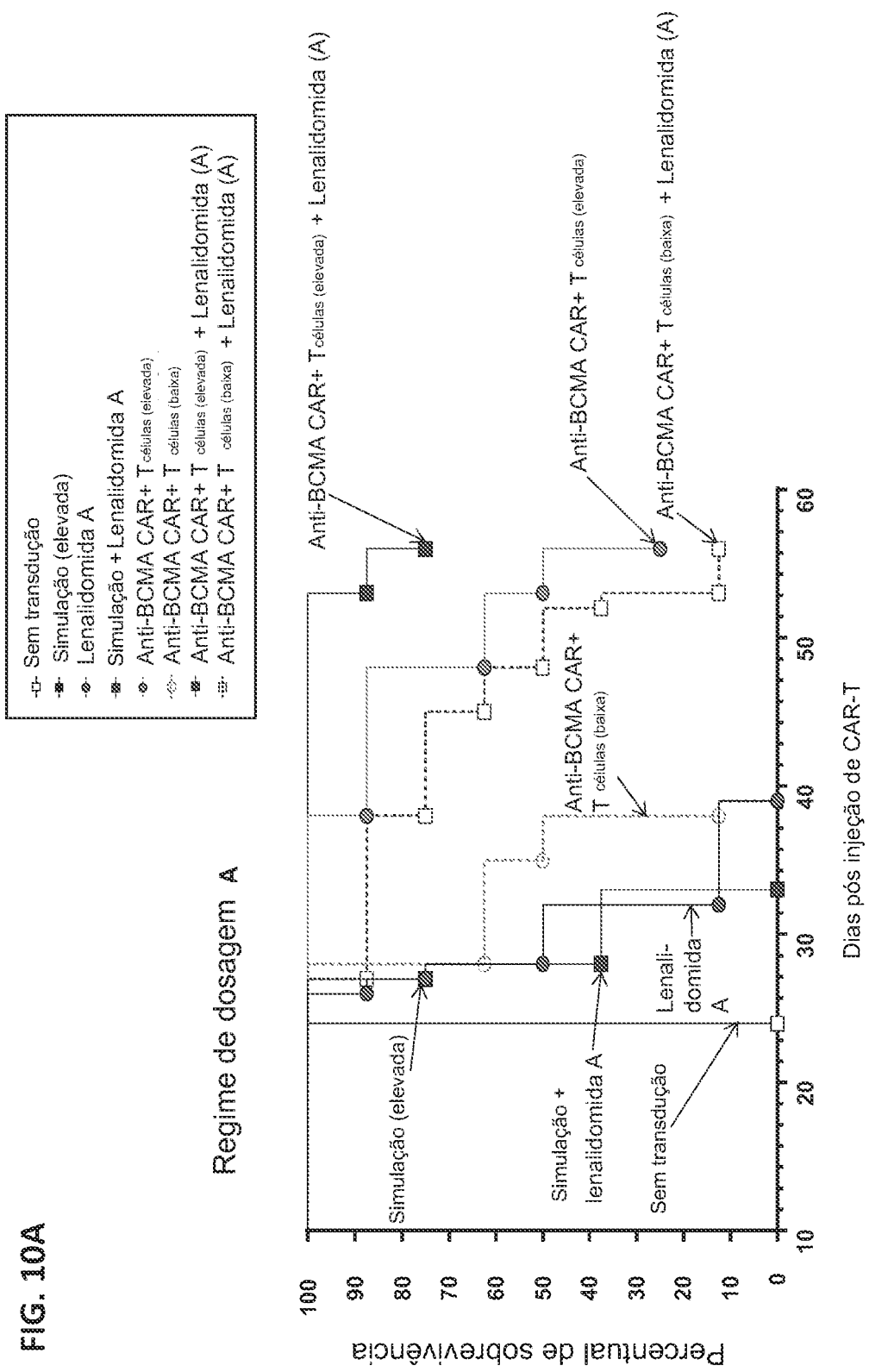


FIG. 10B

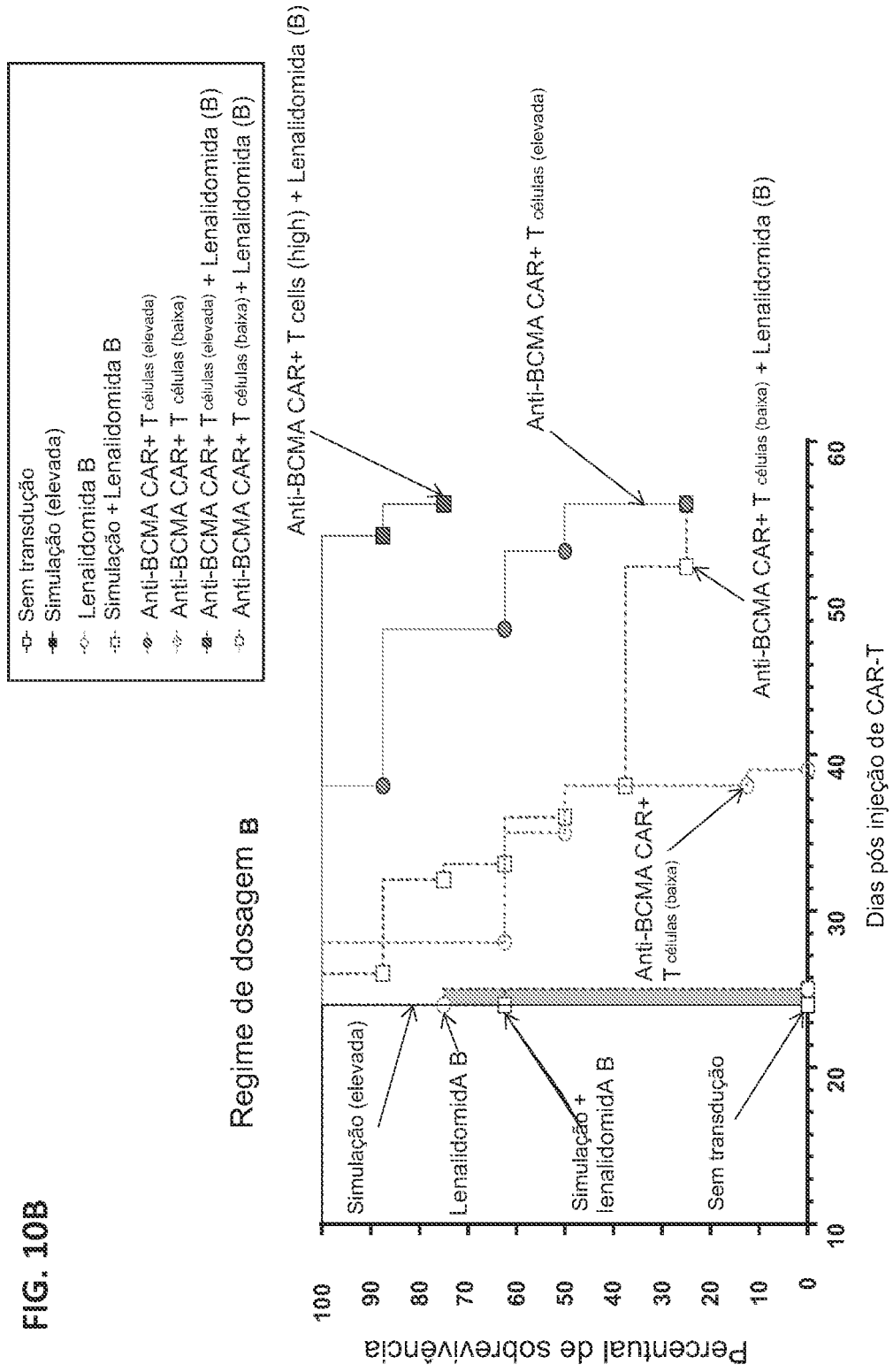
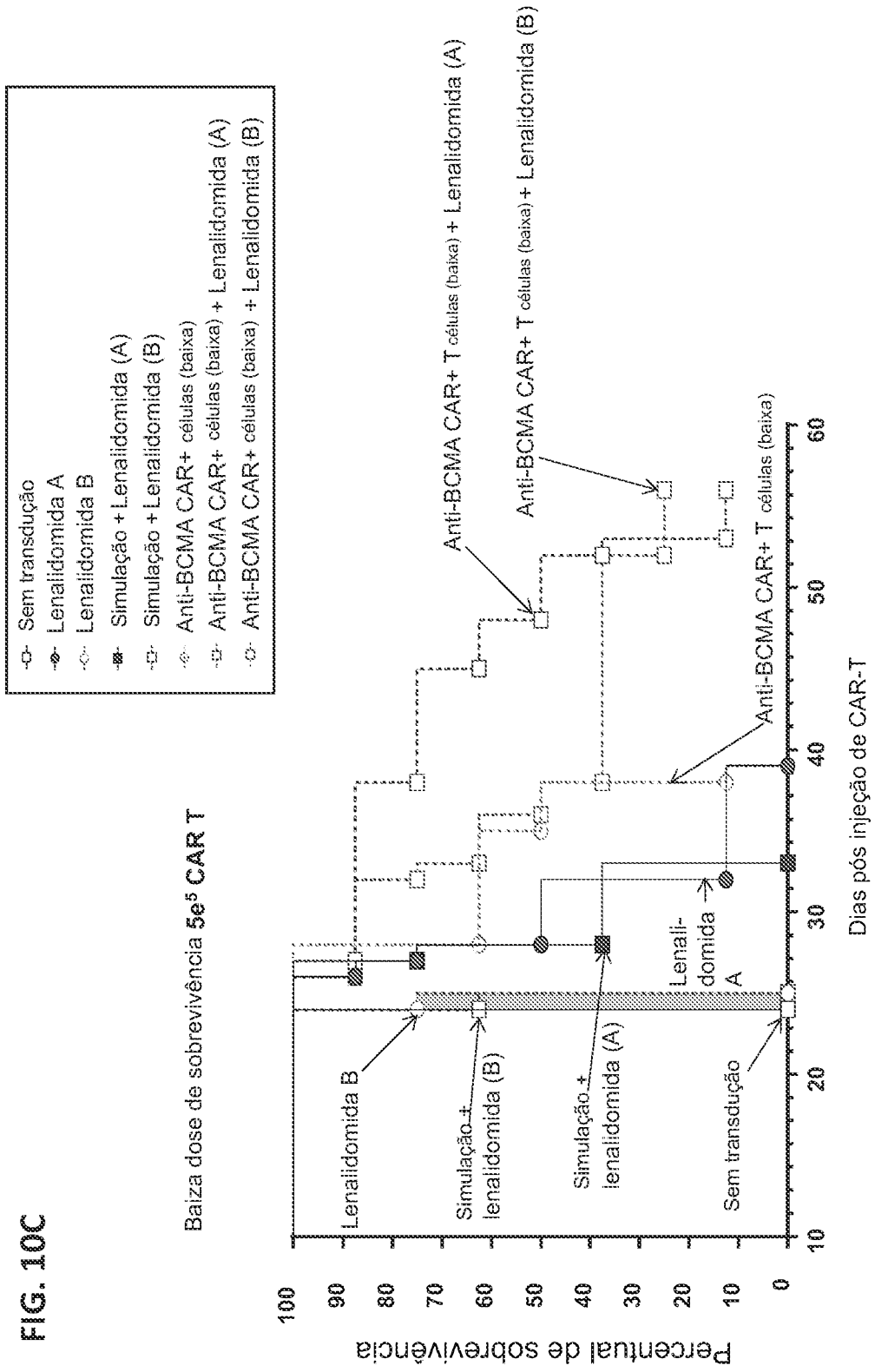
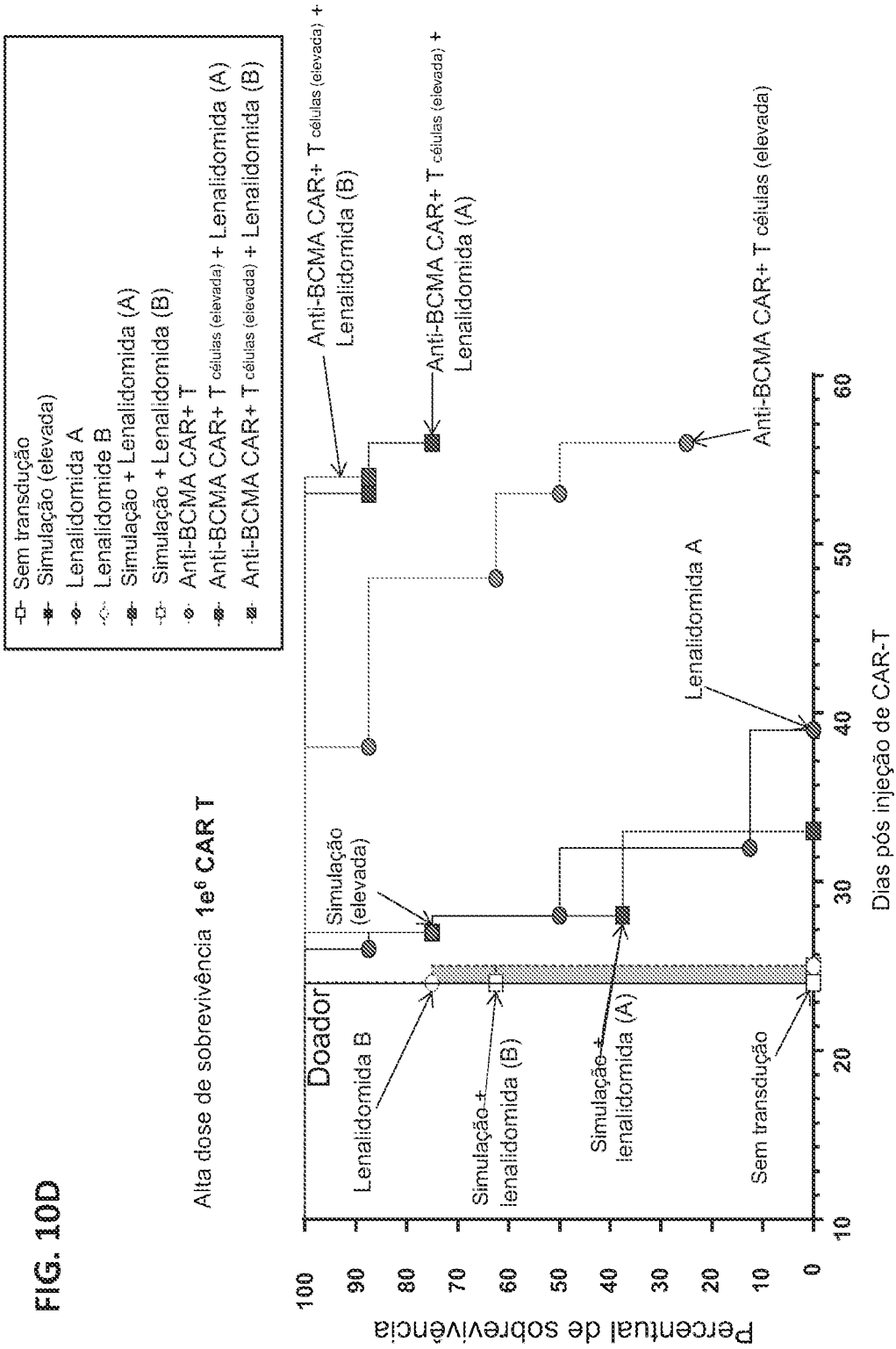


FIG. 10C









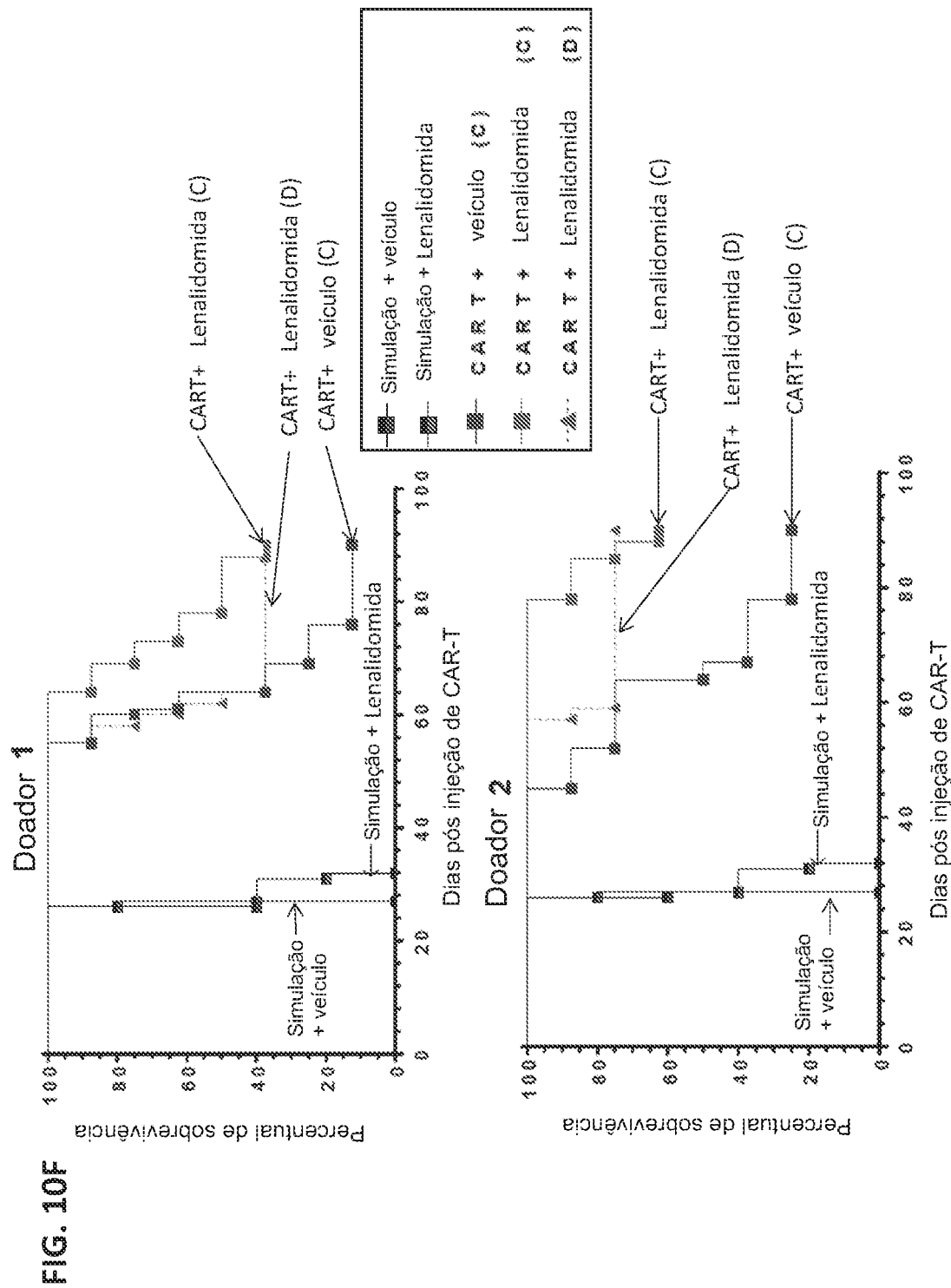
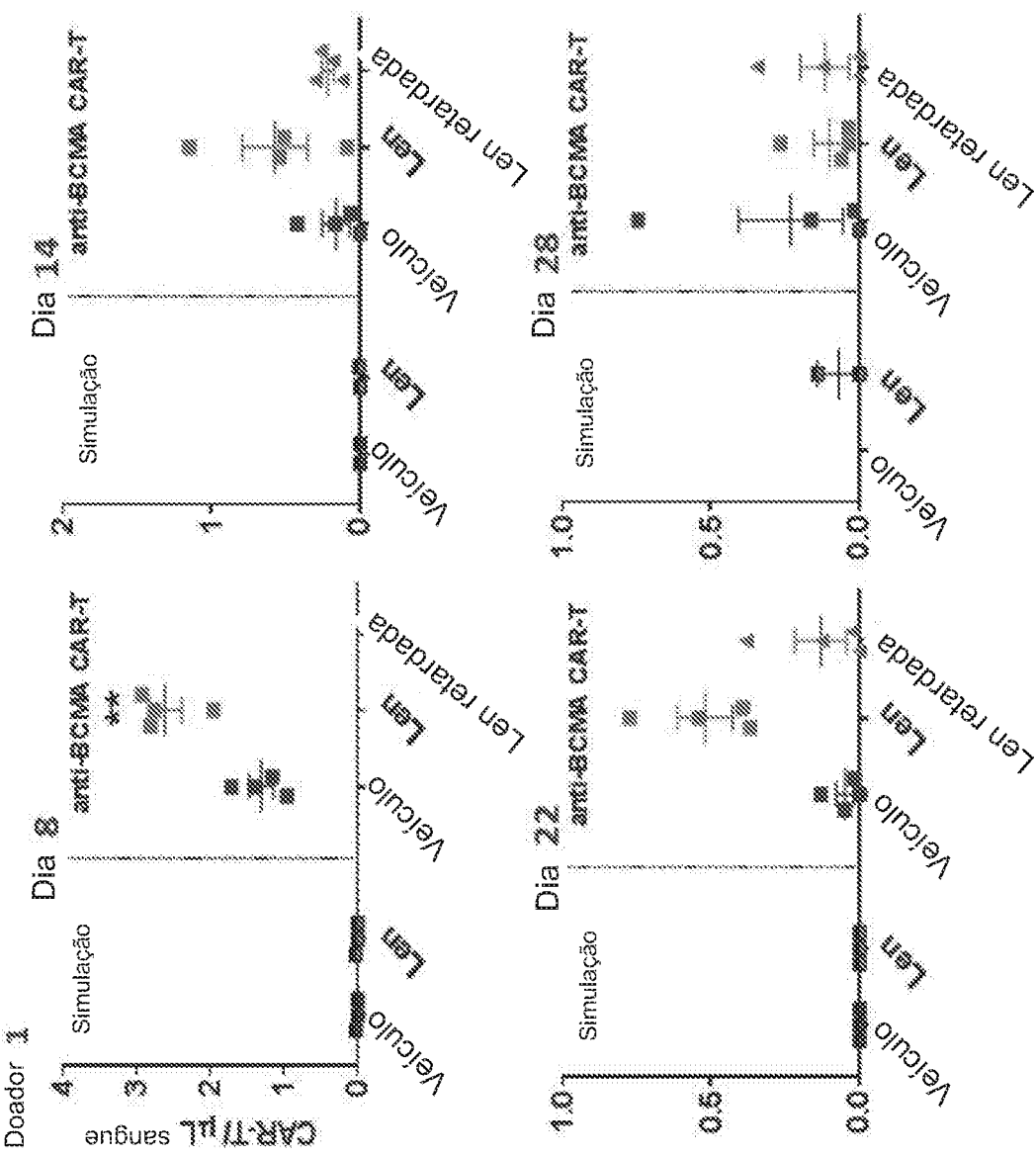


FIG. 10G



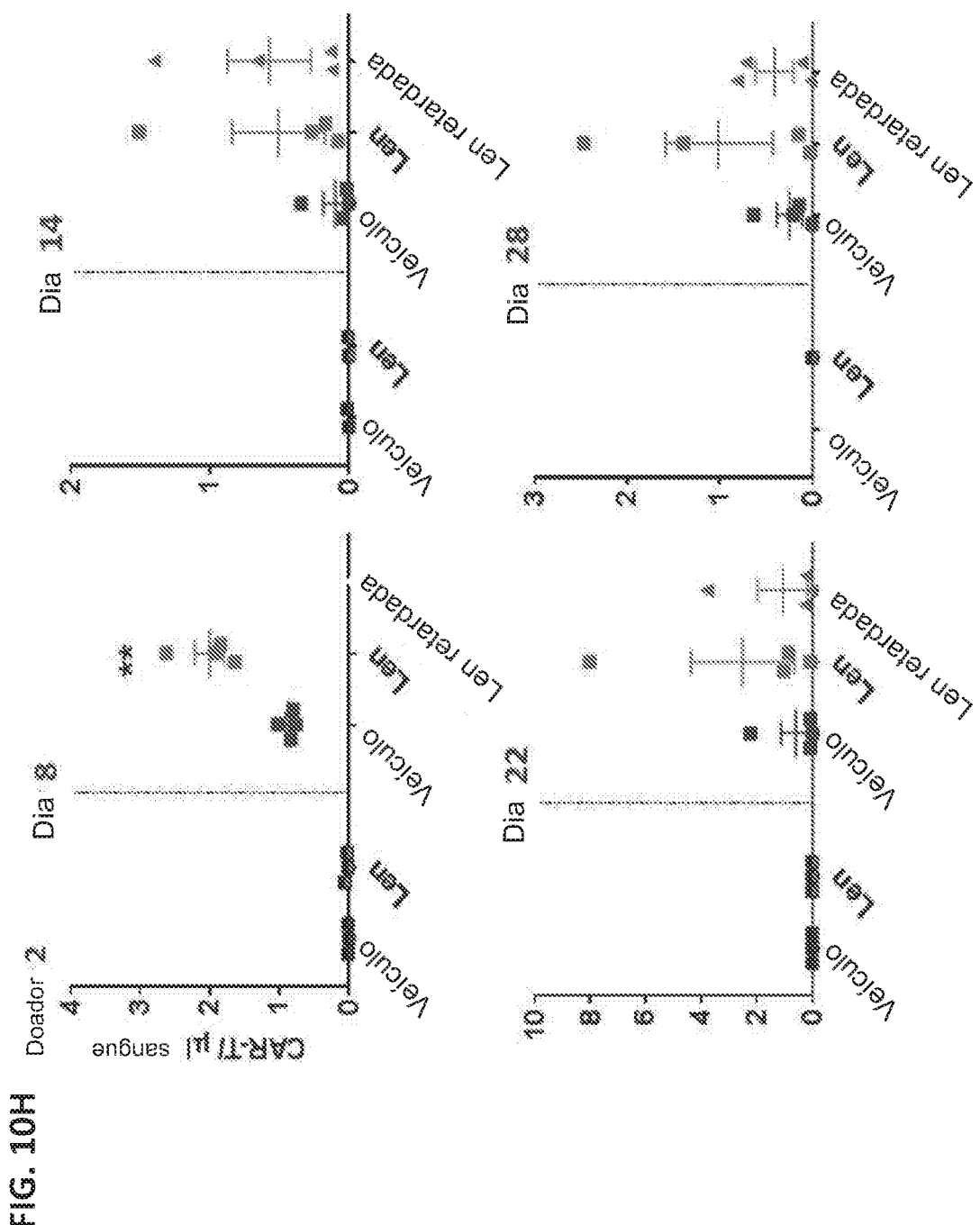


FIG. 11

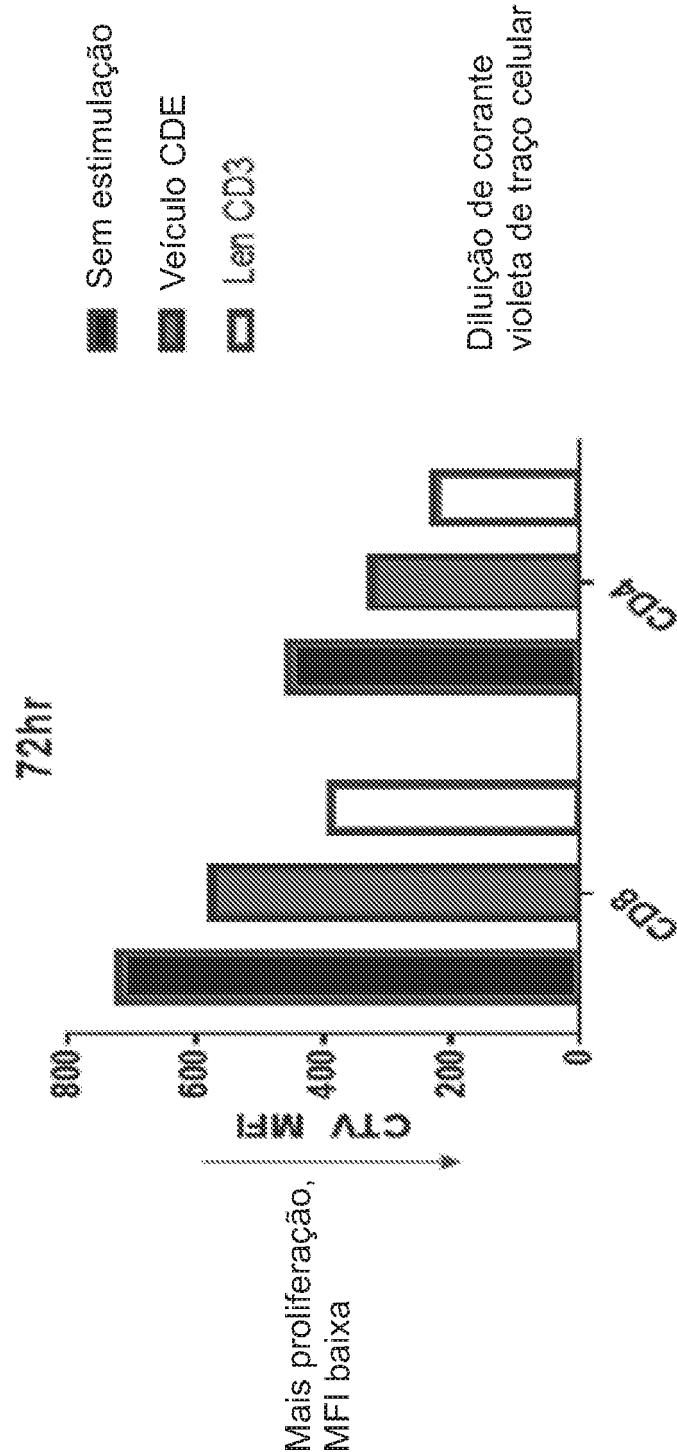


FIG. 12A

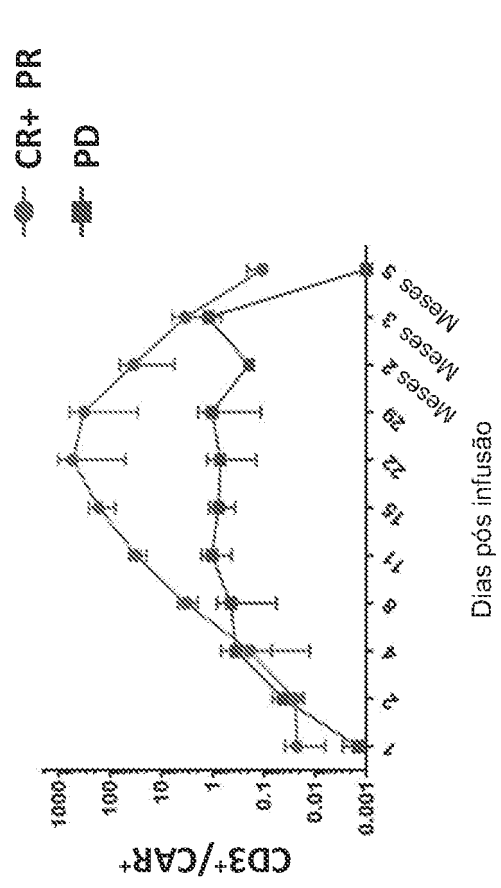
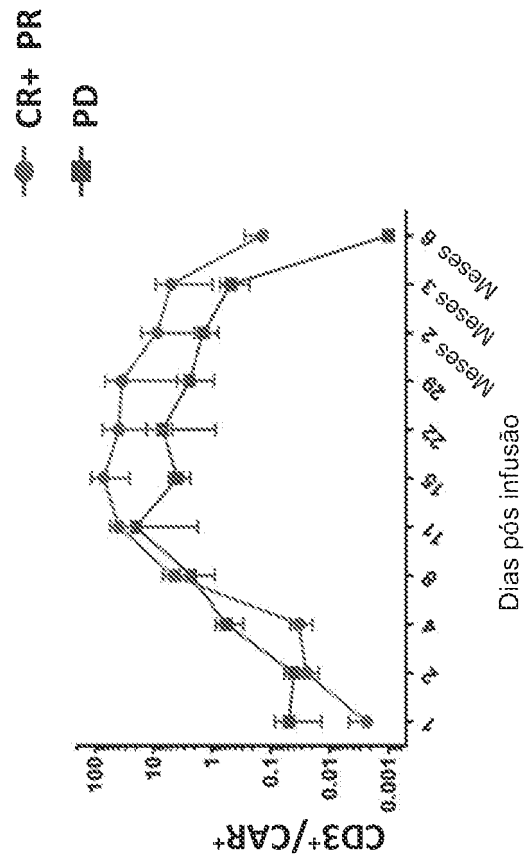


FIG. 12B



CR+ PR  
PD

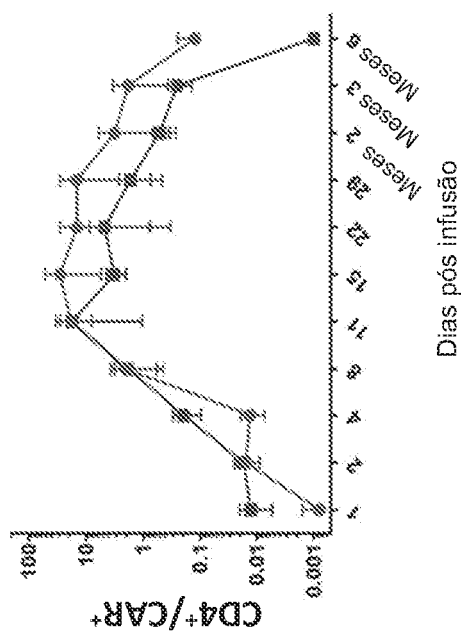


FIG. 12C

CR+ PR  
PD

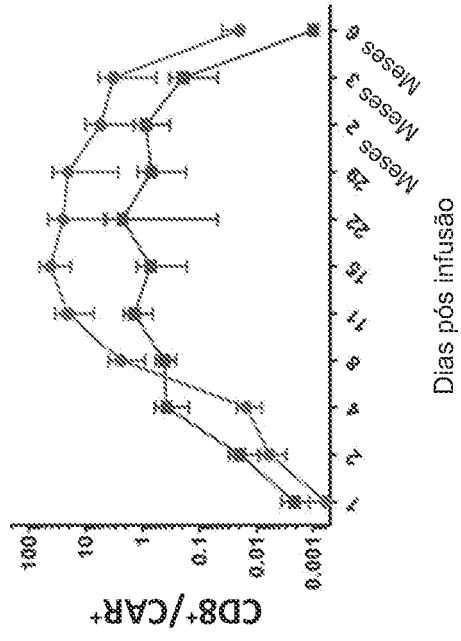


FIG. 12D

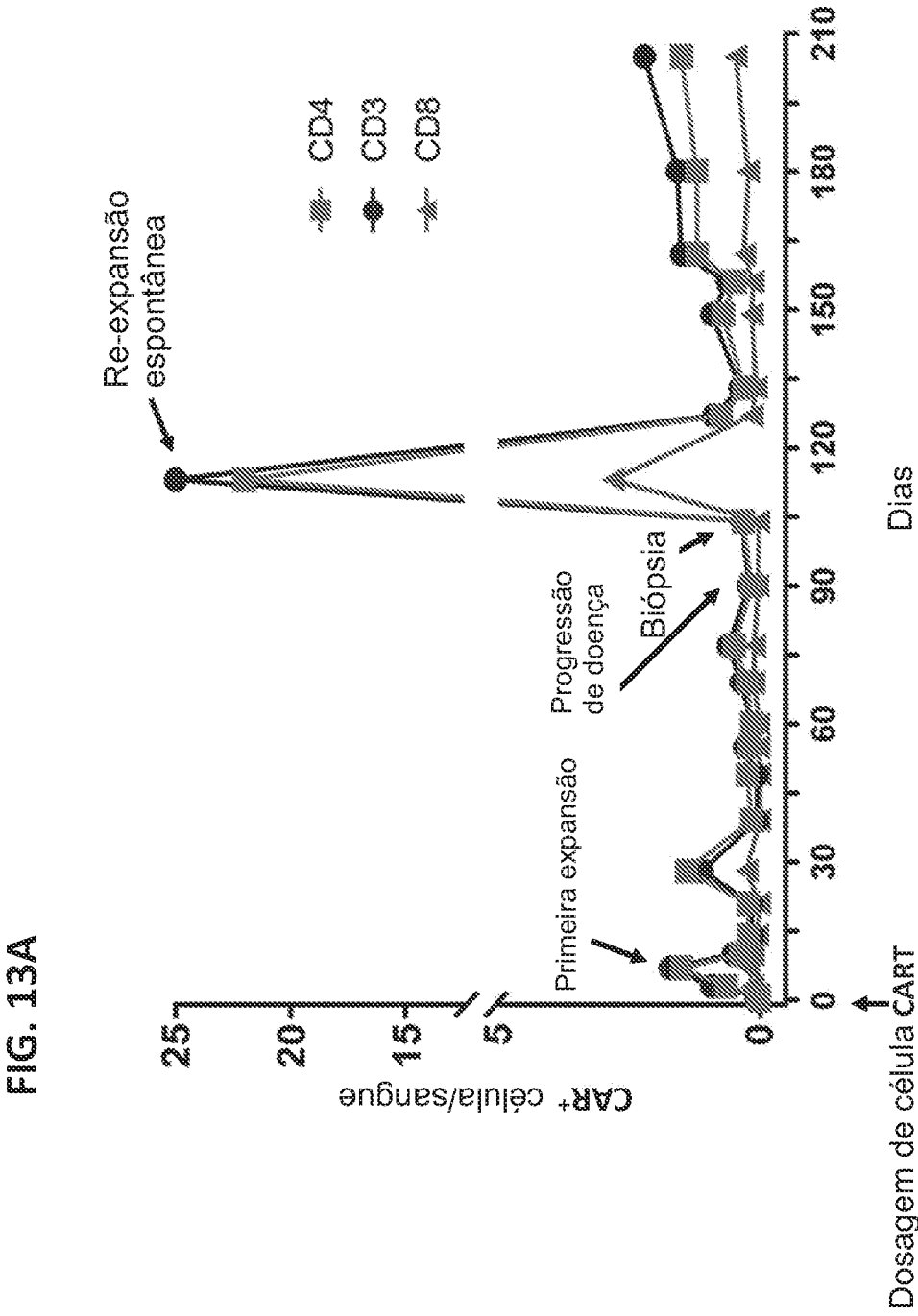


FIG. 13D

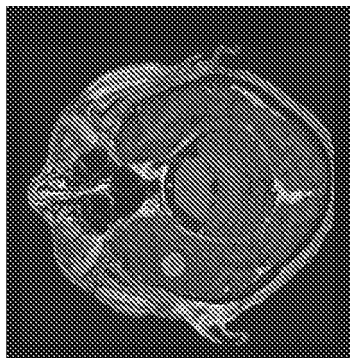


FIG. 13G

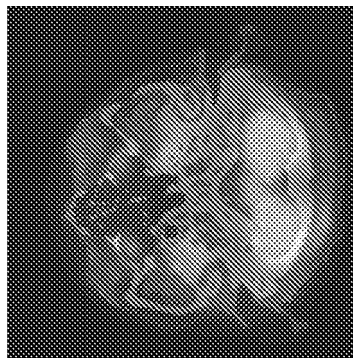


FIG. 13C

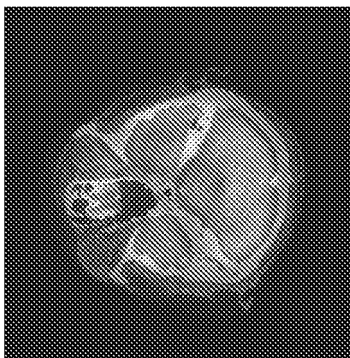


FIG. 13F

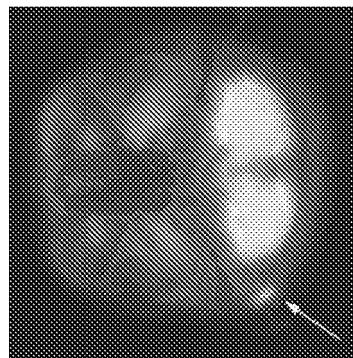


FIG. 13B

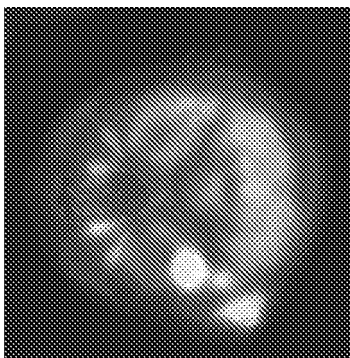


FIG. 13E

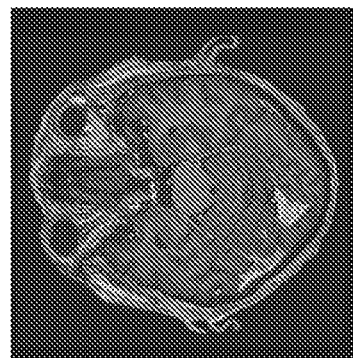




FIG. 14

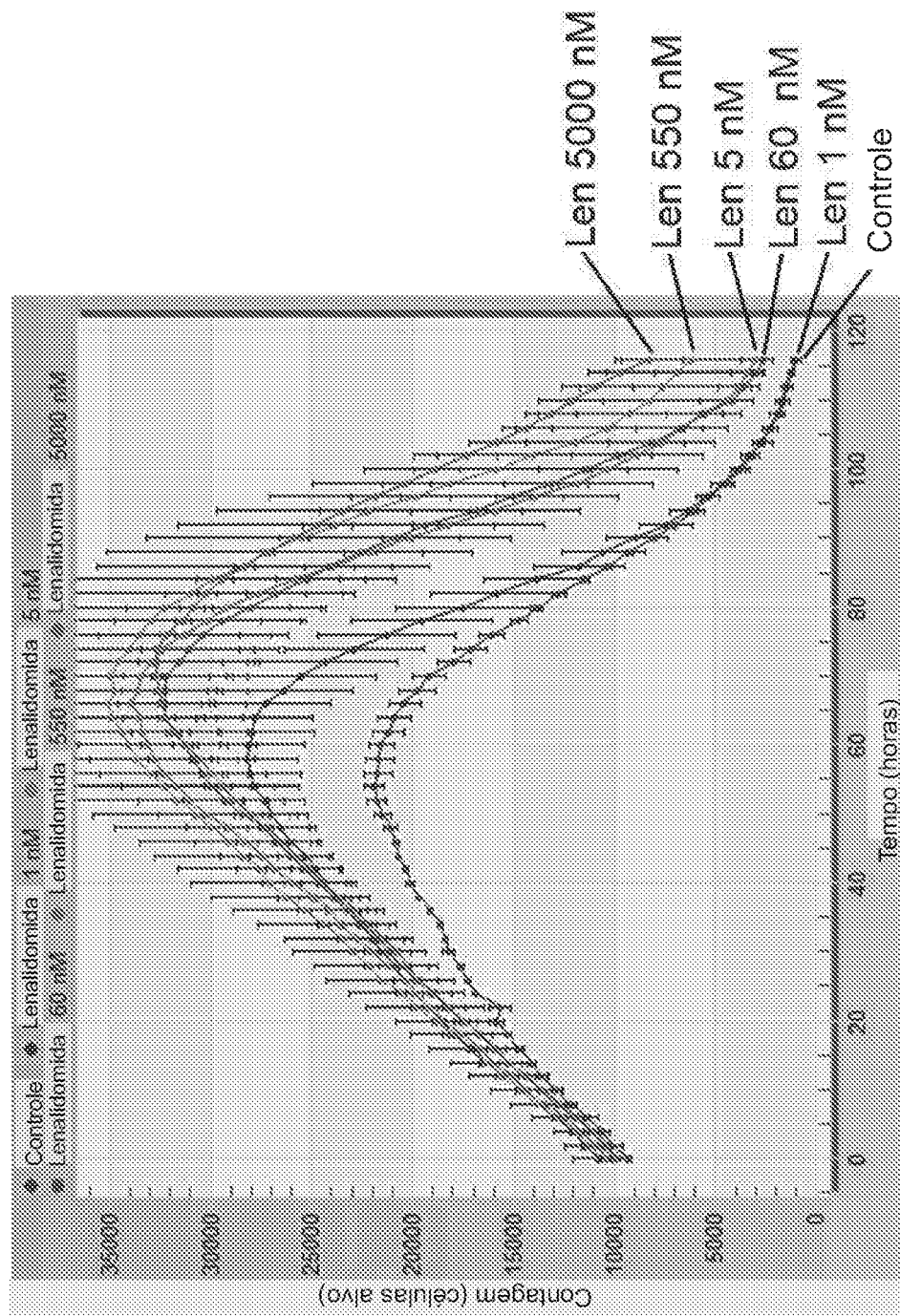


FIG. 15A

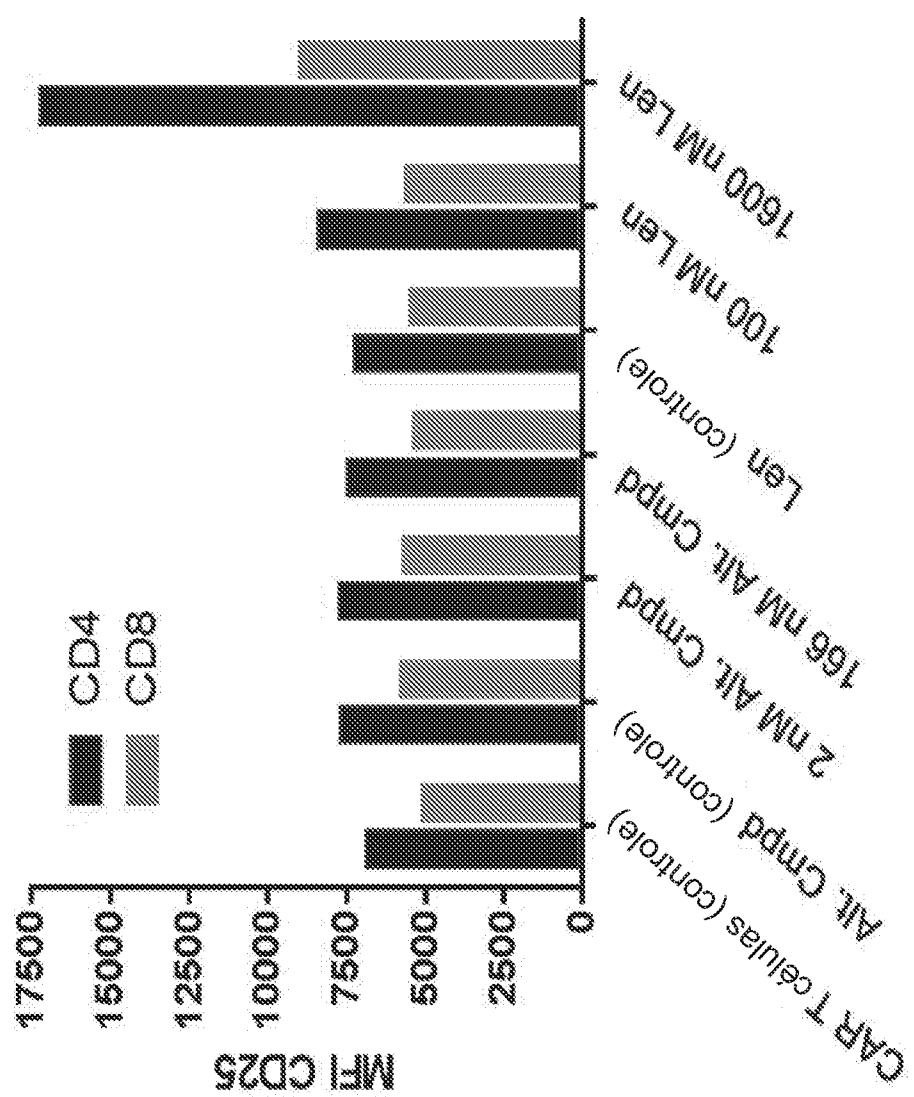


FIG. 15B

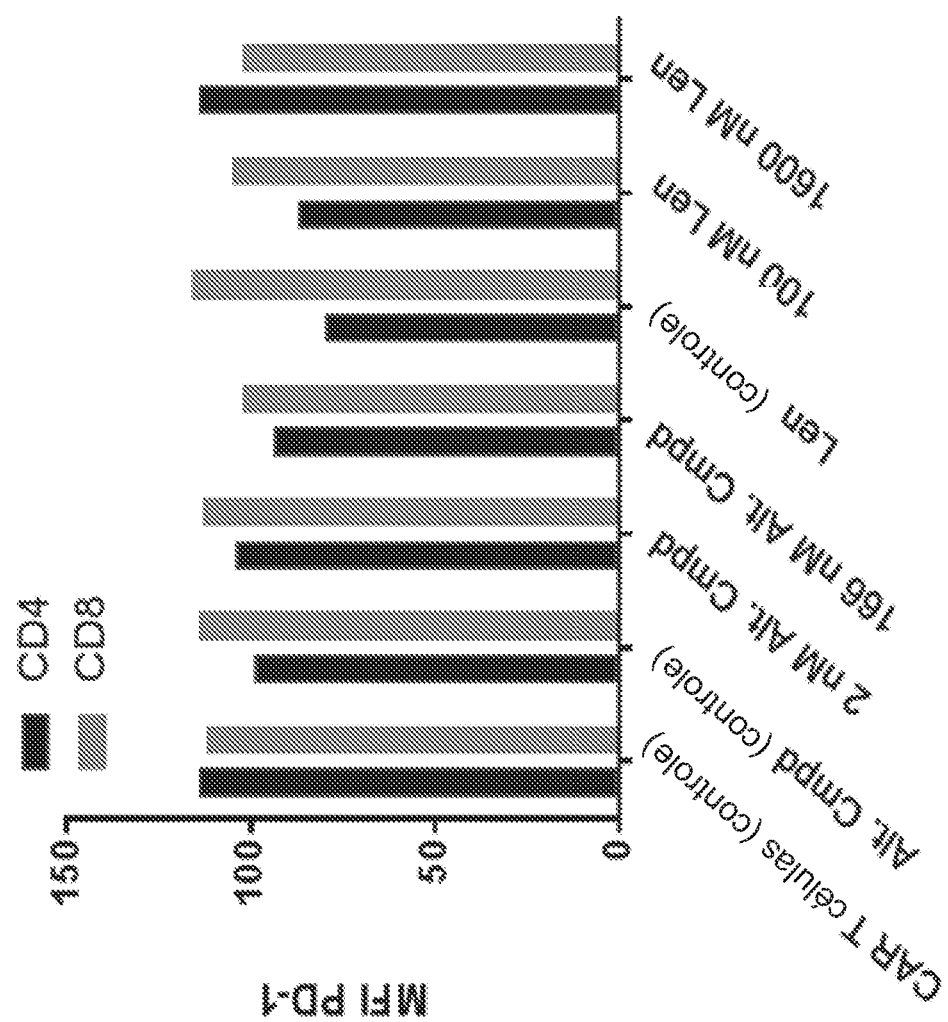


FIG. 16

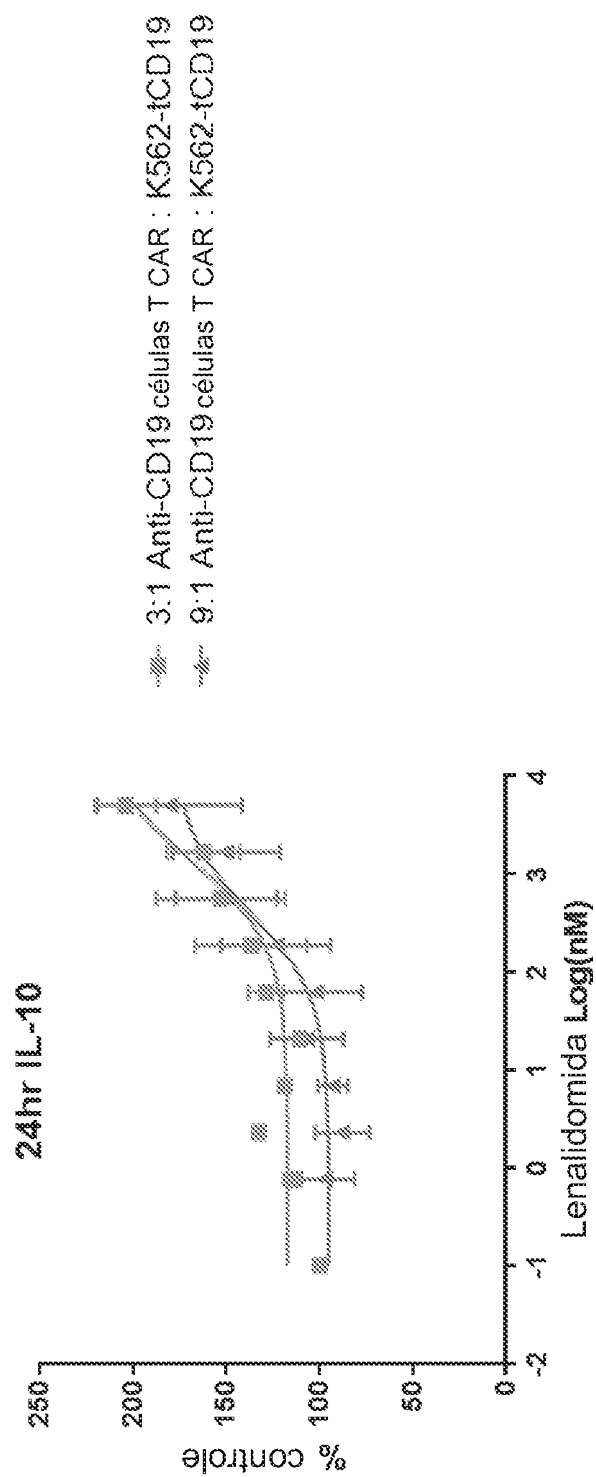


FIG. 17A

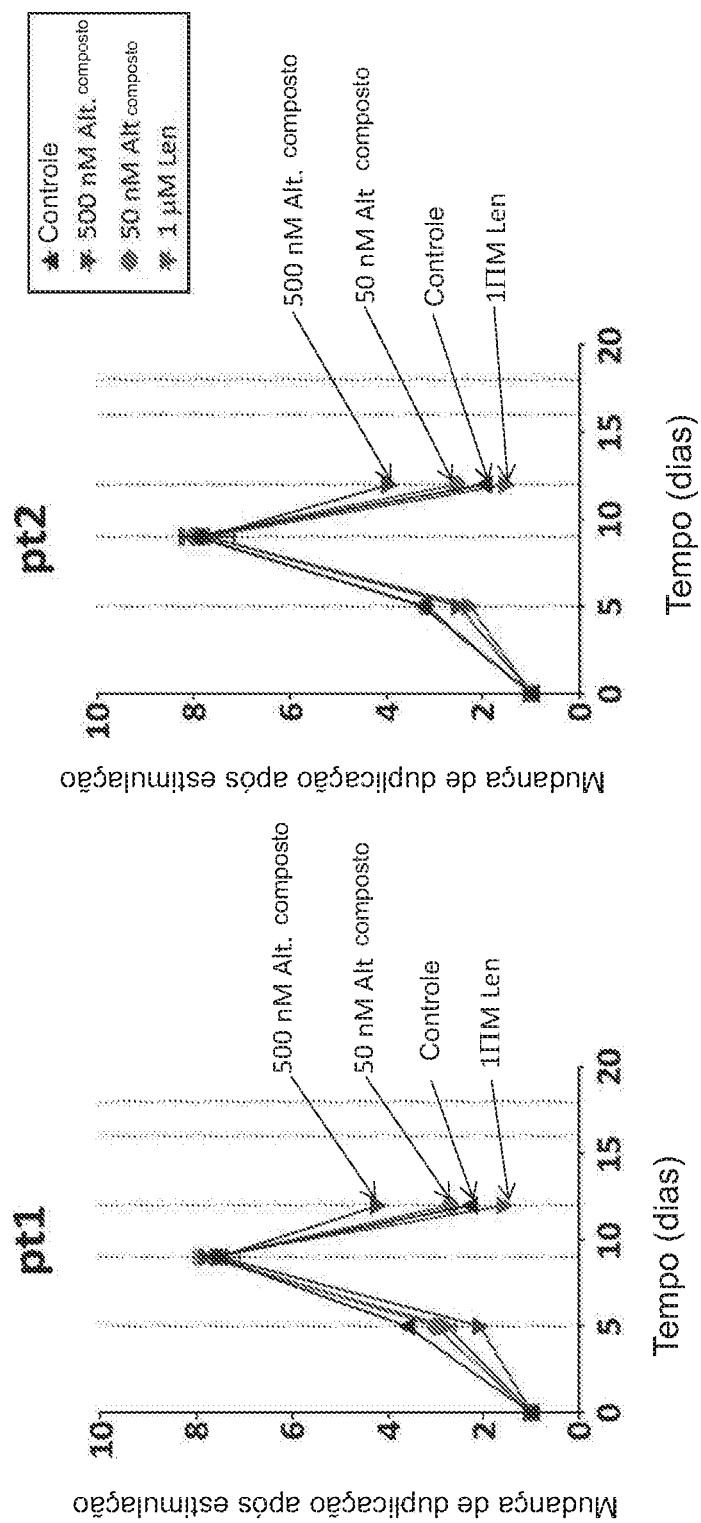


FIG. 17B

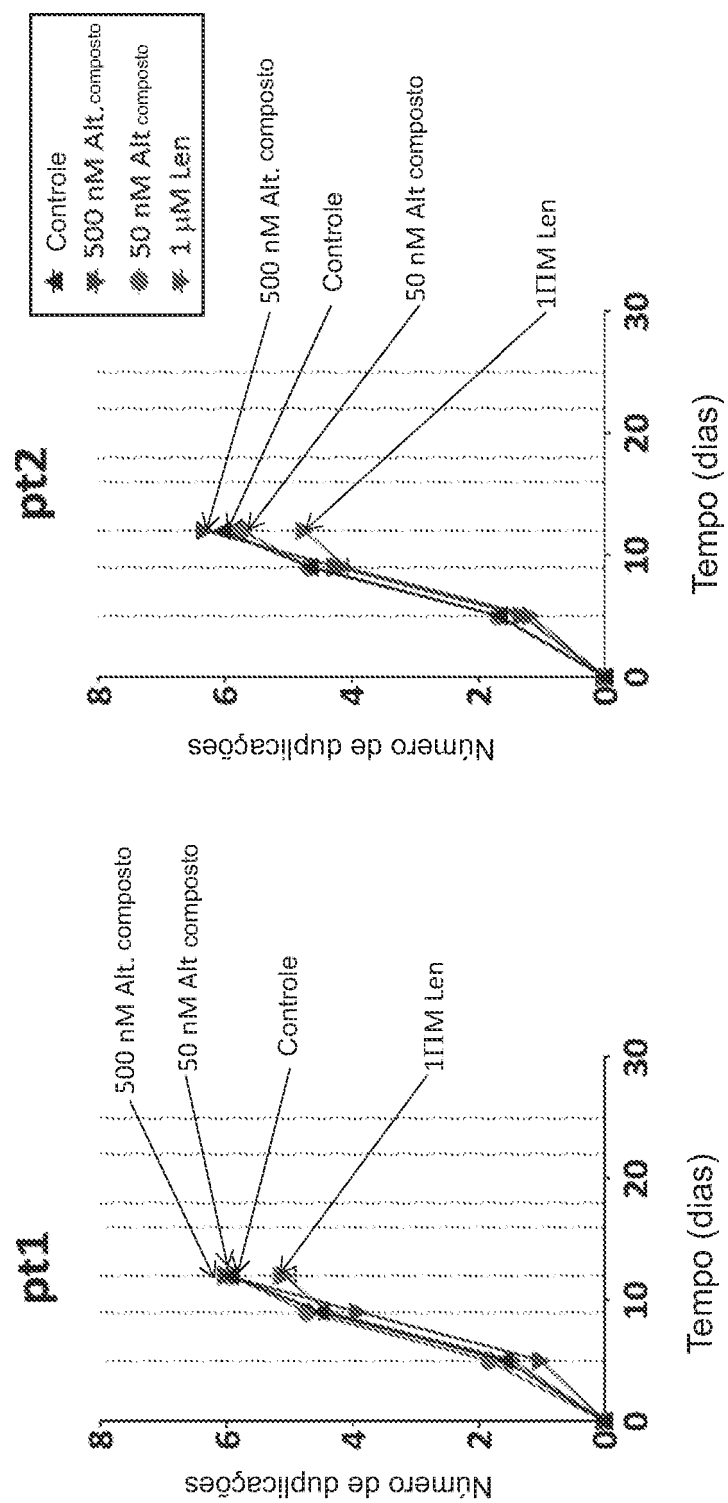
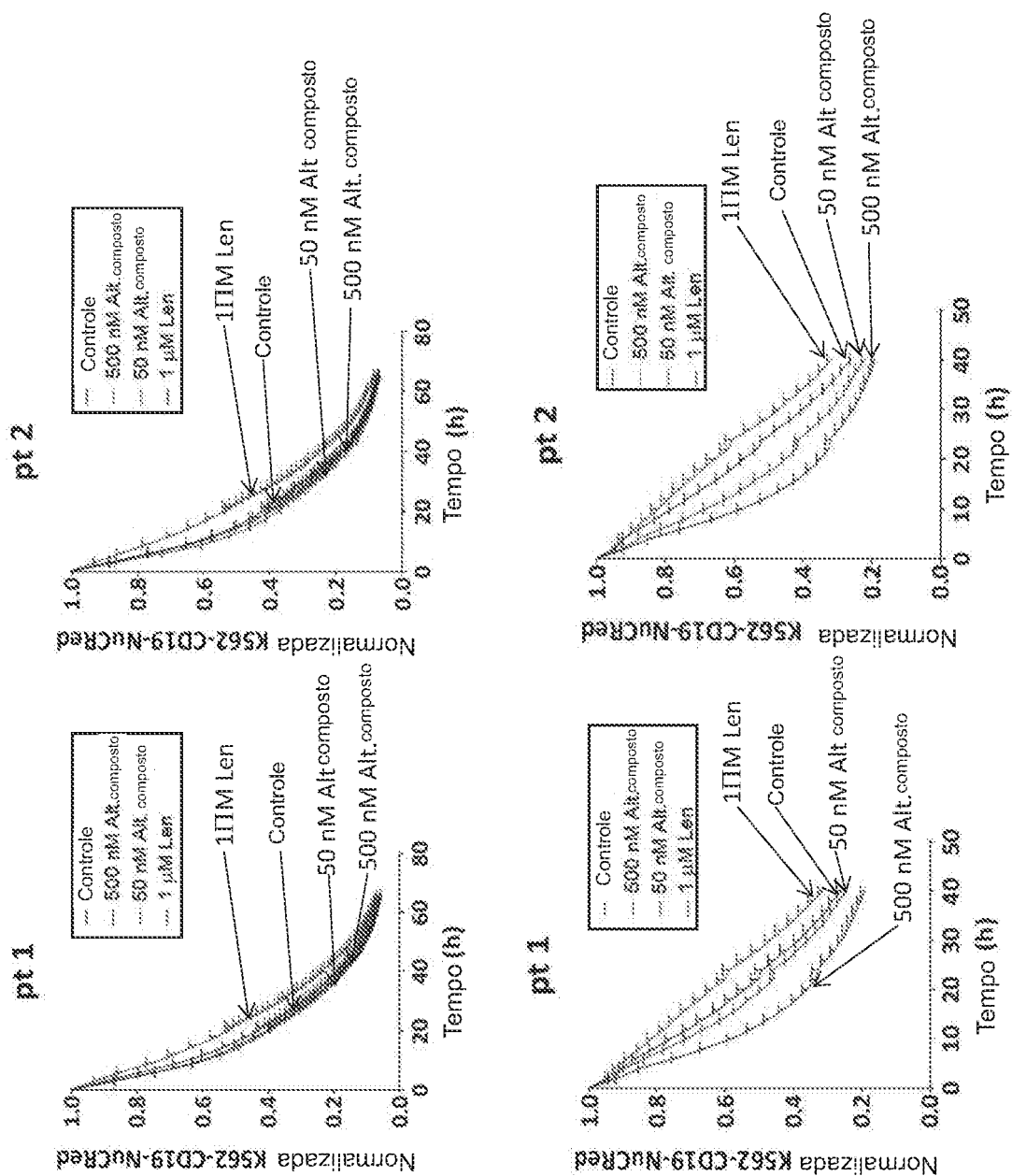


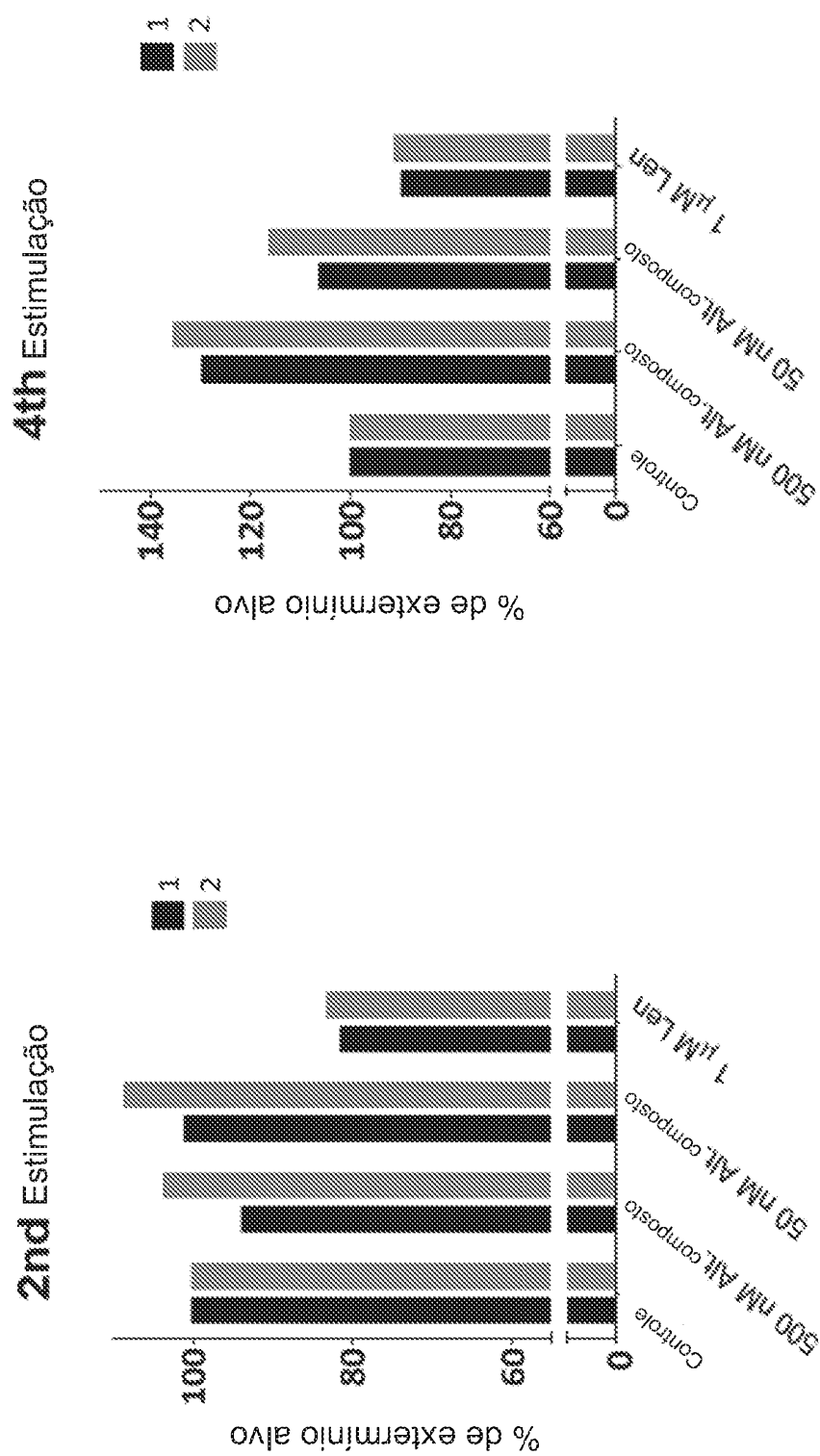
FIG. 18A

2<sup>nd</sup>  
Estimulação



4<sup>th</sup>  
Estimulação

FIG. 18B





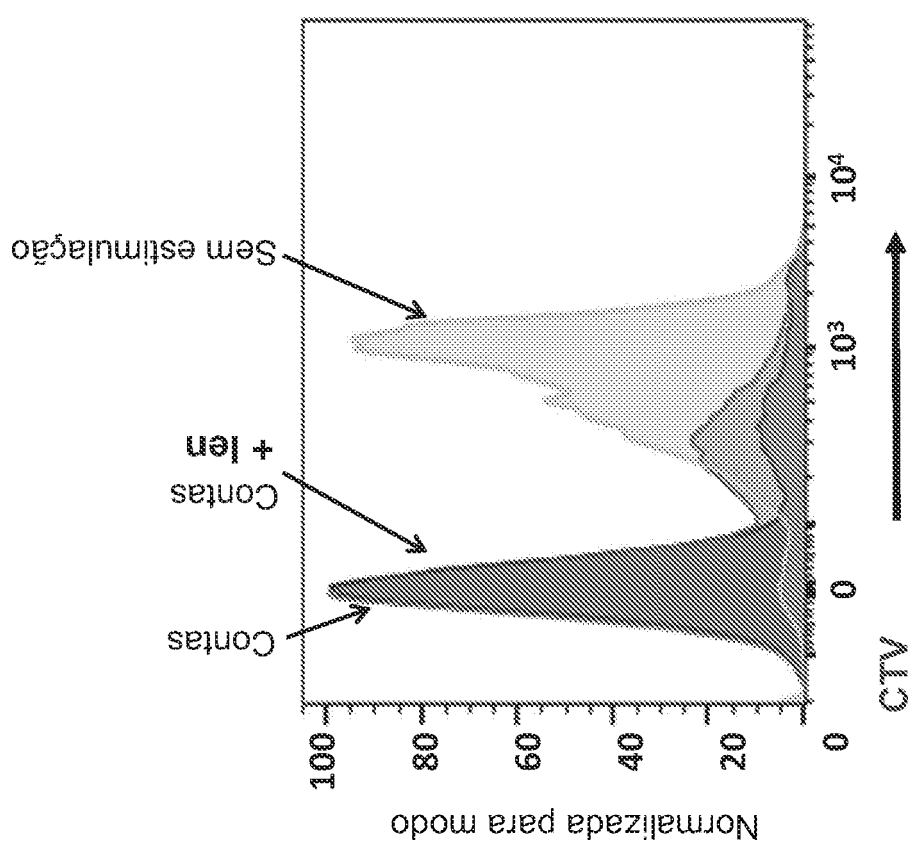
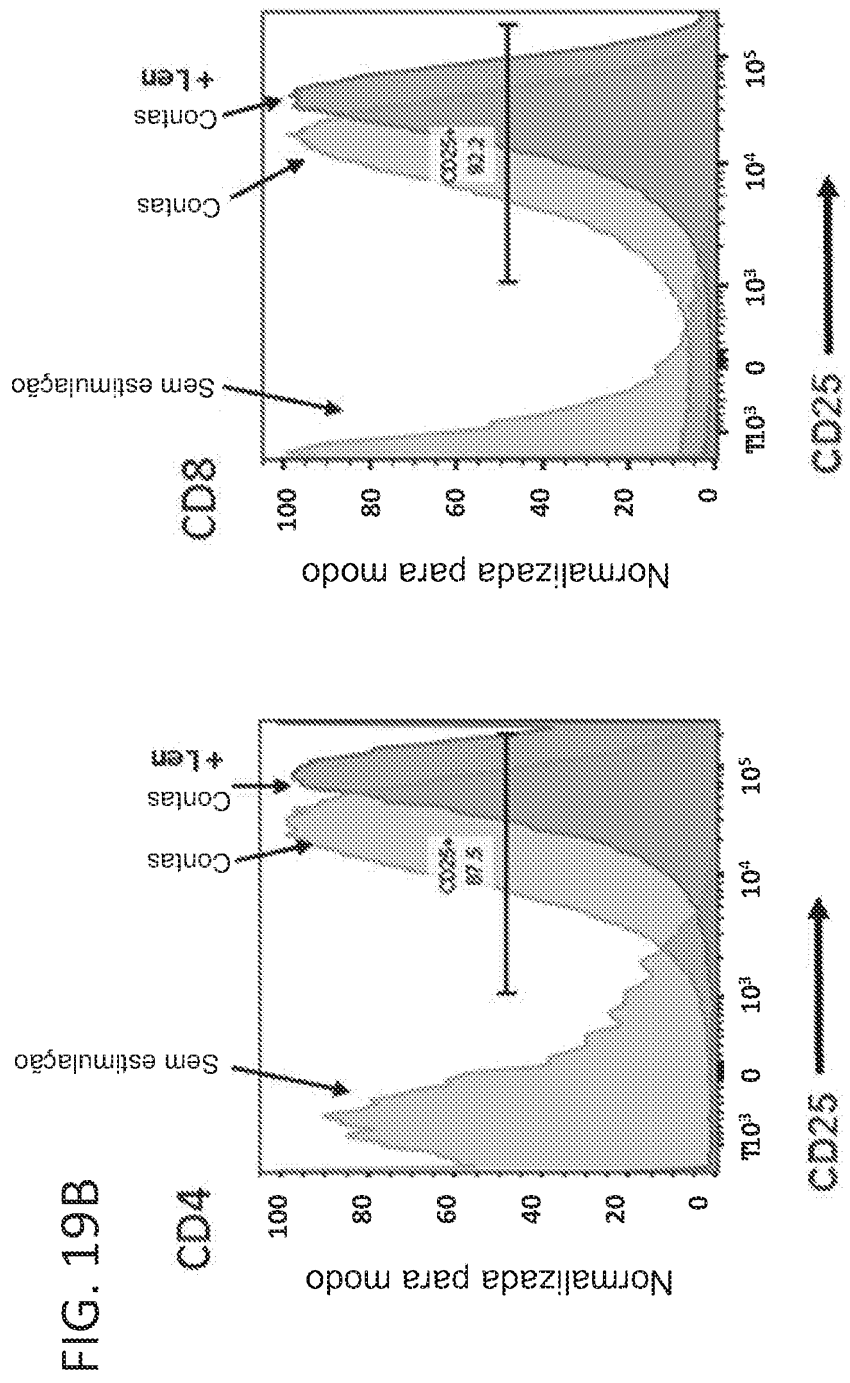
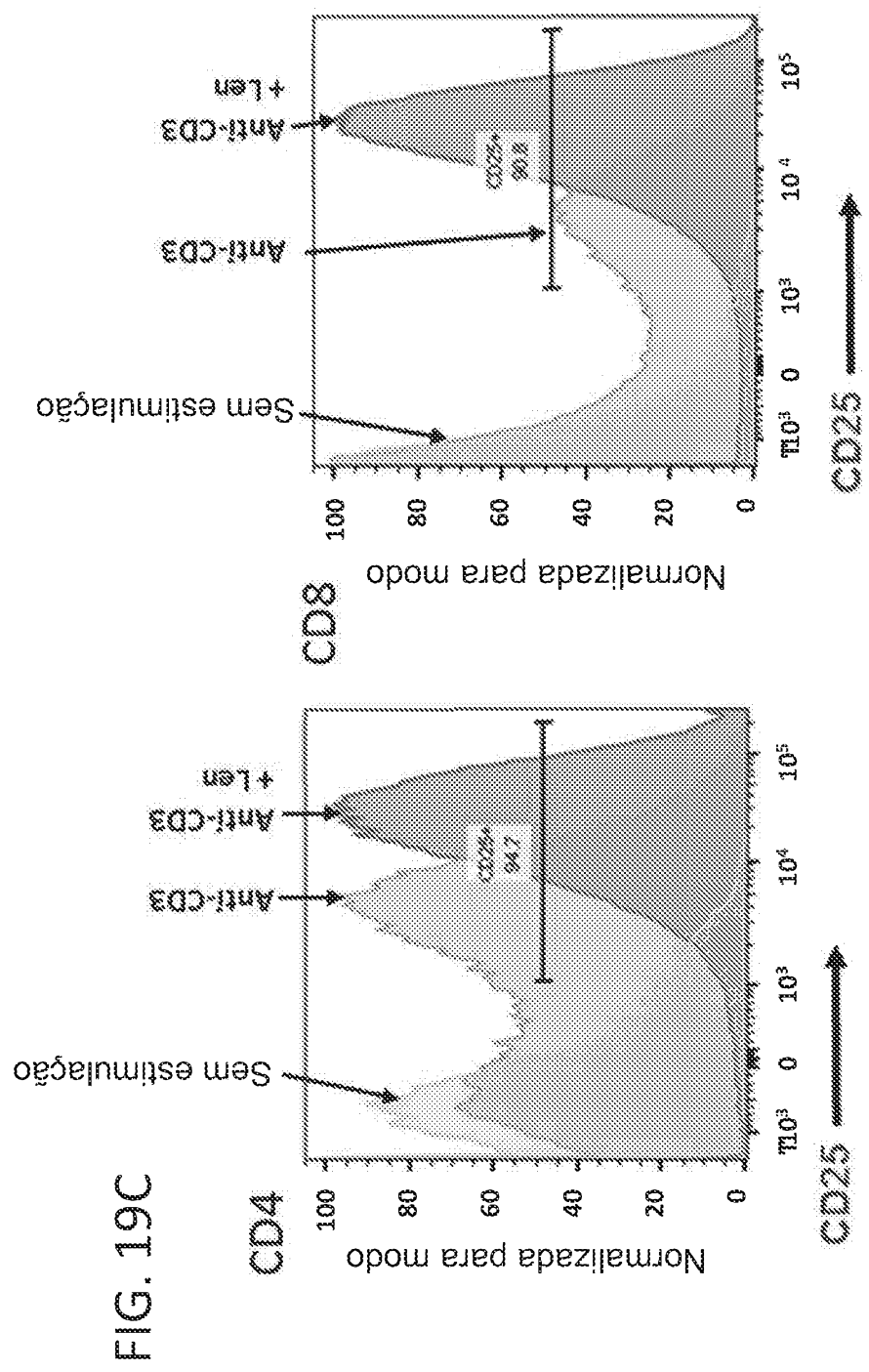


FIG. 19A





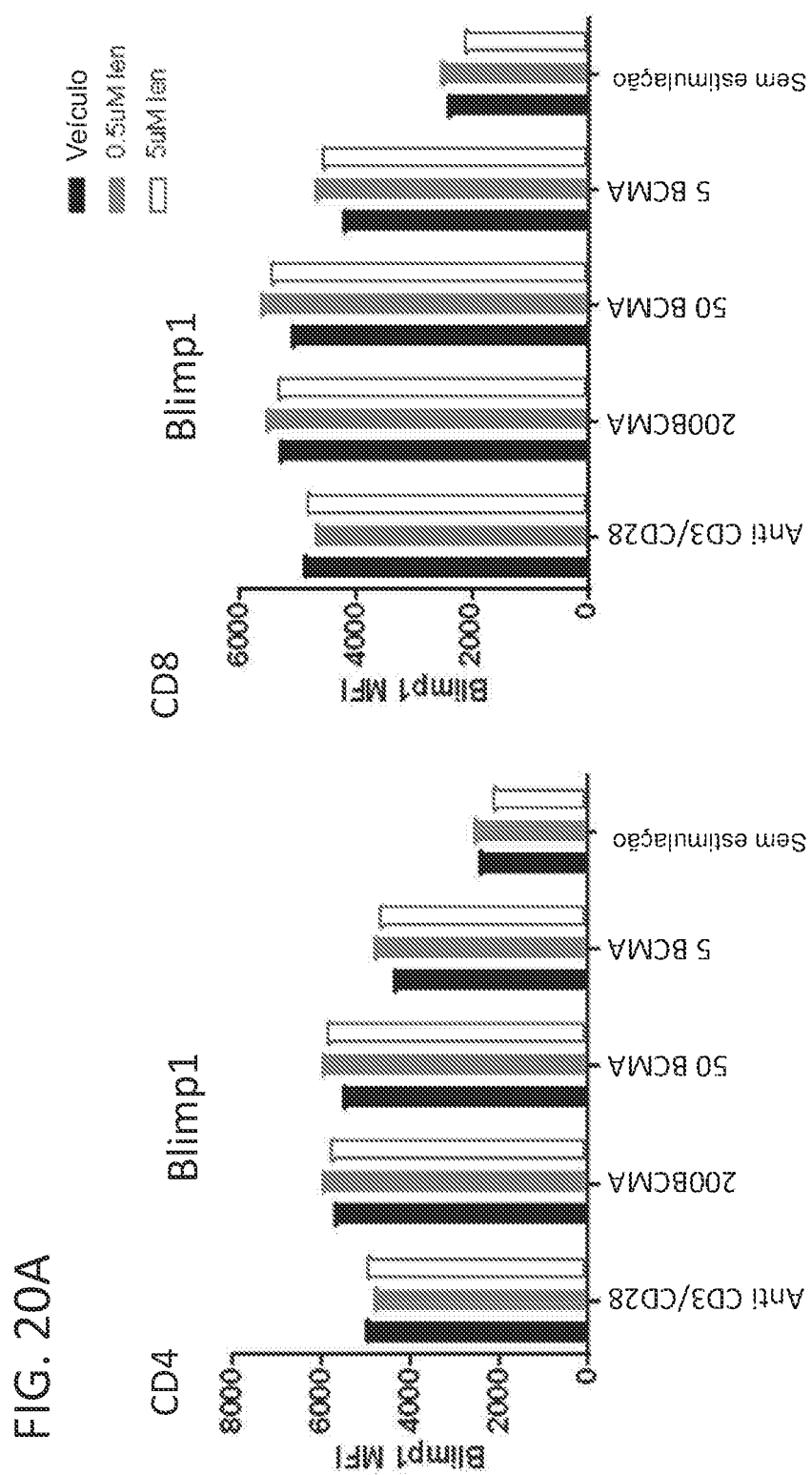


FIG. 20B

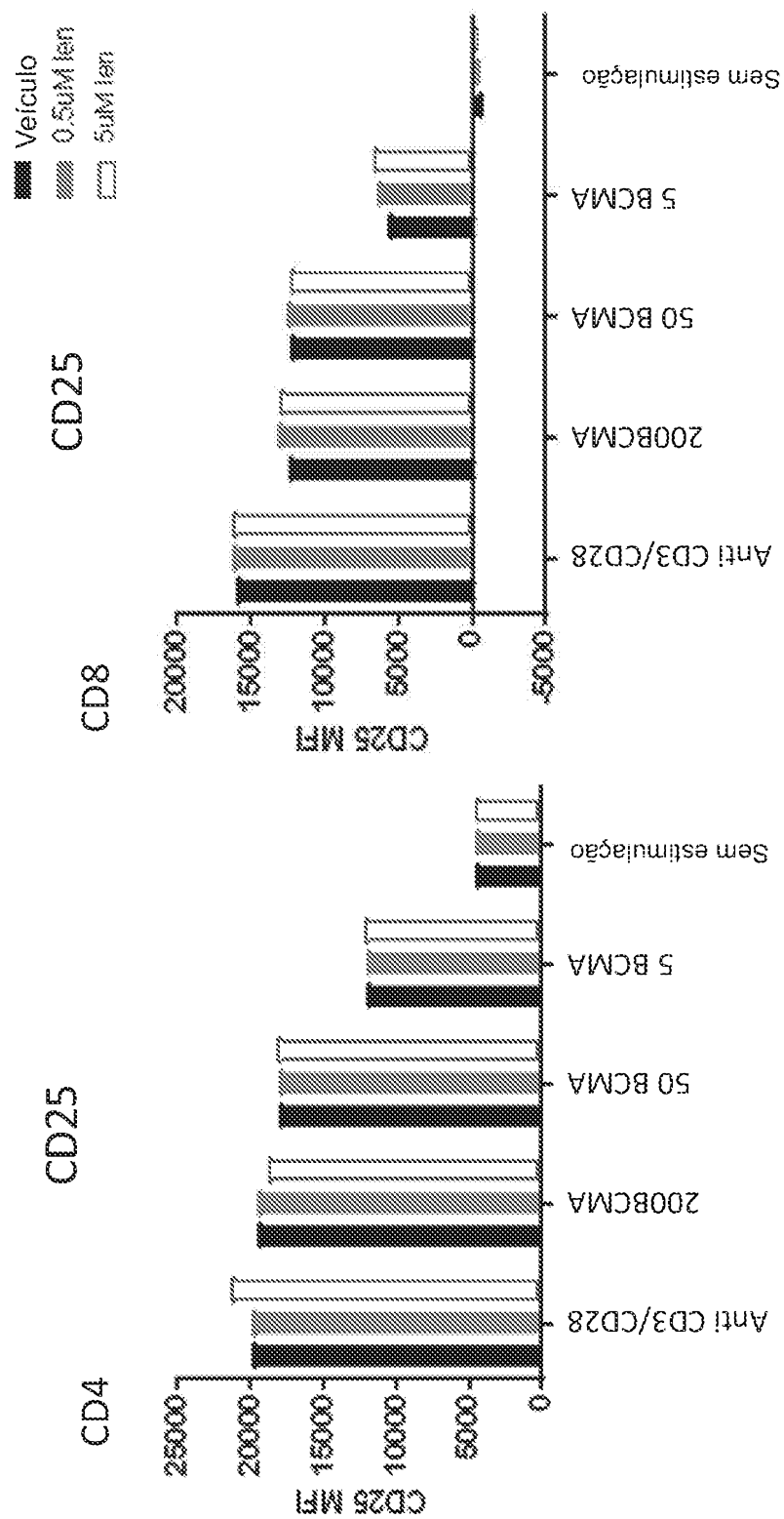


FIG. 20C

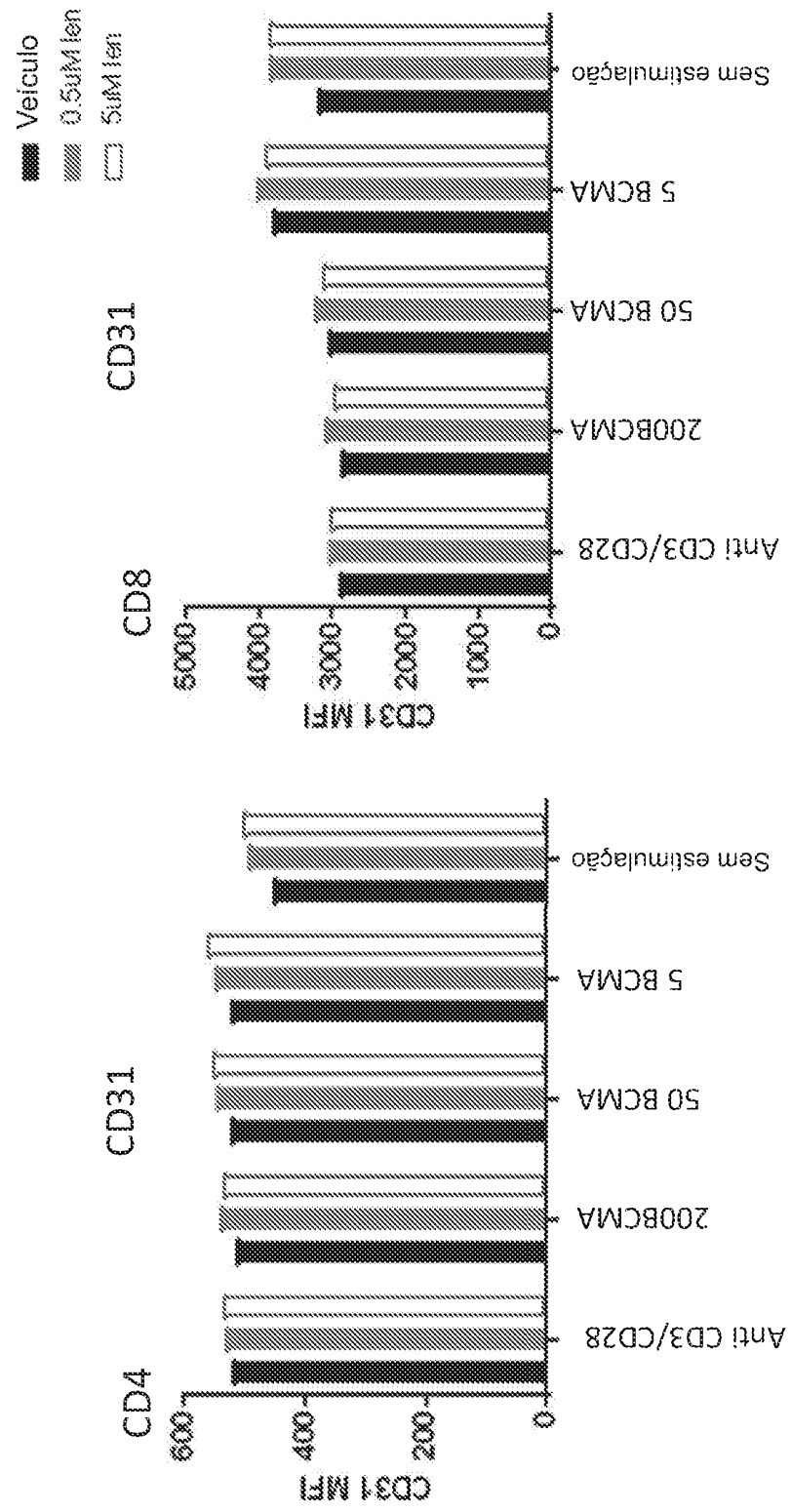


FIG. 20D

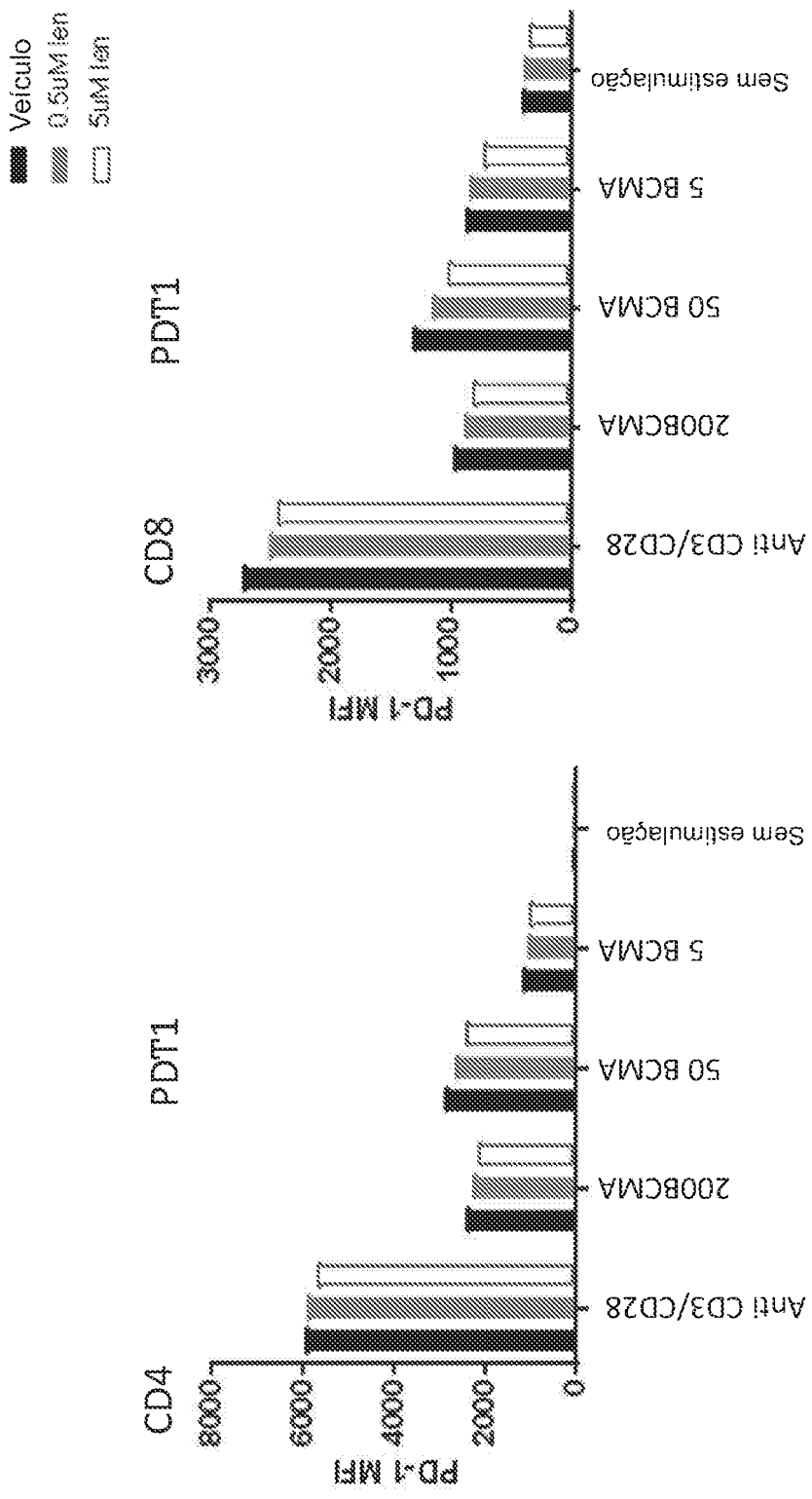


FIG. 20E

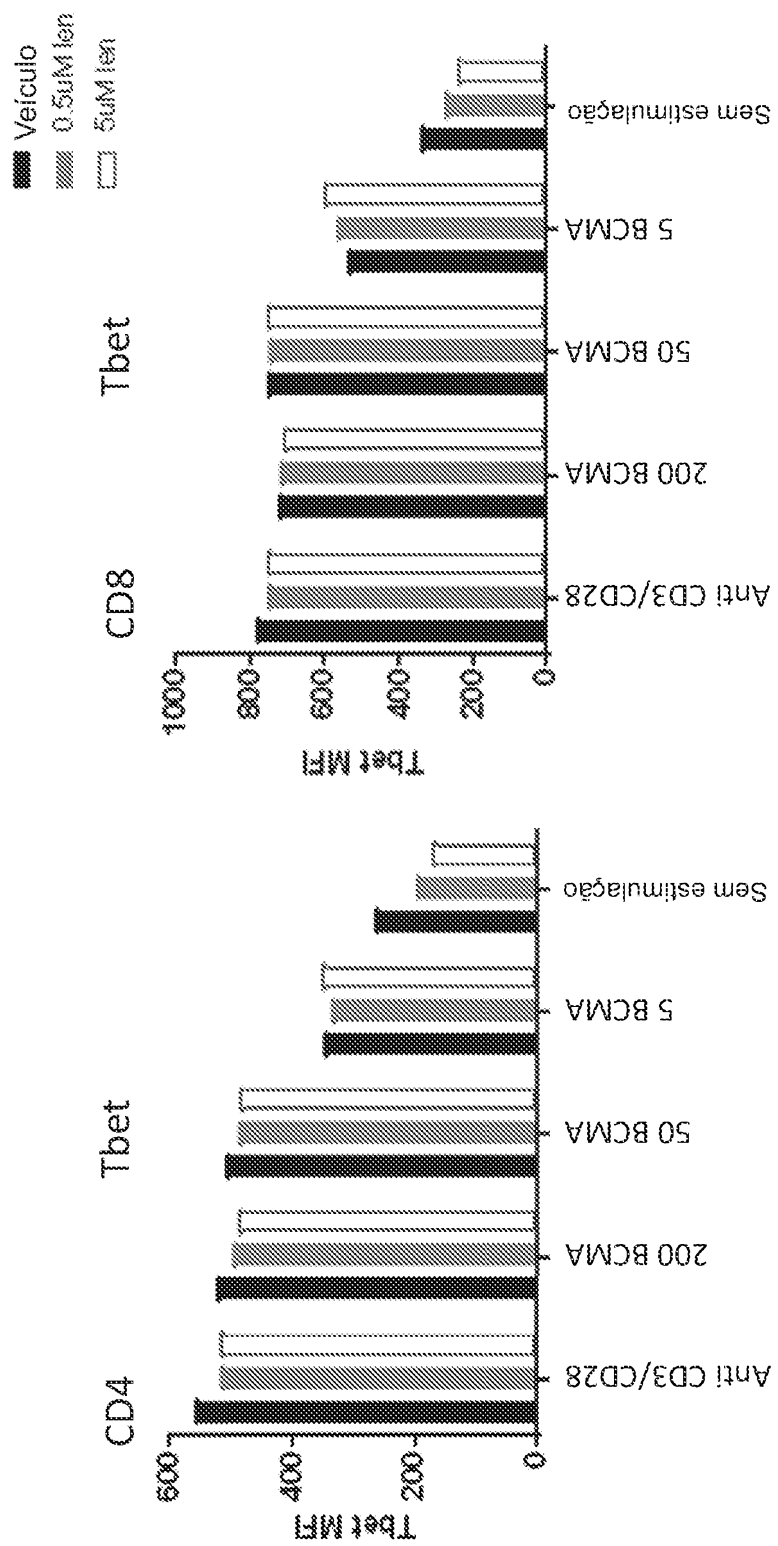




FIG. 20F

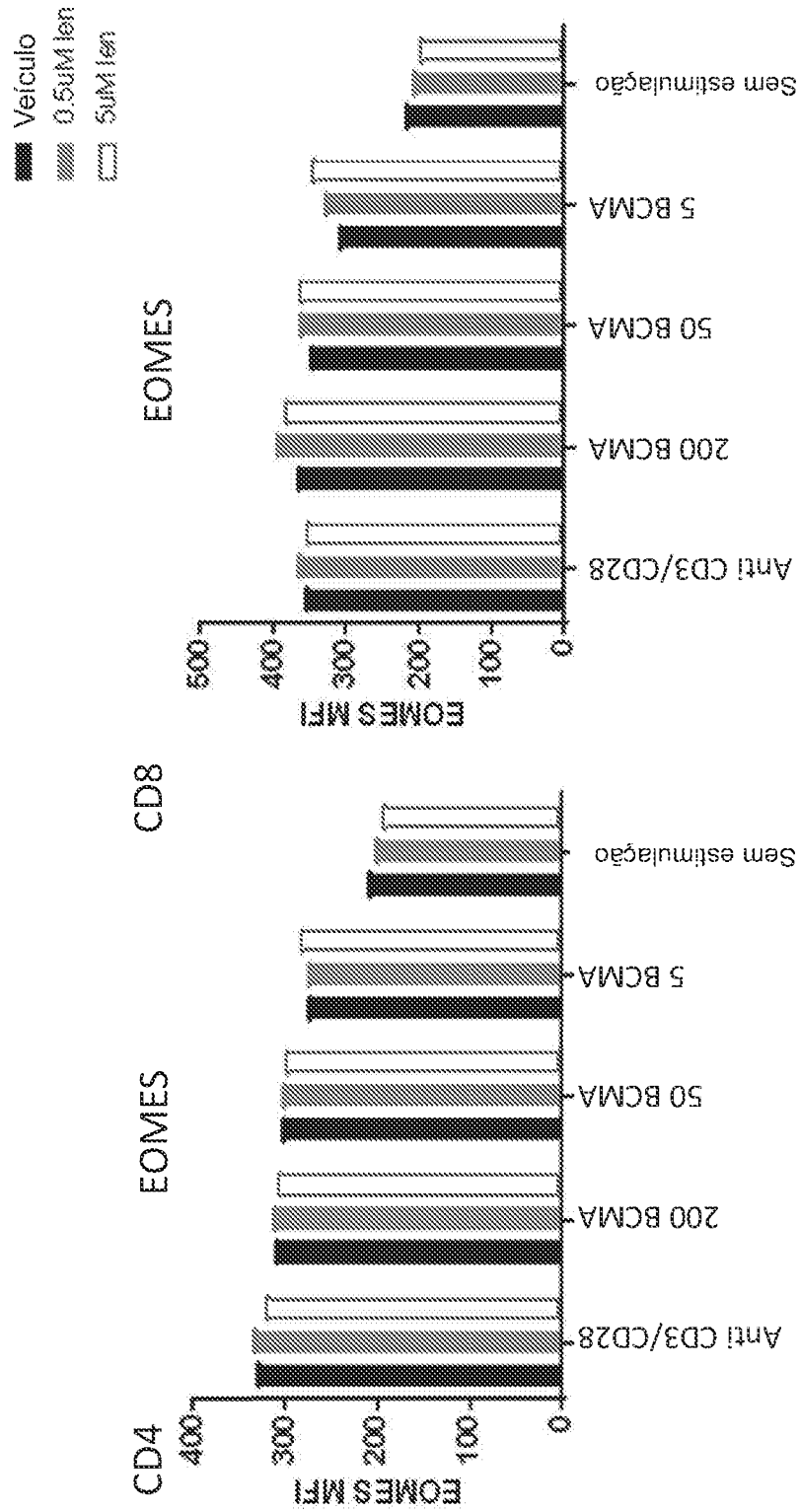


FIG. 20G

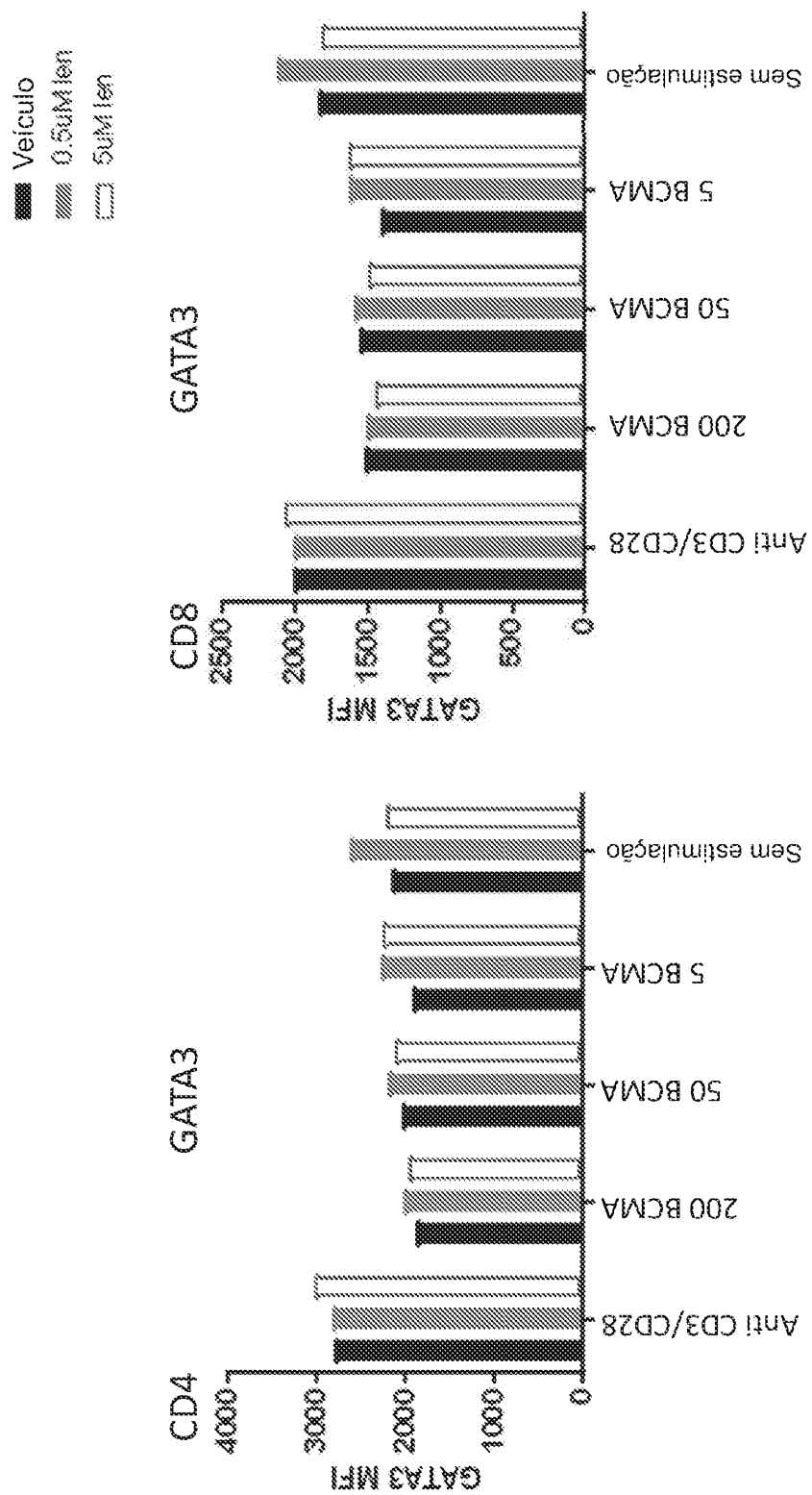


FIG. 20H

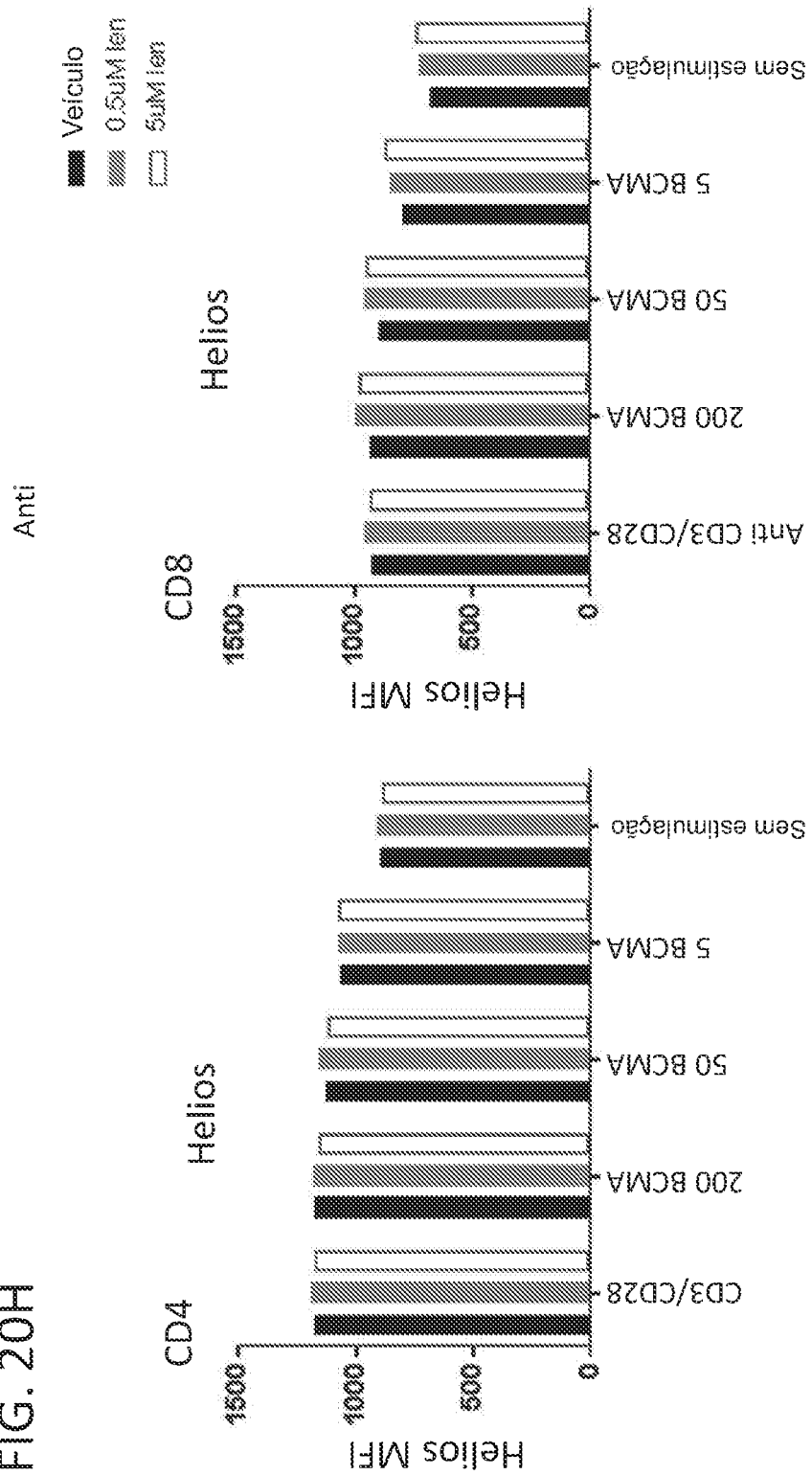


FIG. 20I

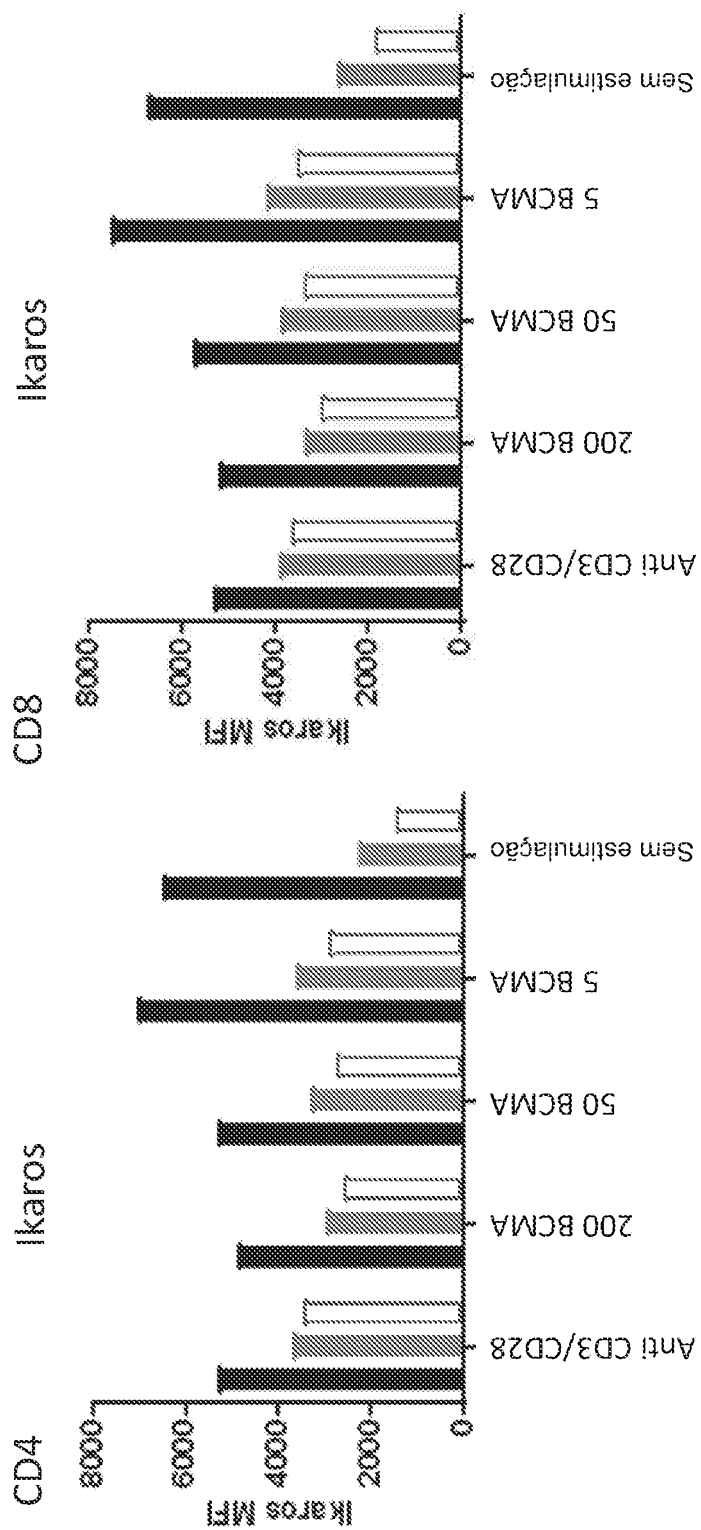


FIG. 21B

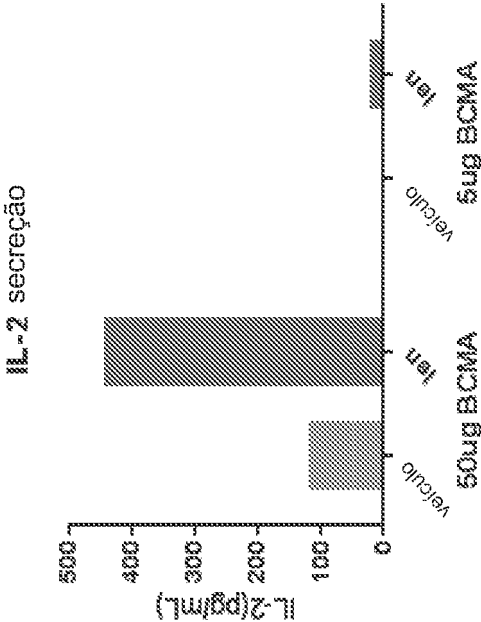


FIG. 21A

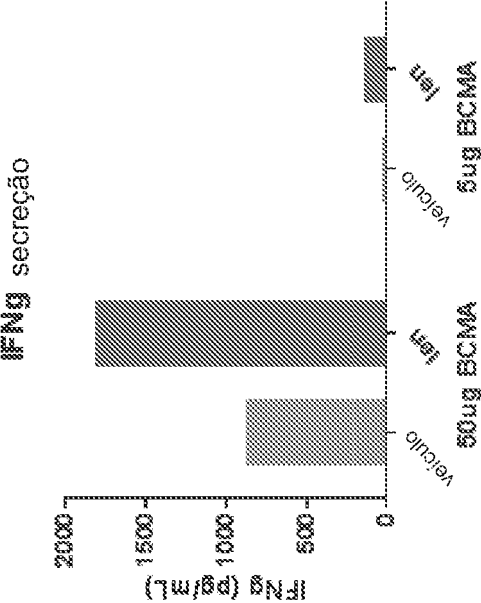


FIG. 21C

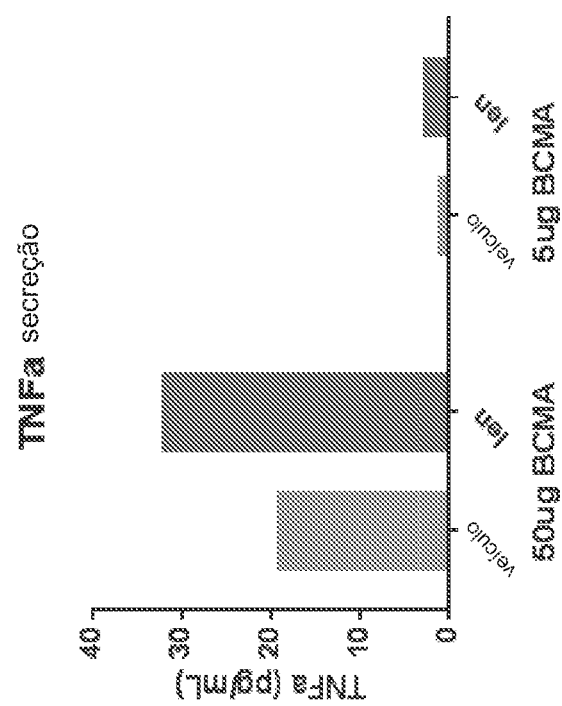


FIG. 21D

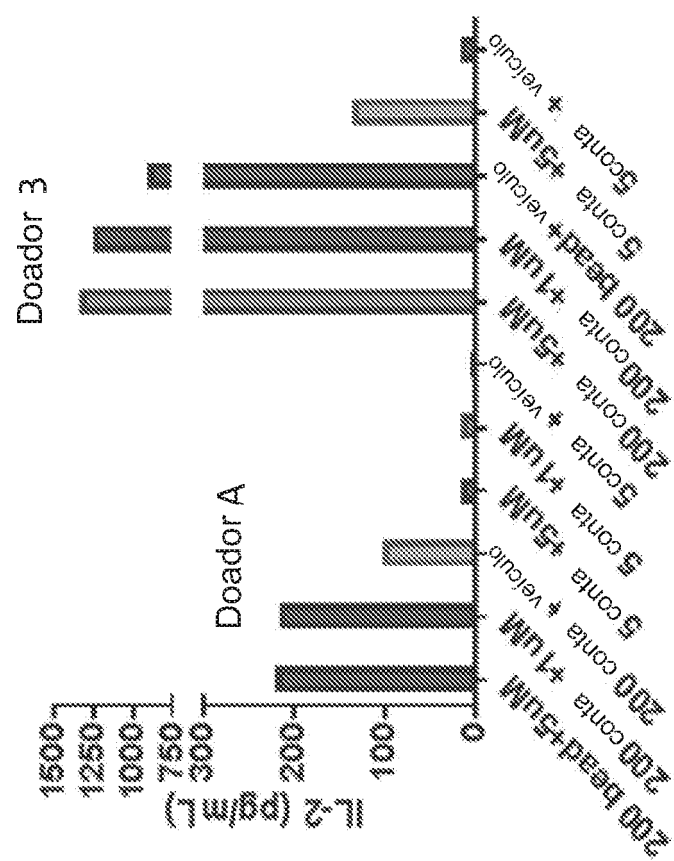


FIG. 21E

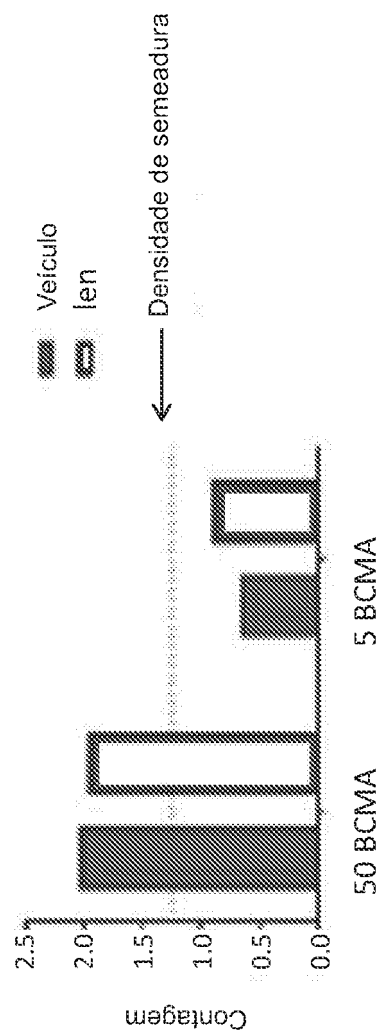
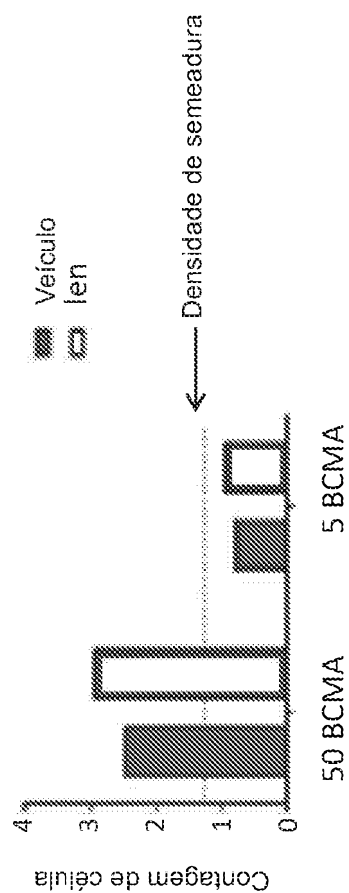
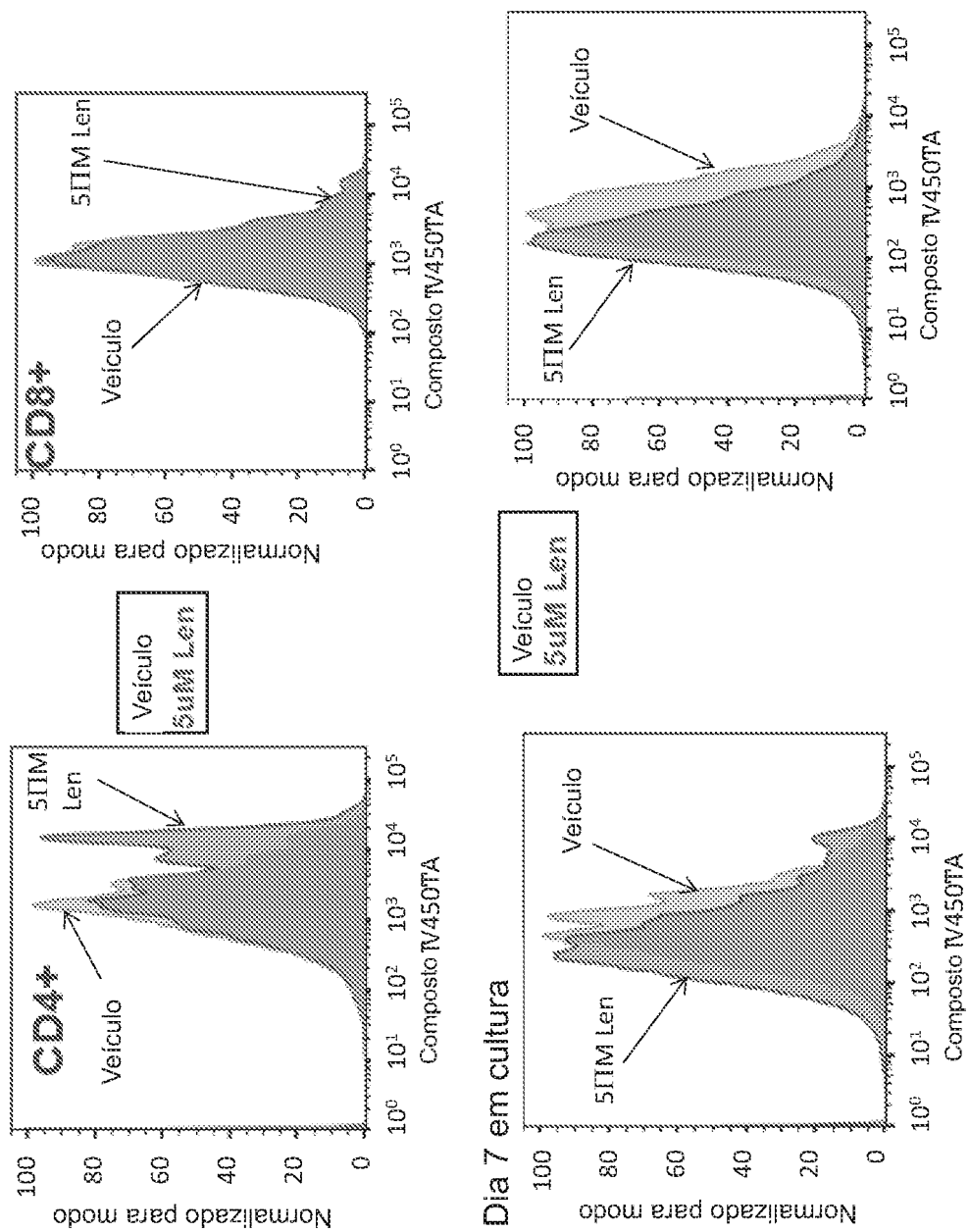


FIG. 21F





**FIG. 21G** Dia 4 em ensaio de diluição de corante violeta de traço celular



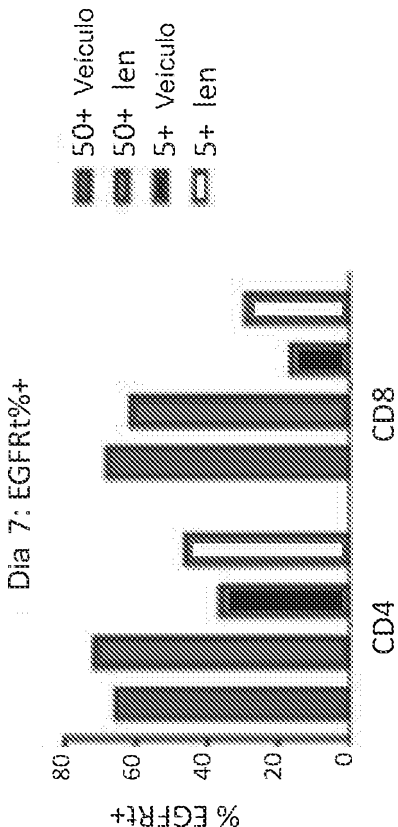
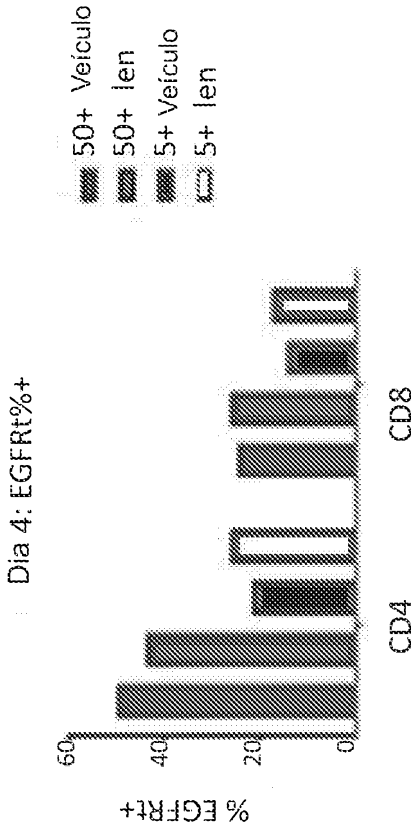
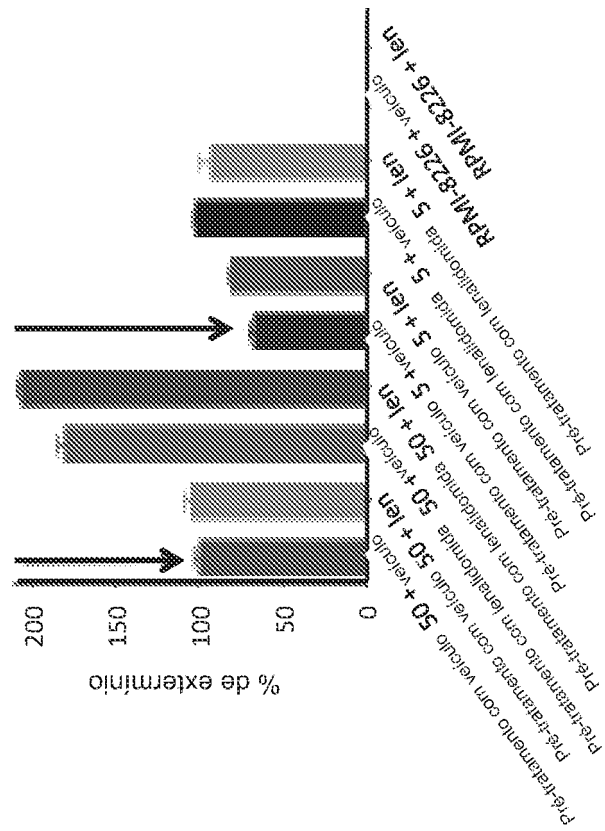
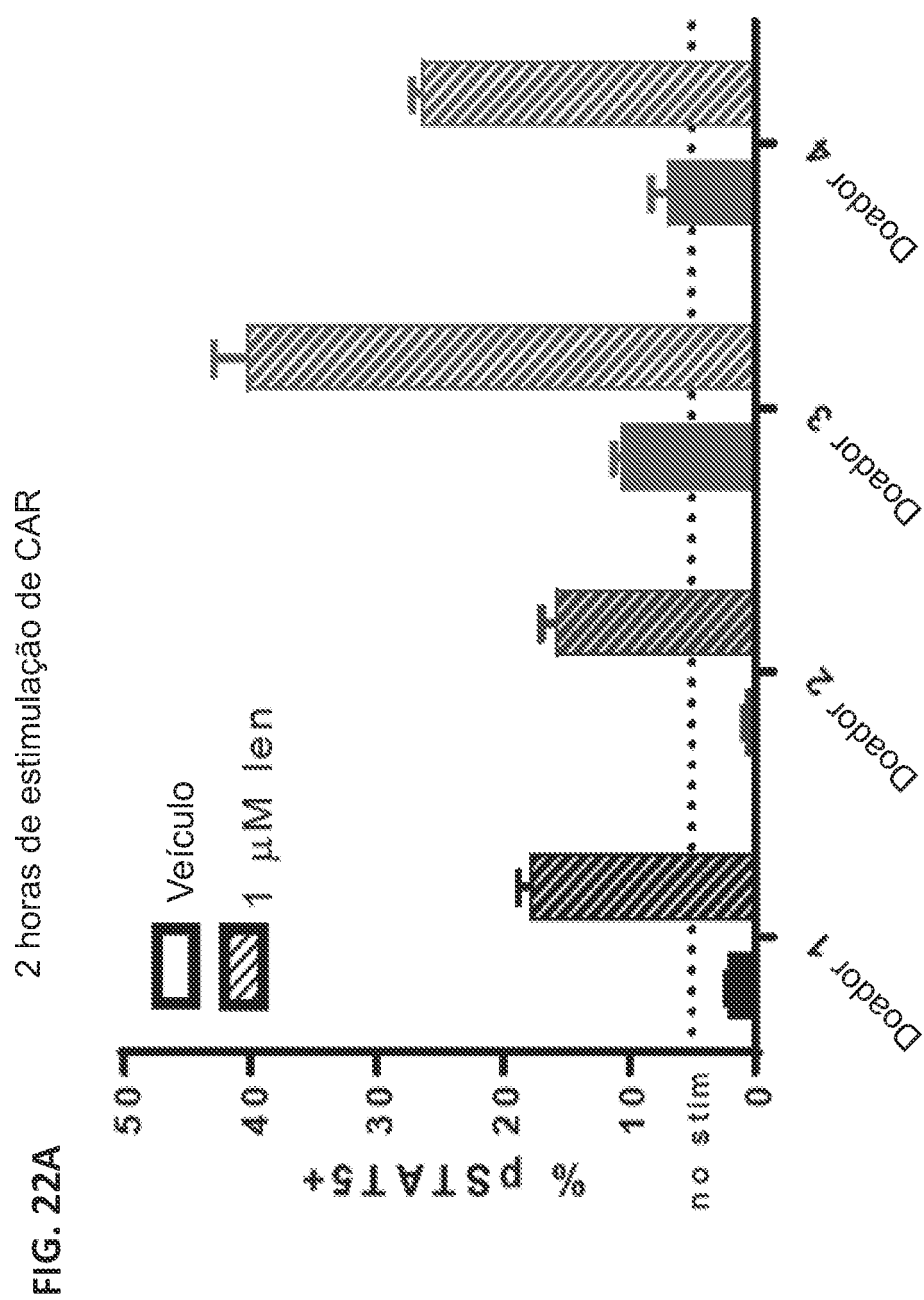
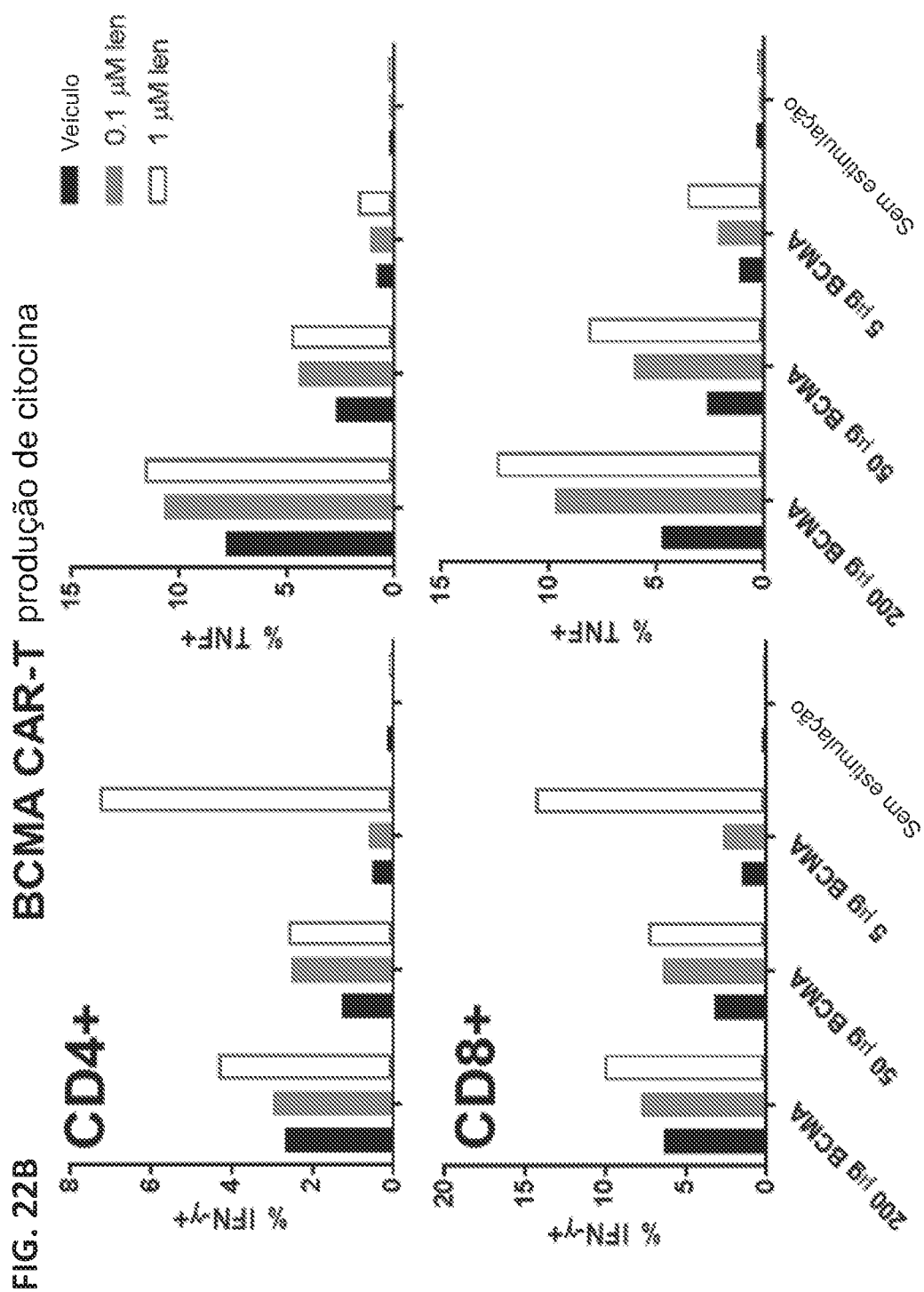
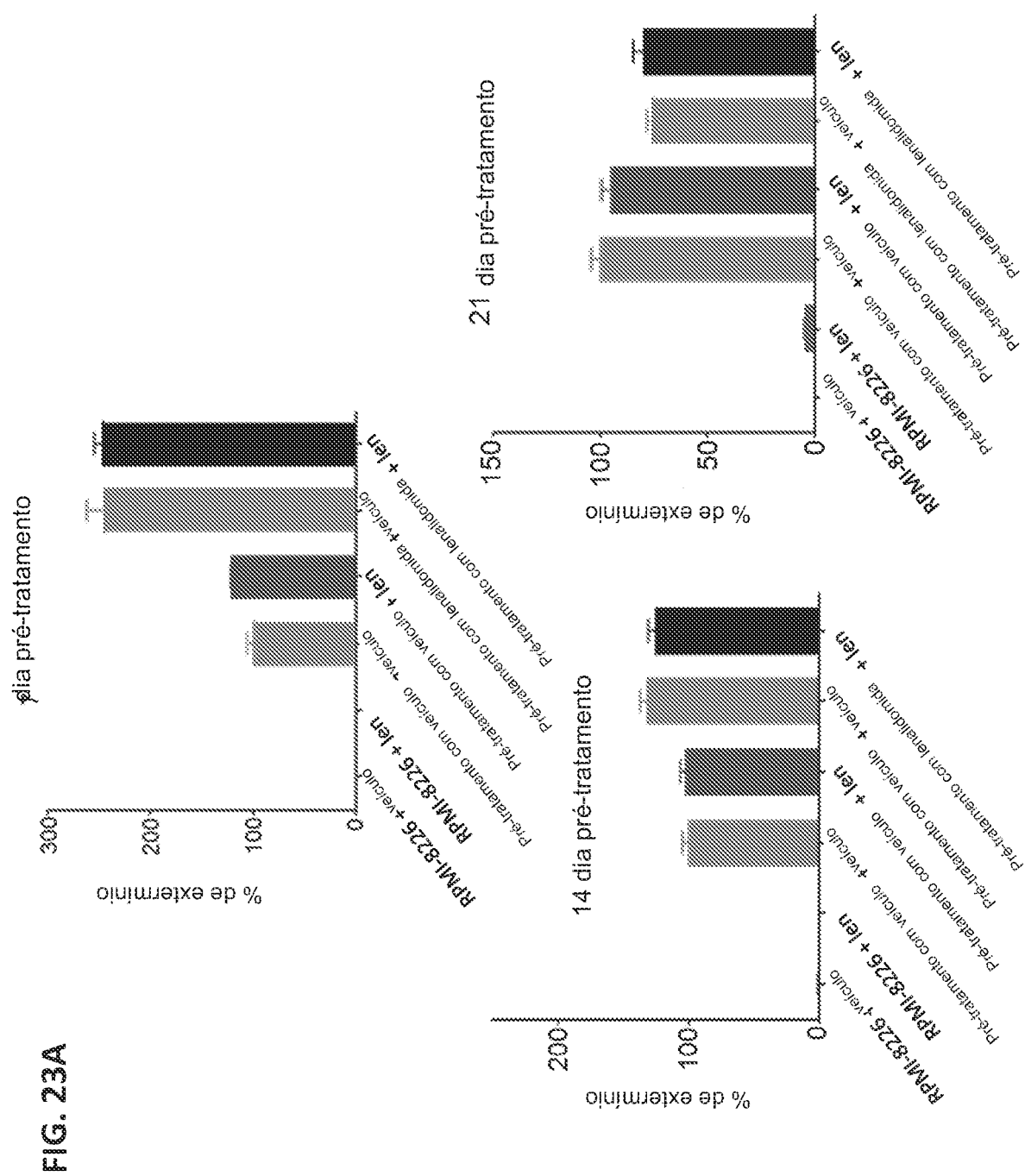


FIG. 21J









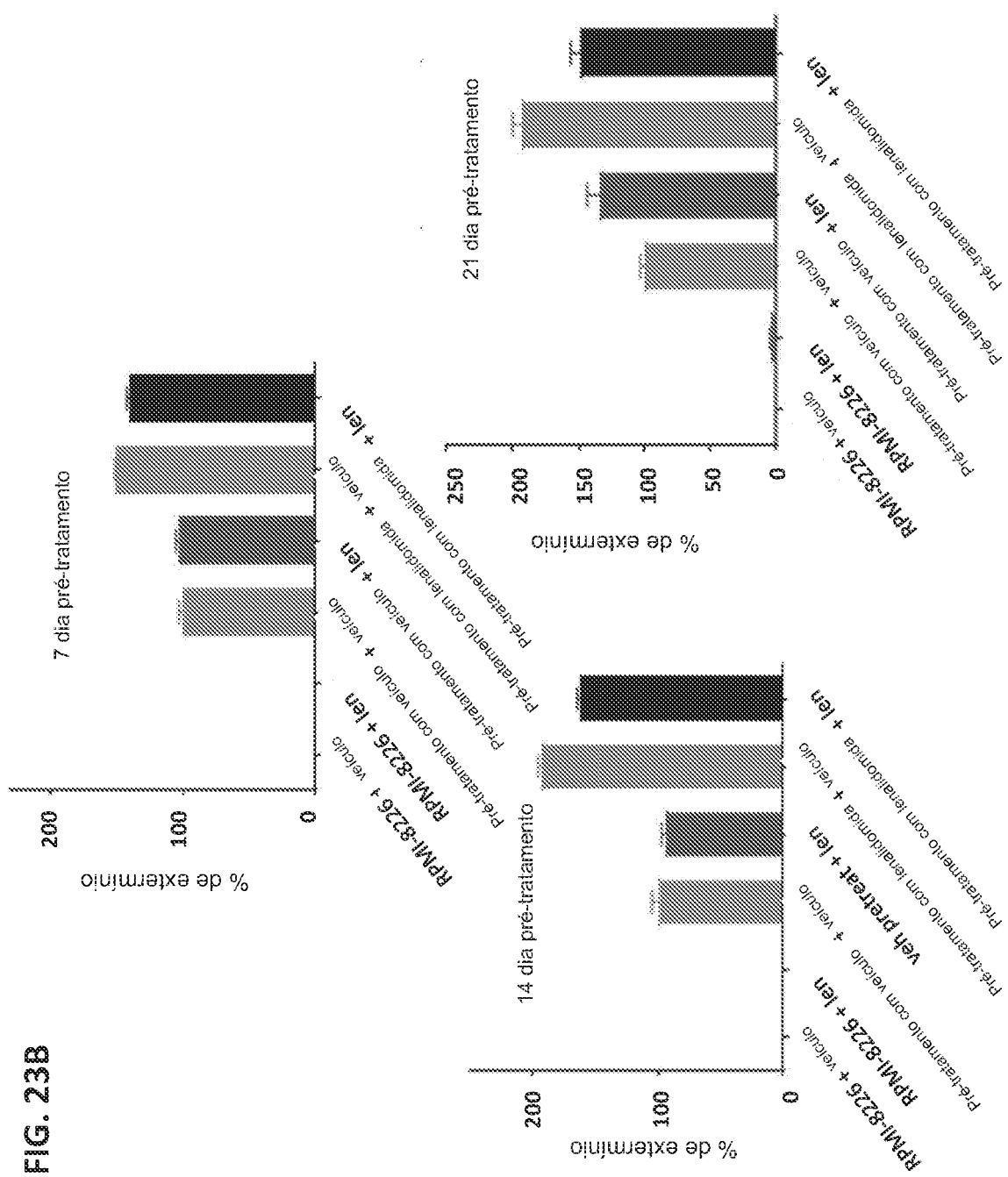


FIG. 24A

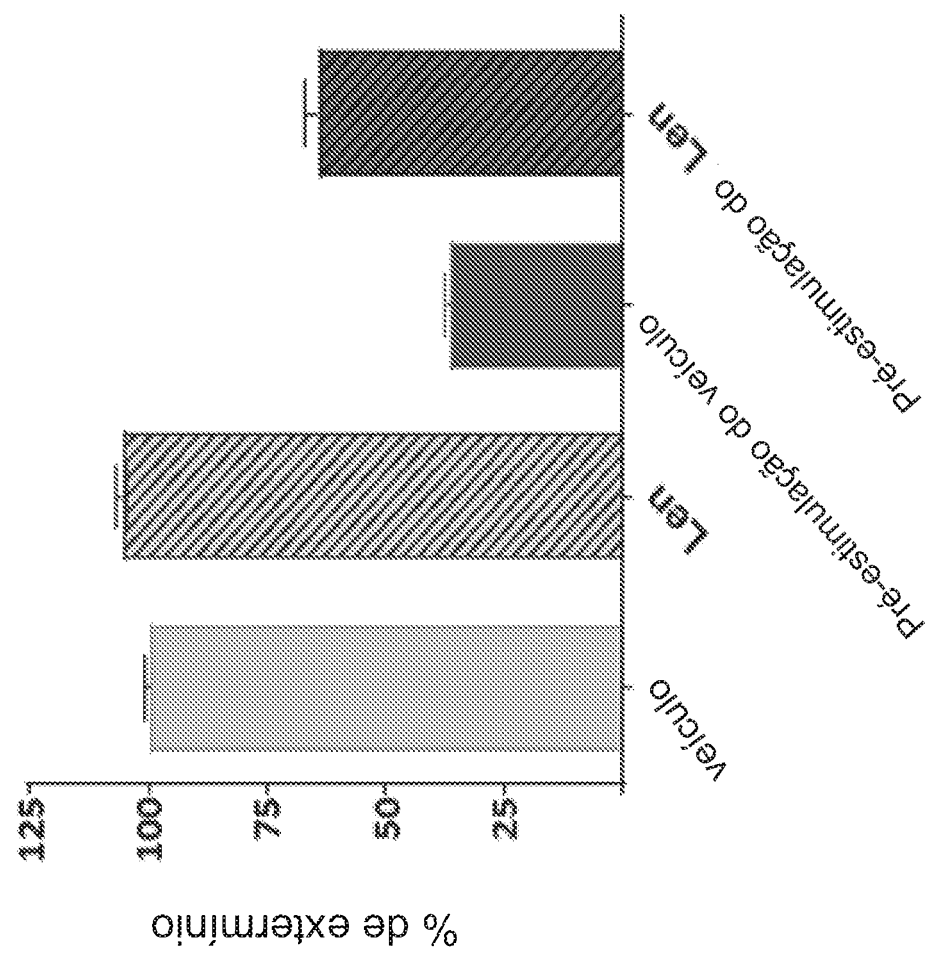




FIG. 24B

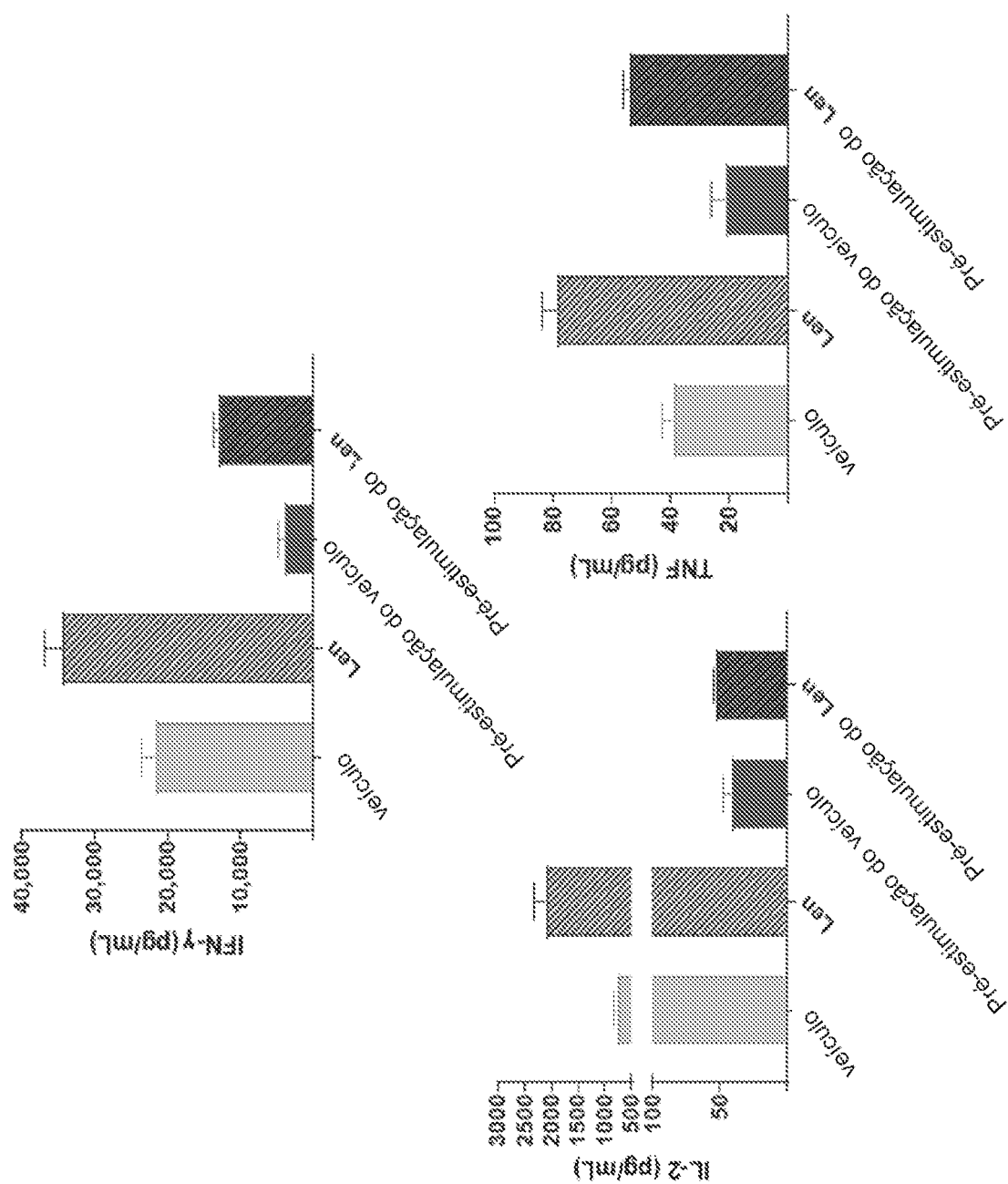


FIG. 24C

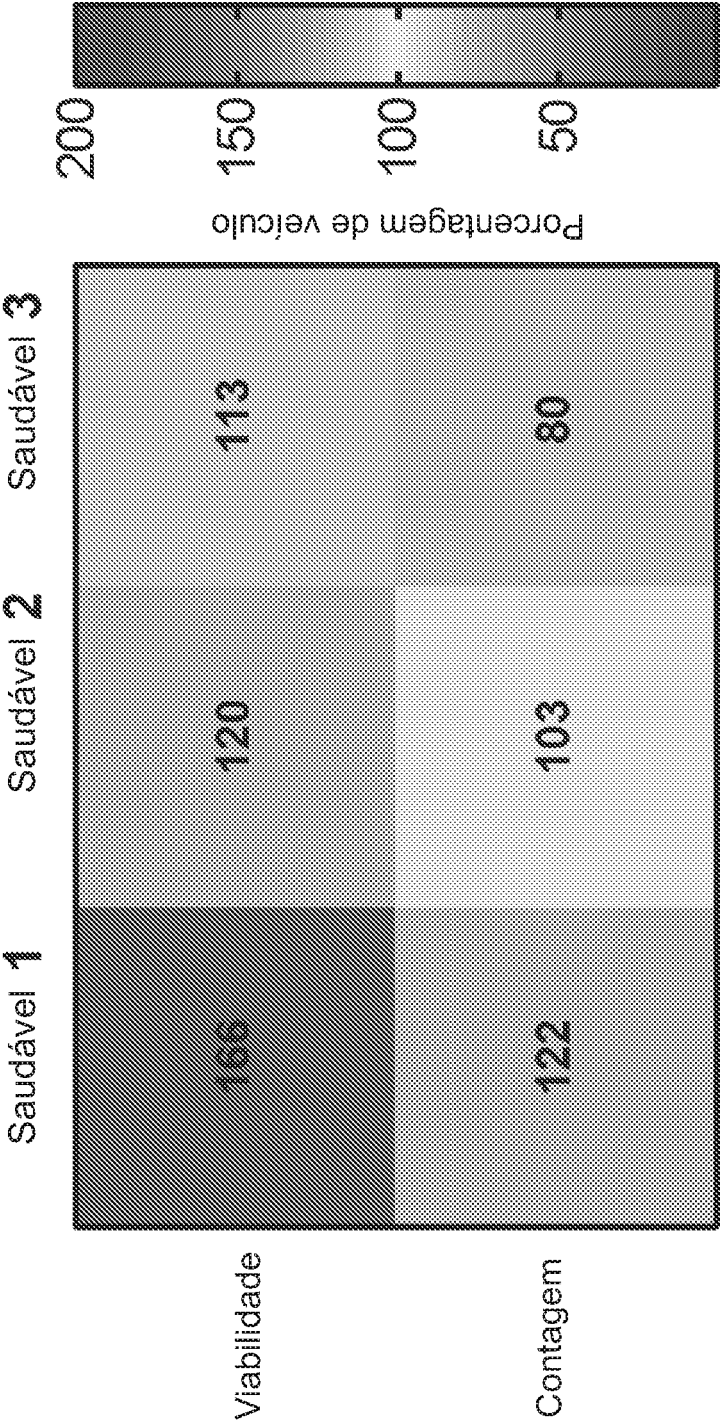


FIG. 24D

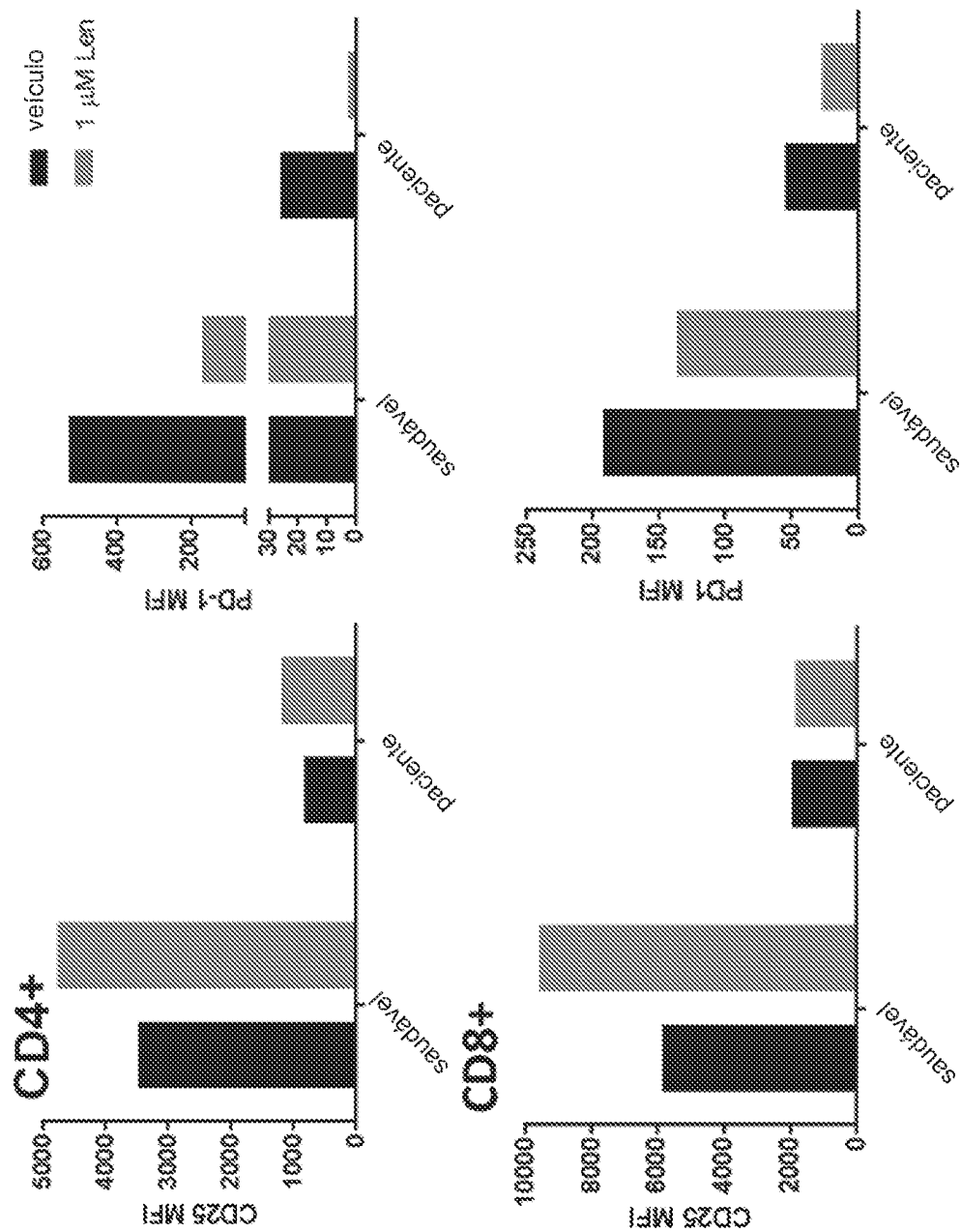


FIG. 24E

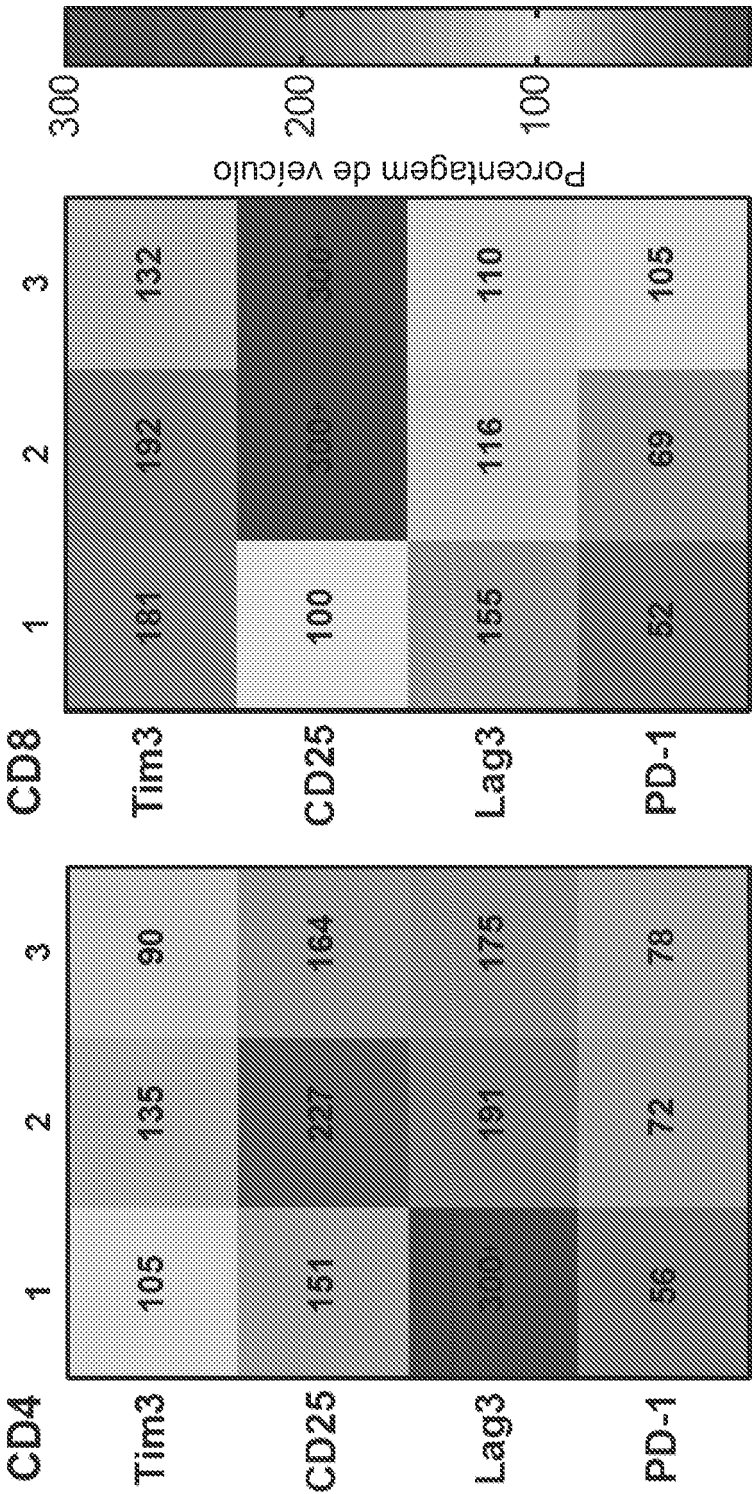


FIG. 25A

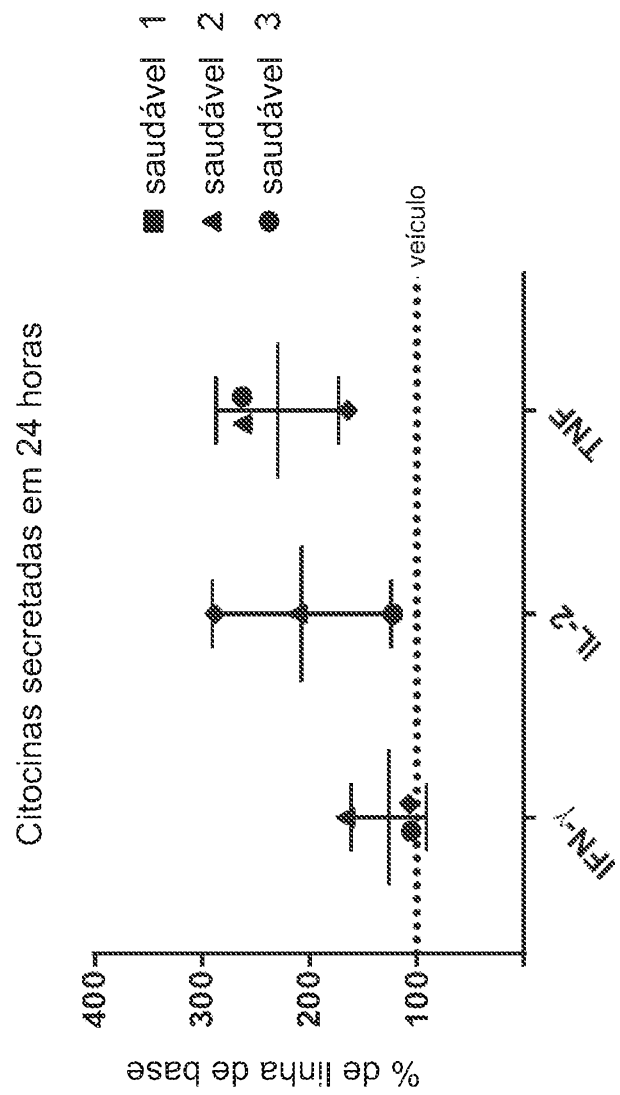


FIG. 25B

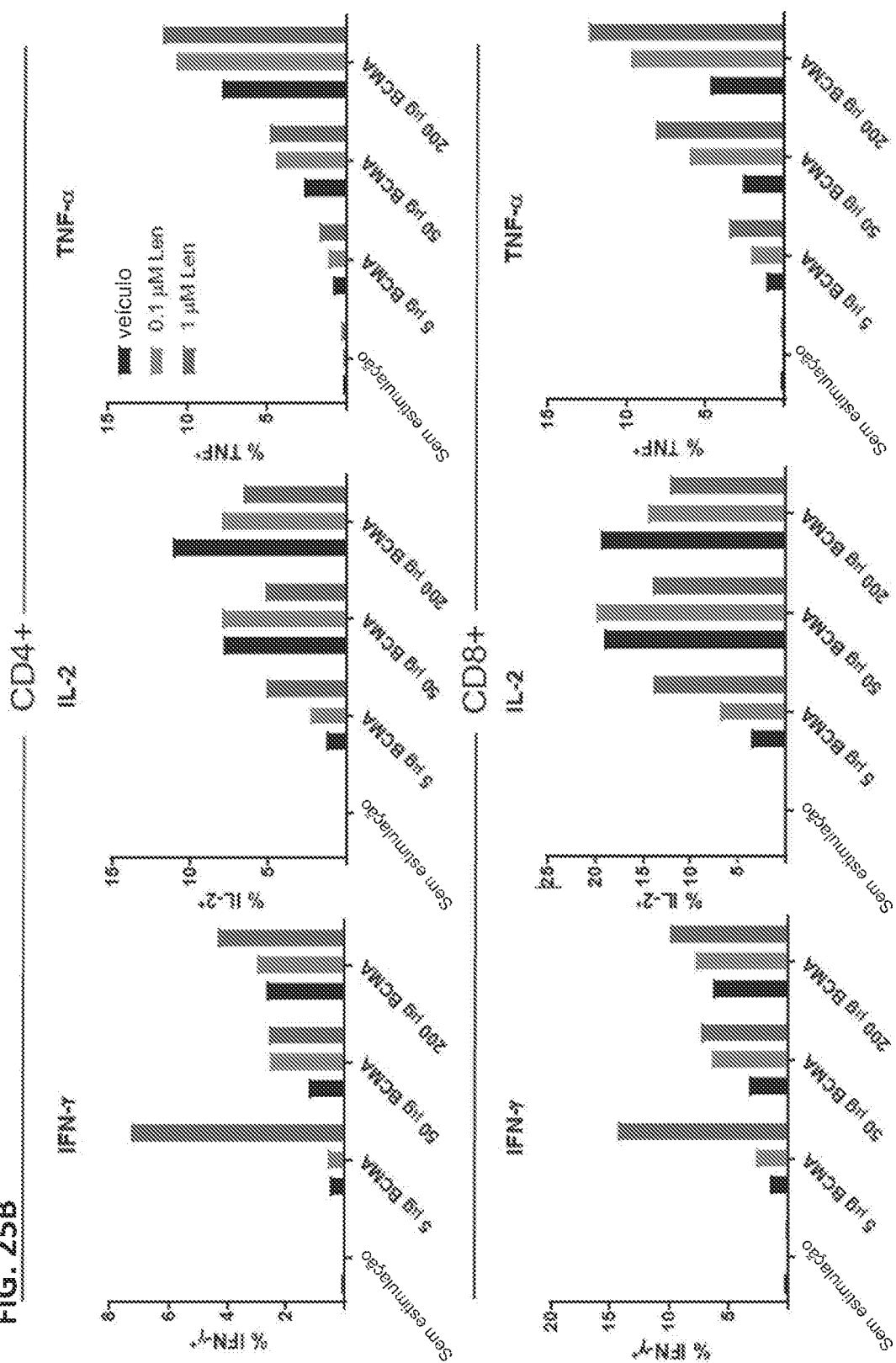
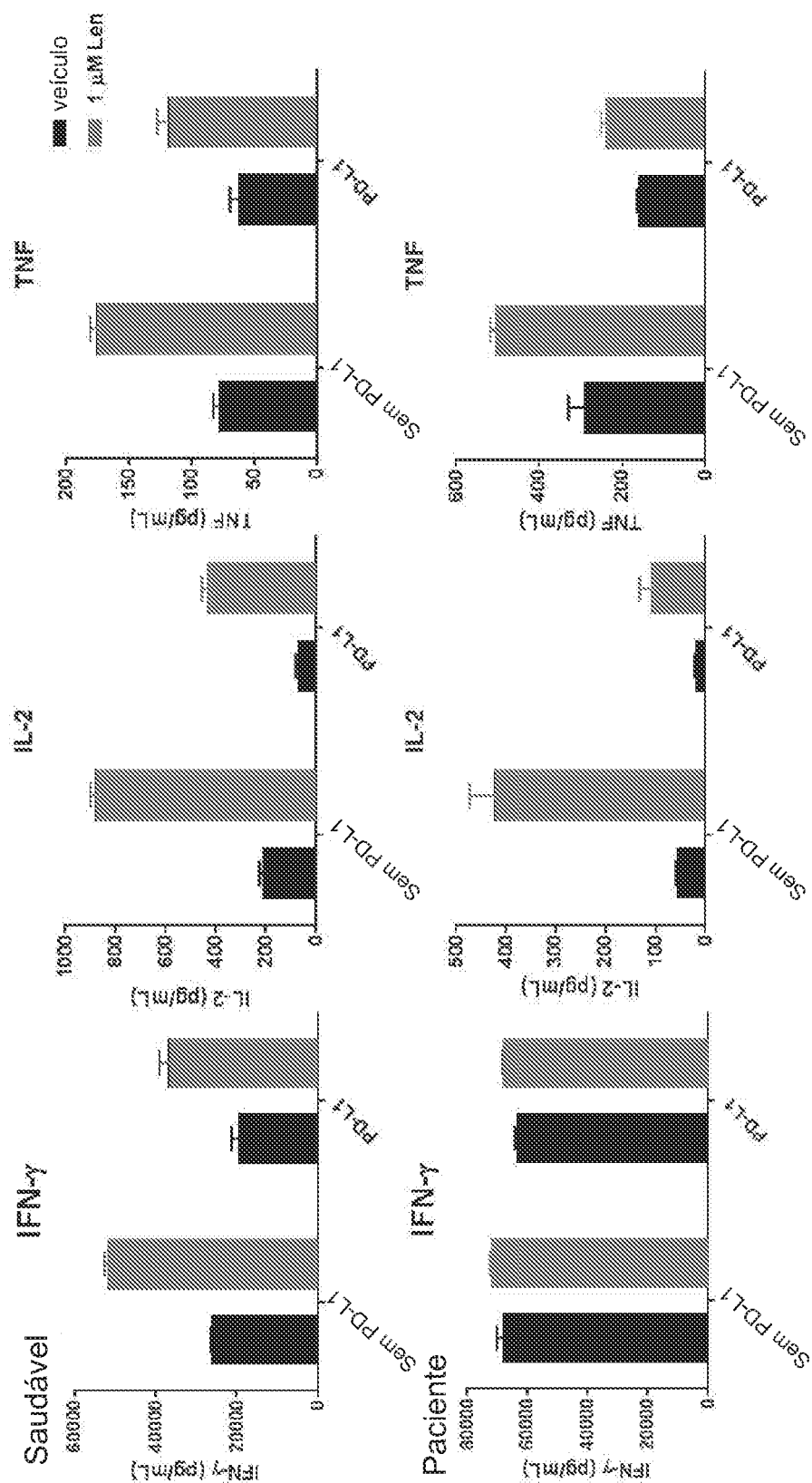
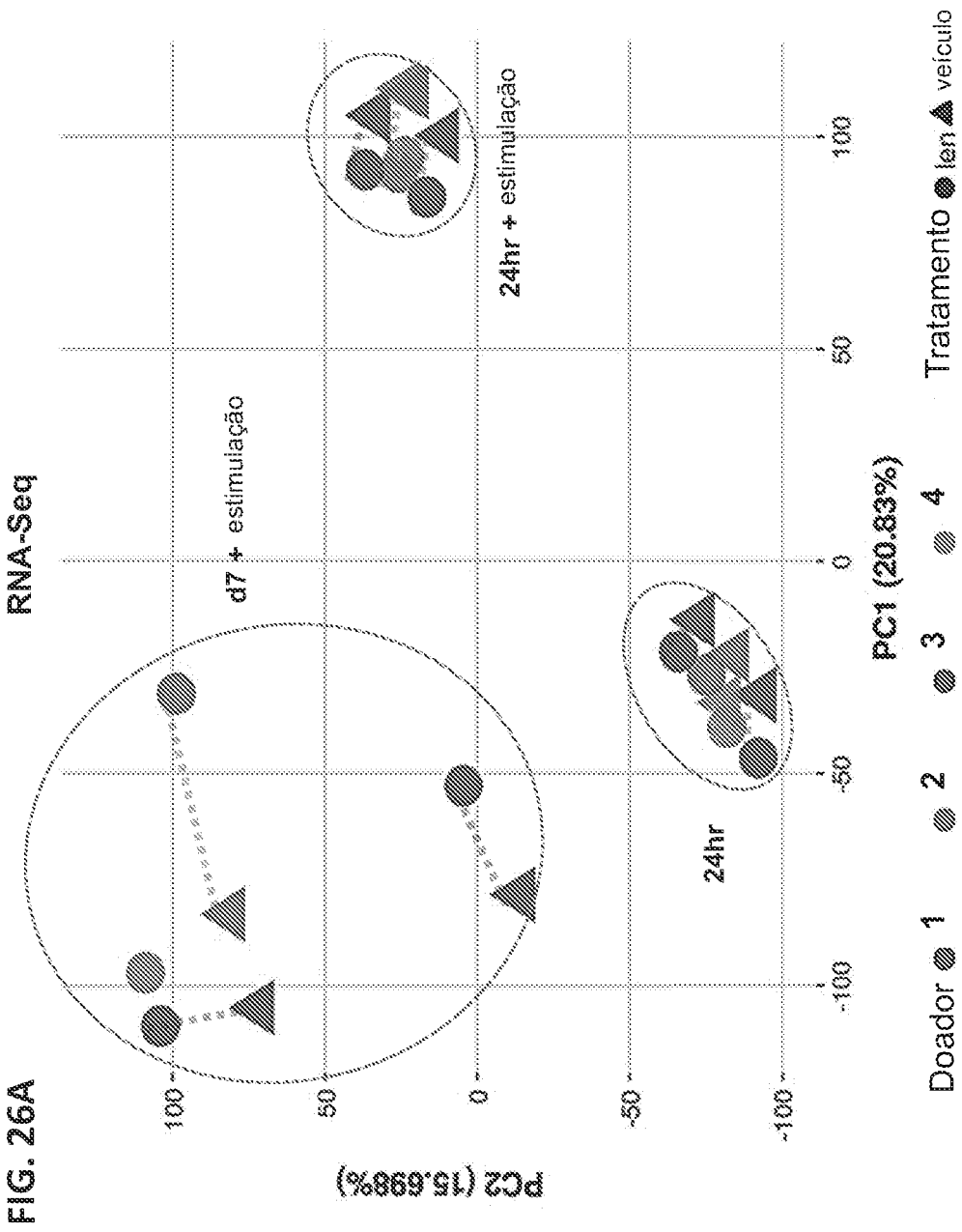


FIG. 25C







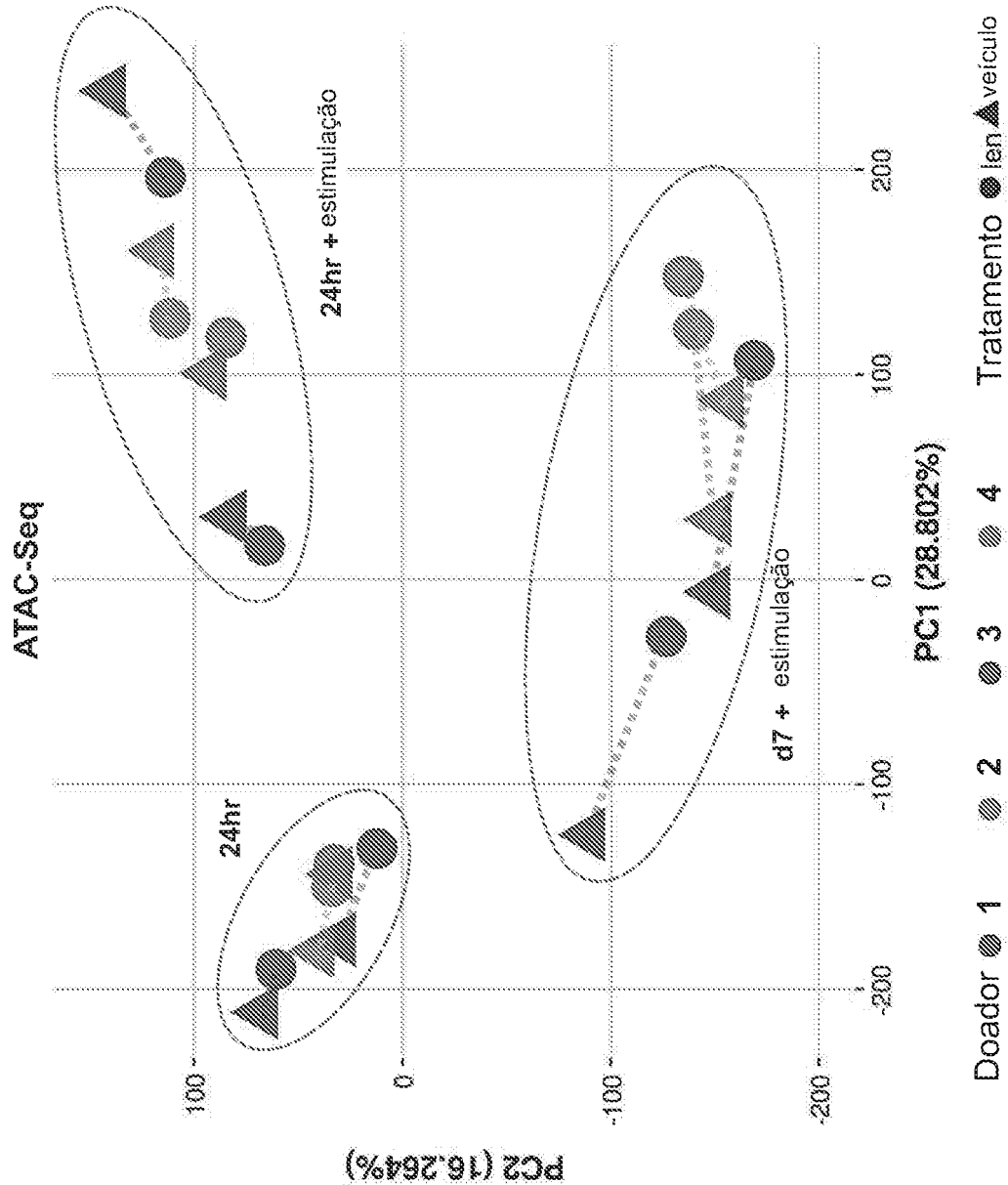


FIG. 26B

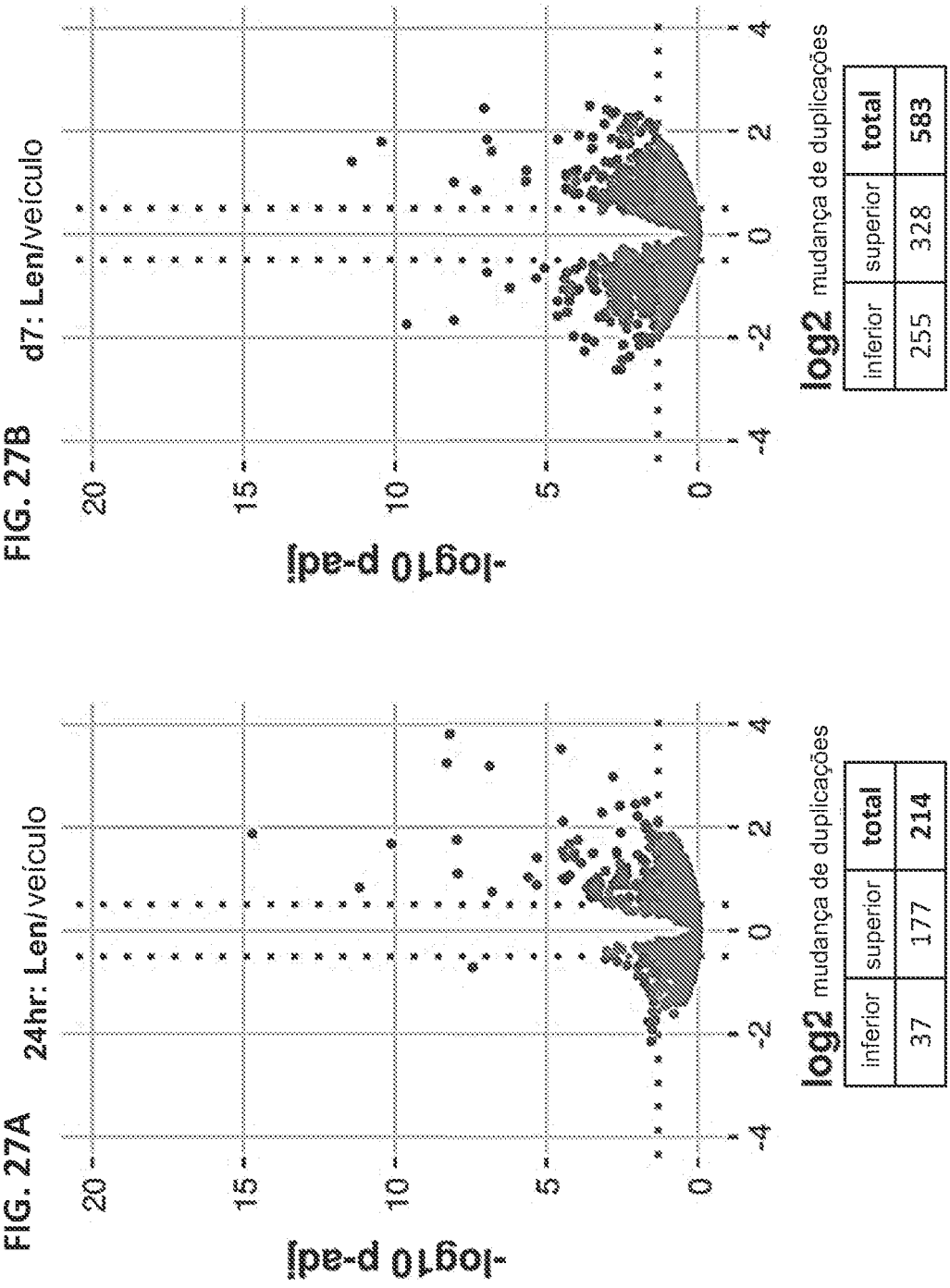
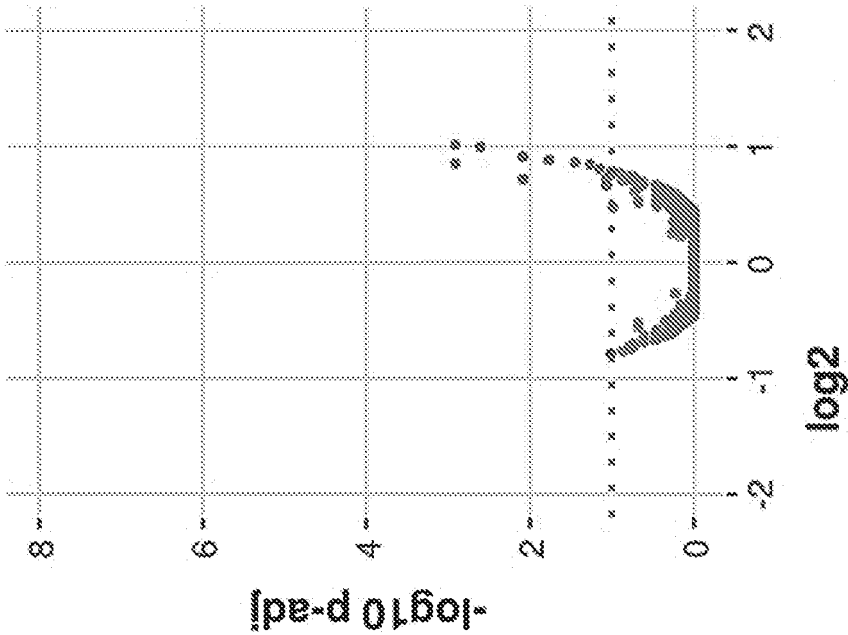


FIG. 27C

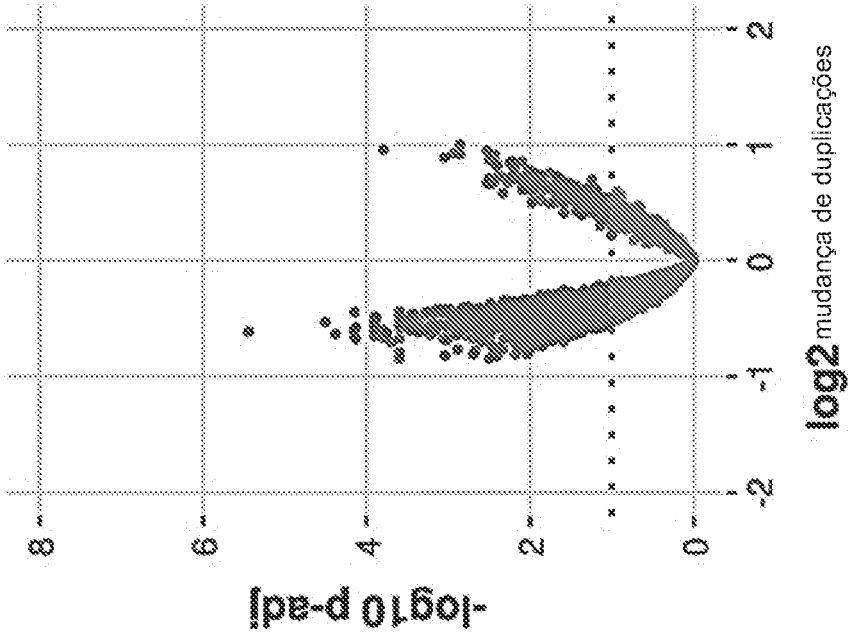
24hr: Len/veículo



inferior	superior	total
2	13	15

FIG. 27D

d7: Len/veículo

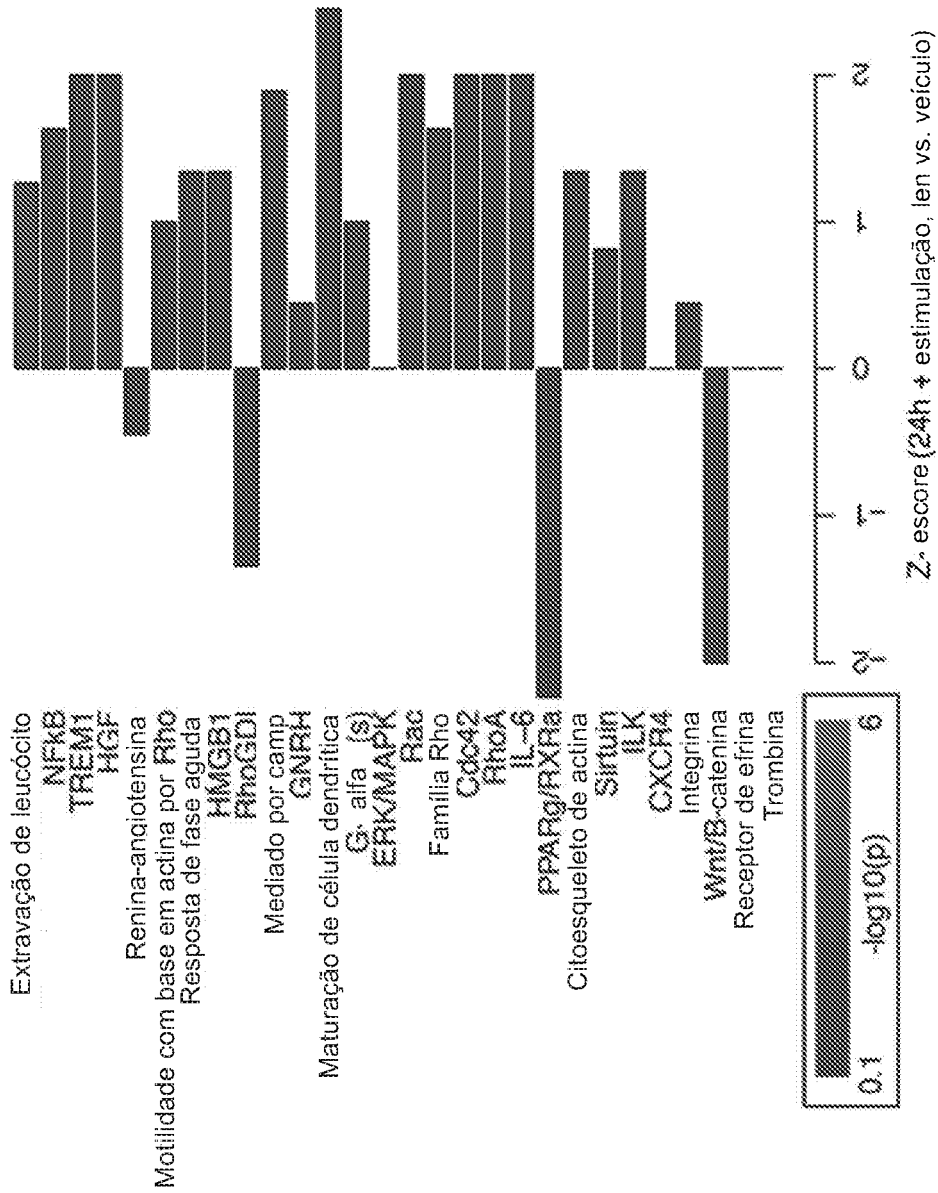


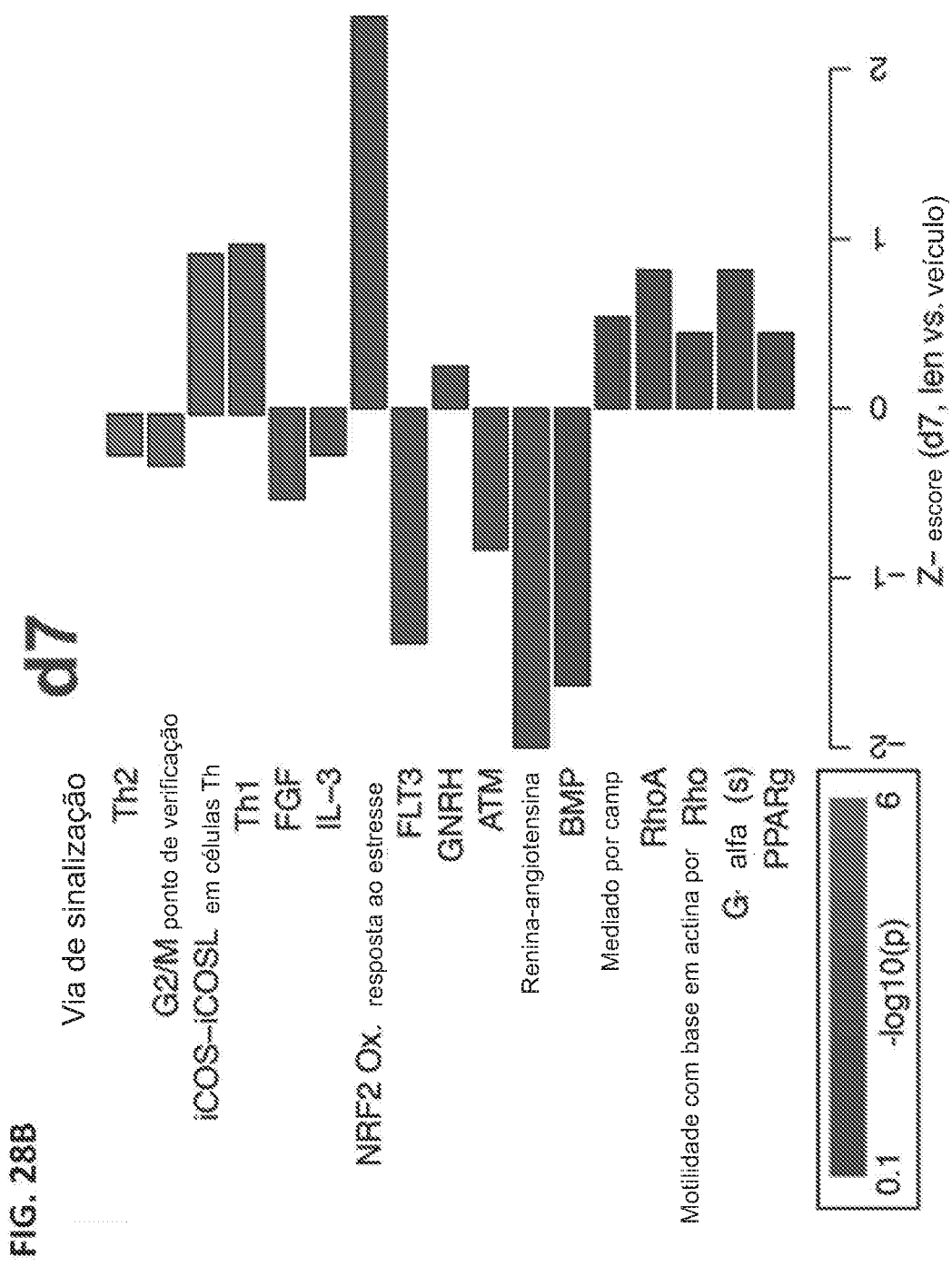
inferior	superior	total
2510	294	2804

FIG. 28A

24hr

Via de sinalização





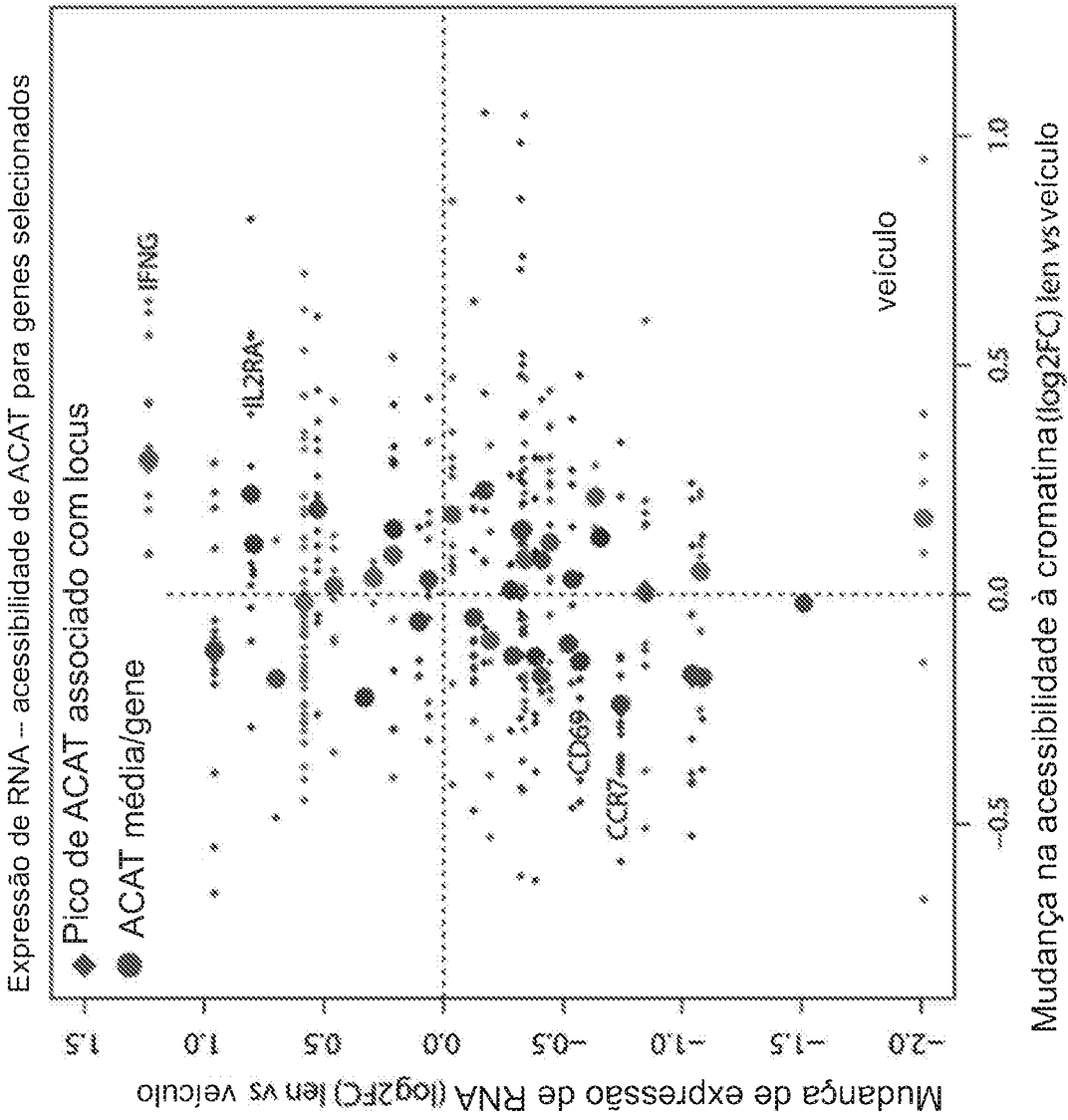


FIG. 29

FIG. 30

Nome de Motif	Motif	Valor p log	% de seqüências alvo com motif
Atf3(bZIP)/GBM-ATF3	<del>ATGAGTCAG</del>	-7.66E+01	61.90%
BATF(bZIP)/Th17-BATF	<del>ATGAGTCAG</del>	-7.54E+01	61.56%
Fra1(bZIP)/BT549-Fra1	<del>ATGAGTCAG</del>	-7.39E+01	58.50%
AP-1(bZIP)/ThioMac-PU.1	<del>ATGAGTCAG</del>	-7.33E+01	62.24%
JunB(bZIP)/DendriticCells-Junb	<del>ATGAGTCAG</del>	-7.17E+01	58.16%
Fosl2(bZIP)/3T3L1-Fosl2	<del>ATGAGTCAG</del>	-6.18E+01	46.94%
Jun-AP1(bZIP)/K562-cJun	<del>ATGAGTCAG</del>	-5.14E+01	39.12%
Smad3(MAD)/NPC-Smad3	<del>ATGAGTCAG</del>	-4.50E+01	56.46%
NFkB-p65(RHD)/GM12787-p65	<del>ATGAGTCAG</del>	-4.41E+01	29.59%
RUNX1(Runt)/Jurkat-RUNX1	<del>ATGAGTCAG</del>	-4.04E+01	50.00%
RUNX(Runt)/HPC7-Runx1	<del>ATGAGTCAG</del>	-3.77E+01	41.16%
Bach2(bZIP)/OCILy7-Bach2	<del>ATGAGTCAG</del>	-3.62E+01	26.53%

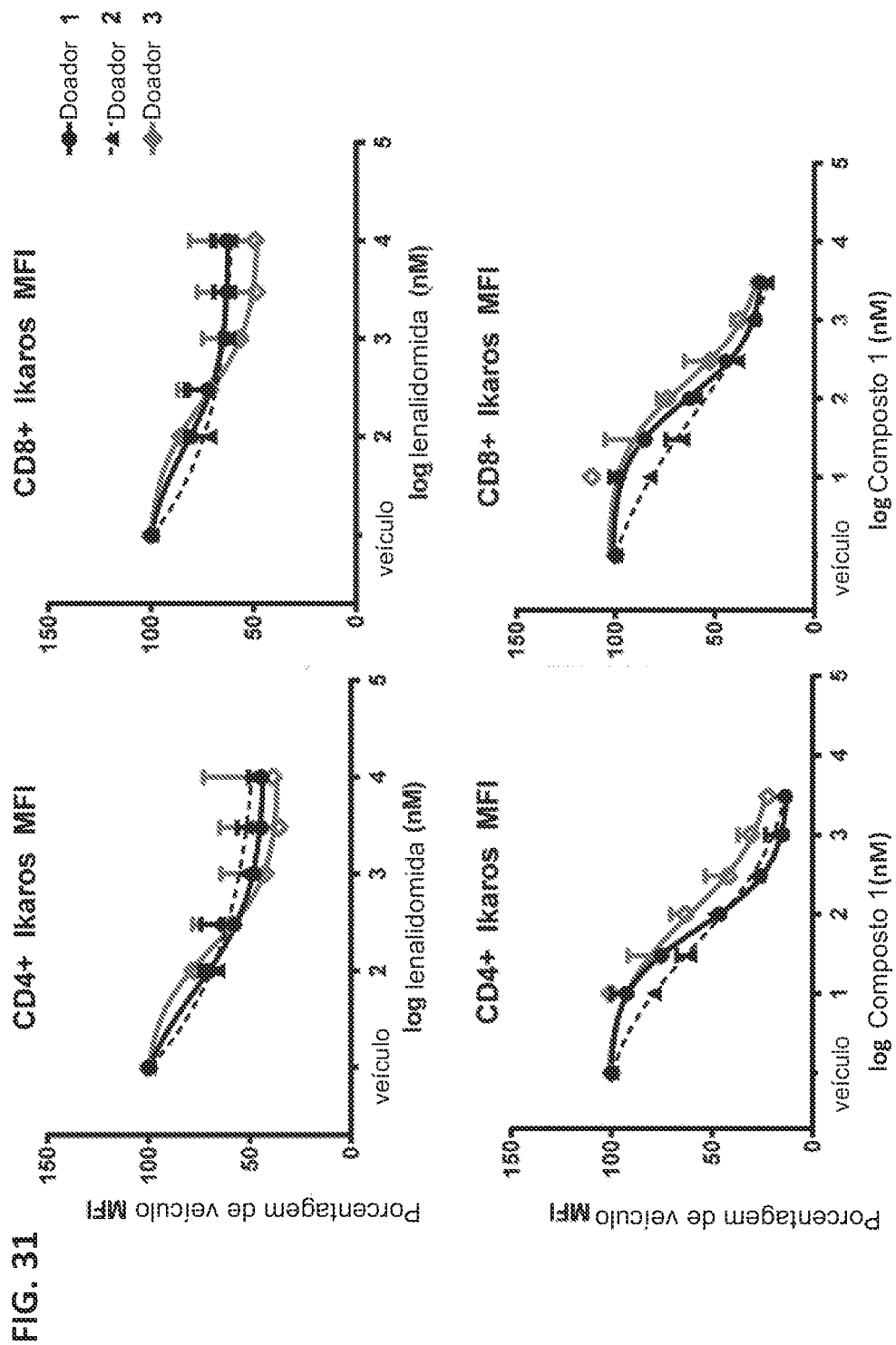




FIG. 32A

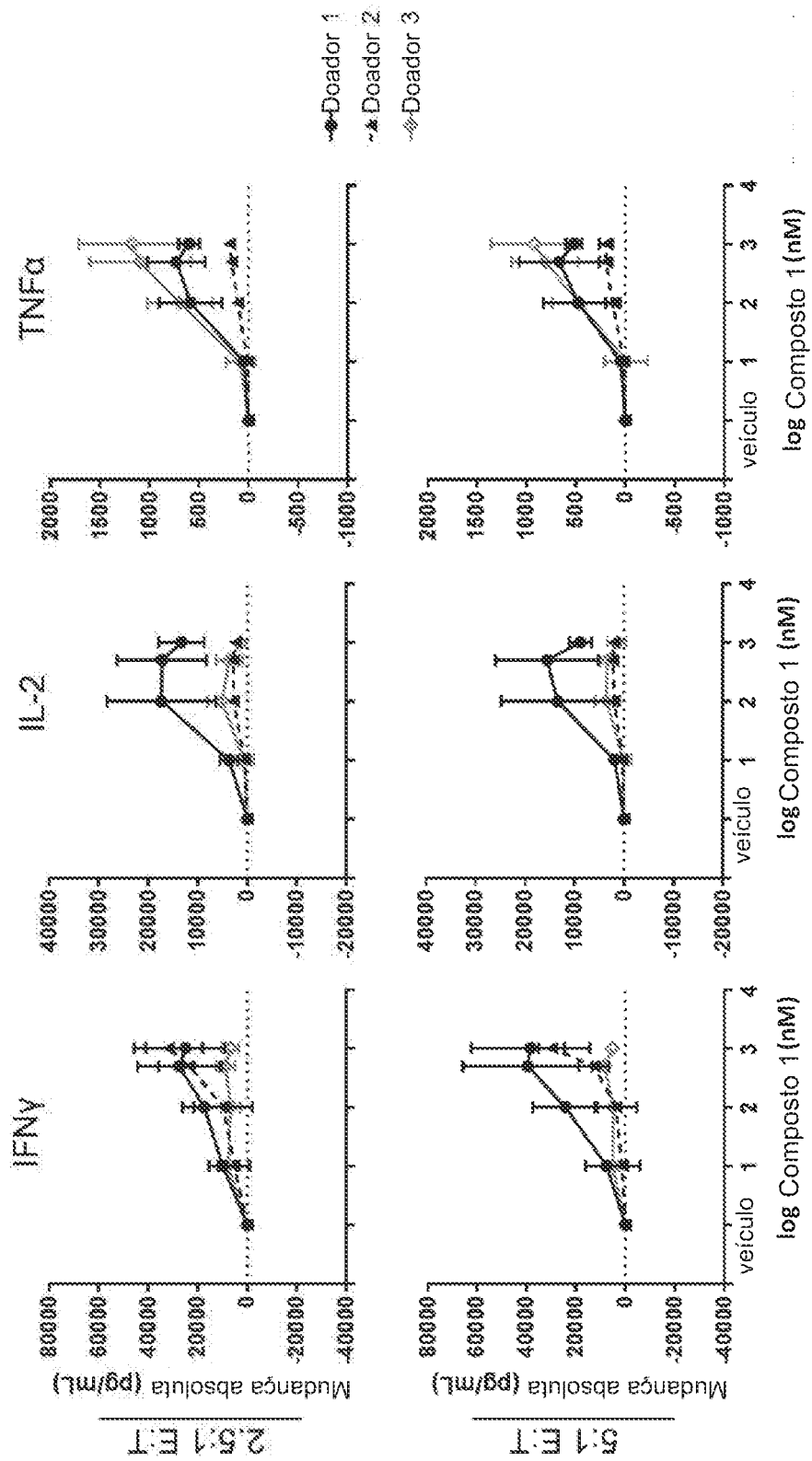
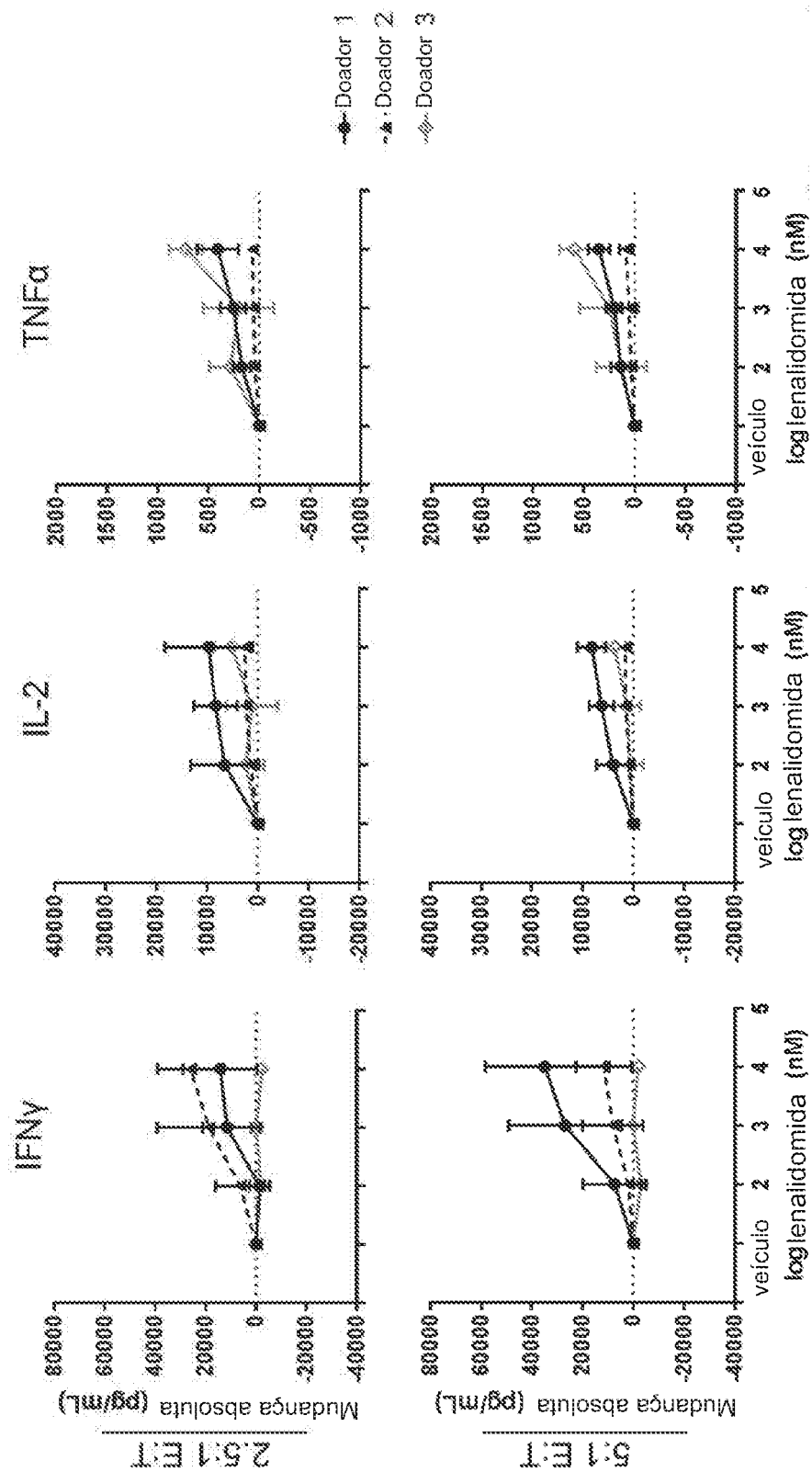


FIG. 32B



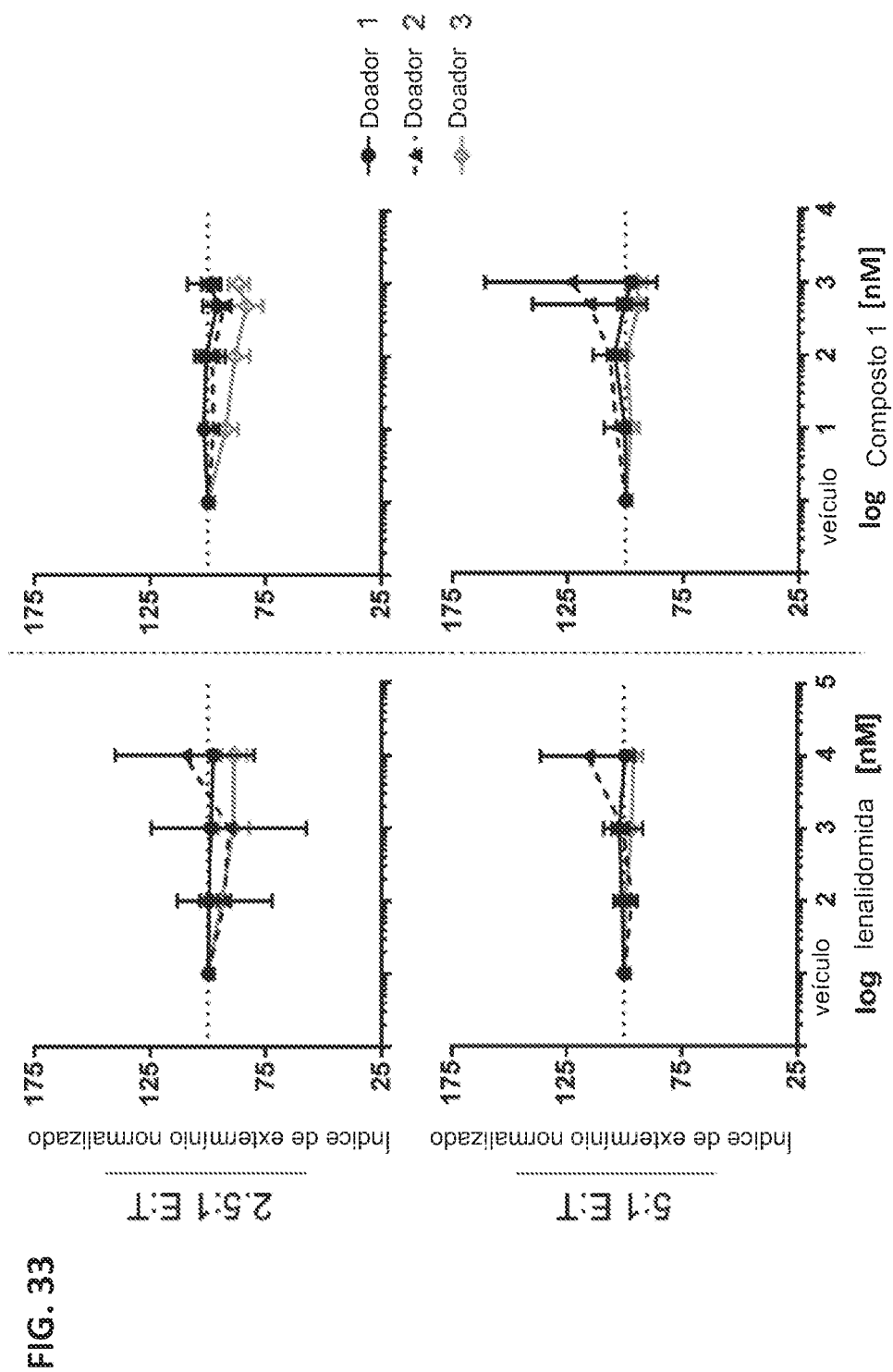


FIG. 34A

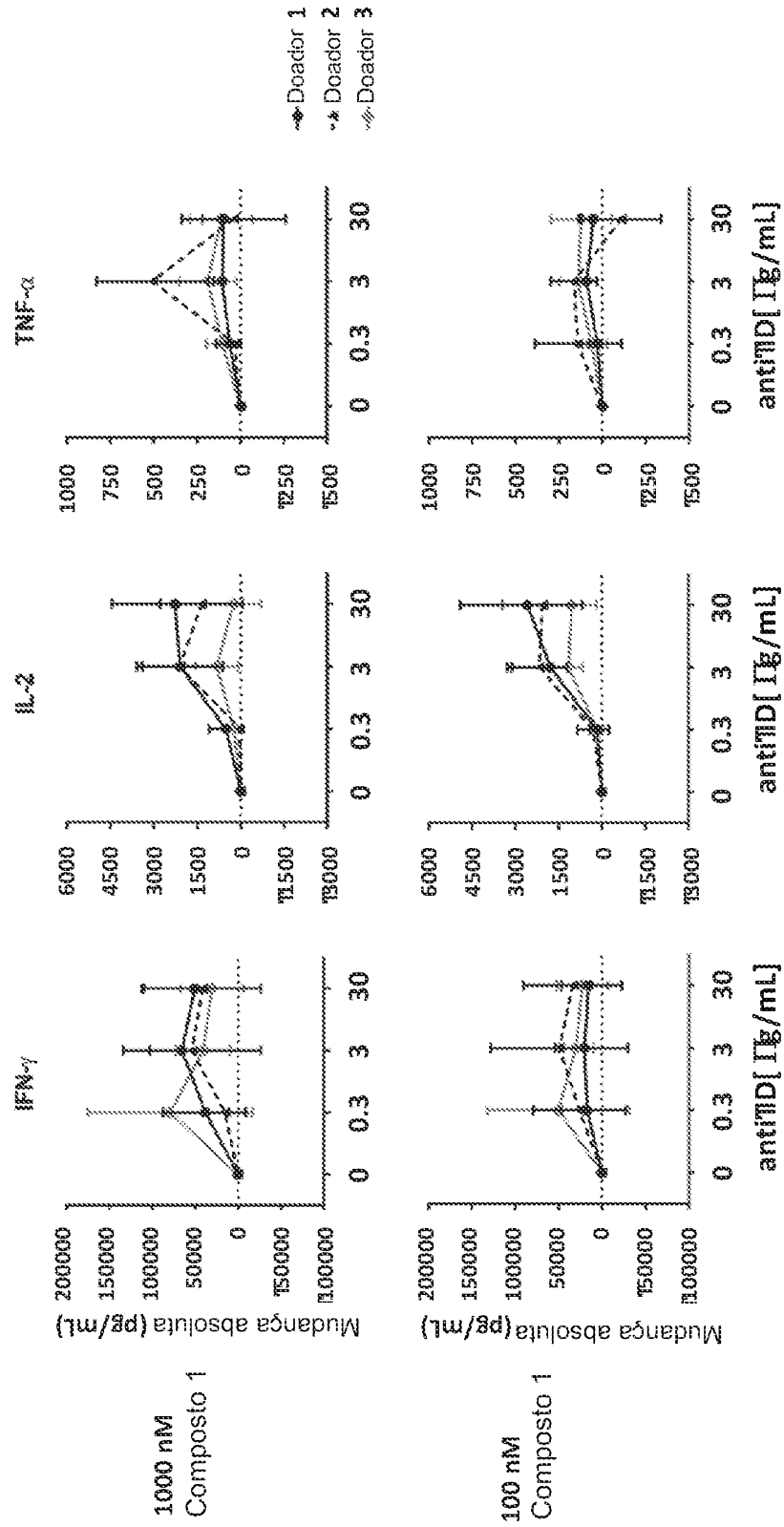


FIG. 34B

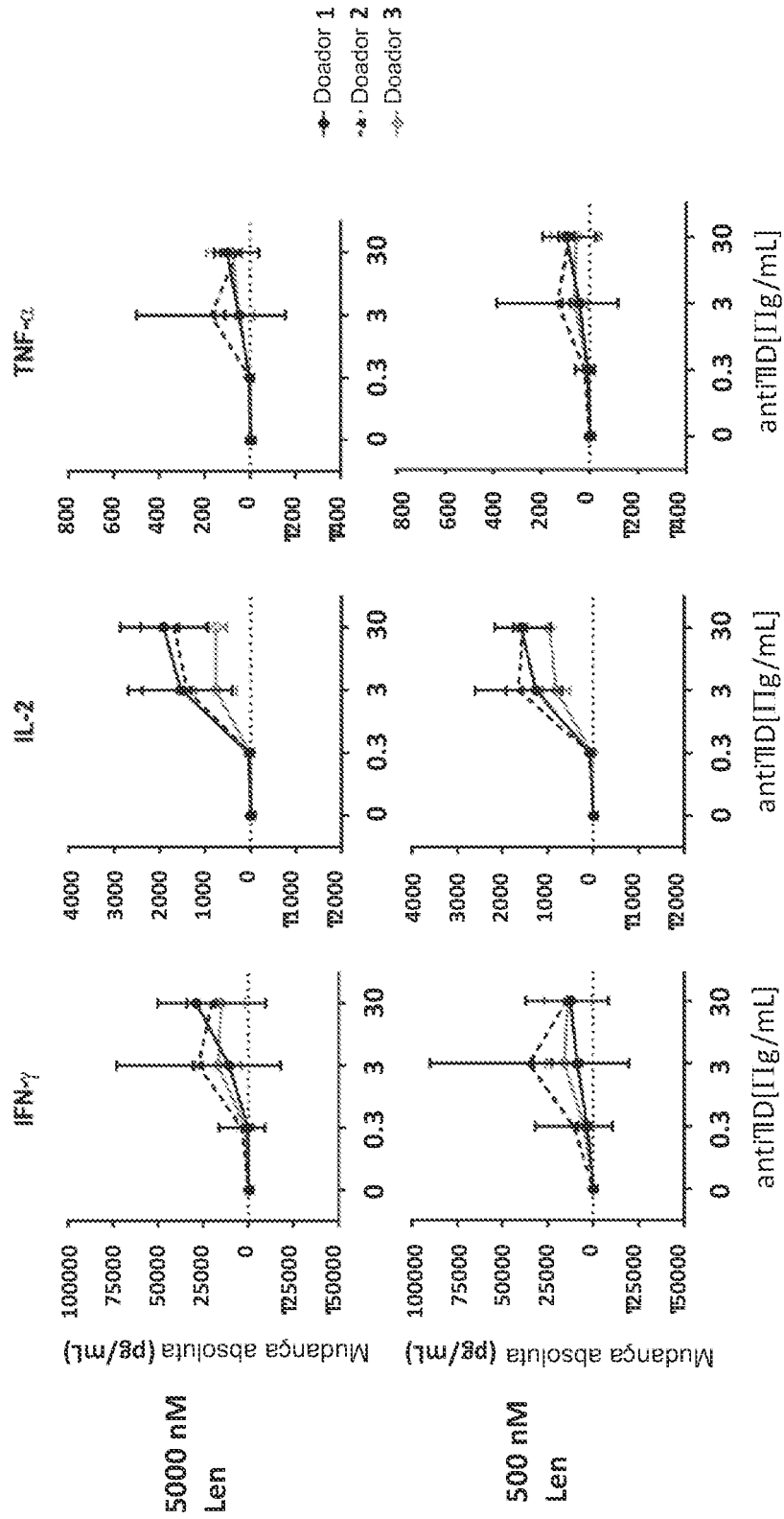


FIG. 35A

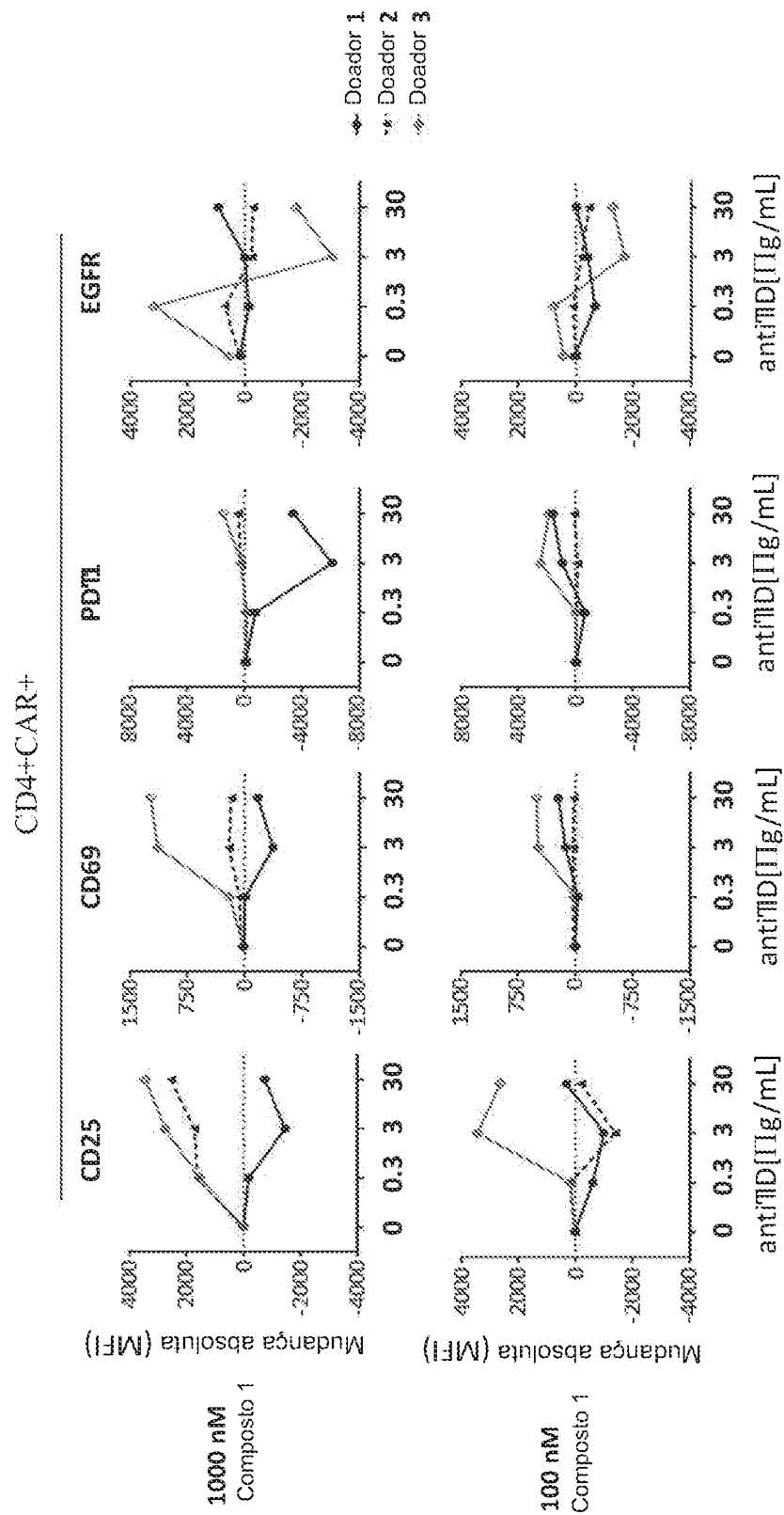


FIG. 36A

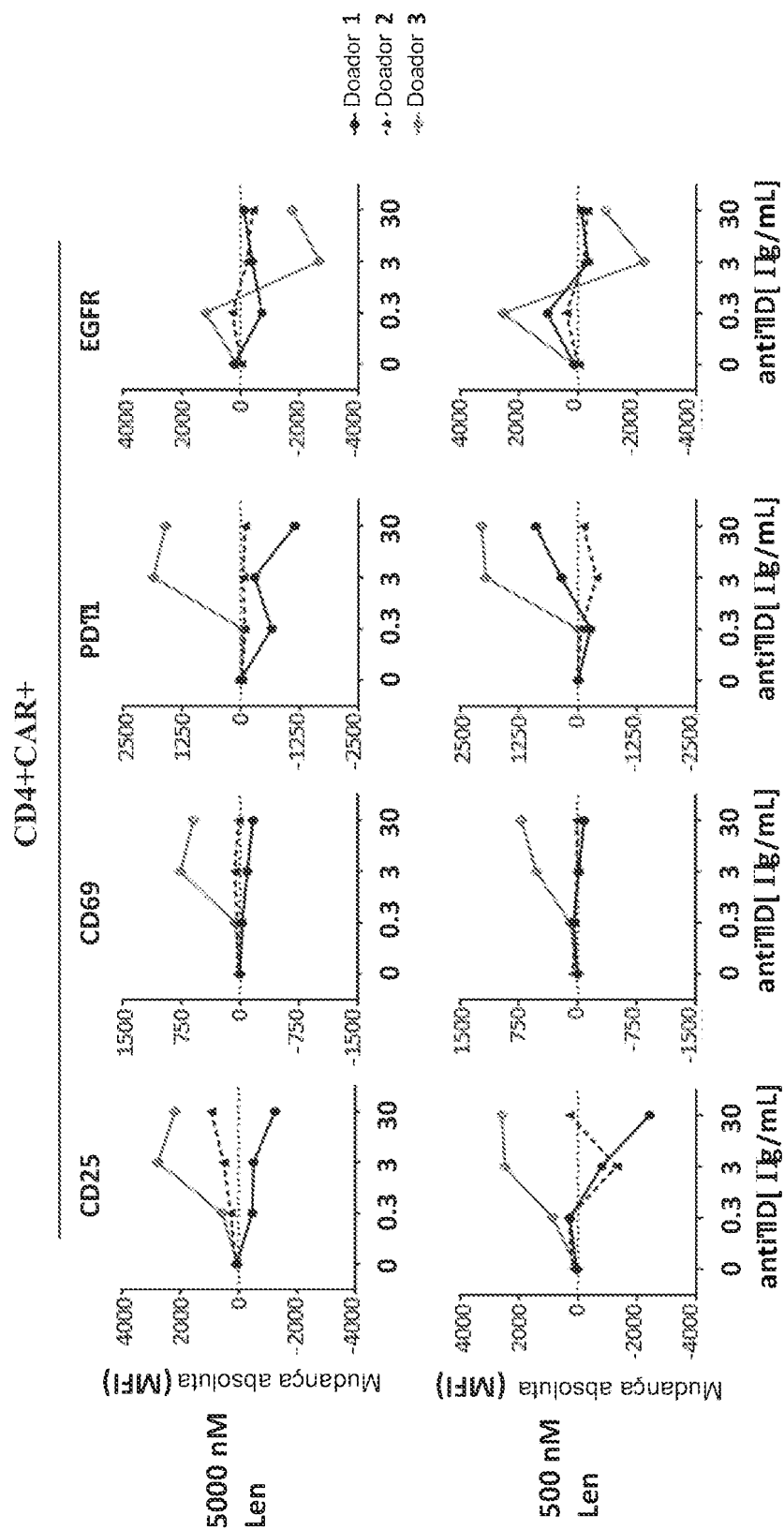


FIG. 35B

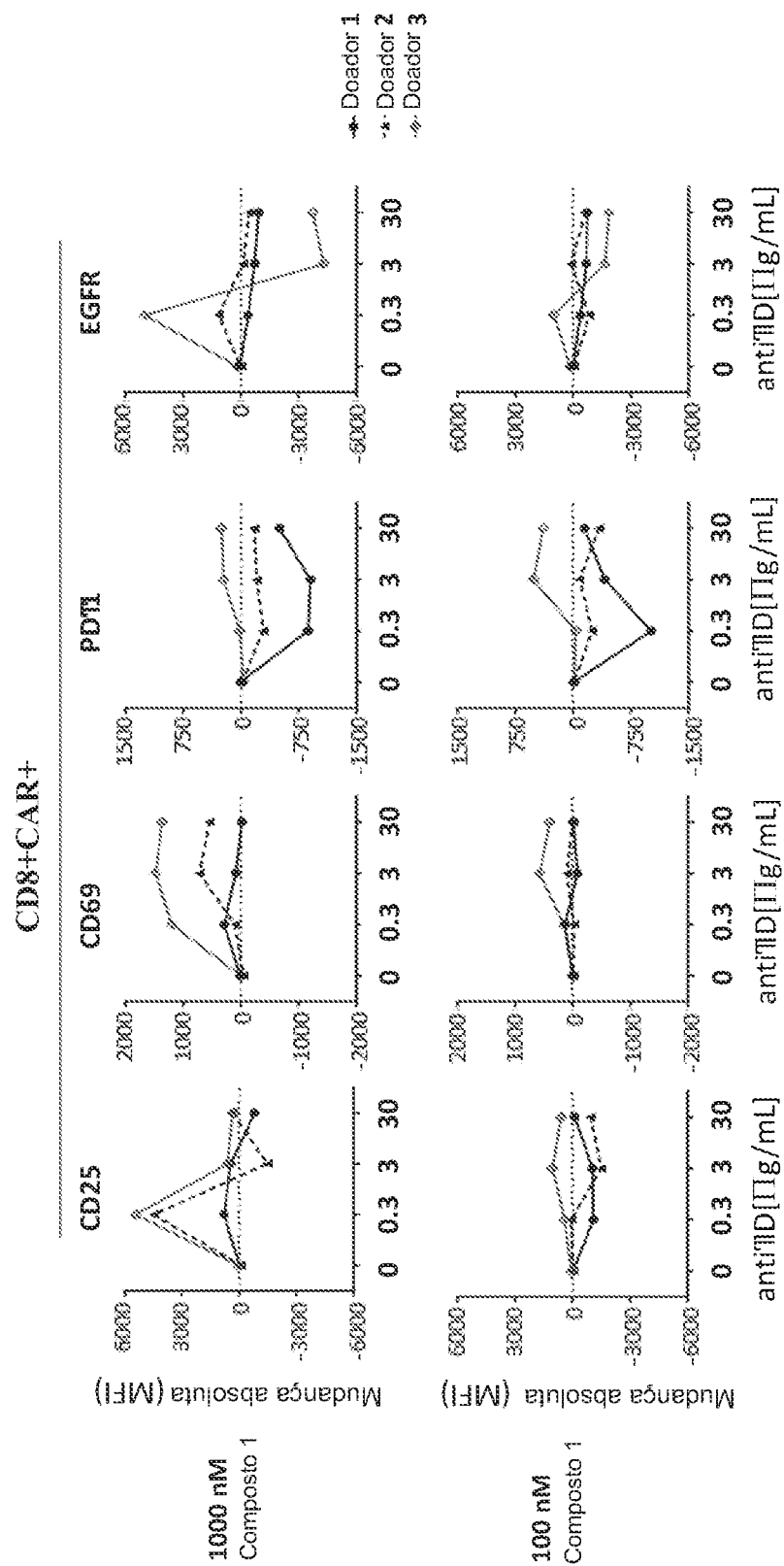




FIG. 36B

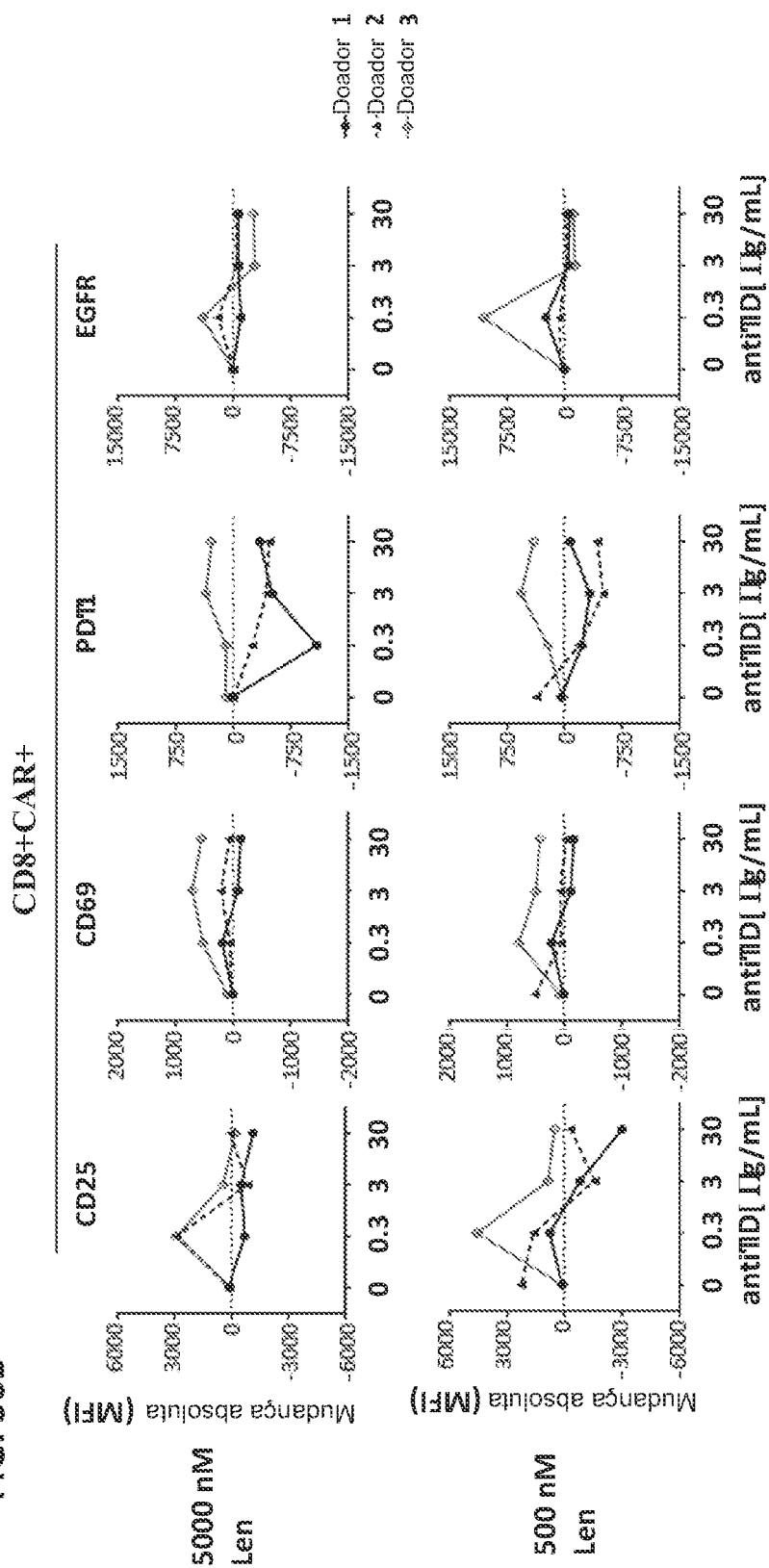


FIG. 37A

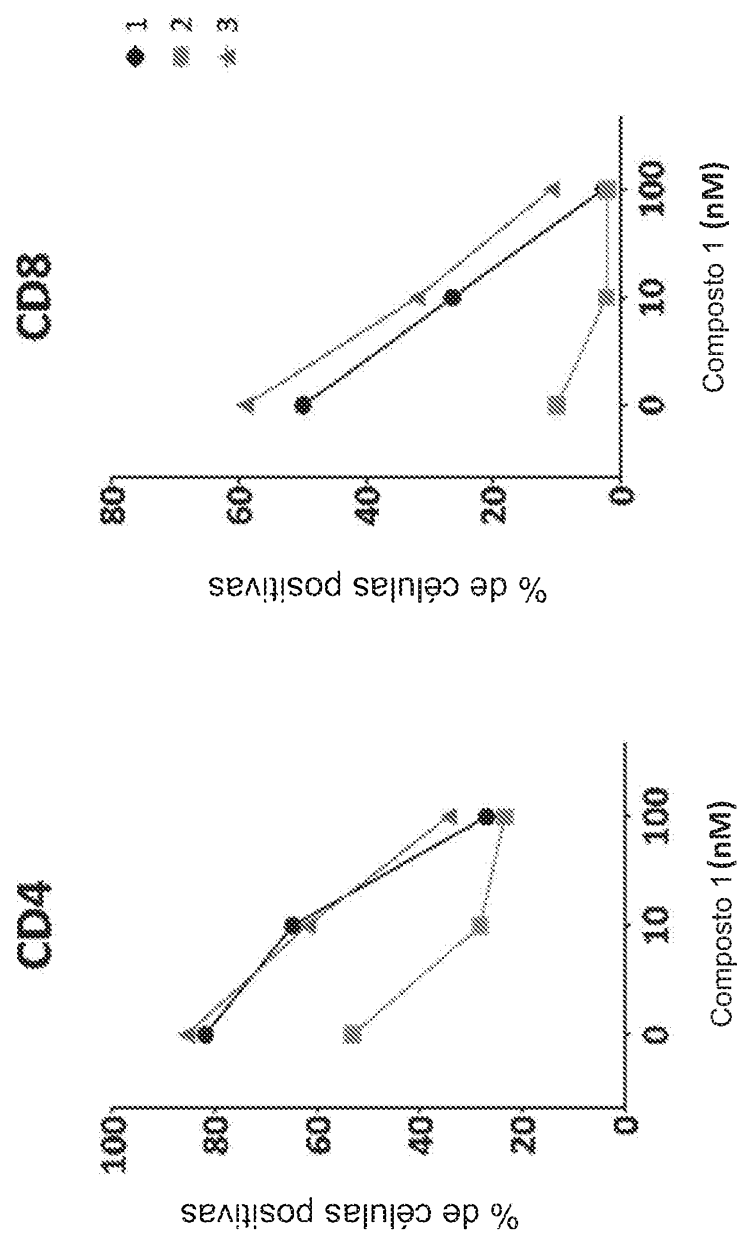


FIG. 37B

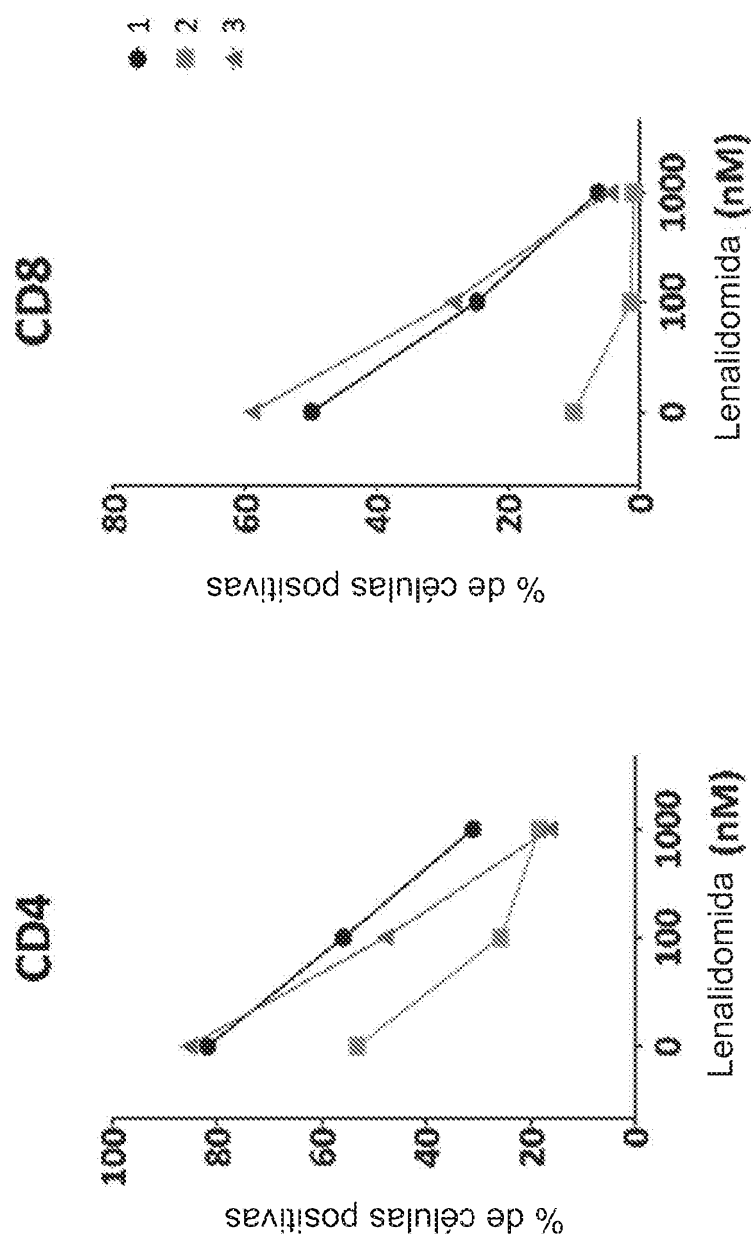
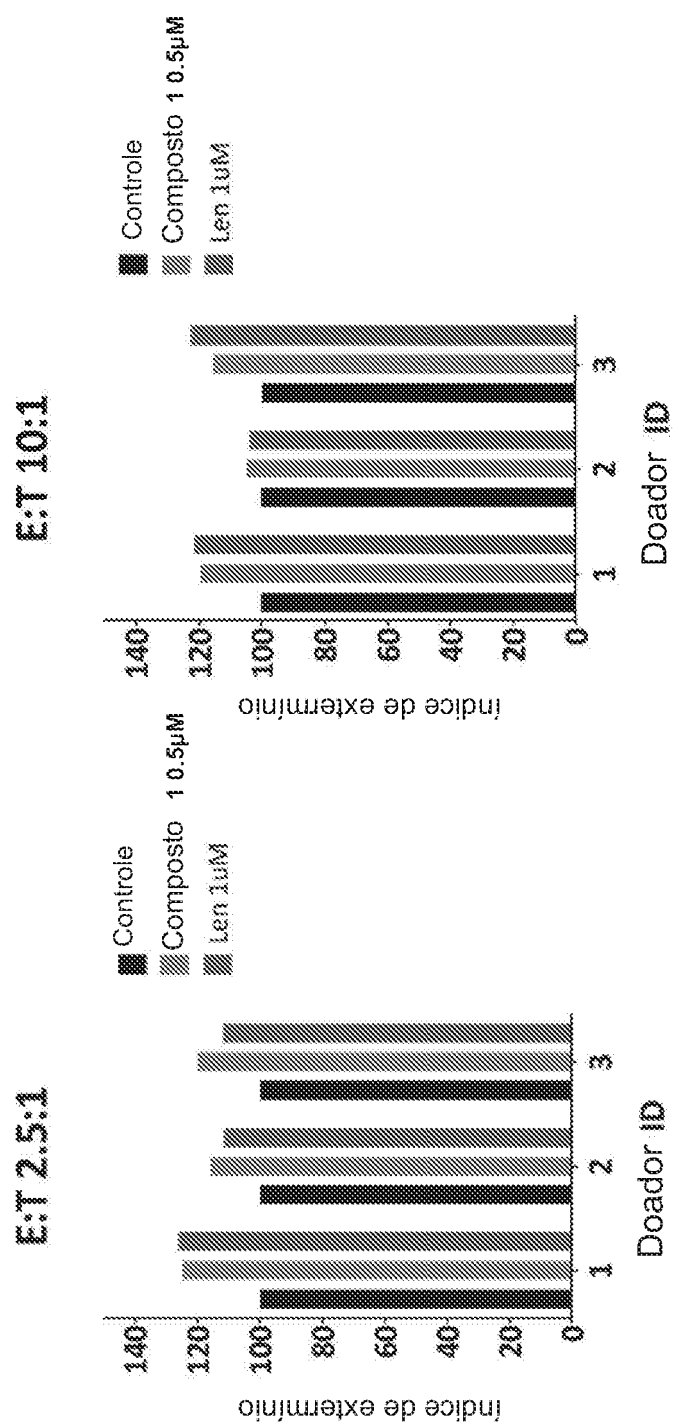


FIG. 38



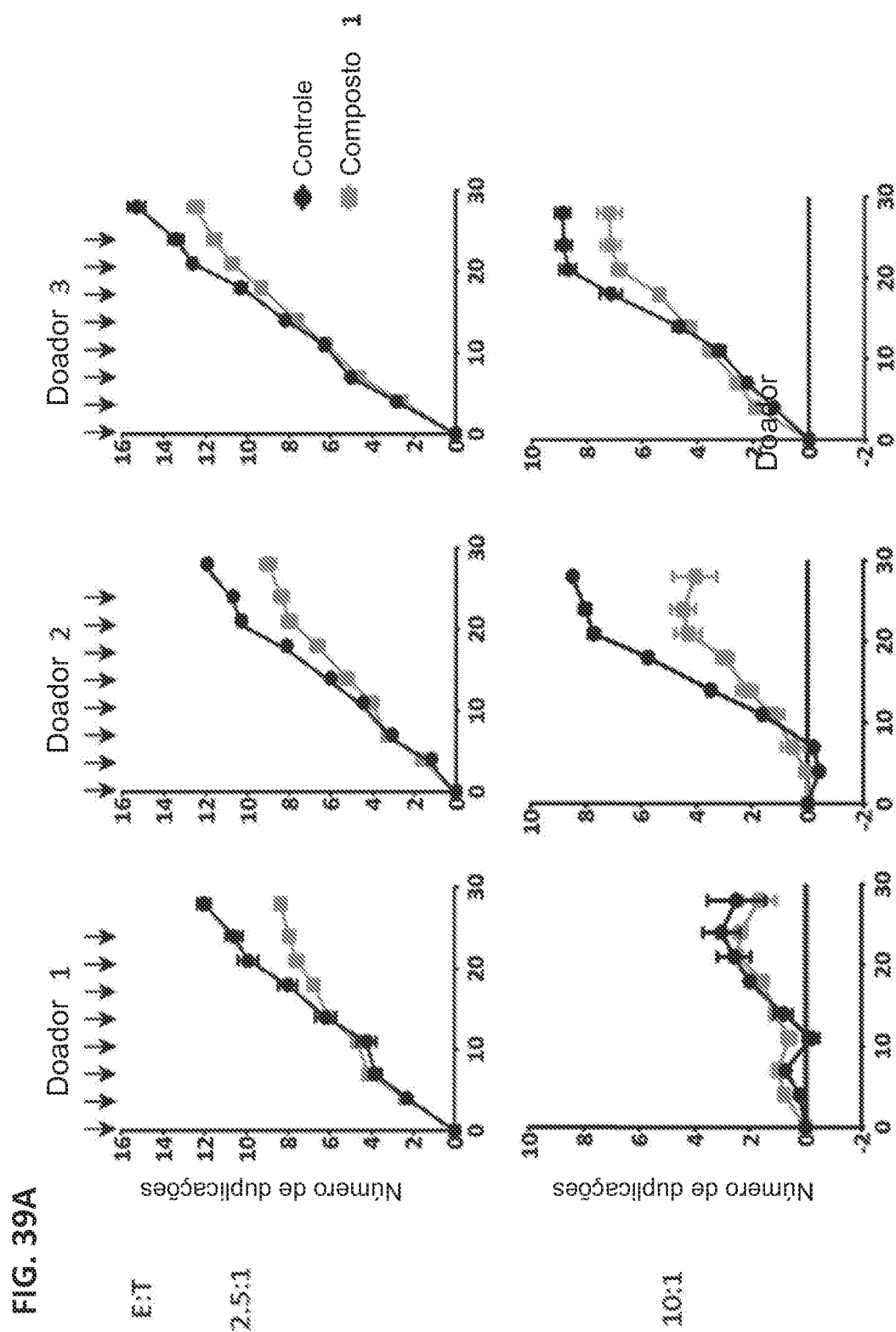
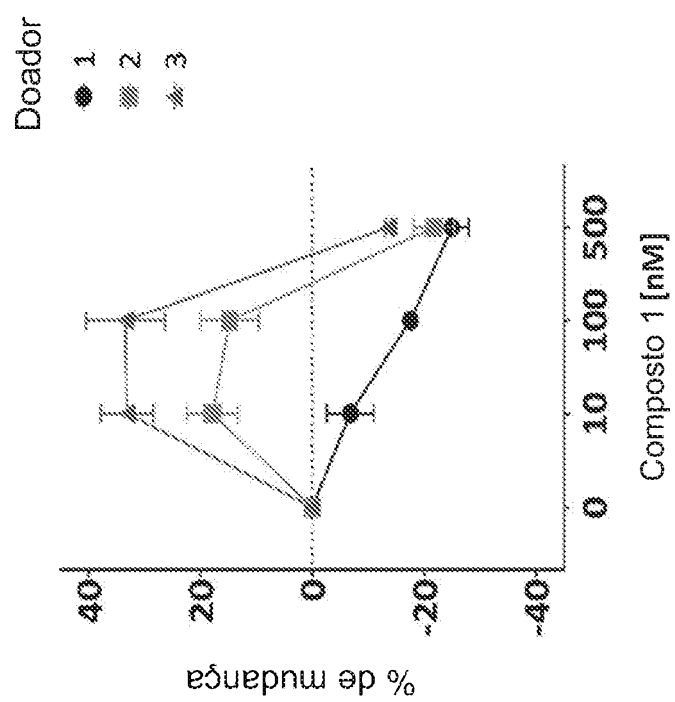


FIG. 39B



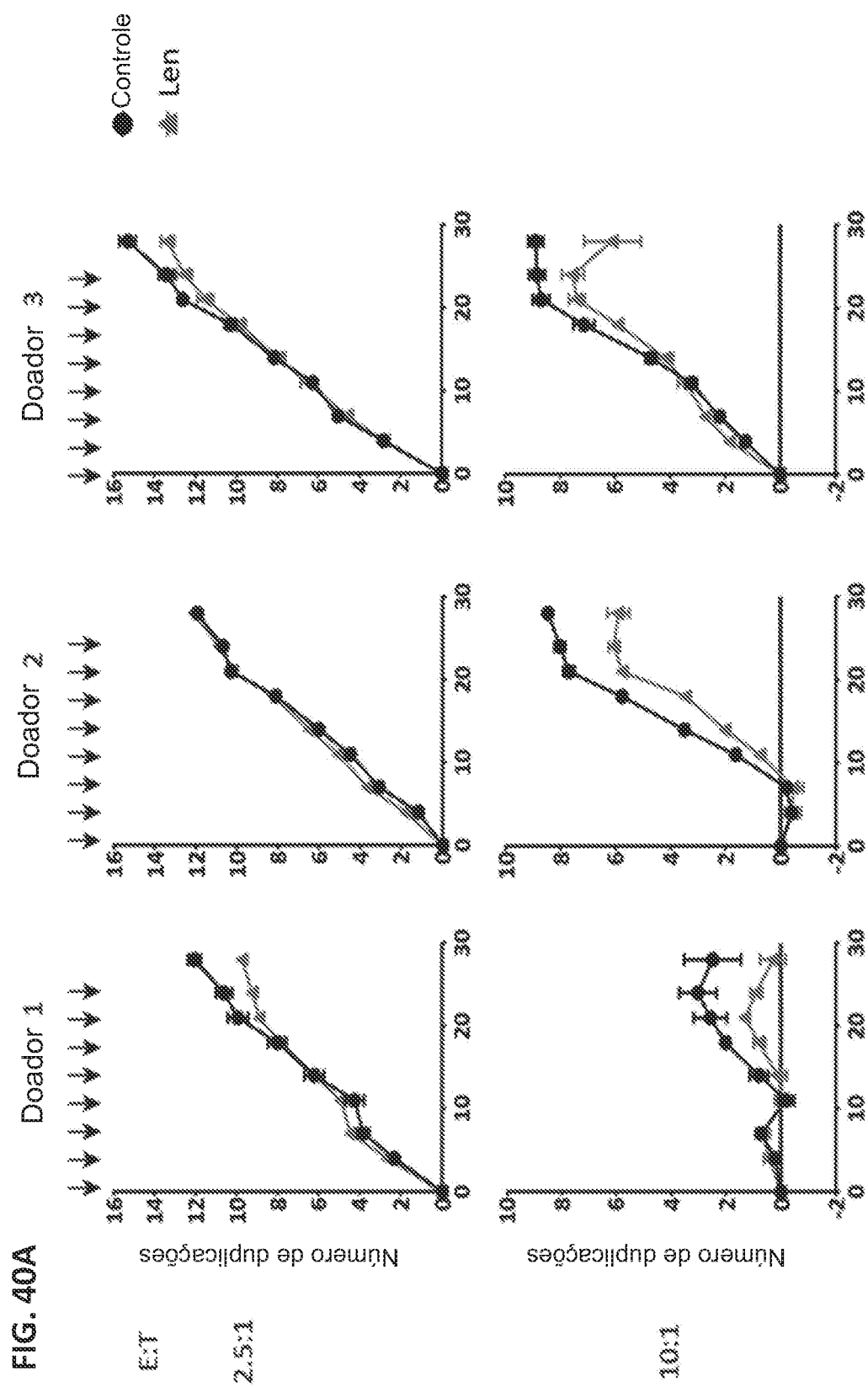
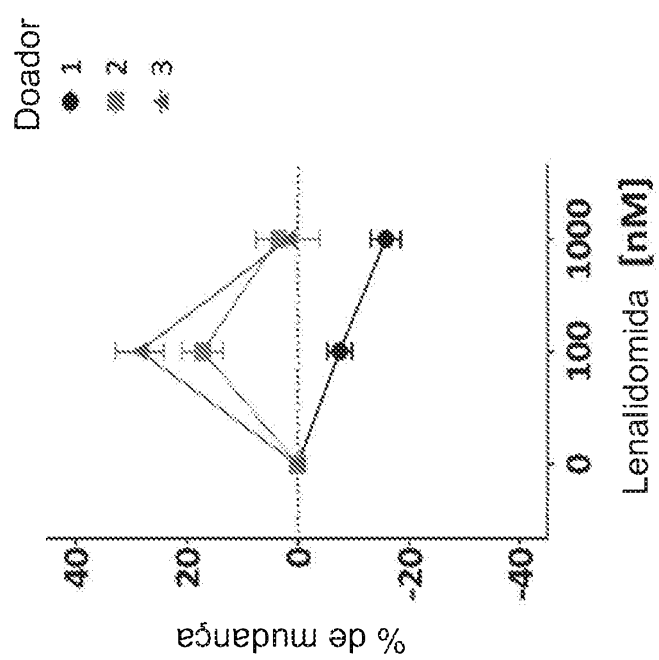


FIG. 40B





## RESUMO

Patente de Invenção: "**COMBINAÇÃO DE UMA TERAPIA CELULAR E UM COMPOSTO IMUNOMODULATÓRIO**".

A presente invenção refere-se, em alguns aspectos, aos métodos, composições e usos envolvendo imunoterapias, tais como terapia de célula adotiva, por exemplo, terapia de célula T, e um composto imunomodulatório, tal como um análogo ou derivado estrutural ou funcional de talidomida e/ou um inibidor de E3-ubiquitina ligase. Os métodos, composições e usos fornecidos incluem aqueles para terapias de combinação envolvendo a administração ou uso de um ou mais compostos imunomodulatórios em conjunção com uma terapia de célula T, tal como uma terapia de célula T geneticamente modificada envolvendo células T modificadas com um receptor recombinante, tal como células T expressando o receptor de antígeno quimérico (CAR). Além disso, são fornecidos composições, métodos de administração aos indivíduos, artigos de fabricação e kits para uso nos métodos. Em alguns aspectos, as características dos métodos e células fornecem atividade, eficácia, persistência, expansão e/ou proliferação de células T aumentada ou melhorada quanto à terapia de célula adotiva ou células T endógenas recrutadas por agentes imunoterapêuticos.

Este anexo apresenta o código de controle da listagem de sequências biológicas.

**Código de Controle**

Campo 1



Campo 2



**Outras Informações:**

- Nome do Arquivo: LISTAGEM DE SEQUÊNCIA EMENDAS - DEZ2019-
- Data de Geração do Código: 05/12/2019
- Hora de Geração do Código: 17:33:29
- Código de Controle:
  - Campo 1: 4952BEF37CE3A448
  - Campo 2: EB94E2DAA290040D