



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115516085 A

(43) 申请公布日 2022. 12. 23

(21) 申请号 202180028199.7

(22) 申请日 2021.02.26

(30) 优先权数据

62/983,005 2020.02.28 US

63/009,050 2020.04.13 US

63/123,054 2020.12.09 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.10.12

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2021/019773 2021.02.26

(87) PCT国际申请的公布数据

W02021/173900 EN 2021.09.02

(71) 申请人 AVM生物技术有限责任公司

地址 美国华盛顿州

(72) 发明人 T·迭舍尔 S·W·麦凯

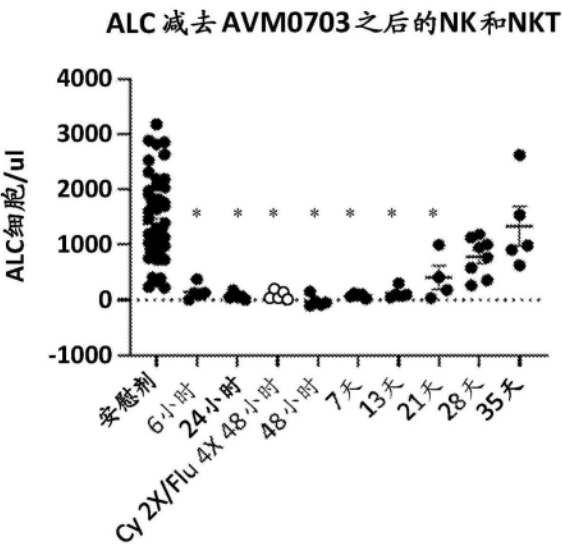
权利要求书3页 说明书90页 附图43页

(54) 发明名称

淋巴细胞群体以及用于产生所述淋巴细胞群体的方法

(57) 摘要

本发明涉及一种新型淋巴细胞群体、用于产生这些淋巴细胞的方法以及所述淋巴细胞在疾病治疗中的用途。



1. 一种产生自然杀伤T细胞(NKT细胞)群体的方法,所述方法包括以相当于约至少6mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED)的剂量向受试者施用糖皮质激素受体(GR)调节剂。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中所述NKT细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞:

i) 表达CD3;并且

ii) 表达CD4、CD8、CD45、CD49b、CD56、CD62L、NK1.1、Ly6G、Sca1和/或TCR γ/δ ;和/或

iii) 不表达:C-kit、B220、FoxP3和/或TCR α/β 。

3. 根据权利要求2所述的方法,其中所述NKT细胞表达:

i) CD3、CD4、CD45、CD49b、CD56、CD62L、NK1.1、Ly6G、Sca1和TCR γ/δ ;或

ii) CD3、CD45和CD56。

4. 根据权利要求2或3所述的方法,其中所述NKT细胞:

i) 不表达C-kit、B220、FoxP3或TCR α/β ,

ii) 不表达CD8,

iii) 表达CD4和CD8;

iv) 表达Ly6G和TCR γ/δ ;和/或

v) 为CD3+极亮和/或CD45+/暗和/或CD56+。

5. 根据权利要求1-4中任一项所述的方法,其中所述糖皮质激素受体(GR)调节剂是糖皮质激素,任选地其中所述糖皮质激素选自自由以下组成的组:地塞米松、氢化可的松、甲泼尼龙、泼尼松、泼尼松龙、泼尼立定、可的松、布地奈德、倍他米松、氟米松和倍氯米松。

6. 根据权利要求5所述的方法,其中所述糖皮质激素选自自由以下组成的组:地塞米松、倍他米松和甲基泼尼松。

7. 根据权利要求6所述的方法,其中所述糖皮质激素是地塞米松或倍他米松。

8. 根据权利要求5-7中任一项所述的方法,其中所述地塞米松是地塞米松磷酸钠。

9. 根据权利要求1-8中任一项所述的方法,其中所述糖皮质激素以相当于约以下的剂量施用:

i) 至少6-12mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);

ii) 至少6mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);

iii) 至少12mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);

iv) 至少15mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);

v) 至少21mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);

vi) 至少24mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);

vii) 15mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);

viii) 24mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);或

ix) 45mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED)。

10. 根据权利要求1-9中任一项所述的方法,其中所述糖皮质激素作为单一急性剂量施用,或作为在约72小时时间段内给予的总剂量施用。

11. 根据权利要求1-10中任一项所述的方法,其中所述方法包括施用一个或多个另外剂量的糖皮质激素。

12. 根据权利要求1-11中任一项所述的方法,所述方法进一步包括将NKT细胞激活剂施

用于所述受试者的步骤。

13. 根据权利要求12所述的方法, 其中所述NKT细胞激活剂在施用糖皮质激素后48小时内或约48小时施用。

14. 根据权利要求1-13中任一项所述的方法, 其中所述受试者患有、疑似患有或已被诊断患有选自以下组成的组的疾病: 癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病。

15. 根据权利要求14所述的方法, 其中所述癌症是实体瘤癌症。

16. 根据权利要求15所述的方法, 其中所述癌症是淋巴瘤, 优选B细胞淋巴瘤、T细胞淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤。

17. 根据权利要求14-16中任一项所述的方法, 其中所述NKT细胞通过肿瘤浸润来治疗所述癌症。

18. 根据权利要求14-17中任一项所述的方法, 其中所述NKT细胞促进其它免疫细胞浸润到所述肿瘤中。

19. 根据权利要求14-18中任一项所述的方法, 其中所述NKT细胞通过CD1d指导的细胞凋亡直接杀死癌细胞。

20. 根据权利要求14-19中任一项所述的方法, 其中所述NKT细胞通过导致肿瘤坏死来治疗所述癌症。

21. 根据权利要求14所述的方法, 其中所述自身免疫性疾病选自以下组成的组: 多发性硬化症、系统性硬化症、肌萎缩性侧索硬化症、1型糖尿病 (T1D)、硬皮病、天疱疮和狼疮。

22. 根据权利要求14所述的方法, 其中所述感染性疾病是HIV或由冠状病毒感染引起的疾病如COVID-19。

23. 根据权利要求1-22中任一项所述的方法, 所述方法进一步包括从所述受试者或从源自所述受试者的样品分离NKT细胞群体的步骤,

任选地, 其中所述分离步骤在以下条件下进行:

i) 在糖皮质激素施用后至少48小时; 或

ii) 在糖皮质激素施用后48小时与13天之间。

24. 如权利要求23所述的方法, 其中所述样品选自以下组成的组: 血液、血浆、肿瘤活检物或手术切除的肿瘤、骨髓、肝脏和脂肪或脂肪组织。

25. 根据权利要求23或24所述的方法, 所述方法进一步包括扩增所述分离的NKT细胞的步骤。

26. 根据权利要求23-25中任一项所述的方法, 所述方法进一步包括用NKT细胞激活剂激活所述分离的NKT细胞的步骤

任选地, 其中所述NKT细胞激活剂选自细胞因子、趋化因子、生长因子和/或NKT调节剂。

27. 根据权利要求23-25中任一项所述的方法, 所述方法进一步包括将编码蛋白质的核酸引入所述分离的NKT细胞中以及在促进所述蛋白质表达的条件下培养所述细胞的步骤。

28. 根据权利要求27所述的方法, 其中所述蛋白质选自以下中的一者或多者组成的组: T细胞受体 (TCR)、嵌合抗原受体 (CAR) 以及分裂、通用且可编程的CAR (SUPRA-CAR)。

29. 根据权利要求23-28中任一项所述的方法, 所述方法进一步包括扩增所述NKT细胞的步骤。

30. 根据权利要求23-29中任一项所述的方法, 所述方法进一步包括用NKT细胞激活剂

激活所述NKT细胞的步骤。

31. 一种治疗受试者的癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效剂量的权利要求1-30中任一项所述的分离的NKT细胞。

32. 一种糖皮质激素,所述糖皮质激素用于根据权利要求1-31中任一项所述的方法中。

33. 糖皮质激素用于制造用于根据权利要求1-31中任一项所述的方法中的药物中的用途。

34. 一种分离的自然杀伤T细胞(NKT细胞)或自然杀伤T细胞(NKT细胞)群体,其通过根据权利要求1-33中任一项所述的方法产生。

35. 一种分离的自然杀伤T细胞(NKT细胞),其特征在于所述细胞表达CD3,并且:

i) 表达CD4、CD8、CD45、CD49b、CD56、CD62L、NK1.1、Ly6G、Sca1和/或TCR γ/δ ;和/或

ii) 不表达:C-kit、B220、FoxP3和/或TCR α/β ;

任选地,其中所述分离的NKT细胞为CD3⁺极亮和/或CD45⁺暗和/或CD56⁺。

36. 根据权利要求35所述的分离的NKT细胞,其中所述NKT细胞或其前体已经从受试者分离,其中使所述NKT细胞或所述NKT细胞的前体在分离之前在体内或在分离之后在体外与高剂量糖皮质激素受体调节剂接触,并且其中CD3表达水平是来自尚未与所述糖皮质激素受体调节剂接触的受试者的参考NKT细胞群体中的平均CD3表达水平的至少两倍高。

37. 根据权利要求36所述的分离的NKT细胞,其中所述分离的NKT细胞和所述参考NKT细胞群体的CD3表达水平通过流式细胞术进行测量。

38. 根据权利要求36或37所述的分离的NKT细胞,其中所述分离的NKT细胞的CD3表达水平是来自尚未与所述糖皮质激素受体调节剂接触的受试者的所述参考NKT细胞群体中的平均CD3表达水平的至少三倍、至少四倍或至少五倍高。

39. 一种分离的自然杀伤T细胞(NKT细胞)群体,其特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞:

i) 表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD49b、CD56、CD62L、NK1.1、Ly6G、Sca1和/或TCR γ/δ ;和/或

ii) 不表达:C-kit、B220、FoxP3和/或TCR α/β ;

任选地,其中至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞为CD3⁺极亮和/或CD45⁺暗和/或CD56⁺。

40. 一种用于治疗受试者的癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病的方法中的糖皮质激素,所述方法包括以相当于约6-45mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED)的剂量向所述受试者施用糖皮质激素,

其中所述糖皮质激素诱导NKT细胞群体,其特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞:

i) 表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD49b、CD56、CD62L、NK1.1、Ly6G、Sca1和/或TCR γ/δ ;和/或

ii) 不表达:C-kit、B220、FoxP3和/或TCR α/β 。

淋巴细胞群体以及用于产生所述淋巴细胞群体的方法

技术领域

[0001] 本公开涉及新型淋巴细胞和免疫细胞群体、用于产生这些群体的方法以及它们在疾病治疗中的用途。更特别地，本公开涉及使用高剂量糖皮质激素和糖皮质激素受体激动剂产生新型自然杀伤T细胞(NKT细胞)、T细胞和树突细胞群体的方法。

背景技术

[0002] 本发明作者之前发现，高浓度的糖皮质激素可用于调理患者，以增强细胞免疫疗法(如过继性T细胞疗法)的功效；在国际专利申请PCT/US2018/025517(公开为W02018/183927)中描述。在所述申请中，作者注意到与化学疗法和放射介导的预处理(preconditioning)相关的毒性，所述毒性据信非选择性地破坏脾脏的细胞结构。作者提供了急性剂量的糖皮质激素(类固醇的亚类)和其它无毒淋巴细胞清除剂，以使接受细胞免疫疗法的癌症患者受益。

[0003] 在国际专利申请PCT/US2019/054395中，本发明作者还描述了使用高浓度的糖皮质激素来引起外周血淋巴细胞的淋巴细胞清除，而不会显著影响其它细胞的细胞计数。在所述申请中，作者报告了高浓度的糖皮质激素可耗减外周血淋巴细胞，包括例如负责糖尿病自身免疫性的胰岛特异性自身反应性T细胞，但嗜中性粒细胞、血小板、RBC和干细胞(HSC和MSC两者)不受影响。作者提供了糖皮质激素作为可进行安全的免疫重置且功效与化学疗法相当的非骨髓性治疗方案。

[0004] ---

[0005] 减少细胞毒性化学疗法的使用是美国国家癌症研究所的首要目标。癌(Carcinomas)(通常称为实体瘤)占总癌症的80%-90%，但已证明难以通过新的癌症疗法发展来靶向。嵌合抗原受体(CAR)T细胞疗法在治疗表达CD-19的B细胞急性淋巴细胞性白血病方面取得了显著成功。然而，存在许多障碍限制用于实体瘤的CAR T细胞疗法：向肿瘤的无效运输以及实体瘤中的免疫抑制微环境限制T细胞功效。此外，CAR T疗法一直与严重的副作用相关，包括细胞因子释放综合征(CRS)、神经水肿和移植物抗宿主病(GvHD)。

[0006] 自然杀伤T细胞(NKT)是具有T细胞和自然杀伤(NK)细胞两者的性质的一组异质T细胞。与常规T细胞相比，NKT在它们离开胸腺时在功能上成熟，准备好用于快速细胞因子产生。NKT可直接杀死表达CD1d的癌细胞和肿瘤微环境巨噬细胞，快速产生和释放诸如IFN γ 和IL-4的免疫激活细胞因子，并激活诸如树突细胞(DC)、NK细胞以及B和T淋巴细胞的其它免疫细胞。在临床上，不变NKT(iNKT)已通过注射“自体培养物激活的iNKT”、通过施用 α Gal Cer(一种NKT激活剂)负载的树突细胞或单核细胞以激活内源性NKT或通过施用NKT激活剂抗体或配体如KRN7000(Gal Cer的一种合成类似物)而针对多种不同的癌症使用。

[0007] 然而，用于诱导iNKT产生的这些方法都没有被证明对癌症患者有效；iNKT水平在癌症患者中降低并且临床试验一直令人失望。iNKT水平在老年人中同样较低(Tarazona等人，2003，其以引用的方式整体并入本文)。在黑素瘤中使用“自体培养物激活的NKT”在9名患者中的3名中有效，结果与肿瘤浸润NKT的数量直接相关(Wolf等人，2018和Nair等人，

2017,其特此以引用的方式整体并入本文)。然而,这种方法也受到癌症患者中NKT的数量少以及iNKT在IFN γ 1型与肿瘤促进IL-42型之间移动的可塑性的限制。

[0008] 在癌症治疗中,与常规细胞毒性化学疗法相比,激酶抑制剂(KI)具有良好耐受性。然而,显著毒性仍与激酶抑制剂相关,包括疲劳、高血压、皮疹、伤口愈合受损、骨髓抑制和腹泻,以及甲状腺功能、骨代谢、线性生长、性腺功能、胎儿发育、肾上腺功能和葡萄糖代谢异常。由于KI(其必须长期服用)的毒性,许多患者需要减少剂量(Lodisch等人,2013,其特此以引用的方式整体并入)。此外,对KI的抗性和治疗的时间依赖性常见的(Bhullar2018,其特此以引用的方式整体并入)。

[0009] 尽管努力减少与癌症治疗相关的毒性,但管理这些毒性的身体伤害和医疗成本仍然是重大问题。例如,高达41%的血癌患者由于与这些药物相关的身体和财务毒性而选择停止服用新的激酶/蛋白酶体抑制剂或生物制剂(Mato 2018、Kadri 2017、Mato 2016和Barrett 2010,其各自特此以引用的方式整体并入)。

[0010] T细胞是在免疫应答中起关键作用的淋巴细胞类型。T细胞与其它类型的淋巴细胞的区别在于其细胞表面上存在T细胞受体。T细胞受体(TCR)负责识别与主要组织相容性复合物(MHC)分子结合的抗原的片段,并且是两条不同蛋白质链的异二聚体。在人类中,在95%的T细胞中,TCR由 α (α)链和 β (β)链(分别由TRA和TRB编码)组成,但在5%的人T细胞中,TCR由 γ 和 δ (γ/δ)链(分别由TRG和TRD编码)组成。此比率在疾病状态(如白血病)中发生变化。

[0011] 与MHC限制性 $\alpha\beta$ T细胞相比, $\gamma\delta$ T细胞不需要抗原加工和主要组织相容性复合物(MHC)呈递肽表位来激活,尽管一些识别MHC Ib类分子。一些 $\gamma\delta$ T细胞识别由感染或肿瘤发生引起的细胞应激标志物。 $\gamma\delta$ T细胞也据信在识别脂质抗原中起作用。

[0012] $\gamma\delta$ T细胞通过产生细胞因子(IFN- γ 、TNF- α 、IL-17)和趋化因子(RANTES、IP-10、淋巴细胞趋化因子)、感染或转化的靶细胞(穿孔素、颗粒酶、TRAIL)的细胞溶解以及与其它细胞的相互作用而在识别感染或转化的细胞后展示广泛功能可塑性。 $\gamma\delta$ T细胞已被证明能够以MHC非限制性方式识别和溶解多种癌症,在感染性疾病中具有保护功能,并与各种感染性疾病中的进展和预后相关(Gogoi等人,2013;Pauza等人,2018;Zheng等人,2012;Dong等人,2018;Zhao等人2018;全部特此以引用的方式整体并入)。一些 $\gamma\delta$ T细胞在一些情况下也可充当抗原呈递细胞(Himoudi等人,2012)。因此, $\gamma\delta$ T细胞在免疫疗法开发中具有相当大的兴趣。

[0013] 树突细胞是骨髓来源的白细胞,并且是哺乳动物免疫系统的最有效的抗原呈递细胞。树突细胞通常被分类为常规树突细胞(cDC)和浆细胞样树突细胞(pDC)亚群。树突细胞主要以两种基本功能状态存在:“未成熟”和“成熟”。树突细胞的激活(成熟)开启代谢、细胞和基因转录程序,从而允许DC从外周组织迁移至次级淋巴器官中的T依赖性区域,其中可能发生T淋巴细胞激活抗原呈递(Patente等人,2018;特此以引用的方式整体并入)。

[0014] 树状细胞的主要功能是加工抗原物质并将其在细胞表面上呈递给T细胞,从而起始适应性免疫应答。树突细胞还产生促进病原体特异性效应T细胞分化和激活的极化细胞因子,并且可通过分泌诱导调控性T细胞分化的致耐受性细胞因子来促进自身耐受性。鉴于这些免疫调控功能,树状细胞在免疫疗法开发中具有相当大的兴趣,用于治疗包括癌症、自身免疫性疾病和感染的疾患。例如,CD11b阳性树突细胞与甲型流感(H1N1)感染和呼吸道合

胞病毒的严重程度降低或保护免受甲型流感感染和呼吸道合胞病毒相关 (Lee等人, 2018; Malloy等人, 2017; 两者均特此以引用的方式整体并入)。

[0015] ---

[0016] 2019冠状病毒病 (COVID-19) 是由严重急性呼吸综合征冠状病毒2 (SARS-CoV-2) 引起的感染性疾病。虽然大多数病例导致轻微症状 (其可包括发热、咳嗽和呼吸短促), 但一些病例进展为病毒性肺炎和多器官衰竭。2020年3月, 世界卫生组织 (WHO) 宣布COVID-19爆发为大流行病。截至2020年4月, 全球确诊病例数量超过100万, 死亡人数超过50,000。截至2020年4月, 尚不存在针对COVID-19的疫苗或特定抗病毒治疗, 疾病的管理侧重于症状治疗和支持性护理。

[0017] ---

[0018] 对于用于癌症、自身免疫性疾病和感染性 (也称为微生物) 疾病的进一步治疗存在需要, 所述治疗与目前可用的疗法相比更安全且与更小毒性和/或更大功效相关。需要更简单、毒性更小且成本更低的治疗。

发明内容

[0019] 本发明是基于出人意料的发现, 即虽然高剂量的糖皮质激素引起许多类型外周血淋巴细胞的淋巴细胞清除, 但它们也诱导新型自然杀伤T (NKT) 细胞群体的产生/激活/动员。除了具有已知NKT细胞的性质外, 这种新型NKT细胞群体还能够直接吞噬癌细胞, 从而扩大高浓度糖皮质激素作为实体癌的治疗性治疗的潜力。

[0020] 本发明作者还发现, 在高剂量施用后, 糖皮质激素分子可结合并阻断细胞间粘附分子, 如ICAM3。所述结合是协同的, 并且多达26个分子结合ICAM3的第一Ig结构域。ICAM3在诸如淋巴细胞、单核细胞和嗜中性粒细胞的细胞上以及在诸如黑素瘤和骨肉瘤的癌细胞类型上大量表达。

[0021] 因此, 在第一方面, 本发明提供了一种产生自然杀伤T细胞 (NKT细胞) 群体的方法, 所述方法包括以相当于至少6mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED) 的剂量向受试者施用糖皮质激素受体 (GR) 调节剂或ICAM3调节剂 (其可以是糖皮质激素, 如地塞米松), 其中所述糖皮质激素在所述受试者中诱导所述NKT细胞群体。本发明的NKT细胞表现出新型标志物表达模式。在一些实施方案中, 所述NKT细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的细胞表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD49b、CD56、CD62L、NK1.1、Ly6G、Sca1和/或TCR γ/δ ; 和/或不表达: C-kit、B220、FoxP3和/或TCR α/β 。在一些实施方案中, 所述NKT细胞表达CD3、CD4、CD45、CD49b、CD56、CD62L、NK1.1、Ly6G和Sca1。在一些实施方案中, 所述NKT细胞表达CD3、CD4、CD45、CD56、CD62L、NK1.1、Ly6G和Sca1。在一些实施方案中, 所述NKT细胞表达CD3、CD4、CD45、CD49b、CD62L、NK1.1、Ly6G和Sca1。在一些实施方案中, 所述NKT细胞表达CD3、CD4、CD45、CD56、CD62L、NK1.1和Ly6G。在一些实施方案中, 所述NKT细胞表达CD3、CD4、CD45、CD49b、CD62L、NK1.1和Ly6G。在一些实施方案中, 所述NKT细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的细胞表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD49b、CD56、CD62L、NK1.1、Ly6G和/或TCR γ/δ ; 和/或不表达: C-kit、B220、FoxP3和/或TCR α/β 。在一些实施方案中, 所述NKT细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的细胞表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD56、CD62L、NK1.1、

Ly6G和/或TCR γ/δ ;和/或不表达:C-kit、B220、FoxP3和/或TCR α/β 。在一些实施方案中,所述NKT细胞不表达C-kit、B220、FoxP3或TCR α/β 。在一些实施方案中,所述NKT细胞不表达Sca1。所述NKT细胞可表达CD8。所述NKT细胞可不表达CD8。所述NKT细胞可表达CD4。所述NKT细胞可不表达CD4。所述NKT细胞可表达CD4和CD8;和/或表达Ly6G。

[0022] 在一些优选的实施方案中,本公开的NKT细胞可表达CD3、CD45和/或CD56。在此类实施方案中,本公开的NKT细胞可以是CD3+/亮或CD3+/极亮,和/或CD45+/暗,和/或CD56+。

[0023] 所述NKT细胞可被描述为

[0024] • CD4+/极亮;

[0025] • CD8+/暗;

[0026] • CD3+/极亮;

[0027] • CD45+/暗;

[0028] • Sca1+/极亮;

[0029] • CD44+/-;

[0030] • CD69+/-;

[0031] • CD25+/-;

[0032] • TCR $\gamma \delta$ +;和/或

[0033] • CDd49b+或CD56+/亮。

[0034] 所述NKT细胞可被描述为在初次接受试验的受试者中具有这些性质。所述NKT细胞可被描述为在肿瘤/癌症或自身免疫状态中具有这些性质。

[0035] 细胞标志物的表达水平可相对于来源于常见来源的参考NKT细胞群体中的平均表达水平确定,所述参考NKT细胞尚未与所述糖皮质激素受体 (GR) 调节剂或ICAM3调节剂接触。所述标志物的表达可通过例如使用本文所述的设备、试剂和/或条件(单独或组合)进行的流式细胞术测量。所述糖皮质激素受体 (GR) 调节剂或ICAM3调节剂可以是糖皮质激素。在一些实施方案中,所述糖皮质激素选自由以下组成的组:地塞米松、氢化可的松、甲泼尼龙、泼尼松、泼尼松龙、泼尼立定、可的松、布地奈德、倍他米松、氟米松和倍氯米松。

[0036] 在优选的实施方案中,所述糖皮质激素选自由以下组成的组:地塞米松、倍他米松和甲基泼尼松(优选地塞米松或倍他米松)。

[0037] 在一些实施方案中,所述糖皮质激素选自由以下组成的组:地塞米松碱、地塞米松磷酸钠、半琥珀酸地塞米松、地塞米松琥珀酸钠、琥珀酸地塞米松、异烟酸地塞米松、乙酸地塞米松-21、磷酸地塞米松、磷酸地塞米松-21、乙酸特丁地塞米松、戊酸地塞米松-17、一水合乙酸地塞米松、特戊酸地塞米松、棕榈酸地塞米松、棕榈酸地塞米松-21、二丙酸地塞米松、丙酸地塞米松、无水乙酸地塞米松、苯丙酸地塞米松-21、磺基苯甲酸地塞米松-21、半硫酸地塞米松、硫酸地塞米松、地塞米松beloxil、地塞米松酸、乙呋地塞米松、地塞米松甲酰亚胺、地塞米松培酯、地塞米松21-磷酸二钠盐、甲磺酸地塞米松、亚油酸地塞米松、地塞米松葡萄糖苷、地塞米松葡萄糖苷酸、碘醋酸地塞米松、地塞米松氧杂环丁烷酮、羧甲基硫代-地塞米松、地塞米松bisethoximes、地塞米松环氧化物、反亚油酸地塞米松、甲基原戊酸地塞米松、地塞米松精胺、6-羟基地塞米松、三丁基乙酸地塞米松、地塞米松天冬氨酸、地塞米松吡喃半乳糖、盐酸地塞米松、羟基地塞米松、羧基地塞米松、脱氧地塞米松、地塞米松丁氮酮、

地塞米松环糊精、二氢地塞米松、氧代地塞米松、丙酰氧基地塞米松、地塞米松galactodie、异烟酸地塞米松、地塞米松磷酸氢二钠、地塞米松醛、特戊酸地塞米松、三癸酸地塞米松、巴豆酸地塞米松、甲磺酸地塞米松、丁基乙酸地塞米松、脱氢地塞米松、地塞米松异硫氰酸基乙基硫醚、溴乙酸地塞米松、半戊二酸地塞米松、脱氧地塞米松、地塞米松chlorambucilate、地塞米松melphalanate、甲酰氧基地塞米松、丁酸地塞米松、月桂酸地塞米松、乙酸地塞米松以及含有地塞米松形式的任何组合治疗。

[0038] 在一些实施方案中,所述糖皮质激素是地塞米松,其是地塞米松磷酸钠。

[0039] 本发明的方法可涉及特定糖皮质激素剂量的施用。在一些实施方案中,所述糖皮质激素以相当于约以下的剂量施用:

- [0040] • 6-12mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);
- [0041] • 至少6mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);
- [0042] • 至少12mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);
- [0043] • 至少15mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);
- [0044] • 至少18mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);
- [0045] • 至少21mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);
- [0046] • 至少24mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);
- [0047] • 至多45mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED)。

[0048] 在一些优选的实施方案中,所述糖皮质激素以相当于约至少18mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED)的剂量施用。在一些其它优选的实施方案中,所述糖皮质激素以相当于约至少15-18mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED)的剂量施用。

[0049] 所述糖皮质激素剂量可被定义为具有来自一系列mg/kg值的mg/kg值的地塞米松的人体等效剂量(HED),其中所述范围由上述部分i)至viii)中列出的mg/kg值中的两个限定。例如,所述糖皮质激素剂量可被定义为6-45mg/kg的地塞米松HED。在另一个实例中,所述糖皮质激素剂量可被定义为12-24mg/kg的地塞米松HED。

[0050] 所述糖皮质激素可作为单次急性剂量施用,或作为在约72小时时间段内给予的总剂量施用。此外,所述方法可包括施用一个或多个其它剂量的糖皮质激素。在一些实施方案中,一个或多个其它剂量:在先前糖皮质激素施用后24小时与120小时之间;在先前糖皮质激素施用后24小时与48小时之间;在先前糖皮质激素施用后72小时与120小时之间;在第一糖皮质激素施用后每24、48、72、96、120、144或168小时;在第一糖皮质激素施用后每周一次;在第一糖皮质激素施用后每两周一次;在第一糖皮质激素施用后每月一次;或在第一糖皮质激素施用后每周两次施用。

[0051] 本发明可包括用于NKT细胞激活的步骤。因此,在一些实施方案中,所述方法可进一步包括向所述受试者施用NKT细胞激活剂的步骤。所述NKT细胞激活剂可选自由以下组成的组: α GalCer、硫苷脂或NKT激活抗体。所述NKT细胞激活剂可以是负载 α GalCer的树突细胞或单核细胞。所述NKT细胞激活剂可在施用糖皮质激素后1-48小时内或约1-48小时施用。所述NKT细胞激活剂可在施用糖皮质激素后48小时内或约48小时施用。

[0052] 在一些实施方案中,所述受试者是哺乳动物,例如人类。

[0053] 所述受试者可患有或疑似患有(或已被诊断患有)癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病(也称为微生物疾病)。所述癌症可以是实体瘤。或者,所述癌症可以是淋巴瘤,优选B细

胞淋巴瘤或T细胞淋巴瘤。在一些优选的实施方案中,所述癌症可以是非霍奇金淋巴瘤。

[0054] 所述癌症可选自由以下组成的组:鳞状细胞癌(如上皮鳞状细胞癌);肺癌,包括小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肺腺癌和肺鳞状细胞癌;腹膜癌;肝细胞癌;胃部癌或胃癌,包括胃肠癌;胰腺癌;胶质母细胞瘤;宫颈癌;卵巢癌;肝癌;膀胱癌;肝细胞瘤;乳腺癌;结肠癌;直肠癌;结肠直肠癌;子宫内膜癌或子宫癌;唾液腺癌;肾脏癌或肾癌;前列腺癌;外阴癌;甲状腺癌;肝癌;肛门癌;阴茎癌以及头颈癌。

[0055] 本发明的NKT细胞可通过肿瘤浸润来治疗癌症。本发明的NKT细胞可以通过释放免疫激活细胞因子来治疗癌症。本发明的NKT细胞可以治疗癌症,可以吞噬和杀死癌细胞。本发明的NKT细胞可以通过促进其它免疫细胞浸润到肿瘤中来治疗癌症。本发明的NKT细胞可以通过CD1d指导的细胞凋亡来治疗癌症。本发明的NKT细胞可通过肿瘤坏死来治疗癌症。本发明的NKT细胞可通过经由在本发明的NKT细胞上表达 γ - δ T细胞受体来识别由肿瘤细胞产生的高水平磷酸抗原来治疗癌症。因此,在一些实施方案中,本发明提供了通过诱导或施用本发明的NKT细胞来引起肿瘤坏死的方法。在一些实施方案中,本发明提供了通过诱导或施用本发明的NKT细胞来引起癌细胞的CD1d指导的细胞凋亡的方法。在一些实施方案中,本发明提供了使用本发明的NKT细胞吞噬方法和/或杀死癌细胞的方法。在一些实施方案中,本发明提供了通过癌细胞磷酸抗原激活表达 γ - δ 的NKT细胞的方法,所述NKT细胞然后通过NKT细胞上的NK受体识别并杀死癌细胞。

[0056] 在受试者患有、疑似患有(或已被诊断患有)自身免疫性疾病的实施方案中,所述自身免疫性疾病可以是多发性硬化症、系统性硬化症、肌萎缩性侧索硬化症、1型糖尿病(T1D)、硬皮病、天疱疮或狼疮。在受试者患有、疑似患有(或已被诊断患有)感染性疾病的实施方案中,所述感染性疾病可以是HIV、疱疹、肝炎或人乳头瘤病毒。在一些实施方案中,所述感染性疾病是HIV。在一些优选的实施方案中,所述感染性疾病可以是COVID-19(冠状病毒2019;由严重急性呼吸综合征冠状病毒2,SARS-CoV-2引起的疾病)。

[0057] 本发明的方法可包括分离和/或扩增步骤。例如,所述方法可包括从所述受试者或从源自所述受试者的样品分离NKT细胞群体的步骤。任选地,所述分离步骤可在糖皮质激素施用后至少48小时;糖皮质激素施用后48小时与13天之间;或糖皮质激素施用后6与48小时之间进行。在一些实施方案(如受试者患有癌症、感染性疾病或微生物疾病或自身免疫性疾病的实施方案)中,分离所述NKT细胞的步骤可在糖皮质激素施用后3小时内进行,并且优选在糖皮质激素施用后1小时内进行。所述样品可选自由以下组成的组:血液、血浆、肿瘤活检物或手术切除的肿瘤、骨髓、肝脏、脾脏活检物和脂肪或脂肪组织。在一些实施方案中,所述方法进一步包括扩增所述分离的NKT细胞的步骤。在一些实施方案中,所述方法包括用NKT细胞激活剂激活所述分离的NKT细胞的步骤。所述NKT细胞激活剂可以是细胞因子、趋化因子、生长因子和/或NKT调节剂,如 α GalCer(α -半乳糖基神经酰胺; α -GalCer)硫苷脂(3-O-磺基半乳糖基神经酰胺;SM4;硫酸半乳糖脑苷脂)。

[0058] 本发明的分离的NKT细胞可例如通过用核酸转染所述细胞而进一步工程化。因此,在一些实施方案中,所述方法进一步包括将编码蛋白质的核酸引入所述分离的NKT细胞中以及在促进所述蛋白质表达的条件下培养所述细胞的步骤。所述蛋白质可以是以下中的一者或多者:T细胞受体(TCR),嵌合抗原受体(CAR),分裂、通用且可编程的CAR(SUPRA-CAR)。所述CAR和/或TCR包含结合至选自由以下组成的组的抗原的抗原结合结构域:CD19、CD20、

CD22、GD2、CD133、EGFR、GPC3、CEA、MUC1、间皮素、IL-13R、PSMA、ROR1、CAIX、Her2。

[0059] 本发明的NKT细胞可用于医学。例如，本发明的分离的NKT细胞可在医学上使用，例如用于治疗受试者的癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病（也称为微生物疾病）。在这些实施方案中，所述方法可包括向患有上述疾病之一的受试者施用治疗有效剂量的通过本文公开的方法分离的NKT细胞。在一些实施方案中，向其施用所述分离的NKT细胞的受试者是从其分离所述NKT细胞的同一受试者。可替代地，向其施用所述分离的NKT细胞的受试者与从其分离所述NKT细胞的受试者不同。

[0060] 所述NKT细胞通过选自由以下组成的组的方法施用于所述受试者：静脉内注射、腹膜内注射、淋巴管内注射、鞘内注射、注射到脑脊液（CSF）中、直接注射到肿瘤中以及作为放置在实体瘤上或附近的凝胶。

[0061] 本发明还扩展至糖皮质激素在制造用于本文公开的治疗方法中的药物中的用途。

[0062] 本发明进一步扩展至地塞米松或其它糖皮质激素用于诱导NKT细胞群体的用途，其中所述NKT细胞群体通过根据声明101-148中任一项所述的方法来诱导。

[0063] 本发明进一步扩展至地塞米松或其它糖皮质激素用于动员NKT细胞群体的用途，其中所述NKT细胞群体通过根据声明101-148中任一项所述的方法来动员。

[0064] 还提供了源自本发明的NKT细胞的诱导型多能干细胞。因此，在一个方面，本发明提供了一种产生诱导型多能干细胞（iPSC）的方法，所述方法包括对通过本文公开的方法分离的NKT细胞进行重编程以产生iPSC。所述重编程可涉及将编码Oct3/4、Klf4、Sox2和C-myc的一种或多种核酸引入所述NKT细胞中。所述核酸可以是DNA（例如DNA表达盒）或RNA分子。所述重编程可进一步包括将编码以下中的一者或多者的一个或多个表达盒引入所述NKT细胞中：Sox1、Sox3、Sox15、Klf1、Klf2、Klf5、L-myc、N-myc、Nanog和/或LIN28。所述重编程可进一步包括将以下中的一者或多者引入所述NKT细胞中：Sox1、Sox3、Sox15、Klf1、Klf2、Klf5、L-myc、N-myc、Nanog和/或LIN28编码mRNA。所述iPSC然后可被诱导分化，例如分化为NKT细胞或NKT细胞谱系。

[0065] 本发明还提供一种通过本文公开的方法产生的分离的自然杀伤T细胞（NKT细胞）或自然杀伤T细胞（NKT细胞）群体。相关地，本发明的NKT细胞可由它们的表达谱定义，所述表达谱可如本文别处所述。例如，本发明提供了一种分离的自然杀伤T细胞（NKT细胞），其特征在于所述细胞表达CD3并且任选地表达CD4、CD8、CD45、CD49b、CD56、CD62L、NK1.1、Ly6G、Sca1和/或TCR γ/δ 中的一者或多者；和/或不表达：C-kit、B220、FoxP3和/或TCR α/β 。所述分离的自然杀伤T细胞（NKT细胞）可来自未患病的受试者。

[0066] 所述NKT细胞或其前体可能已经从受试者分离，其中使所述NKT细胞或所述NKT细胞的前体在分离之前在体内或在分离之后在体外与高剂量糖皮质激素受体（GR）调节剂或ICAM3调节剂接触，并且其中CD3表达水平是来自所述受试者的参考NKT细胞群体中的平均CD3表达水平的至少两倍高。所述NKT细胞或其前体可能已经从受试者分离，其中使所述NKT细胞或所述NKT细胞的前体在分离之前在体内或在分离之后在体外与高剂量糖皮质激素受体（GR）调节剂或ICAM3调节剂接触，并且其中CD3表达水平是来自尚未与所述GR调节剂或ICAM3调节剂接触的受试者的参考NKT细胞群体中的平均CD3表达水平的至少两倍高。

[0067] 所述分离的NKT细胞和所述参考NKT细胞群体的CD3表达水平可通过本领域中已知的任何方法，例如通过流式细胞术进行测量。（所述分离的NKT细胞的CD3表达水平和所述参

考NKT细胞群体的CD3表达水平两者使用相同的方法进行测量。)其中流式细胞术用于测量诸如CD3的标志物的表达水平,本文所述的设备、试剂和/或条件可与本领域中已知的任何方法和方案结合使用。

[0068] 本发明的分离的NKT细胞可表现出为参考NKT细胞群体中的平均CD3表达水平的至少三倍、至少四倍或至少五倍高的CD3表达水平。所述参考NKT细胞群体可能已经在暴露于糖皮质激素之前从同一受试者获得。

[0069] 本发明还提供了一种分离的自然杀伤T细胞(NKT细胞)群体。所述分离的NKT细胞群体可由它们的表达谱定义,所述表达谱可如本文别处所述。例如,分离的自然杀伤T细胞群体(NKT细胞)的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的细胞表达CD3,和/或表达CD4、CD8、CD45、CD49b、CD56、CD62L、NK1.1、Ly6G、Sca1和TCR γ/δ 中的一者或多者;和/或不表达:C-kit、B220、FoxP3和/或TCR α/β 。在人中,替代或除了CD49b之外,所述NKT细胞可表达CD56。所述NKT细胞可不表达Sca1。因此,所述NKT细胞可表达CD3和/或表达CD4、CD8、CD45、CD49b、CD62L、NK1.1、Ly6G、Sca1和TCR γ/δ 中的一者或多者。所述NKT细胞可表达CD3和/或表达CD4、CD8、CD45、CD56、CD62L、NK1.1、Ly6G、Sca1和TCR γ/δ 中的一者或多者。所述NKT细胞可表达CD3和/或表达CD4、CD8、CD45、CD49b、CD62L、NK1.1、Ly6G和TCR γ/δ 中的一者或多者。所述NKT细胞可表达CD3和/或表达CD4、CD8、CD45、CD56、CD62L、NK1.1、Ly6G和TCR γ/δ 中的一者或多者。本发明提供了一种用于治疗受试者的癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病(也称为微生物疾病)的方法中的糖皮质激素,所述方法包括以相当于约6-45mg/kg地塞米松人体等效剂量(HED)的剂量向所述受试者施用糖皮质激素,其中所述糖皮质激素诱导/激活/动员如本文定义的本发明的NKT细胞群体。例如,本发明提供了一种用于在癌症患者中诱导肿瘤坏死、引起NKT肿瘤浸润、释放免疫激活细胞因子、吞噬和杀死肿瘤细胞、促进其它免疫细胞浸润到肿瘤中和/或引起CD1d指导的细胞凋亡的方法中的糖皮质激素,所述方法包括以相当于约6-45mg/kg地塞米松人体等效剂量(HED)的剂量向所述受试者施用糖皮质激素,以诱导如本文定义的本发明的NKT细胞群体。例如,本发明提供了一种用于在癌症患者中诱导肿瘤坏死、引起NKT细胞肿瘤浸润、释放免疫激活细胞因子、吞噬和杀死肿瘤细胞、促进其它免疫细胞浸润到肿瘤中和/或引起CD1d指导的细胞凋亡的方法中的糖皮质激素,所述方法包括以相当于约6-45mg/kg地塞米松人体等效剂量(HED)的剂量向所述患者施用糖皮质激素,以动员如本文定义的本发明的NKT细胞群体。例如,本发明提供了一种用于诱导病毒死亡、引起NKT动员、释放免疫激活细胞因子、吞噬和杀死被病毒感染的细胞、促进其它免疫细胞浸润到被病毒感染的器官中的方法中的糖皮质激素,所述方法包括以相当于约6-45mg/kg地塞米松人体等效剂量(HED)的剂量向所述受试者施用糖皮质激素,以诱导如本文定义的本发明的NKT细胞群体。地塞米松的HED可取本文公开的值范围中的任何值。

附图说明

[0070] 现在将参考附图论述说明本公开的原理的实施方案和实验,其中:

[0071] 图1.急性高剂量地塞米松减少小鼠淋巴细胞数量。与安慰剂相比,高剂量地塞米松(18mg/kg HED磷酸地塞米松(DP))后6小时、24小时、48小时、7天、13天和21天通过全血细胞计数测量的绝对淋巴细胞数量(ALC减去NK和NKT细胞)(细胞/u1=从CBC获得的绝对数

量)显著减少。在施用后6和48小时观察到几乎完全的淋巴细胞清除,其效果与使用标准Cy/Flu化学疗法(13mg/kg HED环磷酰胺和0.8mg/kg HED氟达拉滨)实现的效果相当。

[0072] 图2.急性高剂量地塞米松减少小鼠B淋巴细胞数量。与安慰剂相比,高剂量地塞米松(18mg/kg HED DP)后6小时、24小时、48小时、7天、13天和21天通过全血细胞计数测量的B淋巴细胞数量(细胞/ μ l=从CBC获得的绝对数量)显著减少。对B淋巴细胞的淋巴清除效果与使用标准Cy/Flu化学疗法(13mg/kg HED环磷酰胺和0.8mg/kg HED氟达拉滨)实现的效果相当。

[0073] 图3.急性高剂量地塞米松减少小鼠单核细胞数量。与安慰剂相比,高剂量地塞米松(18mg/kg HED DP)后6小时、24小时和48小时通过全血细胞计数测量的单核细胞数量(细胞/ μ l=从CBC获得的绝对数量)显著减少。对单核细胞的消除效果优于通过标准Cy/Flu化学疗法(13mg/kg HED环磷酰胺和0.8mg/kg HED氟达拉滨)实现的效果。

[0074] 急性高剂量地塞米松减少小鼠嗜中性粒细胞数量。与安慰剂相比,高剂量地塞米松(18mg/kg HED DP)后6小时、24小时和48小时通过全血细胞计数测量的嗜中性粒细胞数量(细胞/ μ l=从CBC获得的绝对数量)显著减少。

[0075] 图5.急性高剂量地塞米松不影响小鼠血小板。急性高剂量地塞米松(18mg/kg HED DP)不影响通过全血细胞计数测量的血小板数量(细胞/ μ l=从CBC获得的绝对数量)。因此,急性高剂量地塞米松消除输血的需要,并为化学治疗方案提供更安全、无毒的替代方案。

[0076] 图6.急性高剂量地塞米松不影响造血干细胞。显示的是在用安慰剂或急性高剂量地塞米松处理初次接受试验的小鼠后6小时与35天之间的时间点测量的活造血干细胞的数量。急性高剂量地塞米松(18mg/kg HED DP)不会显著改变活造血干细胞的数量。因此,由急性高剂量地塞米松代表的非清髓性方案可消除免疫重置后造血恢复对干细胞输注的需要。

[0077] 图7.急性高剂量地塞米松诱导NKT上调(图7)和新型NKT细胞群体(AVM-NKT)的产生。与安慰剂相比,高剂量地塞米松(18X mg/kg HED DP)后6小时和24小时通过全血细胞计数测量的总NKT细胞数量(细胞/ μ l=从CBC获得的绝对数量)显著减少。出人意料地,到高剂量地塞米松后48小时,通过全血细胞计数测量的总NKT细胞数量增加,然后逐渐减少,直到高剂量地塞米松处理后13天左右。在施用标准Cy/Flu化学疗法(13mg/kg HED环磷酰胺和0.8mg/kg HED氟达拉滨)的情况下,在处理48小时未观察到NKT细胞数量的这种增加。

[0078] 图8.用高剂量地塞米松处理后,可在外周血中鉴定两种NKT群体。急性高剂量地塞米松后通过流式细胞术检查外周血鉴定了两种NKT细胞群体:定义为CD3^{med}CD49b⁺的NKT细胞(人中CD56),对应于先前描述的NKT细胞(中央矩形门);以及定义为CD3^高CD49b⁺的新型NKT细胞群体(人中CD56;AVM-NKT细胞;中右矩形门)。AVM-NKT细胞是CD49b⁺(人中CD56)和CD3^{极亮},相比之下,表达CD3的已知NKT细胞的平均荧光强度(MFI)比AVM-NKT低二分之一至1log。

[0079] 图9.AVM-NKT上调的时程。使用CBC和流式细胞术结果对每微升血液中的AVM-NKT细胞的定量。AVM-NKT细胞在用一种高剂量地塞米松(HED 18.1mg/kg DP PO)处理后48小时-13天之间的初次接受试验的小鼠的血液中明显;*=统计学上显著的。

[0080] 图10.提供用高剂量地塞米松(HED 18mg/kg DP)处理诱导的A20肿瘤环境的变化。48小时后,与安慰剂相比,在用高剂量地塞米松处理的小鼠的肿瘤中坏死增加明显。

[0081] 图11.与安慰剂相比,急性高剂量地塞米松(AVM0703;HED 18.1mg/kg PO)显著延

迟A20B细胞淋巴瘤的生长。高剂量地塞米松或安慰剂施用的天数由箭头指示。

[0082] 图12. 在15mg/kg地塞米松碱的单次口服剂量后通过流式细胞术测量的来自初次接受试验的雄性C57B1/6小鼠的呈CD4阳性的典型NKT (非AVMNKT; 左) 或AVM-NKT (右) 细胞的百分比的时程。条形图显示每个时间点的平均值。

[0083] 图13. 在15mg/kg地塞米松碱的单次口服剂量后通过流式细胞术测量的来自初次接受试验的雄性C57B1/6小鼠的呈CD8阳性的典型NKT (非AVMNKT; 左) 或AVM-NKT (右) 细胞的百分比的时程。条形图显示每个时间点的平均值。

[0084] 图14. 在15mg/kg地塞米松碱单次口服剂量后通过流式细胞术测量的来自初次接受试验的雄性C57B1/6小鼠的呈CD4 CD8双阳性 (左上)、CD8单阳性 (右上)、CD4单阳性 (左下) 或CD4 CD8双阴性 (右下) 的典型NKT (非AVMNKT; 左) 或AVM-NKT (右) 细胞的百分比的时程。条形图显示每个时间点的平均值。

[0085] 图15. 在15mg/kg地塞米松碱单次口服剂量后通过流式细胞术测量的来自初次接受试验的雄性C57B1/6小鼠的典型NKT (左) 或AVM-NKT (右) 细胞上CD3阳性中值荧光强度 (MFI) (上图) 和算术平均荧光强度 (下图) 的时程。典型NKT细胞为CD49b阳性 (人中CD56), MFI与AVM-NKT细胞相当。条形图显示每个时间点的平均值。

[0086] 图16. 在15mg/kg地塞米松碱单次口服剂量后通过流式细胞术测量的来自初次接受试验的雄性C57B1/6小鼠的典型NKT (左) 或AVM-NKT (右) 细胞上CD4阳性中值荧光强度 (MFI) (上图) 和算术平均荧光强度 (下图) 的时程。典型NKT细胞为CD49b阳性 (人中CD56), MFI与AVM-NKT细胞相当, 但CD3阳性, MFI比AVM-NKT细胞低约1log。条形图显示每个时间点的平均值。

[0087] 图17. 在15mg/kg地塞米松碱单次口服剂量后通过流式细胞术测量的来自初次接受试验的雄性C57B1/6小鼠的典型NKT (左) 或AVM-NKT (右) 细胞上CD8阳性中值荧光强度 (MFI) (上图) 和算术平均荧光强度 (下图) 的时程。典型NKT细胞为CD49b阳性 (人中CD56), MFI与AVM-NKT细胞相当, 但CD3阳性, MFI比AVM-NKT细胞低约1log。条形图显示每个时间点的平均值。

[0088] 图18. 通过流式细胞术 (MacQuant, Miltenyi) 测量给药后48小时来自安慰剂或15mg/kg HED地塞米松碱处理的小鼠的所有CD45暗和阳性细胞上Ly6G的平均荧光强度表达。地塞米松处理的小鼠具有CD45暗或阳性细胞群体, 与大多数CD45阳性细胞 (MFI约103) 相比, 所述细胞表达高得多 (MFI约104) 的水平的Ly6G。来自地塞米松处理的小鼠的104MFI Ly6G阳性细胞也表达CD3极高 (与T淋巴细胞和其它NKT细胞相比, MFI高约1log) 并且也是CD49b阳性 (人中CD56)。

[0089] 图19. AVM_NKT表达Ly6G, 用于抗肿瘤、抗病毒和抗细菌应答。散点图显示在AVM0703 HED 18.1mg/kg给药后48小时对于所有CD45阳性细胞, X轴上的CD3荧光强度对Y轴上的Ly6G荧光强度。AVM_NKT以黑色突出显示。安慰剂CD3对Ly6G散点图覆盖在黑色轮廓包围的区域内以进行比较

[0090] 图20. 在用高剂量地塞米松处理后, 可在外周血中鉴定新型CD3极高T细胞群体。急性高剂量地塞米松后通过流式细胞术检查外周血鉴定了两种NKT细胞群体: 定义为CD3medCD49b+的NKT细胞, 对应于先前描述的NKT细胞 (中央矩形门); 定义为CD3高CD49b+的新型NKT细胞群体 (AVM-NKT细胞; 中右矩形门) 以及新型CD3极高T细胞 (黑色圆圈)。

[0091] 图21.高剂量地塞米松诱导/激活/动员新型CD11b极高树突细胞群体。CD11b极高树突细胞表达的CD11b比常规CD11b+树突细胞高约1log。高剂量地塞米松还增加常规CD11b+树突细胞的数量。

[0092] 图22.AVM0703 (18mg/kg HED磷酸地塞米松 (DP)) 在小鼠模型中延迟A20B淋巴瘤生长。显示的是研究过程中的组平均肿瘤体积。箭头代表向小鼠给药的天数。所述图示出在研究过程中安慰剂 (n=4) 和AVM0703处理 (n=5) 的小鼠的明显分离。

[0093] 图23.AVM0703在A20小鼠淋巴瘤模型中延迟终点并根除A20肿瘤细胞。(A) 图像是2X明场显微镜图像,所述图像显示AVM0703处理的小鼠中的肿瘤生长是假性生长,而不是真正的肿瘤生长,因为AVM0703处理的小鼠中的肿瘤大部分坏死,并且即使在没有完全坏死的区域,也没有明显的肿瘤细胞。(B) 研究小鼠的终点曲线,其中x轴是接种后的天数。安慰剂处理的小鼠达到终点的中值时间是22天,并且AVM处理的小鼠达到终点的中值时间是41天。卡普兰-迈耶分析确定AVM处理的小鼠达到终点的时间显著更长 (**p<0.01)。(C) 厚切片肿瘤的明场图像。肿瘤的视觉检查表明安慰剂与AVM0703处理的小鼠之间存在差异。因此,将肿瘤厚切片并通过显微镜在明场下检查。来自安慰剂处理的小鼠 (左侧) 的肿瘤是高度细胞性的,只有小面积坏死,而来自AVM0703处理的小鼠 (右侧) 的肿瘤大部分是坏死和无细胞的

[0094] 图24.重复AVM0703 (18mg/kg HED磷酸地塞米松 (DP)) 给药,至多7个剂量,不会减轻体重。在研究过程中每个小鼠组的平均体重的图 (n=4安慰剂,n=5AVM0703)。x轴下方的箭头指示给药天数。虚线表示在研究开始时所有小鼠的平均体重的20%损失。一只小鼠在8个剂量后达到阈值并被安乐死。

[0095] 图25.研究终点的器官重量与体重比率。器官重量与体重比率的图。与安慰剂 (n=4) 相比,结肠重量在AVM0703处理的小鼠 (n=5) 中显著增加;然而,这可能是由于在安乐死时AVM0703处理的小鼠的年龄显著增加 (在安乐死时比安慰剂小鼠大14至40天之间)。 $*p<0.1$ 。

[0096] 图26.由脾脏和胸腺重量的减少确定的对重复AVM0703的反应持续时间,将小鼠随机分为2组,并用18.06mg/kg AVM0703 HED DP (n=5) 或安慰剂 (n=4) 口服处理。基于自最后一个AVM0703剂量以来的天数的脾脏 (左) 和胸腺 (右) 重量与体重比率的图。每个点附近的数字代表在小鼠达到研究终点之前接受的AVM0703剂量的总数。虚线表示安慰剂处理后的平均脾脏或胸腺与体重比率。AVM0703持续影响胸腺和脾脏两者多达7个剂量,其中脾脏和胸腺重量在给药后第1天和第3天与安慰剂相比减少,并且到第7剂量后6天几乎恢复至安慰剂值。脾脏和胸腺重量的AVM0703减少似乎在8个剂量后消失。Avg.=平均值;DP=磷酸地塞米松;HED=人体等效剂量。

[0097] 图27.肿瘤用苏木精和伊红染色并在20X放大倍数下成像。星号表示坏死区域。黑色箭头表示沿箭头方向延伸的肿瘤生长区域。A.0mg/kg DP;B.7mg/kg DP;C.18mg/kg DP;E.25mg/kg DP;红色区域表示出血;E.跨肿瘤平均化的平均病理学评分,其中n=2个肿瘤,DP=磷酸地塞米松。

[0098] 图28.肿瘤CD3表达。通过CD3的免疫组织化学染色并在100X放大倍率下成像的肿瘤的图像。黑色箭头表示CD3+圆形细胞沿箭头方向的浸润。‘N’指示肿瘤生长区域。A.0mg/kg DP;‘BV’表示血管;B.7mg/kg DP;C.18mg/kg DP;D.25mg/kg DP。DP=磷酸地塞米松。

[0099] 图29.肿瘤NKp46表达。通过NK细胞标志物NKp46的免疫组织化学染色并在100X放

大倍率下成像的肿瘤的图像。星号表示坏死区域。黑色箭头表示对NKp46呈阳性的细胞的实例。‘N’指示肿瘤生长区域。A.0mg/kg DP;B.7mg/kg DP;C.18mg/kg DP;D.25mg/kg DP。DP=磷酸地塞米松;NK=自然杀手。

[0100] 图30.通过CD49b的免疫组织化学染色并在100X放大倍率下成像的肿瘤的肿瘤CD49b表达图像。黑色箭头表示对CD49b呈阳性的细胞的实例。蓝色箭头表示用CD49b标记的血管或内皮细胞。‘N’指示肿瘤生长区域。A.0mg/kg DP;B.7mg/kg DP;C.18mg/kg DP;D.25mg/kg DP。DP=磷酸地塞米松。

[0101] 图31.肿瘤细胞凋亡。通过细胞凋亡标志物半胱天冬酶3的免疫组织化学染色并在40X放大倍率下成像的肿瘤的图像。星号表示坏死区域。黑色箭头表示对半胱天冬酶3呈阳性的细胞的实例。‘N’表示肿瘤生长区域。A.0mg/kg DP;B.7mg/kg DP;C.18mg/kg DP;D.25mg/kg DP。DP=磷酸地塞米松。

[0102] 图32.来自用AVM0703和Cy/Flu组合处理的小鼠的吸收的肿瘤。

[0103] 图33.来自研究AVM_CANMOD_05-淋巴细胞清除子集的肿瘤实例。左:安慰剂肿瘤实例;956mm³,L 15.06,W 11.27mm,0.54g;右:AVM0703 (25mg/kg) 肿瘤实例;203.25mm³,L 7.67,W 7.28mm,0.086g。

[0104] 图34.来自研究AVM_CANMOD_05-终点分析子集的肿瘤实例。左:安慰剂肿瘤实例。右:18mg/kg小鼠11AVM0703肿瘤实例。

[0105] 图35.用AVM0703处理的CCRF CEM荷瘤小鼠中肿瘤溶解综合征的证据。肿瘤溶解由肿瘤内的大量绿色油性区域指示。

[0106] 图36.用CCRF-CEM细胞接种并用安慰剂 (n=2) 或18mg/kg AVM0703 (n=3) 处理的小鼠的肿瘤体积的图。从接种后第7天开始,向小鼠每周一次给药,并且给药事件用黑色箭头标记。如果肿瘤体积超过1500mm³,则对小鼠实施安乐死。

[0107] 图37.用CCRF-CEM细胞接种的小鼠的终点曲线。当肿瘤体积在1500mm³达到终点时,对小鼠实施安乐死。安慰剂和AVM0703处理组两则均具有n=2。

[0108] 图38.AVM0703在NCR裸鼠中诱导针对人T-ALL异种移植物的长期免疫。在第118天,用人T-ALL (CCRF-CEM细胞系) 再激发AVM0703处理的小鼠,没有观察到肿瘤生长直到第164天,从而表明AVM0703触发长期免疫。

[0109] 图39.CD45/CD56散点图。鉴定了AVM-NKT细胞(由矩形框指示),并且与小鼠中一样是CD45暗且CD56极亮(小鼠中的CD49b)。

[0110] 图40.在施用6mg/kgAVM0703后1小时和3小时来自健康献血者和前列腺癌患者的流式细胞术数据。在前列腺癌患者中,新型CD45暗CD56亮细胞群体(圆圈)在输注后1小时明显。这些数据表明,人患者动员与小鼠中鉴定的AVM-NKT细胞对应的细胞。

具体实施方式

[0111] 本公开涉及:产生/激活/动员自然杀伤T细胞(NKT细胞)群体的方法,通过此类方法产生的分离的NKT细胞或分离的NKT细胞群体,以及在受试者中诱导NKT细胞或将NKT细胞施用于受试者的治疗方法;产生/激活/动员T细胞群体的方法,通过此类方法产生的分离的T细胞或分离的T细胞群体,以及在受试者中诱导T细胞或将T细胞施用于受试者的治疗方法;产生/激活/动员树突细胞群体的方法,通过此类方法产生的分离的树突细胞或分离的

树突细胞群体,以及在受试者中诱导树突细胞或将树突细胞施用于受试者的治疗方法;以及激活树突细胞群体的方法,通过此类方法产生的分离的树突细胞或分离的树突细胞群体,以及在受试者中诱导树突细胞或将树突细胞施用于受试者的治疗方法。

[0112] 在一些实施方案中,所公开的方法是产生自然杀伤T细胞(NKT细胞)和T细胞群体并激活树突细胞群体的方法。在其它实施方案中,所公开的方法是动员自然杀伤T细胞(NKT细胞)、T细胞和/或树突细胞群体的方法。如本文所用,“动员”此类细胞可意味着促进这些细胞移出淋巴器官/组织(例如胸腺和脾脏)并进入体循环(其中它们然后可移动至其它部位,例如肿瘤部位)。所公开的方法可包括多个上述方面。例如,本公开的方法可诱导如本文所述的NKT细胞群体的产生和动员如本文所述的NKT细胞群体。例如,本公开的方法可在胸腺和/或脾脏和/或骨髓中诱导如本文所述的NKT细胞群体,并从胸腺和/或脾脏和/或骨髓动员如本文所述的NKT细胞群体。

[0113] 如本文所公开,产生自然杀伤T细胞(NKT细胞)群体、产生T细胞群体和/或产生或激活树突细胞群体的方法包括向受试者施用糖皮质激素受体(GR)调节剂或ICAM3调节剂。所述糖皮质激素受体(GR)调节剂或ICAM3调节剂在所述受试者中诱导所述NKT细胞群体,诱导所述T细胞群体,和/或激活所述树突细胞群体。所述糖皮质激素受体(GR)调节剂或ICAM3调节剂可在所述受试者中动员所述NKT细胞群体,动员所述T细胞群体,和/或激活或动员所述树突细胞群体。

[0114] 还公开了可通过所公开的方法产生的分离的NKT细胞群体、分离的NKT细胞、分离的T细胞群体、分离的T细胞、分离的树突细胞群体和分离的树突细胞。

[0115] 所公开的NKT细胞可通过它们表达的表面蛋白的模式来进行表征。在一些实施方案中,所公开的NKT细胞可表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD49b、CD56、CD62L、NK1.1、Ly6G、Sca1和/或TCR γ/δ 。在一些实施方案中,所公开的NKT细胞可不表达C-kit、B220、FoxP3和/或TCR α/β 。在人中,替代或除了CD49b之外,所述NKT细胞可表达CD56。在一些实施方案中,所述NKT细胞不表达Sca1。因此,所公开的NKT细胞可表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD56、CD62L、NK1.1、Ly6G、Sca1和/或TCR γ/δ 。所公开的NKT细胞可表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD49b、CD62L、NK1.1、Ly6G、Sca1和/或TCR γ/δ 。所公开的NKT细胞可表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD56、CD62L、NK1.1、Ly6G和/或TCR γ/δ 。所公开的NKT细胞可表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD49b、CD62L、NK1.1、Ly6G和/或TCR γ/δ 。在一些实施方案中,所公开的NKT细胞可表达或可不表达CD44、CD69和/或CD25。在一些实施方案中,所公开的NKT细胞可表达CD56。

[0116] 在涉及所公开的NKT细胞群体的实施方案中,所述NKT细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD49b、CD56、CD62L、NK1.1、Ly6G、Sca1和/或TCR γ/δ 。所述NKT细胞可表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD49b、CD62L、NK1.1、Ly6G、Sca1和/或TCR γ/δ 。所述NKT细胞表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD56、CD62L、NK1.1、Ly6G、Sca1和/或TCR γ/δ 。所述NKT细胞可表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD49b、CD62L、NK1.1、Ly6G和/或TCR γ/δ 。所述NKT细胞表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD56、CD62L、NK1.1、Ly6G和/或TCR γ/δ 。在一些此类实施方案中,所述NKT细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞不表达:C-kit、B220、FoxP3和/或TCR α/β 。在一些实施方案中,所述NKT细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞表达CD56。

[0117] 所公开的T细胞可通过它们表达的表面蛋白的模式来进行表征。所公开的T细胞以非常高的MFI表达CD3。在涉及所公开的T细胞群体的实施方案中,所述T细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的T细胞表达CD3。在一些实施方案中,所公开的T细胞可表达CD3、CD4、CD45和/或CD49b(人中CD56)。在一些实施方案中,所公开的T细胞可表达TCR γ/δ 。在一些实施方案中,所公开的T细胞可表达TCR α/β 。在一些实施方案中,所公开的T细胞可表达CD8。在涉及所公开的T细胞群体的实施方案中,所述T细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞表达CD3、CD4、CD45和/或CD49b(人中CD56)。在涉及所公开的T细胞群体的一些实施方案中,所述T细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的T细胞表达TCR γ/δ 。在涉及所公开的T细胞群体的一些实施方案中,所述T细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的T细胞表达TCR α/β 。在一些此类实施方案中,所述T细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的T细胞表达CD8。在一些此类实施方案中,所述T细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的T细胞不表达CD8。在优选的实施方案中,所述T细胞或T细胞群体表达CD8和/或表达TCR γ/δ 。

[0118] 所公开的树突细胞可通过它们表达的表面蛋白的模式来进行表征。所公开的树突细胞表达CD11b。在涉及所公开的树突细胞群体的实施方案中,所述树突细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的树突细胞表达CD11b。

[0119] 使用熟练的技术人员熟知的技术,例如酶联免疫吸附测定(ELISA)、磁激活细胞分选(MACS)或流式细胞术技术,可容易地确定细胞上表面蛋白的表达。流式细胞术使用从荧光标记抗体所结合的细胞散射的光性质来鉴定表达目标表面蛋白的细胞。流式细胞术不仅可确定细胞是否表达目标蛋白质,而且还可基于荧光强度指示细胞所表达的蛋白质的量。在流式细胞术读数中,并且如本文所用:“+”(或“阳性”)指示给定表面蛋白的表达;“-”(或“阴性”)指示不表达给定表面蛋白;并且“+/-”指示给定表面蛋白的双峰表达。诸如“亮”(有时“高”或“++”)、“暗”(有时“低”)和“中等”用于指示特定细胞表面蛋白的相对量。

[0120] CD3

[0121] CD3(分化簇3)是T细胞共受体,其有助于激活细胞毒性T细胞(CD8+初始T细胞)和T辅助细胞(CD4+初始T细胞)。由于CD3是T细胞激活所必需的,因此正在研究靶向CD3的药物(例如单克隆抗体)作为1型糖尿病和其它自身免疫性疾病的免疫抑制剂疗法(例如奥西珠单抗)。文献中描述的已知NKT细胞表达CD3,其平均荧光强度(MFI)比本公开的NKT细胞低约1log。类似地,文献中描述的已知T细胞和NKT细胞表达CD3,其平均荧光强度(MFI)比本公开的T细胞低约1-1.5log。

[0122] 在一些实施方案中,本公开的NKT细胞表达CD3。在一些实施方案中,本公开的NKT细胞是CD3+/极亮。在涉及本公开的NKT细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞可表达CD3。在一些实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞可以是CD3+/极亮。

[0123] 本公开的T细胞是CD3+/极亮。在涉及本公开的T细胞群体的实施方案中,至少5%、

10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的T细胞可以是CD3+/极亮。

[0124] CD4

[0125] CD4(分化簇4)是存在于包括T辅助细胞和单核细胞的免疫细胞表面上的糖蛋白。CD4是T细胞受体(TCR)的共受体,它有助于与抗原呈递细胞通讯,以实现抗原诱导的T细胞激活。CD4的交联可通过Fas配体途径诱导T细胞凋亡。

[0126] 在一些实施方案中,本公开的NKT细胞表达CD4。在一些实施方案中,本公开的NKT细胞是CD4+/极亮。在涉及本公开的NKT细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞可表达CD4。在一些实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞可以是CD4+/极亮。

[0127] 在一些实施方案中,本公开的T细胞表达CD4。在涉及本公开的T细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的T细胞可表达CD4。

[0128] CD8

[0129] CD8(分化簇8)是充当T细胞受体(TCR)的共受体的跨膜糖蛋白。它主要在细胞毒性T细胞表面上表达,但也在自然杀伤细胞上表达。在T细胞上,它在T细胞-抗原相互作用和T细胞信号传导中发挥作用。

[0130] 在一些实施方案中,本公开的NKT细胞表达CD8。在一些实施方案中,本公开的NKT细胞是CD8+/暗。在涉及本公开的NKT细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞可表达CD8。在一些实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞可以是CD8+/暗。在一些实施方案中,所公开的NKT细胞可不表达CD8。

[0131] 在一些优选的实施方案中,本公开的NKT细胞表达CD4和CD8。在涉及本公开的NKT细胞群体的一些优选的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞可表达CD4和CD8。在一些实施方案中,本公开的NKT细胞不为CD4和CD8双阴性。在涉及本公开的NKT细胞群体的一些实施方案中,所述NKT细胞都不为CD4和CD8双阴性。

[0132] 在一些实施方案中,本公开的T细胞可不表达CD8。在涉及本公开的T细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的T细胞可不表达CD8。

[0133] CD45

[0134] CD45(分化簇45;也称为蛋白酪氨酸磷酸酶,受体类型;PTPRC)是T细胞和B细胞抗原受体信号传导的重要调控因子,并且是所有白细胞的标志物。CD45表达对于TCR激活T细胞至关重要。CD45可以是CD26的受体。

[0135] 在一些实施方案中,本公开的NKT细胞表达CD45。在一些实施方案中,本公开的NKT细胞是CD45+/暗。在涉及本公开的NKT细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞可表达CD45。在

一些实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞可以是CD45+/暗。

[0136] 在一些实施方案中,本公开的T细胞可表达CD45。在一些实施方案中,本公开的T细胞是CD45+/暗。在涉及本公开的T细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的T细胞可表达CD45。在一些实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的T细胞可以是CD45+/暗。

[0137] CD45可以是CD45的任何同种型,如CD45RA、CD45RO和/或CD45RABC(也称为CD45R;也称为B220)。

[0138] CD49b

[0139] CD49b(分化簇49b;也称为整联蛋白 α -2)是整联蛋白 α 亚基。它构成 α 2 β 1整联蛋白双链体的一半。CD49b用作自然杀伤(NK)细胞的标志物;已知表达CD49b的NK细胞的细胞毒性远大于不表达CD49b的NK细胞的细胞毒性。

[0140] 在一些实施方案中,本公开的NKT细胞表达CD49b。在涉及本公开的NKT细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞可表达CD49b。

[0141] 在一些实施方案中,本公开的T细胞可表达CD49b。在涉及本公开的T细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的T细胞可表达CD49b。

[0142] CD56

[0143] CD56(分化簇56;也称为神经细胞粘附分子,NCAM)是在神经元、神经胶质和骨骼肌的表面上表达的同嗜性结合糖蛋白。CD56表达与自然杀伤细胞相关。

[0144] 在一些实施方案中,本公开的NKT细胞表达CD56。在涉及本公开的NKT细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞可表达CD56。

[0145] 在一些实施方案中,本公开的NKT细胞是CD56+/亮。在涉及本公开的NKT细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞可以是CD56+/亮。

[0146] CD62L

[0147] CD62L(分化簇62L;也称为L-选择素)是细胞激活的标志物。CD62L也称为L-选择素,并且可介导细胞-细胞粘附,从而起始细胞穿过内皮移动离开血液并进入组织和器官的过程

[0148] 在一些实施方案中,本公开的NKT细胞表达CD62L。在涉及本公开的NKT细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞可表达CD62L。

[0149] NK1.1

[0150] NK1.1(也称为:杀伤细胞凝集素样受体亚科B,成员1;KLRB1;NKR-P1A;CD161(分化簇161))是成熟NK细胞的标志物;它的激活诱导NK细胞杀死其它不敏感靶标,并且还可能诱导NK细胞增殖。NKT细胞首先被观察为表达这种泛NK细胞标志物的T淋巴细胞群体。

[0151] 在一些实施方案中,本公开的NKT细胞表达NK1.1。在涉及本公开的NKT细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞可表达NK1.1。

[0152] Ly6G

[0153] Ly6G(淋巴细胞抗原6复合基因座G6D)是完全成熟和分化的嗜中性粒细胞或粒细胞的标志物,并且也牵涉于抗肿瘤应答中。Ly6G通常是单核细胞以及嗜中性粒细胞和粒细胞的标志物,表明本公开的NKT细胞不同于已知的NKT细胞,并且可能不仅能够直接杀死表达CD1d的癌细胞,以及激活其它NK细胞以及B和T淋巴细胞并分泌细胞因子,而且也可能能够直接吞噬癌细胞和病原体。

[0154] 在一些实施方案中,本公开的NKT细胞表达Ly6G。在涉及本公开的NKT细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞可表达Ly6G。

[0155] CD1

[0156] CD1分子是脂质呈递糖蛋白。人表达五种CD1蛋白(CD1a-e),其中四种(CD1a-d)被运输至细胞表面,在细胞表面它们可向T细胞受体展示脂质抗原。这种相互作用可导致非同源和同源T细胞对B细胞的帮助,后者引发抗脂质抗体应答。所有CD1蛋白都可结合广泛范围的结构不同的外源性和内源性脂质,但每种都显示对一种或多种脂质类别的偏好(Kaczmarek等人,2017,其特此以引用的方式整体并入)。这种非正统的结合行为是CD1结合槽和不同细胞内运输途径的复杂结构的结果。总之,这些特征使CD1系统成为免疫应答的多功能参与者,处于先天性免疫和适应性免疫的十字路口。虽然CD1系统可参与许多感染性疾病、炎症疾病和自身免疫性疾病,但它的参与取决于不同的病理学可导致相反的结果(Kaczmarek等人,2017)。

[0157] CD11b

[0158] CD11b(分化分子簇11b,也称为CR3a和整联蛋白 α M,ITGAM)是整联蛋白家族成员,其与CD18配对以形成CR3异二聚体。CD11b在许多白细胞的表面上表达,所述白细胞包括单核细胞、嗜中性粒细胞、自然杀伤细胞、粒细胞和巨噬细胞。文献中描述的已知树突细胞表达CD11b,其平均荧光强度(MFI)比本公开的树突细胞低约1log。本公开的树突细胞是CD11b+/极亮。在涉及本公开的树突细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的树突细胞可以是CD11b+/极亮。

[0159] 主要组织相容性复合物:MHC

[0160] MHC是由Gorer和Snell等人在1936年发现的。他们对小鼠的皮肤移植实验揭示,自我和非自我识别取决于遗传背景。Snell等人提及一组小鼠基因,所述小鼠基因确定自我/非自我作为组织相容性-2(H-2)。MHC的基因组基因座编码称为MHC经典I类和II类分子(抗原)的多态性细胞膜结合糖蛋白,它们通过分别将片段化蛋白质的肽呈递至循环细胞毒性T淋巴细胞和辅助T淋巴细胞来调控免疫应答。经典MHC I类蛋白已细分为HLA-A、HLA-B和HLA-C(Nakamura等人,2019,其特此以引用的方式整体并入)。在另一方面,HLA-E、HLA-F、HLA-G、MHC I类多肽相关序列A(MICA)和FcRn等被分类为非经典MHC I类。

[0161] MHC经典I类分子在大多数组织中表达,并且它们与b2-微球蛋白非共价缔合,以将

细胞内加工的肽抗原(其长度为8-11个氨基酸)呈递给特定CD8⁺ T细胞的T细胞受体,以便诱导它们的激活和/或细胞毒性(Shiina等人2016,其特此以引用的方式整体并入本文)。经加工的肽可来自细胞自身的蛋白质组或来自外来细胞内病原体。成熟树突细胞使用MHC I类系统来呈递源自通过内吞作用捕获的抗原的肽。这个过程称为交叉呈递,在外周淋巴器官中特定T CD8⁺淋巴细胞的应答起始中起着至关重要的作用(Shiina等人)。此外,MHC经典I类蛋白可充当调控细胞毒性T细胞和自然杀伤细胞的细胞毒性活性的杀伤细胞免疫球蛋白样受体以及在骨髓单核细胞和其它白细胞谱系上表达的白细胞免疫球蛋白样受体的配体。与经典I类抗原相比,经典II类抗原形成专门将淋巴细胞表面上的外源肽(长度为15-25个氨基酸)呈递给免疫系统的CD4⁺辅助T淋巴细胞的异二聚体结构。II类基因表达主要局限于淋巴样细胞,如B细胞、单核细胞、巨噬细胞、内皮细胞、树突细胞和激活的T细胞。MHC II类蛋白被鉴定为HLA-DR、HLA-DP和HLA-DQ。MHC II类基因包括HLA-DRA1、HLA-DQA1、编码 α 链的HLA-DPA1、HLA-DRB1、HLA-DRB3、HLA-DRB4、HLA-DRB5 (HLA-DRB3/4/5)、HLA-DQB1和编码 β 链的HLA-DPB1。HLA-DRA 1与HLA-DRB1或HLA-DRB3/4/5形成异二聚体(Nakamura等人)。类似地,HLA-DQA1和HLA-DPA1也分别与HLA-DQB1和HLA-DPB1缔合。HLA-DR根据抗原组分为由DR1、DR51、DR52、DR53和DR8组成的5个组。DR1和DR8组两者均仅由作为表达基因的DRB1组成。在另一方面,DR51、DR52和DR53组含有共同的DRB1,并且此外由DRB5、DRB3和DRB4(其被认为通过基因复制由DRB1基因产生)组成分别作为表达基因(Nakamura等人)。

[0162] 经典I类和II类基因通常都是高度多态性的,可能是为了保持抗原呈递能力的个体间变异性,并帮助物种抵御来自各种感染因子的自然选择压力且在所述自然选择压力下存活。非经典I类和II类抗原虽然在结构上与其经典I类或II类对应物相似,但多态性通常要少得多,具有通常与经典I类或II类抗原的组织表达和功能明显不同的可变或有限的组织表达和功能。此外,一些非经典MHC I类基因位于MHC之外(Shiina等人)。

[0163] HLA复合物的基因座(如HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR、HLA-DQ和HLA-DP)具有许多多态性,因此组合(单倍型)非常大。然而,MHC表现出强连锁不平衡,强连锁不平衡是在多个位点出现等位基因的非随机缔合。MHC区域中的这种连锁不平衡通常导致MHC的每个基因座的特定组合。当同一染色体上存在两种遗传多态性时,所述两种多态性被分类为连锁(Nakamura等人)。鉴于基因重组以生物学常规方式发生,不同位点的多态性不能像处于连锁状态那样被确定。然而,连锁不平衡是可基于远处位点的多态性信息以极高的概率预测某些基因多态性的状态。在MHC中,基因基因座集中在6号染色体的狭窄区域中,因此每个基因之间发生重组的可能性较小。因此,诸如HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DRB1的基因通常以连锁不平衡状态遗传。随着HLA基因多态性分析进展,与在特定族群中常见的特定疾病相关的单倍型已被阐明。这些族群特异性单倍型被认为参与形成族群的过程。因此,这些单倍型通常用于搜索种族根源。

[0164] 在人类中,MHC经典I类基因密切参与造血干细胞移植后的器官移植排斥和移植物抗宿主病。HLA I类分子与多种自身免疫性疾病以及感染性疾病和药物不良反应之间存在各种关联。除了在细化适应性免疫应答中的重要作用外,MHC I类基因的作用还展示在生殖的各个步骤中,如妊娠维持、配偶选择和亲属识别。MHC也被认为是主要用于性选择和避免近亲繁殖的系统,其中组织相容性起次要作用。MHC I类基因产物还对中枢神经系统发育和可塑性、神经细胞相互作用、突触功能和行为、大脑半球特化以及神经和精神病症具有影

响。因此,人MHC I类区域是生物医学上最多样化和最重要的基因组区域之一(Shiina等人)。

[0165] TCR γ/δ

[0166] T细胞受体 $\gamma\delta$ (TCR γ/δ ; TCR $\gamma\delta$) 是由一条 γ (γ) 链和一条 δ (δ) 链组成的T细胞受体。表达T细胞的TCR γ/δ ($\gamma\delta$ T细胞) 是由癌细胞以及应激细胞(如癌细胞、微生物和病毒感染细胞以及自身反应性淋巴细胞)表达的脂质抗原的重要识别器。 $\gamma\delta$ T细胞表现出若干特征,所述特征使它们处于进化上更原始的先天性免疫系统与适应性免疫系统之间的边界,所述先天性免疫系统允许对各种外来因子的快速有益应答,其中B和T细胞协调较慢但高度抗原特异性的免疫应答,从而导致针对相同抗原的随后激发的持久记忆。 $\gamma\delta$ T细胞可被认为是适应性免疫的组成部分,因为它们重新排列TCR基因以产生连接多样性并可发展记忆表型。

[0167] 最常见的人 $\gamma\delta$ 变体是血液中的V γ 9/V δ 2变体,而肿瘤中的V δ 1型 $\gamma\delta$ T细胞与预后相关。还描述了V δ 3变体,以及在CMV感染后降低癌症风险的V δ 2阴性变体。与MHC限制性 $\alpha\beta$ T细胞相比, $\gamma\delta$ T细胞不需要抗原加工和MHC呈递肽表位,尽管一些可识别MHC Ib类。因此,肿瘤细胞不能通过下调MHC和 $\gamma\delta$ T细胞来逃避检测,因此也具有杀死具有低突变负荷的肿瘤的同等潜力,并且不太可能受到耐药性问题的影响。 $\gamma\delta$ T细胞肿瘤浸润也与存活率和移植物抗宿主病的较低发生率相关。 $\gamma\delta$ T细胞自然地归巢于各种组织以检测肿瘤,并且比 $\alpha\beta$ T细胞更适合同种异体疗法。

[0168] 在一些实施方案中,本公开的NKT细胞表达TCR $\gamma\delta$ 。在涉及本公开的NKT细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞可表达TCR $\gamma\delta$ 。

[0169] 在一些优选的实施方案中,本公开的NKT细胞表达Ly6G和TCR $\gamma\delta$ 。在涉及本公开的NKT细胞群体的一些优选的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞可表达Ly6G和TCR $\gamma\delta$ 。Ly6G和TCR $\gamma\delta$ 两者的表达表明本公开的NKT细胞除了具有已知NKT细胞的功能外,还可直接吞噬癌细胞或病原体。

[0170] 在一些实施方案中,本公开的T细胞可表达TCR $\gamma\delta$ 。在涉及本公开的T细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的T细胞可表达TCR $\gamma\delta$ 。

[0171] Sca1

[0172] Sca1(干细胞抗原-1;也称为Ly6A)是用于鉴定造血干细胞(HSC)以及其它标志物的常见生物标志物。Sca-1在造血祖细胞/干细胞谱系命运和C-kit表达中发挥作用。它在本公开的NKT细胞上的亮表达可表明这些是激活的记忆干细胞。

[0173] 在一些实施方案中,本公开的NKT细胞表达Sca1。在一些实施方案中,本公开的NKT细胞是Sca1+/极亮。在涉及本公开的NKT细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞可表达Sca1。在一些实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞可以是Sca1+/极亮。

[0174] C-kit

[0175] C-kit (也称为:酪氨酸蛋白激酶KIT;CD117(分化簇117);肥大/干细胞生长因子受体(SCFR))是在造血干细胞表面上表达的受体酪氨酸激酶蛋白。本公开的NKT细胞不表达C-kit表明它们不是造血干细胞。

[0176] 在一些实施方案中,本公开的NKT细胞可不表达C-kit。在涉及本公开的NKT细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞可不表达C-kit。

[0177] B220

[0178] B220 (其是CD45的同种型)是B细胞的标志物。

[0179] 在一些实施方案中,本公开的NKT细胞可不表达B220。在涉及本公开的NKT细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞可不表达B220。

[0180] FoxP3

[0181] FoxP3 (叉头框P3;也称为scurfin)是叉头框蛋白家族的成员,并且据信充当调控性T细胞的发育和功能中的调控途径的主要调控因子。本公开的NKT细胞不表达FoxP3表明它们不是调控性细胞,并且因此不应抑制对癌症或病原体的免疫应答。

[0182] 在一些实施方案中,本公开的NKT细胞可不表达FoxP3。在涉及本公开的NKT细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞可不表达FoxP3。

[0183] TCR α / β

[0184] T细胞受体 $\alpha\beta$ (TCR α / β ;TCR $\alpha\beta$)是由一条 α (α)链和一条 β (β)链组成的主要TCR异二聚体。

[0185] 在一些实施方案中,本公开的NKT细胞可不表达TCR α / β 。在涉及本公开的NKT细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞可不表达TCR α / β 。

[0186] 在一些实施方案中,本公开的T细胞可表达TCR α / β 。在涉及本公开的T细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的T细胞可表达TCR α / β 。

[0187] CD25

[0188] CD25 (分化簇25;也称为白细胞介素-2受体 α 链)是存在于激活的T细胞和B细胞上的跨膜蛋白,并且是细胞激活的标志物。

[0189] 在一些实施方案中,本公开的NKT细胞可以是CD25 $^{+/-}$ 。在涉及本公开的NKT细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞可以是CD25 $^{+/-}$ 。

[0190] CD44

[0191] CD44 (分化簇44)是参与细胞-细胞相互作用、细胞粘附和迁移的细胞表面糖蛋白。它是透明质酸的受体,并且参与淋巴细胞激活、淋巴细胞归巢和再循环。CD44表达是效应记忆T细胞 (抗感染和抗癌T细胞的子集) 的指示性标志物。记忆T细胞通过在先前感染、遇到癌症或先前疫苗接种期间遇到抗原而变得“经验丰富”。

[0192] 在一些实施方案中,本公开的NKT细胞可以是CD44 $^{+/-}$ 。在涉及本公开的NKT细胞群

体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞可以是CD44+/-。

[0193] CD69

[0194] CD69(分化簇69)是人跨膜C型凝集素蛋白,并且是细胞激活的早期标志物。它在造血干细胞、T细胞和许多其它免疫细胞类型中表达。CD69可诱导NKT增殖,并且还激活其它细胞,如NK细胞和淋巴细胞。

[0195] 在一些实施方案中,本公开的NKT细胞可以是CD69+/-。在涉及本公开的NKT细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞可以是CD69+/-。

[0196] 在一些实施方案中,本公开的NKT细胞可表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD49b、CD56、CD62L、NK1.1、Ly6G、Sca1和/或TCR γ/δ 。在一些实施方案中,本公开的NKT细胞可表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD56、CD62L、NK1.1、Ly6G、Sca1和/或TCR γ/δ 。在一些实施方案中,本公开的NKT细胞可表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD49b、CD62L、NK1.1、Ly6G、Sca1和/或TCR γ/δ 。在一些实施方案中,本公开的NKT细胞可表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD56、CD62L、NK1.1、Ly6G和/或TCR γ/δ 。在一些实施方案中,本公开的NKT细胞可表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD49b、CD62L、NK1.1、Ly6G和/或TCR γ/δ 。在一些优选的实施方案中,本公开的NKT细胞表达CD4和CD8。在一些优选的实施方案中,本公开的NKT细胞表达CD3、CD4、CD8和CD49b。在一些优选的实施方案中,本公开的NKT细胞表达CD3、CD4、CD8和CD56。在一些优选的实施方案中,本公开的NKT细胞表达Ly6G和TCR γ/δ 。在一些优选的实施方案中,本公开的NKT细胞表达CD3、CD49b、Ly6G和TCR γ/δ 。在一些优选的实施方案中,本公开的NKT细胞表达CD3、CD56、Ly6G和TCR γ/δ 。在一些优选的实施方案中,本公开的NKT细胞表达CD3、CD4、CD8、CD49b、Ly6G和TCR γ/δ 。在一些优选的实施方案中,本公开的NKT细胞表达CD3、CD4、CD8、CD56、Ly6G和TCR γ/δ 。在一些优选的实施方案中,本公开的NKT细胞表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD49b、CD62L、NK1.1、Ly6G、Sca1和TCR γ/δ 。在一些优选的实施方案中,本公开的NKT细胞表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD56、CD62L、NK1.1、Ly6G、Sca1和TCR γ/δ 。在一些优选的实施方案中,本公开的NKT细胞表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD49b、CD62L、NK1.1、Ly6G和TCR γ/δ 。在一些优选的实施方案中,本公开的NKT细胞表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD56、CD62L、NK1.1、Ly6G和TCR γ/δ 。

[0197] 在一些特别优选的实施方案中,本公开的NKT细胞表达CD3、CD45和/或CD56。在一些此类实施方案中,本公开的NKT细胞是CD3+/亮或CD3+/极亮,和/或CD45+/暗,和/或CD56+。

[0198] 在一些实施方案中,本公开的NKT细胞可不表达C-kit、B220、FoxP3和/或TCR α/β 。在一些实施方案中,本公开的NKT细胞不表达C-kit、B220、FoxP3或TCR α/β 。在一些优选的实施方案中,本公开的NKT细胞表达CD4和CD8,并且不表达C-kit、B220、FoxP3和/或TCR α/β 。在一些优选的实施方案中,本公开的NKT细胞表达Ly6G和TCR γ/δ ,并且不表达C-kit、B220、FoxP3和/或TCR α/β 。

[0199] 在一些实施方案中,本公开的NKT细胞是CD44+/-、CD69+/-和/或CD25+/-。在一些实施方案中,本公开的NKT细胞是CD44+/-、CD69+/-和CD25+/-。

[0200] 在涉及本公开的NKT细胞群体的实施方案中,所述NKT细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞表达CD3、CD4、CD8、CD45、

CD49b、CD56、CD62L、NK1.1、Ly6G、Sca1和/或TCR γ/δ 。在一些此类实施方案中,所述NKT细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞不表达:C-kit、B220、FoxP3和/或TCR α/β 。在一些实施方案中,所述NKT细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD49b、CD62L、NK1.1、Ly6G、Sca1和/或TCR γ/δ 。在一些实施方案中,所述NKT细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD56、CD62L、NK1.1、Ly6G、Sca1和/或TCR γ/δ 。在一些实施方案中,所述NKT细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD49b、CD62L、NK1.1、Ly6G和/或TCR γ/δ 。在一些实施方案中,所述NKT细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD56、CD62L、NK1.1、Ly6G和/或TCR γ/δ 。

[0201] 在一些优选的实施方案中,所述NKT细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD49b、CD56 CD62L、NK1.1、Ly6G、Sca1和TCR γ/δ 。在一些优选的实施方案中,所述NKT细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD49b、CD62L、NK1.1、Ly6G、Sca1和TCR γ/δ 。在一些优选的实施方案中,所述NKT细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD56 CD62L、NK1.1、Ly6G、Sca1和TCR γ/δ 。在一些优选的实施方案中,所述NKT细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD49b、CD62L、NK1.1、Ly6G和TCR γ/δ 。在一些优选的实施方案中,所述NKT细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD56 CD62L、NK1.1、Ly6G和TCR γ/δ 。在一些此类实施方案中,所述NKT细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞不表达:C-kit、B220、FoxP3或TCR α/β 。在一些优选的实施方案中,所述NKT细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD49b、CD56、CD62L、NK1.1、Ly6G、Sca1和TCR γ/δ ,并且不表达:C-kit、B220、FoxP3或TCR α/β 。在一些优选的实施方案中,所述NKT细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD49b、CD62L、NK1.1、Ly6G、Sca1和TCR γ/δ ,并且不表达:C-kit、B220、FoxP3或TCR α/β 。在一些优选的实施方案中,所述NKT细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD56、CD62L、NK1.1、Ly6G、Sca1和TCR γ/δ ,并且不表达:C-kit、B220、FoxP3或TCR α/β 。在一些优选的实施方案中,所述NKT细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD49b、CD62L、NK1.1、Ly6G和TCR γ/δ ,并且不表达:C-kit、B220、FoxP3或TCR α/β 。在一些优选的实施方案中,所述NKT细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD56、CD62L、NK1.1、Ly6G和TCR γ/δ ,并且不表达:C-kit、B220、FoxP3或TCR α/β 。

[0202] 在一些特别优选的实施方案中,所述NKT细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞表达CD3、CD45和/或CD56。在一些此类

实施方案中,至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT细胞是CD3+/亮或CD3+/极亮,和/或CD45+/暗,和/或CD56+。

[0203] 在一些实施方案中,本公开的T细胞可表达CD3、CD4、CD45和/或CD49b(人中CD56)。在一些实施方案中,本公开的T细胞可表达CD3、CD4、CD45、CD49b(人中CD56)和/或TCR γ/δ 。在一些实施方案中,本公开的T细胞可表达CD3、CD4、CD45、CD49b(人中CD56)和/或TCR α/β 。在一些实施方案中,本公开的T细胞可表达CD3、CD4、CD45、CD49b(人中CD56)和TCR γ/δ 。在一些实施方案中,本公开的T细胞可表达CD3、CD4、CD45、CD49b(人中CD56)和TCR α/β 。在一些实施方案中,本公开的T细胞可不表达CD8。

[0204] 在涉及本公开的T细胞群体的实施方案中,所述T细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的T细胞表达CD3、CD4、CD45和/或CD49b(人中CD56)。在一些实施方案中,所述T细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的T细胞表达CD3、CD4、CD45、CD49b(人中CD56)和/或TCR γ/δ 。在一些实施方案中,所述T细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的T细胞表达CD3、CD4、CD45、CD49b(人中CD56)和/或TCR α/β 。在一些此类实施方案中,所述T细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的T细胞不表达CD8。

[0205] 在一些实施方案中,表面蛋白的表达模式可通过流式细胞术在向受试者施用糖皮质激素受体(GR)调节剂后24小时、48小时、72小时、96小时或120小时确定。在一些实施方案中,表面蛋白的表达模式可通过使用本文所述的设备、试剂和/或条件(单独或组合)进行的流式细胞术确定。

[0206] $\gamma\delta$ T细胞

[0207] $\gamma\delta$ T细胞表面标志物特征可包括(但不限于)CD3、CD4、CD8、CD69、CD56、CD27、CD40、CD40L、CD45RA、CD45、CD83、CD16、CD16a、CD16b、ICOS、CD161、Fas、CLEC7A/Dectin-1、FasL、E钙粘蛋白、IL-18R α 、IL-23R、NKG2D/CD314、NKG2E、封闭蛋白、TKR2、TRAIL、TCR-Vg9、TCR-Vd2、TCR-Vd1、TCR-Vd3、TCR-pan g/d、NKG2D、单克隆趋化因子受体抗体CCR5、CCR6、CCR7、CXCR3、CXCR4或CXCR5或它们的组合。本发明细胞的表面标志物特征可包括这些中的一者/多者。 $\gamma\delta$ T细胞可分泌(包括但不限于)CCL2/JE/MCP-1、CXCL13/BLC/BCA-1、 β -防御素2、 β -防御素3、 α -防御素1、EGF、KGF/FGF-7、FGF-10、GM-CSF、颗粒溶素、颗粒酶A、颗粒酶B、IFN- γ 、IGF-I/IGF-1、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-12、IL-12/IL-23p40、IL-12p70、IL-13、IL-17/IL-17A、IL-22、IL-6/IL-6R α 复合物、LAP(TGF- β 1)、TGF- β 和/或TNF- α 。本发明的细胞可分泌这些中的一者或多者。

[0208] 本公开上下文中的ICAM3调节剂是结合ICAM3并促进本发明的NKT细胞、T细胞和树突细胞的诱导和/或动员的那些。ICAM3调节剂可以是ICAM3拮抗剂/ICAM3抑制剂,或者可以是ICAM3激动剂/激活剂。

[0209] 此类ICAM3调节剂可包括例如,针对ICAM3或其部分产生的抗ICAM3抗体、ICAM3的小分子调节剂(如ICAM3的激活剂或抑制剂)和结合ICAM3的肽剂/蛋白质。鉴定ICAM3调节剂的合适方式将是本领域技术人员熟知的——例如,抗ICAM3抗体可通过以下方法鉴定,所述方法可包括使抗体分子文库和ICAM3表位接触,并选择所述文库中能够结合所述表位的一个或多个特异性抗体分子。可替代地,可使用采用已知抗ICAM3抗体的竞争结合测定来鉴定

这些,其中例如使用ELISA或流式细胞术测定竞争。类似地,ICAM3的小分子调节剂可通过常规筛选实验如放射性配体结合测定和功能测定来鉴定。

[0210] 如上所述,本发明作者发现糖皮质激素受体调节剂(如地塞米松和其它糖皮质激素)结合ICAM3并对ICAM3发挥调节作用的出人意料的能力。因此,在一些实施方案中,ICAM3调节剂可以是糖皮质激素受体(GR)调节剂。在一些实施方案中,ICAM3调节剂可以是糖皮质激素,例如地塞米松或倍他米松。

[0211] 如本文所用,术语糖皮质激素受体(GR)调节剂包括糖皮质激素、糖皮质激素受体激动剂和与糖皮质激素受体结合的任何化合物。诸如糖皮质激素的糖皮质激素受体(GR)调节剂通过激活或阻抑基因表达的膜GR和细胞质GR两者发挥它们的作用。糖皮质激素和GR调节剂的一些合乎需要的淋巴清除作用被认为是通过膜GR或除其基因组效应之外的其它非基因组效应介导的。据报告,糖皮质激素对淋巴细胞水平具有不同的影响,这取决于所施用的糖皮质激素的浓度和治疗的持续时间。一般而言,在通常用于慢性疗法的低剂量下,据报告糖皮质激素使淋巴细胞从外周血重新分布到骨髓中,据报告在中等剂量下糖皮质激素导致白细胞增多,这被认为是白细胞从骨髓、脾脏和胸腺中重新分布到外周血中,并且在高剂量下糖皮质激素通过触发细胞凋亡和坏死性凋亡而对淋巴细胞具有淋巴毒性作用。作用的持续时间也取决于剂量水平;例如Fauci等人(1976)报告单次口服0.24mg/kg地塞米松剂量抑制80%的外周血T和B淋巴细胞,从12小时开始恢复并且到24小时恢复正常水平。本发明作者先前已经证明(在国际专利申请PCT/US2019/054395中),需要3mg/kg或更大的地塞米松急性口服剂量以在施用后24-48小时减少外周血T和B细胞,在给药后约5至14天恢复至基线水平。

[0212] 可用于所公开的方法中的糖皮质激素受体(GR)调节剂包括例如选择性糖皮质激素受体调节剂(SEGRM)和选择性糖皮质激素受体激动剂(SEGRA)。可用于所公开的方法中的糖皮质激素、选择性糖皮质激素受体调节剂和选择性糖皮质激素受体激动剂(SEGRA)是本领域技术人员熟知的。

[0213] 一些此类糖皮质激素包括但不限于地塞米松、含地塞米松的剂、氢化可的松、甲基泼尼松、泼尼松、可的松、布地奈德、倍他米松和倍氯米松。其它糖皮质激素包括泼尼松龙、糠酸莫米松、曲安奈德(Triamcinolone Acetonide)和甲泼尼龙。

[0214] 因此,在本公开方法的一些实施方案中,糖皮质激素受体(GR)调节剂可以是糖皮质激素。在一些此类实施方案中,糖皮质激素可选自由以下组成的组:地塞米松、氢化可的松、甲泼尼龙、泼尼松、泼尼松龙、泼尼立定、可的松、布地奈德、倍他米松、氟米松和倍氯米松。在一些优选的实施方案中,糖皮质激素可选自由以下组成的组:地塞米松、倍他米松和甲基泼尼松。在一些特别优选的实施方案中,糖皮质激素可以是地塞米松或倍他米松。

[0215] 在本公开方法的一些实施方案中,糖皮质激素可选自由以下组成的组:地塞米松碱、地塞米松磷酸钠、半琥珀酸地塞米松、地塞米松琥珀酸钠、琥珀酸地塞米松、异烟酸地塞米松、乙酸地塞米松-21、磷酸地塞米松、磷酸地塞米松-21、乙酸特丁地塞米松、戊酸地塞米松-17、一水合乙酸地塞米松、特戊酸地塞米松、棕榈酸地塞米松、棕榈酸地塞米松-21、二丙酸地塞米松、丙酸地塞米松、无水乙酸地塞米松、苯丙酸地塞米松-21、磺基苯甲酸地塞米松-21、半硫酸地塞米松、硫酸地塞米松、地塞米松beloxil、地塞米松酸、乙炔地塞米松、地塞米松甲酰亚胺、地塞米松培酯、地塞米松21-磷酸二钠盐、甲磺酸地塞米松、亚油酸地塞米

松、地塞米松葡萄糖苷、地塞米松葡萄糖苷酸、碘醋酸地塞米松、地塞米松氧杂环丁烷酮、羧甲基硫代-地塞米松、地塞米松bisethoximes、地塞米松环氧化物、反亚油酸地塞米松、甲基原戊酸地塞米松、地塞米松精胺、6-羟基地塞米松、三丁基乙酸地塞米松、地塞米松天冬氨酸、地塞米松吡喃半乳糖、盐酸地塞米松、羟基地塞米松、羧基地塞米松、脱氧地塞米松、地塞米松丁氮酮、地塞米松环糊精、二氢地塞米松、氧代地塞米松、丙酰氧基地塞米松、地塞米松galactodie、异烟酸地塞米松、地塞米松磷酸氢二钠、地塞米松醛、特戊酸地塞米松、三癸酸地塞米松、巴豆酸地塞米松、甲磺酸地塞米松、丁基乙酸地塞米松、脱氢地塞米松、地塞米松异硫氰酸基乙基) 硫醚、溴乙酸地塞米松、半戊二酸地塞米松、脱氧地塞米松、地塞米松chlorambucilate、地塞米松melphalanate、甲酰氧基地塞米松、丁酸地塞米松、月桂酸地塞米松、乙酸地塞米松以及含有地塞米松形式的任何组合治疗。在一些优选的实施方案中,糖皮质激素是地塞米松碱或地塞米松磷酸钠。

[0216] 在本公开的一些实施方案中,糖皮质激素受体调节剂可以不是上述剂中的一者或多者。

[0217] 在本公开的方法中,糖皮质激素受体 (GR) 调节剂或ICAM3调节剂以相当于约至少6mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED) 的剂量施用。

[0218] 另一种糖皮质激素或糖皮质激素受体调节剂的等效剂量可使用公开可用的类皮质激素转换算法,优选<http://www.medcalc.com>快速地且容易地计算。例如,3至12mg/kg地塞米松转换为19至75mg/kg泼尼松。由于泼尼松的生物半衰期是约20小时,而地塞米松的生物半衰期是约36至54小时,所以泼尼松将每24小时以19至75mg/kg之间给药以实现等效生物给药。更具体地,12mg/kg地塞米松剂量对应于将需要每24小时重复给药约2至约3个剂量的75mg/kg泼尼松龙剂量。10mg/kg倍他米松剂量是约12mg/kg地塞米松并且具有与地塞米松相似的药效学 (生物) 半衰期。

[0219] 本申请实施例中的地塞米松剂量以人体等效剂量 (HED) 给出。用于计算人体等效剂量 (HED) 的方法是本领域已知的。例如,FDA的药物评估和研究中心 (CDER) 在2005年发布了被高度引用的指导文件 (美国卫生部CDER,2005),其在所述文件的第7页的表1列出用于基于体表面积将动物剂量转换为HED的既定算法 (用于推断物种间剂量的普遍接受的方法)。作为参考,表1如下再现。本领域技术人员理解动物剂量 (mg/kg) 如下所述,使用表1的右侧列中的标准转换因子容易地计算HED:

[0220] 表1:基于体表面积将动物剂量转换为人体等效剂量

[0221]

		通过以下任一者将动物剂量 (mg/kg) 转换为 HED ^a (mg/kg):	
物种	将按 mg/kg 计的动物剂量转换为按 mg/m ² 计的剂量, 乘以 k _m	将动物剂量除以	将动物剂量乘以
人	37	---	---
儿童(20 kg) ^b	25	---	---
小鼠	3	12.3	0.08
仓鼠	5	7.4	0.13
大鼠	6	6.2	0.16
雪貂	7	5.3	0.19
豚鼠	8	4.6	0.22
兔	12	3.1	0.32
狗	20	1.8	0.54
灵长类动物:			
猴 ^c	12	3.1	0.32
狨猴	6	6.2	0.16
松鼠猴	7	5.3	0.19
狒狒	20	1.8	0.54
迷你猪	27	1.4	0.73
小型猪	35	1.1	0.95

[0222] ^a假设60kg人。对于未列出的物种或重量超出标准范围的物种, HED可通过以下公式计算:

[0223] $HED = \text{动物剂量 (mg/kg)} \times (\text{动物重量 (kg)} / \text{人重量 (kg)})^{0.33}$ 。

[0224] ^b此k_m值仅供参考, 因为健康儿童很少会成为1期试验的志愿者。

[0225] ^c例如, 食蟹猴、恒河猴和短尾猴。

[0226] 在本公开方法的一些实施方案中, 糖皮质激素受体 (GR) 调节剂或 ICAM3 调节剂以相当于约至少12mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED) 的剂量施用。在其它优选的实施方案中, 糖皮质激素受体 (GR) 调节剂以相当于约至少15mg/kg或约至少18mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED) 的剂量施用。在其它优选的实施方案中, 糖皮质激素受体 (GR) 调节剂以相当于约至少21mg/kg或至少约24mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED) 的剂量施用。在一些优选的实施方案中, 糖皮质激素受体 (GR) 调节剂以相当于约12mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED)、约15mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED) 或约18mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED)、或约21mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED) 或约24mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED)、或约30mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED) 或约45mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED) 的剂量施用。

[0227] 在本公开方法的一些实施方案中, 糖皮质激素受体 (GR) 调节剂或 ICAM3 调节剂以相当于约至少6-45mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED); 约至少15-24mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED); 约至少6-12mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED); 或约至少12-15mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED); 或约至少18-30mg/kg地塞米松碱的人体等效剂

量 (HED) ; 或约至少 15-18mg/kg 地塞米松碱的人体等效剂量 (HED) 的剂量施用。在感染性疾病是由冠状病毒例如 COVID-19 感染引起的疾病的实施方案中, 糖皮质激素受体 (GR) 调节剂可优选地以相当于约 18-30mg/kg 之间地塞米松碱的人体等效剂量 (HED) 的剂量施用。

[0228] 在本公开的方法中, 糖皮质激素受体 (GR) 调节剂或 ICAM3 调节剂可作为单一急性剂量施用, 或作为在约 24、48 或 72 小时时间段内给予的总剂量施用。在一些优选的实施方案中, 糖皮质激素受体 (GR) 调节剂作为单一急性剂量施用。在其它优选的实施方案中, 糖皮质激素受体 (GR) 调节剂作为在约 72 小时时间段内给予的总剂量施用。

[0229] 在受试者患有、疑似患有或已被诊断患有感染性疾病, 如由冠状病毒 (如 COVID-19) 感染引起的疾病的一些实施方案中, 糖皮质激素受体调节剂 (其可优选地是地塞米松或倍他米松) 可作为水性介质中的溶液施用。在一些此类实施方案中, 糖皮质激素受体调节剂可以相当于约 24mg/ml 磷酸地塞米松 (20mg/ml 地塞米松碱; 26.2mg/ml 地塞米松磷酸钠) 的浓度提供, 并以约 18 至 30mg/kg 之间地塞米松碱的人体等效剂量 (HED) 的最终目标剂量在约 1 至 2 小时的时间段内通过静脉内 (IV) 输注施用。在其它实施方案中, 糖皮质激素受体调节剂可作为溶解于橙汁或柠檬酸 (pH 3.3-4.2) 中的地塞米松片剂提供, 并以约 18 至 30mg/kg 之间地塞米松碱的人体等效剂量 (HED) 的最终目标剂量口服或通过胃管施用。

[0230] 在本公开方法的一些实施方案中, 产生自然杀伤 T 细胞 (NKT 细胞) 群体、产生 T 细胞群体和/或产生或激活树突细胞群体的方法可包括向受试者施用一个或多个另外剂量的糖皮质激素受体 (GR) 调节剂或 ICAM3 调节剂的步骤。

[0231] 在这种情况下, 一个或多个剂量可进一步施用至糖皮质激素受体 (GR) 调节剂或 ICAM3 调节剂的第一或先前剂量, 并且因此可称为后续或第二、第三、第四等剂量。因此, 在一些实施方案中, 一个或多个另外剂量可在前一剂量 (施用) 后约 24、48、72、96、120、144 或 168 小时施用。在一些实施方案中, 一个或多个另外剂量可在前一剂量 (施用) 后每约 24、48、72、96、120、144 或 168 小时施用。在一些其它实施方案中, 一个或多个另外剂量可在前一剂量 (施用) 后每周一次、每两周一次、每三周一次或每月一次施用。在一些其它实施方案中, 一个或多个另外剂量可在前一剂量 (施用) 后每周两次施用。

[0232] 在一些实施方案中, 一个或多个另外剂量可在前一剂量 (给药) 后约 24 小时与 168 小时之间施用。在其它实施方案中, 一个或多个另外剂量可在前一剂量 (施用) 后约 24 小时与 120 小时之间、约 24 小时与 72 小时之间或约 24 小时与 48 小时之间施用。在一些其它实施方案中, 一个或多个另外剂量可在前一剂量 (施用) 后约 48 小时与 168 小时之间、约 48 小时与 120 小时之间或约 48 小时与 72 小时之间施用。在一些其它实施方案中, 一个或多个另外剂量可在前一剂量 (施用) 后约 72 小时与 168 小时之间或约 72 小时与 120 小时之间施用。

[0233] 在一些实施方案中, 后续剂量在初始剂量后 7 天给予。在一些实施方案中, 后续剂量在初始剂量后 14 天给予。在一些实施方案中, 后续剂量在初始剂量后 21 天给予。

[0234] 在受试者患有、疑似患有或已被诊断患有 T 细胞淋巴瘤的一些实施方案中, 一个或多个另外剂量可每 21 天或每 14 天或每 5-7 天施用, 持续可由医生确定的时间段。

[0235] 在受试者患有、疑似患有或已被诊断患有 B 细胞淋巴瘤的一些实施方案中, 一个或多个另外剂量可每 21 天或每 14 天或每 5-7 天施用, 持续可由医生确定的时间段。

[0236] 在本公开方法的一些实施方案中, 产生自然杀伤 T 细胞 (NKT 细胞) 群体的方法可进一步包括向受试者施用 NKT 细胞激活剂的步骤。如本文所用, 术语 NKT 细胞激活剂包括触发

NKT细胞激活的任何剂或分子。NKT细胞的激活与激活标志物以及Th1和Th2细胞因子和趋化因子的上调相关。可在所公开的方法中使用的NKT细胞激活剂是本领域技术人员众所周知的。

[0237] 一些此类NKT细胞激活剂包括但不限于脂肪因子、瘦素、脂联素、爱帕琳肽(apelin)、趋化素、MCP-1、PAI-1、RBP4、内脂素、网膜素、内脏脂肪特异性丝氨酸蛋白酶抑制因子(vaspin)、颗粒蛋白前体(progranulin)、CTRP-4、细胞因子、IL-1 α 、IL-1 β 、IL-1RA、IL-18、IL-33、IL-36 α 、IL-36 β 、IL-36 γ 、IL-36RA、IL-37、IL-38、IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15、IL-21、IFN- α 、IFN- β 、IFN- δ 、IFN- ϵ 、IFN- κ 、IFN- τ 、IFN- ω 、IFN- γ 、IFN- λ 1、IFN- λ 2、IFN- λ 3、IFN- λ 4、IL-6、IL-11、IL-31、CLCF1、CNTF、瘦素、LIF、OSM、iL-12、IL-17A、IL-17B、IL-17C、IL-17D、IL-17E、IL-17F、4-1BBL、BAFF、CD40LG、CD70、CD95L/CD178、EDA-A1、LTA/TNF- β 、TNF- α 、TNFSF4、TNFSF8、TNFSF10、TNFSF11、TNFSF12、TNFSF13、TNFSF15、TGF- β 1、TGF- β 2、TGF- β 3、IL-13、G-CSF、GM-CSF、CSF1、趋化因子、CXCL1-CXCL17、CC、CCL1-CCL28、CX3CL1、XCL1、XCL2、肌细胞因子、BDNF、核心蛋白聚糖(Decorin)、鸢尾素(irisin)、肌肉生长抑制素、肌联素(myonectin)、骨粘连蛋白、前列腺素、PGI2、PGD2、PGE2、PGF2 α 、前列腺(Prostamides)、前列腺I2、前列腺D2、前列腺E2、前列腺F2 α 、病毒因子、生长因子、肾上腺髓质素、血管生成素、自分泌运动因子、骨形态发生蛋白、睫状神经营养因子、白血病抑制因子、M-CSF、EGF、肝配蛋白A1-A5、肝配蛋白B1-B3、促红细胞生成素、FGF1-FGF23、胎牛生长激素、GDNF、神经秩蛋白(neurturin)、persephin、artemin、生长分化因子-9、肝细胞生长因子、肝细胞源性生长因子、胰岛素、胰岛素样生长因子1/2、角质形成细胞生长因子、迁移刺激因子、巨噬细胞刺激蛋白、神经调节蛋白1-4、神经营养蛋白3/4、神经生长因子、胎盘生长因子、血小板源性生长因子、肾胺酶(renalase)、T细胞生长因子、TGF- α 、TGF- β 、VEGF、Wnt信号传导途径、抗NKG2D抗体或其配体MICA(MHC I类链相关序列A)、DNAM-1接合、4-1BB接合、PD-1抑制剂、NKT激活剂、 α -半乳糖基神经酰胺、 α -葡萄糖醛酸基神经酰胺、 α -半乳糖醛酸神经酰胺、 α -半乳糖基二酰基甘油、磷脂酰肌醇-甘露糖苷酶、 α -葡萄糖基二酰基甘油、胆固醇 α -葡萄糖苷、 β -半乳糖基神经酰胺、异球三己糖基神经酰胺、双唾液酸神经节苷脂、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰肌醇、磷脂酰胆碱、屋尘螨提取物、GSL-1、NKp44L、ULBP、病原体源性分子结构、PAMP、LPS、病原体源性RNA、病原体源性DNA、病毒配体、合成 α -半乳糖基神经酰胺、KRN7000、PBS44、PBS57、抗炎药、IL-10、IL-19、IL-20、IL-22、IL-24、IL-28A、IL-28B、IL-29。

[0238] 在本公开的一些实施方案中，NKT细胞激活剂可以不是上述剂中的一者或多者。

[0239] 激活后，NKT细胞表达NKp46(人中NKp44)，降低CD3和CD49b表达，并表达IL-10、TGF- β 、IFN γ 、IL-4以及若干Th1和Th2细胞因子、人I类限制性T细胞相关分子(CRTAM)、CCL3/MIP1 α 、CCL4/MIP1h和CCL5/Rantes和XCL1/淋巴细胞趋化因子、颗粒酶、CD45RO+CD62L+、CD25、IL2R β 、GM-CSF、IL-2、IL-13、TNF α 、IL-17、IL-21、CD44、CD69和IL-22。此外，在肿瘤环境中，NKT细胞排列成行，从四面八方肿瘤细胞移动。

[0240] 在本公开方法的一些优选实施方案中，NKT细胞激活剂可选自由以下组成的组： α GalCer(α -半乳糖基神经酰胺； α -GalCer)硫苷脂(3-O-磺基半乳糖基神经酰胺；SM4；硫酸半乳糖脑苷脂)或NKT激活抗体，或者可以是穿孔素、一氧化氮、IL-2、干扰素 α 和 γ 、TGF β 、TNF α 、TNF β 、G-CSF、VEGF、FGF-18、IL-17、CXCL5、CXCR2、CXCR5、CCR4-CCL17/22、CCR8-CCL1、CCR10-CCL28和CXCR3-CCL9/10/11、CCL5、CXCR9、CCL2、CCL3、CCL4、CCL5、CXCL9或CXCL10、干

扰素 (IFN) γ 诱导型趋化因子 CXCL9、CXCL10 和 CXCL11、CCL5 和 CXCL9、CCR5、IL-32、IL-6、IL-7、IL-10、IL-18、G-CSF、M-CSF、MCP-1、MCP-3、IP-10、MIG 或 MIP-1 α 。在本公开方法的一些其它优选的实施方案中, NKT 细胞激活剂可以是负载 α GalCer 的树突细胞或单核细胞。在本公开方法的一些实施方案中, NKT 细胞激活剂可在施用糖皮质激素受体 (GR) 调节剂或 ICAM3 调节剂剂量的 1、3、24、48、72、96、120、144 或 168 小时内施用。在一些优选的实施方案中, NKT 细胞激活剂可在施用糖皮质激素受体 (GR) 调节剂或 ICAM3 调节剂剂量后 1、3 或 48 小时内或约 1、3 或 48 小时施用。在一些特别优选的实施方案中, NKT 细胞激活剂可在施用糖皮质激素剂量后 1、3 或 48 小时内或约 1、3 或 48 小时施用。

[0241] 在本公开方法的一些实施方案中, 产生 T 细胞群体的方法可进一步包括向受试者施用 T 细胞激活剂的步骤。如本文所用, 术语 T 细胞激活剂包括触发 T 细胞激活的任何剂或分子。T 细胞可通过 TCR 与抗原肽和 MHC 的相互作用以及通过非抗原特异性共刺激因子 (如细胞因子白细胞介素 1) 而被激活。T 细胞的激活与细胞因子和趋化因子产生增加、树突细胞成熟的诱导、巨噬细胞的募集和溶细胞活性增加相关。 γ δ T 细胞的激活也可与维持表皮完整性的生长因子 (如 IGF-1、VEGF 和 FGF-2) 的产生增加以及 $\alpha\beta$ T 细胞的抗原呈递相关。T 细胞的激活还可与表面标志物表达模式的变化相关。对于 γ δ T 细胞, 这可包括以下标志物表型中的一者或多者: CD5⁻、CD4⁻/CD8⁻ (双阴性)、CD3⁺、CD69、CD56、CD27、CD45RA⁺、CD45、TCR-V γ 9⁺、TCR-Vd2⁺、TCR-Vd1⁺ 和/或 TCR-Vd3⁺。可在所公开的方法中使用的 T 细胞激活剂是本领域技术人员众所周知的。

[0242] 一些此类 T 细胞激活剂包括但不限于脂肪因子、瘦素、脂联素、爱帕琳肽、趋化素、MCP-1、PAI-1、RBP4、内脂素、网膜素、内脏脂肪特异性丝氨酸蛋白酶抑制因子、颗粒蛋白前体、CTRP-4、细胞因子、IL-1 α 、IL-1 β 、IL-1RA、IL-18、IL-33、IL-36 α 、IL-36 β 、IL-36 γ 、IL-36RA、IL-37、IL-38、IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15、IL-21、IFN- α 、IFN- β 、IFN- δ 、IFN- ϵ 、IFN- κ 、IFN- τ 、IFN- ω 、IFN- γ 、IFN- λ 1、IFN- λ 2、IFN- λ 3、IFN- λ 4、IL-6、IL-11、IL-31、CLCF1、CNTF、瘦素、LIF、OSM、iL-12、IL-17A、IL-17B、IL-17C、IL-17D、IL-17E、IL-17F、4-1BBL、BAFF、CD40LG、CD70、CD95L/CD178、EDA-A1、LTA/TNF- β 、TNF- α 、TNFSF4、TNFS8、TNFSF10、TNFSF11、TNFSF12、TNFSF13、TNFSF15、TGF- β 1、TGF- β 2、TGF- β 3、IL-13、G-CSF、GM-CSF、CSF1、趋化因子、CXCL1-CXCL17、CC、CCL1-CCL28、CX3CL1、XCL1、XCL2、肌细胞因子、BDNF、核心蛋白聚糖、鸢尾素、肌肉生长抑制素、肌联素、骨粘连蛋白、前列腺素、PGI2、PGD2、PGE2、PGF2 α 、前列腺胺、前列腺I2、前列腺D2、前列腺E2、前列腺F2 α 、病毒因子、生长因子、肾上腺髓质素、血管生成素、自分泌运动因子、骨形态发生蛋白、睫状神经营养因子、白血病抑制因子、M-CSF、EGF、肝配蛋白A1-A5、肝配蛋白B1-B3、促红细胞生成素、FGF1-FGF23、胎牛生长激素、GDNF、神经秩蛋白、persephin、artemin、生长分化因子-9、肝细胞生长因子、肝细胞源性生长因子、胰岛素、胰岛素样生长因子1/2、角质形成细胞生长因子、迁移刺激因子、巨噬细胞刺激蛋白、神经调节蛋白1-4、神经营养蛋白3/4、神经生长因子、胎盘生长因子、血小板源性生长因子、肾胺酶、T细胞生长因子、TGF- α 、TGF- β 、VEGF、Wnt信号传导途径、NKT激活剂、 α -半乳糖基神经酰胺、 α -葡萄糖醛酸基神经酰胺、 α -半乳糖醛酸神经酰胺、 α -半乳糖基二酰基甘油、磷脂酰肌醇-甘露糖苷酶、 α -葡萄糖基二酰基甘油、胆固醇 α -葡萄糖苷、 β -半乳糖基神经酰胺、异球三己糖基神经酰胺、双唾液酸神经节苷脂、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰肌醇、磷脂酰胆碱、屋尘螨提取物、GSL-1、Nkp44L、ULBP、病原体源性分子结构、PAMP、LPS、病原体源性RNA、

病原体源性DNA、病毒配体、合成 α -半乳糖基神经酰胺、KRN7000、PBS44、PBS57、抗炎药、IL-10、IL-19、IL-20、IL-22、IL-24、IL-28A、IL-28B、IL-29。

[0243] 在本公开的一些实施方案中，T细胞激活剂可以不是上述剂中的一者或多者。

[0244] 在本公开方法的一些实施方案中，T细胞激活剂可在施用糖皮质激素受体 (GR) 调节剂或ICAM3调节剂剂量的1、3、24、48、72、96、120、144或168小时内施用。在一些优选的实施方案中，T细胞激活剂可在施用糖皮质激素受体 (GR) 调节剂或ICAM3调节剂剂量后1、3或48小时内或约1、3或48小时施用。在一些特别优选的实施方案中，T细胞激活剂可在施用糖皮质激素剂量后1、3或48小时内或约1、3或48小时施用。

[0245] 在本公开方法的一些实施方案中，激活树突细胞群体的方法可进一步包括向受试者施用树突细胞激活剂的步骤。如本文所用，术语树突细胞激活剂包括触发树突细胞激活的任何剂或分子。树突细胞可直接被保守的病原体分子激活并且间接被炎性介质 (如由识别此类分子的其它细胞类型产生的那些) 激活。树突细胞的激活与粘附结构的丧失、细胞骨架的重组和细胞运动性增加相关。激活还与内吞活性降低、但T细胞激活所需的MHC-II和共刺激分子的表达增加相关。树突细胞的激活还可与表面标志物表达模式的变化相关。对于CD11b⁺树突细胞，这可包括以下标志物表型中的一者或多者：CD4⁻、CD8⁻、CD11c⁺、CLEC9a⁻、CX3CR1⁺、EpCAM/TROP1⁻、F4/80⁺、FcγRI/CD64⁺、整联蛋白aE/CD103⁻、整联蛋白aM/CD11b⁺、朗格汉斯蛋白 (Langerin) /CD207⁻、MHC II类⁺、SIRPα/CD172a⁺、XCR1。可在所公开的方法中使用的树突细胞激活剂是本领域技术人员众所周知的。

[0246] 一些此类树突细胞激活剂包括但不限于脂肪因子、瘦素、脂联素、爱帕琳肽、趋化素、MCP-1、PAI-1、RBP4、内脂素、网膜素、内脏脂肪特异性丝氨酸蛋白酶抑制因子、颗粒蛋白前体、CTRP-4、细胞因子、IL-1 α 、IL-1 β 、IL-1RA、IL-18、IL-33、IL-36 α 、IL-36 β 、IL-36 γ 、IL-36RA、IL-37、IL-38、IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15、IL-21、IFN- α 、IFN- β 、IFN- δ 、IFN- ϵ 、IFN- κ 、IFN- τ 、IFN- ω 、IFN- γ 、IFN- λ 1、IFN- λ 2、IFN- λ 3、IFN- λ 4、IL-6、IL-11、IL-31、CLCF1、CNTF、瘦素、LIF、OSM、iL-12、IL-17A、IL-17B、IL-17C、IL-17D、IL-17E、IL-17F、4-1BBL、BAFF、CD40LG、CD70、CD95L/CD178、EDA-A1、LTA/TNF- β 、TNF- α 、TNFSF4、TNFS8、TNFSF10、TNFSF11、TNFSF12、TNFSF13、TNFSF15、TGF- β 1、TGF- β 2、TGF- β 3、IL-13、G-CSF、GM-CSF、CSF1、趋化因子、CXCL1-CXCL17、CC、CCL1-CCL28、CX3CL1、XCL1、XCL2、肌细胞因子、BDNF、核心蛋白聚糖、鸢尾素、肌肉生长抑制素、肌联素、骨粘连蛋白、前列腺素、PGI2、PGD2、PGE2、PGF2 α 、前列腺胺、前列腺I2、前列腺D2、前列腺E2、前列腺F2 α 、病毒因子、生长因子、肾上腺髓质素、血管生成素、自分泌运动因子、骨形态发生蛋白、睫状神经营养因子、白血病抑制因子、M-CSF、EGF、肝配蛋白A1-A5、肝配蛋白B1-B3、促红细胞生成素、FGF1-FGF23、胎牛生长激素、GDNF、神经秩蛋白、persephin、artemin、生长分化因子-9、肝细胞生长因子、肝细胞源性生长因子、胰岛素、胰岛素样生长因子1/2、角质形成细胞生长因子、迁移刺激因子、巨噬细胞刺激蛋白、神经调节蛋白1-4、神经营养蛋白3/4、神经生长因子、胎盘生长因子、血小板源性生长因子、肾胺酶、T细胞生长因子、TGF- α 、TGF- β 、VEGF、Wnt信号传导途径、NKT激活剂、 α -半乳糖基神经酰胺、 α -葡萄糖醛酸基神经酰胺、 α -半乳糖醛酸神经酰胺、 α -半乳糖基二酰基甘油、磷脂酰肌醇-甘露糖苷酶、 α -葡萄糖基二酰基甘油、胆固醇 α -葡萄糖苷、 β -半乳糖基神经酰胺、异球三己糖基神经酰胺、双唾液酸神经节苷脂、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰肌醇、磷脂酰胆碱、屋尘螨提取物、GSL-1、NKP44L、ULBP、病原体源性分子结构、PAMP、LPS、病原体源性RNA、

病原体源性DNA、病毒配体、合成 α -半乳糖基神经酰胺、KRN7000、PBS44、PBS57、抗炎药、IL-10、IL-19、IL-20、IL-22、IL-24、IL-28A、IL-28B、IL-29。

[0247] 在本公开的一些实施方案中，树突细胞激活剂可以不是上述剂中的一者或多者。

[0248] 在本公开方法的一些实施方案中，树突细胞激活剂可在施用糖皮质激素受体 (GR) 调节剂或 ICAM3 调节剂剂量的 24、48、72、96、120、144 或 168 小时内施用。在一些优选的实施方案中，树突细胞激活剂可在施用糖皮质激素受体 (GR) 调节剂或 ICAM3 调节剂剂量后 48 小时内或约 48 小时施用。在一些特别优选的实施方案中，树突细胞激活剂可在施用糖皮质激素剂量后 48 小时内或约 48 小时施用。

[0249] 术语“受试者”和“患者”在本文中可互换使用，并且是指人或动物。在本公开方法的一些实施方案中，受试者可以是哺乳动物。在一些优选的实施方案中，受试者可以是任何性别或种族的人。在一些实施方案中，人是成年人。在本公开方法的一些实施方案中，受试者可以是健康受试者，如健康的成年人受试者。在此上下文中，健康受试者是未罹患疾病的受试者。

[0250] 在本公开方法的一些实施方案中，受试者可患有、疑似患有或已被诊断患有选自以下组成的组的疾病：癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病（也称为微生物疾病）。

[0251] 如本文所用，“癌症”是指以异常细胞不受控制的生长为特征的疾病。癌细胞可局部地扩散或通过血流和淋巴系统扩散至身体的其它部分。各种癌症的实例在本文描述并且包括但不限于乳腺癌、前列腺癌、卵巢癌、宫颈癌、皮肤癌、胰腺癌、结肠直肠癌、肾癌、肝癌、脑癌、淋巴瘤、白血病、肺癌等。术语“肿瘤”和“癌症”在本文中可互换使用，例如，两个术语均涵盖实体和液体（例如扩散或循环）肿瘤。如本文所用，术语“癌症”或“肿瘤”包括恶变前以及恶性癌症和肿瘤。

[0252] 在本公开的一些实施方案中，癌症可以是：唇部恶性肿瘤、扁桃体恶性肿瘤、舌恶性肿瘤、牙龈恶性肿瘤、口腔恶性肿瘤、腮腺恶性肿瘤、唾液腺恶性肿瘤、咽恶性肿瘤、食道恶性肿瘤、胃恶性肿瘤、小肠恶性肿瘤、结肠恶性肿瘤、直肠乙状结肠连接部恶性肿瘤、直肠恶性肿瘤、肛门恶性肿瘤、肝恶性肿瘤、胆囊恶性肿瘤、胆道恶性肿瘤、胰腺恶性肿瘤、肠道恶性肿瘤、脾恶性肿瘤、鼻腔和中耳恶性肿瘤、副鼻窦恶性肿瘤、喉恶性肿瘤、气管恶性肿瘤、支气管和肺恶性肿瘤、胸腺恶性肿瘤、心脏、纵隔和胸膜恶性肿瘤、呼吸系统和胸内器官中的部位的恶性肿瘤、骨骼和四肢关节软骨的恶性肿瘤、颅骨和面部骨骼的恶性肿瘤、脊柱恶性肿瘤、肋骨、胸骨和锁骨恶性肿瘤、骨盆骨、骶骨和尾骨恶性肿瘤、皮肤恶性黑素瘤、唇部恶性黑素瘤、眼睑（包括眼角）恶性黑素瘤、耳朵和外耳道恶性黑素瘤、面部恶性黑素瘤、肛周皮肤恶性黑素瘤、乳房皮肤恶性黑素瘤、四肢（包括肩部）恶性黑素瘤、梅克尔细胞癌、唇部皮肤基底细胞癌、唇部皮肤鳞状细胞癌、皮肤/眼睑（包括眼角）的其它和未指明的恶性肿瘤、皮肤/耳朵和外耳道恶性肿瘤、面部皮肤/和未指明部位的其它和未指明恶性肿瘤、面部其它和未指明部位的皮肤基底细胞癌、面部皮肤和未指明部位的鳞状细胞癌、头皮和颈部皮肤基底细胞癌、头皮和颈部皮肤鳞状细胞癌、躯干皮肤基底细胞癌、肛周皮肤基底细胞癌、乳房皮肤基底细胞癌、躯干皮肤鳞状细胞癌、肛周皮肤鳞状细胞癌、乳房皮肤鳞状细胞癌、躯干其它部位的皮肤鳞状细胞癌、皮肤/四肢（包括肩部）的其它和未指明的恶性肿瘤、皮肤/四肢（包括肩部）基底细胞癌、皮肤/四肢（包括肩部）鳞状细胞癌、四肢（包括臀部）皮肤基底细胞癌、四肢（包括臀部）皮肤鳞状细胞癌、间皮瘤、卡波济氏肉瘤、周围神经和自主

神经系统恶性肿瘤、腹膜后和腹膜恶性肿瘤、其它结缔组织和软组织恶性肿瘤、胸部结缔组织和软组织恶性肿瘤、腹部结缔组织和软组织恶性肿瘤、骨盆结缔组织和软组织恶性肿瘤、未指明的躯干结缔组织和软组织恶性肿瘤、结缔组织和软组织重叠部位的恶性肿瘤、未指明的结缔组织和软组织恶性肿瘤、胃肠道间质肿瘤、乳房恶性肿瘤、外阴恶性肿瘤、阴道恶性肿瘤、子宫颈恶性肿瘤、子宫体恶性肿瘤、部位未指明的子宫恶性肿瘤、卵巢恶性肿瘤、其它和未指明的女性生殖器官恶性肿瘤、胎盘恶性肿瘤、阴茎恶性肿瘤、前列腺恶性肿瘤、睾丸恶性肿瘤、其它和未指明的男性生殖器官恶性肿瘤、肾恶性肿瘤、肾盂恶性肿瘤、输尿管恶性肿瘤、膀胱恶性肿瘤、其它和未指明的泌尿器官恶性肿瘤、眼睛和附件的恶性肿瘤、脑膜恶性肿瘤、脑恶性肿瘤、脊髓、颅神经恶性肿瘤、视神经恶性肿瘤、其它和未指明的颅神经恶性肿瘤、未指明的中枢神经系统恶性肿瘤、甲状腺恶性肿瘤、肾上腺恶性肿瘤、内分泌腺及相关结构恶性肿瘤、恶性神经内分泌肿瘤、恶性类癌瘤、继发性神经内分泌肿瘤、头部、面部和颈部恶性肿瘤、胸部恶性肿瘤、腹部恶性肿瘤、骨盆恶性肿瘤、四肢恶性肿瘤、下肢恶性肿瘤、淋巴结继发性或未指明的恶性肿瘤、呼吸和消化器官继发性恶性肿瘤、肾和肾盂继发性恶性肿瘤、膀胱和其它和未指明泌尿器官继发性恶性肿瘤、皮肤继发性恶性肿瘤、脑和脑膜继发性恶性肿瘤、神经系统的和未指明部位继发性恶性肿瘤、骨和骨髓继发性恶性肿瘤、卵巢继发性恶性肿瘤、肾上腺继发性恶性肿瘤、霍奇金淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、非滤泡性淋巴瘤、小细胞B细胞淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、成淋巴细胞性(弥漫性)淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、其它非滤泡性淋巴瘤、未指明的非滤泡性(弥漫性)淋巴瘤、成熟T/NK细胞淋巴瘤、塞扎里(Sezary)疾病、未分类的外周T细胞淋巴瘤、间变性大细胞淋巴瘤(ALK阳性)、间变性大细胞淋巴瘤(ALK阴性)、未指明的皮肤T细胞淋巴瘤、其它成熟T/NK细胞淋巴瘤、未指明的成熟T/NK细胞淋巴瘤、其它和未指明类型的非霍奇金淋巴瘤、恶性免疫增生性疾病和某些其它B细胞淋巴瘤、多发性骨髓瘤和恶性浆细胞肿瘤、淋巴细胞性白血病、急性成淋巴细胞性白血病[ALL]、B细胞型慢性淋巴细胞性白血病、B细胞型幼淋巴细胞性白血病、毛细胞白血病、成人T细胞淋巴瘤/白血病(HTLV-1相关)、T细胞型幼淋巴细胞性白血病、成熟B细胞白血病伯基特型、其它淋巴细胞性白血病、未指明的淋巴细胞性白血病、骨髓性白血病、急性髓细胞性白血病、慢性骨髓性白血病(BCR/ABL阳性)、非典型慢性骨髓性白血病(BCR/ABL阴性)、骨髓性肉瘤、急性早幼粒细胞白血病、急性骨髓单核细胞性白血病、急性骨髓性白血病伴11q23异常、其它骨髓性白血病、未指明的骨髓性白血病、单核细胞性白血病、慢性骨髓单核细胞性白血病、幼年骨髓单核细胞性白血病、其它单核细胞性白血病、未指明的单核细胞性白血病、其它特定细胞类型的白血病、急性红白血病、急性成巨核细胞性白血病、肥大细胞白血病、急性全骨髓增生伴骨髓纤维化、未分类的骨髓增生异常疾病、其它指明的白血病、未指明细胞类型的白血病、未指明细胞类型的慢性白血病、未指明的白血病、淋巴、造血组织的其它和未指明的恶性肿瘤、口腔、食道和胃原位癌、结肠原位癌、直肠乙状结肠连接部原位癌、直肠原位癌、肛门和肛管原位癌、肠其它和未指明部位原位癌、肠未指明部位原位癌、肠其它部位原位癌、肝、胆囊和胆管原位癌、其它指明的消化器官原位癌、未指明的消化器官原位癌、中耳和呼吸系统原位癌、喉原位癌、气管原位癌、支气管和肺原位癌、呼吸系统其它部位原位癌、原位黑素瘤、唇部原位黑素瘤、眼睑(包括眼角)原位黑素瘤、耳朵和外耳道原位黑素瘤、面部未指定部位的原位黑素瘤、头皮和颈部原位黑素瘤、躯干原位黑色素瘤、肛周皮肤原位黑素瘤、乳房(皮肤)(软组织)原位黑素瘤、上肢(包

括肩部)原位黑素瘤、下肢(包括臀部)原位黑素瘤、其它部位原位黑素瘤、皮肤原位癌、唇部皮肤原位癌、眼睑(包括眼角)皮肤原位癌、耳朵和外耳道皮肤原位癌、面部其它和未指明部位皮肤原位癌、头皮和颈部皮肤原位癌、躯干皮肤原位癌、上肢(包括肩部)皮肤原位癌、下肢(包括臀部)皮肤原位癌、其它部位皮肤原位癌、乳房原位癌、乳房小叶原位癌、乳房导管内原位癌、其它指明类型的乳房原位癌、未指明类型的乳房原位癌、子宫颈原位癌、子宫颈的其它部位原位癌、未指明的子宫颈原位癌、其它和未指明的生殖器官原位癌、子宫内膜原位癌、外阴原位癌、阴道原位癌、其它和未指明的女性生殖器官原位癌、阴茎原位癌、前列腺原位癌、未指明的男性生殖器官原位癌、阴囊原位癌、其它男性生殖器官原位癌、膀胱原位癌、其它和未指明的泌尿器官原位癌、眼睛原位癌、甲状腺和其它内分泌腺原位癌、口腔和咽部良性肿瘤、大唾液腺良性肿瘤、结肠、直肠、肛门和肛管良性肿瘤、消化系统的和不明确部分的良性肿瘤、食道良性肿瘤、胃良性肿瘤、十二指肠良性肿瘤、小肠的其它和未指明部位的良性肿瘤、肝良性肿瘤、肝外胆管良性肿瘤、胰腺良性肿瘤、内分泌胰腺良性肿瘤、消化系统内不明确部位的良性肿瘤、中耳和呼吸系统良性肿瘤、未指明的呼吸系统良性肿瘤、其它和未指明的胸内器官良性肿瘤、胸腺良性肿瘤、心脏良性肿瘤、纵隔良性肿瘤、其它指明的胸内器官良性肿瘤、未指明的胸内器官良性肿瘤、骨和关节软骨良性肿瘤、上肢短骨良性肿瘤、下肢长骨良性肿瘤、下肢短骨良性肿瘤、颅骨和面部骨骼良性肿瘤、下颌骨良性肿瘤、脊柱良性肿瘤、肋骨、胸骨和锁骨良性肿瘤、骨盆骨、骶骨和尾骨良性肿瘤、未指明的骨和关节软骨良性肿瘤、良性脂肪瘤样肿瘤、头部、面部和颈部皮肤、皮下良性脂肪瘤样肿瘤、胸内器官良性脂肪瘤样肿瘤、腹腔内器官良性脂肪瘤样肿瘤、精索良性脂肪瘤样肿瘤、其它部位良性脂肪瘤样肿瘤、肾良性脂肪瘤样肿瘤、其它泌尿生殖器官良性脂肪瘤样肿瘤、血管瘤和淋巴管瘤(任何部位)、血管瘤、未指明部位的血管瘤、皮肤和皮下组织血管瘤、颅内结构血管瘤、腹腔内结构血管瘤、其它部位血管瘤、淋巴管瘤(任何部位)、间皮组织良性肿瘤、腹膜后和腹膜软组织良性肿瘤、结缔组织和其它软组织的其它良性肿瘤、黑素细胞痣、唇部黑素细胞痣、眼睑(包括眼角)黑色素细胞痣、未指明的眼睑(包括眼角)黑素细胞痣、耳朵和外耳道黑素细胞痣、面部其它和未指明部分的黑素细胞痣、头皮和颈部黑素细胞痣、躯干黑素细胞痣、上肢(包括肩部)黑素细胞痣、下肢(包括臀部)黑素细胞痣、未指明的黑素细胞痣、眼睑(包括眼角)皮肤的其它良性肿瘤、耳朵和外耳道皮肤的其它良性肿瘤、左耳和外耳道皮肤的其它良性肿瘤、面部其它和未指明部分皮肤的其它良性肿瘤、面部其它部分皮肤的其它良性肿瘤、头皮和颈部皮肤的其它良性肿瘤、躯干皮肤的其它良性肿瘤、上肢(包括肩部)皮肤的其它良性肿瘤、下肢(包括臀部)皮肤的其它良性肿瘤、未指明的皮肤其它良性肿瘤、乳房良性肿瘤、未指明的乳房良性肿瘤、子宫平滑肌瘤、子宫其它良性肿瘤、卵巢良性肿瘤、其它和未指明的女性生殖器官良性肿瘤、男性生殖器官良性肿瘤、泌尿器官良性肿瘤、肾良性肿瘤、肾盂良性肿瘤、输尿管良性肿瘤、膀胱良性肿瘤、尿道良性肿瘤、其它指明的泌尿器官良性肿瘤、未指明的泌尿器官良性肿瘤、眼睛和附件的良性肿瘤、结膜良性肿瘤、角膜良性肿瘤、视网膜良性肿瘤、脉络膜良性肿瘤、睫状体良性肿瘤、泪腺和导管良性肿瘤、未指明的眼眶部位良性肿瘤、眼睛未指明部分的良性肿瘤、脑膜良性肿瘤、脑和中枢神经系统良性肿瘤、甲状腺良性肿瘤、其它和未指明的内分泌腺良性肿瘤、其它和未指明部位的良性肿瘤、淋巴结良性肿瘤、周围神经和自主神经系统的良性肿瘤、其它指明部位的良性肿瘤、良性神经内分泌肿瘤、其它良性神经内分泌肿瘤、口腔和消化器官的行为不确定性肿瘤、大唾

液腺行为不确定性肿瘤、咽部行为不确定性肿瘤、口腔部位行为不确定性肿瘤、胃行为不确定性肿瘤、小肠行为不确定性肿瘤、阑尾行为不确定性肿瘤、结肠行为不确定性肿瘤、直肠行为不确定性肿瘤、肝、GB和胆管行为不确定性肿瘤、其它消化器官行为不确定性肿瘤、消化器官行为不确定性肿瘤、中耳和胸内器官肿瘤、喉部行为不确定性肿瘤、气管、支气管和肺行为不确定性肿瘤、胸膜行为不确定性肿瘤、纵隔行为不确定性肿瘤、胸腺行为不确定性肿瘤、其它呼吸器官行为不确定性肿瘤、未指明的呼吸器官行为不确定性肿瘤、女性生殖器官行为不确定性肿瘤、子宫行为不确定性肿瘤、卵巢行为不确定性肿瘤、未指明的卵巢行为不确定性肿瘤、胎盘行为不确定性肿瘤、男性生殖器官行为不确定性肿瘤、泌尿器官行为不确定性肿瘤、肾行为不确定性肿瘤、未指明的肾行为不确定性肿瘤、肾盂行为不确定性肿瘤、输尿管行为不确定性肿瘤、膀胱行为不确定性肿瘤、膀胱行为不确定性肿瘤、其它泌尿器官行为不确定性肿瘤、未指明泌尿器官行为不确定性肿瘤、脑膜行为不确定性肿瘤、大脑脑膜行为不确定性肿瘤、脊髓脑膜行为不确定性肿瘤、未指明的脑膜行为不确定性肿瘤、脑行为不确定性肿瘤、脑行为不确定性肿瘤、脑幕下行为不确定性肿瘤、未指明的脑行为不确定性肿瘤、颅神经行为不确定性肿瘤、脊髓行为不确定性肿瘤、中枢神经系统行为不确定性肿瘤、内分泌腺行为不确定性肿瘤、甲状腺行为不确定性肿瘤、肾上腺行为不确定性肿瘤、未指明的肾上腺行为不确定性肿瘤、甲状旁腺行为不确定性肿瘤、垂体行为不确定性肿瘤、颅咽管行为不确定性肿瘤、松果体行为不确定性肿瘤、颈动脉体行为不确定性肿瘤、主动脉体和其它副神经节行为不确定性肿瘤、未指明的内分泌腺行为不确定性肿瘤、真性红细胞增多症、骨髓增生异常综合征、所谓的难治性贫血不伴环形铁粒幼红细胞、难治性贫血伴环形铁粒幼红细胞、难治性贫血伴原始细胞增多[RAEB]、未指明的骨髓增生异常综合征、其它淋巴细胞、造血组织行为不确定性肿瘤、行为不确定性组织细胞和肥大细胞肿瘤、慢性骨髓增生性疾病、单克隆丙种球蛋白病、原发性(出血性)血小板增多症、骨髓纤维化、其它淋巴细胞、造血组织行为不确定性肿瘤、淋巴细胞、造血组织且未指明的行为不确定性肿瘤、其它和未指明部位的行为不确定性肿瘤、骨/关节软骨行为不确定性肿瘤、结缔组织/软组织行为不确定性肿瘤、周围神经和自主神经系统行为不确定性肿瘤、腹膜后行为不确定性肿瘤、腹膜行为不确定性肿瘤、皮肤行为不确定性肿瘤、乳房行为不确定性肿瘤、消化系统行为不明肿瘤、呼吸系统行为不明肿瘤、骨骼、软组织和皮肤行为不明肿瘤、乳房行为不明肿瘤、膀胱行为不明肿瘤、其它泌尿生殖器官行为不明肿瘤、肾行为不明肿瘤、其它GU器官行为不明肿瘤、脑行为不明肿瘤、内分泌腺和神经系统其它部分的行为不明肿瘤、视网膜和脉络膜的行为不明肿瘤、或未指明部位的行为不明肿瘤。

[0253] 在本公开的一些实施方案中，癌症可以不是上述癌症之一。

[0254] 在本公开的一些优选的实施方案中，癌症可选自由以下组成的组：淋巴瘤；鳞状细胞癌(如上皮鳞状细胞癌)；肺癌，包括小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肺腺癌和肺鳞状细胞癌；腹膜癌；肝细胞癌；胃部癌或胃癌，包括胃肠癌；胰腺癌；胶质母细胞瘤；宫颈癌；卵巢癌；肝癌；膀胱癌；肝细胞癌；乳腺癌；结肠癌；直肠癌；结肠直肠癌；子宫内膜癌或子宫癌；唾液腺癌；肾脏癌或肾癌；前列腺癌；外阴癌；甲状腺癌；肝癌；肛门癌；阴茎癌以及头颈癌。在本公开的一些特别优选的实施方案中，癌症可以是淋巴瘤。在本公开的更特别优选的实施方案中，癌症可以是B细胞淋巴瘤或T细胞淋巴瘤。在本公开的一些特别优选的实施方案中，癌症可以是非霍奇金淋巴瘤。在其它优选的实施方案中，癌症可以是移植后淋巴组织增生性病

症。在本公开的一些其它特别优选的实施方案中，癌症可以是实体瘤癌症。

[0255] 在其中对患有、疑似患有或已被诊断患有癌症的受试者实施本公开的方法的实施方案中，通过这些方法产生的NKT细胞、T细胞和/或树突细胞可治疗癌症。在本文中，“治疗”意指在受试者中发挥有益的治疗效果，所述有益的治疗效果可以是源自本公开的方法的任何总体临床益处。这种总体临床益处可以是以下中的任一者，例如：延长的存活期、部分或完全疾病缓解（例如，如通过骨髓成髓细胞和/或细胞系正常成熟%所评估）、疾病进展减慢或不存在（例如，如通过骨髓成髓细胞%的变化所评估）、肿瘤缩小（例如，肿瘤体积减小5%、10%、20%、30%、40%或更多）、肿瘤负荷降低（例如，肿瘤负荷降低5%、10%、20%、30%、40%或更多）、肿瘤增大减慢或不存在、肿瘤负荷增加减慢或不存在、生活质量改善（例如，如使用健康相关的生活质量问卷如癌症疗法功能评估 (FACT) 问卷所评估）、无进展存活期、总体存活期、血液学改善（例如：血液血红蛋白、血小板计数和/或嗜中性粒细胞计数增加）、骨髓应答（例如：骨髓具有 $\leq 5\%$ 成髓细胞；骨髓成髓细胞减少30%、40%、50%或更多；不存在循环成髓细胞和具有Auer棒的成髓细胞；不存在髓外疾病）、血液学恢复（例如：外周血中 $\geq 11\text{g/dL}$ 血红蛋白， $\geq 100 \times 10^9/\text{L}$ 血小板，和/或 $\geq 1 \times 10^9/\text{L}$ 嗜中性粒细胞）、遗传标记（例如CEBPA、NPM1或FLT3）的阴性应答，或任何其它积极患者结果。

[0256] 总体临床益处可以是“抗肿瘤效应”。如本文所用，“抗肿瘤效应”是指可呈现为肿瘤体积减小、肿瘤细胞数量减少、肿瘤细胞增殖减少、转移的数量减少、总体或无进展存活增加、预期寿命增加或与肿瘤相关的各种生理症状的改善的生物效应。抗肿瘤效应还可指预防肿瘤发生，例如疫苗。用于确定肿瘤体积/负荷的合适方法是本领域技术人员熟知的，例如，使用：计算机断层摄影术 (CT) 或磁共振成像 (MRI) 成像技术；X射线成像，例如乳房X线摄影术；超声成像；核成像，例如正电子发射断层摄影术 (PET)、PET/CT扫描、骨扫描、镓扫描或间碘苯甲胍 (MIBG) 扫描；生物发光成像 (BLI)；荧光成像 (FLI)；BD ToF (基于红外的3D飞行时间相机) 成像。

[0257] 因此，在一些实施方案中，本公开的NKT细胞可通过肿瘤浸润来治疗癌症。在一些实施方案中，本公开的NKT细胞可通过释放免疫激活细胞因子来治疗癌症。在一些实施方案中，本公开的NKT细胞可吞噬和杀死受试者中的癌细胞。在一些实施方案中，本公开的NKT细胞促进其它免疫细胞浸润到肿瘤中。在一些实施方案中，本公开的NKT细胞通过CD1d指导的细胞凋亡直接杀死癌细胞。

[0258] 在一些实施方案中，本公开的T细胞可通过肿瘤浸润来治疗癌症。在一些实施方案中，本公开的T细胞可通过释放免疫激活细胞因子来治疗癌症。在一些实施方案中，本公开的T细胞促进其它免疫细胞浸润到肿瘤中。在一些实施方案中，本公开的T细胞通过诱导细胞凋亡，例如通过表达接合靶细胞上的死亡受体的配体而直接杀死癌细胞。在一些实施方案中，本公开的T细胞可摄取或吞噬受试者中的癌细胞。在一些实施方案中，T细胞可分泌杀死癌细胞的细胞毒性分子。

[0259] 在一些实施方案中，本公开的树突细胞可通过免疫监视来治疗癌症。树突细胞 (DC) 是源自骨髓前体的抗原呈递细胞，并且在全身形成广泛分布的细胞系统。DC对外源性和内源性抗原发挥免疫监视作用，并且随后激活初始T淋巴细胞，从而引起各种免疫应答。DC是负责识别病原体和组织损伤信号的岗哨细胞，其诱导它们迁移至淋巴器官以激活T、自然杀伤 (NK)、NKT和B淋巴细胞的不同亚群。成熟表型cDC的特征在于MHCII、CD80、CD86和

CD40增加。在一些实施方案中,本公开的树突细胞促进其它免疫细胞如T细胞浸润到肿瘤中。在一些实施方案中,本公开的树突细胞通过将癌症抗原呈递给T细胞来增强对癌症的T细胞应答。在一些实施方案中,本公开的树突细胞可通过诱导细胞凋亡,例如通过表达接合靶细胞上的死亡受体的配体而直接杀死癌细胞。

[0260] 如本文所用的“自身免疫性疾病”是指由异常免疫引起的自身免疫性病征和其它疾病,其中免疫系统异常攻击受试者自身的成分。(在健康受试者中,免疫系统通过建立对受试者自身成分的耐受性来避免破坏性自身免疫反应)。各种自身免疫性疾病的实例在本文描述并且包括但不限于乳糜泻、1型糖尿病、格雷夫斯病、炎症性肠病、暂时性骨质疏松症、多发性硬化症、银屑病、类风湿性关节炎和系统性红斑狼疮。

[0261] 自身反应性免疫细胞表达高水平的磷酸抗原,所述磷酸抗原是含二磷酸酯的代谢物,应激细胞和微生物如分枝杆菌、大肠杆菌和疟原虫也是如此,特别是由(E)-4-羟基-3-甲基-丁-2-烯基焦磷酸酯(HMB-PP)产生的磷酸抗原。人类不产生HMB-PP。但大多数革兰氏阴性细菌确实产生它,包括结核分枝杆菌、牛分枝杆菌、艰难梭菌、单核细胞增生性李斯特菌、疟原虫和刚地弓形虫以及日本血吸虫。 $\gamma\delta$ T细胞/受体对HMB-PP、唑来膦酸盐和焦磷酸异戊烯酯(IPP)、分枝酸阿拉伯半乳糖聚糖(mAGP)和异丁胺(IBA)非常敏感。嗜乳脂蛋白家族成员,如BTN2A1、BTN3A1、BTNL3、BTNL8、BTNL1、BTNL6、Skint1、Skint2在磷酸抗原的 $\gamma\delta$ T细胞识别中起重要作用。外周血单核细胞(PBMC)的氨基双膦酸盐刺激也可激活 $\gamma\delta$ T细胞受体。IL-18可增强 $\gamma\delta$ T细胞受体对磷酸抗原的应答。

[0262] 在本公开的一些实施方案中,自身免疫性疾病可以是:过敏、哮喘、移植物抗宿主病(GvHD)、类固醇抗性GvHD、贲门失弛缓症、艾迪生氏病(Addison's disease)、成人斯蒂尔氏病(Still's disease)、无丙种球蛋白血症、斑秃、脱发、暂时性骨质疏松症、淀粉样变性、强直性脊柱炎、抗GBM/抗TBM肾炎、抗磷脂综合征、自身免疫性血管性水肿、自身免疫性自主神经功能障碍、自身免疫性脑脊髓炎、自身免疫性肝炎、自身免疫性内耳病(AIED)、自身免疫性心肌炎、自身免疫性卵巢炎、自身免疫性睾丸炎、自身免疫性胰腺炎、自身免疫性视网膜病变、自身免疫性荨麻疹、轴突和神经元神经病变(AMAN)、巴洛氏病(Bal6 disease)、白塞氏病(Behcet's disease)、良性粘膜类天疱疮、大疱性类天疱疮、卡斯尔曼氏病(CD)、乳糜泻、查加斯氏病(Chagas disease)、慢性炎症性脱髓鞘性多发性神经病(CIDP)、慢性复发性多灶性骨髓炎(CRMO)、查格-施特劳斯综合征(Churg-Strauss syndrome)(CSS)或嗜酸性肉芽肿病(EGPA)、瘢痕性类天疱疮、柯根氏综合征(Cogan's syndrome)、冷凝集素病、先天性心脏传导阻滞、柯萨奇氏心肌炎(Coxsackie myocarditis)、CREST综合征、克罗恩氏病、疱疹样皮炎、皮肤炎、德维克氏病(Devic's disease)(视神经脊髓炎)、盘状狼疮、德雷斯勒氏综合征(Dressler's syndrome)、子宫内膜异位症、嗜酸性食管炎(EoE)、嗜酸性筋膜炎、结节性红斑、原发性混合型冷球蛋白血症、埃文斯氏综合征(Evans syndrome)、纤维肌痛、纤维化肺炎、巨细胞动脉炎(颞动脉炎)、巨细胞心肌炎、肾小球肾炎、古德帕斯彻氏综合征(Goodpasture's syndrome)、肉芽肿性多血管炎、格雷夫斯氏病(Graves' disease)、格林-巴利综合征(Guillain-Barre syndrome)、桥本氏甲状腺炎(Hashimoto's thyroiditis)、溶血性贫血、亨-舍二氏紫癜(Henoch-Schonlein purpura)(HSP)、妊娠疱疹或妊娠类天疱疮(PG)、化脓性汗腺炎(HS)(反常性痤疮)、低丙种球蛋白血症、IgA肾病、IgG4相关硬化性疾病、免疫性血小板减少性紫癜(ITP)、包涵体肌炎(IBM)、间质性膀胱炎(IC)、

幼年型关节炎、幼年型糖尿病(1型糖尿病)、幼年型肌炎(JM)、川崎病、兰伯特-伊顿氏综合征(Lambert-Eaton syndrome)、白细胞破碎性血管炎、扁平苔藓、硬化性苔藓、木样结膜炎、线性IgA疾病(LAD)、狼疮、慢性莱姆病(Lyme disease chronic)、梅尼埃氏病(Meniere's disease)、显微镜下多血管炎(MPA)、混合型结缔组织病(MCTD)、莫伦氏溃疡(Mooren's ulcer)、穆-哈二氏病(Mucha-Habermann disease)、多灶性运动神经病(MMN)或MMNCB、多发性硬化症、重症肌无力、肌炎、嗜睡症、新生儿狼疮、视神经脊髓炎、嗜中性粒细胞减少症、眼瘢痕性类天疱疮、视神经炎、复发性风湿病(PR)、PANDAS、副肿瘤性小脑变性(PCD)、阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)、帕罗二氏综合征(Parry Romberg syndrome)、睫状体扁平部炎(周边葡萄膜炎)、帕森纳-特纳综合征(Parsonnage-Turner syndrome)、天疱疮、周围神经病变、静脉周围脑脊髓炎、恶性贫血(PA)、POEMS综合征、结节性多动脉炎、I型、II型、III型多腺体综合征、风湿性多肌痛、多发性肌炎、心肌梗死后综合征、心包切开后综合征、原发性胆汁性肝硬化、原发性硬化性胆管炎、孕酮型皮炎、银屑病、银屑病性关节炎、纯红细胞再生障碍(PRCA)、坏疽性脓皮病、雷诺现象、反应性关节炎、反射性交感神经营养不良、复发性多软骨炎、不宁腿综合征(RLS)、腹膜后纤维化、风湿热、类风湿性关节炎、结节病、施密特氏综合征(Schmidt syndrome)、巩膜炎、硬皮病、休格连氏综合征(Sjögren's syndrome)、精子和睾丸自身免疫、僵人综合征(PS)、亚急性细菌性心内膜炎(SBE)、苏萨克氏综合征(Susac's syndrome)、交感性眼炎(SO)、高安氏动脉炎(Takayasu's arteritis)、颞动脉炎/巨细胞动脉炎、血小板减少性紫癜(TTP)、托洛萨-亨特氏综合征(Tolosa-Hunt syndrome)(THS)、横贯性脊髓炎、1型糖尿病、溃疡性结肠炎(UC)、未分化型结缔组织病(UCTD)、葡萄膜炎、血管炎、白癜风、伏格特-小柳-原田病(Vogt-Koyanagi-Harada Disease)、噬血细胞性淋巴组织细胞增生症、多发性骨髓瘤、过敏原特异性免疫治疗、常染色体显性单倍型不足、前骨间神经综合征、查格-施特劳斯综合征(Churg-Strauss syndrome)、系统性血管炎、慢性移植物抗宿主病、眼阵挛-肌阵挛综合征、坏死性自身免疫性肌病(NAM)、肺肉瘤样癌、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症(WM)、生育能力、白塞氏病、斑秃(AA)、慢加急性肝衰竭、黑素瘤、‘机化性细支气管炎综合征’或肺炎。在一些实施方案中,自身免疫性疾病可以是:类风湿性关节炎、风湿热、多发性硬化症、实验性自身免疫性脑脊髓炎、银屑病、葡萄膜炎、糖尿病、系统性红斑狼疮(SLE)、狼疮性肾炎、湿疹、硬皮病、多肌炎/硬皮病、多肌炎/皮炎、溃疡性结肠炎、严重联合免疫缺陷(SCID)、迪格奥尔格综合征(DiGeorge syndrome)、共济失调-毛细血管扩张症、季节性过敏、常年性过敏、食物过敏、过敏反应、肥大细胞增多症、过敏性鼻炎、特应性皮炎、帕金森氏症、阿尔茨海默氏症、脾机能亢进、白细胞粘附缺陷、X连锁淋巴增生疾病、X-连锁无丙种球蛋白血症、选择性免疫球蛋白A缺乏症、高IgM综合征、HIV、自身免疫性淋巴增生综合征、维斯科特-奥德里奇综合征(Wiskott-Aldrich syndrome)、慢性肉芽肿病、常见变异型免疫缺陷病(CVID)、高免疫球蛋白E综合征、桥本氏甲状腺炎、急性特发性血小板减少性紫癜、慢性特发性血小板减少性紫癜、皮炎、西登哈姆舞蹈病(Sydenham's chorea)、重症肌无力、多腺体综合征、大疱性类天疱疮、亨-舍二氏紫癜、链球菌感染后肾炎、结节性红斑、多形性红斑、IgA肾病、高安氏动脉炎、艾迪生氏病、结节病、溃疡性结肠炎、结节性多动脉炎、强直性脊柱炎、古德帕斯彻氏综合征、血栓闭塞性脉管炎、休格连氏综合征、原发性胆汁性肝硬化、桥本氏甲状腺炎、甲状腺毒症、慢性活动性肝炎、多软骨炎、寻常天疱疮、韦格纳氏肉芽肿病、膜性肾病、肌萎缩性侧

索硬化症、脊髓痨 (tabes dorsalis)、巨细胞动脉炎、多肌痛、恶性贫血、急进性肾小球肾炎、银屑病、纤维化肺泡炎或癌症。

[0263] 在本公开的一些实施方案中,自身免疫性疾病可以不是上述自身免疫性疾病之一。

[0264] 在本公开的一些优选的实施方案中,自身免疫性疾病可选自由以下组成的组:多发性硬化症、系统性硬化症、肌萎缩性侧索硬化症、1型糖尿病 (T1D)、硬皮病、天疱疮和狼疮。在本公开的一些其它优选的实施方案中,自身免疫性疾病可选自由以下组成的组:移植物抗宿主病 (GvHD) 和过敏性病症如哮喘。在本公开的一些特别优选的实施方案中,自身免疫性疾病可以是1型糖尿病 (T1D)。

[0265] 在其中对患有、疑似患有或已被诊断患有自身免疫性疾病的受试者实施本公开的方法的实施方案中,通过这些方法产生的NKT细胞、T细胞和/或树突细胞可治疗自身免疫性疾病。在本文中,“治疗”意指在受试者中发挥有益的治疗效果,所述有益的治疗效果可以是源自本公开的方法的任何总体临床益处。这种总体临床益处可以是以下中的任一者,例如:疲劳减轻、肌肉酸痛减轻、肿胀和发红减轻、低热减少、精神不易集中减少、手和脚和手臂或腿麻痹和刺痛感减少、排尿减少、脱发减少、皮疹减少、恢复正常血糖、C肽增加、伤口愈合改善、腹泻减少、肌肉痉挛减少、肌肉张力和控制改善、皮疹或皮肤上的鳞状斑块或变色减少、体重维持改善、肌肉或关节疼痛减轻、消化道舒适度改善、正常心率、焦虑减少、扩展残疾状态量表 (EDSS) 评分降低、通过钆增强MRI测量的脑中的独特活动性病变减少。

[0266] 在一些实施方案中,本公开的NKT细胞可通过直接杀死自身反应性T细胞和/或B淋巴细胞、增加Treg:T淋巴细胞比例、抑制自身反应性T和/或B淋巴细胞的活性、减少炎症或减少自身反应性淋巴细胞的运输来治疗自身免疫性疾病。

[0267] 在一些实施方案中,本公开的T细胞可通过直接杀死自身反应性T细胞和/或B淋巴细胞、增加Treg:T淋巴细胞比例、抑制自身反应性T和/或B淋巴细胞的活性、减少炎症或减少自身反应性淋巴细胞的运输来治疗自身免疫性疾病。

[0268] 在一些实施方案中,本公开的树突细胞可通过释放免疫激活细胞因子或通过促进T细胞杀死自身反应性T细胞和/或B淋巴细胞来治疗自身免疫性疾病。

[0269] 如本文所用的“感染性疾病”(或“微生物疾病”)是指由诸如病毒、细菌或真菌的感染因子(病原体)感染受试者的身体而引起的疾病或病症。在本公开的一些实施方案中,感染性疾病可以是:不动杆菌感染(鲍氏不动杆菌)、放线菌病(以色列放线菌、戈氏放线菌和丙酸丙酸盐杆菌)、非洲睡眠病或非洲锥虫病(布氏锥虫)、AIDS(获得性免疫缺陷综合症)(人类免疫缺陷病毒)、阿米巴病(溶组织内阿米巴)、无形体病(无形体属物种)、管圆线虫病(管圆线虫)、异尖线虫病(异尖线虫)、炭疽(炭疽杆菌)、溶血隐秘杆菌感染(溶血隐秘杆菌)、阿根廷出血热(胡宁病毒)、蛔虫病(蛔虫)、曲霉病(曲霉属物种)、星状病毒感染(星状病毒科)、巴贝西虫病(巴贝西虫物种)、蜡样芽孢杆菌感染(蜡样芽孢杆菌)、细菌性肺炎(多种细菌)、细菌性阴道病(细菌性阴道病微生物群的列表)、拟杆菌感染(拟杆菌属物种)、小袋虫病(结肠小袋纤毛虫)、巴尔通体病(巴尔通体属)、贝里斯蛔虫感染(贝里斯蛔虫属物种)、BK病毒感染(BK病毒)、黑色毛结节病(何德毛结节菌)、芽囊原虫病(芽囊原虫属物种)、芽生菌病(皮炎芽生菌)、玻利维亚出血热(马丘波病毒)、肉毒中毒(和婴儿型肉毒中毒)(肉毒杆菌;注意:肉毒中毒不是由肉毒杆菌感染,而是由摄入肉毒杆菌毒素引起的)、巴西出血

热(萨比亚病毒)、布鲁氏菌病(布鲁氏菌物种)、黑死病(细菌肠杆菌科)、伯克霍尔德氏菌感染(通常洋葱伯克霍尔德氏菌和其它伯克霍尔德氏属物种)、布路里溃疡(溃疡分枝杆菌)、杯状病毒感染(诺如病毒和札幌病毒)(杯状病毒科)、弯曲杆菌病(弯曲杆菌属物种)、念珠菌病(Candidiasis)(念珠菌病(Moniliasis);鹅口疮)(通常白色念珠菌和其它念珠菌属物种)、毛细线虫病(由菲律宾毛细线虫引起的肠道疾病、由肝毛细线虫引起的肝脏疾病和由嗜气毛细线虫引起的肺部疾病)、卡里翁氏病(杆菌状巴尔通体)、猫抓病(汉氏巴尔通体)、蜂窝组织炎(通常A群链球菌和葡萄球菌)、查加斯病(美洲锥虫病)(克氏锥虫)、软性下疳(杜克雷嗜血杆菌)、水痘(水痘-带状疱疹病毒(VZV))、基孔肯雅病(甲病毒属)、衣原体(沙眼衣原体)、肺炎嗜衣原体感染(肺炎嗜衣原体)、霍乱(霍乱弧菌)、着色芽生菌病(通常裴氏着色真菌)、壶菌病(蛙壶菌)、华支睾吸虫病(华支睾吸虫)、艰难梭菌结肠炎(艰难梭菌)、球孢子菌病(粗球孢子菌和波萨达斯球孢子菌(*Coccidioides posadasii*))、科罗拉多蜱传热(CTF)(科罗拉多蜱传热病毒(CTFV))、感冒(急性病毒性鼻咽炎;急性鼻炎)(通常鼻病毒和冠状病毒)、冠状病毒、克罗伊茨费尔特-雅各布病(CJD)(PRNP)、克里米亚-刚果出血热(CCHF)(克里米亚-刚果出血热病毒)、隐球菌病(新型隐球菌)、隐孢子虫病(隐孢子虫属物种)、皮肤幼虫移行症(CLM)(通常巴西钩虫;多种其它寄生虫)、圆孢子虫病(圆孢子虫)、囊虫病(猪带绦虫)、巨细胞病毒感染(巨细胞病毒)、登革热(登革病毒(DEN-1、DEN-2、DEN-3和DEN-4)-黄病毒)、Desmodesmus感染(绿藻栅藻)、双核阿米巴病(脆弱双核阿米巴)、白喉(白喉杆菌)、裂头绦虫病(裂头绦虫)、麦地那龙线虫病(麦地那龙线虫)、埃博拉出血热(埃博拉病毒(EBOV))、棘球蚴病(棘球绦虫属物种)、埃立克体病(埃立克体属物种)、蛲虫病(蛲虫感染)(蠕形住肠蛲虫)、肠球菌感染(肠球菌属物种)、肠道病毒感染(肠道病毒物种)、流行性斑疹伤寒(普氏立克次氏体)、传染性红斑(第五病)(细小病毒B19)、幼儿急疹(第六病)(人疱疹病毒6(HHV-6)和人疱疹病毒7(HHV-7))、片吸虫病(肝片吸虫和大片吸虫)、姜片虫病(布氏姜片虫)、致死性家族性失眠症(FFI)(PRNP)、丝虫病(丝虫目总科)、由产气荚膜梭菌引起的食物中毒(产气荚膜梭菌)、独立生存的阿米巴感染(多种原因)、梭菌属感染(梭菌属物种)、气性坏疽(Gas gangrene)(气性坏疽(*Clostridial myonecrosis*))(通常产气荚膜梭菌;其它梭菌属物种)、地霉菌病(白地霉)、格斯特曼-施特劳斯-沙因克尔病(GSS)(PRNP)、贾第虫病(兰伯氏贾第虫)、鼻疽病(鼻疽伯克霍尔德氏菌)、颞口线虫病(棘腭口线虫和刚棘颞口线虫)、淋病(淋病奈瑟氏菌)、腹股沟肉芽肿(杜诺凡病)(肉芽肿克雷伯氏菌)、A群链球菌感染(酿脓链球菌)、B群链球菌感染(无乳链球菌)、嗜血杆菌感染(流感嗜血杆菌)、手足口病(HFMD)(肠道病毒,主要是柯萨奇A病毒和肠道病毒71(EV71))、汉坦病毒肺综合征(HPS)(辛诺柏病毒)、哈特兰病毒病(哈特兰病毒)、幽门螺杆菌感染(幽门螺杆菌)、溶血性尿毒症综合征(HUS)(大肠杆菌0157:H7、0111和0104:H4)、肾综合征出血热(HFRS)(布尼亚病毒科)、甲型肝炎(甲型肝炎病毒)、乙型肝炎(乙型肝炎病毒)、丙型肝炎(丙型肝炎病毒)、丁型肝炎(丁型肝炎病毒)、戊型肝炎(戊型肝炎病毒)、单纯性疱疹(单纯疱疹病毒1和2(HSV-1和HSV-2))、组织胞浆菌病(荚膜组织胞浆菌)、钩虫感染(十二指肠钩虫和美洲钩虫)、人博卡病毒感染(人博卡病毒(HBoV))、人伊氏埃立克体病(伊氏埃立克体)、人粒细胞无形体病(HGA)(嗜吞噬细胞无形体)、人偏肺病毒感染(人偏肺病毒(hMPV))、人单核细胞埃立克体病(查菲埃立克体)、人乳头瘤病毒(HPV)感染(人乳头瘤病毒(HPV))、人副流感病毒感染(人副流感病毒(HPIV))、膜壳绦虫病(短膜壳绦虫和缩小膜壳绦虫)、爱泼斯坦-巴尔

病毒性传染性单核细胞增多症(Mono)(爱泼斯坦-巴尔病毒(EBV))、流感(flu)(正粘病毒科)、等孢球虫病(贝氏等孢球虫)、川崎病(未知;证据支持它具有传染性)、角膜炎(多种原因)、金氏金氏菌感染(金氏金氏菌)、库鲁病(PRNP)、拉沙热(拉沙病毒)、军团菌病(Legionellosis)(军团菌病(Legionnaires'disease))(嗜肺军团菌)、军团菌病(庞蒂亚克热)(嗜肺军团菌)、利什曼原虫病(利什曼原虫属物种)、麻风(麻风分枝杆菌和弥散型麻风分枝杆菌)、钩端螺旋体病(钩端螺旋体属物种)、李斯特氏菌病(单核细胞增多性李斯特氏菌)、莱姆病(莱姆疏螺旋体病)(伯氏疏螺旋体、伽氏疏螺旋体和埃氏疏螺旋体)、淋巴丝虫病(象皮病)(班氏丝虫和马来丝虫)、淋巴细胞性脉络丛脑膜炎(淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒(LCMV))、疟疾(疟原虫属物种)、马尔堡出血热(MHF)(马尔堡病毒)、麻疹(麻疹病毒)、中东呼吸综合征(MERS)(中东呼吸综合征冠状病毒)、类鼻疽(惠特莫尔氏病)(类鼻疽伯克霍尔德氏菌)、脑膜炎(多种原因)、脑膜炎球菌病(脑膜炎奈瑟氏菌)、后殖吸虫病(通常横川后殖吸虫)、微孢子虫病(微孢子虫门)、接触传染性软疣(MC)(传染性软疣病毒(MCV))、猴痘(猴痘病毒)、腮腺炎(腮腺炎病毒)、鼠型斑疹伤寒(地方性斑疹伤寒)(斑疹伤寒立克次氏体)、支原体肺炎(肺炎支原体)、足分支菌病(消歧)(多种细菌(放线菌性足分支菌)和真菌(霉菌性足分支菌)物种)、蝇蛆病(寄生双翅目蝇幼虫)、新生儿结膜炎(新生儿眼炎)(最常见的是沙眼衣原体和淋病奈瑟氏菌)、诺如病毒(儿童和婴儿)((新)变异型克罗伊茨费尔特-雅各布病(vCJD,nvCJD),PRNP)、诺卡氏菌病(通常星状诺卡氏菌和其它诺卡氏菌属物种)、盘尾丝虫病(河盲症)(旋盘尾丝虫)、后睾吸虫病(麝猫后睾吸虫和猫后睾吸虫)、副球孢子菌病(南美芽生菌病)(巴西副球孢子菌)、并殖吸虫病(通常卫氏并殖吸虫和其它并殖吸虫属物种)、巴斯德氏菌病(巴斯德氏菌属物种)、头虱病(头虱)(人头虱)、体虱病(体虱)(人体虱)、阴虱病(阴虱(Pubic lice),毛虱)(阴虱(Phthirus pubis))、盆腔炎性疾病(PID)(多种原因)、百日咳(Pertussis)(百日咳(Whooping cough))(百日咳博德特氏菌)、鼠疫(鼠疫耶尔森氏菌)、肺炎球菌感染(肺炎链球菌)、肺孢子虫性肺炎(PCP)(耶氏肺孢子虫)、肺炎(多种原因)、脊髓灰质炎(脊髓灰质炎病毒)、普雷沃氏菌感染(普雷沃氏菌属物种)、原发性阿米巴脑膜脑炎(PAM)(通常福氏耐格里阿米巴原虫)、进行性多灶性白质脑病(JC病毒)、鹦鹉热(鹦鹉热衣原体)、Q热(伯纳特氏柯克斯氏体)、狂犬病(狂犬病毒)、回归热(赫氏疏螺旋体、回归热疏螺旋体和其它疏螺旋体属物种)、呼吸道合胞病毒感染(呼吸道合胞病毒(RSV))、鼻孢子菌病(西伯鼻孢子菌)、鼻病毒感染(鼻病毒)、立克次氏体感染(立克次氏体属物种)、立克次氏体痘(小蛛立克次氏体)、里夫特裂谷热(RVF)(里夫特裂谷热病毒)、落基山斑疹热(RMSF)(立氏立克次氏体)、轮状病毒感染(轮状病毒)、风疹(风疹病毒)、沙门氏菌病(沙门氏菌属物种)、SARS(严重急性呼吸综合征)(SARS冠状病毒)、疥疮(疥螨)、血吸虫病(血吸虫属物种)、败血症(多种原因)、志贺氏菌病(杆菌性痢疾)(志贺氏菌属物种)、带状疱疹(水痘带状疱疹病毒(VZV))、天花(Smallpox)(天花(Variola))(重型天花或轻型天花)、孢子丝菌病(申克孢子丝菌)、葡萄球菌性食物中毒(葡萄球菌属物种)、葡萄球菌感染(葡萄球菌属物种)、类圆线虫病(粪类圆线虫)、亚急性硬化性全脑炎(麻疹病毒)、梅毒(苍白密螺旋体)、绦虫病(绦虫属物种)、破伤风(口噤)(破伤风梭菌)、须疮(须癣)(通常毛癣菌属物种)、头癣(头皮癣)(通常断发毛癣菌)、体癣(Tinea corporis)(体癣(Ringworm of the Body))(通常毛癣菌属物种)、股癣(Tinea cruris)(股癣(Jock itch))(通常絮状表皮癣菌、红色毛癣菌和须毛癣菌)、手癣(Tinea manum)(手癣(Ringworm of the Hand))

(红色毛癣菌)、黑癣(通常威尼克何德霉)、脚癣(通常毛癣菌属物种)、甲癣(甲真菌病)(通常毛癣菌属物种)、花斑癣(花斑糠疹)(马拉色氏霉菌属物种)、弓蛔虫病(眼幼虫移行症(OLM))(犬弓蛔虫或猫弓蛔虫)、弓蛔虫病(内脏幼虫移行症(VLM))(犬弓蛔虫或猫弓蛔虫)、沙眼(沙眼衣原体)、弓形体病(刚地弓形虫)、旋毛虫病(旋毛虫)、毛滴虫病(阴道毛滴虫)、鞭虫病(鞭虫感染)(毛首鞭虫)、结核病(通常结核分枝杆菌)、兔热病(土拉弗朗西斯菌)、伤寒热(肠道沙门氏菌肠道亚种伤寒血清型)、斑疹伤寒(立克次氏体)、解脲支原体感染(解脲支原体)、裂谷热(粗球孢子菌或波萨达斯球孢子菌)、委内瑞拉马脑炎(委内瑞拉马脑炎病毒)、委内瑞拉出血热(瓜纳瑞托病毒)、创伤弧菌感染(创伤弧菌)、副溶血性弧菌肠炎(副溶血性弧菌)、病毒性肺炎(多种病毒)、西尼罗河热(西尼罗河病毒)、白色毛结节菌病(白秃疮)(白吉利毛孢子菌)、假结核耶尔森氏菌感染(假结核耶尔森氏菌)、耶尔森菌病(小肠结肠炎耶尔森氏菌)、黄热病(黄热病病毒)、结合菌病(毛霉菌目(毛霉菌病)和虫霉目(虫霉病))、人类免疫缺陷病毒[HIV]病、HIV病伴感染性和寄生虫病、HIV病伴分枝杆菌感染、HIV病伴巨细胞病毒病、HIV病伴其它病毒感染、HIV病伴念珠菌病、HIV病伴其它真菌病、HIV病伴卡氏肺囊肿性肺炎、HIV病伴恶性肿瘤、HIV病伴卡波济氏肉瘤、HIV病伴伯基特氏淋巴瘤、HIV病伴其它类型的非霍奇金淋巴瘤、HIV病伴其它淋巴、造血和相关组织恶性肿瘤、HIV病伴多种恶性肿瘤、HIV病伴其它恶性肿瘤、HIV病伴未指明的恶性肿瘤、HIV病伴脑病、HIV病伴淋巴间质性肺炎、HIV病伴消耗综合征、HIV病伴在别处分类的多种疾病、HIV病伴其它疾患、HIV病急性HIV感染综合征、HIV病伴(持续性)全身性淋巴结病、HIV病伴血液学和免疫学异常、HIV病伴其它指明的疾患或未指明的HIV病。在本公开的一些实施方案中,感染性疾病可以是病毒,如来自以下病毒科之一的病毒感染;a)腺病毒科,如腺病毒物种;b)疱疹病毒科,如单纯疱疹病毒1型、单纯疱疹病毒2型、水痘带状疱疹病毒、爱泼斯坦-巴尔病毒、人巨细胞病毒、人疱疹病毒8型物种;c)乳头瘤病毒科,如人乳头瘤病毒物种;d)多瘤病毒科,如BK病毒、JC病毒物种;e)痘病毒科,如天花物种;f)肝炎病毒科,如乙型肝炎病毒物种;g)细小病毒科,如人博卡病毒、细小病毒B19物种;h)星状病毒科,如人星状病毒物种;i)杯状病毒科,如诺沃克病毒物种;j)黄病毒科,如丙型肝炎病毒(HCV)、黄热病病毒、登革热病毒、西尼罗病毒种;k)披膜病毒科,如风疹病毒物种;l)肝炎病毒科,如戊型肝炎病毒物种;m)逆转录病毒科,如人类免疫缺陷病毒(HIV)物种;n)正粘病毒科,如流感病毒物种;o)沙粒病毒科,如瓜纳瑞托病毒、胡宁病毒、拉沙病毒、马丘波病毒和/或萨比亚病毒物种;p)布尼亚病毒科,如克里米亚-刚果出血热病毒物种;q)丝状病毒科,如埃博拉病毒和/或马尔堡病毒种;副粘病毒科,如麻疹病毒、腮腺炎病毒、副流感病毒、呼吸道合胞病毒、人偏肺病毒、亨德拉病毒和/或尼帕病毒物种;r)弹状病毒科,如狂犬病病毒物种;s)呼肠孤病毒科,如轮状病毒、环状病毒、科罗拉多壁虱热病毒和/或版纳病毒物种。

[0270] 在本公开的一些实施方案中,感染性疾病可以不是上述感染性疾病之一。

[0271] 在一些实施方案中,感染性疾病可以由甲型流感(Flu A)病毒感染引起的疾病。在一些实施方案中,流感病毒可以是禽类或猪源大流行性流感病毒,例如,H5N1、H7N3、H7N7、H7N9和H9N2(禽类亚型)或H1N1、H1N2、H2N1、H3N1、H3N2或H2N3(猪亚型)。

[0272] 在本公开的一些优选的实施方案中,感染性疾病可以是HIV,如残留HIV疾病、疱疹、肝炎或人乳头瘤病毒。在其它优选的实施方案中,感染性疾病可以由冠状病毒感染引起的疾病,例如COVID-19(冠状病毒2019;由严重急性呼吸综合征冠状病毒2引起的疾病,

SARS-CoV-2)。

[0273] 在其中对患有、疑似患有或已被诊断患有感染性疾病的受试者实施本公开的方法的实施方案中,通过这些方法产生的NKT细胞、T细胞和/或树突细胞可治疗感染性疾病。在本文中,“治疗”意指在受试者中发挥有益的治疗效果,所述有益的治疗效果可以是源自本公开的方法的任何总体临床益处。这种总体临床益处可以是以下中的任一者:例如:发热减轻、腹泻减轻、咳嗽减轻、肌肉疼痛减轻、疲劳减轻、CRP减轻、呼吸机时间减少、对额外氧气的需求减少、恢复后的器官损伤减少。

[0274] 在一些实施方案中,本公开的NKT细胞可通过吞噬和杀死感染性生物体、激活其它先天性和适应性免疫细胞、将其它免疫细胞募集至感染部位(例如被病毒感染的器官)、耗减被病毒感染的免疫细胞(例如被COVID-19激活的单核细胞)来治疗感染性疾病。

[0275] 在一些实施方案中,本公开的T细胞可通过释放免疫激活细胞因子来治疗感染性疾病。在一些实施方案中,本公开的T细胞可通过释放具有抗微生物或抗病毒作用的细胞因子(例如,TNF- α 、IFN- γ)来治疗感染性疾病。在一些实施方案中,本公开的T细胞可通过诱导细胞凋亡,例如通过表达接合靶细胞上的死亡受体的配体来治疗感染性疾病。在一些实施方案中,T细胞可分泌杀死感染性生物体的细胞毒性分子。在一些实施方案中,本公开的T细胞可摄取或吞噬感染性生物体。

[0276] 在一些实施方案中,本公开的树突细胞可通过将病原体相关信号传送至免疫系统的适应性分支来治疗感染性疾病。在一些实施方案中,本公开的树突细胞可通过促进T细胞浸润至感染部位和/或通过引发细胞毒性T细胞杀死感染性生物体来治疗感染性疾病。

[0277] 在感染性疾病是由冠状病毒感染引起的疾病(例如COVID-19)的实施方案中,本公开的NKT细胞可通过吞噬和杀死冠状病毒和/或通过激活其它先天性和适应性免疫细胞来治疗所述疾病。

[0278] 因此,本公开还提供了治疗受试者中由冠状病毒感染引起的疾病的方法,所述方法包括以相当于约至少6mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED)的剂量向所述受试者施用糖皮质激素受体(GR)调节剂。在一些实施方案中,糖皮质激素受体(GR)调节剂可以是糖皮质激素,优选地塞米松或倍他米松。在一些实施方案中,糖皮质激素受体(GR)调节剂可以相当于约至少15mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED)的剂量施用。在一些优选的实施方案中,糖皮质激素受体(GR)调节剂可以相当于约18mg/kg与30mg/kg之间地塞米松碱的人体等效剂量(HED)的剂量施用。在一些优选的实施方案中,所述是COVID-19(冠状病毒2019;由严重急性呼吸综合征冠状病毒2,SARS-CoV-2引起的疾病)或SARS-CoV或MERS。在一些实施方案中,糖皮质激素受体(GR)调节剂诱导如本文其它地方公开的NKT细胞和/或T细胞群体。在一些实施方案中,糖皮质激素受体(GR)调节剂激活如本文其它地方公开的树突细胞群体。

[0279] 在一些优选的实施方案中,本公开提供了一种治疗受试者中的COVID-19(冠状病毒2019;由严重急性呼吸综合征冠状病毒2,SARS-CoV-2引起的疾病)的方法,所述方法包括以相当于约15mg/kg和30mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED)的剂量向所述受试者施用地塞米松或倍他米松。

[0280] 在感染性疾病是由冠状病毒感染引起的疾病(例如COVID-19)的实施方案中,糖皮质激素受体调节剂可与质子泵抑制剂(如奥美拉唑)和/或氢化可的松组合施用。在这种情况下,“组合”可能意味着同时施用或可能意味着单独和/或以任何顺序依次施用。

[0281] 在本公开的方法的一些实施方案中,产生/动员自然杀伤T细胞(NKT细胞)群体、产生/动员T细胞群体和/或动员/激活树突细胞群体的方法可进一步包括从所述受试者或从源自所述受试者的样品分离NKT细胞、T细胞和/或树突细胞、或NKT细胞、T细胞和/或树突细胞群体的步骤。因此,本公开提供了分离的NKT细胞、分离的T细胞和分离的树突细胞,以及分离的NKT细胞、T细胞和树突细胞群体。如上所述,分离的细胞和分离的细胞群体可通过它们表达的表面蛋白的模式进行表征。

[0282] 用于从混合样品中分离细胞和细胞群体的合适方法是本领域技术人员熟知的——例如,流式分选(例如荧光激活细胞分选;FACS)和磁性粒子分选(如磁激活细胞分选;MACS)、微流控细胞分选、密度梯度离心、免疫密度细胞分离、基于培养基中的生长因子和其它组分的细胞培养物的扩增。在本发明的一些优选的实施方案中,分离步骤通过荧光激活细胞分选(FACS)或磁激活细胞分选(MACS)进行。

[0283] 在NKT细胞、T细胞和/或树突细胞从源自受试者的样品分离的实施方案中,所述样品可选自由以下组成的组:血液、血浆、肿瘤活检物或手术切除的肿瘤、骨髓、肝脏、脾脏活检物和脂肪或脂肪组织。

[0284] 在一些实施方案中,分离步骤可在施用糖皮质激素受体(GR)调节剂或ICAM3调节剂后至少约1、3、12、24、48、72、96、120、144或168小时进行。在一些实施方案中,分离步骤可在施用糖皮质激素受体(GR)调节剂或ICAM3调节剂后至少约1、3、8、9、10、11、12、13、14或15天进行。在一些优选的实施方案中,分离步骤在所述施用后至少约48小时进行。在一些其它优选的实施方案中,分离步骤在所述施用后至少约1、3或48小时进行。在一些实施方案中,分离步骤可在施用糖皮质激素受体(GR)调节剂或ICAM3调节剂后约1、3或48小时与13天之间、约1、3或48小时与168小时之间、约1、3或48小时与120小时之间、约1、3或48小时与96小时之间或约1、3或48小时与72小时之间进行。在一些优选的实施方案中,分离步骤在所述施用后约1、3或48小时与72小时之间进行。在一些实施方案中,分离步骤可在糖皮质激素施用后1、2、3、4、5、6、7、8、9或10小时内进行。在一些优选的实施方案中,分离步骤可在糖皮质激素施用后3小时内进行。在一些特别优选的实施方案中,分离步骤可在糖皮质激素施用后1小时内进行。在受试者患有癌症、感染性疾病或自身免疫性疾病的一些优选的实施方案中,分离NKT细胞的步骤可在糖皮质激素施用后3小时内且优选在糖皮质激素施用后1小时内来自受试者的血液样品上进行。

[0285] 在涉及分离步骤的方法的一些优选实施方案中,受试者可以是健康受试者,如健康的成年人受试者。在此上下文中,健康受试者是未罹患疾病的受试者。

[0286] 本公开的分离的NKT细胞、T细胞和/或树突细胞以及分离的NKT细胞群体、T细胞群体和/或树突细胞群体可在培养物中扩增。用于培养和扩增细胞的合适方法和试剂是技术人员熟知的。例如,与IL-2、可溶性抗CD28抗体、抗CD3 ϵ 抗体、抗TCR β 抗体和糖脂如KRN7000、PBS44或PBS57一起长期培养已被证明可产生NKT细胞的稳健扩增(Watarai等人2008,其特此以引用的方式整体并入)。因此,在本公开方法的一些实施方案中,产生自然杀伤T细胞(NKT细胞)群体、产生T细胞群体和/或激活树突细胞群体的方法可进一步包括扩增通过所述分离步骤分离的NKT细胞、T细胞、树突细胞或NKT细胞、T细胞或树突细胞的步骤。在本公开方法的一些实施方案中,所述方法可进一步包括用可如上文详细描述的李KT细胞激活剂、T细胞激活剂或树突细胞激活剂激活分离的细胞的步骤(在扩增步骤之前或之后)。

[0287] 在一些实施方案中,在从受试者或从源自受试者的样品分离出NKT细胞、T细胞或树突细胞或NKT细胞群体、T细胞群体或树突细胞群体之后,本公开的方法可进一步包括将编码蛋白质的核酸引入一个或多个分离的细胞中的步骤。用于将核酸引入细胞的合适方法是本领域技术人员熟知的——例如,物理或化学方法,包括电穿孔、声穿孔、细胞显微注射、微粒递送、磷酸钙介导的转染和基于脂质体的转染;或,病毒转导。在引入编码蛋白质的核酸后,可在促进所编码蛋白质表达的条件下培养一个或多个细胞。用于培养细胞的合适方法、试剂和条件是技术人员熟知的。已将编码蛋白质的核酸引入其中的细胞(NKT细胞、T细胞或树突细胞)或多个细胞(NKT细胞、T细胞或树突细胞)在本文中可称为经转染的或转化的细胞。

[0288] 在本公开的一些实施方案中,编码蛋白质的核酸是编码选自以下中的一者或多者组成的组的蛋白质的核酸:T细胞受体(TCR)、嵌合抗原受体(CAR)、分裂、通用且可编程的CAR(SUPRA-CAR)。

[0289] 分离后,NKT细胞、T细胞和/或树突细胞可针对特定靶标进行遗传工程化。例如,NKT可通过IL-2扩增并用GalCer(半乳糖基神经酰胺)、脉冲自体辐照PBMC激活,然后转导以表达CAR或重组TCR(rTCR)。CAR或rTCR可特异性地结合选自GD2(二唾液酸神经节苷脂)和CD19的靶标。例如,CAR可以是NCT03294954(其特异性地结合GD2)或NCT03774654(其特异性地结合CD19)。

[0290] 此外,NKT细胞、T细胞和/或树突细胞可进行靶向激活。例如,可使用以下程序:用于被动和主动递送的纳米载体;负载 α -GalCer的APC,用于将NKT靶向激活至肿瘤;静脉内施用 α -GalCer;和/或通过向培养的细胞中添加 α -GalCer(以产生富含iNKT细胞的群体,然后将所述群体输注回患者体内)来进行批量PBMC刺激(2至3次)。

[0291] 此外,NKT细胞、T细胞和/或树突细胞可直接连接至肿瘤靶向部分(肿瘤细胞或TME上)。也可采用对NKT细胞(由 α -GalCer类似物引起的免疫应答的极化)、T细胞和树突细胞的刺激剂的化学修饰。

[0292] 如本文所用的术语“嵌合抗原受体”(CAR)非排他性地涉及含有融合至强T细胞激活物结构域的抗体的抗原结合结构域的构建体。用CAR构建体修饰的T细胞可与抗原结合并受到刺激以攻击所结合的细胞。人工T细胞受体(也称为嵌合T细胞受体、嵌合免疫受体、嵌合抗原受体(CAR))是工程化受体,其可将任意特异性移植到免疫效应细胞上。这些受体被称为嵌合,因为它们由来自不同来源的部分组成。由嵌合抗原受体T细胞表达的受体/配体或抗体或细胞免疫疗法可以是单特异性或双特异性或多特异性的。

[0293] 在一些实施方案中,TCR、CAR和/或SUPRA-CAR可包含抗原结合结构域,所述抗原结合结构域结合至选自以下组成的受体/配体/靶标的组的抗原:原癌基因酪氨酸-蛋白激酶ABL1、瓜氨酸化抗原、ErbB2/HER2、CD16、WT-1、KRAS、磷脂酰肌醇蛋白聚糖3、CD3、CD20、CD226、CD155、CD123、HPV-16E6、Melan-A/MART-1、结合至DR4受体的TRAIL、LMP、MTCR、ESO、NY-ESO-1、gp100、4SCAR-GD2/CD56、间皮素(CAK1抗原或前原巨核细胞增强因子或MSLN);DNA合成抑制剂;组胺H1受体(HRH1)拮抗剂;前列腺素G/H合酶2(环氧合酶2或COX2或前列腺素内过氧化物合酶2或PHS II或前列腺素H2合酶2或PTGS2或EC 1.14.99.1)抑制剂、CD19(B淋巴细胞表面抗原B4或分化抗原CD19或T细胞表面抗原Leu 12或CD19)、细胞粘附分子5(癌胚抗原或CEA或胎粪抗原100或CD66e或CEACAM5);白细胞介素2受体(IL2R)激动剂、表皮生

长因子受体(原癌基因c ErbB 1或受体酪氨酸蛋白激酶erbB 1或HER1或ERBB1或EGFR或EC 2.7.10.1);DNA连接酶(EC 6.5.1.)抑制剂;DNA连接酶(EC 6.5.1.)、DNA聚合酶 α (POLA或EC 2.7.7.7)抑制剂;DNA引发酶(EC 2.7.7.6)抑制剂;核苷二磷酸还原酶(核糖核苷酸还原酶或RRM或EC 1.17.4.1)抑制剂;RNA聚合酶II(RNAP II或Pol II或EC2.7.7.6)抑制剂、DNA聚合酶(EC 2.7.7.7)抑制剂;DNA拓扑异构酶II(EC 5.99.1.3)抑制剂;CD22、meso、DNA引发酶(EC 2.7.7.6);程序性细胞死亡1配体1(PD L1或B7同源物1或CD274)抑制剂;RNA聚合酶II(RNAP II或Pol II或EC 2.7.7.6)、组蛋白赖氨酸N甲基转移酶EZH2(ENX 1或Zeste同源物增强子2或赖氨酸N甲基转移酶6或EZH2或EC 2.1.1.43)抑制剂;程序性细胞死亡1配体1(PD L1或B7同源物1或CD274)、C-X-C趋化因子受体4型(FB22或融合素或HM89或LCR1或白细胞源性七跨膜结构域受体或脂多糖相关蛋白3或基质细胞源性因子1受体或NPYRL或CD184或CXCR4)拮抗剂;粒细胞集落刺激因子受体(CD114或GCSFR或CSF3R)激动剂、腺苷脱氨酶(腺苷氨基水解酶或ADA或EC 3.5.4.4)抑制剂;肿瘤坏死因子受体超家族成员17(B细胞成熟抗原或CD269或TNFRSF17)、对表达失活酪氨酸蛋白激酶跨膜受体ROR1的细胞的细胞毒性(神经营养酪氨酸激酶受体相关1或ROR1或EC 2.7.10.1);T细胞表面糖蛋白CD3 ϵ 链(T细胞表面抗原T3/Leu 4 ϵ 链或CD3E);二氢叶酸还原酶(DHFR或EC 1.5.1.3)抑制剂;肝配蛋白A型受体2(上皮细胞激酶或酪氨酸蛋白激酶受体ECK或EPHA2或EC 2.7.10.1)抑制剂;糖皮质激素受体(GR或核受体亚家族3组C成员1或NR3C1)激动剂;肥大/干细胞生长因子受体Kit(原癌基因c Kit或酪氨酸蛋白激酶Kit或v Kit哈迪朱克曼4猫肉瘤病毒致癌基因同源物或花斑性状蛋白或p145c Kit或CD117或KIT或EC 2.7.10.1)抑制剂;血小板源性生长因子受体 β (β 型血小板源性生长因子受体或CD140抗原样家族成员B或血小板源性生长因子受体1或CD140b或PDGFRB或EC 2.7.10.1)抑制剂;微管蛋白抑制剂;酪氨酸蛋白激酶CSK(C Src激酶或蛋白酪氨酸激酶CYL或CSK或EC 2.7.10.2)抑制剂;酪氨酸蛋白激酶Fyn(原癌基因Syn或原癌基因c Fyn或Src样激酶或p59 Fyn或FYN或EC2.7.10.2)抑制剂;酪氨酸蛋白激酶Lck(白细胞C末端Src激酶或蛋白YT16或原癌基因Lck或T细胞特异性蛋白酪氨酸激酶或淋巴细胞细胞特异性蛋白酪氨酸激酶或p56 LCK或LCK或EC 2.7.10.2)抑制剂;酪氨酸蛋白激酶Yes(原癌基因c Yes或p61 Yes或YES1或EC2.7.10.2)抑制剂、肿瘤坏死因子(恶病质素或TNF α 或肿瘤坏死因子配体超家族成员2或TNF α 或TNF)抑制剂、信号转导因子和转录活化因子3(急性期反应因子或DNA结合蛋白APRF或STAT3)抑制剂、Bcr-Abl酪氨酸激酶(EC 2.7.10.2)抑制剂;二氢叶酸还原酶(DHFR或EC 1.5.1.3);肝配蛋白A型受体2(上皮细胞激酶或酪氨酸蛋白激酶受体ECK或EPHA2或EC 2.7.10.1);肥大/干细胞生长因子受体Kit(原癌基因c Kit或酪氨酸蛋白激酶Kit或v Kit哈迪朱克曼4猫肉瘤病毒致癌基因同源物或花斑性状蛋白或p145 c Kit或CD117或KIT或EC2.7.10.1);血小板源性生长因子受体 β (β 型血小板源性生长因子受体或CD140抗原样家族成员B或血小板源性生长因子受体1或CD140b或PDGFRB或EC 2.7.10.1);微管蛋白;酪氨酸蛋白激酶CSK(C Src激酶或蛋白酪氨酸激酶CYL或CSK或EC 2.7.10.2)抑制剂;酪氨酸蛋白激酶Fyn(原癌基因Syn或原癌基因c Fyn或Src样激酶或p59 Fyn或FYN或EC 2.7.10.2)抑制剂;酪氨酸蛋白激酶Lck(白细胞C末端Src激酶或蛋白YT16或原癌基因Lck或T细胞特异性蛋白酪氨酸激酶或淋巴细胞细胞特异性蛋白酪氨酸激酶或p56 LCK或LCK或EC2.7.10.2)抑制剂;酪氨酸蛋白激酶Yes(原癌基因c Yes或p61 Yes或YES1或EC 2.7.10.2)抑制剂、半胱天冬酶9(凋亡蛋白酶Mch 6或凋亡蛋白酶激活因子3或ICE样凋

亡蛋白酶6或CASP9或EC 3.4.22.62) 激活剂;前列腺干细胞抗原(PSCA)、优先在肿瘤中表达的黑素瘤抗原(癌症/睾丸抗原130或Opa相互作用蛋白4或OIP4或黑素瘤优先表达抗原或PRAME)、信号转导因子和转录活化因子3(急性期反应因子或DNA结合蛋白APRF或STAT3) 抑制剂、CD44抗原(CDw44或Epican或细胞外基质受体III或GP90淋巴细胞归巢/粘附受体或HUTCH I或硫酸乙酰肝素蛋白聚糖或Hermes抗原或透明质酸受体或吞噬糖蛋白1或CD44)、AXL(anexelekto) 受体酪氨酸激酶、GAS6、TAM受体酪氨酸激酶、TYRO-3(还称为Brt、Dtk、Rse、Sky和Tif)、AXL(还称为Ark、Tyro7和Ufo)、和MER(还称为EyK、Nym和Tyro12)、CTLA4、肿瘤坏死因子受体超家族成员8(CD30L受体或Ki 1抗原或淋巴细胞激活抗原CD30或CD30或TNFRSF8)、半胱天冬酶9(凋亡蛋白酶Mch 6或凋亡蛋白酶激活因子3或ICE样凋亡蛋白酶6或CASP9或EC 3.4.22.62) 激活剂;对表达神经节苷脂GD2的细胞具有细胞毒性;前列腺素G/H合酶1(环氧合酶1或COX1或前列腺素内过氧化物合酶1或前列腺素H2合酶1或PTGS1或EC1.14.99.1) 抑制剂;细胞因子、白细胞介素、密封蛋白6(Skullin或CLDN6)、NKG2D、MICA、MICB和ULBP 1-6、NKp30、B7H6(NCR3LG1)、Bag6、B7家族、CD40配体(T细胞抗原Gp39或TNF相关激活蛋白或肿瘤坏死因子配体超家族成员5或CD154或CD40LG) 激活剂;白细胞介素12(IL12) 激活剂、白细胞介素3受体亚基 α (IL3RA肥大/干细胞生长F)、因子受体Kit(原癌基因c Kit或酪氨酸蛋白激酶Kit或v Kit哈迪朱克曼4猫肉瘤病毒致癌基因同源物或花斑性状蛋白或p145 c Kit或CD117或KIT或EC 2.7.10.1) 拮抗剂;原癌基因酪氨酸蛋白激酶受体Ret(钙粘蛋白家族成员12或原癌基因c Ret或RET或EC 2.7.10.1) 抑制剂;受体型酪氨酸蛋白激酶FLT3(FMS样酪氨酸激酶3或FL细胞因子受体或干细胞酪氨酸激酶1或胎肝激酶2或CD135或FLT3或EC 2.7.10.1) 拮抗剂;血管内皮生长因子受体1(Fms样酪氨酸激酶1或酪氨酸蛋白激酶受体FLT或酪氨酸蛋白激酶FRT或血管渗透因子受体或VEGFR1或FLT1或EC2.7.10.1) 拮抗剂;血管内皮生长因子受体2(胎肝激酶1或激酶插入结构域受体或蛋白酪氨酸激酶受体f1k 1或VEGFR2或CD309或KDR或EC 2.7.10.1) 拮抗剂;血管内皮生长因子受体3(Fms样酪氨酸激酶4或酪氨酸蛋白激酶受体FLT4或VEGFR3或FLT4或EC 2.7.10.1) 拮抗剂、半胱天冬酶9(凋亡蛋白酶Mch 6或凋亡蛋白酶激活因子3或ICE样凋亡蛋白酶6或CASP9或EC 3.4.22.62) 激活剂、细胞毒性T淋巴细胞蛋白4(细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4或CD152或CTLA4) 拮抗剂、骨髓细胞表面抗原CD33(唾液酸结合Ig样凝集素3或gp67或CD33)、肝细胞生长因子受体(原癌基因c Met或酪氨酸蛋白激酶Met或HGF/SF受体或离散因子受体或MET或EC 2.7.10.1)、上皮细胞粘附分子(腺癌相关抗原或细胞表面糖蛋白Trop 1或上皮细胞表面抗原或上皮糖蛋白314或KS 1/4抗原或KSA或肿瘤相关钙信号转导因子1或CD326或EPCAM)、神经节苷脂GD2、Lewis Y抗原(CD174)、潜伏膜蛋白1(蛋白p63或LMP1)、粘蛋白1(乳腺癌相关抗原DF3或爱皮希尔林(Episialin) 或H23AG或克雷布斯冯隆恩(Krebs Von Den Lungen) 6或PEMT或花生反应性尿粘蛋白或多形性上皮粘蛋白或肿瘤相关上皮膜抗原或肿瘤相关粘蛋白或CD227或MUC1)、T细胞受体 β 1链C区(TRBC1)、血管内皮生长因子受体2(胎肝激酶1或激酶插入结构域受体或蛋白酪氨酸激酶受体f1k 1或VEGFR2或CD309或KDR或EC 2.7.10.1)、BCMA、PD-1、白细胞介素-6受体、NKR2、CX-072、T淋巴细胞蛋白4(细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4或CD152或CTLA4) 拮抗剂;丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶B Raf(p94或原癌基因B Raf或v Raf鼠肉瘤病毒致癌基因同源物B1或BRAF或EC 2.7.11.1) 抑制剂、粘蛋白16(卵巢癌相关肿瘤标志物CA125或卵巢癌抗原CA125或MUC16);Bcr-Abl酪氨酸激酶

(EC2.7.10.2) 抑制剂;酪氨酸蛋白激酶CSK (C Src激酶或蛋白酪氨酸激酶CYL或CSK或EC 2.7.10.2) 抑制剂;酪氨酸蛋白激酶Fyn (原癌基因Syn或原癌基因c Fyn或Src样激酶或p59 Fyn或FYN或EC 2.7.10.2) 抑制剂;酪氨酸蛋白激酶Lck (白细胞C末端Src激酶或蛋白YT16或原癌基因Lck或T细胞特异性蛋白酪氨酸激酶或淋巴细胞细胞特异性蛋白酪氨酸激酶或p56 LCK或LCK或EC 2.7.10.2) 抑制剂;酪氨酸蛋白激酶Yes (原癌基因c Yes或p61 Yes或YES1或EC 2.7.10.2) 抑制剂、细胞周期蛋白依赖性激酶1 (p34蛋白激酶或细胞分裂蛋白激酶1或细胞分裂控制蛋白2同源物或CDK1或EC 2.7.11.22或EC2.7.11.23) 抑制剂;细胞周期蛋白依赖性激酶2 (p33蛋白激酶或细胞分裂蛋白激酶2或CDK2或EC 2.7.11.22) 抑制剂;粒细胞巨噬细胞集落刺激因子受体亚基 α (CDw116或CD116或CSF2RA) 激动剂、EGFRVIII、酪氨酸蛋白激酶SYK (脾酪氨酸激酶或p72 Syk或SYK或EC 2.7.10.2) 抑制剂、甲胎蛋白 (α 1胎蛋白或 α 胎蛋白或AFP)、癌症/睾丸抗原1 (自身免疫原性癌症/睾丸抗原或癌症/睾丸抗原6.1或L抗原家族成员2或CTAG1A或CTAG1B);HBV抗原、EGFR家族成员、Herin、酪氨酸蛋白激酶BTK (布鲁顿酪氨酸激酶或B细胞祖细胞激酶或无丙种球蛋白血症酪氨酸激酶或BTK或EC 2.7.10.2) 抑制剂、CD4、上皮细胞粘附分子 (腺癌相关抗原或细胞表面糖蛋白Trop 1或上皮细胞表面抗原或上皮糖蛋白314或KS 1/4抗原或KSA或肿瘤相关钙信号转导因子1或CD326或EPCAM)、脯氨酰内肽酶FAP (170kDa黑素瘤膜结合明胶酶或二肽基肽酶FAP或整合膜丝氨酸蛋白酶或成纤维细胞激活蛋白 α 或明胶降解蛋白酶FAP或透明质酸酶 (Seprase) 或FAP或EC 3.4.21.26或EC 3.4.14.5)、神经细胞粘附分子1 (由单克隆抗体5.1H11识别的抗原或CD56或NCAM1);表皮生长因子受体 (原癌基因c ErbB 1或受体酪氨酸蛋白激酶erbB 1或HER1或ERBB1或EGFR或EC 2.7.10.1) 拮抗剂、酪氨酸蛋白激酶跨膜受体ROR1 (神经营养酪氨酸激酶受体相关1或ROR1或EC 2.7.10.1);维尔姆斯肿瘤蛋白 (WT33或WT1);白细胞介素13受体亚基 α 2 (白细胞介素13结合蛋白或CD213a2或IL13RA2)、滋养层细胞糖蛋白 (M6P1或5T4癌胚抗原或5T4癌胚滋养层细胞糖蛋白或Wnt激活抑制因子1或TPBG)、SLAM家族成员7 (CD319或膜蛋白FOAP 12或CD2样受体激活细胞毒性细胞或新型Ly9或蛋白19A或CD2亚群1或CS1或SLAMF7)、B细胞淋巴瘤2 (Bcl 2) 抑制剂;DNA (胞嘧啶5) 甲基转移酶1 (CXXC型锌指蛋白9或DNA甲基转移酶HsaI或MCMT或DNMT1或EC 2.1.1.37) 抑制剂、ROR1、CD19和CD40L、抗生物素蛋白 (EGFRiiiv)、叶酸受体、CD30、pme1 CD*8T、CD33、NKR2、上皮性肿瘤抗原 (ETA)、酪氨酸酶、黑素瘤相关抗原、ras异常产物、p53、甲胎蛋白 (AFP)、CA-125、CA15-3、CA27-29、CA19-9、降钙素、钙网膜蛋白、CD34、CD99MIC 2、CD117、嗜铬粒蛋白、细胞角蛋白 (各种类型:TPA、TPS、Cyfra21-1)、肌间线蛋白、上皮膜抗原 (EMA)、因子VIII、CD31FL1、胶质原纤维酸性蛋白 (GFAP)、总胆囊疾病液蛋白 (GCDP-15)、HMB-45、人绒毛膜促性腺激素 (hCG)、免疫球蛋白、抑制素、角蛋白 (各种类型)、淋巴细胞标志物 (各种类型)、BCR-ABL、Myo D1、肌肉特异性肌动蛋白 (MSA)、神经丝、神经元特异性烯醇化酶 (NSE)、胎盘碱性磷酸酶 (PLAP)、前列腺特异性抗原 (PSA)、PTPRC (CD45)、S100蛋白、平滑肌肌动蛋白 (SMA)、突触素、胸苷激酶、甲状腺球蛋白 (Tg)、甲状腺转录因子-1 (TTF-1)、肿瘤M2-PK、波形蛋白、SV40、腺病毒E1b-58kd、IGF2B3、遍在 (低水平)、激肽释放酶4、KIF20A、Lengsin、Meloe、MUC5AC、不成熟层粘连蛋白受体、TAG-72、HPV E6、HPV E7、BING-4、钙激活的氯离子通道2、细胞周期蛋白-B1、9D7、Ep-CAM、EphA3、端粒酶、SAP-1、BAGE家族、CAGE家族、GAGE家族、MAGE家族、SAGE家族、XAGE家族、LAGE-1、PRAME、SSX-2、pme117、酪氨酸酶、TRP-1/-2、P. 多肽、MC1R、 β -连环蛋白、前列腺特异

性抗原、BRCA1、BRCA2、CDK4、CML66、纤连蛋白、MART-2、Ras、TGF- β 受体II、T细胞受体 (TCR)、BLOC1S6、CD10/脑啡肽酶、CD24、CD248、CD5/分化簇5、CD63/Tspan-30/四次跨膜蛋白-30、CEACAM5/CD66e、CT45A3、CTAG1A、CXORF61、DSE、GPA33、HPSE、KLK3、LCP1、LRIG3、LRR15、巨核细胞强化因子、MOK、MUC4、NDNL2、OCIAD1、PMPCB、PTOV1、RCAS1/EBAG9、RNF43、ROPN1、RPLP1、SARNP、SBEM/MUCL1、TRP1/TYRP1、CA19-9、失活酪氨酸蛋白激酶跨膜受体ROR1 (神经营养酪氨酸激酶受体相关1或ROR1或EC 2.7.10.1)、ALK酪氨酸激酶受体 (间变性淋巴瘤激酶或CD246或ALK或EC 2.7.10.1)、前列腺干细胞抗原 (PSCA)、优先在肿瘤中表达的黑素瘤抗原 (癌症/睾丸抗原130或Opa相互作用蛋白4或OIP4或黑素瘤优先表达抗原或PRAME)、信号转导因子和转录活化因子3 (急性期反应因子或DNA结合蛋白APRF或STAT3) 抑制剂、CD44抗原 (CDw44或Epican或细胞外基质受体III或GP90淋巴细胞归巢/粘附受体或HUTCH I或硫酸乙酰肝素蛋白聚糖或Hermes抗原或透明质酸受体或吞噬糖蛋白1或CD44)、CD40配体 (T细胞抗原Gp39或TNF相关激活蛋白或肿瘤坏死因子配体超家族成员5或CD154或CD40LG) 激活剂;肿瘤坏死因子受体超家族成员13B (跨膜激活剂和CAML相互作用因子或CD267或TACI或TNFRSF13B);对表达肿瘤坏死因子受体超家族成员17的细胞具有细胞毒性 (B细胞成熟抗原或CD269或TNFRSF17)、CD276抗原 (B7同源物3或4Ig B7 H3或共刺激分子或CD276)、骨髓细胞表面抗原CD33 (唾液酸结合Ig样凝集素3或gp67或CD33)、ADP核糖基环化酶/环状ADP核糖水解酶1 (环状ADP核糖水解酶1或T10或2'磷酸ADP核糖基环化酶/2'磷酸环状ADP核糖转移酶或ADP核糖基环化酶1或CD38或EC 3.2.2.6或EC 2.4.99.20)、C型凝集素结构域家族14成员A (表皮生长因子受体5或EGFR5或CLEC14A)、肝细胞生长因子受体 (原癌基因c Met或酪氨酸蛋白激酶Met或HGF/SF受体或离散因子受体或MET或EC 2.7.10.1)、上皮细胞粘附分子 (腺癌相关抗原或细胞表面糖蛋白Trop 1或上皮细胞表面抗原或上皮糖蛋白314或KS 1/4抗原或KSA或肿瘤相关钙信号转导因子1或CD326或EPCAM)、神经节苷脂GD3、白细胞介素13受体亚基 α 2 (白细胞介素13结合蛋白或CD213a2或IL13RA2); κ 骨髓瘤抗原 (KMA)、 λ 骨髓瘤抗原 (LMA)、潜伏膜蛋白1 (蛋白p63或LMP1)、黑素瘤相关抗原、对表达T淋巴细胞激活抗原CD80的细胞具有细胞毒性 (激活B7-1抗原或CTLA 4反受体B7.1或CD80);对表达T淋巴细胞激活抗原CD86的细胞具有细胞毒性 (激活B7-2抗原或CTLA 4反受体B7.2或CD86) 失活酪氨酸蛋白激酶跨膜受体ROR1 (神经营养酪氨酸激酶受体相关1或ROR1或EC 2.7.10.1)、Fas凋亡抑制分子3 (IgM Fc片段受体或Fas诱导型细胞凋亡调控因子Toso或TOSO或FAIM3或FCMR)、T细胞受体 β 1链C区 (TRBC1)、血管内皮生长因子受体2 (胎肝激酶1或激酶插入结构域受体或蛋白酪氨酸激酶受体f1k 1或VEGFR2或CD309或KDR或EC 2.7.10.1)、甲胎蛋白 (α 1胎蛋白或 α 胎蛋白或AFP)、癌症/睾丸抗原1 (自身免疫原性癌症/睾丸抗原NY ES01或癌症/睾丸抗原6.1或L抗原家族成员2或CTAG1A或CTAG1B)、T细胞表面糖蛋白CD5 (淋巴细胞抗原T1/Leu 1或CD5)、脯氨酰内肽酶FAP (170kDa黑素瘤膜结合明胶酶或二肽基肽酶FAP或整合膜丝氨酸蛋白酶或成纤维细胞激活蛋白 α 或明胶降解蛋白酶FAP或透明质酸酶或FAP或EC 3.4.21.26或EC 3.4.14.5)、神经细胞粘附分子1 (由单克隆抗体5.1H11识别的抗原或CD56或NCAM1)、C型凝集素结构域家族12成员A (骨髓抑制性C型凝集素样受体或树突细胞相关凝集素2或C型凝集素样分子1或CLEC12A)、整联蛋白 α V (玻连蛋白受体亚基 α 或CD51或ITGAV);对表达整联蛋白 β 6的细胞具有细胞毒性 (ITGB6)、白细胞介素13受体亚基 α 2 (白细胞介素13结合蛋白或CD213a2或IL13RA2)、滋养层细胞糖蛋白 (M6P1或5T4癌胚抗原或5T4癌胚滋养层细胞糖蛋白

或Wnt激活抑制因子1或TPBG)、滋养层细胞糖蛋白(M6P1或5T4癌胚抗原或5T4癌胚滋养层细胞糖蛋白或Wnt激活抑制因子1或TPBG)、C型凝集素结构域家族12成员A(骨髓抑制性C型凝集素样受体或树突细胞相关凝集素2或C型凝集素样分子1或CLEC12A)、SLAM家族成员7(CD319或膜蛋白FOAP 12或CD2样受体激活细胞毒性细胞或新型Ly9或蛋白19A或CD2亚群1或CS1或SLAMF7)、SLAM家族成员7(CD319或膜蛋白FOAP 12或CD2样受体激活细胞毒性细胞或新型Ly9或蛋白19A或CD2亚群1或CS1或SLAMF7)、免疫球蛋白、多药耐药性相关蛋白3(MRP3)、原癌基因酪氨酸-蛋白激酶ABL1、前列腺酸性磷酸酶、OY-TES-1、ACSM2A、 α -辅肌动蛋白-4、脂滴包被蛋白-2、 α -胎蛋白、淋巴原始细胞危象致癌基因(Lbc)癌蛋白、醛脱氢酶1家族成员A1(ALDH1A1)、AML、ANKRD17、NY-BR-1、膜联蛋白II、ARHGAP17、ARHGAP30、ARID1B、内质网驻留蛋白、5'-氨基咪唑-4-甲酰胺-1- β -d-核糖核苷酸转甲酰酶/肌苷酸酶(AICRT/I)、ATR、ATXN2、ATXN2L、BAGE1、BCL11A、Bcl-xL、断裂点簇集区、存活蛋白、活素(Livin)/ML-IAP、HM1.24、含BTB结构域2(BTBD2)、C6ORF89、碳酸酐酶IX、CLCA2、CRT2、CAMEL、CAN蛋白、半胱天冬酶-5、半胱天冬酶-8、KM-HN-1、CCDC88B、细胞周期蛋白B1、细胞周期蛋白D1、CCNI、CDC2、CDC25A、CDC27、CDK12、肠羧酸酯酶、CEP95、CHAF1A、毛状蛋白样1、CPSF、CRYBA1、TRAG-3、巨噬细胞集落刺激因子、CSNK1A1、黑素瘤相关硫酸软骨素蛋白聚糖(MCSP)、组织蛋白酶H、Kita-kyushu肺癌抗原1、P4501B1或CYP1B1、DDR1、DEK致癌基因、DEK-CAN、Dickkopf-1(DKK1)、DNAJC8、DSCAML1、EEF2、含延伸因子Tu GTP结合结构域或SNRP116、EIF4EBP1、人Mena蛋白、EP300、ETV5、TEL1或ETV6、zeste同源物多梳家族蛋白增强子2(EZH2)、F2R、F4.2、FAM53C、成纤维细胞生长因子5或FGF5、白细胞中的形成蛋白相关蛋白1(FMNL1)、纤调蛋白(FMOD)、FNDC3B、FKHR、GDP-L-岩藻糖、GAS7、GFI1、GIGYF2、GPNMB、O、A1、GPSM3、GRK2、GRM5、H3F3A、HAUS3、HERC1、HERV-K-MEL、HIVEP2、HMGN、HMHA1、血红素加氧酶-1(HO-1)、HNRPL、乙酰肝素酶、HMSD-v编码的mHA、HSPA1A、Hsp70、HSPB1、即刻早期应答基因X-1(IEX-1)、胰岛素样生长因子(IGF)-II mRNA结合蛋白3(IMP-3)、IP6K1、IRS2、ITGB8、JUP、RU2AS、KANS13、KLF10、KLF2、KLK4、KMT2A、K-ras、低密度脂蛋白受体(LDLR)、LDLR-FUT、Mac-2结合蛋白、KIAA0205、LPP、LRP1、LRRC41、LSP1、LUZP1、淋巴细胞抗原6复合物基因座K(LY6K)、MACF1、MAP1A、MAP3K11、MAP7D1、母系蛋白-2、Mc1-1、MDM2、苹果酸酶、MEF2D、MEFV、乳脂肪球膜蛋白BA46(乳凝集素)、黑素转铁蛋白、GNT-V或N-乙酰葡萄糖氨基转移酶V、MIIP、MMP14、基质金属蛋白酶-2、MORC2、黑素瘤抗原p15、MUC2、MUM、MYC、MYL9、非常规肌球蛋白I类基因、N4BP2、NCBP3、NCOA1、NCOR2、NFATC2、NFYC、NIFK、Ninein、NPM、NPM1-ALK1、N-ras、OAS3、P多肽、OGT、OS-9、ErbB3结合蛋白1、PAGE-4、P21激活丝氨酸激酶2(PAK2)、新-PAP、PARP12、PAX3、PAX3-FKHR、PCBP2、磷酸甘油酸酯激酶1(PKG1)、PLEKHM2、早幼粒细胞性白血病或PML、PML-RARA、POLR2A、亲环蛋白B、PPP1CA、PPP1R3B、过氧化物还原酶5、蛋白酶3、甲状旁腺激素相关蛋白(PTHrP)、受体样蛋白酪氨酸磷酸酶 κ 、MG50、NY-MEL-1或RAB38、RAGE、RALGAPB、RAR α 、RBM、RCS1、恢复蛋白、RERE、RGS5、RHAMM/CD168、RPA1、核糖体蛋白L10a、核糖体蛋白S2、RREB1、RSRP1、RTCB、SART、SCAP、乳腺珠蛋白A、Secernin 1、SDCBP、SETD2、SF3B1、肾遍在蛋白1、SIK1、SIRT2、SKI、发夹结合蛋白、SLC35A4、Prostein、SLC46A1、SNRPD1、SOGA1、SON、SOX10、SOX11、SOX2、SOX-4、精子蛋白17、SPEN、SRRM2、SRSF7、SRSF8、SSX1、SSX2或HOM-MEL-40、SSX4、STAT1、STEAP、STRAP、ART-1、SVIL、HOM-TES-14/SCP1、CD138、SYNM、SYNP0、SYT、SYT15、SYT-SSX1、SYT-SSX2、SZT2、TAPBP、TBC1D10C、TBC1D9B、hTERT、THNSL2、THOC6、TLK1、TNS3、

TOP2A、TOP2B、ATP依赖性干扰素应答因子(ADIR)、TP53、磷酸丙糖异构酶或TPI1、原肌球蛋白-4、TPX2、TRG、T细胞受体 γ 替代阅读框蛋白(TARP)、TRIM68、前列腺特异性蛋白瞬时受体电位-p8(trp-p8)、TSC22D4、TTK蛋白激酶(TTK)、胸苷酸合酶(TYMS)、UBE2A、泛素缀合酶变体Kua、COA-1、USB1、NA88-A、VPS13D、BING4、WHSC1L1、WHSC2、WNK2、WT1、XBP1、XP01、ZC3H14、ZNF106、ZNF219、乳头瘤病毒结合因子(PBF)、E3泛素-蛋白连接酶UBR4。

[0294] 在本公开的一些实施方案中,TCR、CAR和/或SUPRA-CAR可不包含与选自上述受体/配体/靶标组的抗原结合的抗原结合结构域。

[0295] 在一些优选的实施方案中,TCR、CAR和/或SUPRA-CAR可包含与选自由以下组成的组的抗原结合的抗原结合结构域:CD19、CD20、CD22、GD2、CD133、EGFR、GPC3、CEA、MUC1、间皮素、IL-13R、PSMA、ROR1、CAIX、Her2。

[0296] 在引入编码蛋白质的核酸后,NKT细胞、T细胞或树突细胞或NKT细胞、T细胞或树突细胞可在培养物中扩增。用于培养和扩增细胞的合适方法和试剂是技术人员熟知的。在扩增之后,本公开的方法可进一步包括用NKT细胞激活剂、T细胞激活剂或树突细胞激活剂激活所述细胞的步骤。NKT细胞激活剂、T细胞激活剂或树突细胞激活剂可如上文详述。

[0297] 在一些实施方案中,AVM_NKT、AVM-T细胞和/或AVM-树突状细胞或靶向AVM_NKT、AVM-T细胞和/或AVM树突细胞用于递送有效载荷如核酸、dsRNA、siRNA、微小RNA、dsDNA、ssDNA、cDNA、rRNA、mRNA、tRNA、siRNA、dsRNAi、RNAi、有机化合物、细胞毒性药物、抗体、维多汀(vedotin)、奥佐米星(ozogamicine)、恩他新(emtansine)、德卢替康(deruxtecan)、默坦辛(mertansine)、马佛多汀(mafodotin)、微管蛋白抑制剂、单甲基奥瑞斯他汀-E(MMAE)和单甲基奥瑞斯他汀-F(MMAF)是尾海兔素-10的肽类似物、美登木素生物碱、长春花生物碱、卡奇霉素、倍癌霉素、吡咯并苯二氮杂~~草~~二聚体、他立林(talirine)、特司林(tesirine)、吡咯并苯并二氮杂卓假二聚体、索他新(soravtansine)、DM1、DM4、神经递质、DNA嵌入剂、抗代谢药、内皮抑素、神经营养蛋白、化学疗法或生长因子、或抗体、毒素、放射物、抗生素、抗真菌剂、抗病毒剂、受体、病毒、细胞因子、脂质、趋化因子、肽和蛋白质、抗寄生虫药、激素、抗原、神经活性剂、受体激动剂或拮抗剂、小分子或任何类型的生物有效载荷或生物活性有效载荷。

[0298] 在本公开的一些实施方案中,本公开的细胞可用于递送不是上述有效载荷中的一者或多者的有效载荷。

[0299] ---

[0300] 本公开还提供了治疗受试者的癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病(也称为微生物疾病)的方法。在一些实施方案中,治疗方法是如详细概述的在受试者中产生自然杀伤T细胞(NKT细胞)群体的方法。在一些实施方案中,治疗方法是如本文别处描述的在受试者中动员NKT细胞群体的方法。在一些实施方案中,治疗方法是如上文详细概述的在受试者中产生T细胞群体的方法。在一些实施方案中,治疗方法是如上文详细概述的在受试者中产生树突细胞群体的方法。在一些实施方案中,治疗方法是如上文详细概述的在受试者中产生NKT细胞、T细胞和/或树突细胞群体的方法。在其它实施方案中,治疗方法是包括向受试者施用治疗有效剂量的本公开的分离的NKT细胞、T细胞和/或树突细胞的方法。这些可以是上文概述的任何分离的NKT细胞或NKT细胞群体、分离的T细胞或T细胞群体和分离的树突细胞或树突细胞群体,包括上述扩增的和未扩增的、和/或激活的或未激活的、和/或转染的或未转染

的细胞。在这些实施方案中,受试者、癌症、自身免疫性疾病、感染性疾病和/或治疗功效的机制可如上文详细描述。

[0301] 在治疗方法是包括向受试者施用治疗有效剂量的本公开的分离的NKT细胞、T细胞和/或树突细胞的方法的实施方案中,向其施用分离的细胞的受试者可以是从其分离所述细胞的同一受试者。在此类实施方案中,治疗可被称为自体细胞治疗。术语“自体”是指源自同一个体的任何材料,所述材料稍后被重新引入所述同一个体,无论所述个体是人类还是其它动物。在治疗方法是包括向受试者施用治疗有效剂量的本公开的分离的NKT细胞、T细胞和/或树突细胞的方法的其它实施方案中,向其施用分离的细胞的受试者可不同于从其分离所述细胞的受试者。在此类实施方案中,治疗可被称为同种异体细胞治疗。术语“同种异体”是指源自一个个体的任何材料,所述材料然后被引入同一物种的另一个个体,无论所述个体是人类还是其它动物。即,在治疗方法是包括向受试者施用治疗有效剂量的本公开的分离的NKT细胞、T细胞和/或树突细胞的方法的实施方案中,所述细胞可来自自体或同种异体来源。

[0302] 根据本公开的治疗受试者的癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病的方法可进一步包括向所述受试者施用NKT细胞激活剂、T细胞激活剂和/或树突细胞激活剂的步骤。这些可如上文详细描述。

[0303] 如本文所用,术语“施用”是指使用本领域技术人员已知的各种方法和递送系统中的任一种将剂物理引入受试者中。本文公开的剂的示例性施用途径包括静脉内、肌肉内、皮下、腹膜内、脊髓或其它肠胃外施用途径,例如通过注射或输注。如本文所用的短语“胃肠外施用”意指除经肠和局部施用外的施用模式,通常通过注射进行,并且包括但不限于静脉内、肌肉内、动脉内、鞘内、淋巴管内、病灶内、囊内、眶内、心内、真皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊柱内、硬膜外和胸骨内注射和输注以及体内电穿孔。在一些实施方案中,本文公开的剂可通过非肠胃外途径(例如口服)施用。其它非肠胃外途径包括经局部、经表皮或经粘膜施用途径,例如鼻内、经阴道、经直肠、舌下或经局部施用。

[0304] 如本文所用的短语“全身注射”非排他地涉及静脉内、腹膜内、皮下、经鼻粘膜下层、舌下、经支气管镜检查、静脉内、动脉内、肌肉内、眼内、纹状体内、皮下、皮内、通过真皮贴剂、通过皮肤贴剂、通过贴剂、进入脑脊液、进入门静脉、进入脑、进入淋巴系统、胸膜内、眶后、真皮内、进入脾脏、淋巴内等等。

[0305] 如本文使用的术语“注射部位”非排它性地涉及肿瘤内或器官内(如肾或肝脏或胰腺或心脏或肺或脑或脾或眼)、肌肉内、眼内、纹状体内、真皮内、通过真皮贴剂、通过皮肤贴剂、通过贴剂、进入脑脊液、进入脑等等。

[0306] 在本公开的一些优选的实施方案中,糖皮质激素受体调节剂可口服施用。在本公开的治疗方法是包括向受试者施用治疗有效剂量的本公开的分离的NKT细胞、T细胞和/或树突细胞的方法的实施方案中,所述细胞可通过胶原基质、细胞外基质组合物、由纤维蛋白或其它细胞外基质材料制成的生物聚合物微丝、含有细胞外基质和生物可降解材料的贴剂、纤维蛋白贴剂、基于海藻酸盐或琼脂糖的贴剂、由细胞外基质材料和可非排他性地涉及诸如葡聚糖的组分的生物可降解的生理学上惰性材料组成的支架、具有器官特异性抗原或结合分子的包被干细胞、残留细胞外基质(也称为支架或脱细胞器官,来自离体消化的器官供体或遗体器官)以及隐形眼镜等等直接施加至器官或肿瘤。优选地,所述细胞通过选自由

以下组成的组的方法施用于所述受试者：静脉内注射、腹膜内注射、淋巴管内注射、鞘内注射、注射到脑脊液 (CSF) 中、直接注射到肿瘤中或作为放置在实体瘤上或附近的凝胶。

[0307] 在本公开的一些实施方案中，用于本文公开的剂和细胞的施用途径可以不是上述途径中的一者或多者。

[0308] ---

[0309] 本公开还提供了用于如上文详细描述的产生自然杀伤T细胞 (NKT细胞) 群体的方法、产生T细胞群体的方法和/或激活树突细胞群体的方法中的糖皮质激素受体 (GR) 调节剂和ICAM3调节剂。本公开还提供了用于治疗受试者的癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病 (也称为微生物疾病) 的方法中的糖皮质激素受体 (GR) 调节剂和ICAM3调节剂，其中所述治疗方法是如上文详细描述的产生自然杀伤T细胞 (NKT细胞) 群体的方法。优选的实施方案包括用于如上文详细描述的产生自然杀伤T细胞 (NKT细胞) 群体的方法、产生T细胞群体的方法和/或激活树突细胞群体的方法中的糖皮质激素，以及用于治疗受试者的癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病的方法中的糖皮质激素，其中所述治疗方法是如上文详细描述的产生自然杀伤T细胞 (NKT细胞) 群体的方法、产生T细胞群体的方法和/或激活树突细胞群体的方法。其它优选的实施方案包括用于如上文详细描述的产生自然杀伤T细胞 (NKT细胞) 群体的方法中的糖皮质激素。在一些特别优选的实施方案中，糖皮质激素是地塞米松。

[0310] 本公开还提供了糖皮质激素受体 (GR) 调节剂或ICAM3调节剂在制造用于如上文详细描述的产生自然杀伤T细胞 (NKT细胞) 群体的方法、产生T细胞群体的方法和/或激活树突细胞群体的方法中的药物中的用途。本公开还提供了糖皮质激素受体 (GR) 调节剂或ICAM3调节剂在制造用于治疗受试者的癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病 (也称为微生物疾病) 的方法中的药物中的用途，其中所述治疗方法是如上文详细描述的产生自然杀伤T细胞 (NKT细胞) 群体的方法、产生T细胞群体的方法和/或激活树突细胞群体的方法。

[0311] 本公开还提供了糖皮质激素受体 (GR) 调节剂或ICAM3调节剂用于诱导自然杀伤T细胞 (NKT细胞) 群体的用途，其中所述自然NKT细胞群体通过如上文详细描述的产生自然杀伤T细胞 (NKT细胞) 群体的方法来诱导。本公开还提供了糖皮质激素受体 (GR) 调节剂或ICAM3调节剂用于诱导T细胞群体的用途，其中所述T细胞群体通过如上文详细描述的产生T细胞群体的方法来诱导。本公开还提供了糖皮质激素受体 (GR) 调节剂或ICAM3调节剂用于激活树突细胞群体的用途，其中所述树突细胞群体通过如上文详细描述的产生树突细胞群体的方法来激活。

[0312] ---

[0313] 本公开还提供了产生诱导型多能干细胞 (iPSC) 的方法，所述方法包括对本公开的NKT细胞、T细胞或树突细胞进行重编程以产生iPSC。将用于产生iPSC的方法中的本公开的NKT细胞、T细胞或树突细胞可以通过如上文详细描述的产生自然杀伤T细胞 (NKT细胞)、T细胞或树突细胞群体的方法产生和分离的NKT细胞。

[0314] 在所公开的产生iPSC的方法的一些实施方案中，重编程包括将编码Oct3/4、Klf4、Sox2和C-myc的一个或多个表达盒引入本公开的细胞中。在一些实施方案中，重编程包括将Oct3/4、KLF4、Sox2和c-myc编码mRNA引入细胞中。在所公开的产生iPSC的方法的一些其它实施方案中，重编程可进一步包括将编码以下中的一者或多者的一个或多个表达盒引入所

述细胞中: Sox1、Sox3、Sox15、Klf1、Klf2、Klf5、L-myc、N-myc、Nanog和/或LIN28。在其它实施方案中, 重编程可进一步包括将以下中的一者或多者引入所述细胞中: Sox1、Sox3、Sox15、Klf1、Klf2、Klf5、L-myc、N-myc、Nanog和/或LIN28编码mRNA。用于将表达盒或编码mRNA引入细胞中的合适方法是技术人员熟知的——例如通过电穿孔、细胞显微注射或基于脂质体的转染方法。已经描述了使用包括慢病毒和腺病毒系统在内的逆转录病毒系统对iPSC中的非多能细胞进行重编程 (Stadtfield等人, 2008, 其特此以引用的方式整体并入)。成体细胞重编程为iPSC也可通过质粒完成, 而无需使用病毒转染系统 (Okita等人, 2008, 其特此以引用的方式整体并入)。

[0315] Oct-3/4

[0316] Oct-3/4 (Pou5f1; 可从Bioclone, San Diego, CA获得的cDNA) 是八聚体 (“Oct”) 转录因子家族中的一者, 并且在维持多能性中起关键作用。Oct-3/4+细胞如卵裂球和胚胎干细胞中Oct-3/4的缺乏导致自发滋养层细胞分化, 并且存在Oct-3/4因此产生胚胎干细胞的多能性和分化潜能。“Oct”家族中的各种其它基因 (包括Oct-3/4的近亲Oct1和Oct6) 未能引发诱导, 从而证明Oct-3/4对诱导过程的排他性。

[0317] Klf家族:

[0318] Klf家族基因的Klf4是用于产生小鼠iPS细胞的因子。Klf2 (可从Bioclone, Inc., San Diego, CA获得的cDNA) 和Klf4 (可从Bioclone, Inc., San Diego, CA获得的cDNA) 是能够产生iPS细胞的因子, 并且相关基因Klf1 (可从Bioclone, Inc., San Diego, CA获得的cDNA) 和Klf5 (可从ioclone, Inc., San Diego, CA获得的cDNA) 也如此, 尽管效率降低。

[0319] Sox家族

[0320] Sox基因家族与维持多能性相关, 类似于Oct-3/4, 但是它与多潜能和单能干细胞相关, 与仅在多能干细胞中表达的Oct-3/4形成对比 (Bowles等人, 2000, 其特此以引用的方式整体并入)。虽然Sox2 (可从Bioclone, San Diego, CA获得的cDNA) 是用于诱导的初始基因, 但已发现Sox家族中的其它基因在诱导过程中也起作用。Sox1 (可从Bioclone, Inc., San Diego, CA获得的cDNA) 产生与Sox2具有相似效率的iPS细胞, 并且基因Sox3 (可从Bioclone, Inc., San Diego, CA获得的人cDNA)、Sox15和Sox18也产生iPS细胞, 尽管效率降低。

[0321] Myc家族

[0322] Myc基因家族是牵涉于癌症中的原癌基因。C-myc (可从Bioclone, Inc., San Diego, CA获得的cDNA) 是牵涉于小鼠iPS细胞产生中的因子。然而, c-myc对于人iPS细胞的产生可能不是必需的。在iPS细胞诱导中使用“myc”基因家族对iPS细胞作为临床疗法的不测事件是麻烦的, 因为25%的移植有c-myc诱导型iPS细胞的小鼠发展致命性畸胎瘤。N-myc (可从Bioclone, Inc., San Diego, CA获得的cDNA) 和L-myc已被鉴定为代替c-myc以相似的效率诱导。

[0323] Nanog

[0324] 在胚胎干细胞中, Nanog (可从Bioclone, Inc., San Diego, CA获得的cDNA) 以及Oct-3/4和Sox2对于促进多能性是必需的 (Chambers等人, 2003, 其特此以引用的方式整体并入)。

[0325] LIN28

[0326] LIN28 (可从Bioclone, Inc., San Diego, CA获得的cDNA) 是在胚胎干细胞和胚胎癌

细胞中表达的与分化和增殖相关的mRNA结合蛋白 (Moss和Tang, 2003, 其特此以引用的方式整体并入)。

[0327] 在一些实施方案中, 所公开的产生iPSC的方法进一步包括诱导本公开的iPSC分化的步骤。在一些优选的实施方案中, 所公开的方法可进一步包括诱导本公开的iPSC分化成NKT细胞。因此, 本公开还提供了产生NKT细胞群体的方法, 所述方法包括使通过根据本公开的方法产生的iPSC分化成NKT细胞谱系。在一些实施方案中, 所公开的方法可进一步包括诱导本公开的iPSC分化成T细胞。因此, 本公开还提供了产生T细胞群体的方法, 所述方法包括使通过根据本公开的方法产生的iPSC分化成T细胞谱系。在其它实施方案中, 所公开的方法可进一步包括诱导本公开的iPSC分化成树突细胞。因此, 本公开还提供了产生树突细胞群体的方法, 所述方法包括使通过根据本公开的方法产生的iPSC分化成树突细胞谱系。此类分化细胞可用于根据本公开治疗受试者的癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病 (也称为微生物疾病) 的方法中。

[0328] ---

[0329] 本公开还提供了通过本文公开的任何方法产生或动员的分离的NKT细胞、分离的T细胞和分离的树突细胞, 以及通过本文公开的任何方法产生或动员的分离的NKT细胞、T细胞和树突细胞群体。还提供了通过本文别处详细描述的表面蛋白的模式表征的NKT细胞、T细胞和树突细胞、以及分离的NKT细胞、T细胞和树突细胞群体, 以及此类细胞在本公开的治疗方法中的用途。

[0330] 实施例

[0331] 以下实施例证明, 高剂量糖皮质激素受体激动剂除了引起外周血淋巴细胞的几乎完全淋巴细胞清除 (而不影响嗜中性粒细胞、血小板、RBC和干细胞的细胞计数) 外, 还可诱导产生新型NKT细胞群和T细胞, 以及动员新型激活的树突细胞群体。

[0332] 这些实施例还证明, 除了具有NKT细胞的已知性质外, 通过高剂量糖皮质激素受体激动剂诱导的NKT细胞群体还具有新的表面蛋白表达模式, 这使得它们能够直接吞噬癌细胞并表现出针对实体癌的增强的细胞毒性功效。

[0333] 因此, 高剂量的糖皮质激素激动剂代表了用于治疗癌症和由免疫细胞如淋巴细胞介导的疾病的有希望的疗法。

[0334] 材料和方法

[0335] 急性高剂量地塞米松在本文中也可称为Dex、AugmenStemTM、PlenaStemTM或AVM0703。在施用急性高剂量地塞米松 (AVM0703) 后诱导的新型NKT细胞群体在本文中也可称为AVM-NKT细胞。在施用急性高剂量地塞米松 (AVM0703) 后诱导的新型T细胞群体在本文中也可称为AVM-T细胞。在施用急性高剂量地塞米松 (AVM0703) 后诱导的新型树突细胞群体在本文中也可称为AVM-树突细胞。

[0336] 对于初始淋巴细胞清除研究, 将初次接受试验的C57B1/6小鼠通过经口灌胃用18mg/kg HED DP进行处理。雄性C57BL/6小鼠从Taconic Bioscience (Germantown, NY) 获得并适应实验室条件至少一周。向小鼠一次口服给予18mg/kg磷酸地塞米松 (DP) 或安慰剂并保持到时间点。根据表3, 每个给药时间点组伴随有相同年龄和条件的安慰剂组。使用GLP级AVM0703和安慰剂在24小时、48小时、72小时、5天、7天、11天、13天时间点给药。使用GMP级AVM0703和安慰剂在6小时、21天、28天、35天时间点给药。当小鼠达到研究时间点时, 如下对

它们实施安乐死。用异氟烷气体对小鼠进行麻醉。麻醉后,通过心脏穿刺抽血并立即置于肝素内衬的微管中。10mL的5U/mL肝素/PBS用于通过腹主动脉缓慢推动进行输注来进行逆行灌注,以冲洗掉脉管系统中所有剩余的血液。随后,将250uL的血液转移至顶部淡紫色的内衬EDTA的微管中,并运输至由Lynette Brown在Flow Contract Site Labs (Bothell,WA) 通过流式细胞术进行分析。剩余的血液被送至Phoenix Labs (Mukilteo,WA) 进行全血细胞计数和临床化学

[0337] 为了表征诱导的NKT细胞群体 (AVM-NKT),将初次接受试验的C57B1/6小鼠通过口服管饲用12至45mg/kg HED DP的高剂量AVM0703进行处理。随后以预定的时间间隔通过流式细胞术检查外周血以表征不同的免疫群体。用AVM0703处理后,鉴定了两种NKT细胞群体:定义为CD3^{med}CD49b⁺的NKT细胞和定义为CD3^高CD49b⁺的新型AVM-NKT细胞群体。AVM-NKT细胞可使用荧光激活细胞分选 (FACS) 分离以获得CD3^高CD49b⁺ (CD3^高 = 平均荧光强度高于 2×10^4)。

[0338] 实施例1-急性高剂量糖皮质激素受体激动剂导致外周血淋巴细胞的几乎完全淋巴细胞清除,但诱导独特的NKT细胞群体

[0339] 在国际专利申请PCT/US2019/054395中,本发明作者提出了一系列实验,证明高剂量糖皮质激素受体激动剂可导致外周血淋巴细胞的几乎完全淋巴细胞清除,以及减少淋巴器官中生发中心的数量并耗减胸腺淋巴细胞。这些效果是在不显著影响嗜中性粒细胞、血小板、RBC和干细胞 (造血干细胞HSC和间充质干细胞MSC两者) 的细胞计数的情况下实现的。

[0340] 在此,在初次接受试验的小鼠中进行的研究表明,施用高剂量糖皮质激素受体激动剂导致外周血淋巴细胞的几乎完全淋巴细胞清除,而不会显著影响嗜中性粒细胞、血小板、红细胞 (RBC) 和干细胞 (HSC和MSC两者) 的细胞计数。令人感兴趣地,还发现高剂量糖皮质激素受体激动剂诱导NKT细胞上调。

[0341] 如图1所示,与安慰剂相比,高剂量地塞米松 (18mg/kg HED DP) 显著降低绝对淋巴细胞计数 (ALC减去NK和NKT细胞) ——在施用后持续长达21天的效果。在施用后6和48小时观察到几乎完全的淋巴细胞清除,其效果与使用标准Cy/Flu化学疗法 (13mg/kg HED环磷酰胺和0.8mg/kg HED氟达拉滨) 实现的效果相当。

[0342] 高剂量地塞米松选择性地消除T和B淋巴细胞 (与标准Cy/Flu化学疗法相当;图2)、单核细胞 (优于Cy/Flu化学疗法;图3),并在目标临床剂量下淋巴清除嗜中性粒细胞 (图4)。嗜碱性粒细胞 (仅在6小时时间点减少)、嗜酸性粒细胞 (仅在24和48小时时间点减少)、血小板 (参见图5) 和RBC都不受影响,而HSC (图6) 和MSC不受影响或增加。(* $p < 0.05$; # $p < 0.0001$)。

[0343] 出人意料地,高剂量地塞米松还显示诱导NKT上调 (图7) 和产生新型NKT细胞群体 (AVM-NKT)。当通过流式细胞术检查时,这些新型AVM-NKT细胞是CD49b⁺和CD3^{极亮} (CD3^高CD49b⁺)。先前描述的NKT细胞表达CD3, MFI比AVM-NKT细胞低1log (CD3^{med}CD49b⁺; 图8)。AVM-NKT细胞在高剂量 (HED 18.1mg/kg) 的糖皮质激素受体激动剂地塞米松和倍他米松施用后48小时出现在小鼠血液中,但不由标准Cy/Flu化学疗法诱导。

[0344] 剂量递增研究表明,介于6-12mg/kg HED地塞米松碱之间的单次剂量可诱导AVM-NKT细胞。15mg/kg HED地塞米松碱诱导AVM-NKT细胞的特别稳健产生,6+6mg/kg HED给药时间表也如此。

[0345] 实施例2-AVM-NKT细胞负责体内T和B淋巴细胞清除

[0346] 将来自初次接受试验的雄性C57B1/6小鼠外周血的单核细胞或单细胞脾细胞与相等浓度的AVM0703一起孵育,因为急性高剂量AVM0703的峰值血液浓度在体内达到。在向体外外周血单核细胞或单细胞脾细胞添加AVM0703后72小时内,未观察到细胞凋亡。外周血单核细胞或脾细胞体外细胞凋亡的缺乏表明体内淋巴细胞清除主要是由于AVM-NKT细胞的诱导。

[0347] 实施例3-AVM-NKT细胞归巢于肿瘤部位

[0348] 在初步研究中,将初次接受试验的C57B1/6小鼠用高剂量地塞米松处理,外周血通过流式细胞术在预定的时间间隔进行检查,以表征不同的免疫群体。在用高剂量地塞米松处理后,鉴定了两种NKT细胞群体:定义为CD3^{med}CD49b⁺的NKT细胞和定义为CD3^高CD49b⁺的新型AVM-NKT细胞群体(图8)。

[0349] 在超药理学剂量(HED 18.1mg/kg)地塞米松(AVM0703)或倍他米松后48小时,AVM-NKT被发现在初次接受试验的小鼠的血液中出现。相反,通过标准Cy/Flu化学疗法和甲基泼尼松,这些细胞均未诱导至任何显著程度。

[0350] 如图9和表2所示,在正常小鼠中,AVM-NKT细胞在地塞米松给药的48小时内脾脏中被诱导,从地塞米松试验后48小时在外周血中明显,并且在血流中保持明显直到地塞米松施用后第13天。在初次接受试验的安慰剂处理的小鼠的脾脏中未检测到AVM-NKT细胞。环磷酸胺/氟达拉滨施用未诱导这种新型NKT群体。

[0351] 表2:在有和无AVM0703处理的初次接受试验和A20小鼠的血液、脾脏和肿瘤中AVM-NKT细胞的存在

[0352]	AVM-NKT 细胞的存在	3 小时血液	3 小时脾脏	3 小时肿瘤	48 小时血液	48 小时脾脏	48 小时肿瘤
	初次接受试验安慰剂	ND	ND	NA	阴性	阴性	NA
	初次接受试验AVM0703	ND	ND	NA	+++	阳性	NA
	A20 模型安慰剂	+	+++	+	阴性	ND	+
	A20 模型AVM0703	++	---	++++	阴性	ND	+++

[0353] NA:不适用;ND:未进行

[0354] 与在正常无疾病小鼠中观察到的AVM-NKT上调的时程相比,对A20 B细胞淋巴瘤荷瘤小鼠中AVM-NKT细胞的定量发现外周血中不存在AVM-NKT细胞。相反,在这些荷瘤小鼠中,AVM-NKT细胞似乎归巢于肿瘤部位——在地塞米松施用后48小时检查时,所述肿瘤部位的坏死增加是明显的(图10)。

[0355] 与此一致,高剂量地塞米松显示在A20模型中显著延迟肿瘤生长(图11;实施例15)。因为A20细胞在体外高剂量地塞米松处理后72小时仅经历约30%的细胞凋亡,因此认为AVM-NKT细胞在控制肿瘤生长中起作用。

[0356] 将200万个在收获时细胞密度为1.8e7个细胞/mL的A20 B淋巴瘤细胞与相等体积的Matrigel(各自100u1)混合并皮下注射到BALB/c小鼠的左侧腹中(200u1总体积),从而产

生B细胞淋巴瘤的实体瘤模型。在肿瘤形成后(大约7天或约100-150mm³左右,其是良好建立的肿瘤),将小鼠根据如下所示的给药表进行处理。每周三次用卡尺测量肿瘤体积,并使用等式 $V=L \times W^2 \times 0.5$ 计算肿瘤体积。每周三次和给药日也测量体重以确定适当的剂量。一旦小鼠达到1500mm³的肿瘤体积或体重减轻大于20%,就认为小鼠处于研究终点。当小鼠达到研究终点时,如下对它们实施安乐死。用异氟烷气体对小鼠进行麻醉。一旦麻醉,就通过心脏穿刺抽血,然后用10mL的5U/mL肝素/PBS灌注。通过剥去小鼠右侧后侧的皮肤,从右侧腹移除肿瘤。将皮肤拉长并固定,并用手术刀轻轻刮擦,将肿瘤与皮肤分离。将肿瘤固定48小时,然后将其转移至70%乙醇中并在4℃下储存在盒中。将肿瘤运送至HistotoxLabs (Bolder, CO) 进行切片和染色。通过NKp46染色鉴定肿瘤中的NKT细胞。

[0357] 实施例4-血癌增强外周血中AVM-NKT细胞的浓度。

[0358] 在对数生长期,通过尾静脉注射1-5M淋巴瘤细胞将小鼠接种T或B细胞淋巴瘤。6小时至13天后,从小鼠收获血液,并通过流式细胞术对CD3极高(MFI比T淋巴细胞高至少0.5log)且CD49b阳性细胞进行门控或通过对NKp46进行门控来确定血液中的AVM-NKT数量。与初次接受试验或携带实体瘤的小鼠相比,如包裹在Matrigel中并在侧腹皮下植入的T或B淋巴瘤细胞,具有循环T或B淋巴瘤细胞的小鼠在外周血中具有显著增加的AVM-NKT数量。

[0359] 实施例5-在初次接受试验的Balb/c小鼠中在约29mg/kg和更高AVM0703剂量(作为DP给予)后48小时在骨髓和脂肪组织中诱导AVM-NKT。

[0360] Balb/c小鼠具有MHC单倍型“d”:H-2K是d(H-2K_d)。H-2D是d(H-2D_d)。H2-L是d(H-2L_d)。Aαβ是d,d。Eαβ是d,d。Mls1是b。Mls 2是a。I-A是d(I-A_d)。I-E是d(I-E_d)。Qa-1是b(Qa-1_b)。Qa-2是a(Qa-2_a)。

[0361] C57B1/6小鼠具有MHC单倍型“b”:H-2K是b(H-2K_b)。H-2D是b(H-2D_b)。H2-L是空。Aαβ是b,b。Eαβ是b,b。Mls1是b。Mls 2是b。I-A是b(I-A_b)。I-E是空。Qa-1是b(Qa-1_b)。Qa-2是a(Qa-2_a)。

[0362] 在初次接受试验的Balb/c小鼠中诱导的AVM NKT是CD3 MFI高,类似于在初次接受试验的C57B1/6小鼠中诱导的外周血AVM-NKT,并且初次接受试验的Balb/c小鼠中的AVM-NKT为TCR γ/δ阳性。许多细胞为NKp46阴性的,从而表明它们未被激活。此实施例证明MHC表达可确定靶器官。

[0363] MHC可控制AVM_NKT细胞的运输:AVM_NKT细胞位于初次接受试验的AVM0703处理的雄性C57B16小鼠的血液中。AVM_NKT细胞位于初次接受试验的AVM0703处理的雄性Balb/c小鼠的脂肪和骨髓中。AVM_NKT细胞位于AVM0703处理的雄性荷瘤Balb/c小鼠的肿瘤中。初次接受试验的Balb/c小鼠中的新NKT还为tCRgd阳性、B220-、NKp46+/-、Ly6G-、CD4-、CD8-、CD3高、MFI 10492和CD49b+。

[0364] 实施例6-AVM-NKT的表征

[0365] 初始研究发现,在处理约48小时,在用高剂量糖皮质激素受体激动剂(例如地塞米松和倍他米松)处理的动物的外周血中出现AVM-NKT。当通过流式细胞术检查时,发现通过高剂量糖皮质激素受体激动剂诱导的新型AVM-NKT细胞群体为CD49b+和CD3极亮(CD3高CD49b+)。相比之下,先前描述的NKT细胞表达CD3,MFI比AVM-NKT细胞低1log(CD3medCD49b+;图8)。

[0366] 在后续实验中,将C57B1/6动物用高剂量地塞米松(15mg/kg HED地塞米松碱)处

理,并通过流式细胞术在预定的时间间隔检查外周血,以表征不同的免疫群体,并且特别是新型AVM-NKT细胞群体。

[0367] CD4

[0368] 通过高剂量糖皮质激素受体激动剂诱导的AVM-NKT细胞为CD4极亮(CD4高)。CD4中值荧光强度高于其它CD4⁺ T细胞的典型NKT事件的CD4 MFI。CD4 MFI在15mg/kg HED地塞米松碱后6小时至13天内保持恒定(图16)。

[0369] CD8

[0370] 通过高剂量糖皮质激素受体激动剂诱导的AVM-NKT细胞为CD8暗。在6小时时间点,CD8+MFI并不比典型NKT细胞高1log,然后在接下来的5天内线性下降。不到50%在72小时和第5天保持CD8⁺,但在15mg/kg HED地塞米松碱天后第7-13天恢复CD8⁺(图17)。

[0371] 大多数AVM-NKT细胞为CD4和CD8双阳性,相比之下典型NKT不为双阳性(图12、13、14)。AVM NKT细胞中没有一个对CD4和CD8呈双阴性(图14)。已知的NKT细胞(CD3med)大多为双阴性或CD4⁺,具有一些CD8⁺细胞(图14)。对于这些已知的NKT细胞,CD4和CD8表达模式在地塞米松碱基后不随时间变化。

[0372] AVM-NKT在15mg/kg HED地塞米松碱后48小时为CD4⁺CD8⁺,随时间推移失去CD8阳性,然后在稍后时间点似乎再次变成CD4⁺CD8⁺。它们在AVM0703后48小时明显,并且发现直到第13天。

[0373] CD3

[0374] 通过高剂量糖皮质激素受体激动剂诱导的AVM-NKT细胞为CD3极亮(CD3高),表达CD3的MFI与文献中描述的已知NKT细胞相比高约1log,并且与在C57B1/6雄性小鼠中明显的其它NKT细胞相比高约1log(图15)。

[0375] Ly6G

[0376] 通过高剂量糖皮质激素受体激动剂诱导的AVM-NKT细胞为Ly6G阳性(图18)。Ly6G是完全成熟和分化的嗜中性粒细胞或粒细胞的标志物,并且也牵涉于抗肿瘤应答中。Ly6G通常是单核细胞以及嗜中性粒细胞和粒细胞的标志物,表明AVM-NKT不同于已知的NKT细胞,并且可能不仅能够直接杀死表达CD1d的癌细胞,以及激活其它NK细胞以及B和T淋巴细胞并分泌细胞因子,而且也可能能够直接吞噬癌细胞和病原体。

[0377] TCR γ/δ

[0378] 通过高剂量糖皮质激素受体激动剂诱导的AVM-NKT细胞为TCR γ/δ 阳性。

[0379] Ly6G和TCR γ/δ 的表达表明AVM-NKT细胞除了具有已知的NKT细胞功能外,还可直接吞噬癌细胞或病原体。

[0380] CD45

[0381] 通过高剂量糖皮质激素受体激动剂诱导的AVM-NKT细胞为CD45暗。

[0382] CD49b

[0383] 通过高剂量糖皮质激素受体激动剂诱导的AVM-NKT细胞为CD49b阳性。CD49b是自然杀伤(NK)细胞的标志物;表达CD49b的NK细胞的细胞毒性远大于不表达CD49b的NK细胞。

[0384] CD62L

[0385] 通过高剂量糖皮质激素受体激动剂诱导的AVM-NKT细胞为CD62L阳性。

[0386] NK1.1

[0387] 在C57B1/6小鼠中,通过高剂量糖皮质激素受体激动剂诱导的AVM-NKT细胞为NK1.1阳性。NK1.1是成熟NK细胞的标志物;它的激活诱导NK细胞杀死在其它方面不敏感的靶标,并且还可诱导NK细胞增殖。

[0388] Sca1

[0389] 通过高剂量糖皮质激素受体激动剂诱导的AVM-NKT细胞为Sca1极亮。Sca1 (Ly6A) 是用于鉴定造血干细胞 (HSC) 以及其它标志物的常见生物标志物。它在AVM-NKT细胞上的亮表达可表明这些是激活的记忆干细胞。

[0390] C-kit

[0391] 通过高剂量糖皮质激素受体激动剂诱导的AVM-NKT细胞为C-kit阴性。因此它们不是造血干细胞。

[0392] B220

[0393] 通过高剂量糖皮质激素受体激动剂诱导的AVM-NKT细胞为B220阴性。B220是B细胞的标志物。

[0394] FoxP3

[0395] 通过高剂量糖皮质激素受体激动剂诱导的AVM-NKT细胞为AFoxP3阴性。FoxP3是调控性细胞的标志物——因此,AVM-NKT不是调控性细胞,并且不应抑制对癌症或病原体的免疫应答。

[0396] TCR α/β

[0397] 通过高剂量糖皮质激素受体激动剂诱导的AVM-NKT细胞为TCR α/β 阴性。

[0398] CD44+/-、CD69+/-、CD25+/-

[0399] 通过高剂量糖皮质激素受体激动剂诱导的AVM-NKT细胞为CD44+/-、CD69+/-和CD25+/-。

[0400] CD44表达是效应记忆T细胞的指示性标志物。CD69和CD25是细胞激活的标志物。

[0401] 基于上述表征实验,通过高剂量糖皮质激素受体激动剂诱导的AVM-NKT细胞似乎是激活的效应记忆干细胞类型,其可具有快速吞噬癌细胞和病原体(它们是Ly6G和TCR $\gamma \delta$ 阳性)的能力、直接杀死癌细胞和通过CD1d表达呈递脂质的其它细胞,并且能够作为CD4和CD8变种的长期T淋巴细胞发挥作用。此外,它们还可能能够响应于癌细胞或病原体快速释放细胞因子,从而能够激活对免疫应答重要的其它细胞。

[0402] AVM-NKT细胞似乎增加直接吞噬癌细胞的潜力扩大了高剂量糖皮质激素受体激动剂作为实体癌的治疗剂的潜力。AVM-NKT细胞作为现成的同种异体治疗,单独或与NKT激活剂或检查点抑制剂组合或作为AVM-NKT-CAR,可在实体瘤的治疗中具有广泛应用。此外,由于直到AVM0703处理后才观察到AVM-NKT细胞,因此AVM-NKT数量可能不会限制治疗,例如老年人和癌症患者中NKT的数量低限制iNKT用于自体疗法。

[0403] 实施例7-急性高剂量地塞米松在T细胞和B细胞淋巴瘤中具有肿瘤杀伤作用

[0404] 在A20 B细胞淋巴瘤肿瘤模型中高剂量地塞米松显示显著延迟肿瘤生长(图11)。为了研究A20 B细胞淋巴瘤肿瘤模型和T细胞淋巴瘤异种移植物模型(CCRF-CEM)中AVM-NKT产生和肿瘤杀伤作用的最佳给药时间表,进行了随后的一系列给药实验。所测试的给药时间表概述于下表3中。

[0405]

表 3: 示例性给药时间表

研究	设计	AVM0703 剂量(DP) mg/kg HED	剂量 1	剂量 2	剂量 3	剂量 4	剂量 5	剂量 6	剂量 7	剂量 8	剂量 9
A20_1	重复	18	7	10	18	23	24	29	36	43	50
		在之后#结 束 pt						1	3	1 例耐 药性?	
	1-10 完全坏死按上述给药;										
	小鼠 1-5 完全坏死如在此所示给药										
A20-3	DRC	7, 18, 25	10	17	25	32	39	18 和 26 mg/kg 50%-80%坏死			
观察到坏死 DRC 和与 DRC 负相关的 CD3 标记											
A20_4	组合 CyFlu	18	11	AVM	14	AVM	67	AVM	74	CyFlu	
				CyFlu							
				CyFlu							
A20_5	DRC	18, 22, 25	15	31	38	45					
A20_7	AVM, APP, Mylan	18	9	16	23						
A20 是小鼠 B 淋巴瘤											
CCRF-CEM	Xeno 人 T 淋巴瘤	18	7	14	21	28	35	42	49	56	63
	没有任何肿瘤生长										

[0406]

研究	设计	AVM0703 剂量(DP) mg/kg HED	剂量 1	剂量 2	剂量 3	剂量 4	剂量 5	剂量 6	剂量 7	剂量 8	剂量 9
DRC: 剂量反应曲线		剂量是肿瘤植入后多少天									

[0407] 实施例8-AVM-NKT细胞负责体内T和B淋巴细胞清除。

[0408] 血液和脾脏取自初次接受试验的C57B16小鼠。从血液分离单核细胞,并且从脾脏

分离单细胞脾细胞。将细胞与高达500微摩尔浓度的磷酸地塞米松一起孵育直至72小时,然而未观察到体外细胞凋亡。因此,完全体内T和B淋巴细胞清除似乎是由AVM-NKT介导的,而不是基于受体的机制,如糖皮质激素受体的激活。

[0409] 实施例9-分离并扩增AVM-NKT细胞,然后用于在细胞疗法之前对患者进行预处理。

[0410] 自体或同种异体AVM-NKT细胞在施用细胞疗法之前6至96小时之间静脉内或腹膜内施用于患者。细胞疗法可用于再生目的、用于治疗癌症、用于治疗自身免疫性疾病或用于治疗感染或需要细胞疗法的任何其它医学疾患。

[0411] 实施例10-AVM-NKT诱导肿瘤溶解综合征

[0412] AVM-NKT靶向肿瘤并形成攻击细胞带,像军队一样从四面八方侵入肿瘤。肿瘤溶解综合征发生,并且在小鼠中不能治疗并可能导致死亡。肿瘤溶解综合征的临床化学标志物升高,如尿酸。肿瘤的肉眼检查显示包裹在肿瘤膜中的污泥状油。

[0413] 实施例11-AVM-NKT细胞用于使患者准备进行癌症或其它严重医学治疗

[0414] 将自体或同种异体AVM-NKT细胞静脉内或腹膜内施用于具有阻止他们进行药物治疗(如化学疗法、细胞疗法、器官或骨髓移植)的行为状态的患者。患者的行为状态得到改善,使得它们有资格接受医学治疗。

[0415] 实施例12-AVM-NKT细胞导致肿瘤假性进展

[0416] 用AVM-NKT细胞治疗的肿瘤似乎继续生长,然而,这种生长是由于AVM-NKT细胞通过释放细胞因子和趋化因子或通过直接接合其它免疫细胞而吸引至肿瘤的其它免疫细胞引起的肿瘤假性进展。最终,肿瘤变得完全无细胞并被吸收。

[0417] 实施例13-AVM-NKT细胞用于治疗任何类型的癌症、移植物抗宿主病、自身免疫或免疫疗法的免疫相关不良事件

[0418] AVM-NKT细胞归巢至并靶向血液癌症和实体癌、和纤维瘤、良性肿瘤以及自身反应性T和B淋巴细胞。

[0419] 实施例14-急性高剂量糖皮质激素受体激动剂也诱导独特的T细胞和树突细胞群体

[0420] 除了实施例1-6中描述的新型NKT细胞群体(AVM-NKT)外,本发明作者已表明高剂量地塞米松动员新型CD3极高T细胞群体(AVM-T细胞;图20),和CD11b极高树突细胞(AVM-树突状细胞;图21)。

[0421] 通过高剂量糖皮质激素受体激动剂诱导的AVM-T细胞为CD3极亮(CD3高)。与新型AVM-NKT细胞一样,新型AVM-T细胞表达的CD3比典型T或NKT细胞高1-1.5log(图20)。通过高剂量糖皮质激素受体激动剂诱导的AVM-T细胞为CD4阳性。通过高剂量糖皮质激素受体激动剂诱导的AVM-T细胞为CD45暗。通过高剂量糖皮质激素受体激动剂诱导的AVM-T细胞为CD49b阳性(人中CD56阳性)。通过高剂量糖皮质激素受体激动剂诱导的AVM-T细胞为CD8阳性。

[0422] 通过高剂量糖皮质激素受体激动剂诱导的AVM-树突细胞为CD11b极亮(CD11b极高)。CD11b极高AVM-树突细胞表达的CD11b比常规CD11b+树突细胞高约1log。高剂量地塞米松还增加血液中的常规CD11b+树突细胞浓度(图21)。

[0423] 因为高剂量糖皮质激素(地塞米松)动员新型CD3极高自然杀伤T细胞(AVM-NKT)、新型CD3极高T细胞(AVM-T细胞)和CD11b极高树突细胞(AVM-树突细胞),所以据信高剂量糖

皮质激素如地塞米松和倍他米松将在治疗癌症、自身免疫性疾病和感染性疾病中具有临床效用。

[0424] 实施例14和15中呈现的数据证明新型AVM-NKT显著归巢于肿瘤以杀死肿瘤,并且在检查点抑制剂已被证明无效的癌症模型中是有效的。因为AVM-NKT细胞仅在AVM0703治疗后动员(与其它持续循环的NK和NKT不同),因此AVM-NKT数量可能在患者中不受限制。

[0425] iNKT细胞已被证明降低甲型流感介导的炎症和疾病严重程度,并且CD11b+DC牵涉于针对呼吸道合胞病毒和甲型流感(H1N1)的保护中。因为已知具有较低CD3和CD11b表达水平的细胞在这些中有效,所以鉴于动员的CD3极高NKT和T细胞,很可能高剂量糖皮质激素如地塞米松和倍他米松应该甚至更有效,并且因为它不仅增加常规CD11b+树突细胞的数量,而且还动员通常不会观察到的CD11b极高表达树突细胞。

[0426] 实施例15-急性高剂量地塞米松在B细胞淋巴瘤A20模型中减小肿瘤体积并提高总体存活期

[0427] 小鼠A20淋巴瘤模型是极具侵袭性的肿瘤模型,因为它采用多种直接(免疫抑制分子PD-L1、IDO和IL-10的表达,以及CD80共刺激分子的表达缺乏)和间接(下调APC功能和诱导Treg细胞)免疫逃避机制。此外,在以下描述的研究中,直到A20肿瘤非常良好建立时才给予AVM0703,在体积介于约120至400mm³时。

[0428] 雄性BALB/c小鼠在侧腹皮下接种包埋在Matrigel中的A20 B淋巴瘤细胞。肿瘤体积通过卡尺测量进行监测,并且当肿瘤在约150mm³良好建立时,或对于研究“AVM_CANMOD_05”在约400mm³非常良好建立时,将小鼠用7、18、22或25mg/kg HED剂量的AVM0703处理。终点通常定义为1500mm³的肿瘤体积。

[0429] 通过对通过HistoTox Labs (Boulder, CO) 针对坏死或使用MetaMorph分析或显微镜明场评估针对存活肿瘤盲法评分的肿瘤的分析证明,尽管具有可测量的肿瘤体积,但一些AVM0703处理的小鼠具有完全坏死且甚至完全吸收的肿瘤。通过HistoTox Labs盲法评分的坏死在18、22和25mg/kg剂量结果合并时显著更高,并且在分别分析22和25mg/kg AVM0703处理的小鼠时也显著更高。

[0430] 一些AVM0703处理的小鼠在研究结束时没有可测量的肿瘤,或者通过MetaMorph或显微镜明场检查肿瘤完全坏死或吸收,或者肿瘤通过HistoTox Labs收到最大坏死评分5。汇集这些小鼠并使用Fisher精确检验进行列联表分析。在用介于18与25mg/kg之间AVM0703处理的52只小鼠中,10只小鼠根据上述标准具有完全应答;相比之下,21只安慰剂处理的小鼠中0只具有完全应答。

[0431] 总之,这些数据表明AVM0703在18mg/kg和更大HED时针对侵袭性淋巴瘤具有显著功效(表4和5)。还发现AVM0703治疗在试验性异种移植无模型中对人T细胞淋巴瘤CCRF-CEM生长产生深远的抑制作用(参见实施例15)。

[0432] 表4:A20 B细胞淋巴瘤模型的总结

[0433]

			HistoTox Labs 坏死 H & E (0-5)	MetaMorp h 坏死百分比	MetaMorph 活肿瘤面积 (AU × 1000)	根据任何 量度完全 坏死/吸收
安慰剂		平均值	2.3 n=15	50 n=17	90 n=17	21 只中 0 只
AVM0703	18、22 和 25 mg/kg	平均值	2.9* n=41	59 n=40	75 n=40	**52 只中 的 10 只
	18 mg/kg	平均值	2.7 n=15	59 n=18	66^ n=18	**26 只中 的 8 只
	22 mg/kg	平均值	3.0* n=11	53 n=11	87 n=11	11 只中 0 只
	25 mg/kg	平均值	3.1* n=13	63 n=11	77 n=11	13 只中 2 只
*未配对 t 检验 Welch 校正, p<0.05。 ^未配对 t 检验 Welch 校正, p<0.06。 ** Fisher 精确检验, p<0.05。						

[0434]

AU = 任意单位; H & 乙 = 苏木精和伊红。

[0435]

结果

表5: 坏死、死面积百分比、活面积百分比和显微镜坏死/无细胞百分比的单独研究

[0436]

给药 时肿 瘤 mm ³	组	剂量天 数	从最后 一个剂量至 肿瘤收获 的天数	HistoTox Labs 坏死 H & E (0-5)	MetaMorph 坏死百分比	MetaMorph 活肿瘤面积 (AU × 1000)	EVOS 明 场 坏死/吸 收百分比
391 mm ³ [1]	安慰剂	16	2	3, 2, 2, 2.5, 3	87, 57, 52, 39, 81	36, 91, 228, 141, 54	ND
	18 mg/kg			4, 4, 3, 3, 2	84, 91, 78, 68, 78	50, 55, 48, 74, 19	ND
	22 mg/kg			3, 3, 3, 4	82, 64, 72, 83	75, 95, 52, 81	ND
	25 mg/kg			5, 5, 3, 2	100, 72, 78, 51	6, 54, 157, 48	ND
120 mm ³ [2]	安慰剂	7, 10, 18, 23, 24, 29, 36, 43	3, 3, 6, 6, 3, 3	ND	ND	ND	10, 20
	18 mg/kg						100, 100, 100, 100, 100, 100
158 mm ³ [3]	安慰剂	9, 16, 23, 32		2,2			ND
	7 mg/kg		3	3,3			
	18 mg/kg		3	5,4			
	25 mg/kg		3	3,4			
142 mm ³ [4]	安慰剂	11, 14	14-28	ND	60, 54, 64, 29	87, 97, 51, 182	ND
	18 mg/kg	11, 14	18-28		43, 53, 68, 50	108, 107, 50, 112	
	Cy/Flu	11, 14	76-81		36, 100, 100	169, 0, 0	
	18 mg/kg Cy/Flu	11, 14	6, 66-81		90, 100, 91, 65, 61	11, 0, 35, 25, 11	
384 mm ³ [5]	安慰剂	15, 31, 38, 45		2.5, 2, 3.5, 2, 3, 2.5, 1.5, 1.5	75,38, 28,47, 59,15, 31, 43	26, 87, 110, 49, 80, 80, 71, 73	ND
	18 mg/kg		4-13	2, 1, 2, 2.5, 3, 3, 2.5, 1	71,17, 36,100, 51,33, 35,42, 69	53, 95, 76, 0, 67, 90, 97, 68, 27	小鼠 11 肿瘤完全 吸收
	22 mg/kg		1-15	2.5, 3, 3, 3, 2, 3.5, 2.5	26, 43, 62, 36, 29, 43, 45	77, 67, 56, 87, 76, 136, 152	ND
	25 mg/kg		1-13	2, 2.5, 2, 2.5, 4, 3, 2.5	56, 54, 55, 54, 67, 37, 69	84, 124, 131, 78, 86, 38, 44	ND
1. 研究 AVM CANMOD 05 – 淋巴细胞清除子集。							

[0437]

2. 研究 AVM_CANMOD_01。

3. 研究 AVM_CANMOD_03。

4. 研究 AVM_CANMOD_04。

5. 研究 AVM_CANMOD_05 – 终点分析子集。

AU = 任意单位; Cy/Flu = 环磷酰胺/氟达拉滨; H & E = 苏木精和伊红; ND = 未确定。

[0438] AVM_CANMOD_01

[0439] 在第一研究 (“AVM_CANMOD_01”) 中, AVM0703减小肿瘤体积的能力及其对总体存活期的影响在具有良好建立的皮下A20肿瘤的BALB/c小鼠 (11周龄) 中进行了研究。将小鼠随机分为2组, 并在接种后第7、10、18、23、24、29、36和43天用18.06mg/kg AVM0703HED DP (n=5) 或安慰剂 (n=4) 口服处理。

[0440] 在5只AVM0703处理的小鼠中, 4只小鼠各自在7个剂量后达到终点, 并且1只小鼠在8个剂量后达到终点。研究终点被定义为1500mm³的肿瘤体积或体重减轻大于20%。在各自18.06mg/kg的8个剂量情况下, 后者小鼠在36天内接受的总剂量是145mg/kg HED。如果小鼠达到终点, 则对其实施安乐死, 并在尸检期间检查器官 (结肠、脾脏、胰腺和胸腺) 并称重。

[0441] 在用AVM0703处理的小鼠中, 肿瘤生长延迟 (图22)。用AVM0703处理的小鼠达到肿瘤体积终点的时间是用安慰剂处理的小鼠大约2倍长。AVM0703处理的小鼠达到终点的中值时间为41天, 而仅接受安慰剂的小鼠从给药的第一天起到终点的中值时间为22天 (图23)。

[0442] 显微镜分析揭示, 与安慰剂相比, AVM0703处理的小鼠的肿瘤结构存在显著差异。安慰剂肿瘤具有开放结构, 其内部显示出清晰的细胞结构, 从而表明肿瘤的中部富含肿瘤细胞。用AVM0703处理的肿瘤具有更致密的结构, 显示广泛坏死区域。经处理的肿瘤的中部似乎没有细胞存在 (图23)。

[0443] AVM处理组中的一只小鼠达到20%体重减轻阈值并在46天和8剂AVM0703后实施安乐死 (图24)。胰腺、胸腺和脾脏的组器官重量与体重比率在研究终点没有显著差异; 然而, 在AVM0703处理组中, 结肠与体重比率略有增加。由于AVM0703处理的小鼠在安慰剂处理的小鼠达到研究终点后14与40天之间达到研究终点, 所以结肠重量的增加可能是由于小鼠的年龄增加 (图25)。

[0444] 为了确定每只小鼠的脾脏重量或胸腺重量与体重比率的变化是否可指示重复给药对AVM0703的持续应答性, 根据AVM0703给药后的天数和在达到终点之前接受的AVM0703剂量的总数分离数据。

[0445] 结果表明, 胸腺和脾脏对重复AVM0703给药持续7剂仍保持响应, 在第8剂量时响应丧失 (图26)。在第7AVM0703剂量后的第1天和第3天, 脾脏和胸腺重量均出现下降, 如所预期, 在AVM0703给药后天恢复。

[0446] AVM_CANMOD_03

[0447] 在第二研究 (“AVM_CANMOD_03”) 中, 在肿瘤接种后第9、16、24和31天向BALB/c小鼠 (n=5只/组) 给予浓度增加的AVM0703HED DP (7、18和26mg/kg)。当肿瘤大约500mm³时开始处理, 与研究AVM_CANMOD_01中150mm³的良好建立的肿瘤形成对比。

[0448] 在安慰剂和7mg/kg组中观察到类似的功效。18和26mg/kg组具有相似的疗效, 并且显示与低剂量组和安慰剂组的一定区别。在安乐死时, 任何一组小鼠的脾脏、胸腺、结肠或

胰腺重量之间均未发现显著差异。终点曲线显示中值存活期没有显著差异,尽管与安慰剂处理的小鼠相比,用18和26mg/kg处理的小鼠的中值存活期多大约6天。不存在小鼠的突然死亡。

[0449] 基于研究AVM_CANMOD_01中来自AVM0703处理的小鼠的肿瘤中假性生长的证据,肿瘤(n=2只/组)被送至HistoTox Labs进行切片和免疫组织化学。苏木精和伊红染色鉴定了若干坏死区域,并且根据严重程度从0至5对载玻片进行评分。来自用AVM0703处理的小鼠的肿瘤具有较大坏死区域,并且给予18mg/kg DP的小鼠如评分图所示具有最大程度的坏死(图27C和图27E)。

[0450] CD3表达在安慰剂小鼠中最高,并且随着DP的浓度增加而明显降低(图28)。当针对NKp46(一种NK细胞标志物)进行染色时,随着DP的浓度增加,细胞染色明显增加。安慰剂处理的肿瘤中的NK细胞(图29A)集中在肿瘤中的血管周围。然而,在用AVM0703处理后,NK细胞位于肿瘤生长与坏死区域之间的边缘。由此得出结论,NK细胞有助于扩大肿瘤内的坏死。针对NK细胞标志物CD49b染色的肿瘤具有高背景和肿瘤微血管周围上皮组织的染色。随着AVM0703的剂量增加,圆形细胞的染色明显减少,如黑色箭头所示(图30)。最后,将肿瘤切片针对半胱天冬酶3染色,半胱天冬酶3是一种凋亡细胞标志物。与安慰剂相比,在所有剂量的AVM0703情况下凋亡染色都有所增加。这包括坏死区域周围的细胞凋亡的强染色,以及肿瘤生长区域中的孤立细胞凋亡(图31)。

[0451] 总之,用AVM0703处理导致表达NKp46的细胞增加,所述细胞定位至并最有可能导致肿瘤内的坏死。已知激活的NKT细胞失去CD3和CD49b表达,并且因此,升高的NK活性很可能是肿瘤的NK和NKT细胞浸润的组合。AVM0703还诱导肿瘤内细胞凋亡增加(图31)。这表明AVM0703可触发不止一种肿瘤杀伤机制。

[0452] AVM_CANMOD_04

[0453] 在第三研究(“AVM_CANMOD_04”)中,向具有建立的A20肿瘤的BALB/c小鼠给予AVM0703和化学疗法(环磷酰胺/氟达拉滨[Cy/Flu])。将小鼠随机分为以下组(n=3至5只/组):1)安慰剂;2)AVM070318mg/kg HED DP口服(P0)(第11天和第14天);3)Cy/Flu(第11天和第14天)[13.5mg/kg/0.8mg/kg,腹膜内(IP)/IP];4)AVM070318mg/kg HED DP P0(第11天),然后Cy/Flu[13.5mg/kg/0.8mg/kg,IP/IP](第14天)。

[0454] 在接受2剂Cy/Flu的小鼠和接受1剂AVM0703和1剂AVM0703的组合、随后1剂Cy/Flu的小鼠中,肿瘤生长减少。组合处理的小鼠在肿瘤接种后达到终点的中值时间为73天,而Cy/Flu组中的小鼠没有一个在研究结束时(肿瘤接种后95天)达到终点。

[0455] 将来自此研究的肿瘤石蜡包埋并切片。来自每个肿瘤的两个切片图像被转发至AVM。随后将肿瘤切片的图像上传到MetaMorph图像分析软件。使用图像阈值软件测量死亡的肿瘤百分比。随后通过从总肿瘤面积中减去阈值面积来计算存活肿瘤面积。所有工作都是在对图像所属的组不知情的情况下进行的。

[0456] 对于在第11天和第14天给药的Cy/Flu组,3只小鼠中有2只在终点时没有肿瘤;然而,第三只小鼠明显复发并且具有非常大的肿瘤,其存活肿瘤面积为169,362任意单位(AU)。AVM0703(第11天)和Cy/Flu(第14天)组合组中的一只小鼠的肿瘤被完全吸收(图32),但肿瘤面积为182,279AU,是假性进展的实例。

[0457] 组合组中的其它两只小鼠的肿瘤坏死率为90%,并且只有10,000至25,000AU的存

活肿瘤面积。组合组中5只小鼠的平均存活肿瘤面积仅为16,490AU,相比之下安慰剂组的平均存活肿瘤面积为104,318AU,或相比之下复发的Cy/Flu小鼠的存活肿瘤面积为182,279AU。在这项小型研究中,18mg/kg AVM0703组的存活肿瘤体积较小(94,305AU),但这与安慰剂小鼠没有显著差异。

[0458] 与A20模型中CHOP(环磷酰胺、羟基柔红霉素长春新碱、泼尼松)化学疗法的已公布结果相比,与Cy/Flu组合的AVM0703诱导缓解长于1个CHOP化疗周期,并维持缓解长于2个CHOP化疗周期,其中大约在第42天观察到肿瘤逃逸。

[0459] AVM_CANMOD_05

[0460] 进行第四研究(“AVM_CANMOD_05”)以检查更高剂量(18、22和25mg/kg HED DP)的AVM0703如何影响A20 B细胞淋巴瘤小鼠模型中的抗肿瘤能力。

[0461] 研究AVM_CANMOD_05分为2个子集:淋巴细胞清除和终点分析。先前的内部淋巴细胞清除研究是在初次接受试验的C57BL/6小鼠中进行的,证明AVM0703在健康小鼠中的淋巴细胞清除作用。为了更好地理解表明AVM0703的抗肿瘤作用的先前数据并更好地了解AVM0703在肿瘤模型中的作用机制,有必要说明体内肿瘤模型中淋巴细胞清除的概况。

[0462] 给药后48小时对淋巴细胞清除亚组小鼠实施安乐死。第二子集,终点分析,侧重于检查重复更高剂量的AVM0703对研究小鼠到达终点时间的影响。重要的是,此研究中的小鼠在A20肿瘤非常大(约390mm³)时给药。

[0463] 检查点抑制剂如抗PD-1(例如KEYTRUDA)被批准用于B细胞淋巴瘤的临床使用。在这种极具侵袭性的A20B细胞淋巴瘤模型中,如果在肿瘤达到 $\geq 100\text{mm}^3$ 后开始治疗,则抗PD-1无效。抗PD-1仅在A20接种后3天内开始治疗时在此模型中有效,在肿瘤甚至可触及之前。

[0464] HistoTox Labs对淋巴细胞清除子集进行了评分。在淋巴细胞清除子集中,9只小鼠中有2只在坏死方面得分为5(范围0至5)。终点分析子集中的23只小鼠中的一只具有完全被杀死和吸收的肿瘤,产生9%的总体完全应答率-这比针对已建立的A20肿瘤对抗PD-1的0%完全应答率更佳。

[0465] 使用MetaMorph图像分析软件进行的肿瘤分析表明,18和25mg/kg AVM0703处理的小鼠与安慰剂处理的小鼠相比具有更大的肿瘤吸收(图33)。然而,在这项研究中,除了1只以18mg/kg处理的小鼠的肿瘤被99.5%吸收外,肿瘤已经逃逸并且正在生长。以如AVM的积极方式使用A20模型的已公布研究表明,即使直接杀死18%小鼠的2个CHOP周期在完全缓解后20天内也具有100%复发。

[0466] 对淋巴细胞清除子集的HistoTox Labs评分显示肿瘤坏死增加(苏木精和伊红),CD3和CD49b标记减少可指示激活的免疫细胞,并且在来自AVM0703处理的小鼠的肿瘤中Ly6G表达增加(AVM-NKT细胞的标志物)。对于终点分析子集,来自AVM0703处理的小鼠的肿瘤具有减少的CD3和CD49b标记,增加的NKp46细胞(NK和NKT细胞)组构,以及减少的Ly6G、Sca1和胶原标记。在淋巴细胞清除子集中,ALC与AVM0703剂量呈负相关。在22mg/kg和25mg/kg HED DP剂量下未消除的淋巴细胞主要是NK和NKT细胞以及B细胞。18mg/kg HED DP剂量几乎完全消除了B细胞淋巴细胞,但没有消除NK和NKT细胞。不同的淋巴细胞清除谱可能是由于小鼠品系对AVM0703敏感性的差异,或者可能是由于初次接受试验的模型与肿瘤模型之间的差异。

[0467] 重要的是,在肿瘤模型中,与初次接受试验的C57BL/6小鼠中取得的观察结果相比,葡萄糖水平没有升高。在18mg/kg HED下,葡萄糖水平显著降低,尽管它们没有达到低血糖水平。

[0468] 实施例16-急性高剂量地塞米松在CCRF-CEM人T细胞淋巴瘤异种移植物模型中具有抑制作用

[0469] 进行试点研究(“AVM_CANMOD_06”)以研究AVM0703在人T细胞淋巴瘤模型CCRF-CEM中的抗肿瘤功效。用CCRF CEM人T淋巴细胞接种雌性NCr裸小鼠,并且在7天植入期后每周用口服安慰剂(n=2)或口服18mg/kg AVM0703(n=3)进行处理。

[0470] 每周评估肿瘤体积3次,并且终点被定义为肿瘤体积大于1500mm³或从初始体重测量值减少大于20%。与安慰剂相比,接种CCRF-CEM细胞的小鼠在用AVM0703处理时显示达到终点的时间延迟(图36和图37)。总体而言,与安慰剂相比,用AVM0703处理的CCRF CEM荷瘤小鼠存在肿瘤生长延迟的趋势。

[0471] 最近发现AVM0703处理组中的一只小鼠在肿瘤接种后的第89天死亡——肿瘤被切除并拍照(图35)。显著肿瘤溶解是显而易见的,并且很可能是这只小鼠死亡的原因。在第118天用人T-ALL(CCRF-CEM细胞系)再激发(3L)AVM0703处理的小鼠3R,并且直到第164天没有肿瘤生长(图38)。安慰剂小鼠在第50-55天达到1500mm³的肿瘤体积终点。AVM0703处理的小鼠未达到肿瘤体积终点。

[0472] 实施例17-用急性高剂量地塞米松处理的人受试者中AVM-NKT细胞的鉴定

[0473] 在小鼠中鉴定AVM-NKT细胞后,对来自用高剂量地塞米松处理的人受试者的档案数据进行重新分析。

[0474] 在骨关节炎患者中,根据“医师医学实践”的指南,将3-6mg/kg通用地塞米松(由Dr.Loniewski,Advanced Orthopedic Specialists,Brighton,MI)施用于4名患者。

[0475] 对来自4名患者的在用地塞米松剂量处理后48小时采集的流式细胞术数据进行审查,所述剂量是用于在小鼠中最大诱导AVM_NKT的剂量六分之一。来自四名患者之一的CD45/CD56散点图显示,与小鼠中鉴定的AVM-NKT细胞相对应的新细胞群体在处理约48小时出现(图39)。

[0476] 如图40所示,在以6mg/kg输注第四AVM0703处理后一小时,还在前列腺癌患者中观察到新的CD56极亮细胞群体。所述前列腺癌患者在多年癌症治疗后是无选择患者,并且在间隔至少28天总共接受了4次AVM0703输注。

[0477] 与健康献血者相比,前列腺癌患者具有新的CD3暗细胞群体的证据,所述群体在AVM0703后一小时不再明显;然而,新的CD56极亮细胞群体然后在血液中明显,其在输注后3小时不再观察到。

[0478] 与健康献血者相比,前列腺癌患者在输注前具有CD3暗和NKp46暗细胞群体,并且在以6mg/kg输注AVM0703后一小时,所述患者具有新的CD56极亮CD3暗群体,其为CD45暗/阴性且CD4/CD8双阴性。

[0479] 实施例18-在人源化小鼠中产生和动员人AVM-NKT细胞

[0480] 向通过将人脐带血CD34+干细胞移植到缺乏小鼠B和T淋巴细胞以及NK细胞、但具有功能性小鼠补体系统的受辐射小鼠中而产生的基于Balb/c来自Genoway的背景的BRGSF人源化小鼠口服给予HED 18-45mg/kg DSP。24-48小时后通过流式细胞术可观察到人CD3高

和/或人CD45暗和/或人CD56+细胞占总脾细胞的约0.2%-3%。人CD3高、人CD45暗和人CD56+细胞可在约36小时至13天后之间的血液中观察到。

[0481] HuCD34-NCG小鼠模型

[0482] 来自Charles River的HuCD34-NCG小鼠是可用于研究的具有人样免疫系统的小鼠模型,通过CD34+干细胞的过继性转移创建。HuCD34-NCG小鼠是评估调节人免疫系统的化合物的有效性的理想体内平台。人源化小鼠中移植物抗宿主病 (GvHD) 的缺乏或迟发使其成为长期研究的理想选择。

[0483] NCG小鼠在骨髓处理后,通过使用人脐带血来源的CD34+干细胞过继性转移而被人源化。来自4个供体的NCG小鼠 (n=2/供体) 口服给予HED 18-45mg/kg DSP。24-48小时后通过流式细胞术可观察到人CD3高和/或人CD45暗和/或人CD56+细胞占总脾细胞的约0.2%-3%。人CD3高、人CD45暗和人CD56+细胞可在约36小时至13天后之间的血液中观察到。

[0484] huNOG-EXL小鼠模型

[0485] 来自Taconic的huNOG EXL平均有54%的对人CD45呈阳性的CD45细胞。来自3个供体的六只huNOG EXL人源化免疫系统小鼠 (n=2/供体) 口服给予HED 18-45mg/kg DSP。24-48小时后通过流式细胞术可观察到人CD3高和/或人CD45暗和/或人CD56+细胞占总脾细胞的约0.2%-3%。人CD3高、人CD45暗和人CD56+细胞可在约36小时至13天后之间的血液中观察到。

[0486] 实施例19-维奈托克预处理剂量依赖性地减少在高剂量地塞米松施用后动员到血液中的AVM-NKT细胞的数量

[0487] 在口服管饲HED 30mg/kg DSP剂量前6-18小时将10周龄的雌性NOD小鼠用12.5mg/kg至50mg/kg维奈托克处理。维奈托克预处理剂量依赖性地减少在30mg/kg DSP给药后48小时动员到血液中的CD3高、CD45暗、CD49b+细胞的数量。CD3高、CD45暗、CD49b+细胞从单独DSP情况下的约70个细胞/微升降低至12.5mg/kg维奈托克预处理情况下的约40个细胞/微升,至25mg/kg维奈托克预处理情况下的约20个细胞/微升,至50mg/kg维奈托克预处理情况下的约15个细胞/微升。维奈托克是Bcl-2抑制剂。

[0488] 实施例20-急性高剂量地塞米松预防或延迟雌性自发性糖尿病NOD小鼠中的高血糖症

[0489] 雌性NOD小鼠在9周龄时被订购。在10周龄时,当胰腺中胰岛炎的完全外显建立时,对于每次处理向小鼠给予适当的安慰剂,或每周两次5mg/kg环孢素持续7周、然后以10mg/kg每周两次持续5个月研究的剩余时间,或18mg/kg或30mg/kg HED的单次急性口服单剂量地塞米松 (AVM0703),或25mg/kg的维奈托克,或25mg/kg的维奈托克、随后18-24小时后HED 30mg/kg的地塞米松。

[0490] 每周监测体重和血糖水平。每周3次监测身体状况。在所有达到30周龄的存活小鼠中测定口服葡萄糖耐量。对剩余的小鼠进行尸检,并通过流式细胞术确定胰腺和相邻淋巴结中的自身反应性淋巴细胞。通过H&E染色确定胰腺炎(15只/组中的8只)。通过针对胰岛素染色来测量胰腺β细胞表面积。胰岛素分泌胰岛评分如下:1,无胰岛炎(无浸润);2,周围胰岛炎(胰岛外或附近的炎症性细胞);3,胰岛炎(清晰且广泛的胰岛浸润,显示直接淋巴细胞-β细胞接触)。通过使用磁性富集方法和四聚体试剂检查胰腺和胰腺淋巴结的自身反应性、胰岛素特异性CD4+ T细胞。

[0491] 在整个5个月的研究中,与所有其它小鼠组相比,AVM0703处理的小鼠具有显著更好的身体状况。单独维奈托克加速糖尿病发作,所述糖尿病发作在维奈托克剂量后施用AVM0703时延迟。单独AVM0703预防40%小鼠中的糖尿病,并显著延迟剩余60%小鼠的发病。在5个月的研究结束时,没有高血糖症的用AVM0703处理的小鼠的口服葡萄糖耐量试验(OGTT)正常,而所有其它组的小鼠响应于空腹OGTT具有升高的血糖水平。

	N	高血糖症首次发作(周龄)	22 周龄高血糖症%	患糖尿病的中值时间(10 周龄后的天数)
[0492] 安慰剂	47	12	80%	72
AVM0703	15	20	60%	113
环孢素	14	18	70%	86
维奈托克	16	14	90%	51
维奈托克+AVM0703	15	17	95%	72

[0493] 实施例21-急性高剂量地塞米松逆转早发型和建立的糖尿病雌性NOD小鼠中的糖尿病

[0494] 雌性NOD小鼠在9周龄时被订购。从10周龄开始每周测量血糖水平。一旦小鼠的非空腹血糖高于250mg/dl,就在第二天采取另一项措施。

[0495] 为了逆转新发糖尿病,在小鼠非空腹血糖水平连续两天升高后一天开始AVM0703给药。在血糖水平升高的第二天皮下植入胰岛素丸。为了逆转已建立的糖尿病,测量连续两周的血糖升高,在测量到血糖水平升高的第一天后的第8天植入胰岛素丸,并在测量到血糖升高的第一天后的第14天给予AVM0703。

[0496] 与抗CD3或ATG处理的小鼠相比,AVM0703能够等效地逆转早发型和已建立的糖尿病,而没有在抗CD3或ATG处理的小鼠中观察到的体重减轻或不良身体状况。

[0497] 参考文献

[0498] 以上引用了许多出版物,以便更全面地描述和公开本发明以及本发明所属的现有技术水平。每个参考文献特此以引用的方式整体并入。下面提供这些参考文献的完整引用。

[0499] Tarazona, Raquel & Peralbo, E. & Casado, Javier & Pena, Jose & Solana, Rafael. Human NKT cells in health and disease. *Inmunologia*. 2003; 22 Watarai H, Nakagawa R., Omori-Miyake M, Dashtsoodol N, & Taniguchi M. Methods for detection, isolation and culture of mouse and human invariant NKT cells. *Nat Protoc*. 2008; 3, 70-78.

[0500] Wolf BJ, Choi JE, & Exley MA. Novel Approaches to Exploiting Invariant NKT Cells in Cancer Immunotherapy. *Frontiers in immunology*. 2018; 9, 384 Nair S, & Dhodapkar MV. Natural Killer T Cells in Cancer Immunotherapy. *Frontiers in immunology*. 2017; 8, 1178

[0501] Lodisch M.B. Clinical review: kinase inhibitors: adverse effects related to the endocrine system. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2013; 98 (4), 1333-1342

[0502] Bhullar, KS, Lagarón NO, McGowan EM. et al. Kinase-targeted cancer therapies: progress, challenges and future directions. *Mol Cancer*. 2018; 17, 48

- [0503] Mato AR,Thompson M,Allan JN,Brander DM,Pagel JM,Ujjani CS,Nabhan C.Real-world outcomes and management strategies for venetoclax-treated chronic lymphocytic leukemia patients in the United States.Haematologica.2018;103(9),1511-1517
- [0504] Kadri S, Lee J, Fitzpatrick C, Galanina, N, Sukhanova, M, Venkataraman, G, Wang YL. Clonal evolution underlying leukemia progression and Richter transformation in patients with ibrutinib-relapsed CLL. Blood advances. 2017;1(12), 715-727
- [0505] Mato AR, Nabhan C, Barr PM, Ujjani CS, Hill BT, Lamanna N, Skarbnik AP, Howlett C, Pu JJ, Sehgal AR, Strelec LE, Vandegrift A, Fitzpatrick DM, Zent CS, Feldman T, Goy A, Claxton DF, Bachow SH, Kaur GO, Svoboda J, Nasta SD, Porter D, Landsburg DJ, Schuster SJ, Cheson BD, Kiselev P, Evens AM. Outcomes of CLL patients treated with sequential kinase inhibitor therapy: a realworld experience. Blood. 2016;128(18):2199-2205
- [0506] Barrett AJ, & Battiwalla M. Relapse after allogeneic stem cell transplantation. Expert review of hematology. 2010;3(4), 429-441
- [0507] Stadtfeld et al, Science. 2008 Nov 7; 322(5903):945-9
- [0508] Okita et al, Science. 2008 Nov 7; 322(5903):949-53
- [0509] Bowles et al, Dev Biol. 2000 Nov 15; 227(2):239-55.
- [0510] Chambers et al, Cell. 2003 May 30; 113(5):643-55.
- [0511] Moss & Tang, 2003, Dev Biol. 2003 Jun 15; 258(2):432-42.
- [0512] Shiina et al, Immunology 2016; 150:127-138
- [0513] Nakamura et al 2019 Int. J. Mol. Sci. 20:4544
- [0514] Kaczmarek et al 2017 Arch. Immunol. Ther. Exp. 65:201-214
- [0515] WO 2018/183927
- [0516] Patente et al; Front Immunol. 2018; 9:3176.
- [0517] Lee et al; PLoS One. 2018 Jan 2; 13(1):e0190063.
- [0518] Malloy et al; J Immunol. 2017 Jan 1; 198(1):394-403.
- [0519] Zheng et al; Cell Mol Immunol. 2013 Jan; 10(1):50-7.
- [0520] Gogoi et al; Indian J Med Res. 2013 Nov; 138(5):755-761.
- [0521] Dong et al; Front Immunol. 2018 Dec 4; 9:2812.
- [0522] Zhao et al, 2018; J Immunol Res. 2018 Jul 10; 2018:5
- [0523] Pauza et al, 2018; Front Immunol. 2018; 9:1305.
- [0524] Himoudi et al, 2012; J Immunol. 2012 Feb 15; 188(4):1708-16
- [0525] 本公开的声明
- [0526] 概述本公开的方面的以下编号的声明形成说明书的一部分。
- [0527] AVM-NKT细胞
- [0528] 101. 一种产生和/或动员自然杀伤T细胞(NKT细胞)群体的方法,所述方法包括以相当于约至少6mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED)的剂量向受试者施用糖皮质激素受

体 (GR) 调节剂或 ICAM3 调节剂,

[0529] 其中所述糖皮质激素受体 (GR) 调节剂或 ICAM3 调节剂在所述受试者中诱导和/或动员所述 NKT 细胞群体。

[0530] NKT 细胞标志物表达

[0531] 102. 如声明 101 所述的方法, 其中所述 NKT 细胞群体的特征在于至少 60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 的所述细胞:

[0532] i) 表达 CD3、CD4、CD8、CD45、CD49b、CD56、CD62L、NK1.1、Ly6G、Sca1 和/或 TCR γ/δ ; 和/或

[0533] ii) 不表达: C-kit、B220、FoxP3 和/或 TCR α/β 。

[0534] 103. 如声明 102 所述的方法, 其中所述 NKT 细胞表达:

[0535] (i) CD3、CD4、CD45、CD49b、CD56、CD62L、NK1.1、Ly6G 和 Sca1; 或

[0536] (ii) CD3、CD45 和 CD56。

[0537] 104. 如声明 102-103 中任一项所述的方法, 其中所述 NKT 细胞不表达 C-kit、B220、FoxP3 或 TCR α/β 。

[0538] 105. 根据声明 102-104 中任一项所述的方法, 其中所述 NKT 细胞不表达 CD8。

[0539] 106. 根据声明 102-104 中任一项所述的方法, 其中所述 NKT 细胞:

[0540] i) 表达 CD4 和 CD8; 和/或

[0541] ii) 表达 Ly6G。

[0542] 107. 根据声明 102-106 中任一项所述的方法, 其中所述 NKT 细胞为:

[0543] i) CD4+/极亮;

[0544] ii) CD8+/暗;

[0545] iii) CD3+/极亮;

[0546] iv) CD45+/暗;

[0547] v) Sca1+/极亮;

[0548] vi) CD44+/-;

[0549] vii) CD69+/-;

[0550] viii) CD25+/-; 和/或

[0551] ix) CD3+/极亮和 CD45+暗和 CD56+;

[0552] 任选地, 其中所述表达水平相对于来源于常见来源的参考 NKT 细胞群体中的平均表达水平确定, 所述参考 NKT 细胞尚未与所述糖皮质激素受体 (GR) 调节剂接触。

[0553] 108. 根据声明 102-107 中任一项所述的方法, 其中通过流式细胞术测量表达, 任选地其中所述流式细胞术使用本文所述的设备、试剂和/或条件 (单独或组合) 进行。

[0554] 糖皮质激素

[0555] 109. 根据声明 101-108 中任一项所述的方法, 其中所述糖皮质激素受体 (GR) 调节剂是糖皮质激素, 任选地其中所述糖皮质激素选自由以下组成的组: 地塞米松、氢化可的松、甲泼尼龙、泼尼松、泼尼松龙、泼尼立定、可的松、布地奈德、倍他米松、氟米松和倍氯米松。

[0556] 110. 根据声明 109 所述的方法, 其中所述糖皮质激素选自由以下组成的组: 地塞米松、倍他米松和甲基泼尼松, 优选地其中所述糖皮质激素是地塞米松或倍他米松。

[0557] 111. 根据声明108-110中任一项所述的方法, 其中所述糖皮质激素选自由以下组成的组: 地塞米松碱、地塞米松磷酸钠、半琥珀酸地塞米松、地塞米松琥珀酸钠、琥珀酸地塞米松、异烟酸地塞米松、乙酸地塞米松-21、磷酸地塞米松、磷酸地塞米松-21、乙酸特丁地塞米松、戊酸地塞米松-17、一水合乙酸地塞米松、特戊酸地塞米松、棕榈酸地塞米松、棕榈酸地塞米松-21、二丙酸地塞米松、丙酸地塞米松、无水乙酸地塞米松、苯丙酸地塞米松-21、磺基苯甲酸地塞米松-21、半硫酸地塞米松、硫酸地塞米松、地塞米松beloxil、地塞米松酸、乙呋地塞米松、地塞米松甲酰亚胺、地塞米松培酯、地塞米松21-磷酸二钠盐、甲磺酸地塞米松、亚油酸地塞米松、地塞米松葡萄糖苷、地塞米松葡萄糖苷酸、碘醋酸地塞米松、地塞米松氧杂环丁烷酮、羧甲基硫代-地塞米松、地塞米松bisethoximes、地塞米松环氧化物、反亚油酸地塞米松、甲基原戊酸地塞米松、地塞米松精胺、6-羟基地塞米松、三丁基乙酸地塞米松、地塞米松天冬氨酸、地塞米松吡喃半乳糖、盐酸地塞米松、羟基地塞米松、羧基地塞米松、脱氧地塞米松、地塞米松丁氮酮、地塞米松环糊精、二氢地塞米松、氧代地塞米松、丙酰氧基地塞米松、地塞米松galactodie、异烟酸地塞米松、地塞米松磷酸氢二钠、地塞米松醛、特戊酸地塞米松、三癸酸地塞米松、巴豆酸地塞米松、甲磺酸地塞米松、丁基乙酸地塞米松、脱氢地塞米松、地塞米松异硫氰酸基乙基) 硫醚、溴乙酸地塞米松、半戊二酸地塞米松、脱氧地塞米松、地塞米松chlorambucilate、地塞米松melphalanate、甲酰氧基地塞米松、丁酸地塞米松、月桂酸地塞米松、乙酸地塞米松以及含有地塞米松形式的任何组合治疗。

[0558] 112. 根据声明111所述的方法, 其中所述地塞米松是地塞米松磷酸钠。

[0559] 糖皮质激素剂量

[0560] 113. 根据声明101-112中任一项所述的方法, 其中所述糖皮质激素以相当于约以下的剂量施用:

[0561] i) 至少6-12mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED);

[0562] ii) 至少6mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED);

[0563] iii) 至少12mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED);

[0564] iv) 至少15mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED);

[0565] v) 至少18mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED);

[0566] vi) 至少24mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED);

[0567] vii) 15mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED);

[0568] viii) 24mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED);

[0569] ix) 30mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED);

[0570] x) 45mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED); 或

[0571] xi) 取自来自一系列mg/kg值的mg/kg值的地塞米松的人体等效剂量 (HED), 其中所述范围由上述部分i) 至x) 中列出的mg/kg值中的两个限定。

[0572] 114. 根据声明101-113中任一项所述的方法, 其中所述糖皮质激素作为单一急性剂量施用, 或作为在约72小时时间段内给予的总剂量施用。

[0573] 115. 根据声明101-114中任一项所述的方法, 其中所述方法包括施用一个或多个另外剂量的糖皮质激素。

[0574] 116. 根据声明115所述的方法, 其中所述一个或多个另外的剂量:

[0575] i) 在先前糖皮质激素施用后24小时与120小时之间;

- [0576] ii) 在先前糖皮质激素施用后24小时与48小时之间；
- [0577] iii) 在先前糖皮质激素施用后72小时与120小时之间；
- [0578] iv) 在第一糖皮质激素施用后每24、48、72、96、120、144或168小时；
- [0579] v) 在第一糖皮质激素施用后每两周一次；
- [0580] vi) 在第一糖皮质激素施用后每月一次；或
- [0581] vii) 在第一糖皮质激素施用后每周两次施用。
- [0582] NKT细胞活化
- [0583] 117. 根据声明101-116中任一项所述的方法，所述方法进一步包括将NKT细胞激活剂施用于所述受试者的步骤。
- [0584] 118. 根据声明117所述的方法，其中所述NKT细胞激活剂选自由以下组成的组： α GalCer、硫苷脂或NKT激活抗体。
- [0585] 119. 根据声明118所述的方法，其中所述NKT细胞激活剂是负载 α GalCer的树突细胞或单核细胞。
- [0586] 120. 根据声明117-119中任一项所述的方法，其中所述NKT细胞激活剂在施用糖皮质激素后48小时内或约48小时施用。
- [0587] 受试者
- [0588] 121. 根据声明101-120中任一项所述的方法，其中所述受试者是哺乳动物，优选地其中所述受试者是人。
- [0589] 122. 根据声明101-121中任一项所述的方法，其中所述受试者患有、疑似患有或已被诊断患有选自由以下组成的组的疾病：癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病。
- [0590] 123. 根据声明122所述的方法，其中所述癌症是实体瘤癌症。
- [0591] 124. 根据声明122所述的方法，其中所述癌症选自由以下组成的组：鳞状细胞癌（如上皮鳞状细胞癌）；肺癌，包括小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肺腺癌和肺鳞状细胞癌；腹膜癌；肝细胞癌；胃部癌或胃癌，包括胃肠癌；胰腺癌；胶质母细胞瘤；宫颈癌；卵巢癌；肝癌；膀胱癌；肝细胞瘤；乳腺癌；结肠癌；直肠癌；结肠直肠癌；子宫内膜癌或子宫癌；唾液腺癌；肾脏癌或肾癌；前列腺癌；外阴癌；甲状腺癌；肝癌；肛门癌；阴茎癌以及头颈癌。
- [0592] 125. 根据声明122所述的方法，其中所述癌症是淋巴瘤，优选B细胞淋巴瘤、T细胞淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤。
- [0593] 126. 根据声明122-125中任一项所述的方法，其中所述NKT细胞通过肿瘤浸润来治疗所述癌症。
- [0594] 127. 根据声明126所述的方法，其中所述NKT细胞通过释放免疫激活细胞因子来治疗所述癌症。
- [0595] 128. 根据声明126或127所述的方法，其中所述NKT细胞吞噬并杀死癌细胞。
- [0596] 129. 根据声明126至128中任一项所述的方法，其中所述NKT细胞促进其它免疫细胞浸润到所述肿瘤中。
- [0597] 130. 根据声明126至129中任一项所述的方法，其中所述NKT细胞通过CD1d指导的细胞凋亡直接杀死癌细胞。
- [0598] 131. 根据声明126至130中任一项所述的方法，其中所述NKT细胞导致肿瘤坏死。
- [0599] 132. 根据声明122所述的方法，其中所述自身免疫性疾病选自由以下组成的组：多

发性硬化症、系统性硬化症、肌萎缩性侧索硬化症、1型糖尿病 (T1D)、硬皮病、天疱疮和狼疮。

[0600] 133. 根据声明122所述的方法,其中所述自身免疫性疾病是1型糖尿病 (T1D)。

[0601] 134. 根据声明122所述的方法,其中所述感染性疾病选自由以下组成的组:HIV和疱疹、肝炎、人乳头瘤病毒或由冠状病毒感染引起的疾病如COVID-19。

[0602] 135. 根据声明122所述的方法,其中所述感染性疾病是:

[0603] i) HIV;或

[0604] ii) COVID-19。

[0605] 分离/扩增步骤

[0606] 136. 根据声明101-135中任一项所述的方法,所述方法进一步包括从所述受试者或从源自所述受试者的样品分离NKT细胞群体的步骤,

[0607] 任选地,其中所述分离步骤在以下条件下进行:

[0608] i) 在糖皮质激素施用后至少48小时;

[0609] ii) 在糖皮质激素施用后48小时与13天之间;或

[0610] iii) 在糖皮质激素施用后6与48小时之间。

[0611] 137. 如声明136所述的方法,其中所述样品选自由以下组成的组:血液、血浆、肿瘤活检物或手术切除的肿瘤、骨髓、肝脏和脂肪或脂肪组织。

[0612] 138. 根据声明136或137所述的方法,所述方法进一步包括扩增所述分离的NKT细胞的步骤。

[0613] 139. 根据声明136-138中任一项所述的方法,所述方法进一步包括用NKT细胞激活剂激活所述分离的NKT细胞的步骤

[0614] 任选地,其中所述NKT细胞激活剂选自:

[0615] i) 细胞因子、趋化因子、生长因子和/或NKT调节剂;

[0616] ii) α GalCer (α -半乳糖基神经酰胺; α -GalCer) 硫苷脂 (3-O-磺基半乳糖基神经酰胺;SM4;硫酸半乳糖脑苷脂)。

[0617] 分离的NKT细胞的转染

[0618] 140. 根据声明136至139中任一项所述的方法,所述方法进一步包括将编码蛋白质的核酸引入所述分离的NKT细胞中以及在促进所述蛋白质表达的条件下培养所述细胞的步骤。

[0619] 141. 根据声明140所述的方法,其中所述蛋白质选自由以下中的一者或多者组成的组:T细胞受体 (TCR)、嵌合抗原受体 (CAR)、分裂、通用且可编程的CAR (SUPRA-CAR)。

[0620] 142. 根据声明141所述的方法,其中所述CAR和/或TCR包含结合至选自由以下组成的组的抗原的抗原结合结构域:CD19、CD20、CD22、GD2、CD133、EGFR、GPC3、CEA、MUC1、间皮素、IL-13R、PSMA、ROR1、CAIX、Her2。

[0621] 143. 根据声明140-142中任一项所述的方法,所述方法进一步包括扩增所述NKT细胞的步骤。

[0622] 144. 根据声明140-143中任一项所述的方法,所述方法进一步包括用NKT细胞激活剂激活所述NKT细胞的步骤。

[0623] 分离的NKT细胞的施用

[0624] 145. 一种治疗受试者的癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效剂量的根据声明136至144中任一项分离的NKT细胞、如声明401-406中任一项所述的分离的NKT细胞或如声明407所述的细胞群体。

[0625] 146. 根据声明145所述的方法,其中向其施用所述分离的NKT细胞的受试者是从其分离所述NKT细胞的同一受试者。

[0626] 147. 根据声明145所述的方法,其中向其施用所述分离的NKT细胞的受试者与从其分离所述NKT细胞的受试者不同。

[0627] 148. 根据声明145至147中任一项所述的方法,其中所述NKT细胞通过选自由以下组成的组的方法施用于所述受试者:静脉内注射、腹膜内注射、淋巴管内注射、鞘内注射、注射到脑脊液(CSF)中、直接注射到肿瘤中以及作为放置在实体瘤上或附近的凝胶。

[0628] 医疗用途

[0629] 149. 一种糖皮质激素,所述糖皮质激素用于根据声明101-148中任一项所述的方法中。

[0630] 150. 糖皮质激素用于制造用于根据声明101-148中任一项所述的方法中的药物中的用途。

[0631] 151. 地塞米松用于诱导和/或动员NKT细胞群体的用途,其中所述NKT细胞群体通过根据声明101-148中任一项所述的方法来诱导和/或动员。

[0632] AVM-NKT源性iPSC

[0633] 152. 一种产生诱导型多能干细胞(iPSC)的方法,所述方法包括对通过根据声明136-138中任一项所述的方法分离的NKT细胞进行重编程以产生iPSC。

[0634] 153. 如声明152所述的方法,其中所述重编程包括将编码Oct3/4、Klf4、Sox2和C-myc的一个或多个表达盒引入所述NKT细胞中。

[0635] 154. 如声明152所述的方法,其中所述重编程包括将Oct3/4、KLF4、Sox2和C-myc编码mRNA引入所述NKT细胞中。

[0636] 155. 如声明153或154所述的方法,其中所述重编程进一步包括将编码以下中的一者或多者的一个或多个表达盒引入所述NKT细胞中:Sox1、Sox3、Sox15、Klf1、Klf2、Klf5、L-myc、N-myc、Nanog和/或LIN28。

[0637] 156. 如声明153或154所述的方法,其中所述重编程进一步包括将以下中的一者或多者引入所述NKT细胞中:Sox1、Sox3、Sox15、Klf1、Klf2、Klf5、L-myc、N-myc、Nanog和/或LIN28编码mRNA。

[0638] 157. 根据声明152-156中任一项所述的方法,所述方法进一步包括诱导所述iPSC的分化。

[0639] 158. 根据声明157所述的方法,其中所述iPSC分化成NKT细胞。

[0640] 159. 一种产生NKT细胞群体的方法,所述方法包括使通过根据声明152-156中任一项所述的方法产生的iPSC分化成NKT细胞谱系。

[0641] AVM-T细胞和AVM-树突细胞

[0642] 160. 根据声明101-135中任一项所述的方法,其中所述糖皮质激素受体(GR)调节剂还在所述受试者中诱导T细胞群体,

[0643] 任选地,其中所述T细胞如声明202-205中任一项所定义。

[0644] 161. 根据声明101-135或160中任一项所述的方法,其中所述糖皮质激素受体 (GR) 调节剂还在所述受试者中激活树突细胞群体,

[0645] 任选地,其中所述树突细胞如声明302-304中任一项所定义。

[0646] ---

[0647] AVM-T细胞

[0648] 201. 一种产生T细胞群体的方法,所述方法包括以相当于约至少6mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED) 的剂量向受试者施用糖皮质激素受体 (GR) 调节剂或ICAM3调节剂,

[0649] 其中所述糖皮质激素受体 (GR) 调节剂或ICAM3调节剂在所述受试者中诱导所述T细胞群体。

[0650] T细胞标志物表达

[0651] 202. 如声明201所述的方法,其中所述T细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞:

[0652] i) 表达CD3、CD4、CD45和/或CD49b;和/或

[0653] ii) 不表达CD49b。

[0654] 203. 如声明202所述的方法,其中所述T细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达TCR γ/δ 。

[0655] 204. 根据声明202-203中任一项所述的方法,其中所述T细胞为CD3+/极亮,

[0656] 任选地,其中所述表达水平相对于来源于常见来源的参考T细胞群体中的平均表达水平确定,所述参考T细胞尚未与所述糖皮质激素受体 (GR) 调节剂接触。

[0657] 205. 根据声明202-204中任一项所述的方法,其中通过流式细胞术测量表达,任选地其中所述流式细胞术使用本文所述的设备、试剂和/或条件(单独或组合)进行。

[0658] 糖皮质激素

[0659] 206. 根据声明201-205中任一项所述的方法,其中所述糖皮质激素受体 (GR) 调节剂是糖皮质激素,任选地其中所述糖皮质激素选自由以下组成的组:地塞米松、氢化可的松、甲泼尼龙、泼尼松、泼尼松龙、泼尼立定、可的松、布地奈德、倍他米松、氟米松和倍氯米松。

[0660] 207. 根据声明206所述的方法,其中所述糖皮质激素选自由以下组成的组:地塞米松、倍他米松和甲基泼尼松,优选地其中所述糖皮质激素是地塞米松或倍他米松。

[0661] 208. 根据声明206-207中任一项所述的方法,其中所述糖皮质激素选自由以下组成的组:地塞米松碱、地塞米松磷酸钠、半琥珀酸地塞米松、地塞米松琥珀酸钠、琥珀酸地塞米松、异烟酸地塞米松、乙酸地塞米松-21、磷酸地塞米松、磷酸地塞米松-21、乙酸特丁地塞米松、戊酸地塞米松-17、一水合乙酸地塞米松、特戊酸地塞米松、棕榈酸地塞米松、棕榈酸地塞米松-21、二丙酸地塞米松、丙酸地塞米松、无水乙酸地塞米松、苯丙酸地塞米松-21、磺基苯甲酸地塞米松-21、半硫酸地塞米松、硫酸地塞米松、地塞米松beloxil、地塞米松酸、乙呋地塞米松、地塞米松甲酰亚胺、地塞米松培酯、地塞米松21-磷酸二钠盐、甲磺酸地塞米松、亚油酸地塞米松、地塞米松葡萄糖苷、地塞米松葡萄糖苷酸、碘醋酸地塞米松、地塞米松氧杂环丁烷酮、羧甲基硫代一地塞米松、地塞米松bisethoximes、地塞米松环氧化物、反亚油酸地塞米松、甲基原戊酸地塞米松、地塞米松精胺、6-羟基地塞米松、三丁基乙酸地塞米松、地塞米松天冬氨酸、地塞米松吡喃半乳糖、盐酸地塞米松、羟基地塞米松、羧基地塞米松、脱氧

地塞米松、地塞米松丁氮酮、地塞米松环糊精、二氢地塞米松、氧代地塞米松、丙酰氧基地塞米松、地塞米松galactodie、异烟酸地塞米松、地塞米松磷酸氢二钠、地塞米松醛、特戊酸地塞米松、三癸酸地塞米松、巴豆酸地塞米松、甲磺酸地塞米松、丁基乙酸地塞米松、脱氢地塞米松、地塞米松异硫氰酸基乙基) 硫醚、溴乙酸地塞米松、半戊二酸地塞米松、脱氧地塞米松、地塞米松chlorambucilate、地塞米松melphalanate、甲酰氧基地塞米松、丁酸地塞米松、月桂酸地塞米松、乙酸地塞米松以及含有地塞米松形式的任何组合治疗。

[0662] 209. 根据声明208所述的方法, 其中所述地塞米松是地塞米松磷酸钠。

[0663] 糖皮质激素剂量

[0664] 210. 根据声明201-209中任一项所述的方法, 其中所述糖皮质激素以相当于约以下的剂量施用:

[0665] i) 至少6-12mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED);

[0666] ii) 至少6mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED);

[0667] iii) 至少12mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED);

[0668] iv) 至少15mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED);

[0669] v) 至少18mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED);

[0670] vi) 至少24mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED);

[0671] vii) 15mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED);

[0672] viii) 24mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED);

[0673] ix) 30mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED);

[0674] x) 45mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED); 或

[0675] xi) 取自来自一系列mg/kg值的mg/kg值的地塞米松的人体等效剂量 (HED), 其中所述范围由上述部分i) 至x) 中列出的mg/kg值中的两个限定。

[0676] 211. 根据声明201-210中任一项所述的方法, 其中所述糖皮质激素作为单一急性剂量施用, 或作为在约72小时时间段内给予的总剂量施用。

[0677] 212. 根据声明201-211中任一项所述的方法, 其中所述方法包括施用一个或多个另外剂量的糖皮质激素。

[0678] 213. 根据声明212所述的方法, 其中所述一个或多个另外的剂量:

[0679] viii) 在先前糖皮质激素施用后24小时与120小时之间;

[0680] ix) 在先前糖皮质激素施用后24小时与48小时之间;

[0681] x) 在先前糖皮质激素施用后72小时与120小时之间;

[0682] xi) 在第一糖皮质激素施用后每24、48、72、96、120、144或168小时;

[0683] xii) 在第一糖皮质激素施用后每两周一次;

[0684] xiii) 在第一糖皮质激素施用后每月一次; 或

[0685] xiv) 在第一糖皮质激素施用后每周两次施用。

[0686] T细胞激活

[0687] 214. 根据声明201-213中任一项所述的方法, 所述方法进一步包括将T细胞激活剂施用于所述受试者的步骤。

[0688] 215. 根据声明214所述的方法, 其中所述T细胞激活剂是T细胞激活抗体。

[0689] 216. 根据声明214-215中任一项所述的方法, 其中所述T细胞激活剂在施用糖皮质

激素后48小时内或约48小时施用。

[0690] 受试者

[0691] 217. 根据声明201-216中任一项所述的方法, 其中所述受试者是哺乳动物, 优选地其中所述受试者是人。

[0692] 218. 根据声明201-217中任一项所述的方法, 其中所述受试者患有、疑似患有或已被诊断患有选自以下组成的组的疾病: 癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病。

[0693] 219. 根据声明218所述的方法, 其中所述癌症是实体瘤癌症。

[0694] 220. 根据声明218所述的方法, 其中所述癌症选自以下组成的组: 鳞状细胞癌(如上皮鳞状细胞癌); 肺癌, 包括小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肺腺癌和肺鳞状细胞癌; 腹膜癌; 肝细胞癌; 胃部癌或胃癌, 包括胃肠癌; 胰腺癌; 胶质母细胞瘤; 宫颈癌; 卵巢癌; 肝癌; 膀胱癌; 肝细胞瘤; 乳腺癌; 结肠癌; 直肠癌; 结肠直肠癌; 子宫内膜癌或子宫癌; 唾液腺癌; 肾脏癌或肾癌; 前列腺癌; 外阴癌; 甲状腺癌; 肝癌; 肛门癌; 阴茎癌以及头颈癌。

[0695] 221. 根据声明218所述的方法, 其中所述癌症是淋巴瘤, 优选B细胞淋巴瘤、T细胞淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤。

[0696] 222. 根据声明218-221中任一项所述的方法, 其中所述T细胞通过肿瘤浸润来治疗所述癌症。

[0697] 223. 根据声明222所述的方法, 其中所述T细胞通过释放免疫激活细胞因子来治疗所述癌症。

[0698] 224. 根据声明222至223中任一项所述的方法, 其中所述T细胞促进其它免疫细胞浸润到所述肿瘤中。

[0699] 225. 根据声明222至224中任一项所述的方法, 其中所述T细胞通过诱导细胞凋亡直接杀死癌细胞。

[0700] 226. 根据声明222至225中任一项所述的方法, 其中所述T细胞导致肿瘤坏死。

[0701] 227. 根据声明218所述的方法, 其中所述自身免疫性疾病选自以下组成的组: 多发性硬化症、系统性硬化症、肌萎缩性侧索硬化症、1型糖尿病(T1D)、硬皮病、天疱疮和狼疮。

[0702] 228. 根据声明218所述的方法, 其中所述自身免疫性疾病是1型糖尿病(T1D)。

[0703] 229. 根据声明218所述的方法, 其中所述感染性疾病选自以下组成的组: HIV和疱疹、肝炎、人乳头瘤病毒或由冠状病毒感染引起的疾病如COVID-19。

[0704] 230. 根据声明218所述的方法, 其中所述感染性疾病是:

[0705] i) HIV; 或

[0706] ii) COVID-19。

[0707] 分离/扩增步骤

[0708] 231. 根据声明201-230中任一项所述的方法, 所述方法进一步包括从所述受试者或从源自所述受试者的样品分离T细胞群体的步骤,

[0709] 任选地, 其中所述分离步骤在以下条件下进行:

[0710] i) 在糖皮质激素施用后至少48小时;

[0711] ii) 在糖皮质激素施用后48小时与13天之间; 或

[0712] iii) 在糖皮质激素施用后6与48小时之间。

[0713] 232. 如声明231所述的方法, 其中所述样品选自由以下组成的组: 血液、血浆、肿瘤活检物或手术切除的肿瘤、骨髓、肝脏和脂肪或脂肪组织。

[0714] 233. 根据声明231或232所述的方法, 所述方法进一步包括扩增所述分离的T细胞的步骤。

[0715] 234. 根据声明231-233中任一项所述的方法, 所述方法进一步包括用T细胞激活剂激活所述分离的T细胞的步骤

[0716] 任选地其中所述T细胞激活剂是T细胞激活抗体。

[0717] 分离的T细胞的转染

[0718] 235. 根据声明231至234中任一项所述的方法, 所述方法进一步包括将编码蛋白质的核酸引入所述分离的T细胞中以及在促进所述蛋白质表达的条件下培养所述细胞的步骤。

[0719] 236. 根据声明235所述的方法, 其中所述蛋白质选自由以下中的一者或多者组成的组: T细胞受体 (TCR)、嵌合抗原受体 (CAR)、分裂、通用且可编程的CAR (SUPRA-CAR)。

[0720] 237. 根据声明236所述的方法, 其中所述CAR和/或TCR包含结合至选自由以下组成的组的抗原的抗原结合结构域: CD19、CD20、CD22、GD2、CD133、EGFR、GPC3、CEA、MUC1、间皮素、IL-13R、PSMA、ROR1、CAIX、Her2。

[0721] 238. 根据声明235-237中任一项所述的方法, 所述方法进一步包括扩增所述T细胞的步骤。

[0722] 239. 根据声明235-238中任一项所述的方法, 所述方法进一步包括用T细胞激活剂激活所述T细胞的步骤。

[0723] 分离的T细胞的施用

[0724] 240. 一种治疗受试者的癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病的方法, 所述方法包括向所述受试者施用治疗有效剂量的根据声明231至239中任一项分离的T细胞、如声明408-413中任一项所述的分离的T细胞或如声明414所述的细胞群体。

[0725] 241. 根据声明240所述的方法, 其中向其施用所述分离的T细胞的受试者是从其分离所述T细胞的同一受试者。

[0726] 242. 根据声明240所述的方法, 其中向其施用所述分离的T细胞的受试者与从其分离所述T细胞的受试者不同。

[0727] 243. 根据声明240至242中任一项所述的方法, 其中所述T细胞通过选自由以下组成的组的方法施用于所述受试者: 静脉内注射、腹膜内注射、淋巴管内注射、鞘内注射、注射到脑脊液 (CSF) 中、直接注射到肿瘤中以及作为放置在实体瘤上或附近的凝胶。

[0728] 医疗用途

[0729] 244. 一种糖皮质激素, 所述糖皮质激素用于根据声明201-243中任一项所述的方法中。

[0730] 245. 糖皮质激素用于制造用于根据声明201-243中任一项所述的方法中的药物中的用途。

[0731] 246. 地塞米松用于诱导T细胞群体的用途, 其中所述T细胞群体通过根据声明201-243中任一项所述的方法来诱导。

[0732] AVM-T细胞源性iPSC

[0733] 247. 一种产生诱导型多能干细胞 (iPSC) 的方法, 所述方法包括对通过根据声明 231-233 中任一项所述的方法分离的 T 细胞进行重编程以产生 iPSC。

[0734] 248. 如声明 247 所述的方法, 其中所述重编程包括将编码 Oct3/4、Klf4、Sox2 和 C-myc 的一个或多个表达盒引入所述 T 细胞中。

[0735] 249. 如声明 247 所述的方法, 其中所述重编程包括将 Oct3/4、KLF4、Sox2 和 C-myc 编码 mRNA 引入所述 T 细胞中。

[0736] 250. 如声明 248 或 249 所述的方法, 其中所述重编程进一步包括将编码以下中的一者或多者的一个或多个表达盒引入所述 T 细胞中: Sox1、Sox3、Sox15、Klf1、Klf2、Klf5、L-myc、N-myc、Nanog 和/或 LIN28。

[0737] 251. 如声明 248 或 249 所述的方法, 其中所述重编程进一步包括将以下中的一者或多者引入所述 T 细胞中: Sox1、Sox3、Sox15、Klf1、Klf2、Klf5、L-myc、N-myc、Nanog 和/或 LIN28 编码 mRNA。

[0738] 252. 根据声明 247-251 中任一项所述的方法, 所述方法进一步包括诱导所述 iPSC 的分化。

[0739] 253. 根据声明 252 所述的方法, 其中所述 iPSC 分化成 T 细胞。

[0740] 254. 一种产生 T 细胞群体的方法, 所述方法包括使通过根据声明 247-251 中任一项所述的方法产生的 iPSC 分化成 NKT 细胞谱系。

[0741] AVM-T 细胞和 AVM-树突细胞

[0742] 255. 根据声明 201-230 中任一项所述的方法, 其中所述糖皮质激素受体 (GR) 调节剂还在所述受试者中诱导 NKT 细胞群体,

[0743] 任选地, 其中所述 NKT 细胞如声明 102-108 中任一项所定义。

[0744] 256. 根据声明 201-230 或 255 中任一项所述的方法, 其中所述糖皮质激素受体 (GR) 调节剂还在所述受试者中激活树突细胞群体,

[0745] 任选地, 其中所述树突细胞如声明 302-304 中任一项所定义。

[0746] ---

[0747] AVM-树突细胞

[0748] 301. 一种产生激活的树突细胞群体的方法, 所述方法包括以相当于约至少 6mg/kg 地塞米松碱的人体等效剂量 (HED) 的剂量向受试者施用糖皮质激素受体 (GR) 调节剂或 ICAM3 调节剂,

[0749] 其中所述糖皮质激素受体 (GR) 调节剂或 ICAM3 调节剂在所述受试者中诱导所述树突细胞群体。

[0750] 树突细胞标志物表达

[0751] 302. 如声明 301 所述的方法, 其中所述树突细胞群体的特征在于至少 60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 的所述细胞表达 CD11b。

[0752] 303. 根据声明 301-302 中任一项所述的方法, 其中所述树突细胞为 CD11b+/极亮,

[0753] 任选地, 其中所述表达水平相对于来源于常见来源的参考树突细胞群体中的平均表达水平确定, 所述参考树突细胞尚未与所述糖皮质激素受体 (GR) 调节剂接触。

[0754] 304. 根据声明 302-303 中任一项所述的方法, 其中通过流式细胞术测量表达, 任选地其中所述流式细胞术使用本文所述的设备、试剂和/或条件 (单独或组合) 进行。

[0755] 糖皮质激素

[0756] 305. 根据声明301-304中任一项所述的方法, 其中所述糖皮质激素受体 (GR) 调节剂是糖皮质激素, 任选地其中所述糖皮质激素选自由以下组成的组: 地塞米松、氢化可的松、甲泼尼龙、泼尼松、泼尼松龙、泼尼立定、可的松、布地奈德、倍他米松、氟米松和倍氯米松。

[0757] 306. 根据声明305所述的方法, 其中所述糖皮质激素选自由以下组成的组: 地塞米松、倍他米松和甲基泼尼龙, 优选地其中所述糖皮质激素是地塞米松或倍他米松。

[0758] 307. 根据声明305-306中任一项所述的方法, 其中所述糖皮质激素选自由以下组成的组: 地塞米松碱、地塞米松磷酸钠、半琥珀酸地塞米松、地塞米松琥珀酸钠、琥珀酸地塞米松、异烟酸地塞米松、乙酸地塞米松-21、磷酸地塞米松、磷酸地塞米松-21、乙酸特丁地塞米松、戊酸地塞米松-17、一水合乙酸地塞米松、特戊酸地塞米松、棕榈酸地塞米松、棕榈酸地塞米松-21、二丙酸地塞米松、丙酸地塞米松、无水乙酸地塞米松、苯丙酸地塞米松-21、磺基苯甲酸地塞米松-21、半硫酸地塞米松、硫酸地塞米松、地塞米松beloxil、地塞米松酸、乙呋地塞米松、地塞米松甲酰亚胺、地塞米松培酯、地塞米松21-磷酸二钠盐、甲磺酸地塞米松、亚油酸地塞米松、地塞米松葡萄糖苷、地塞米松葡萄糖苷酸、碘醋酸地塞米松、地塞米松氧杂环丁烷酮、羧甲基硫代-地塞米松、地塞米松bisethoximes、地塞米松环氧化物、反亚油酸地塞米松、甲基原戊酸地塞米松、地塞米松精胺、6-羟基地塞米松、三丁基乙酸地塞米松、地塞米松天冬氨酸、地塞米松吡喃半乳糖、盐酸地塞米松、羟基地塞米松、羧基地塞米松、脱氧地塞米松、地塞米松丁氮酮、地塞米松环糊精、二氢地塞米松、氧代地塞米松、丙酰氧基地塞米松、地塞米松galactodie、异烟酸地塞米松、地塞米松磷酸氢二钠、地塞米松醛、特戊酸地塞米松、三癸酸地塞米松、巴豆酸地塞米松、甲磺酸地塞米松、丁基乙酸地塞米松、脱氢地塞米松、地塞米松异硫氰酸基乙基) 硫醚、溴乙酸地塞米松、半戊二酸地塞米松、脱氧地塞米松、地塞米松chlorambucilate、地塞米松melphalanate、甲酰氧基地塞米松、丁酸地塞米松、月桂酸地塞米松、乙酸地塞米松以及含有地塞米松形式的任何组合治疗。

[0759] 308. 根据声明307所述的方法, 其中所述地塞米松是地塞米松磷酸钠。

[0760] 糖皮质激素剂量

[0761] 309. 根据声明301-308中任一项所述的方法, 其中所述糖皮质激素以相当于约以下的剂量施用:

[0762] i) 至少6-12mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED);

[0763] ii) 至少6mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED);

[0764] iii) 至少12mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED);

[0765] iv) 至少15mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED);

[0766] v) 至少18mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED);

[0767] vi) 至少24mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED);

[0768] vii) 15mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED);

[0769] viii) 24mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED);

[0770] ix) 30mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED);

[0771] x) 45mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED); 或

[0772] xi) 取自来自一系列mg/kg值的mg/kg值的地塞米松的人体等效剂量 (HED), 其中所

述范围由上述部分i)至x)中列出的mg/kg值中的两个限定。

[0773] 310.根据声明301-309中任一项所述的方法,其中所述糖皮质激素作为单一急性剂量施用,或作为在约72小时时间段内给予的总剂量施用。

[0774] 311.根据声明301-310中任一项所述的方法,其中所述方法包括施用一个或多个另外剂量的糖皮质激素。

[0775] 312.根据声明311所述的方法,其中所述一个或多个另外的剂量:

[0776] i)在先前糖皮质激素施用后24小时与120小时之间;

[0777] ii)在先前糖皮质激素施用后24小时与48小时之间;

[0778] iii)在先前糖皮质激素施用后72小时与120小时之间;

[0779] iv)在第一糖皮质激素施用后每24、48、72、96、120、144或168小时;

[0780] v)在第一糖皮质激素施用后每两周一次;

[0781] vi)在第一糖皮质激素施用后每月一次;或

[0782] vii)在第一糖皮质激素施用后每周两次施用。

[0783] 树突细胞激活

[0784] 313.根据声明301-312中任一项所述的方法,所述方法进一步包括将树突细胞激活剂施用于所述受试者的步骤。

[0785] 314.根据声明313所述的方法,其中所述树突细胞激活剂在施用糖皮质激素后48小时内或约48小时施用。

[0786] 受试者

[0787] 315.根据声明301-314中任一项所述的方法,其中所述受试者是哺乳动物,优选地其中所述受试者是人。

[0788] 316.根据声明301-315中任一项所述的方法,其中所述受试者患有、疑似患有或已被诊断患有选自自由以下组成的组的疾病:癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病。

[0789] 317.根据声明316所述的方法,其中所述癌症是实体瘤癌症。

[0790] 318.根据声明316所述的方法,其中所述癌症选自自由以下组成的组:鳞状细胞癌(如上皮鳞状细胞癌);肺癌,包括小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肺腺癌和肺鳞状细胞癌;腹膜癌;肝细胞癌;胃部癌或胃癌,包括胃肠癌;胰腺癌;胶质母细胞瘤;宫颈癌;卵巢癌;肝癌;膀胱癌;肝细胞瘤;乳腺癌;结肠癌;直肠癌;结肠直肠癌;子宫内膜癌或子宫癌;唾液腺癌;肾脏癌或肾癌;前列腺癌;外阴癌;甲状腺癌;肝癌;肛门癌;阴茎癌以及头颈癌。

[0791] 319.根据声明318所述的方法,其中所述癌症是淋巴瘤,优选B细胞淋巴瘤、T细胞淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤。

[0792] 320.根据声明317-319中任一项所述的方法,其中所述树突细胞通过肿瘤浸润来治疗所述癌症。

[0793] 321.根据声明320所述的方法,其中所述树突细胞通过释放免疫激活细胞因子来治疗所述癌症。

[0794] 322.根据声明320至321中任一项所述的方法,其中所述树突细胞促进其它免疫细胞如T细胞浸润到所述肿瘤中。

[0795] 323.根据声明320至322中任一项所述的方法,其中所述树突细胞促进肿瘤坏死。

[0796] 324.根据声明316所述的方法,其中所述自身免疫性疾病选自自由以下组成的组:多

发性硬化症、系统性硬化症、肌萎缩性侧索硬化症、1型糖尿病 (T1D)、硬皮病、天疱疮和狼疮。

[0797] 325. 根据声明316所述的方法, 其中所述自身免疫性疾病是1型糖尿病 (T1D)。

[0798] 326. 根据声明316所述的方法, 其中所述感染性疾病选自由以下组成的组: HIV和疱疹、肝炎、人乳头瘤病毒或由冠状病毒感染引起的疾病如COVID-19。

[0799] 327. 根据声明316所述的方法, 其中所述感染性疾病是:

[0800] i) HIV; 或

[0801] ii) COVID-19。

[0802] 分离/扩增步骤

[0803] 328. 根据声明301-327中任一项所述的方法, 所述方法进一步包括从所述受试者或从源自所述受试者的样品分离树突细胞群体的步骤,

[0804] 任选地, 其中所述分离步骤在以下条件下进行:

[0805] iv) 在糖皮质激素施用后至少48小时;

[0806] v) 在糖皮质激素施用后48小时与13天之间; 或

[0807] vi) 在糖皮质激素施用后6与48小时之间。

[0808] 329. 如声明328所述的方法, 其中所述样品选自由以下组成的组: 血液、血浆、肿瘤活检物或手术切除的肿瘤、骨髓、肝脏和脂肪或脂肪组织。

[0809] 330. 根据声明328或329所述的方法, 所述方法进一步包括扩增所述分离的树突细胞的步骤。

[0810] 331. 根据声明328-330中任一项所述的方法, 所述方法进一步包括用树突细胞激活剂激活所述分离的树突细胞的步骤。

[0811] 分离的树突细胞的转染

[0812] 332. 根据声明328至331中任一项所述的方法, 所述方法进一步包括将编码蛋白质的核酸引入所述分离的树突细胞中以及在促进所述蛋白质表达的条件下培养所述细胞的步骤。

[0813] 333. 根据声明332所述的方法, 其中所述蛋白质选自由以下中的一者或多者组成的组: T细胞受体 (TCR)、嵌合抗原受体 (CAR)、分裂、通用且可编程的CAR (SUPRA-CAR)。

[0814] 334. 根据声明333所述的方法, 其中所述CAR和/或TCR包含结合至选自由以下组成的组的抗原的抗原结合结构域: CD19、CD20、CD22、GD2、CD133、EGFR、GPC3、CEA、MUC1、间皮素、IL-13R、PSMA、ROR1、CAIX、Her2。

[0815] 335. 根据声明332-334中任一项所述的方法, 所述方法进一步包括扩增所述树突细胞的步骤。

[0816] 336. 根据声明332-335中任一项所述的方法, 所述方法进一步包括用树突细胞激活剂激活所述树突细胞的步骤。

[0817] 分离的树突细胞的施用

[0818] 337. 一种治疗受试者的癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病的方法, 所述方法包括向所述受试者施用治疗有效剂量的根据声明328至336中任一项分离的树突细胞、如声明415-420中任一项所述的分离的树突细胞或如声明421所述的细胞群体。

[0819] 338. 根据声明337所述的方法, 其中向其施用所述分离的树突细胞的受试者是从

其分离所述树突细胞的同一受试者。

[0820] 339. 根据声明337所述的方法, 其中向其施用所述分离的树突细胞的受试者与从其分离所述树突细胞的受试者不同。

[0821] 340. 根据声明337至339中任一项所述的方法, 其中所述树突细胞通过选自由以下组成的组的方法施用于所述受试者: 静脉内注射、腹膜内注射、淋巴管内注射、鞘内注射、注射到脑脊液 (CSF) 中、直接注射到肿瘤中以及作为放置在实体瘤上或附近的凝胶。

[0822] 医疗用途

[0823] 341. 一种糖皮质激素, 所述糖皮质激素用于根据声明301-340中任一项所述的方法中。

[0824] 342. 糖皮质激素用于制造用于根据声明301-340中任一项所述的方法中的药物中的用途。

[0825] 343. 地塞米松用于诱导树突细胞群体的用途, 其中所述树突细胞群体通过根据声明301-340中任一项所述的方法来诱导。

[0826] AVM-树突细胞源性iPSC

[0827] 344. 一种产生诱导型多能干细胞 (iPSC) 的方法, 所述方法包括对通过根据声明328-330中任一项所述的方法分离的树突细胞进行重编程以产生iPSC。

[0828] 345. 如声明344所述的方法, 其中所述重编程包括将编码Oct3/4、Klf4、Sox2和C-myc的一个或多个表达盒引入所述树突细胞中。

[0829] 346. 如声明344所述的方法, 其中所述重编程包括将Oct3/4、KLF4、Sox2和C-myc编码mRNA引入所述树突细胞中。

[0830] 347. 如声明345或346所述的方法, 其中所述重编程进一步包括将编码以下中的一者或多者的一个或多个表达盒引入所述树突细胞中: Sox1、Sox3、Sox15、Klf1、Klf2、Klf5、L-myc、N-myc、Nanog和/或LIN28。

[0831] 348. 如声明345或346所述的方法, 其中所述重编程进一步包括将以下中的一者或多者引入所述树突细胞中: Sox1、Sox3、Sox15、Klf1、Klf2、Klf5、L-myc、N-myc、Nanog和/或LIN28编码mRNA。

[0832] 349. 根据声明344-348中任一项所述的方法, 所述方法进一步包括诱导所述iPSC的分化。

[0833] 350. 根据声明349所述的方法, 其中所述iPSC分化成树突细胞。

[0834] 351. 一种产生树突细胞群体的方法, 所述方法包括使通过根据声明344-348中任一项所述的方法产生的iPSC分化成树突细胞谱系。

[0835] AVM-T细胞和AVM-树突细胞

[0836] 352. 根据声明301-327中任一项所述的方法, 其中所述糖皮质激素受体 (GR) 调节剂还在所述受试者中诱导NKT细胞群体,

[0837] 任选地, 其中所述NKT细胞如声明102-108中任一项所定义。

[0838] 353. 根据声明301-327或352中任一项所述的方法, 其中所述糖皮质激素受体 (GR) 调节剂还在所述受试者中激活T细胞群体,

[0839] 任选地, 其中所述T细胞如声明202-205中任一项所定义。

[0840] ---

[0841] 401.一种分离的自然杀伤T细胞 (NKT细胞) 或自然杀伤T细胞 (NKT细胞) 群体,其通过根据声明101-159中任一项所述的方法产生。

[0842] 402.一种分离的自然杀伤T细胞 (NKT细胞),其特征在於所述细胞表达CD3,并且:

[0843] i) 表达CD4、CD8、CD45、CD49b、CD56、CD62L、NK1.1、Ly6G、Sca1和/或TCR γ/δ ;和/或

[0844] ii) 不表达:C-kit、B220、FoxP3和/或TCR α/β 。

[0845] 403.根据声明402所述的分离的NKT细胞,其中所述NKT细胞或其前体已经从受试者分离,其中使所述NKT细胞或所述NKT细胞的前体在分离之前在体内或在分离之后在体外与高剂量糖皮质激素受体 (GR) 调节剂接触,并且其中CD3表达水平是来自尚未与所述GR调节剂接触的受试者的参考NKT细胞群体中的平均CD3表达水平的至少两倍高。

[0846] 404.根据声明403所述的分离的NKT细胞,其中所述分离的NKT细胞和所述参考NKT细胞群体的CD3表达水平通过流式细胞术进行测量。

[0847] 405.根据声明404所述的分离的NKT细胞,其中所述流式细胞术使用本文所述的设备、试剂和/或条件(单独或组合)进行。

[0848] 406.根据声明403至405中任一项所述的分离的NKT细胞,其中所述分离的NKT细胞的CD3表达水平是来自尚未与所述糖皮质激素受体 (GR) 调节剂接触的受试者的所述参考NKT细胞群体中的平均CD3表达水平的至少三倍、至少四倍或至少五倍高。

[0849] 407.一种分离的自然杀伤T细胞 (NKT细胞) 群体,其特征在於至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞:

[0850] i) 表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD49b、CD56、CD62L、NK1.1、Ly6G、Sca1和/或TCR γ/δ ;和/或

[0851] ii) 不表达:C-kit、B220、FoxP3和/或TCR α/β 。

[0852] ---

[0853] 408.一种分离的T细胞或T细胞群体,其通过根据声明201-254中任一项所述的方法产生。

[0854] 409.一种分离的T细胞,其特征在於所述细胞表达CD3,并且:

[0855] i) 表达CD4、CD45和/或CD49b;和/或

[0856] ii) 不表达CD8;

[0857] 任选地其中所述细胞表达TCR γ/δ 。

[0858] 410.根据声明409所述的分离的T细胞,其中所述T细胞或其前体已经从受试者分离,其中使所述T细胞或所述T细胞的前体在分离之前在体内或在分离之后在体外与高剂量糖皮质激素受体 (GR) 调节剂接触,并且其中CD3表达水平是来自尚未与所述GR调节剂接触的受试者的参考T细胞群体中的平均CD3表达水平的至少两倍高。

[0859] 411.根据声明410所述的分离的T细胞,其中所述分离的T细胞和所述参考T细胞群体的CD3表达水平通过流式细胞术进行测量。

[0860] 412.根据声明411所述的分离的T细胞,其中所述流式细胞术使用本文所述的设备、试剂和/或条件(单独或组合)进行。

[0861] 413.根据声明410至412中任一项所述的分离的T细胞,其中所述分离的T细胞的CD3表达水平是来自尚未与所述糖皮质激素受体 (GR) 调节剂接触的受试者的所述参考T细胞群体中的平均CD3表达水平的至少三倍、至少四倍或至少五倍高。

[0862] 414. 一种分离的T细胞群体,其特征不在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞:

[0863] i) 表达CD3、CD4、CD45和/或CD49b;和/或

[0864] ii) 不表达CD8;

[0865] 并且其中所述CD3表达水平是来自尚未与所述糖皮质激素受体 (GR) 调节剂接触的受试者的参考T细胞群体中的平均CD3表达水平的至少三倍、至少四倍或至少五倍高;

[0866] 任选地,其中至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达TCR γ/δ 。

[0867] ---

[0868] 415. 一种分离的树突细胞或树突细胞群体,其通过根据声明301-351中任一项所述的方法产生。

[0869] 416. 一种分离的树突细胞,其特征不在于所述细胞表达CD11b。

[0870] 417. 根据声明416所述的分离的树突细胞,其中所述树突细胞或其前体已经从受试者分离,其中使所述树突细胞或所述树突细胞的前体在分离之前在体内或在分离之后在体外与高剂量糖皮质激素受体 (GR) 调节剂接触,并且其中CD11b表达水平是来自尚未与所述GR调节剂接触的受试者的参考树突细胞群体中的平均CD11b表达水平的至少两倍高。

[0871] 418. 根据声明417所述的分离的树突细胞,其中所述分离的树突细胞和所述参考树突细胞群体的CD11b表达水平通过流式细胞术进行测量。

[0872] 419. 根据声明418所述的分离的树突细胞,其中所述流式细胞术使用本文所述的设备、试剂和/或条件(单独或组合)进行。

[0873] 420. 根据声明417至419中任一项所述的分离的树突细胞,其中所述分离的树突细胞的CD11b表达水平是来自尚未与所述糖皮质激素受体 (GR) 调节剂接触的受试者的所述参考树突细胞群体中的平均CD11b表达水平的至少三倍、至少四倍或至少五倍高。

[0874] 421. 一种分离的树突细胞群体,其特征不在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD11b;并且其中所述CD11b表达水平是来自尚未与所述糖皮质激素受体 (GR) 调节剂接触的受试者的参考树突细胞群体中的平均CD11b表达水平的至少三倍、至少四倍或至少五倍高。

[0875] ---

[0876] 422. 一种用于治疗受试者的癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病的方法中的糖皮质激素,所述方法包括以相当于约6-45mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED) 的剂量向所述受试者施用糖皮质激素,

[0877] 其中所述糖皮质激素诱导NKT细胞群体,其特征不在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞:

[0878] i) 表达CD3、CD4、CD8、CD45、CD49b、CD56、CD62L、NK1.1、Ly6G、Sca1和/或TCR γ/δ ;和/或

[0879] ii) 不表达:C-kit、B220、FoxP3和/或TCR α/β 。

[0880] 423. 一种用于治疗受试者的癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病的方法中的糖皮质激素,所述方法包括以相当于约6-45mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED) 的剂量向所述受试者施用糖皮质激素,

[0881] 其中所述糖皮质激素诱导T细胞群体,其特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD3,并且其中所述CD3表达水平是来自尚未与所述糖皮质激素受体 (GR) 调节剂接触的受试者的参考T细胞群体中的平均CD3表达水平的至少三倍、至少四倍或至少五倍高。

[0882] 424.一种用于治疗受试者的癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病的方法中的糖皮质激素,所述方法包括以相当于约6-45mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED) 的剂量向所述受试者施用糖皮质激素,

[0883] 其中所述糖皮质激素激活树突细胞群体,其特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD11b;并且其中所述CD11b表达水平是来自尚未与所述糖皮质激素受体 (GR) 调节剂接触的受试者的参考树突细胞群体中的平均CD11b表达水平的至少三倍、至少四倍或至少五倍高。

[0884] 425.一种用于治疗受试者的癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病的方法中的糖皮质激素,所述方法包括以相当于约6-45mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED) 的剂量向所述受试者施用糖皮质激素,

[0885] 其中所述糖皮质激素:

[0886] i) 诱导如声明101-159中任一项所定义的自然杀伤T细胞 (NKT细胞) 群体;

[0887] ii) 诱导如声明201-254中任一项所定义的T细胞群体;和/或

[0888] iii) 激活如声明301-351中任一项所定义的树突细胞群体。

[0889] 426.一种治疗受试者的癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效剂量的:

[0890] i) 根据声明136至144中任一项分离的NKT细胞、如声明401-406中任一项所述的分离的NKT细胞或如声明407所述的细胞群体;

[0891] ii) 根据声明231至239中任一项分离的T细胞、如声明408-413中任一项所述的分离的T细胞或如声明414所述的细胞群体;和/或iii) 根据声明328至336中任一项分离的树突细胞、如声明415-420中任一项所述的分离的树突细胞或如声明421所述的细胞群体。

[0892] ---

[0893] 501.一种治疗受试者中由冠状病毒感染引起的疾病的方法,所述方法包括以相当于约至少6mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED) 的剂量向所述受试者施用糖皮质激素受体 (GR) 调节剂。

[0894] 502.根据声明501所述的方法,其中所述糖皮质激素受体 (GR) 调节剂是糖皮质激素。

[0895] 503.根据声明501所述的方法,其中所述糖皮质激素受体 (GR) 调节剂是地塞米松或倍他米松。

[0896] 504.根据声明501-503中任一项所述的方法,其中所述糖皮质激素受体调节剂以相当于约至少18mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量 (HED) 的剂量施用。

[0897] 505.根据声明501-504中任一项所述的方法,其中所述糖皮质激素受体调节剂以相当于约18mg/kg与30mg/kg之间地塞米松碱的人体等效剂量 (HED) 的剂量施用。

[0898] 506.根据声明501-505中任一项所述的方法,其中所述疾病是COVID-19。

[0899] 507.根据声明501-506中任一项所述的方法,其中所述糖皮质激素受体调节剂:

- [0900] i) 诱导如声明101-159中任一项所定义的自然杀伤T细胞(NKT细胞)群体;
- [0901] ii) 诱导如声明201-254中任一项所定义的T细胞群体;和/或
- [0902] iii) 激活如声明301-351中任一项所定义的树突细胞群体。
- [0903] 508. 根据声明507所述的方法,其中所述NKT细胞通过吞噬并杀死所述冠状病毒和/或通过激活其它先天性和适应性免疫细胞来治疗所述疾病。
- [0904] 509. 一种糖皮质激素受体 (GR) 调节剂,其用于根据声明501-508中任一项所述的方法中。
- [0905] 510. 糖皮质激素受体 (GR) 调节剂用于制造用于根据声明501-508中任一项所述的方法中的药物中的用途。

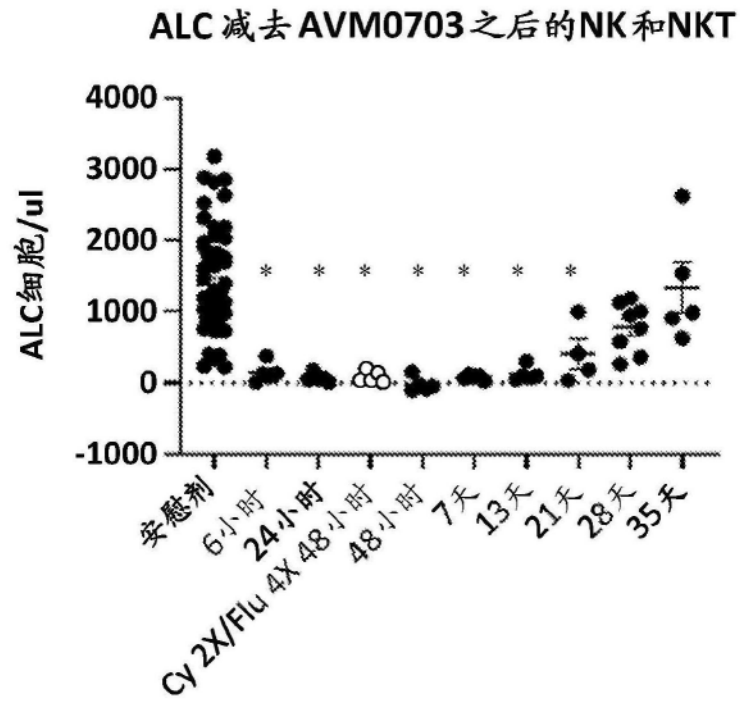


图1

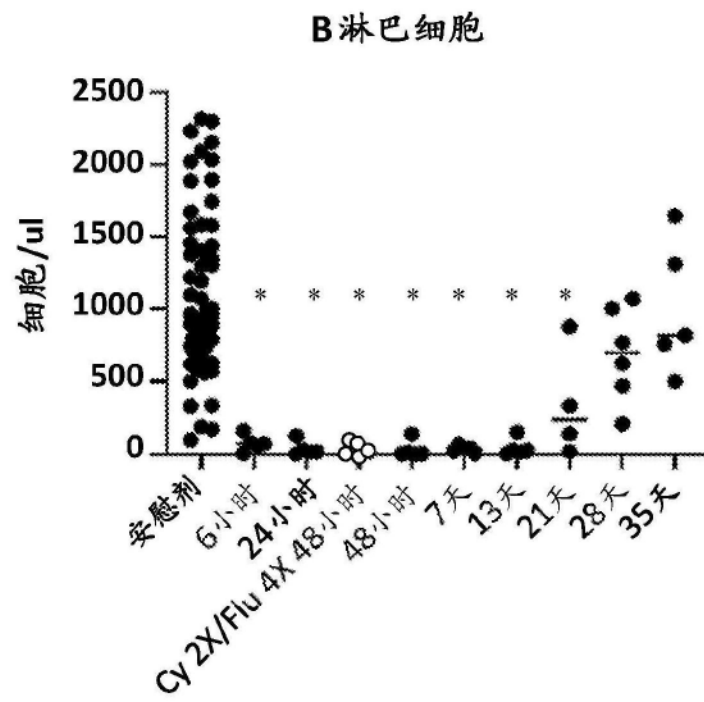


图2

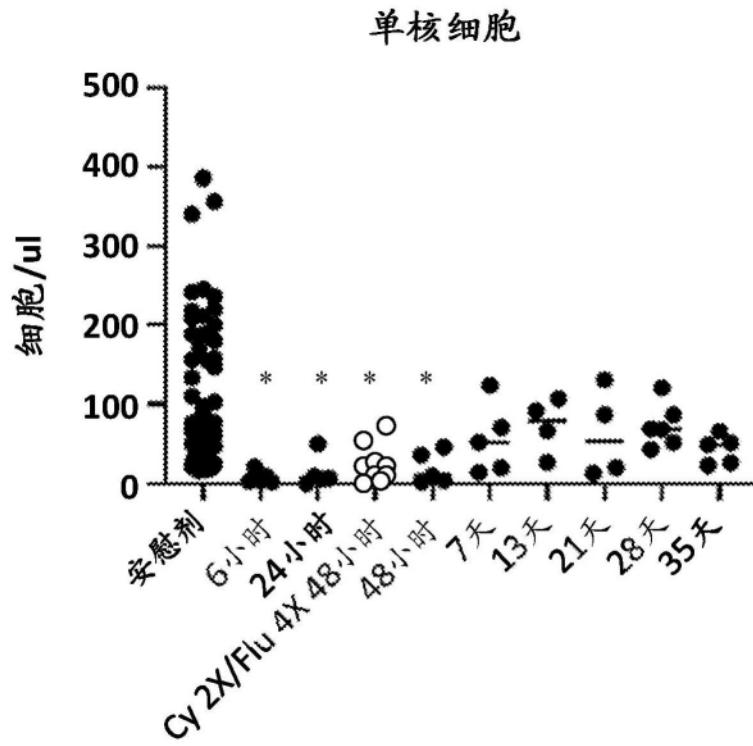


图3

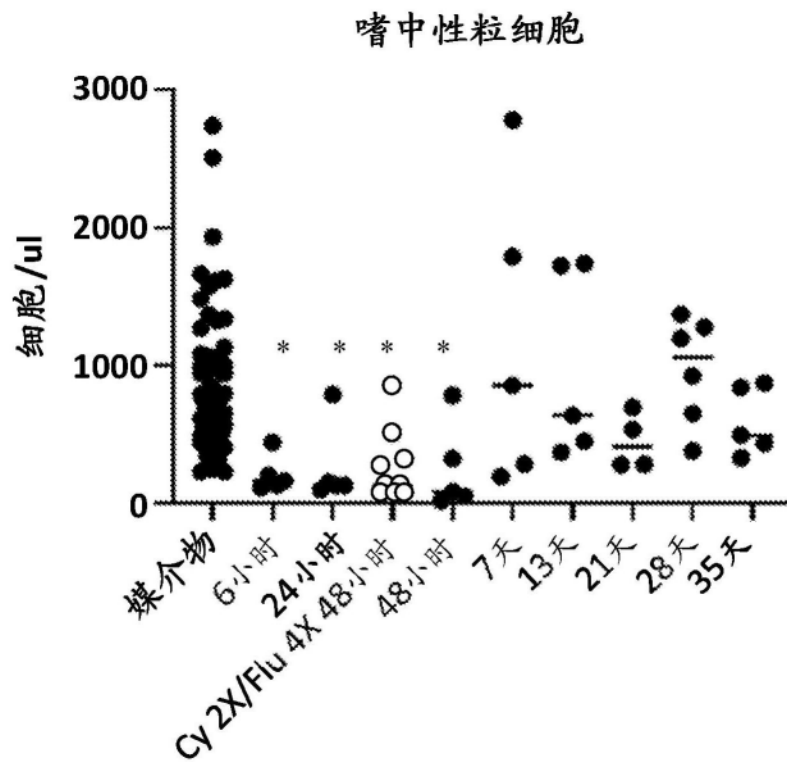


图4

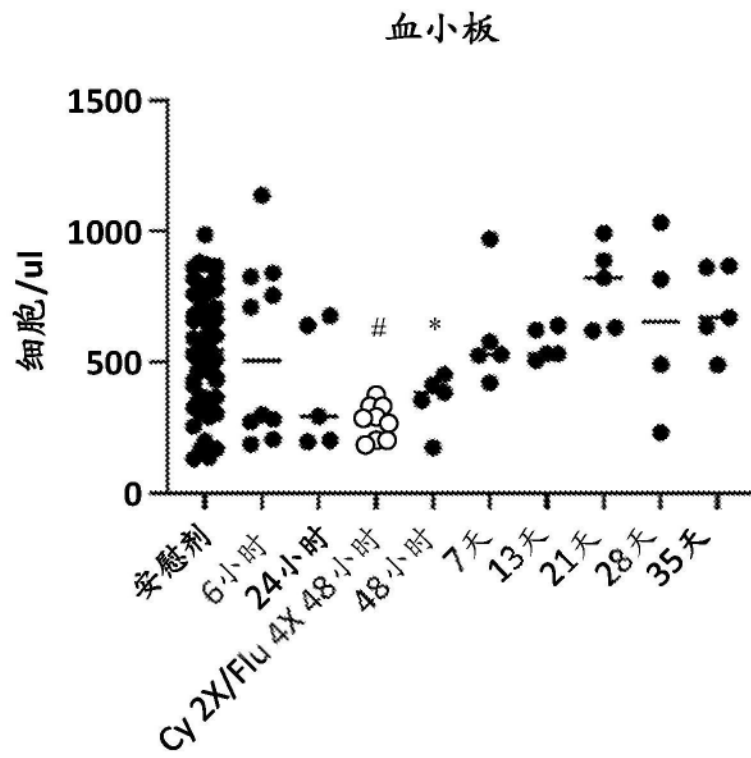


图5

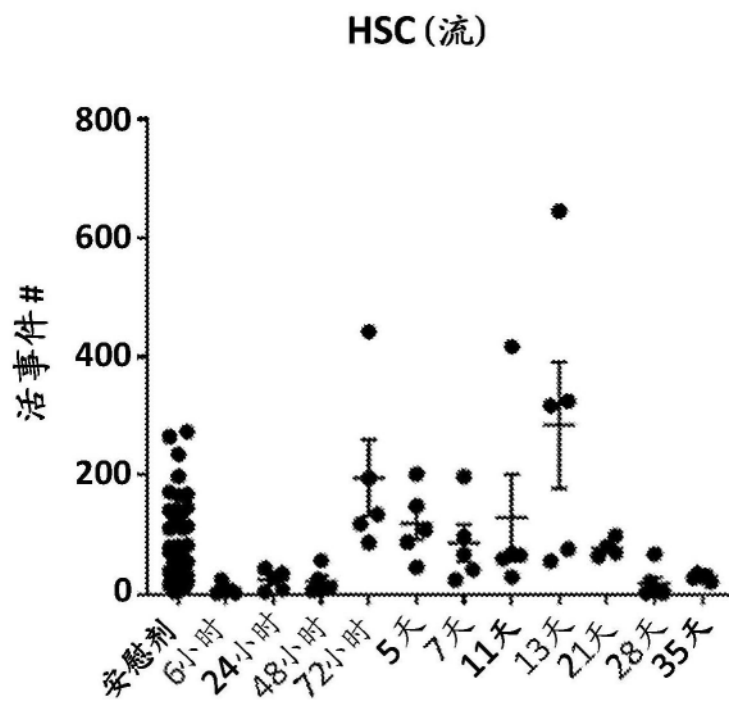


图6

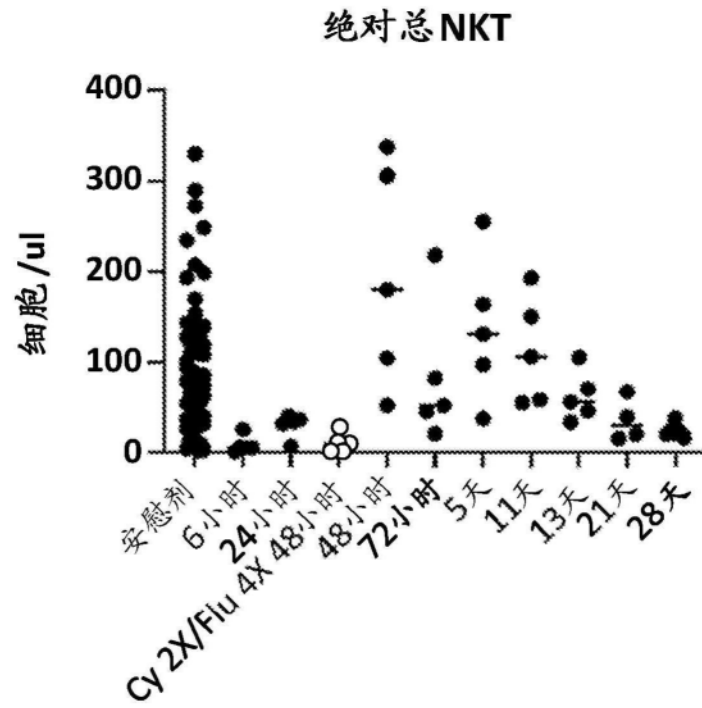


图7

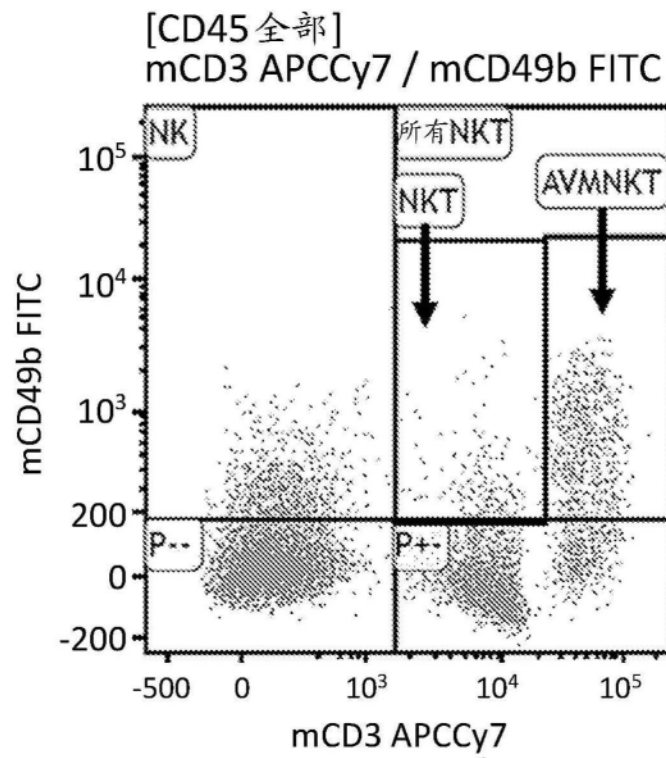


图8

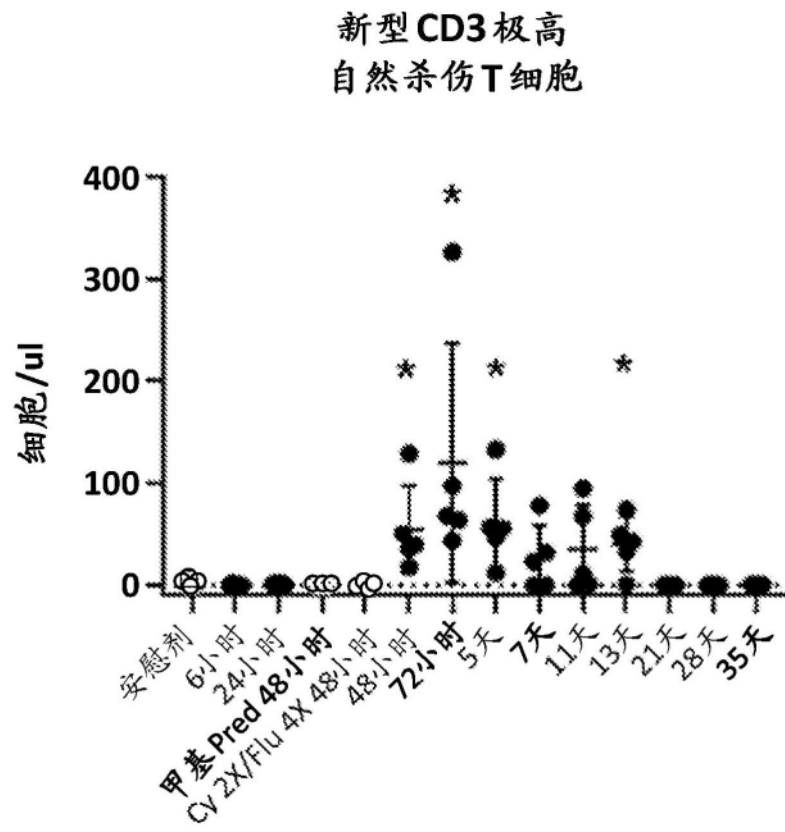


图9

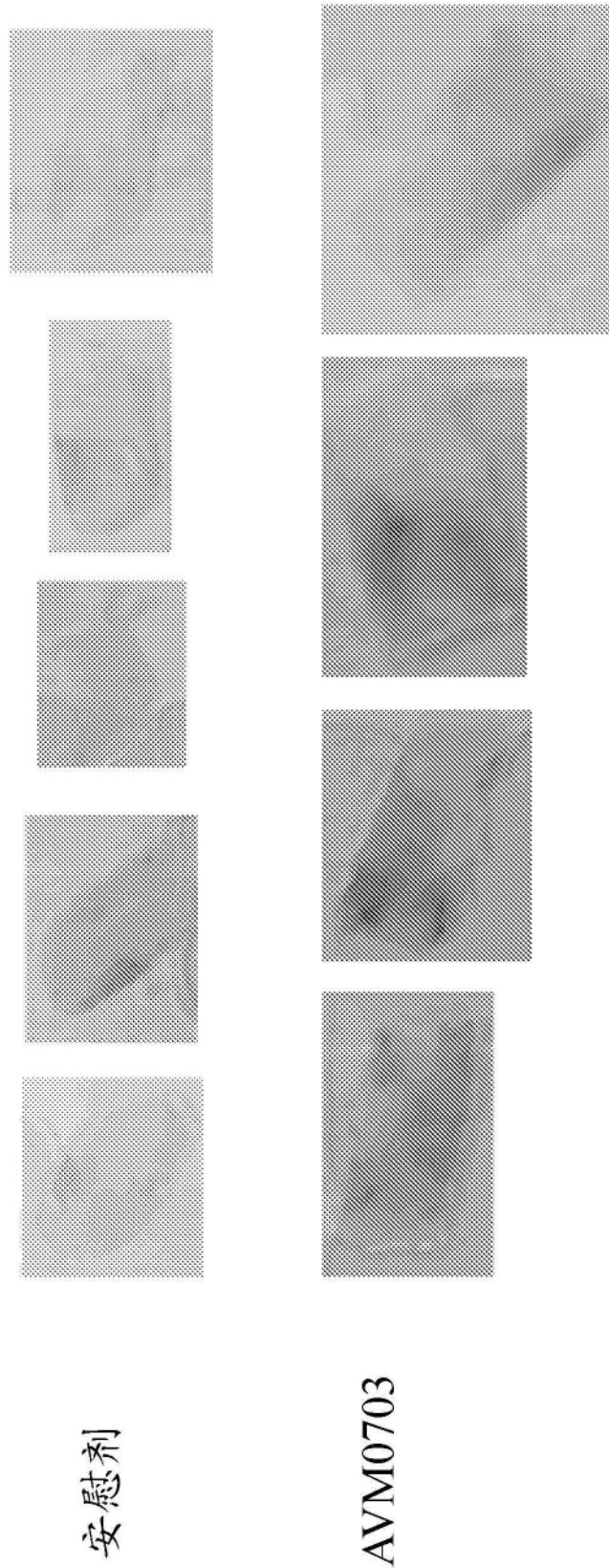
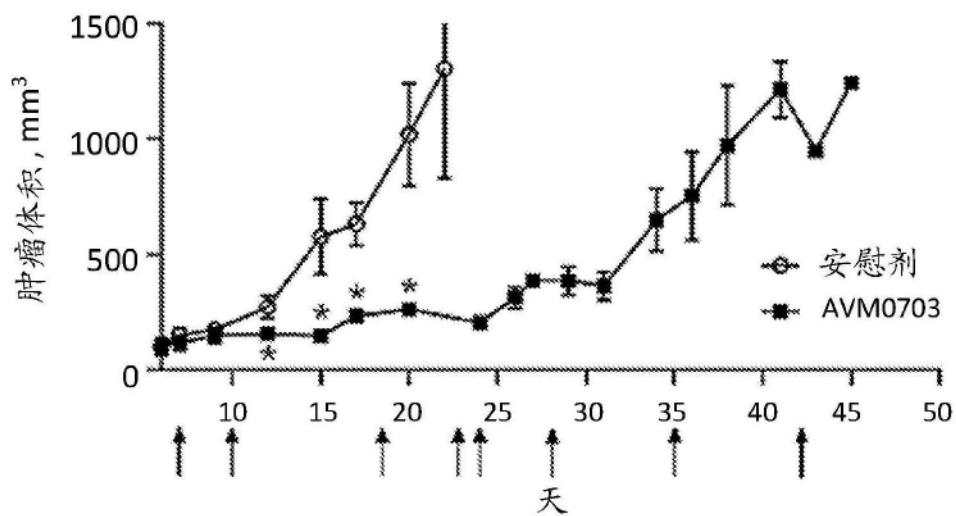


图10

重复AVM0703 (18.06 mg/kg HED DP)

显著延迟A20淋巴瘤生长



箭头指示安慰剂或AVM0703口服给药的天数

图11

所有时间点CD4+ %

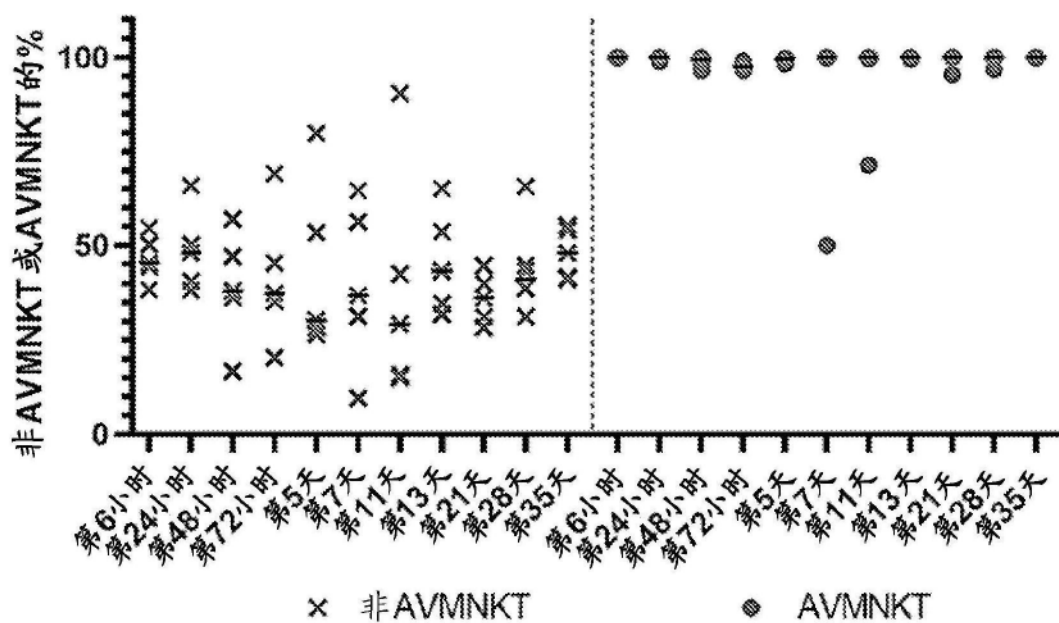


图12

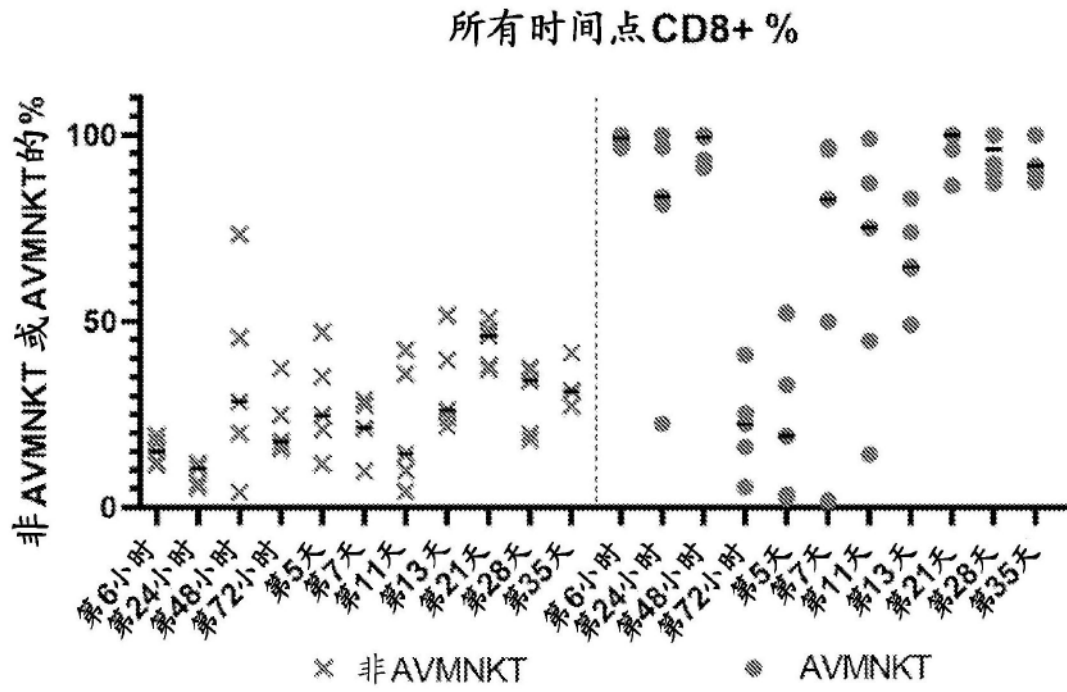


图13

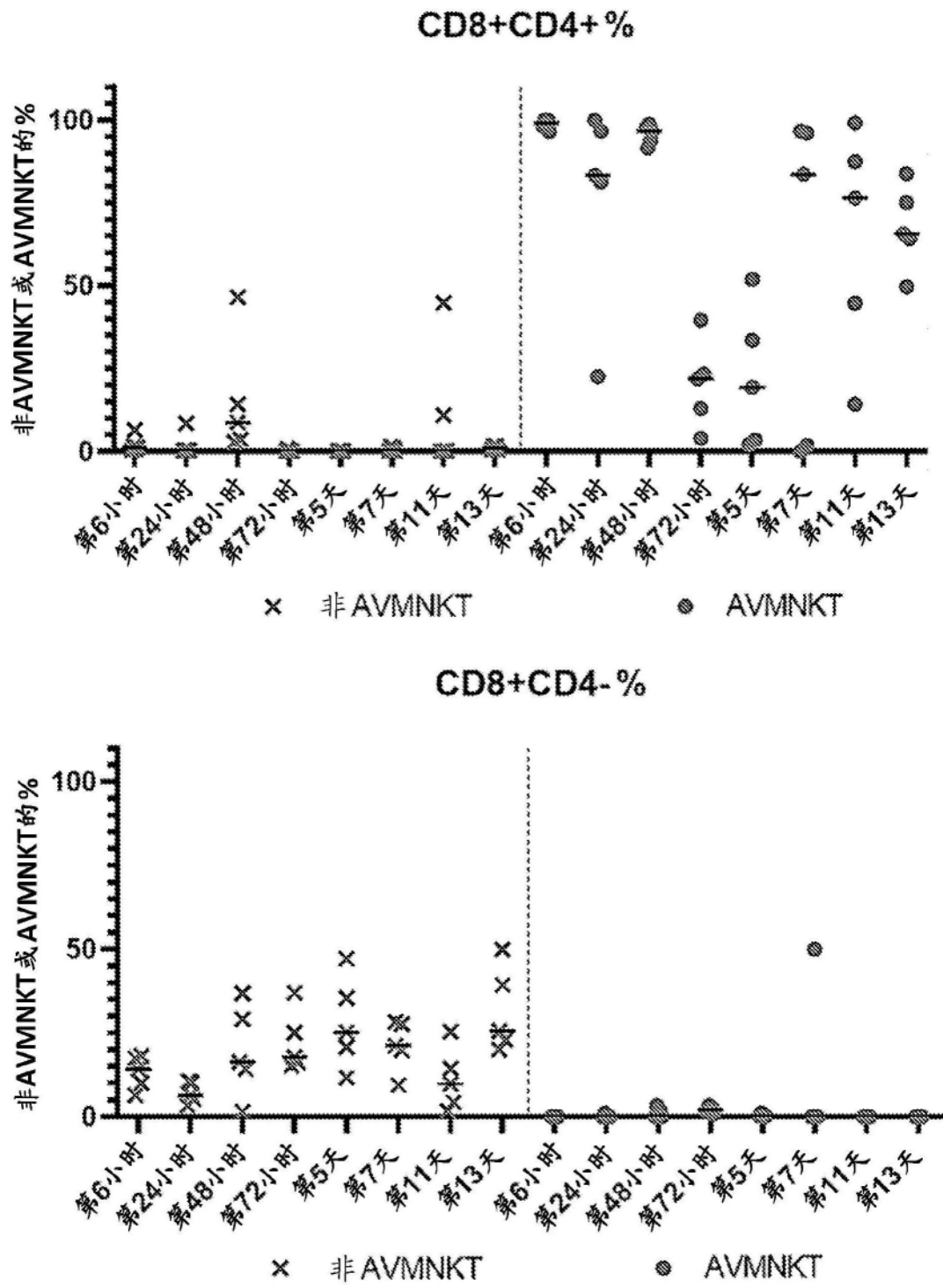


图14

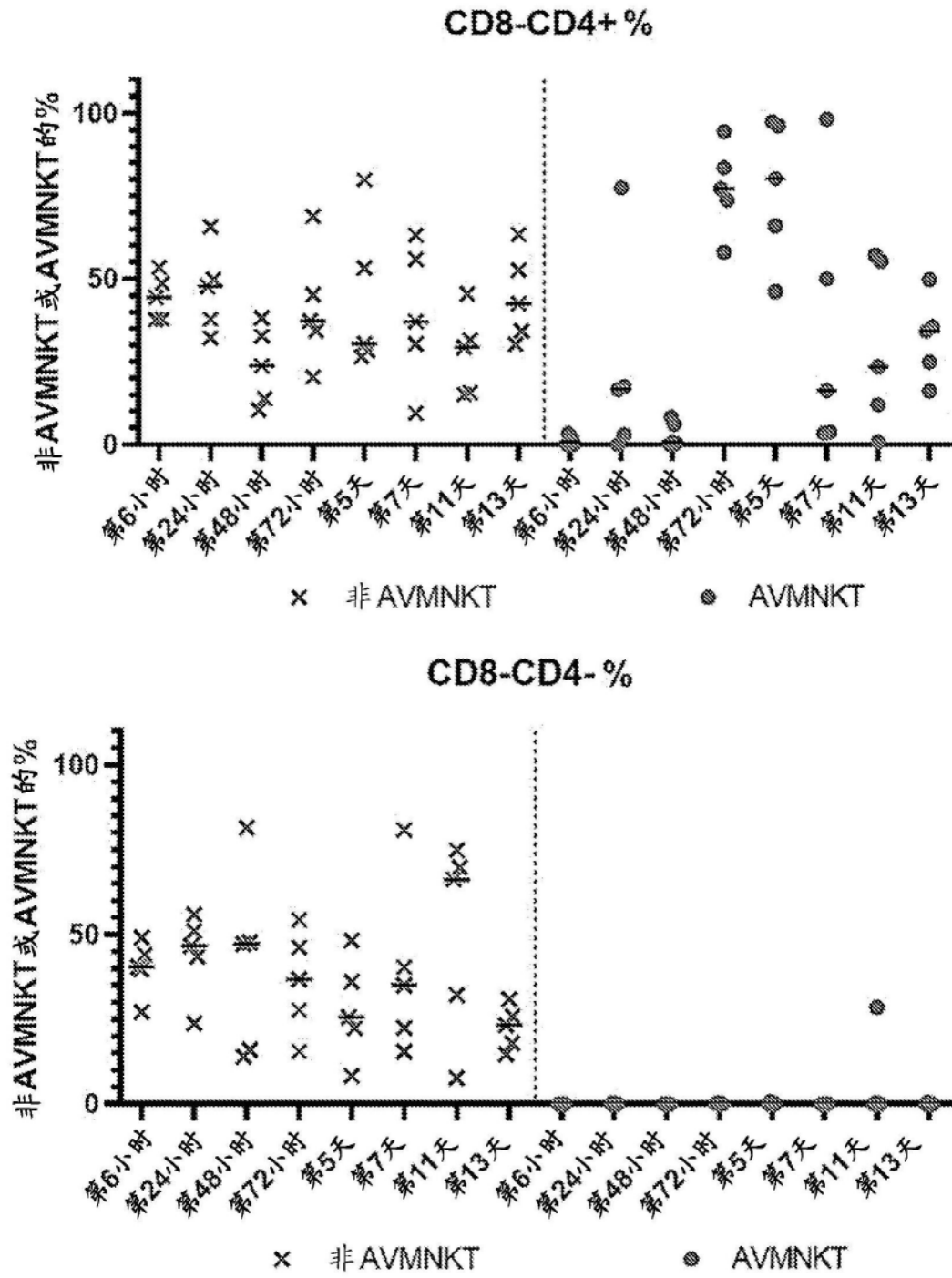


图14 (续)

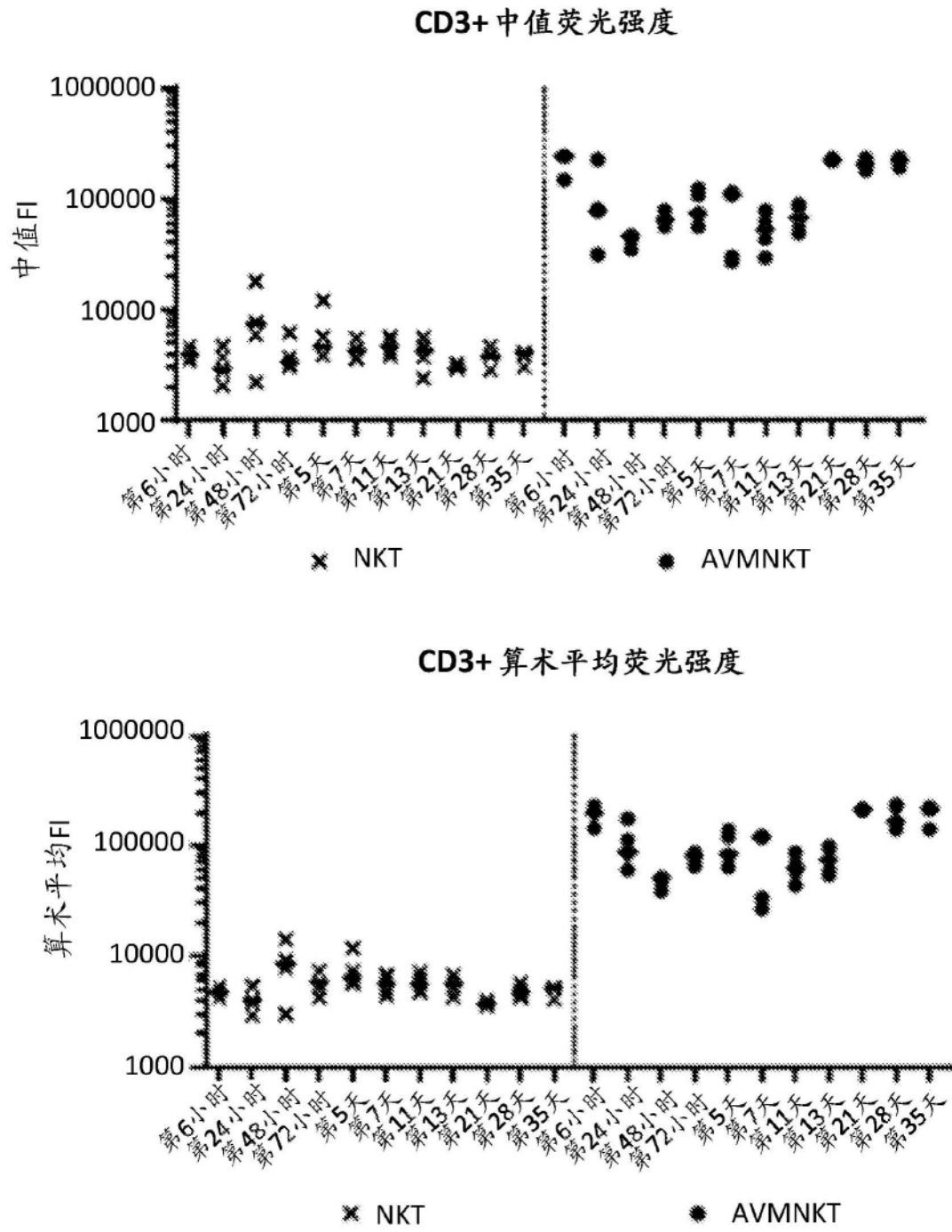


图15

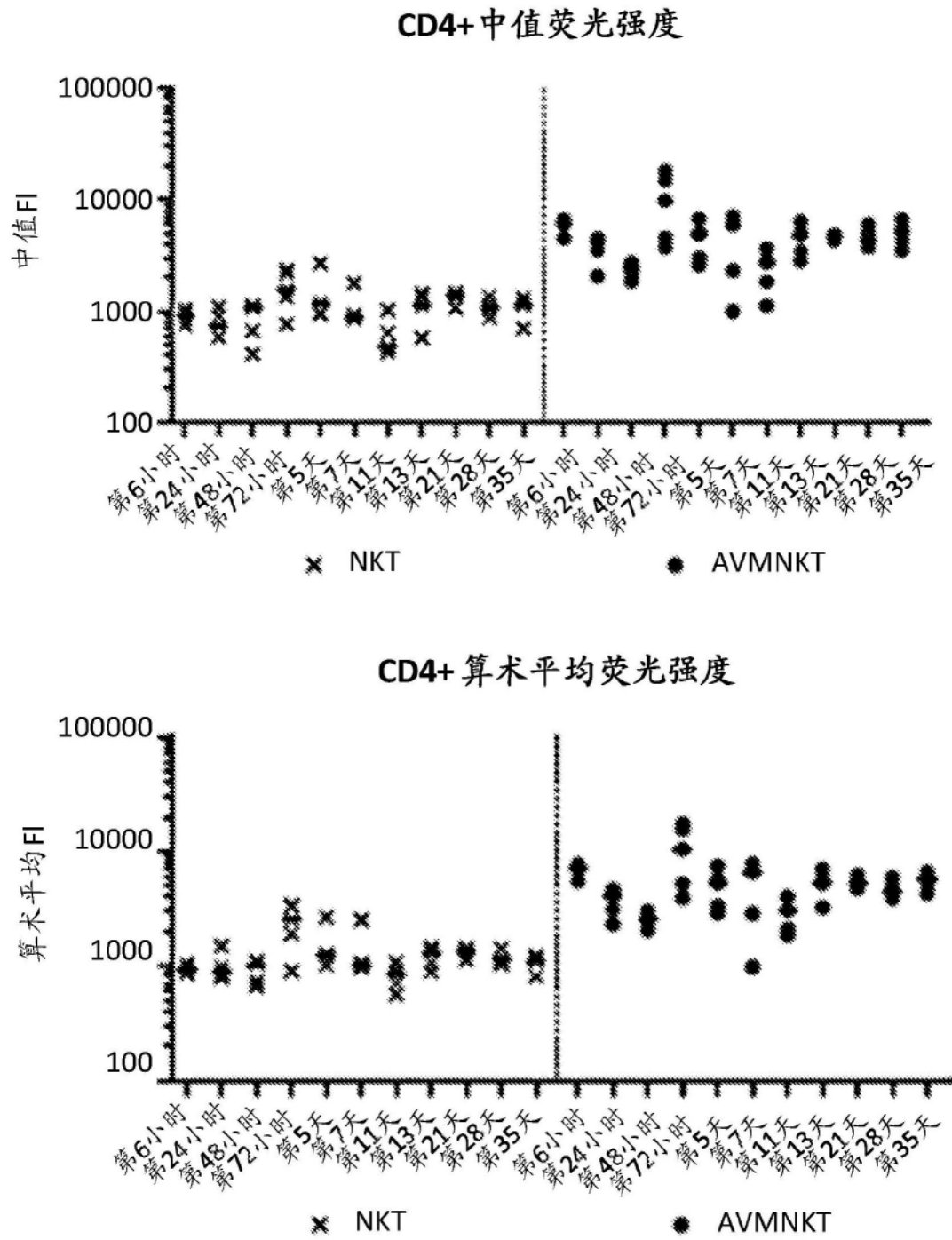


图16

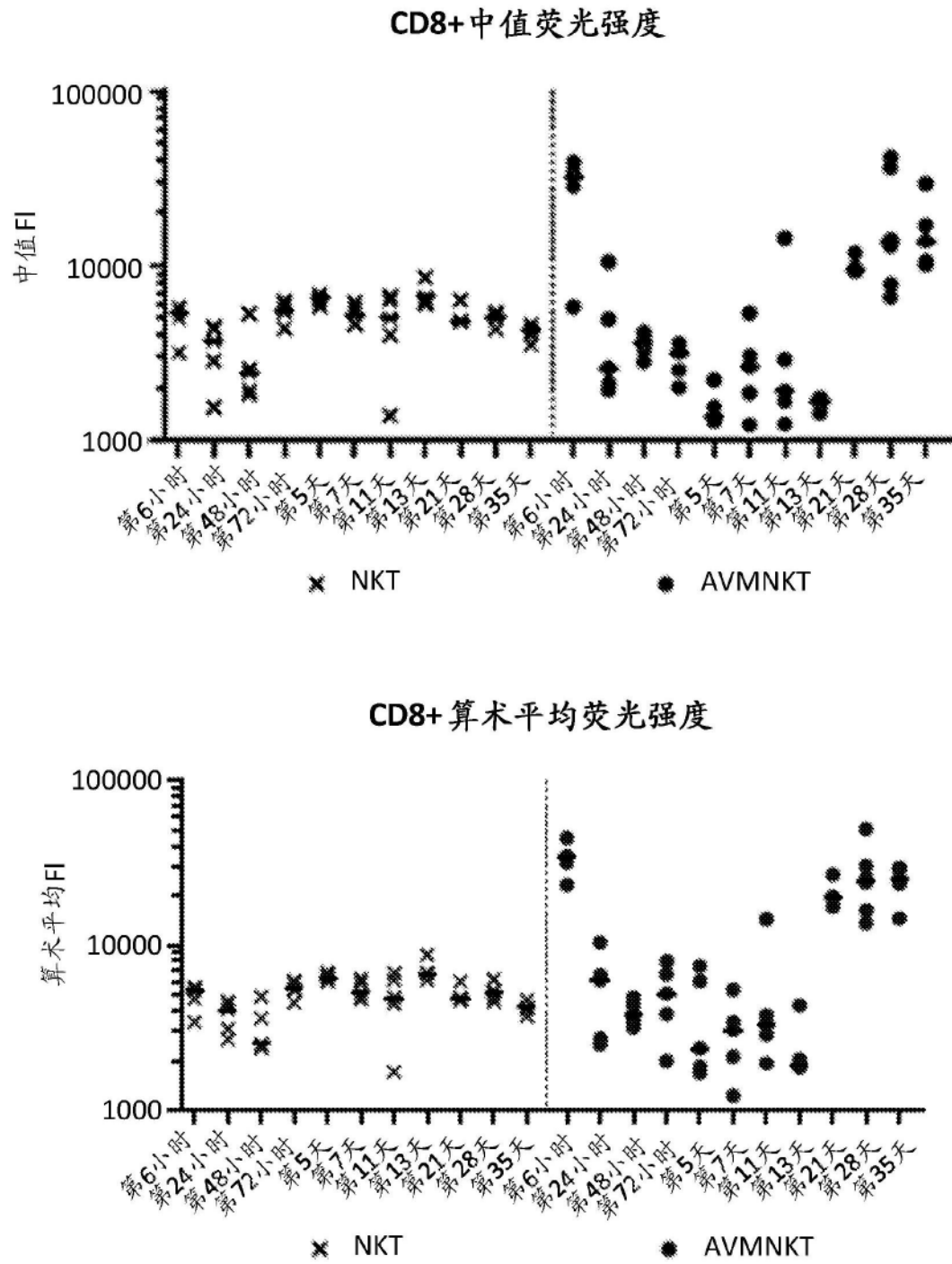


图17

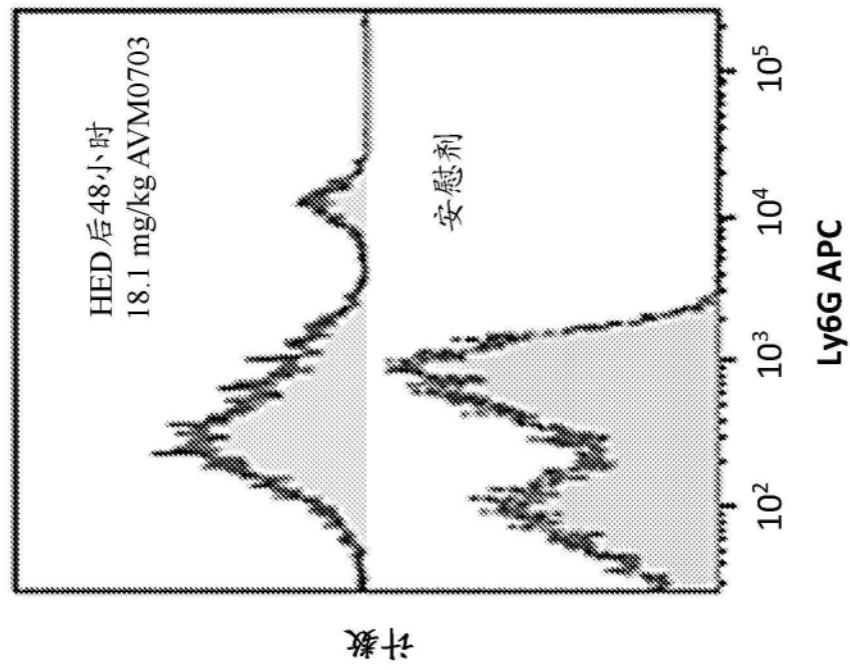


图18

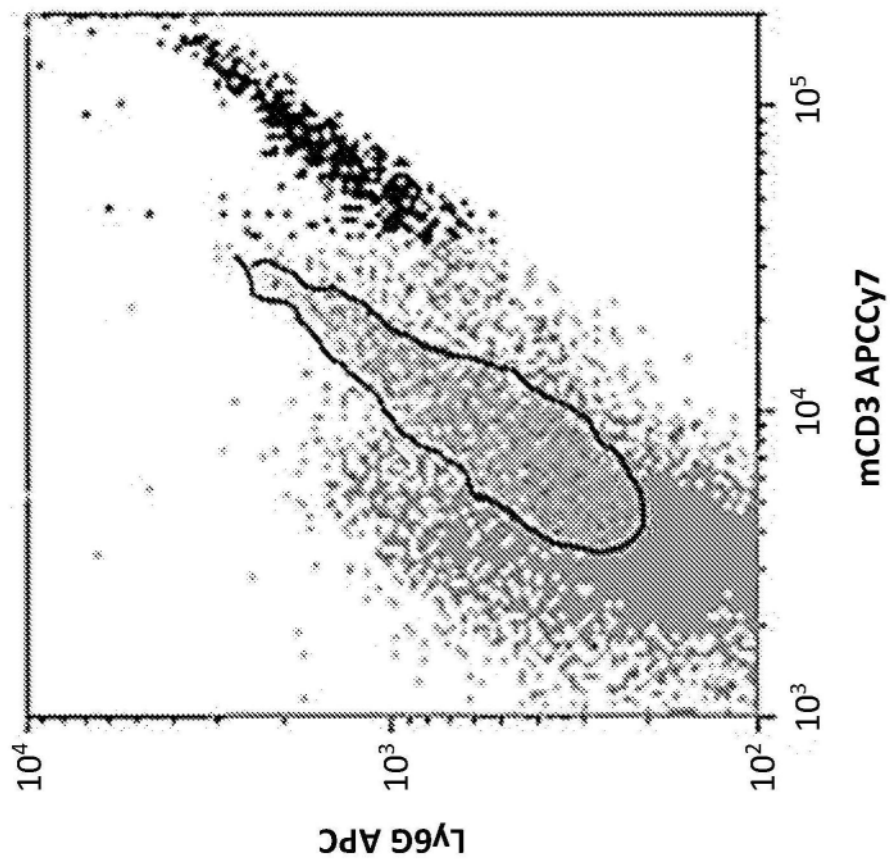


图19

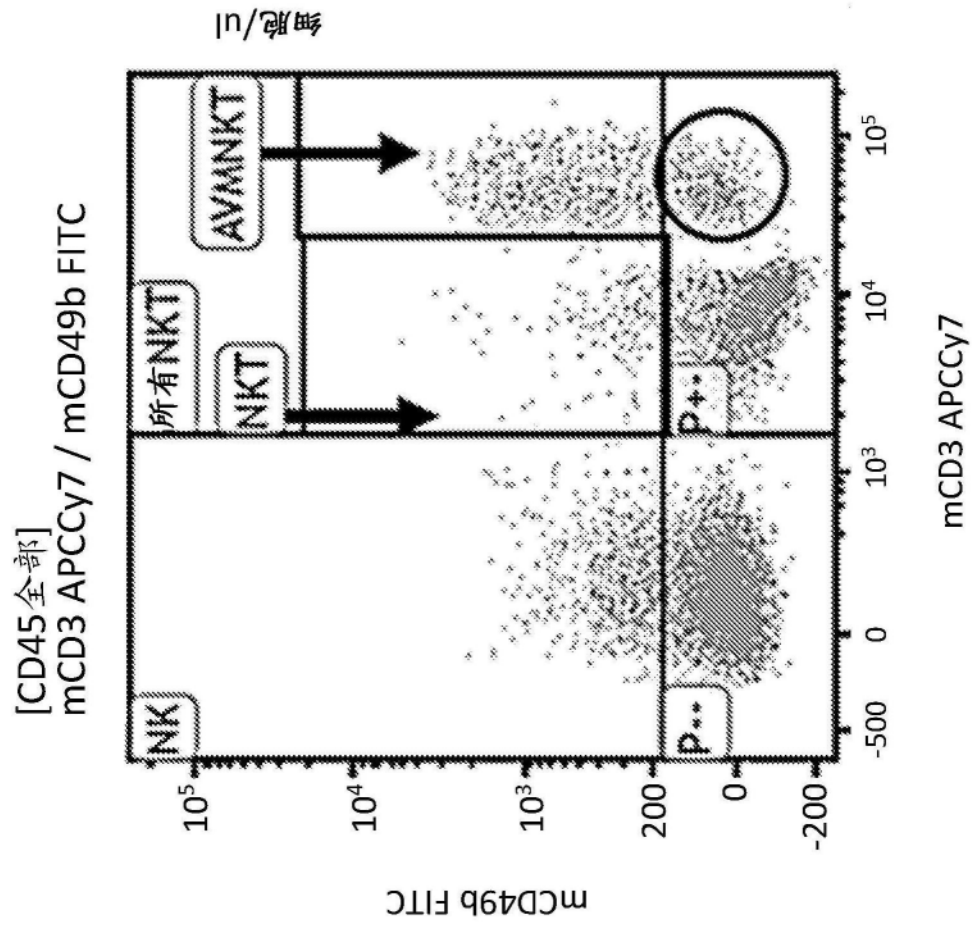


图20

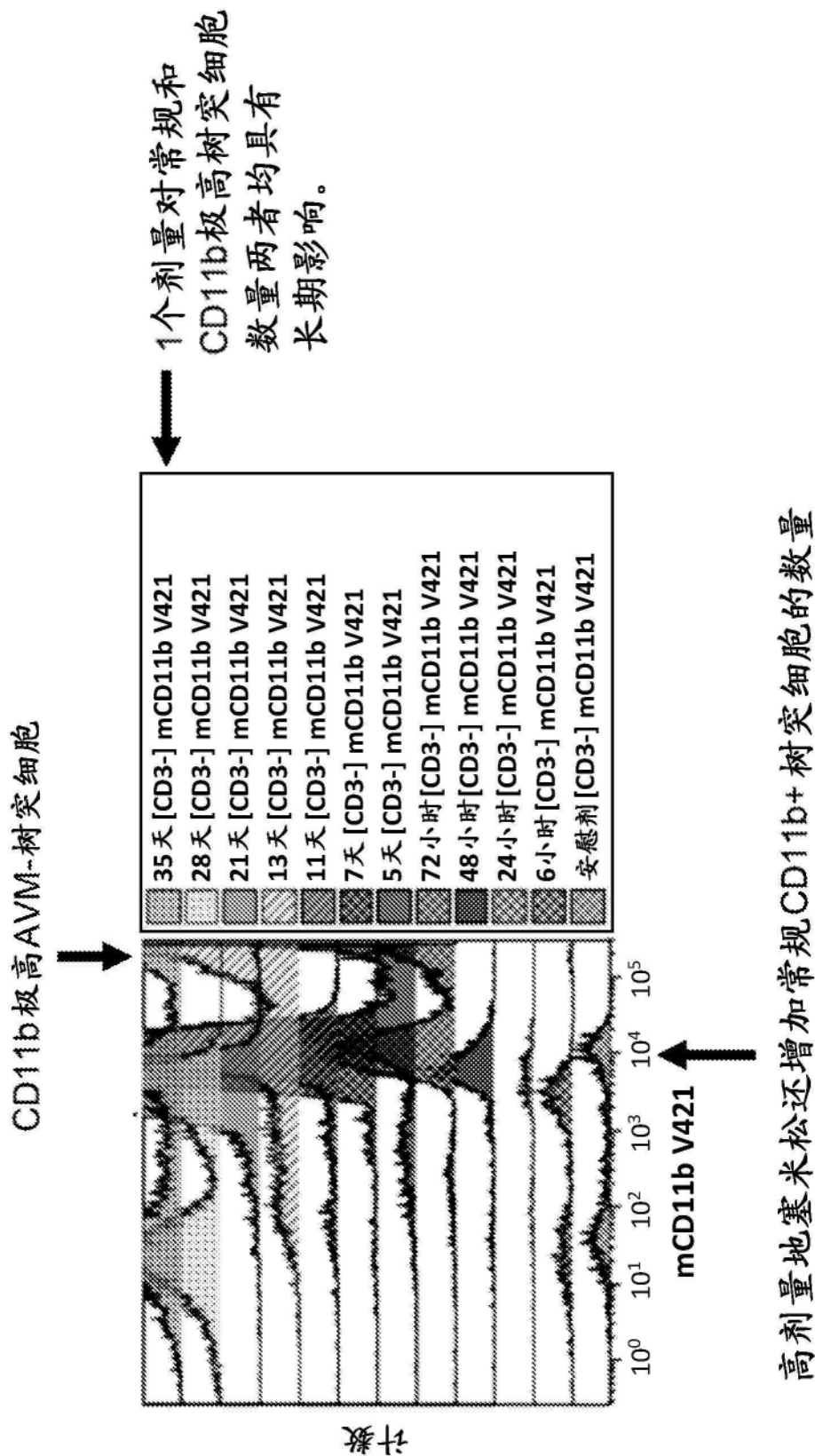


图21

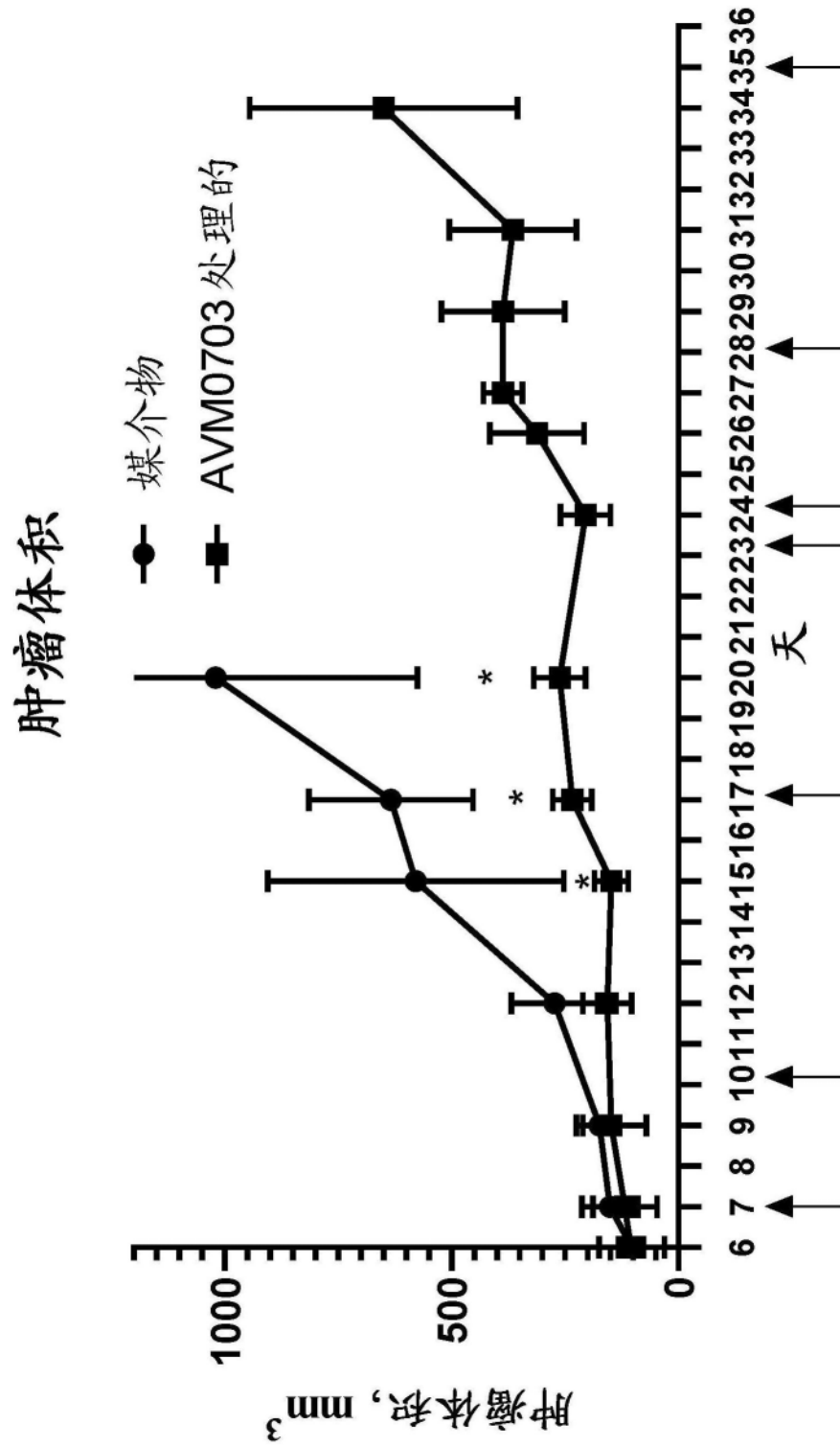


图22

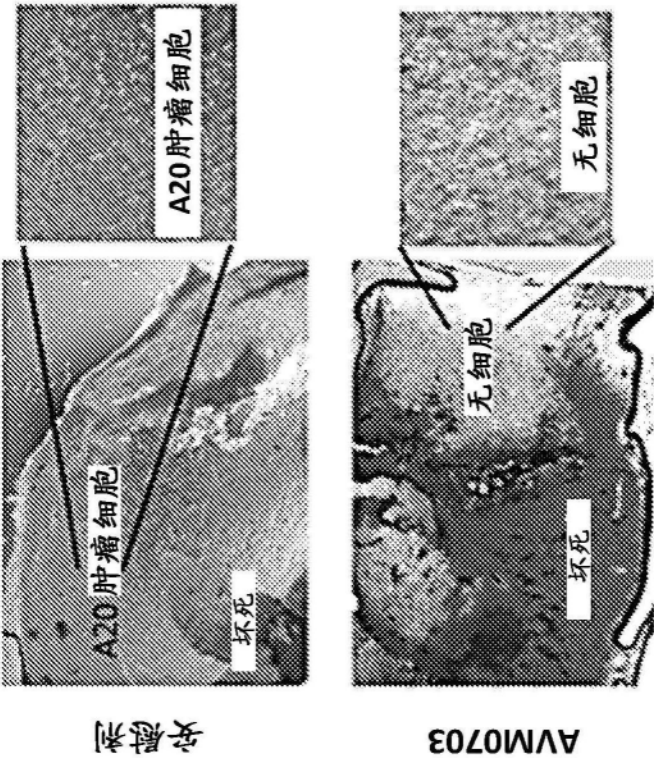


图23A

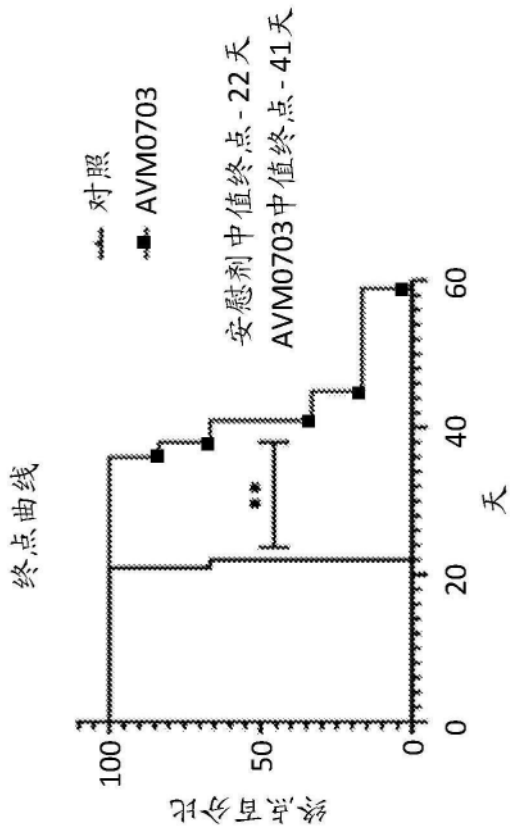


图23B

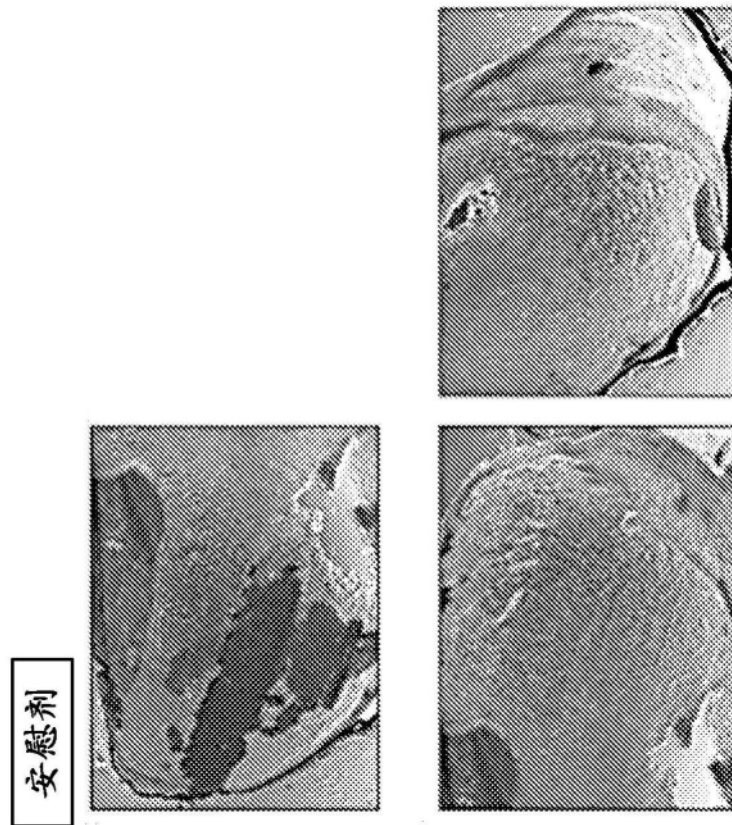


图23C

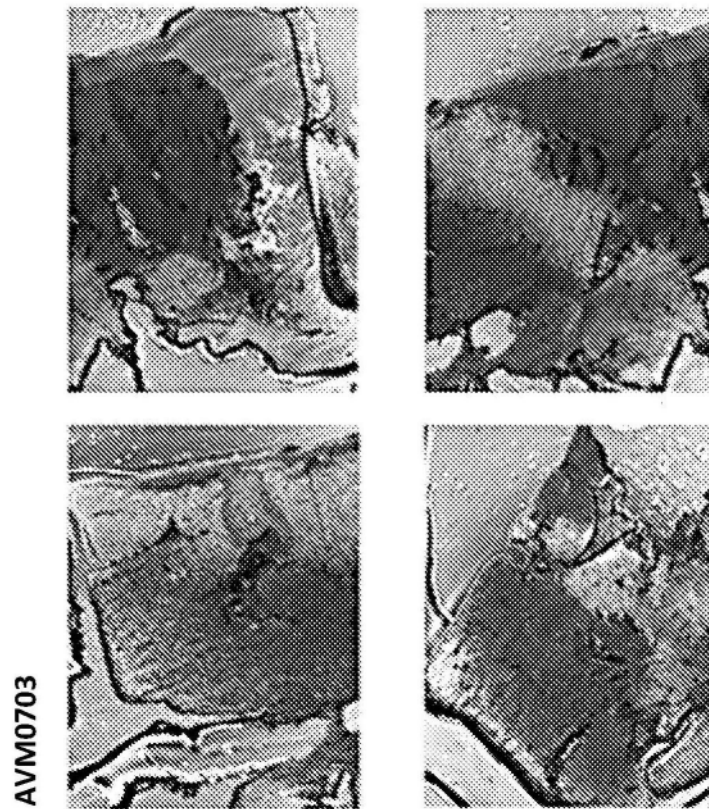


图23D

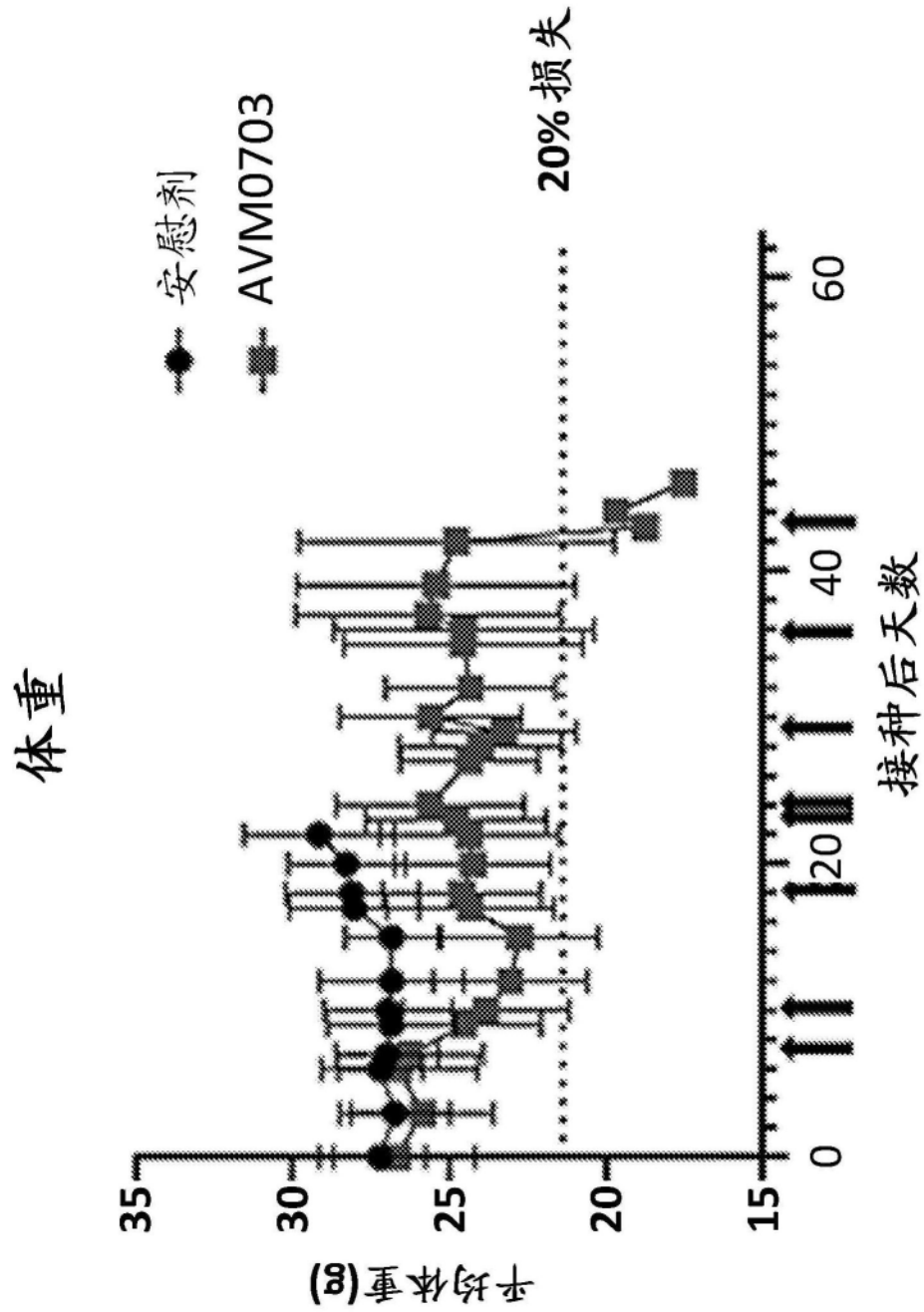


图24

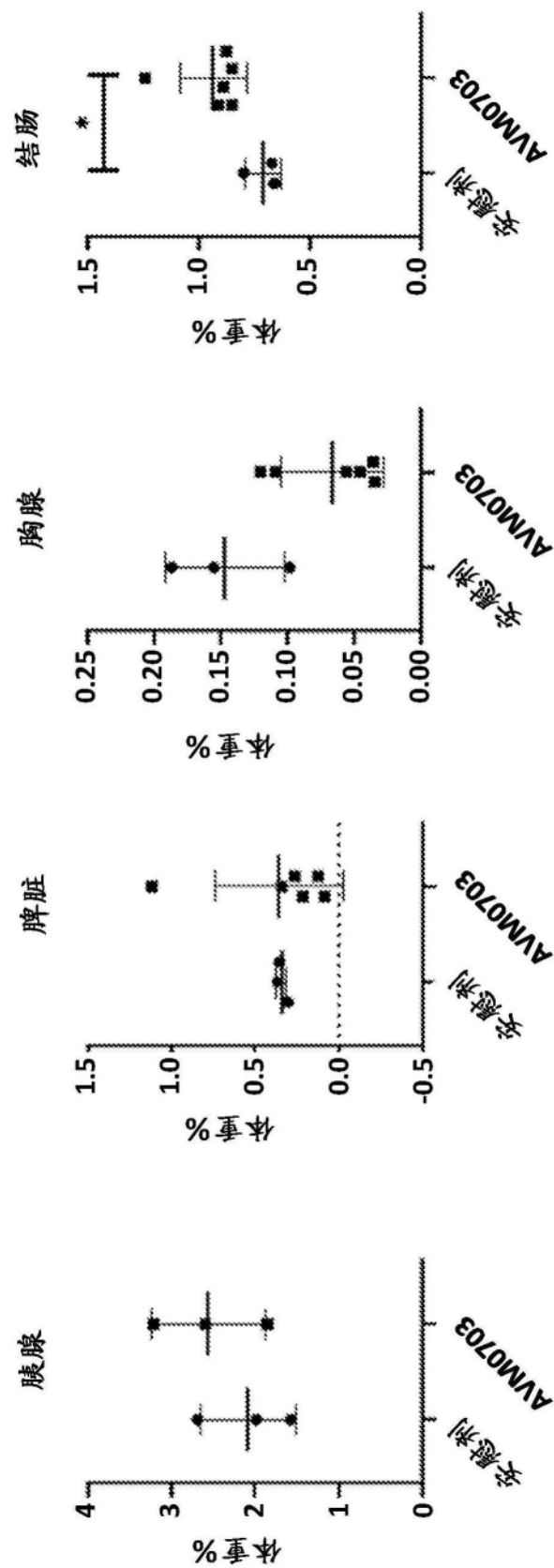


图25

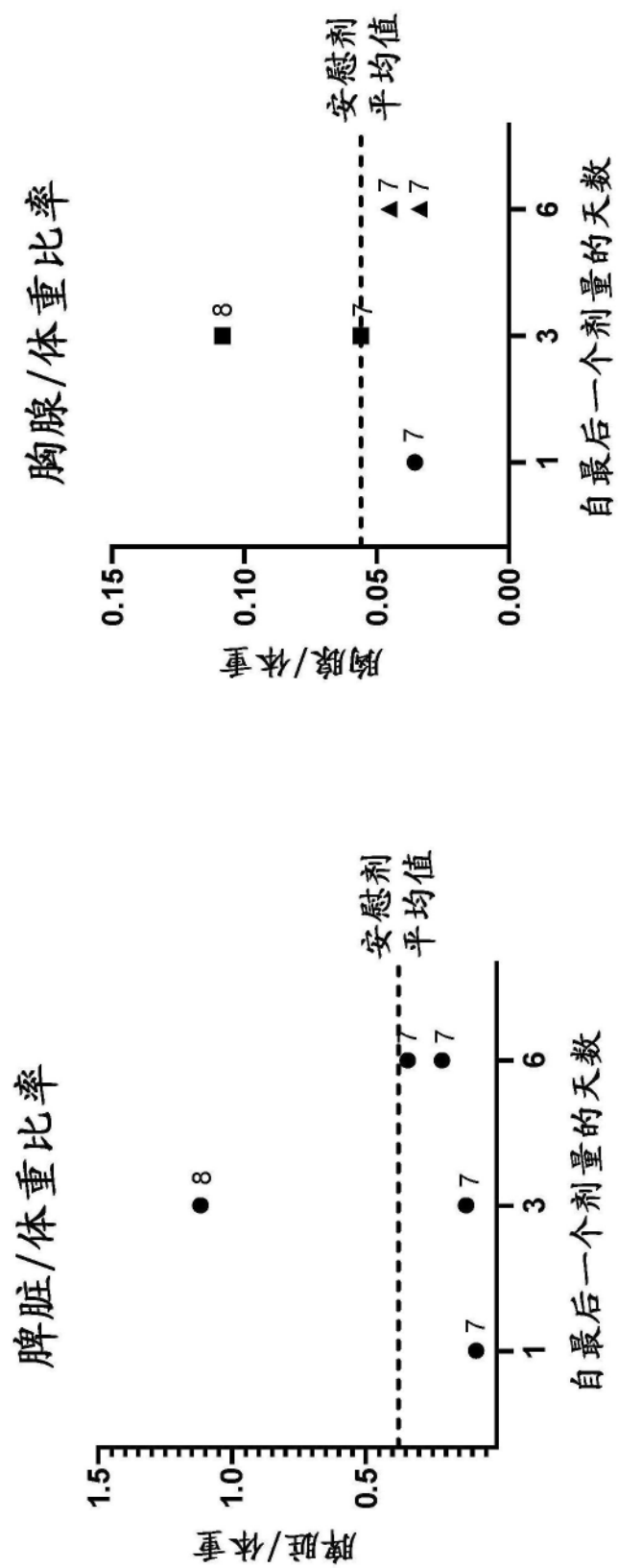


图26

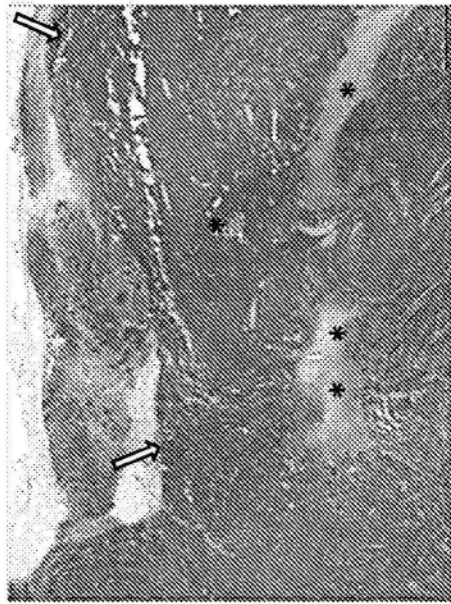


图27A

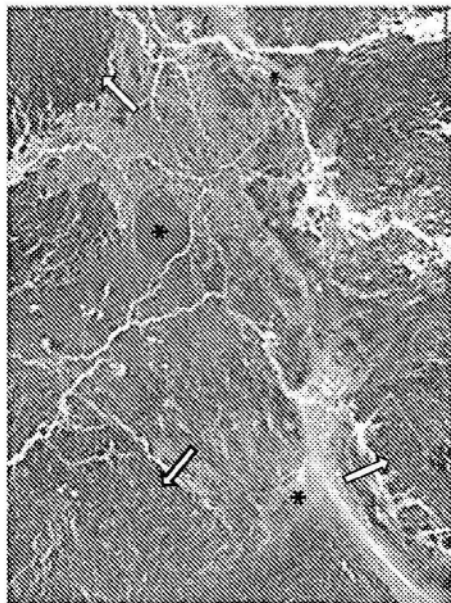


图27B

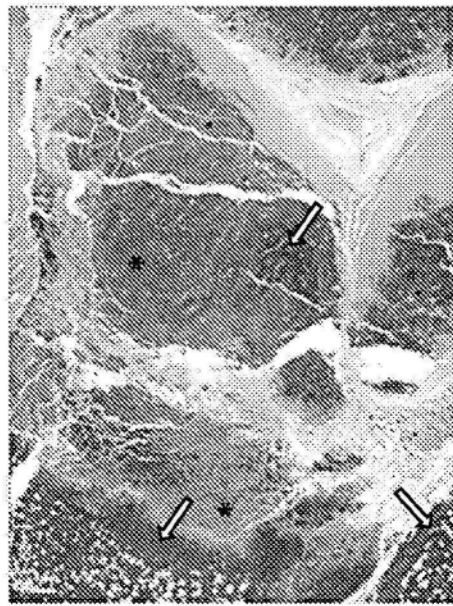


图27C

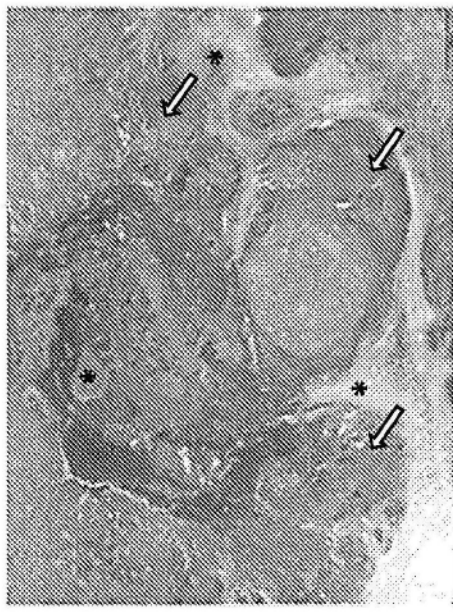


图27D

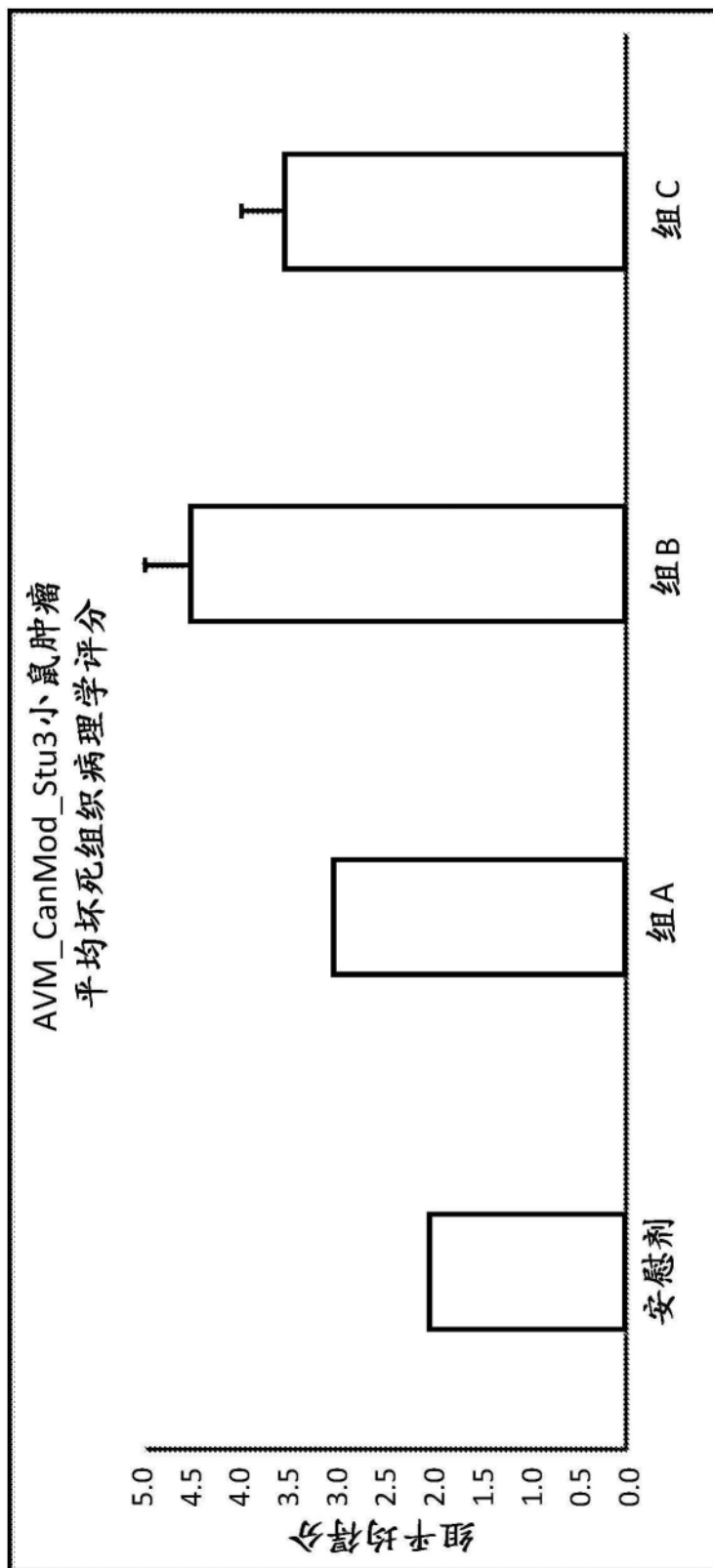


图27E

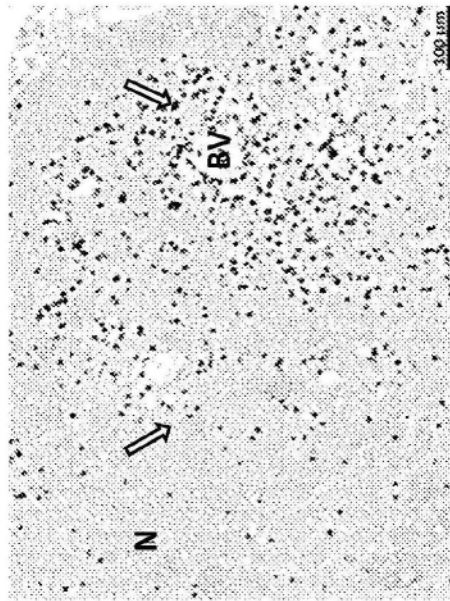


图28A

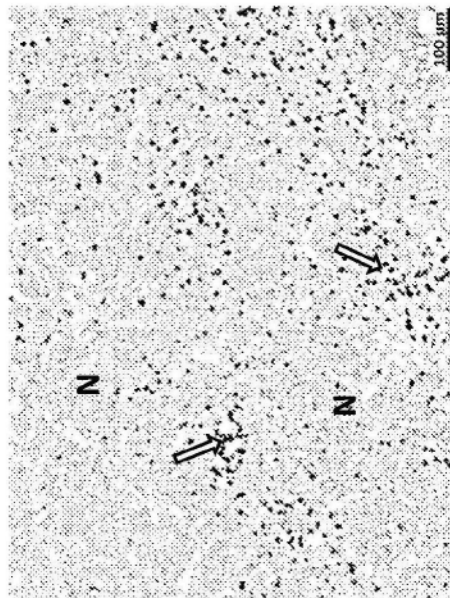


图28B

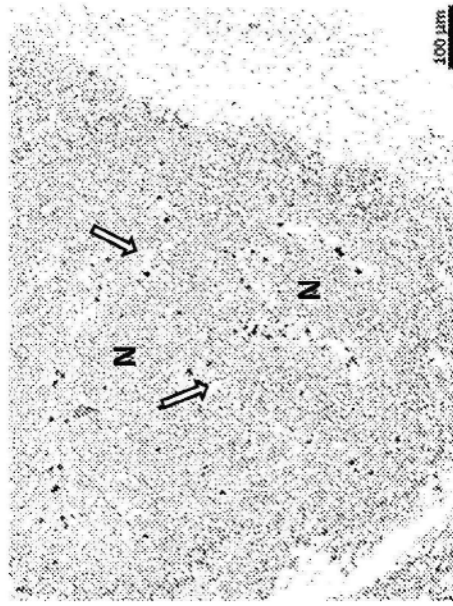


图28C

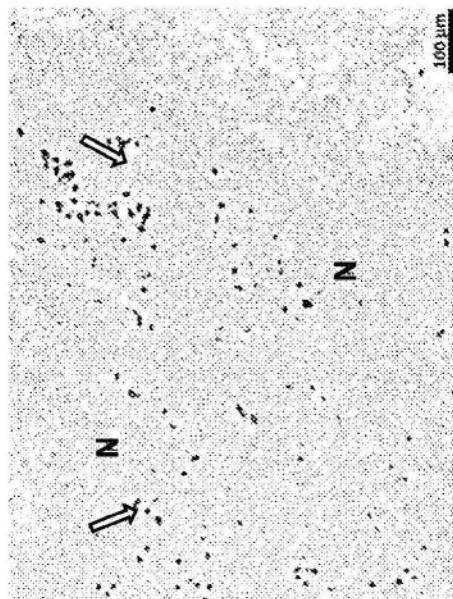


图28D

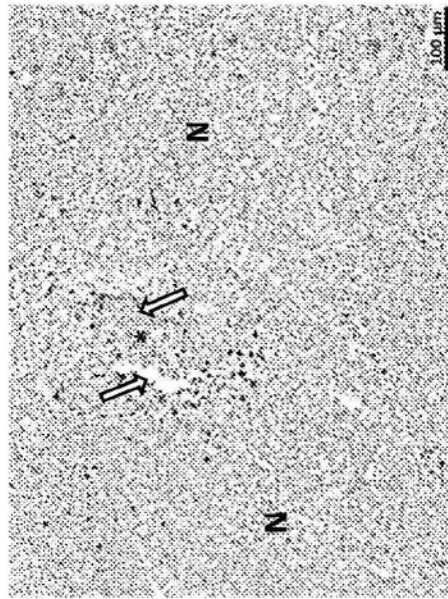


图29A

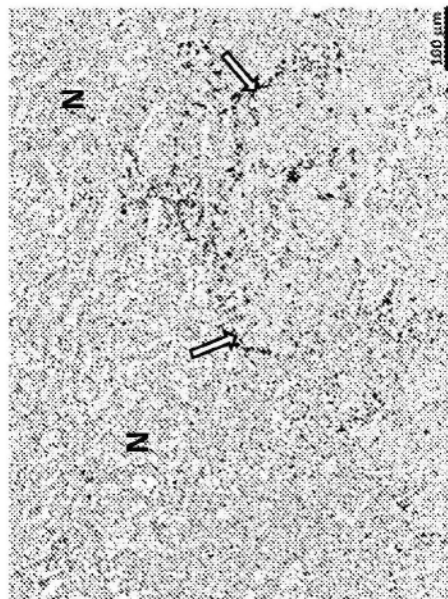


图29B

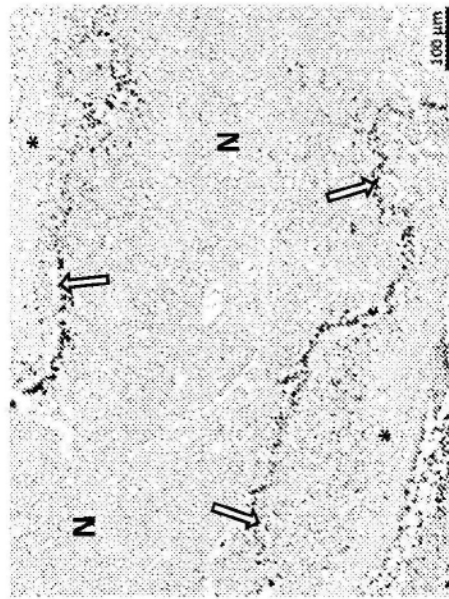


图29C

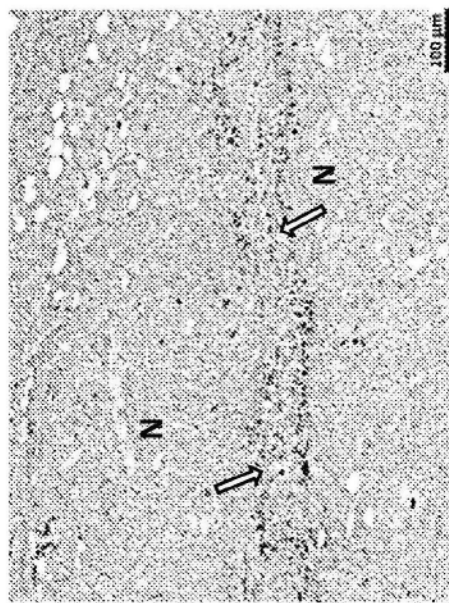


图29D

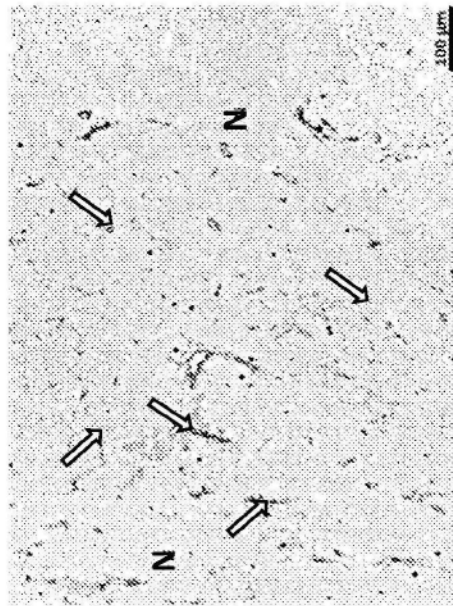


图30A

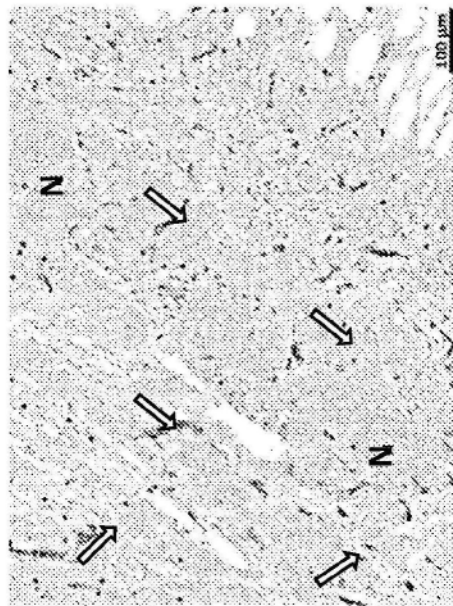


图30B

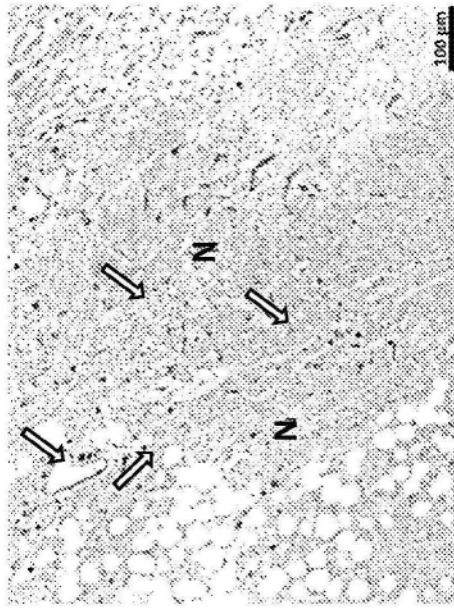


图30C

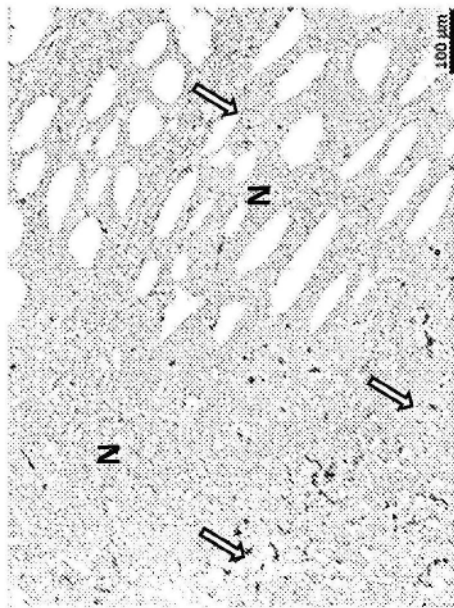


图30D

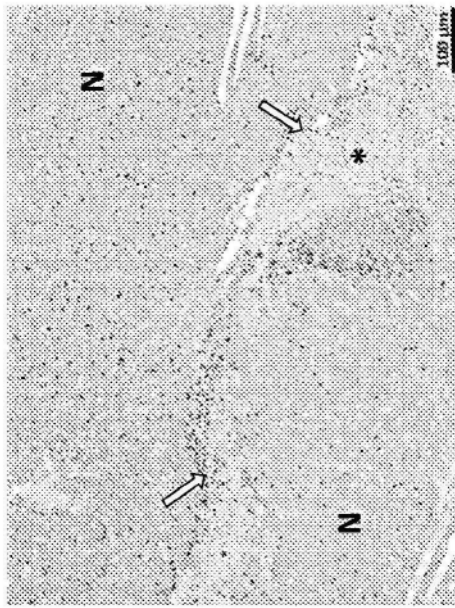


图31A

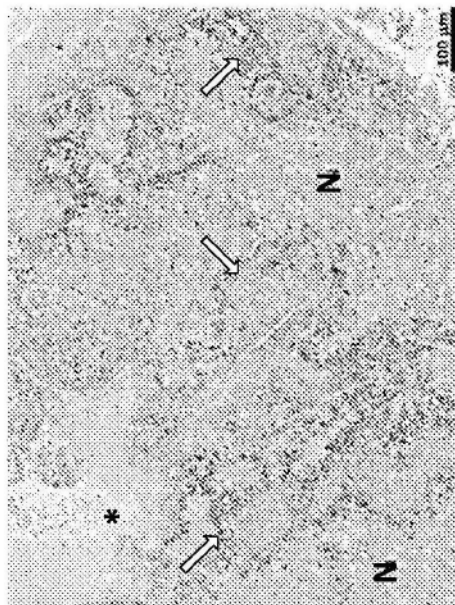


图31B

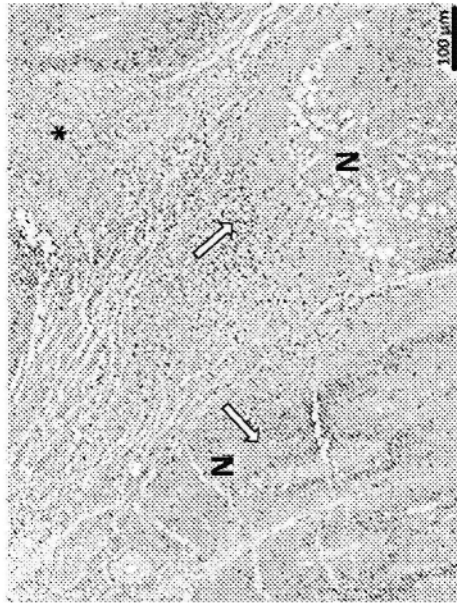


图31C

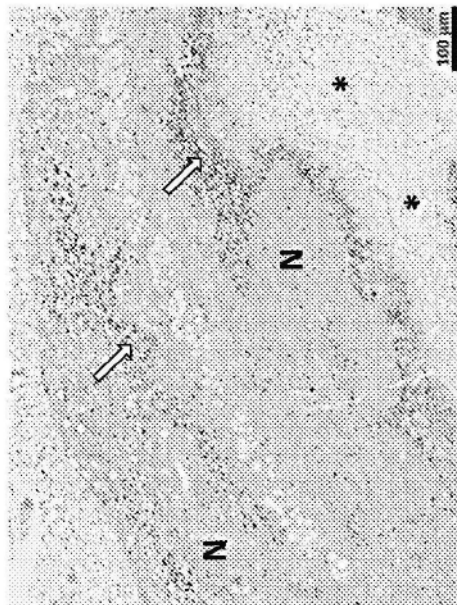


图31D

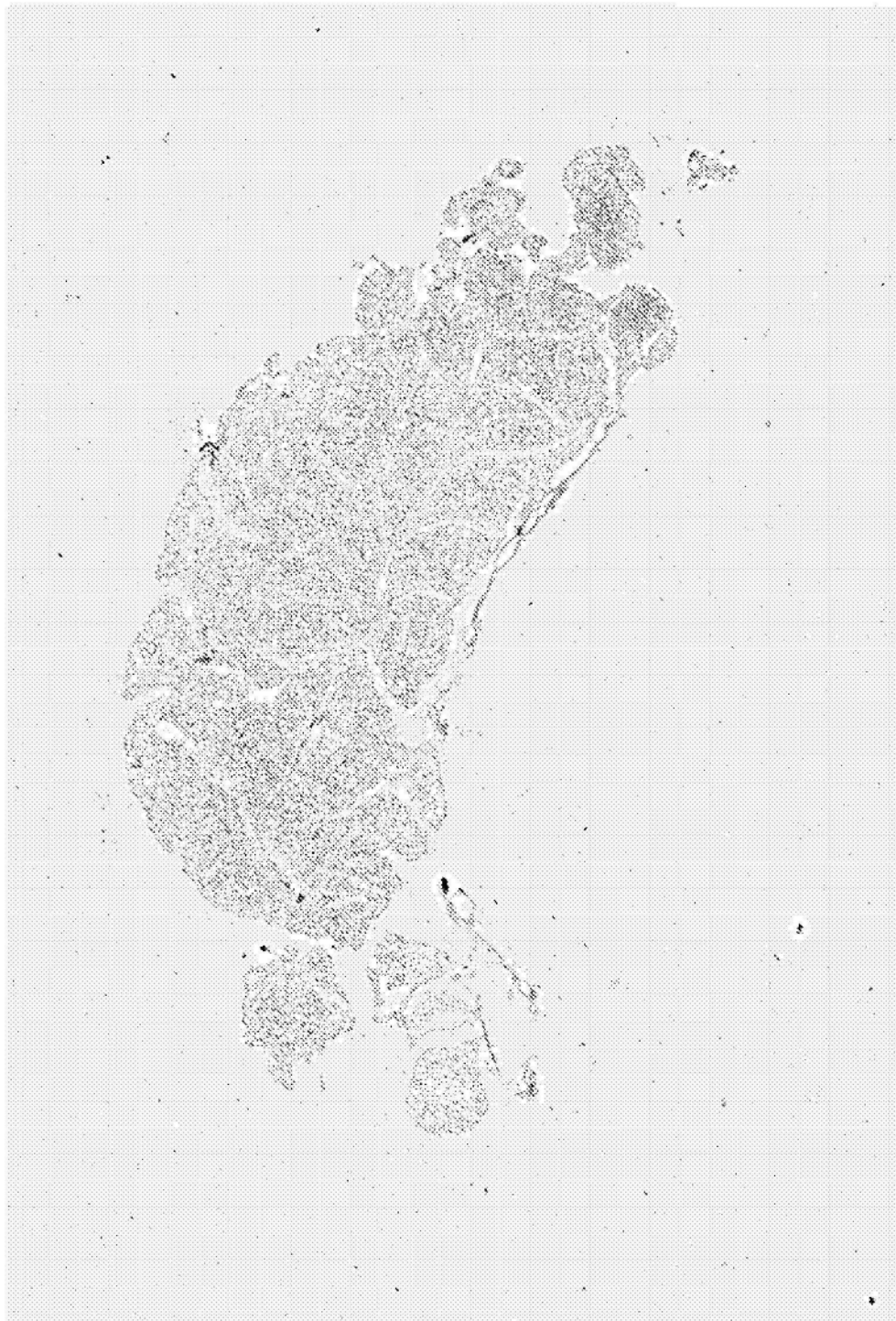


图32



图33

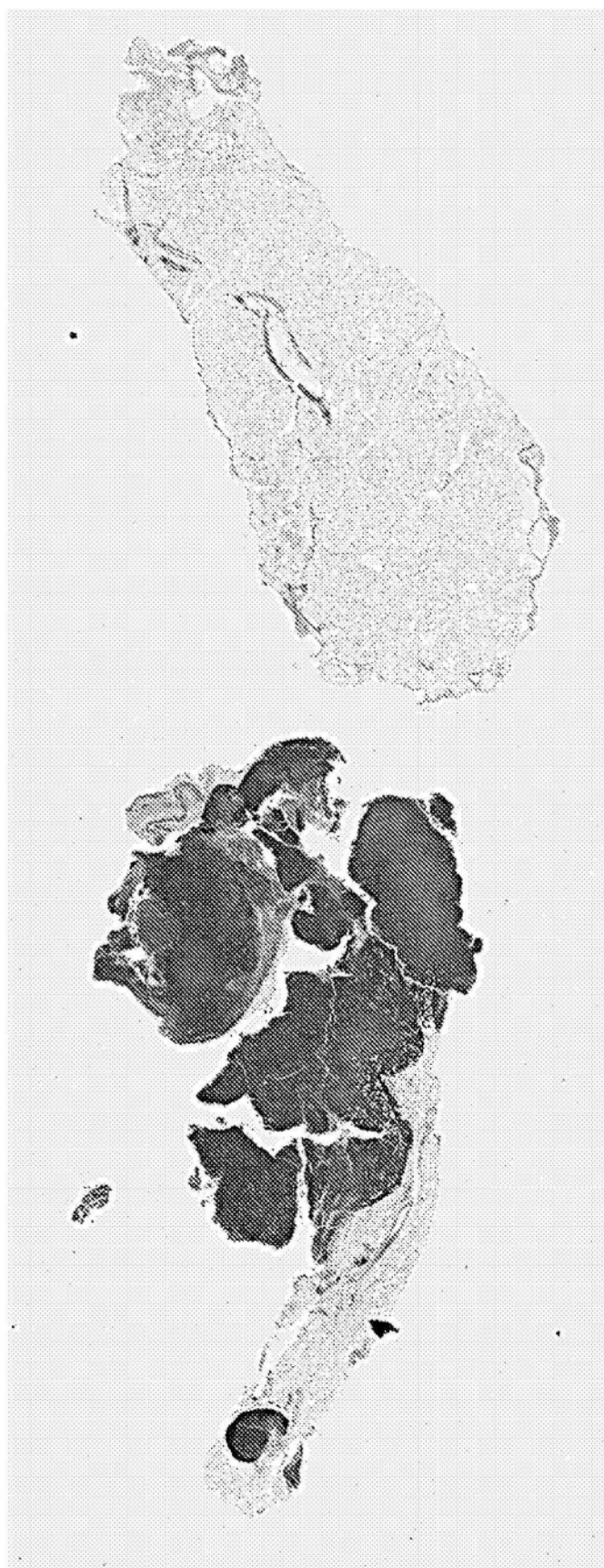


图34



图35

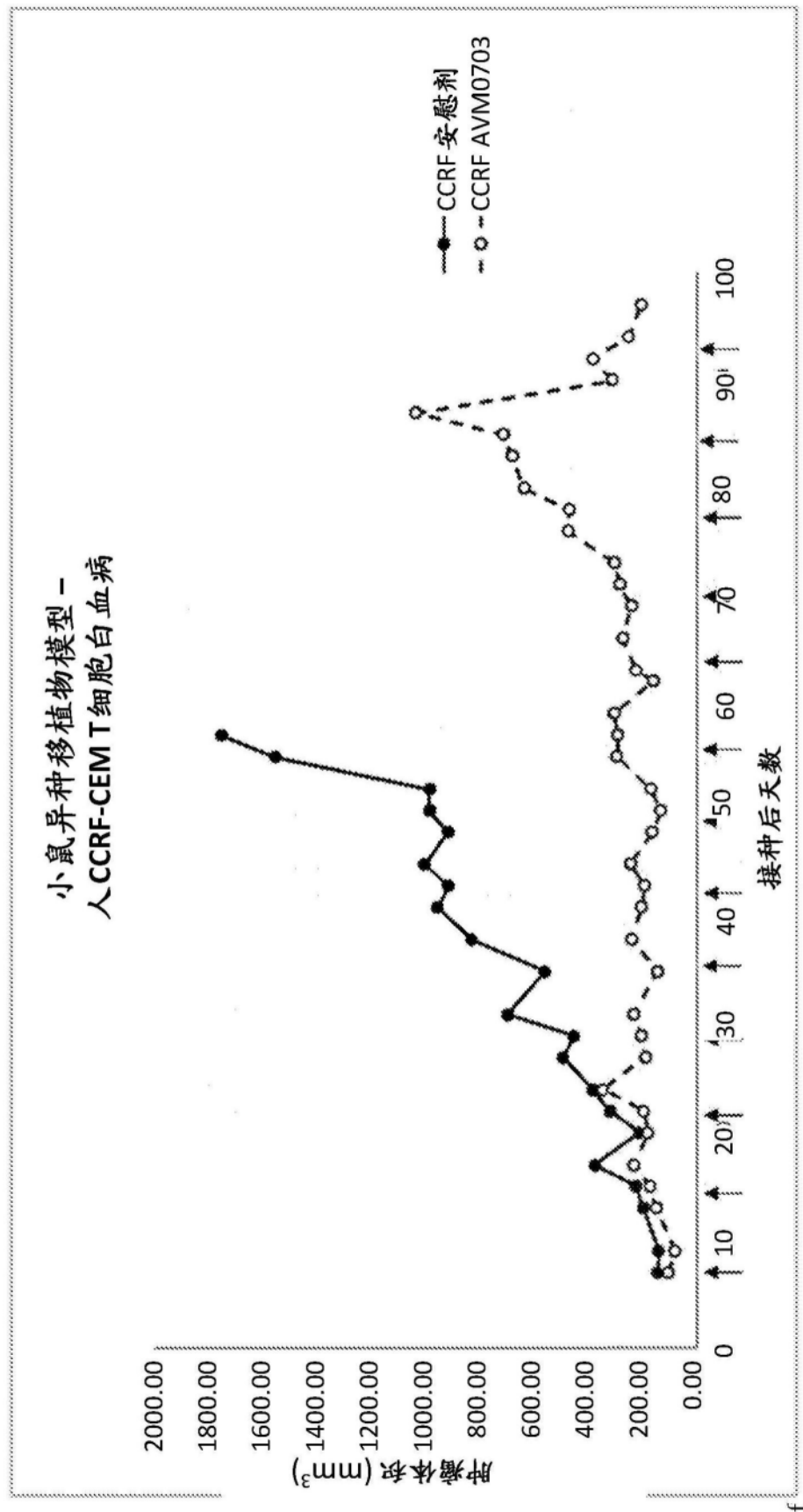


图36

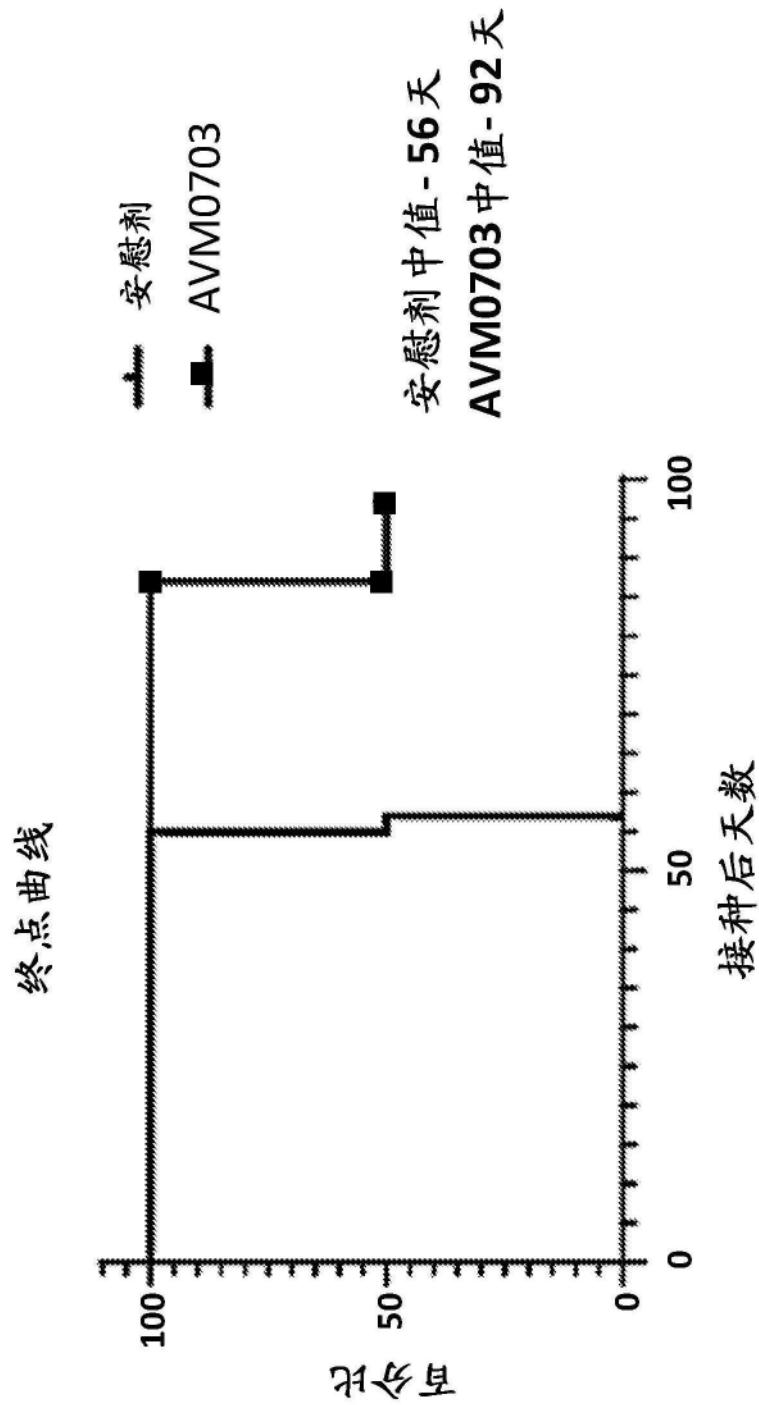


图37

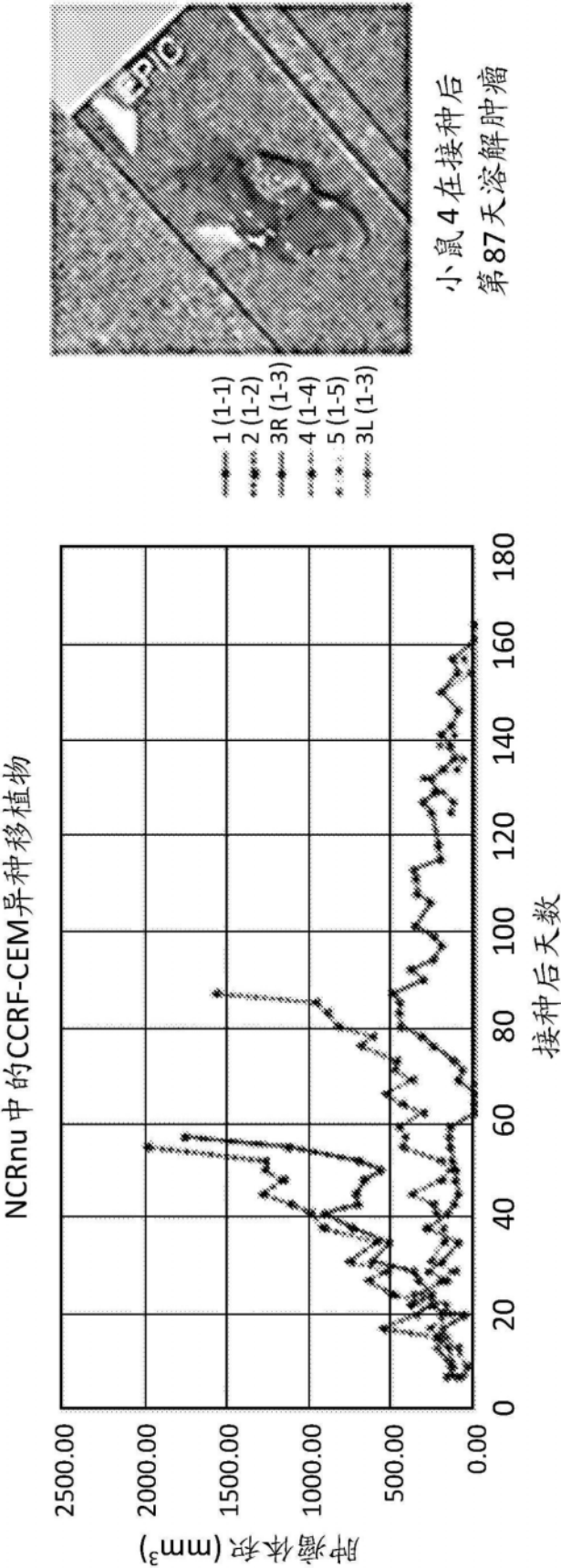


图38

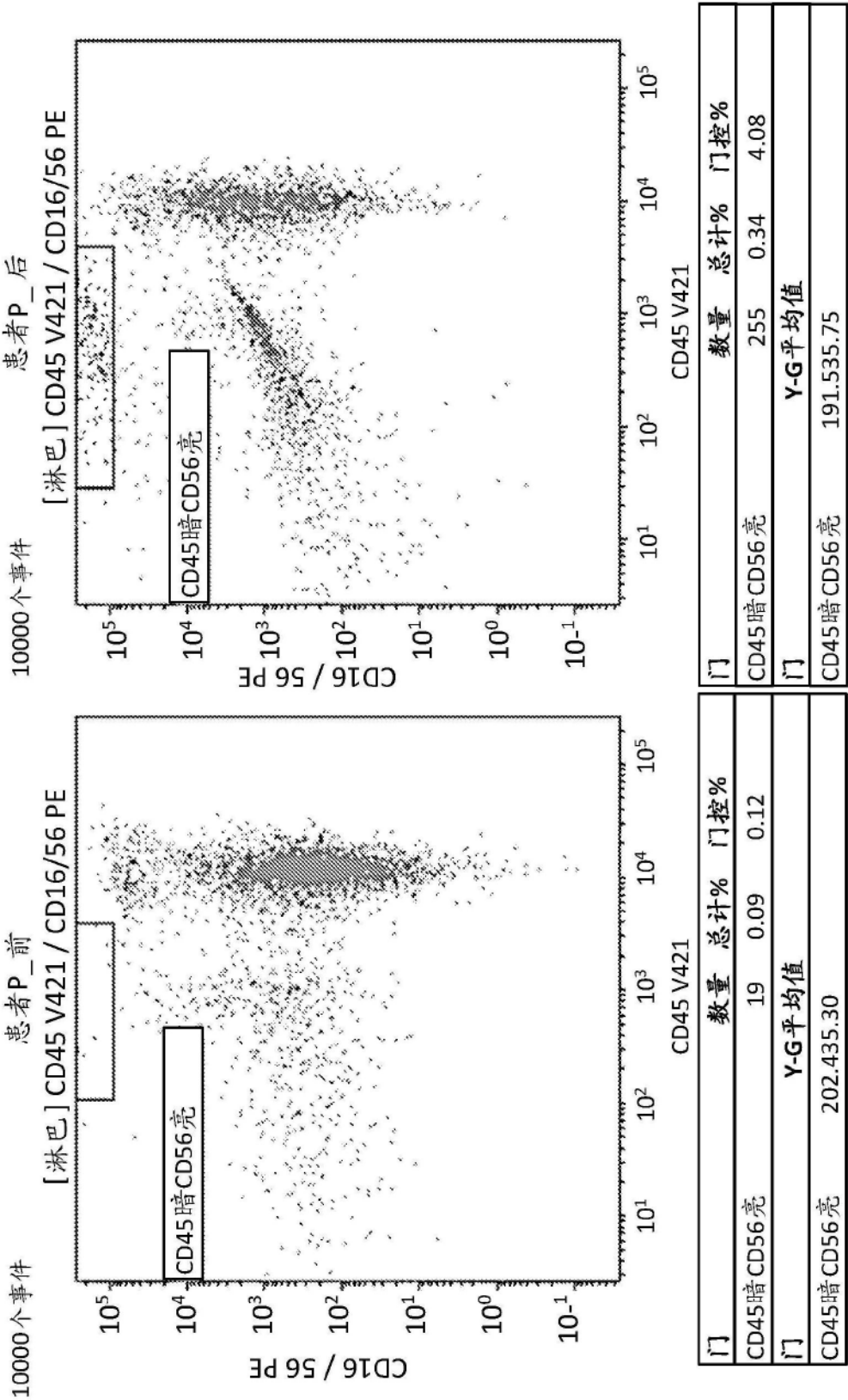


图39

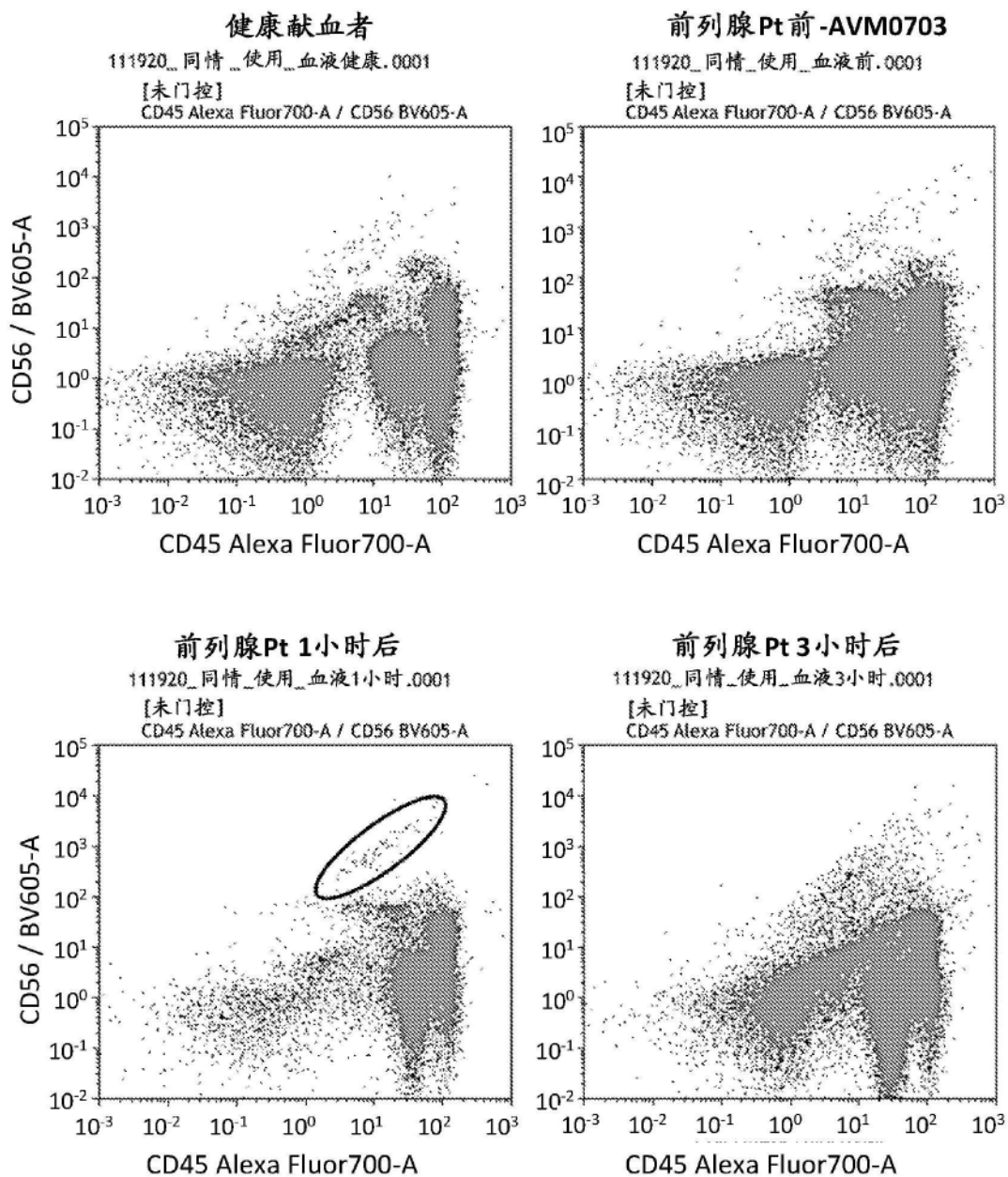


图40