(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111050545 A
(43)申请公布日 2020.04.21

(21)申请号 201880054743.3

(22)申请日 2018.06.29

(30)优先权数据
62/527,030 2017.06.29 US
62/563,635 2017.09.26 US
62/584,731 2017.11.10 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2020.02.23

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2018/040497 2018.06.29

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2019/006427 EN 2019.01.03

(71)申请人 朱诺治疗学股份有限公司
地址 美国华盛顿州

(72)发明人 E·M·查德威克
小罗纳德·J·豪斯 Y·江
H·I·莱维斯基 R·A·萨蒙
R·A·庞塞 N·E·奥尔森

(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
代理人 封新琴

(51)Int.Cl.
A01K 67/027(2006.01)
C07K 16/28(2006.01)
C07K 16/30(2006.01)
G01N 33/50(2006.01)
A61K 35/17(2006.01)

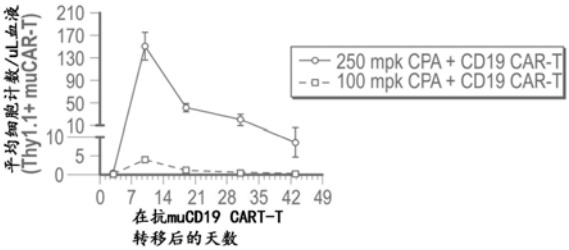
权利要求书13页 说明书169页
序列表6页 附图76页

(54)发明名称

评估与免疫疗法相关的毒性的小鼠模型

(57)摘要

本文提供了用于评估或评价针对免疫疗法的毒性的模型，特别是小鼠模型，所述免疫疗法例如治疗性细胞疗法，如含有表达重组受体例如嵌合抗原受体(CAR)的工程化细胞如T细胞的细胞疗法。还提供了产生所述小鼠模型的方法。本文还提供了所述毒性小鼠模型的使用方法，如用于评价改良的或替代性免疫疗法，和/或用于评价测试剂，包括用以评估作为潜在干预以降低、预防或改善人受试者中针对免疫疗法的毒性的药剂和/或用于与免疫疗法例如CAR-T细胞疗法组合使用的药剂。



CN 111050545 A

1.一种产生免疫疗法相关毒性或免疫疗法相关毒性结果的小鼠模型的方法,所述方法包括:

i)将淋巴细胞清除剂给予免疫活性小鼠,其中所述淋巴细胞清除剂或疗法不包括全身放射和/或不包括完全或基本上完全的免疫消融;和

ii)随后向所述小鼠给予免疫疗法,其中所述免疫疗法结合至和/或识别在所述免疫活性小鼠的细胞或组织之上或之中表达的抗原。

2.根据权利要求1所述的方法,其中所述抗原是在鼠类细胞上天然表达的抗原。

3.根据权利要求1或权利要求2所述的方法,其中所述抗原是B细胞抗原,或者是在B细胞的表面上表达,或者其中所述细胞是鼠类B细胞。

4.根据权利要求1-3中任一项所述的方法,其中所述抗原是在给予至所述小鼠的细胞上表达。

5.根据权利要求1-4中任一项所述的方法,其中所述方法包括向所述免疫活性小鼠给予表达所述抗原的细胞。

6.根据权利要求4或权利要求5所述的方法,其中表达所述抗原的所述细胞是肿瘤细胞。

7.根据权利要求4-6中任一项所述的方法,其中在开始给予所述淋巴细胞清除剂或疗法或所述免疫疗法之前给予表达所述抗原的所述细胞。

8.一种产生免疫疗法相关毒性或免疫疗法相关毒性结果的小鼠模型的方法,所述方法包括:

i)向免疫活性小鼠给予表达抗原的肿瘤细胞;

ii)在给予所述肿瘤细胞后,将淋巴细胞清除剂或疗法给予所述免疫活性小鼠,其中所述淋巴细胞清除剂或疗法不包括全身放射和/或不包括完全或基本上完全的免疫消融;和

iii)随后向所述小鼠给予免疫疗法,其中所述免疫疗法结合至和/或识别在所述肿瘤细胞上表达的所述抗原。

9.一种产生免疫疗法相关毒性或免疫疗法相关毒性结果的小鼠模型的方法,所述方法包括:

i)将淋巴细胞清除剂或疗法给予包含表达抗原的肿瘤细胞的免疫活性小鼠,任选地,其中所述肿瘤细胞是在开始给予所述淋巴细胞清除剂或疗法之前已被给予所述小鼠,其中所述淋巴细胞清除剂或疗法不包括全身放射和/或不包括完全或基本上完全的免疫消融;和

ii)随后向所述小鼠给予免疫疗法,其中所述免疫疗法结合至和/或识别在所述肿瘤细胞上表达的所述抗原。

10.根据权利要求6-9中任一项所述的方法,其中以足以在所述小鼠中形成肿瘤的量给予所述肿瘤细胞。

11.根据权利要求6-10中任一项所述的方法,其中在所述小鼠中的肿瘤负荷包含以下之后的一个时间,将所述淋巴细胞清除剂或疗法和/或所述免疫疗法给予所述小鼠:

直径大于或大于约或为约5mm、大于或大于约或为约10mm、大于或大于约或为约15mm,任选地5mm至15mm或10mm至15mm的肿瘤大小;和/或

大于或大于约或为约60mm^3、大于或大于约或为约70mm^3、大于或大于约或为约80mm^3、大

于或大于约或为约90mm^3、或大于或大于约或为约100mm^{3}的肿瘤体积。

12.根据权利要求6-11中任一项所述的方法，其中所述肿瘤细胞是在开始给予所述淋巴细胞清除剂或疗法或所述免疫疗法之前介于或介于约7天与28天之间、14天与21天之间、或17天与19天之间给予，每个都包含端值。

13.根据权利要求6-12中任一项所述的方法，其中所述肿瘤细胞是在给予所述免疫疗法之前17天、18天或19天或约17天、约18天或约19天给予。

14.根据权利要求6-12中任一项所述的方法，其中所述肿瘤细胞是在给予所述免疫疗法之前27天或约27天给予。

15.根据权利要求6-14中任一项所述的方法，其中所述肿瘤细胞是B细胞癌细胞系。

16.根据权利要求15所述的方法，其中所述B细胞癌细胞系选自L1210细胞、38C13细胞、BCL1细胞、A20细胞、4TOO细胞、B6自发模型细胞、CH44细胞、S11细胞、LY-ar细胞、LY-as细胞、Pi-BCL1细胞、38C13 Her2/neu细胞、Myc5-M5细胞、小鼠淋巴肉瘤细胞系细胞、由Bcl2细胞转染的FL5.12、38C13 CD20+细胞、A20.IIA-GFP/IIA1.6-GFP细胞、和/或LMycSN-p53无效细胞或其组合。

17.根据权利要求15或权利要求16所述的方法，其中所述B细胞癌细胞系包含A20细胞。

18.根据权利要求1-17中任一项所述的方法，其中所述免疫疗法包括细胞疗法，所述细胞疗法包括一定剂量的表达重组受体的遗传工程化细胞。

19.根据权利要求18所述的方法，其中所述工程化细胞包含从生物样品获得的细胞，所述生物样品来自所述免疫活性小鼠或来自与所述免疫活性小鼠属于相同品系或亚品系的小鼠。

20.根据权利要求19所述的方法，其中所述生物样品包含脾细胞。

21.根据权利要求18-20中任一项所述的方法，其中所述细胞疗法包含表达重组受体的鼠类T细胞，所述重组受体结合至和/或识别在所述免疫活性小鼠的B细胞上表达的鼠类抗原。

22.根据权利要求18-21中任一项所述的方法，其中所述重组受体是T细胞受体或功能性非T细胞受体。

23.根据权利要求18-22中任一项所述的方法，其中所述重组受体是嵌合受体，任选地嵌合抗原受体(CAR)。

24.根据权利要求18-23中任一项所述的方法，其中：

所述重组受体的氨基酸序列是鼠类的;和/或

所述嵌合受体的单独区域或结构域包含天然鼠类蛋白的区域或结构域和/或包含鼠类序列;和/或

所述嵌合受体的单独区域或结构域对所述小鼠无免疫原性。

25.根据权利要求23或权利要求24所述的方法，其中所述CAR包含特异性地结合至所述抗原的细胞外抗原结合结构域、跨膜区和细胞内信号传导区。

26.根据权利要求25所述的方法，其中所述抗原结合结构域是或包含单链片段，任选地scFv。

27.根据权利要求25或26所述的方法，其中所述细胞内信号传导区包含含有ITAM的细胞内信号传导结构域，其中任选地，所述细胞内信号传导结构域包含CD3-zeta(CD3ζ)链任

选鼠类CD3-ζ的细胞内结构域。

28.根据权利要求27所述的方法，其中所述细胞内信号传导区进一步包含共刺激信号传导区，所述共刺激信号传导区任选地包含CD28或4-1BB任选鼠类CD28或鼠类4-1BB的信号传导结构域。

29.根据权利要求1-28中任一项所述的方法，其中所述抗原是B细胞成熟抗原(BCMA)、CD19、CD20、CD22、CD24、CD30、和/或CD38。

30.根据权利要求1-28中任一项所述的方法，其中所述抗原是CD19。

31.根据权利要求1-30中任一项所述的方法，其中所述免疫活性小鼠不包含或没有工程化以包含减少细胞因子应答的突变和/或不包含NLRP12基因中的突变，所述NLRP12基因中的所述突变任选地位于赖氨酸1034，任选地是K1034R。

32.根据权利要求1-31中任一项所述的方法，其中所述免疫活性小鼠不是C57BL/6小鼠或其品系或亚品系。

33.根据权利要求1-32中任一项所述的方法，其中在用抗原和任选地佐剂激发后，所述免疫活性小鼠与被给予相同抗原的免疫活性C57BL/6小鼠相比，一种或多种细胞因子有所增加，任选地，其中所述一种或多种细胞因子是炎性细胞因子。

34.根据权利要求33所述的方法，其中所述BALB/c小鼠或其亚品系任选地是BALB/cJ小鼠或BALB/cByJ小鼠。

35.根据权利要求1-34中任一项所述的方法，其中在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法之后24小时或约24小时或24小时内，所述小鼠包含：

i)与开始给予所述淋巴细胞清除剂或疗法之前相比，介于约10％与约95％之间、介于约30％与约85％之间、或介于约50％与约75％之间的百分比的总循环淋巴细胞的耗尽；和/或

ii)与开始给予所述淋巴细胞清除剂或疗法之前相比，介于约10％与约95％之间、介于约30％与约85％之间、或介于约50％与约75％之间的百分比的循环T细胞的耗尽；和/或

iii)与开始给予所述淋巴细胞清除剂或疗法之前相比，介于50％与约99％之间、介于约75％与约99％之间、或介于约75％与约95％之间的百分比的循环B细胞的耗尽。

36.根据权利要求1-35中任一项所述的方法，其中所述淋巴细胞清除剂包含化学治疗剂。

37.根据权利要求36所述的方法，其中所述化学治疗剂是或包含环磷酰胺。

38.根据权利要求1-37中任一项所述的方法，其中所述淋巴细胞清除剂或疗法包含至少或至少约100mg/kg环磷酰胺或介于或介于约50mg/kg与500mg/kg之间的环磷酰胺的剂量，每个都包含端值。

39.根据权利要求1-38中任一项所述的方法，其中所述淋巴细胞清除剂或疗法包含250mg/kg或约250mg/kg环磷酰胺的剂量。

40.根据权利要求38或权利要求39所述的方法，其中环磷酰胺的所述剂量是在开始给予所述免疫疗法之前一次给予。

41.根据权利要求37-40中任一项所述的方法，其中腹膜内给予所述环磷酰胺。

42.根据权利要求18-41中任一项所述的方法，其中所述细胞疗法先前没有被低温冷冻。

43.根据权利要求1-42中任一项所述的方法，其中所述免疫疗法的给予是在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法之后介于12小时与48小时之间开始。

44.根据权利要求1-43中任一项所述的方法，其中所述免疫疗法的给予是在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法之后24小时或约24小时开始。

45.根据权利要求18-44中任一项所述的方法，其中所述细胞疗法包括给予至少或至少约或为或为约5x 10^6个总重组受体表达细胞或总T细胞、1x10^7个总重组受体表达细胞或总T细胞、或2x 10^7个总重组受体表达细胞或总T细胞。

46.根据权利要求18-45中任一项所述的方法，其中所述细胞疗法包括给予介于或介于约5x 10^6与约5x 10^7个之间的总重组受体表达细胞或总T细胞。

47.根据权利要求1-46中任一项所述的方法，其中所述方法产生毒性，所述毒性包括与以下相关或选自以下的一种或多种体征、症状或结果：增加的炎症，任选地全身炎症或神经炎症；一种或多种分子的改变的水平、量或表达或其比率，所述一种或多种分子任选地是细胞因子、趋化因子或生长因子，任选地炎性分子，任选地，其中所述分子是血清蛋白；一种或多种基因产物的改变的表达或其比率，任选地在组织中，任选地，其中所述组织是脑；改变的血液化学；组织损伤，任选地脑损伤；脑水肿；体重减轻；降低的体温；和/或改变的行为。

48.根据权利要求47所述的方法，其中所述一种或多种体征、症状或结果是炎症或者与炎症相关，其中所述炎症包含任选地肝、肺、脾或脑的组织细胞肉芽肿性浸润。

49.根据权利要求47或权利要求48所述的方法，其中所述一种或多种体征、症状或结果是血清中一种或多种分子的改变的水平、量或表达或其比率或者与所述改变的水平、量或表达或其比率相关，其中所述一种或多种分子是细胞因子、趋化因子或生长因子，

任选地如与开始给予所述淋巴细胞清除剂或疗法或免疫疗法之前所述小鼠中所述分子的水平、量或表达相比，或

任选地如与相同品系的初试小鼠中所述分子的平均水平、量或表达相比，和/或与相同品系的初试小鼠中所述分子的平均水平、量或表达相比，和/或与被给予非目标免疫疗法的小鼠中所述分子的水平、量或表达相比。

50.根据权利要求49所述的方法，其中所述一种或多种分子选自：IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-13、IL-21、IL-23、IP-10、KC/GRO、IL-16、IL-17A、EPO、IL-30、TNFa、IFNγ、MCP-1、MIP-1a、MIP-1b、GM-CSF和血管生成素-2。

51.根据权利要求47所述的方法，其中所述改变的水平、量或表达或其比率是或包含血清中改变的血管生成素-2与血管生成素-1的比率(Ang2:Ang1比率)，任选地，其中所述改变的比率是增加的比率。

52.根据权利要求51所述的方法，其中与在开始给予所述淋巴细胞清除剂或疗法或免疫疗法之前所述小鼠中的Ang2:Ang1比率相比，和/或与相同品系的初试小鼠中的平均Ang2:Ang1比率相比，和/或与被给予非目标免疫疗法的小鼠中的Ang2:Ang1比率相比，所述Ang2:Ang1比率增加至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍、至少50倍、至少100倍、至少500倍、至少1,000倍或至少5,000倍。

53.根据权利要求47所述的方法，其中所述分子的改变的水平、量或表达或其比率包括降低的IL-9、VEGF、IL-17E/IL-25、IL-15、IL-22、MIP-3a和IL-12/IL-23p40的水平、量或表

达。

54.根据权利要求47所述的方法，其中所述一种或多种体征、症状或结果是细胞、组织或器官中，任选地脑细胞、脑组织或脑中一种或多种基因产物的改变的表达或其比率，或者与所述改变的表达或其比率相关。

55.根据权利要求47或权利要求54所述的方法，其中通过RNA测序(RNA-seq)评估所述一种或多种基因产物或其部分的表达。

56.根据权利要求47、54和55中任一项所述的方法，其中所述一种或多种基因产物与以下相关或参与以下：对细胞因子的应答、对干扰素β的应答、对干扰素β的细胞应答、抗原加工和呈递、对细胞形态发生的调节、对细胞因子刺激的细胞应答、先天免疫应答、对干扰素γ的应答、细胞连接组装、血管发生、对细胞投射组织化的调节、对神经元投射发育的调节、血管形态发生、对蛋白质修饰的调节、对神经递质受体活性的调节、对细胞形状的调节、对细胞组分大小的调节、对流体剪切应力的应答、细胞连接组织化、肌动蛋白丝组织化、胞吞作用、对干扰素γ的细胞应答、对谷氨酸受体信号传导途径的调节、对磷酸化的调节、对肽激素的应答、对细胞组分生物发生的调节、对细胞迁移的正向调节或前述项的任何项的组合。

57.根据权利要求47、54和55中任一项所述的方法，其中所述一种或多种基因产物与以下相关或参与以下，其中所述一种或多种基因产物与以下相关或参与以下：病毒过程、多生物细胞过程、活性氧类代谢过程、对蛋白质修饰过程的负向调节、对细胞粘附的正向调节、共生生物对宿主的粘附、细胞-基质粘附、侣伴蛋白介导的蛋白质折叠、肽基-酪氨酸修饰、趋性、对其他生物体的防御应答、甾醇生物合成过程、对氮化合物的细胞应答。

58.根据权利要求47和54-57中任一项所述的方法，其中所述一种或多种基因产物选自：Acer2(碱性神经酰胺酶2)、Adipoq(脂联素)、Aif1(同种异体移植物炎性因子1)、Angpt1(血管生成素1)、Angpt14(血管生成素样4)、Angpt2(血管生成素2)、Aox1(醛氧化酶)、Aqp4(水通道蛋白-4)、Atf3(环AMP依赖性转录因子ATF-3)、Bnip3(BCL2/腺病毒E1B 19kDa蛋白相互作用蛋白3)、Ccl2(C-C基序趋化因子2)、CCL4(MIP-1b，C-C基序趋化因子4)、CD31(PECAM-1)、CD274、CD68、CIITA(II类反式激活因子)、CXCL1(KC，生长调节α蛋白)、CXCL10(IP-10)、CXCL11(I-TAC，C-X-C基序趋化因子11)、Edn1(内皮素-1)、Gbp2(鸟苷酸结合蛋白2)、Gbp4(鸟苷酸结合蛋白4)、Gdp5(鸟苷酸结合蛋白5)、Gdp9(鸟苷酸结合蛋白9)、GM-CSF、Gzmb(颗粒酶B)、HIF3a(缺氧诱导因子3α亚基)、ICAM-1(细胞间粘附分子1)、IL2ra(白细胞介素-2受体亚基α)、IL-4、IL-6、IL-13、Lrg1(富含亮氨酸的α-2-糖蛋白1)、Mgst3(微粒体谷胱甘肽S-转移酶3)、Mmrn2,(多聚蛋白-2)、Ncf1(嗜中性粒细胞胞质溶胶因子1)、NLRC5(I类反式激活因子)、Nos3(一氧化氮合酶，内皮型)、Pdk4(丙酮酸脱氢酶激酶，同工酶4)、Pla2g3(3族分泌型磷脂酶A2前体)、Ptgs2(前列腺素G/H合酶2)、Pxdn(过氧蛋白同源物)、Scara3(清道夫受体A类成员3)、Sele(E-选择素)、Selp(P-选择素)、IL2ra、IL-13、Serpine 1、Sult1a1(磺基转移酶1A1)、Tgfb1(转化生长因子β-1)、Tgfb2(转化生长因子β2)、Tgfb3(转化生长因子β3)、Tgtp1(T细胞特异性鸟嘌呤核苷酸三磷酸结合蛋白1)、Tlr2(Toll样受体2)、Tlr4(toll样受体4)、TNF(肿瘤坏死因子)、VCAM-1(血管细胞粘附蛋白1)、Vwf(血管性血友病因子)或Xdh(黄嘌呤脱氢酶)。

59.根据权利要求47和54-58中任一项所述的方法，其中所述一种或多种基因产物选

自:Gbp4、Gbp5、Gbp2、Gbp8、Angpt2、Angptl4、Hif3a、Lrg1、Mmrn2、Xdh、Acer2、Atf3、Pdk4、Pla2g3、Sult1a1、CD274(PD-L1)、Tgtp1、Vwf、Ncf1、Aox1、Bnip3、Pxdn、Scara3、Mgst3、Ptgs2、Nos3、VCAM-1、ICAM-1、E-选择素、P-选择素、或CD31。

60.根据权利要求47和54-59中任一项所述的方法,其中所述一种或多种基因产物选自:Adipoq(脂联素)、Aif1(同种异体移植物炎性因子1)、Aqp4(水通道蛋白-4)、Ccl2(C-C基序趋化因子2)、CD68、Edn1(内皮素-1)、Serpine 1、Tgfb1(转化生长因子β-1)、Tgfb2(转化生长因子β2)、Tgfb3(转化生长因子β3)、Tlr2(Toll样受体2)、Tlr4(toll样受体4)、IL2ra、IL-13、Gzmb(颗粒酶B)、TNF、CXCL10(IP-10)、CCL2(MCP-1,C-C基序趋化因子2)、CXCL11(I-TAC,C-X-C基序趋化因子11)、CXCL1(KC,生长调节α蛋白)、CCL4(MIP-1b,C-C基序趋化因子4)、NLRC5(I类反式激活因子)或CIITA(II类反式激活因子)。

61.根据权利要求47-60中任一项所述的方法,其中毒性包括脑组织损伤。

62.根据权利要求61所述的方法,其中所述脑组织损伤包括出血。

63.一种小鼠模型,所述小鼠模型包含通过根据权利要求1-62中任一项所述的方法产生的小鼠。

64.一种小鼠模型,所述小鼠模型包含免疫活性小鼠,所述免疫活性小鼠包含:

与相同品系的初试小鼠中一种或多种淋巴细胞群的平均数量相比,所述一种或多种淋巴细胞群的数量的部分耗尽;和

免疫疗法,其中所述免疫疗法结合至和/或识别在所述免疫活性小鼠的细胞或组织之上或之中表达的抗原,任选地,其中所述免疫疗法对于所述免疫活性小鼠是外源的,任选地,其中所述免疫疗法是重组的或嵌合的。

65.根据权利要求63或权利要求64所述的小鼠模型,其中所述部分耗尽不是永久的或者是短暂的,任选地,其中所述部分耗尽在给予淋巴细胞清除剂或疗法之后存在超过14天、28天、45天、60天、3个月、6个月、1年或更久,任选地,其中所述淋巴细胞清除剂或疗法包括环磷酰胺。

66.根据权利要求63-65中任一项所述的小鼠模型,其中所述小鼠包含:

i)介于约10%与约95%之间、介于约30%与约85%之间、或介于约50%与约75%之间的百分比的总循环淋巴细胞的耗尽;和/或

ii)介于约10%与约95%之间、介于约30%与约85%之间、或介于约50%与约75%之间的百分比的循环T细胞的耗尽;和/或

iii)介于约50%与约99%之间、介于约75%与约99%之间、或介于约75%与约95%之间的百分比的循环B细胞的耗尽。

67.根据权利要求63-66中任一项所述的小鼠模型,其中所述一种或多种淋巴细胞群的数量包含:

介于或介于约0.1与1,000个之间的淋巴细胞/μl血液;

介于0.1与1,000个之间的B细胞/μl血液;和/或

介于0.1与100个之间的T细胞/μl血液。

68.根据权利要求63-67中任一项所述的小鼠模型,其中所述抗原是在鼠类细胞上天然表达的抗原。

69.根据权利要求63-68中任一项所述的小鼠模型,其中所述抗原是B细胞抗原,或者是

在B细胞的表面上表达，或者其中所述细胞是鼠类B细胞。

70.根据权利要求68或权利要求69所述的小鼠模型，其中表达所述抗原的所述细胞是肿瘤细胞。

71.根据权利要求70所述的小鼠模型，其中所述肿瘤细胞是在给予所述免疫疗法之前给予所述小鼠。

72.一种小鼠模型，所述小鼠模型包含免疫活性小鼠，所述免疫活性小鼠包含：

与相同品系的初试小鼠中一种或多种淋巴细胞群的平均数量相比，所述一种或多种淋巴细胞群的数量的部分耗尽；

免疫疗法，其中所述免疫疗法结合至和/或识别抗原，其中所述免疫疗法对于所述免疫活性小鼠是外源的，任选地，其中所述免疫疗法是重组的或嵌合的；和

包含所述抗原的肿瘤细胞，任选地，其中所述抗原是在所述肿瘤细胞表面上表达。

73.根据权利要求70-72中任一项所述的小鼠模型，其中所述肿瘤细胞包含B细胞癌细胞系。

74.根据权利要求73所述的小鼠模型，其中所述B细胞癌细胞系选自L1210细胞、38C13细胞、BCL1细胞、A20细胞、4TOO细胞、B6自发模型细胞、CH44细胞、S11细胞、LY-ar细胞、LY-as细胞、Pi-BCL1细胞、38C13Her2/neu细胞、Myc5-M5细胞、小鼠淋巴肉瘤细胞系细胞、由Bcl2细胞转染的FL5.12、38C13 CD20+细胞、A20.IIA-GFP/IIA1.6-GFP细胞、和/或LMycSN-p53无效细胞。

75.根据权利要求73或权利要求74所述的小鼠模型，其中所述B细胞癌细胞系包含A20细胞。

76.根据权利要求63-75中任一项所述的小鼠模型，其中所述免疫疗法包括细胞疗法，所述细胞疗法包括表达重组受体的遗传工程化细胞。

77.根据权利要求76所述的小鼠模型，其中所述工程化细胞包含从生物样品获得的细胞，所述生物样品来自所述免疫活性小鼠或来自与所述免疫活性小鼠属于相同品系或亚品系的小鼠。

78.根据权利要求77所述的小鼠模型，其中所述生物样品包含脾细胞。

79.根据权利要求76-78中任一项所述的小鼠模型，其中所述细胞疗法包含表达重组受体的鼠类T细胞，所述重组受体结合至和/或识别在所述免疫活性小鼠的B细胞上表达的鼠类抗原。

80.根据权利要求76-79中任一项所述的小鼠模型，其中所述重组受体是T细胞受体或功能性非T细胞受体。

81.根据权利要求76-80中任一项所述的小鼠模型，其中所述重组受体是嵌合受体，任选地嵌合抗原受体(CAR)。

82.根据权利要求76-80中任一项所述的小鼠模型，其中：

所述重组受体的氨基酸序列是鼠类的；和/或

所述嵌合受体的单独区域或结构域包含天然鼠类蛋白的区域或结构域和/或包含鼠类序列；和/或

所述嵌合受体的单独区域或结构域对所述小鼠无免疫原性。

83.根据权利要求81或权利要求82所述的小鼠模型，其中所述CAR包含特异性地结合至

所述抗原的细胞外抗原结合结构域、跨膜区和细胞内信号传导区。

84.根据权利要求83所述的小鼠模型，其中所述抗原结合结构域是或包含单链片段，任选地scFv。

85.根据权利要求83或权利要求84所述的小鼠模型，其中所述细胞内信号传导区包含含有ITAM的细胞内信号传导结构域，其中任选地，所述细胞内信号传导结构域包含CD3-zeta(CD3ζ)链任选鼠类CD3-ζ的细胞内结构域。

86.根据权利要求85所述的小鼠模型，其中所述细胞内信号传导区进一步包含共刺激信号传导区，所述共刺激信号传导区任选地包含CD28或4-1BB任选鼠类CD28或鼠类4-1BB的信号传导结构域。

87.根据权利要求64-86中任一项所述的小鼠模型，其中所述抗原是B细胞成熟抗原(BCMA)、CD19、CD20、CD22、CD24、CD30、和/或CD38。

88.根据权利要求63-87中任一项所述的小鼠模型，其中所述抗原是CD19。

89.根据权利要求63-88中任一项所述的小鼠模型，其中所述免疫活性小鼠不包含或没有工程化以包含减少细胞因子应答的突变和/或不包含NLRP12基因中的突变，所述NLRP12基因中的所述突变任选地位于赖氨酸1034，任选地是K1034R。

90.根据权利要求63-89中任一项所述的小鼠模型，其中所述免疫活性小鼠不是C57BL/6小鼠或其亚品系。

91.根据权利要求63-90中任一项所述的小鼠模型，其中在用抗原和任选地佐剂激发后，所述免疫活性小鼠与被给予相同抗原的免疫活性C57BL/6小鼠相比，一种或多种细胞因子有所增加，任选地，其中所述一种或多种细胞因子是炎性细胞因子。

92.根据权利要求63-91中任一项所述的小鼠模型，其中所述免疫活性小鼠是BALB/c小鼠或者是其亚品系，任选地BALB/cJ小鼠或BALB/cByJ小鼠。

93.根据权利要求65-92中任一项所述的小鼠模型，其中所述淋巴细胞清除剂包含化学治疗剂。

94.根据权利要求93所述的小鼠模型，其中所述化学治疗剂是或包含环磷酰胺。

95.根据权利要求63-94中任一项所述的小鼠模型，其中所述免疫活性小鼠展现与毒性相关和/或选自以下的一种或多种体征、症状或结果：增加的炎症，任选地全身炎症或神经炎症；一种或多种分子的改变的水平、量或表达或其比率，所述一种或多种分子任选地是细胞因子、趋化因子或生长因子，任选地炎性分子，任选地，其中所述分子是血清蛋白；一种或多种基因产物的改变的表达或其比率，任选地在组织中，任选地，其中所述组织是脑；改变的血液化学；组织损伤，任选地脑损伤；脑水肿；体重减轻；降低的体温；和/或改变的行为。

96.根据权利要求95所述的小鼠模型，其中所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是炎症或者与炎症相关，其中所述炎症包含任选地肝、肺、脾或脑的组织细胞肉芽肿性浸润。

97.根据权利要求96所述的小鼠模型，其中所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是血清中一种或多种分子的改变的水平、量或表达或其比率或者与所述改变的水平、量或表达或其比率相关，其中所述一种或多种分子是细胞因子、趋化因子或生长因子。

98.根据权利要求97所述的小鼠模型，其中所述一种或多种分子选自：IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-13、IL-21、IL-23、IP-10、KC/GRO、IL-16、IL-17A、EPO、IL-30、TNFα、IFN

γ、MCP-1、MIP-1a、MIP-1b、GM-CSF和血管生成素-2。

99.根据权利要求95所述的小鼠模型，其中所述改变的水平、量或表达或其比率是或包含血清中改变的血管生成素-2与血管生成素-1的比率(Ang2:Ang1比率)，任选地，其中所述改变的比率是增加的比率。

100.根据权利要求99所述的小鼠模型，其中与在开始给予所述淋巴细胞清除剂或疗法或免疫疗法之前所述小鼠中的Ang2:Ang1比率相比，和/或与相同品系的初试小鼠中的平均Ang2:Ang1比率相比，和/或与被给予非目标免疫疗法的小鼠中的Ang2:Ang1比率相比，所述Ang2:Ang1比率增加至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍、至少50倍、至少100倍、至少500倍、至少1,000倍或至少5,000倍。

101.根据权利要求95所述的小鼠模型，其中与相同品系的初试小鼠中所述分子的平均水平、量或表达相比，和/或与被给予非目标免疫疗法的小鼠中所述分子的水平、量或表达相比，所述分子的改变的水平、量或表达或其比率包括降低的水平、量或表达。

102.根据权利要求101所述的小鼠模型，其中所述一种或多种分子选自：IL-9、VEGF、IL-17E/IL-25、IL-15、IL-22、MIP-3a和IL-12/IL-23p40。

103.根据权利要求95所述的小鼠模型，其中所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是组织中一种或多种基因产物的改变的表达或其比率或者与所述改变的表达或其比率相关，任选地，其中所述组织是脑。

104.根据权利要求95或权利要求103所述的小鼠模型，其中通过RNA测序(RNA-seq)评估所述一种或多种基因产物或其部分的表达。

105.根据权利要求95、103和104中任一项所述的小鼠模型，其中所述一种或多种基因产物与以下相关或参与以下：对细胞因子的应答、对干扰素β的应答、对干扰素β的细胞应答、抗原加工和呈递、对细胞形态发生的调节、对细胞因子刺激的细胞应答、先天免疫应答、对干扰素γ的应答、细胞连接组装、血管发生、对细胞投射组织化的调节、对神经元投射发育的调节、血管形态发生、对蛋白质修饰的调节、对神经递质受体活性的调节、对细胞形状的调节、对细胞组分大小的调节、对流体剪切应力的应答、细胞连接组织化、肌动蛋白丝组织化、胞吞作用、对干扰素γ的细胞应答、对谷氨酸受体信号传导途径的调节、对磷酸化的调节、对肽激素的应答、对细胞组分生物发生的调节、对细胞迁移的正向调节、或前述项的任何项的组合。

106.根据权利要求95、103和104中任一项所述的小鼠模型，其中所述一种或多种基因产物与以下相关或参与以下：病毒过程、多生物细胞过程、活性氧类代谢过程、对蛋白质修饰过程的负向调节、对细胞粘附的正向调节、共生生物对宿主的粘附、细胞-基质粘附、侣伴蛋白介导的蛋白质折叠、肽基-酪氨酸修饰、趋性、对其他生物体的防御应答、甾醇生物合成过程、对氮化合物的细胞应答。

107.根据权利要求95、103和104中任一项所述的小鼠模型，其中所述一种或多种基因产物与以下相关或参与以下：免疫应答、血管发生、甾醇代谢过程、氧化应激、抗氧化防御、一氧化氮信号传导途径、细胞粘附或前述项的任何项的组合。

108.根据权利要求95和103-107中任一项所述的小鼠模型，其中所述一种或多种基因产物选自：Acer2(碱性神经酰胺酶2)、Adipoq(脂联素)、Aif1(同种异体移植物炎性因子1)、

Angpt1(血管生成素1)、Angpt14(血管生成素样4)、Angpt2(血管生成素2)、Aox1(醛氧化酶)、Aqp4(水通道蛋白-4)、Atf3(环AMP依赖性转录因子ATF-3)、Bnip3(BCL2/腺病毒E1B 19kDa蛋白相互作用蛋白3)、Ccl2(C-C基序趋化因子2)、CCL4(MIP-1b,C-C基序趋化因子4)、CD31(PECAM-1)、CD274、CD68、CIITA(II类反式激活因子)、CXCL1(KC,生长调节α蛋白)、CXCL10(IP-10)、CXCL11(I-TAC,C-X-C基序趋化因子11)、Edn1(内皮素-1)、Gbp2(鸟苷酸结合蛋白2)、Gbp4(鸟苷酸结合蛋白4)、Gdp5(鸟苷酸结合蛋白5)、Gdp9(鸟苷酸结合蛋白9)、GM-CSF、Gzmb(颗粒酶B)、HIF3a(缺氧诱导因子3α亚基)、ICAM-1(细胞间粘附分子1)、IL2ra(白细胞介素-2受体亚基α)、IL-4、IL-6、IL-13、Lrg1(富含亮氨酸的α-2-糖蛋白1)、Mgst3(微粒体谷胱甘肽S-转移酶3)、Mmrn2,(多聚蛋白-2)、Ncf1(嗜中性粒细胞胞质溶胶因子1)、NLRC5(I类反式激活因子)、Nos3(一氧化氮合酶,内皮型)、Pdk4(丙酮酸脱氢酶激酶,同工酶4)、Pla2g3(3族分泌型磷脂酶A2前体)、Ptgs2(前列腺素G/H合酶2)、Pxdn(过氧蛋白同源物)、Scara3(清道夫受体A类成员3)、Sele(E-选择素)、Selp(P-选择素)、IL2ra、IL-13、Serpine 1、Sult1a1(磺基转移酶1A1)、Tgfb1(转化生长因子β-1)、Tgfb2(转化生长因子β2)、Tgfb3(转化生长因子β3)、Tgtp1(T细胞特异性鸟嘌呤核苷酸三磷酸结合蛋白1)、Tlr2(Toll样受体2)、Tlr4(toll样受体4)、TNF(肿瘤坏死因子)、VCAM-1(血管细胞粘附蛋白1)、Vwf(血管性血友病因子)或Xdh(黄嘌呤脱氢酶)。

109.根据权利要求95和103-108中任一项所述的小鼠模型,其中所述一种或多种基因产物选自:Adipoq(脂联素)、Aif1(同种异体移植物炎性因子1)、Aqp4(水通道蛋白-4)、Ccl2(C-C基序趋化因子2)、CD68、Edn1(内皮素-1)、Serpine 1、Tgfb1(转化生长因子β-1)、Tgfb2(转化生长因子β2)、Tgfb3(转化生长因子β3)、Tlr2(Toll样受体2)、Tlr4(toll样受体4)、IL2ra、IL-13、Gzmb(颗粒酶B)、TNF、CXCL10(IP-10)、CCL2(MCP-1,C-C基序趋化因子2)、CXCL11(I-TAC,C-X-C基序趋化因子11)、CXCL1(KC,生长调节α蛋白)、CCL4(MIP-1b,C-C基序趋化因子4)、NLRC5(I类反式激活因子)或CIITA(II类反式激活因子)。

110.根据权利要求95和103-109中任一项所述的小鼠模型,其中所述一种或多种基因产物选自:Gbp4、Gbp5、Gbp2、Gbp8、Angpt2、Angptl4、Hif3a、Lrg1、Mmrn2、Xdh、Acer2、Atf3、Pdk4、Pla2g3、Sult1a1、CD274(PD-L1)、Tgtp1、Vwf、Ncf1、Aox1、Bnip3、Pxdn、Scara3、Mgst3、Ptgs2、Nos3、VCAM-1、ICAM-1、E-选择素、P-选择素或CD31。

111.根据权利要求95所述的小鼠模型,其中所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是改变的血液化学或者与改变的血液化学相关,并且所述改变的血液化学包括血清葡萄糖、血清白蛋白、总血清蛋白和/或血清钙水平的降低。

112.根据权利要求95所述的小鼠模型,其中所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是组织损伤或者与组织损伤相关,任选地,其中所述组织损伤包括所述组织的组织细胞肉芽肿性浸润、坏死、血管损伤和/或血管渗漏。

113.根据权利要求95所述的小鼠模型,其中所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是改变的行为或者与改变的行为相关,任选地,其中所述改变的行为包括食物摄入减少、水摄入减少、理毛行为减少和/或运动活动减少。

114.根据权利要求95-113中任一项所述的小鼠模型,其中毒性包括脑组织损伤。

115.根据权利要求114所述的小鼠模型,其中所述脑组织损伤包括出血。

116.一种组织样品,所述组织样品是从通过根据权利要求1-62中任一项所述的方法产

生的小鼠或者从根据权利要求63-115中任一项所述的小鼠模型获得。

117.根据权利要求116所述的组织，其中所述组织样品是或包含血液、血清、脑组织、肝组织、肺组织、肾组织和/或脾组织。

118.根据权利要求116或权利要求117所述的组织，其中所述组织样品是或包含脑组织。

119.一种鉴定和/或评估药剂的一种或多种作用的方法，所述方法包括：

i)将淋巴细胞清除剂或疗法和免疫疗法给予免疫活性小鼠以产生毒性和/或与毒性结果或副作用相关或指示毒性结果或副作用的一种或多种体征、症状或结果；

ii)将测试剂任选地以所述测试剂的测试剂量方案或频率给予所述免疫活性小鼠；和

iii)评估所述小鼠中的所述毒性和/或一种或多种所述体征、症状或结果。

120.根据权利要求119所述的方法，其中所述测试剂是在开始给予所述淋巴细胞清除剂或疗法或开始给予所述免疫疗法之前、在开始给予所述淋巴细胞清除剂或疗法或开始给予所述免疫疗法之后、或与开始给予所述淋巴细胞清除剂或疗法或开始给予所述免疫疗法相伴随和/或与开始给予所述淋巴细胞清除剂或疗法或开始给予所述免疫疗法同时给予。

121.根据权利要求120所述的方法，其中所述测试剂是在开始给予所述淋巴细胞清除剂或疗法或开始给予所述免疫疗法之前给予。

122.根据权利要求119-121中任一项所述的方法，其中所述方法进一步包括：

iv)将所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果与对照小鼠相比较，所述对照小鼠已被给予所述淋巴细胞清除剂或疗法和所述免疫疗法但未给予所述测试剂，其中所述对照小鼠是免疫活性的。

123.一种鉴定和/或评估药剂的一种或多种作用的方法，所述方法包括：

i)将测试剂任选地以所述测试剂的测试剂量方案或频率给予免疫活性小鼠，所述免疫活性小鼠先前已被给予淋巴细胞清除剂或疗法和免疫疗法，其中所述免疫活性小鼠展现毒性和/或与毒性结果或副作用相关或指示毒性结果或副作用的一种或多种体征、症状或结果；和

ii)评估所述小鼠中的所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果。

124.根据权利要求119-123中任一项所述的方法，其中所述免疫活性小鼠是通过根据权利要求1-62中任一项所述的方法产生的小鼠，或根据权利要求63-115中任一项所述的小鼠模型。

125.根据权利要求123或权利要求124所述的方法，其中所述方法进一步包括：

iii)将所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果与对照小鼠相比较，所述对照小鼠已被给予所述淋巴细胞清除剂或疗法和所述免疫疗法但未给予所述测试剂，其中所述对照小鼠是免疫活性的。

126.根据权利要求119-125中任一项所述的方法，其中所述测试剂是在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法和/或所述免疫疗法之后给予。

127.根据权利要求119-126中任一项所述的方法，其中所述测试剂的所述测试剂量方案用于评估：用于给予的所述测试剂的特定或预定量或浓度和/或用于给予的所述药剂的给药频率是否改变所述小鼠中的所述毒性和/或一种或多种所述体征、症状或结果。

128.根据权利要求119-127中任一项所述的方法，其中所述测试剂包含小分子、小有机

化合物、肽、多肽、抗体或其抗原结合片段、非肽化合物、合成化合物、发酵产物、细胞提取物、多核苷酸、寡核苷酸、RNAi、siRNA、shRNA、多价siRNA、miRNA和/或病毒。

129.根据权利要求119-128中任一项所述的方法，其中所述测试剂、任选地所述测试剂的测试剂量方案是用于改善所述毒性和/或所述体征、症状或结果的候选者。

130.根据权利要求119-129中任一项所述的方法，其中，如果在所述测试剂、任选地所述测试剂的测试剂量方案的存在下，所述比较指示所述毒性和/或所述体征、症状或结果发生改变，任选地降低，则将所述测试剂鉴定为用于改善针对所述免疫疗法的毒性或者可能或被预测改善针对所述免疫疗法的毒性的药剂。

131.根据权利要求119-128中任一项所述的方法，其中所述测试剂、任选地所述测试剂的测试剂量方案是与所述细胞疗法组合使用的药剂，任选地，其中所述药剂会改进或可能会改进所述细胞疗法的活性、功效、存活和/或持久性，或者是用以改进所述细胞疗法的活性、功效、存活和/或持久性的候选者。

132.根据权利要求119-128和131中任一项所述的方法，其中，如果在所述测试剂、任选地所述测试剂的测试剂量方案的存在下，所述比较指示所述毒性和/或所述体征、症状或结果发生改变，任选地增加，则将所述测试剂或测试剂量方案鉴定为加重针对所述免疫疗法的毒性或者可能或被预测加重针对所述免疫疗法的毒性。

133.根据权利要求119-132中任一项所述的方法，其中所述毒性包括和/或与所述毒性相关的所述一种或多种体征、症状或结果选自：增加的炎症，任选地全身炎症或神经炎症；一种或多种分子的改变的水平、量或表达或其比率，所述一种或多种分子任选地是细胞因子、趋化因子或生长因子，任选地炎性分子，任选地，其中所述分子是血清蛋白；一种或多种基因产物的改变的表达或其比率，任选地在组织中，任选地，其中所述组织是脑；改变的血液化学；组织损伤，任选地脑损伤；脑水肿；体重减轻；降低的体温；和/或改变的行为。

134.根据权利要求119-133中任一项所述的方法，其中所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是炎症或者与炎症相关，其中所述炎症包含任选地肝、肺、脾或脑的组织细胞肉芽肿性浸润。

135.根据权利要求119-134中任一项所述的方法，其中所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是血清中一种或多种分子的改变的水平、量或表达或其比率或者与所述改变的水平、量或表达或其比率相关，其中所述一种或多种分子是细胞因子、趋化因子或生长因子。

136.根据权利要求135所述的方法，其中所述一种或多种分子选自：IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-13、IL-21、IL-23、IP-10、KC/GRO、IL-16、IL-17A、EPO、IL-30、TNFa、IFNγ、MCP-1、MIP-1a、MIP-1b、GM-CSF和血管生成素-2。

137.根据权利要求135所述的方法，其中所述一种或多种分子选自：IL-9、VEGF、IL-17E/IL-25、IL-15、IL-22、MIP-3a和IL-12/IL-23p40。

138.根据权利要求119-134中任一项所述的方法，其中所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是组织中一种或多种基因产物的改变的表达或其比率或者与所述改变的表达或其比率相关，任选地，其中所述组织是脑。

139.根据权利要求128所述的方法，其中所述多核苷酸是RNA，任选地，其中所述RNA是信使RNA(mRNA)。

140.根据权利要求133或权利要求138所述的方法，其中所述一种或多种基因产物与以下相关或参与以下：对细胞因子的应答、对干扰素β的应答、对干扰素β的细胞应答、抗原加工和呈递、对细胞形态发生的调节、对细胞因子刺激的细胞应答、先天免疫应答、对干扰素γ的应答、细胞连接组装、血管发生、对细胞投射组织化的调节、对神经元投射发育的调节、血管形态发生、对蛋白质修饰的调节、对神经递质受体活性的调节、对细胞形状的调节、对细胞组分大小的调节、对流体剪切应力的应答、细胞连接组织化、肌动蛋白丝组织化、胞吞作用、对干扰素γ的细胞应答、对谷氨酸受体信号传导途径的调节、对磷酸化的调节、对肽激素的应答、对细胞组分生物发生的调节、对细胞迁移的正向调节或前述项的任何项的组合。

141.根据权利要求133、138和140中任一项所述的方法，其中所述一种或多种基因产物与以下相关或参与以下：免疫应答、血管发生、甾醇代谢过程、氧化应激、抗氧化防御、一氧化氮信号传导途径、细胞粘附或前述项的任何项的组合。

142.根据权利要求133、138、140和141中任一项所述的方法，其中所述一种或多种基因产物选自：Gbp4、Gbp5、Gbp2、Gbp8、Angpt2、Angptl4、Hif3a、Lrg1、Mmrn2、Xdh、Acer2、Atf3、Pdk4、Pla2g3、Sult1a1、CD274(PD-L1)、Tgtp1、Vwf、Ncf1、Aox1、Bnip3、Pxdn、Scara3、Mgst3、Ptgs2、Nos3、VCAM-1、ICAM-1、E-选择素、P-选择素或CD31。

143.根据权利要求119-142中任一项所述的方法，其中所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是改变的血液化学或者与改变的血液化学相关，并且所述改变的血液化学包括血清葡萄糖、血清白蛋白、总血清蛋白和/或血清钙水平的降低。

144.根据权利要求119-142中任一项所述的方法，其中所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是组织损伤或者与组织损伤相关，任选地，其中所述组织损伤包括所述组织的组织细胞肉芽肿性浸润、坏死、血管损伤和/或血管渗漏。

145.根据权利要求119-142中任一项所述的方法，其中所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是改变的行为或者与改变的行为相关，任选地，其中所述改变的行为包括食物摄入减少、水摄入减少、理毛行为减少和/或运动活动减少。

146.根据权利要求119-145中任一项所述的方法，其中评估所述小鼠中的所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是通过聚合酶链式反应(PCR)、RNA印迹、DNA印迹、微阵列、测序技术、免疫测定、流式细胞术、组织化学、监测体重、监测体温和/或观察身体、表型和/或行为变化或特征来确定。

147.根据权利要求119-146中任一项所述的方法，其中通过RNA测序(RNA-seq)评估所述一种或多种基因产物或其部分的表达。

评估与免疫疗法相关的毒性的小鼠模型

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求对2017年6月29日提交的题为“毒性模型和相关方法(TOXICITY MODEL AND RELATED METHODS)”的美国临时专利申请62/527,030、2017年9月26日提交的题为“评估与免疫疗法相关的毒性的小鼠模型(MOUSE MODEL FOR ASSESSING TOXICITIES ASSOCIATED WITH IMMUNOTHERAPIES)”的美国临时专利申请62/563,635、和2017年11月10日提交的题为“评估与免疫疗法相关的毒性的小鼠模型(MOUSE MODEL FOR ASSESSING TOXICITIES ASSOCIATED WITH IMMUNOTHERAPIES)”的美国临时专利申请62/584,731的优先权的权益,上述申请的内容是出于所有目的通过引用以其整体特此并入。

[0003] 通过引用并入序列表

[0004] 本申请是与电子格式的序列表一起提交申请的。序列表以2018年6月29日创建的名为735042011840SeqList.TXT的文件提供,其大小为9,228字节。将电子格式的序列表中的信息通过引用以其整体并入。

技术领域

[0005] 本公开文本提供了用于评估或评价针对免疫疗法的毒性的模型,特别是小鼠模型,所述免疫疗法例如治疗性细胞疗法,如含有表达重组受体(例如,嵌合抗原受体(CAR))的工程化细胞(如T细胞)的细胞疗法。还提供了产生所述小鼠模型的方法。本文还提供了所述毒性小鼠模型的使用方法,如用于评价改良的或替代性免疫疗法,和/或用于评价测试剂,包括用以评估作为潜在干预以降低、预防或改善人受试者中针对免疫疗法的毒性的药剂和/或用于与免疫疗法例如CAR-T细胞疗法组合使用的药剂。

背景技术

[0006] 免疫疗法(如嵌合抗原受体(CAR)T细胞疗法)已经显示出治疗患有癌症的受试者的巨大希望,所述癌症包括复发性和难治性B细胞肿瘤,如急性成淋巴细胞性白血病、慢性淋巴细胞白血病和非霍奇金淋巴瘤。然而,虽然它们取得了成功,但是免疫疗法(如CAR-T细胞疗法)可能伴随不良作用和毒性,如细胞因子释放综合征和神经毒性。这些毒性的潜在机制还不完全清楚。需要另外的研究工具,例如体内毒性模型,以进一步理解和治疗与免疫疗法相关的毒性。

发明内容

[0007] 本文提供了产生免疫疗法相关毒性或免疫疗法相关毒性结果的小鼠模型的方法,所述方法包括:i)将淋巴细胞清除剂或疗法给予免疫活性小鼠,其中所述淋巴细胞清除剂或疗法不包括全身放射和/或不包括完全或基本上完全的免疫消融;和ii)随后向所述小鼠给予免疫疗法,其中所述免疫疗法结合至和/或识别在所述免疫活性小鼠的细胞或组织之上或之中表达的抗原。

[0008] 在任何所提供方法的某些实施方案中,所述抗原是在鼠类细胞上天然表达的抗

原，和/或所述抗原是细胞表面抗原，和/或所述免疫疗法结合至或识别所述抗原的细胞外表位。在任何所提供方法的一些实施方案中，所述细胞是鼠类细胞。在任何所提供方法的特定实施方案中，所述抗原是在循环细胞的表面上表达，或者所述细胞是循环细胞。在任何所提供方法的特定实施方案中，所述抗原是B细胞抗原，或者是在B细胞的表面上表达，或者其中所述细胞是鼠类B细胞。

[0009] 在任何所提供方法的某些实施方案中，所述免疫疗法是刺激或激活免疫细胞的药剂。在任何所提供方法的特定实施方案中，所述免疫疗法是T细胞接合疗法，任选地，其中所述T细胞接合疗法包括双特异性抗体，其中至少一个结合部分特异性地结合至T细胞抗原，任选地CD3。在任何所提供方法的一些实施方案中，所述T细胞接合疗法的氨基酸序列包含鼠类序列，和/或对所述小鼠无免疫原性。

[0010] 在任何所提供方法的特定实施方案中，所述免疫疗法包括细胞疗法，所述细胞疗法任选地包括表达重组受体的遗传工程化细胞的剂量或组合物。在任何所提供方法的特定实施方案中，所述工程化细胞包含从生物样品获得的细胞，所述生物样品来自所述免疫活性小鼠或来自与所述免疫活性小鼠属于相同品系或亚品系的小鼠。在任何所提供方法的某些实施方案中，所述生物样品包含脾细胞。在任何所提供方法的一些实施方案中，所述工程化细胞包含NK细胞或T细胞，任选地，其中所述T细胞是CD4+和/或CD8+T细胞。

[0011] 本文提供了产生免疫疗法相关毒性或免疫疗法相关毒性结果的小鼠模型的方法，所述方法包括：i)将淋巴细胞清除剂或疗法给予免疫活性小鼠，其中所述淋巴细胞清除剂或疗法不包括全身放射和/或不包括完全或基本上完全的免疫消融；和ii)随后向所述小鼠给予细胞疗法，所述细胞疗法包括表达重组受体的鼠类T细胞，所述重组受体结合至和/或识别在所述免疫活性小鼠的B细胞上表达的鼠类抗原。

[0012] 在任何所提供方法的特定实施方案中，所述重组受体是T细胞受体或功能性非T细胞受体。在任何所提供方法的特定实施方案中，所述重组受体是嵌合受体，任选地嵌合抗原受体(CAR)。在任何所提供方法的某些实施方案中，其中：所述重组受体的氨基酸序列是鼠类的；和/或所述嵌合受体的单独区域或结构域包含天然鼠类蛋白的区域或结构域和/或包含鼠类序列；和/或所述嵌合受体的单独区域或结构域对所述小鼠无免疫原性。在任何所提供方法的特定实施方案中，所述重组受体是嵌合抗原受体(CAR)，并且所述CAR包含特异性地结合至所述抗原的细胞外抗原结合结构域。在任何所提供方法的一些实施方案中，所述抗原结合结构域是抗体或抗原结合片段，其中所述抗原结合片段任选地是单链片段，任选地scFv。

[0013] 在任何所提供方法的特定实施方案中，所述CAR包含含有ITAM的细胞内信号传导结构域，其中任选地，所述细胞内信号传导结构域包含CD3-zeta(CD3ζ)链(任选地鼠类CD3-ζ)的细胞内结构域。在任何所提供方法的特定实施方案中，所述细胞内信号传导结构域进一步包含共刺激信号传导区，所述共刺激信号传导区任选地包含CD28或4-1BB(任选地鼠类CD28或鼠类4-1BB)的信号传导结构域。

[0014] 在任何所提供方法的某些实施方案中，所述抗原是或包含ROR1、B细胞成熟抗原(BCMA)、碳酸酐酶9(CAIX)、Her2/neu(受体酪氨酸激酶erbB2)、CD19、CD20、CD22、间皮素、CEA和乙型肝炎表面抗原、抗叶酸受体、CD23、CD24、CD30、CD33、CD38、CD44、EGFR、上皮糖蛋白2(EPG-2)、上皮糖蛋白40(EPG-40)、EPHa2、erb-B2、erb-B3、erb-B4、erbB二聚体、EGFR

vIII、叶酸结合蛋白(FBP)、FCRL5、FCRH5、胎儿乙酰胆碱受体、GD2、GD3、HMW-MAA、IL-22R-α、IL-13R-α2、激酶插入结构域受体(kdr)、κ轻链、路易斯Y、L1-细胞粘附分子(L1-CAM)、黑色素瘤相关抗原3(MAGE)-A1、MAGE-A3、MAGE-A6、优先表达的黑色素瘤抗原(PRAME)、存活蛋白、TAG72、B7-H6、IL-13受体α2(IL-13Ra2)、CA9、GD3、HMW-MAA、CD171、G250/CAIX、HLA-AI MAGE A1、HLA-A2、PSCA、叶酸受体-a、CD44v6、CD44v7/8、avb6整合素、8H9、NCAM、VEGF受体、5T4、胎儿AchR、NKG2D配体、CD44v6、双重抗原、癌症-睾丸抗原、间皮素、鼠类CMV、粘蛋白1(MUC1)、MUC16、PSCA、NKG2D、NY-ESO-1、MART-1、gp100、癌胚胎抗原(oncofetal antigen)、ROR1、TAG72、VEGF-R2、癌胚抗原(carcinoembryonic antigen)(CEA)、前列腺特异性抗原、PSMA、Her2/neu、雌激素受体、孕酮受体、肝配蛋白B2、CD123、c-Met、GD-2、O-乙酰化GD2(OGD2)、CE7、Wilms肿瘤1(WT-1)、细胞周期蛋白、细胞周期蛋白A2、CCL-1、CD138、和/或病原体特异性抗原。

[0015] 在任何所提供方法的一些实施方案中,所述抗原是B细胞成熟抗原(BCMA)、CD19、CD20、CD22、CD24、CD30、和/或CD38。在任何所提供方法的特定实施方案中,所述抗原是CD19。在任何所提供方法的特定实施方案中,其中:所述抗原是在给予所述小鼠的细胞上表达;和/或所述方法包括向所述免疫活性小鼠给予表达所述抗原的一种或多种细胞,任选地,其中所述抗原表达细胞是在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法之前给予。

[0016] 在任何所提供方法的某些实施方案中,所述抗原是在肿瘤和/或癌细胞之上或之中表达,和/或所述抗原表达细胞是肿瘤和/或癌细胞,并且其中:所述免疫活性小鼠包含所述肿瘤和/或癌细胞;和/或所述方法进一步包括任选地在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法之前,向所述免疫活性小鼠给予一种或多种癌细胞和/或肿瘤或肿瘤组织。在任何所提供方法的特定实施方案中,所述癌细胞和/或肿瘤与所述免疫活性小鼠属于相同物种和/或是小鼠细胞或小鼠肿瘤,任选地,其中所述抗原是在所述一种或多种癌细胞之上或之中(任选地在其表面上)表达和/或在所述肿瘤之上或之中表达。

[0017] 在任何所提供方法的一些实施方案中,所述一种或多种癌细胞和/或所述肿瘤包含癌性B细胞,任选地小鼠B细胞,和/或是B细胞衍生的。在任何所提供方法的特定实施方案中,所述小鼠含有和/或所述一种或多种癌细胞和/或肿瘤细胞包含L1210细胞、38C13细胞、BCL1细胞、A20细胞、4TOO细胞、B6自发模型细胞、CH44细胞、S11细胞、LY-ar细胞、LY-as细胞、Pi-BCL1细胞、38C13 Her2/neu细胞、Myc5-M5细胞、小鼠淋巴肉瘤细胞系细胞、由Bcl2细胞转染的FL5.12、38C13 CD20+细胞、A20.IIA-GFP/IIA1.6-GFP细胞、和/或LMycSN-p53无效细胞。

[0018] 在任何所提供方法的特定实施方案中,所述小鼠含有和/或所述一种或多种癌细胞或肿瘤细胞包含A20细胞。在任何所提供方法的某些实施方案中,所述免疫活性小鼠不包含或没有工程化以包含减少细胞因子应答的突变和/或不包含NLRP12基因中的突变,所述NLRP12基因中的所述突变任选地位于赖氨酸1034,任选地是K1034R。在任何所提供方法的一些实施方案中,所述免疫活性小鼠不是C57BL/6小鼠或其亚品系。在任何所提供方法的特定实施方案中,所述免疫活性小鼠不是C57BL/6J小鼠、C57BL/6JJcl小鼠、C57BL/6JJmsSlc小鼠、C57BL/6NJcl小鼠、C57BL/6NCrlCrlj小鼠、C57BL/6NTac小鼠或C57BL/6CrSlc小鼠,和/或不是前述任一种的亚品系。

[0019] 在任何所提供方法的特定实施方案中,在用抗原和任选地佐剂激发后,所述免疫

活性小鼠与被给予相同抗原的免疫活性C57BL/6小鼠相比，一种或多种细胞因子有所增加，任选地，其中所述一种或多种细胞因子是炎性细胞因子。在任何所提供方法的某些实施方案中，所述免疫活性小鼠是BALB/c小鼠或者是其亚品系。在任何所提供方法的特定实施方案中，所述BALB/c小鼠或其亚品系是BALB/cJ小鼠或BALB/cByJ小鼠。

[0020] 在任何所提供方法的某些实施方案中，在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法之后24小时或约24小时或24小时内，所述小鼠包含：i)与开始所述淋巴细胞清除剂或疗法之前相比，介于10％与95％之间、介于30％与85％之间、或介于约50％与75％之间的百分比的总循环淋巴细胞的耗尽；和/或ii)与开始所述淋巴细胞清除剂或疗法之前相比，介于10％与95％之间、介于30％与85％之间、或介于约50％与75％之间的百分比的循环T细胞的耗尽；和/或iii)与开始所述淋巴细胞清除剂或疗法之前相比，介于50％与99％之间、75％与99％之间、或75％与95％之间的百分比的循环B细胞的耗尽。在任何所提供方法的特定实施方案中，所述淋巴细胞清除剂或疗法包括化学治疗剂。

[0021] 在任何所提供方法的特定实施方案中，所述化学治疗剂包含以下中的一种或多种：毒素、烷化剂、DNA断链剂、拓扑异构酶II抑制剂、DNA小沟结合剂、抗代谢物、微管蛋白相互作用剂、孕激素、肾上腺皮质类固醇、促黄体激素释放剂拮抗剂、促性腺激素释放激素拮抗剂或抗激素抗原。

[0022] 在任何所提供方法的某些实施方案中，化学治疗剂包含以下中的一种或多种：环磷酰胺、苯丁酸氮芥、苯达莫司汀、异环磷酰胺、泼尼松、地塞米松、顺铂、卡铂、奥沙利铂、氟达拉滨、喷司他丁、克拉屈滨、阿糖胞苷、吉西他滨、甲氨蝶呤、普拉曲沙、长春新碱、多柔比星、米托蒽醌、依托泊苷、博来霉素或其组合。

[0023] 在任何所提供方法的特定实施方案中，所述化学治疗剂是或包含环磷酰胺。在任何所提供方法的特定实施方案中：所述淋巴细胞清除剂或疗法包括按以下剂量给予环磷酰胺：至少或至少约50mg/kg、至少或至少约100mg/kg、至少或至少约200mg/kg、至少或至少约250mg/kg、至少或至少约300mg/kg、至少或至少约400mg/kg、至少或至少约500mg/kg或至少或至少约750mg/kg或介于前述任何项之间的范围；或者所述淋巴细胞清除剂或疗法包括按以下剂量给予环磷酰胺：介于或介于约50mg/kg与750mg/kg之间、50mg/kg与500mg/kg之间、50mg/kg与250mg/kg之间、50mg/kg与100mg/kg之间、100mg/kg与750mg/kg之间、100mg/kg与500mg/kg之间、100mg/kg与250mg/kg之间、250mg/kg与750mg/kg之间、250mg/kg与500mg/kg之间或500mg/kg与750mg/kg之间，每个都包含端值。

[0024] 在任何所提供方法的一些实施方案中，所述淋巴细胞清除剂或疗法包括以250mg/kg或约250mg/kg的剂量给予环磷酰胺。在任何所提供方法的特定实施方案中，环磷酰胺的所述剂量是在开始给予所述免疫疗法之前一次给予。在任何所提供方法的某些实施方案中，腹膜内给予所述环磷酰胺。在任何所提供方法的特定实施方案中，所述细胞疗法先前没有被低温冷冻。在任何所提供方法的特定实施方案中，开始给予所述免疫疗法是在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法之后介于0.5小时与120小时之间进行。在任何所提供方法的一些实施方案中，开始给予所述免疫疗法是在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法之后介于12小时与48小时之间进行。

[0025] 在任何所提供方法的某些实施方案中，开始给予所述免疫疗法是在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法之后24小时或约24小时进行。在任何所提供方法的特定实施方案中，所

述细胞疗法包括给予从或从约1x 10^6至1x 10^8个总重组受体表达细胞或总T细胞。在任何所提供方法的特定实施方案中，所述细胞疗法包括给予至少或大约至少或为或为约5x 10^6个总重组受体表达细胞或总T细胞、1x 10^7个总重组受体表达细胞或总T细胞、或5x 10^7个总重组受体表达细胞或总T细胞。

[0026] 在任何所提供方法的一些实施方案中，所述方法产生毒性，所述毒性包括与以下相关或选自以下的一种或多种体征、症状或结果：增加的炎症，任选地全身炎症或神经炎症；一种或多种分子的改变的水平、量或表达或其比率，所述一种或多种分子任选地是细胞因子、趋化因子或生长因子，任选地炎性分子，任选地，其中所述分子是血清蛋白；一种或多种基因产物的改变的表达或其比率，任选地在组织中，任选地，其中所述组织是脑；改变的血液化学；组织损伤，任选地脑损伤；脑水肿；体重减轻；降低的体温；和/或改变的行为。在任何所提供方法的特定实施方案中，所述一种或多种体征、症状或结果是炎症或者与炎症相关，其中所述炎症包含任选地肝、肺、脾或脑的组织细胞肉芽肿性浸润。在任何所提供方法的某些实施方案中，所述一种或多种体征、症状或结果是血清中一种或多种分子的改变的水平、量或表达或其比率或者与所述改变的水平、量或表达或其比率相关，其中所述一种或多种分子是细胞因子、趋化因子或生长因子。

[0027] 在任何所提供方法的特定实施方案中，与给予所述淋巴细胞清除疗法和/或免疫疗法之前所述小鼠中所述分子的水平、量或表达相比，和/或与相同品系的初试小鼠中所述分子的平均水平、量或表达相比，和/或与相同品系的初试小鼠中所述分子的平均水平、量或表达相比，和/或与被给予非目标免疫疗法的小鼠中所述分子的水平、量或表达相比，所述分子的改变的水平、量或表达或其比率包括增加的水平、量或表达。在任何所提供方法的特定实施方案中，所述水平、量或表达增加至少1.2倍、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、5.0倍、10.0倍、20.0倍、30.0倍、40.0倍、50.0倍、60.0倍、70.0倍、80.0倍、90.0倍、100倍、125倍、150倍、200倍或更多。在任何所提供方法的一些实施方案中，所述一种或多种分子选自：IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-13、IL-21、IL-23、IP-10、KC/GRO、IL-16、IL-17A、EPO、IL-30、TNFα、IFNγ、MCP-1、MIP-1a、MIP-1b、GM-CSF和血管生成素-2。

[0028] 在一些实施方案中，在给予所述免疫疗法之后约或至少约1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、9小时、12小时、24小时、36小时、48小时、60小时、72小时、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天、21天、22天、23天、24天、25天、26天、27天、28天、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、11周、12周、13周、14周、15周或16周，观察到所述增加的水平、量或表达。

[0029] 在任何所提供方法的特定实施方案中，所述改变的水平、量或表达或其比率是或包含血清中改变的血管生成素-2与血管生成素-1的比率(Ang2:Ang1比率)，任选地，其中所述改变的比率是增加的比率。在一些实施方案中，与给予所述淋巴细胞清除疗法和/或免疫疗法之前所述小鼠中的Ang2:Ang1比率相比，和/或与相同品系的初试小鼠中的平均Ang2:Ang1比率相比，和/或与被给予非目标免疫疗法的小鼠中的Ang2:Ang1比率相比，所述Ang2:Ang1比率增加至少20％、至少30％、至少40％、至少50％、至少60％、至少70％、至少80％、至少90％、至少100％、至少150％、至少200％、至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍、至少50倍、至少100倍、至少500倍、至少1,000倍或至少5,000倍。

[0030] 在一些实施方案中，所述改变的水平、量或表达或其比率是或包含血清中血管生成素-2与血管生成素-1的以下比率(Ang2:Ang1比率)：至少1、至少2、至少3、至少4、至少5、至少10、至少15、至少20、至少25、至少30、至少40、至少50、至少100、至少500、至少1,000或至少5,000或更高。在一些实施方案中，在给予所述免疫疗法之后约或至少约1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、9小时、12小时、24小时、36小时、48小时、60小时、72小时、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天、21天、22天、23天、24天、25天、26天、27天、28天、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、11周、12周、13周、14周、15周或16周，观察到所述Ang2:Ang1比率。

[0031] 在任何所提供方法的某些实施方案中，与给予所述淋巴细胞清除疗法和/或免疫疗法之前所述小鼠中所述分子的水平、量或表达相比，和/或与相同品系的初试小鼠中所述分子的平均水平、量或表达相比，和/或与相同品系的初试小鼠中所述分子的平均水平、量或表达相比，和/或与被给予非目标免疫疗法的小鼠中所述分子的水平、量或表达相比，所述分子的改变的水平、量或表达或其比率包括降低的水平、量或表达。在任何所提供方法的特定实施方案中，所述水平、量或表达降低至少1.2倍、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、5.0倍、10.0倍、20.0倍、30.0倍、40.0倍、50.0倍、60.0倍、70.0倍、80.0倍、90.0倍、100倍、125倍、150倍、200倍或更多。在任何所提供方法的特定实施方案中，所述一种或多种分子选自：IL-9、VEGF、IL-17E/IL-25、IL-15、IL-22、MIP-3a和IL-12/IL-23p40。

[0032] 在一些实施方案中，在给予所述免疫疗法之后约或至少约1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、9小时、12小时、24小时、36小时、48小时、60小时、72小时、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天、21天、22天、23天、24天、25天、26天、27天、28天、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、11周、12周、13周、14周、15周或16周，观察到所述降低的水平、量或表达。

[0033] 在任何所提供方法的一些实施方案中，所述一种或多种体征、症状或结果是组织中一种或多种基因产物的改变的表达或其比率或者与所述改变的表达或其比率相关，其中所述组织是脑。在任何所提供方法的特定实施方案中，所述一种或多种基因产物是或包含多核苷酸或其部分，任选地，其中所述部分是所述多核苷酸的部分转录物。在任何所提供方法的某些实施方案中，所述多核苷酸是RNA，任选地，其中所述RNA是信使RNA(mRNA)。在任何所提供方法的特定实施方案中，通过聚合酶链式反应(PCR)、RNA印迹、DNA印迹、微阵列和/或测序技术测量所述一种或多种基因产物或其部分的表达。在任何所提供方法的特定实施方案中，通过逆转录酶PCR(rtPCR)和/或实时或定量PCR(qPCR)评估一种或多种基因产物或其部分的表达。在任何所提供方法的一些实施方案中，通过微阵列评估所述一种或多种基因产物或其部分的表达。

[0034] 在任何所提供方法的某些实施方案中，通过测序技术、任选地非Sanger测序技术和/或下一代测序技术评估所述一种或多种基因产物或其部分的表达。在任何所提供方法的特定实施方案中，通过大规模平行标记测序(MPSS)、离子半导体测序、焦磷酸测序、SOLiD测序、单分子实时(SMRT)测序和/或纳米孔DNA测序评估所述一种或多种基因产物或其部分的表达。在任何所提供方法的特定实施方案中，通过RNA测序(RNA-seq)评估所述一种或多种基因产物或其部分的表达。在任何所提供方法的一些实施方案中，所述一种或多种基因产物的表达增加，任选地增加至少1.2倍、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、5.0倍、10.0倍、20.0

倍、30.0倍、40.0倍、50.0倍、60.0倍、70.0倍、80.0倍、90.0倍、100倍、125倍、150倍、200倍或更多。

[0035] 在任何所提供方法的特定实施方案中，所述一种或多种基因产物与以下相关或参与以下：对细胞因子的应答、对干扰素β的应答、对干扰素β的细胞应答、抗原加工和呈递、对细胞形态发生的调节、对细胞因子刺激的细胞应答、先天免疫应答、对干扰素γ的应答、细胞连接组装、血管发生、对细胞投射组织化的调节、对神经元投射发育的调节、血管形态发生、对蛋白质修饰的调节、对神经递质受体活性的调节、对细胞形状的调节、对细胞组分大小的调节、对流体剪切应力的应答、细胞连接组织化、肌动蛋白丝组织化、胞吞作用、对干扰素γ的细胞应答、对谷氨酸受体信号传导途径的调节、对磷酸化的调节、对肽激素的应答、对细胞组分生物发生的调节、对细胞迁移的正向调节、或前述项的任何项的组合。在一些实施方案中，所述一种或多种基因产物与以下相关：病毒过程、多生物细胞过程、活性氧类、代谢过程、对蛋白质修饰过程的负向调节、对细胞粘附的正向调节、共生生物对宿主的粘附、细胞-基质粘附、侣伴蛋白介导的蛋白质折叠、肽基-酪氨酸修饰、趋性、对另一种生物体的防御应答、甾醇生物合成过程、对氮化合物的细胞应答或前述项的任何项的组合。

[0036] 在某些实施方案中，所述一种或多种基因产物选自：Acer2(碱性神经酰胺酶2)、Adipoq(脂联素)、Aif1(同种异体移植物炎性因子1)、Angpt1(血管生成素1)、Angpt14(血管生成素样4)、Angpt2(血管生成素2)、Aox1(醛氧化酶)、Aqp4(水通道蛋白-4)、Atf3(环AMP依赖性转录因子ATF-3)、Bnip3(BCL2/腺病毒E1B 19kDa蛋白相互作用蛋白3)、Ccl2(C-C基序趋化因子2)、CCL4(MIP-1b，C-C基序趋化因子4)、CD31(PECAM-1)、CD274、CD68、CIITA(II类反式激活因子)、CXCL1(KC，生长调节α蛋白)、CXCL10(IP-10)、CXCL11(I-TAC，C-X-C基序趋化因子11)、Edn1(内皮素-1)、Gbp2(鸟苷酸结合蛋白2)、Gbp4(鸟苷酸结合蛋白4)、Gdp5(鸟苷酸结合蛋白5)、Gdp9(鸟苷酸结合蛋白9)、GM-CSF、Gzmb(颗粒酶B)、HIF3a(缺氧诱导因子3α亚基)、ICAM-1(细胞间粘附分子1)、IL2ra(白细胞介素-2受体亚基α)、IL-4、IL-6、IL-13、Lrg1(富含亮氨酸的α-2-糖蛋白1)、Mgst3(微粒体谷胱甘肽S-转移酶3)、Mmrn2(多聚蛋白-2)、Ncf1(嗜中性粒细胞胞质溶胶因子1)、NLRC5(I类反式激活因子)、Nos3(一氧化氮合酶，内皮型)、Pdk4(丙酮酸脱氢酶激酶，同工酶4)、Pla2g3(3族分泌型磷脂酶A2前体)、Ptgs2(前列腺素G/H合酶2)、Pxdn(过氧蛋白同源物)、Scara3(清道夫受体A类成员3)、Sele(E-选择素)、Selp(P-选择素)、IL2ra、IL-13、Serpine 1、Sult1a1(磺基转移酶1A1)、Tgfb1(转化生长因子β-1)、Tgfb2(转化生长因子β2)、Tgfb3(转化生长因子β3)、Tgtp1(T细胞特异性鸟嘌呤核苷酸三磷酸结合蛋白1)、Tlr2(Toll样受体2)、Tlr4(toll样受体4)、TNF(肿瘤坏死因子)、VCAM-1(血管细胞粘附蛋白1)、Vwf(血管性血友病因子)或Xdh(黄嘌呤脱氢酶)。

[0037] 在某些实施方案中，所述一种或多种基因产物选自：Adipoq(脂联素)、Aif1(同种异体移植物炎性因子1)、Aqp4(水通道蛋白-4)、Ccl2(C-C基序趋化因子2)、CD68、Edn1(内皮素-1)、Serpine 1、Tgfb1(转化生长因子β-1)、Tgfb2(转化生长因子β2)、Tgfb3(转化生长因子β3)、Tlr2(Toll样受体2)、Tlr4(toll样受体4)、IL2ra、IL-13、Gzmb(颗粒酶B)、TNF、CXCL10(IP-10)、CCL2(MCP-1，C-C基序趋化因子2)、CXCL11(I-TAC，C-X-C基序趋化因子11)、CXCL1(KC，生长调节α蛋白)、CCL4(MIP-1b，C-C基序趋化因子4)、NLRC5(I类反式激活因子)或CIITA(II类反式激活因子)。

[0038] 在任何所提供方法的某些实施方案中，所述一种或多种基因产物与以下相关或参

与以下:免疫应答、血管发生、甾醇代谢过程、氧化应激、抗氧化防御、一氧化氮信号传导途径、细胞粘附或前述项的任何项的组合。在任何所提供方法的特定实施方案中,所述一种或多种基因产物选自:Gbp4、Gbp5、Gbp2、Gbp8、Angpt2、Angptl4、Hif3a、Lrg1、Mmrn2、Xdh、Acer2、Atf3、Pdk4、Pla2g3、Sult1a1、CD274(PD-L1)、Tgtp1、Vwf、Ncf1、Aox1、Bnip3、Pxdn、Scara3、Mgst3、Ptgs2、Nos3、VCAM-1、ICAM-1、E-选择素、P-选择素或CD31(PECAM-1)。在任何所提供方法的特定实施方案中,所述一种或多种基因产物的表达降低,任选地降低至少1.2倍、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、5.0倍、10.0倍、20.0倍、30.0倍、40.0倍、50.0倍、60.0倍、70.0倍、80.0倍、90.0倍、100倍、125倍、150倍、200倍或更多。在任何所提供方法的一些实施方案中,相关的一种或多种体征、症状或结果是改变的血液化学或者与改变的血液化学相关,并且所述改变的血液化学包括血清葡萄糖、血清白蛋白、总血清蛋白和/或血清钙水平的降低。

[0039] 在任何所提供方法的某些实施方案中,一种或多种体征、症状或结果是组织损伤或者与组织损伤相关,任选地,其中所述组织损伤包括所述组织的组织细胞肉芽肿性浸润、坏死、血管损伤和/或血管渗漏。在任何所提供方法的特定实施方案中,一种或多种体征、症状或结果是改变的行为或者与改变的行为相关,任选地,其中所述改变的行为包括食物摄入减少、水摄入减少、理毛行为减少和/或运动活动减少。

[0040] 本文提供了通过本文方法产生的小鼠模型。本文提供了小鼠模型,所述模型包含免疫活性小鼠,所述免疫活性小鼠包括:与相同品系的初试小鼠中一种或多种淋巴细胞群的平均数量相比,所述一种或多种淋巴细胞群的数量的部分耗尽;和免疫疗法,其中所述免疫疗法结合至和/或识别在所述免疫活性小鼠的细胞或组织之上或之中表达的抗原,任选地,其中所述免疫疗法对于所述免疫活性小鼠是外源的,任选地,其中所述免疫疗法是重组的或嵌合的。

[0041] 在任何所提供小鼠模型的特定实施方案中,所述部分耗尽不是永久的或者是短暂的,任选地,其中所述部分耗尽在给予淋巴细胞清除疗法或药剂之后存在超过14天、28天、45天、60天、3个月、6个月、1年或更久,任选地,其中所述淋巴细胞清除剂或疗法包括环磷酰胺。

[0042] 在任何所提供小鼠模型的一些实施方案中,所述小鼠包含:i)介于10%与95%之间、介于30%与85%之间、或介于约50%与75%之间的百分比的总循环淋巴细胞的耗尽;和/或ii)介于10%与95%之间、介于30%与85%之间、或介于约50%与75%之间的百分比的循环T细胞的耗尽;和/或iii)介于50%与99%之间、75%与99%之间、或75%与95%之间的百分比的循环B细胞的耗尽。

[0043] 在任何所提供小鼠模型的特定实施方案中,所述一种或多种淋巴细胞群的数量包含:介于或介于约0.1与1,000个之间的淋巴细胞/μl血液;介于0.1与1,000个之间的B细胞/μl血液;和/或介于0.1与100个之间的T细胞/μl血液。在任何所提供小鼠模型的某些实施方案中,所述抗原是在鼠类细胞上天然表达的抗原,和/或所述抗原是细胞表面抗原,和/或所述免疫疗法结合至或识别所述抗原的细胞外表位。

[0044] 在任何所提供小鼠模型的特定实施方案中,所述细胞是鼠类细胞。在任何所提供小鼠模型的特定实施方案中,所述抗原是在循环细胞的表面上表达,或者所述细胞是循环细胞。

[0045] 在任何所提供小鼠模型的一些实施方案中，所述抗原是B细胞抗原，或者是在B细胞的表面上表达，或者其中所述细胞是鼠类B细胞。在任何所提供小鼠模型的某些实施方案中，所述免疫疗法是刺激或激活免疫细胞的药剂。在任何所提供小鼠模型的特定实施方案中，所述免疫疗法是T细胞接合疗法，任选地，其中所述T细胞接合疗法包括双特异性抗体，其中至少一个结合部分特异性地结合至T细胞抗原，任选地CD3。在任何所提供小鼠模型的特定实施方案中，所述T细胞接合疗法的氨基酸序列包含鼠类序列，和/或对所述小鼠无免疫原性。在任何所提供小鼠模型的一些实施方案中，所述免疫疗法包括细胞疗法，所述细胞疗法任选地包括表达重组受体的遗传工程化细胞的剂量或组合物。

[0046] 在任何所提供小鼠模型的特定实施方案中，所述工程化细胞包含从生物样品获得的细胞，所述生物样品来自所述免疫活性小鼠或来自与所述免疫活性小鼠属于相同品系或亚品系的小鼠。在任何所提供小鼠模型的某些实施方案中，所述生物样品包含脾细胞。在任何所提供小鼠模型的特定实施方案中，所述工程化细胞包含NK细胞或T细胞，任选地，其中所述T细胞是CD4+和/或CD8+T细胞。

[0047] 在任何所提供小鼠模型的特定实施方案中，所述重组受体是T细胞受体或功能性非T细胞受体。在任何所提供小鼠模型的一些实施方案中，所述重组受体是嵌合受体，任选地嵌合抗原受体(CAR)。在任何所提供小鼠模型的某些实施方案中：所述重组受体的氨基酸序列是鼠类的；和/或所述嵌合受体的单独区域或结构域包含天然鼠类蛋白的区域或结构域和/或包含鼠类序列；和/或所述嵌合受体的单独区域或结构域对所述小鼠无免疫原性。

[0048] 在任何所提供小鼠模型的特定实施方案中，所述重组受体是嵌合抗原受体(CAR)，并且所述CAR包含特异性地结合至所述抗原的细胞外抗原结合结构域。在任何所提供小鼠模型的特定实施方案中，所述抗原结合结构域是抗体或抗原结合片段，其中所述抗原结合片段任选地是单链片段，任选地scFv。在任何所提供小鼠模型的一些实施方案中，所述CAR包含含有ITAM的细胞内信号传导结构域，其中任选地，所述细胞内信号传导结构域包含CD3-zeta(CD3ζ)链(任选地鼠类CD3-ζ)的细胞内结构域。在任何所提供小鼠模型的特定实施方案中，所述细胞内信号传导结构域进一步包含共刺激信号传导区，所述共刺激信号传导区任选地包含CD28或4-1BB(任选地鼠类CD28或鼠类4-1BB)的信号传导结构域。

[0049] 在任何所提供小鼠模型的某些实施方案中，所述抗原是或包含ROR1、B细胞成熟抗原(BCMA)、碳酸酐酶9(CAIX)、Her2/neu(受体酪氨酸激酶erbB2)、L1-CAM、CD19、CD20、CD22、间皮素、CEA和乙型肝炎表面抗原、抗叶酸受体、CD23、CD24、CD30、CD33、CD38、CD44、EGFR、上皮糖蛋白2(EPG-2)、上皮糖蛋白40(EPG-40)、EPHa2、erb-B2、erb-B3、erb-B4、erbB二聚体、EGFR vIII、叶酸结合蛋白(FBP)、FCRL5、FCRH5、胎儿乙酰胆碱受体、GD2、GD3、HMW-MAA、IL-22R-α、IL-13R-α2、激酶插入结构域受体(kdr)、κ轻链、路易斯Y、L1-细胞粘附分子(L1-CAM)、黑色素瘤相关抗原3(MAGE)-A1、MAGE-A3、MAGE-A6、优先表达的黑色素瘤抗原(PRAME)、存活蛋白、TAG72、B7-H6、IL-13受体α2(IL-13Ra2)、CA9、GD3、HMW-MAA、CD171、G250/CAIX、HLA-AI MAGE A1、HLA-A2NY-ESO-1、PSCA、叶酸受体-a、CD44v6、CD44v7/8、avb6整合素、8H9、NCAM、VEGF受体、5T4、胎儿AchR、NKG2D配体、CD44v6、双重抗原、癌症-睾丸抗原、间皮素、鼠类CMV、粘蛋白1(MUC1)、MUC16、PSCA、NKG2D、NY-ESO-1、MART-1、gp100、癌胚胎抗原(oncofetal antigen)、ROR1、TAG72、VEGF-R2、癌胚抗原(carcinoembryonic antigen)(CEA)、前列腺特异性抗原、PSMA、Her2/neu、雌激素受体、孕酮受体、肝配蛋白B2、CD123、c-

Met、GD-2、O-乙酰化GD2(OGD2)、CE7、Wilms肿瘤1(WT-1)、细胞周期蛋白、细胞周期蛋白A2、CCL-1、CD138、和/或病原体特异性抗原。

[0050] 在特定实施方案中,所述抗原是或包含αvβ6整合素(avb6整合素)、B细胞成熟抗原(BCMA)、B7-H3、B7-H6、碳酸酐酶9(CA9,也称为CAIX或G250)、癌症-睾丸抗原、癌症/睾丸抗原1B(CTAG,也称为NY-ESO-1和LAGE-2)、癌胚抗原(CEA)、细胞周期蛋白、细胞周期蛋白A2、C-C基序趋化因子配体1(CCL-1)、CD19、CD20、CD22、CD23、CD24、CD30、CD33、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD123、CD133、CD138、CD171、硫酸软骨素蛋白聚糖4(CSPG4)、表皮生长因子蛋白(EGFR)、III型表皮生长因子受体突变(EGFR vIII)、上皮糖蛋白2(EPG-2)、上皮糖蛋白40(EPG-40)、肝配蛋白B2、肝配蛋白受体A2(EPHa2)、雌激素受体、Fc受体样蛋白5(FCRL5;也称为Fc受体同源物5或FCRH5)、胎儿乙酰胆碱受体(胎儿AchR)、叶酸结合蛋白(FBP)、叶酸受体α、神经节苷脂GD2、O-乙酰化GD2(OGD2)、神经节苷脂GD3、糖蛋白100(gp100)、磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(GPC3)、G蛋白偶联受体5D(GPCR5D)、Her2/neu(受体酪氨酸激酶erb-B2)、Her3(erb-B3)、Her4(erb-B4)、erbB二聚体、人高分子量黑色素瘤相关抗原(HMW-MAA)、乙型肝炎表面抗原、人白细胞抗原A1(HLA-A1)、人白细胞抗原A2(HLA-A2)、IL-22受体α(IL-22Rα)、IL-13受体α2(IL-13Rα2)、激酶插入结构域受体(kdr)、κ轻链、L1细胞粘附分子(L1-CAM)、L1-CAM的CE7表位、含有富亮氨酸重复序列的蛋白8家族成员A(LRRC8A)、路易斯Y、黑色素瘤相关抗原(MAGE)-A1、MAGE-A3、MAGE-A6、MAGE-A10、间皮素(MSLN)、c-Met、鼠类巨细胞病毒(CMV)、粘蛋白1(MUC1)、MUC16、自然杀伤细胞2族成员D(NKG2D)配体、黑色素A(MART-1)、神经细胞粘附分子(NCAM)、癌胚胎抗原、优先表达的黑色素瘤抗原(PRAME)、孕酮受体、前列腺特异性抗原、前列腺干细胞抗原(PSCA)、前列腺特异性膜抗原(PSMA)、受体酪氨酸激酶样孤儿受体1(ROR1)、存活蛋白、滋养层糖蛋白(TPBG,也称为5T4)、肿瘤相关糖蛋白72(TAG72)、酪氨酸酶相关蛋白1(TRP1,也称为TYRP1或gp75)、酪氨酸酶相关蛋白2(TRP2,也称为多巴色素互变异构酶、多巴色素δ异构酶或DCT)、血管内皮生长因子受体(VEGFR)、血管内皮生长因子受体2(VEGFR2)、Wilms肿瘤1(WT-1)、病原体特异性或病原体表达的抗原、或与通用标签相关的抗原、和/或生物素化分子、和/或由HIV、HCV、HBV或其他病原体表达的分子。所述受体靶向的抗原在一些实施方案中包括与B细胞恶性肿瘤相关的抗原,如多种已知B细胞标记中的任一种。在一些实施方案中,所述抗原是或包括CD20、CD19、CD22、ROR1、CD45、CD21、CD5、CD33、Igκ、Igλ、CD79a、CD79b或CD30。在一些实施方案中,所述抗原是人抗原。在某些实施方案中,所述抗原是小鼠抗原。

[0051] 在一些实施方案中,所述抗原是或包括病原体特异性抗原或病原体表达的抗原。在一些实施方案中,所述抗原是病毒抗原(如来自HIV、HCV、HBV等的病毒抗原)、细菌抗原和/或寄生虫抗原。

[0052] 在任何所提供小鼠模型的特定实施方案中,所述抗原是B细胞成熟抗原(BCMA)、CD19、CD20、CD22、CD24、CD30、和/或CD38。在任何所提供小鼠模型的特定实施方案中,所述抗原是CD19。在任何所提供小鼠模型的一些实施方案中,所述小鼠包含表达所述抗原的一种或多种外源细胞。在任何所提供小鼠模型的某些实施方案中,所述外源抗原表达细胞包含肿瘤和/或癌细胞。在任何所提供小鼠模型的特定实施方案中,所述癌细胞和/或肿瘤与所述免疫活性小鼠属于相同物种和/或是小鼠细胞或小鼠肿瘤,任选地,其中所述抗原是在所述一种或多种癌细胞之上或之中(任选地在其表面上)表达和/或在所述肿瘤之上或之中

表达。

[0053] 在任何所提供小鼠模型的特定实施方案中，所述一种或多种癌细胞和/或所述肿瘤细胞包含癌性B细胞，任选地小鼠B细胞，和/或是B细胞衍生的。在任何所提供小鼠模型的一些实施方案中，所述一种或多种癌细胞和/或肿瘤细胞包含L1210细胞、38C13细胞、BCL1细胞、A20细胞、4TOO细胞、B6自发模型细胞、CH44细胞、S11细胞、LY-ar细胞、LY-as细胞、Pi-BCL1细胞、38C13 Her2/neu细胞、Myc5-M5细胞、小鼠淋巴肉瘤细胞系细胞、由Bcl2细胞转染的FL5.12、38C13 CD20+细胞、A20.IIA-GFP/IIA1.6-GFP细胞、和/或LMycSN-p53无效细胞。在任何所提供小鼠模型的特定实施方案中，所述一种或多种癌细胞和/或肿瘤细胞包含A20细胞。

[0054] 在任何所提供小鼠模型的某些实施方案中，所述免疫活性小鼠不包含或没有工程化以包含减少细胞因子应答的突变和/或不包含NLRP12基因中的突变，NLRP12基因中的所述突变任选地位于赖氨酸1034，任选地是K1034R。在任何所提供小鼠模型的特定实施方案中，所述免疫活性小鼠不是C57BL/6小鼠或其亚品系。在任何所提供小鼠模型的特定实施方案中，所述免疫活性小鼠不是C57BL/6J小鼠、C57BL/6JJcl小鼠、C57BL/6JJmsSlc小鼠、C57BL/6NJcl小鼠、C57BL/6NCrlCrlj小鼠、C57BL/6NTac小鼠或C57BL/6CrSlc小鼠，和/或不是前述任一种的亚品系。

[0055] 在任何所提供小鼠模型的一些实施方案中，在用抗原和任选地佐剂激发后，所述免疫活性小鼠与被给予相同抗原的免疫活性C57BL/6小鼠相比，一种或多种细胞因子有所增加，任选地，其中所述一种或多种细胞因子是炎性细胞因子。在任何所提供小鼠模型的某些实施方案中，所述免疫活性小鼠是BALB/c小鼠或者是其亚品系。在任何所提供小鼠模型的特定实施方案中，所述BALB/c小鼠或其亚品系是BALB/cJ小鼠或BALB/cByJ小鼠。

[0056] 在任何所提供小鼠模型的特定实施方案中，所述免疫活性小鼠展现与毒性相关和/或选自以下的一种或多种体征、症状或结果：增加的炎症，任选地全身炎症或神经炎症；一种或多种分子的改变的水平、量或表达或其比率，所述一种或多种分子任选地是细胞因子、趋化因子或生长因子，任选地炎性分子，任选地，其中所述分子是血清蛋白；一种或多种基因产物的改变的表达或其比率，任选地在组织中，任选地，其中所述组织是脑；改变的血液化学；组织损伤，任选地脑损伤；脑水肿；体重减轻；降低的体温；和/或改变的行为。

[0057] 在任何所提供小鼠模型的一些实施方案中，所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是炎症或者与炎症相关，其中所述炎症包含任选地肝、肺、脾或脑的组织细胞肉芽肿性浸润。在任何所提供小鼠模型的特定实施方案中，所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是血清中一种或多种分子的改变的水平、量或表达或其比率或者与所述改变的水平、量或表达或其比率相关，其中所述一种或多种分子是细胞因子、趋化因子或生长因子。在任何所提供小鼠模型的某些实施方案中，与相同品系的初试小鼠中所述分子的平均水平、量或表达相比，和/或与被给予非目标免疫疗法的小鼠中所述分子的水平、量或表达相比，所述分子的改变的水平、量或表达或其比率包括增加的水平、量或表达。

[0058] 在任何所提供小鼠模型的特定实施方案中，水平、量或表达增加至少1.2倍、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、5.0倍、10.0倍、20.0倍、30.0倍、40.0倍、50.0倍、60.0倍、70.0倍、80.0倍、90.0倍、100倍、125倍、150倍、200倍或更多。在任何所提供小鼠模型的特定实施方案中，所述一种或多种分子选自：IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-13、IL-21、IL-23、IP-

10、KC/GRO、IL-16、IL-17A、EPO、IL-30、TNFα、IFNγ、MCP-1、MIP-1a、MIP-1b、GM-CSF和血管生成素-2。

[0059] 在一些实施方案中，在给予所述免疫疗法之后约或至少约1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、9小时、12小时、24小时、36小时、48小时、60小时、72小时、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天、21天、22天、23天、24天、25天、26天、27天、28天、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、11周、12周、13周、14周、15周或16周，观察到所述增加的水平、量或表达。

[0060] 在任何所提供方法的特定实施方案中，所述改变的水平、量或表达或其比率是或包含血清中改变的血管生成素-2与血管生成素-1的比率(Ang2:Ang1比率)，任选地，其中所述改变的比率是增加的比率。在一些实施方案中，与给予所述淋巴细胞清除疗法和/或免疫疗法之前所述小鼠中的Ang2:Ang1比率相比，和/或与相同品系的初试小鼠中的平均Ang2:Ang1比率相比，和/或与被给予非目标免疫疗法的小鼠中的Ang2:Ang1比率相比，所述Ang2:Ang1比率增加至少20％、至少30％、至少40％、至少50％、至少60％、至少70％、至少80％、至少90％、至少100％、至少150％、至少200％、至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍、至少50倍、至少100倍、至少500倍、至少1,000倍或至少5,000倍。

[0061] 在一些实施方案中，所述改变的水平、量或表达或其比率是或包含血清中血管生成素-2与血管生成素-1的以下比率(Ang2:Ang1比率)：至少1、至少2、至少3、至少4、至少5、至少10、至少15、至少20、至少25、至少30、至少40、至少50、至少100、至少500、至少1,000或至少5,000或更高。在一些实施方案中，在给予所述免疫疗法之后约或至少约1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、9小时、12小时、24小时、36小时、48小时、60小时、72小时、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天、21天、22天、23天、24天、25天、26天、27天、28天、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、11周、12周、13周、14周、15周或16周，观察到所述Ang2:Ang1比率。

[0062] 在任何所提供小鼠模型的一些实施方案中，与相同品系的初试小鼠中所述分子的平均水平、量或表达相比，和/或与被给予非目标免疫疗法的小鼠中所述分子的水平、量或表达相比，所述分子的改变的水平、量或表达或其比率包括降低的水平、量或表达。

[0063] 在任何所提供小鼠模型的某些实施方案中，所述水平、量或表达降低至少1.2倍、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、5.0倍、10.0倍、20.0倍、30.0倍、40.0倍、50.0倍、60.0倍、70.0倍、80.0倍、90.0倍、100倍、125倍、150倍、200倍或更多。在任何所提供小鼠模型的特定实施方案中，所述一种或多种分子选自：IL-9、VEGF、IL-17E/IL-25、IL-15、IL-22、MIP-3a和IL-12/IL-23p40。在一些实施方案中，在给予所述免疫疗法之后约或至少约1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、9小时、12小时、24小时、36小时、48小时、60小时、72小时、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天、21天、22天、23天、24天、25天、26天、27天、28天、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、11周、12周、13周、14周、15周或16周，观察到所述降低的水平、量或表达。

[0064] 在任何所提供小鼠模型的特定实施方案中，所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是组织中一种或多种基因产物的改变的表达或其比率或者与所述改变的表达或其比率相关，其中所述组织是脑。在任何所提供小鼠模型的一些实施方案中，所述一种或

多种基因产物是或包含多核苷酸或其部分，任选地，其中所述部分是所述多核苷酸的部分转录物。

[0065] 在任何所提供小鼠模型的特定实施方案中，所述多核苷酸是RNA，任选地，其中所述RNA是信使RNA(mRNA)。在任何所提供小鼠模型的某些实施方案中，通过聚合酶链式反应(PCR)、RNA印迹、DNA印迹、微阵列和/或测序技术确定所述一种或多种基因产物或其部分的表达。在任何所提供小鼠模型的特定实施方案中，通过逆转录酶PCR(rtPCR)和/或实时或定量PCR(qPCR)确定一种或多种基因产物或其部分的表达。在任何所提供小鼠模型的特定实施方案中，通过微阵列确定所述一种或多种基因产物或其部分的表达。

[0066] 在任何所提供小鼠模型的一些实施方案中，通过测序技术、任选地非Sanger测序技术和/或下一代测序技术确定所述一种或多种基因产物或其部分的表达。在任何所提供小鼠模型的某些实施方案中，通过大规模平行标记测序(MPSS)、离子半导体测序、焦磷酸测序、SOLiD测序、单分子实时(SMRT)测序和/或纳米孔DNA测序评估所述一种或多种基因产物或其部分的表达。在任何所提供小鼠模型的特定实施方案中，通过RNA测序(RNA-seq)评估所述一种或多种基因产物或其部分的表达。在任何所提供小鼠模型的特定实施方案中，所述一种或多种基因产物的表达增加，任选地增加至少1.2倍、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、5.0倍、10.0倍、20.0倍、30.0倍、40.0倍、50.0倍、60.0倍、70.0倍、80.0倍、90.0倍、100倍、125倍、150倍、200倍或更多。

[0067] 在特定实施方案中，所述一种或多种基因产物与以下相关或参与以下，其中所述一种或多种基因产物与以下相关或参与以下：病毒过程、多生物细胞过程、活性氧类代谢过程、对蛋白质修饰过程的负向调节、对细胞粘附的正向调节、共生生物对宿主的粘附、细胞-基质粘附、侣伴蛋白介导的蛋白质折叠、肽基-酪氨酸修饰、趋性、对其他生物体的防御应答、甾醇生物合成过程、对氮化合物的细胞应答。

[0068] 在任何所提供小鼠模型的一些实施方案中，所述一种或多种基因产物与以下相关或参与以下：对细胞因子的应答、对干扰素β的应答、对干扰素β的细胞应答、抗原加工和呈递、对细胞形态发生的调节、对细胞因子刺激的细胞应答、先天免疫应答、对干扰素γ的应答、细胞连接组装、血管发生、对细胞投射组织化的调节、对神经元投射发育的调节、血管形态发生、对蛋白质修饰的调节、对神经递质受体活性的调节、对细胞形状的调节、对细胞组分大小的调节、对流体剪切应力的应答、细胞连接组织化、肌动蛋白丝组织化、胞吞作用、对干扰素γ的细胞应答、对谷氨酸受体信号传导途径的调节、对磷酸化的调节、对肽激素的应答、对细胞组分生物发生的调节、对细胞迁移的正向调节、病毒过程、多生物细胞过程、活性氧类代谢过程、对蛋白质修饰过程的负向调节、对细胞粘附的正向调节、共生生物对宿主的粘附、细胞-基质粘附、侣伴蛋白介导的蛋白质折叠、肽基-酪氨酸修饰、趋性、对其他生物体的防御应答、甾醇生物合成过程、对氮化合物的细胞应答或前述项的任何项的组合。

[0069] 在任何所提供小鼠模型的特定实施方案中，所述一种或多种基因产物与以下相关或参与以下：免疫应答、血管发生、甾醇代谢过程、氧化应激、抗氧化防御、一氧化氮信号传导途径、细胞粘附或前述项的任何项的组合。

[0070] 在任何所提供方法的某些实施方案中，所述一种或多种基因产物选自：Gbp4、Gbp5、Gbp2、Gbp8、Angpt2、Angptl4、Hif3a、Lrg1、Mmrn2、Xdh、Acer2、Atf3、Pdk4、Pla2g3、Sult1a1、CD274(PD-L1)、Tgtp1、Vwf、Ncf1、Aox1、Bnip3、Pxdn、Scara3、Mgst3、Ptgs2、Nos3、

VCAM-1、ICAM-1、E-选择素、P-选择素或CD31。在任何所提供小鼠模型的特定实施方案中，所述一种或多种基因产物的表达降低，任选地降低至少1.2倍、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、5.0倍、10.0倍、20.0倍、30.0倍、40.0倍、50.0倍、60.0倍、70.0倍、80.0倍、90.0倍、100倍、125倍、150倍、200倍或更多。在任何所提供小鼠模型的特定实施方案中，所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是改变的血液化学或者与改变的血液化学相关，并且所述改变的血液化学包括血清葡萄糖、血清白蛋白、总血清蛋白和/或血清钙水平的降低。

[0071] 在任何所提供小鼠模型的一些实施方案中，所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是组织损伤或者与组织损伤相关，任选地，其中所述组织损伤包括所述组织的组织细胞肉芽肿性浸润、坏死、血管损伤和/或血管渗漏。在任何所提供小鼠模型的某些实施方案中，所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是改变的行为或者与改变的行为相关，任选地，其中所述改变的行为包括食物摄入减少、水摄入减少、理毛行为减少和/或运动活动减少。在特定方面中，提供组织样品，所述组织样品是从通过本文所提供方法产生的小鼠获得的。

[0072] 在所提供组织的特定实施方案中，所述组织样品是或包含血液、血清、脑组织、肝组织、肺组织、肾组织和/或脾组织。在所提供组织的一些实施方案中，所述组织样品是或包含脑组织。

[0073] 本文提供了鉴定和/或评估药剂的一种或多种作用的方法，所述方法包括：i)将淋巴细胞清除剂或疗法和免疫疗法给予免疫活性小鼠以产生毒性和/或与毒性结果或副作用相关或指示毒性结果或副作用的一种或多种体征、症状或结果；ii)将测试剂任选地以所述测试剂的测试剂量方案或频率给予所述免疫活性小鼠；和iii)评估所述小鼠中的毒性和/或一种或多种体征、症状或结果。

[0074] 在所提供方法的特定实施方案中，所述测试剂是在开始给予所述淋巴细胞清除剂或疗法和/或开始给予所述免疫疗法之前、在开始给予所述淋巴细胞清除剂或疗法和/或开始给予所述免疫疗法之后、或与开始给予所述淋巴细胞清除剂或疗法和/或开始给予所述免疫疗法相伴随和/或与开始给予所述淋巴细胞清除剂或疗法和/或开始给予所述免疫疗法同时给予。在所提供方法的某些实施方案中，所述测试剂是在开始给予所述淋巴细胞清除剂或疗法和/或开始给予所述免疫疗法之前给予。

[0075] 在所提供方法的特定实施方案中，所述方法进一步包括：iv)将所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果与对照小鼠相比较，所述对照小鼠已被给予所述淋巴细胞清除剂或疗法和所述免疫疗法但未给予所述测试剂，其中所述对照小鼠是免疫活性的。

[0076] 本文提供了鉴定和/或评估药剂的一种或多种作用的方法，所述方法包括：i)将测试剂任选地以所述测试剂的测试剂量方案或频率给予免疫活性小鼠，所述免疫活性小鼠先前已被给予淋巴细胞清除剂或疗法和免疫疗法，其中所述免疫活性小鼠展现毒性和/或与毒性结果或副作用相关或指示毒性结果或副作用的一种或多种体征、症状或结果；和ii)评估所述小鼠中的所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果。在所提供方法的特定实施方案中，所述免疫活性小鼠是通过本文所提供方法产生的小鼠，或者是本文所提供的任何免疫活性小鼠或任何小鼠模型。

[0077] 在所提供方法的一些实施方案中，所述方法进一步包括：iii)将所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果与对照小鼠相比较，所述对照小鼠已被给予所述淋巴细胞

清除剂或疗法和所述免疫疗法但未给予所述测试剂，其中所述对照小鼠是免疫活性的。在所提供方法的某些实施方案中，所述测试剂是在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法和/或所述免疫疗法之后给予。

[0078] 在所提供方法的特定实施方案中，所述测试剂的所述测试剂量方案用于评估：用于给予的所述测试剂的特定或预定量或浓度和/或用于给予的所述药剂的给药频率是否改变所述小鼠中的所述毒性和/或一种或多种所述体征、症状或结果。在所提供方法的特定实施方案中，所述测试剂包含小分子、小有机化合物、肽、多肽、抗体或其抗原结合片段、非肽化合物、合成化合物、发酵产物、细胞提取物、多核苷酸、寡核苷酸、RNAi、siRNA、shRNA、多价siRNA、miRNA和/或病毒。在所提供方法的一些实施方案中，所述测试剂、任选地所述测试剂的测试剂量方案是用于改善所述毒性和/或所述体征、症状或结果的候选者。

[0079] 在所提供方法的特定实施方案中，如果在所述测试剂、任选地所述测试剂的测试剂量方案的存在下，所述比较指示所述毒性和/或所述体征、症状或结果发生改变，任选地降低，则将所述测试剂鉴定为用于改善针对所述免疫疗法的毒性或者可能或被预测改善针对所述免疫疗法的毒性的药剂。在所提供方法的某些实施方案中，所述测试剂、任选地所述测试剂的测试剂量方案是与所述细胞疗法组合使用的药剂，任选地，其中所述药剂会改进或可能会改进所述细胞疗法的活性、功效、存活和/或持久性，或者是用以改进所述细胞疗法的活性、功效、存活和/或持久性的候选者。在所提供方法的特定实施方案中，如果在所述测试剂、任选地所述测试剂的测试剂量方案的存在下，所述比较指示所述毒性和/或所述体征、症状或结果发生改变，任选地增加，则将所述测试剂或测试剂量方案鉴定为加重针对所述免疫疗法的毒性或者可能或被预测加重针对所述免疫疗法的毒性。

[0080] 在所提供方法的特定实施方案中，所述毒性包括和/或与所述毒性相关的所述一种或多种体征、症状或结果选自：增加的炎症，任选地全身炎症或神经炎症；一种或多种分子的改变的水平、量或表达或其比率，所述一种或多种分子任选地是细胞因子、趋化因子或生长因子，任选地炎性分子，任选地，其中所述分子是血清蛋白；一种或多种基因产物的改变的表达或其比率，任选地在组织中，任选地，其中所述组织是脑；改变的血液化学；组织损伤，任选地脑损伤；脑水肿；体重减轻；降低的体温；和/或改变的行为。在所提供方法的某些实施方案中，所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是炎症或者与炎症相关，其中所述炎症包含任选地肝、肺、脾或脑的组织细胞肉芽肿性浸润。

[0081] 在所提供方法的特定实施方案中，所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是血清中一种或多种分子的改变的水平、量或表达或其比率或者与所述改变的水平、量或表达或其比率相关，其中所述一种或多种分子是细胞因子、趋化因子或生长因子。在所提供方法的特定实施方案中，所述一种或多种分子选自：IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-13、IL-21、IL-23、IP-10、KC/GRO、IL-16、IL-17A、EPO、IL-30、TNFα、IFNγ、MCP-1、MIP-1a、MIP-1b、GM-CSF和血管生成素-2。在所提供方法的一些实施方案中，所述一种或多种分子选自：IL-9、VEGF、IL-17E/IL-25、IL-15、IL-22、MIP-3a和IL-12/IL-23p40。

[0082] 在所提供小鼠模型的某些实施方案中，所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是组织中一种或多种基因产物的改变的表达或其比率或者与所述改变的表达或其比率相关，其中所述组织是脑。在所提供方法的特定实施方案中，所述一种或多种基因产物是或包含多核苷酸或其部分，任选地，其中所述部分是所述多核苷酸的部分转录物。在所提

供方法的一些实施方案中，所述多核苷酸是RNA，任选地，其中所述RNA是信使RNA(mRNA)。在所提供方法的某些实施方案中，所述一种或多种基因产物与以下相关或参与以下：对细胞因子的应答、对干扰素β的应答、对干扰素β的细胞应答、抗原加工和呈递、对细胞形态发生的调节、对细胞因子刺激的细胞应答、先天免疫应答、对干扰素γ的应答、细胞连接组装、血管发生、对细胞投射组织化的调节、对神经元投射发育的调节、血管形态发生、对蛋白质修饰的调节、对神经递质受体活性的调节、对细胞形状的调节、对细胞组分大小的调节、对流体剪切应力的应答、细胞连接组织化、肌动蛋白丝组织化、胞吞作用、对干扰素γ的细胞应答、对谷氨酸受体信号传导途径的调节、对磷酸化的调节、对肽激素的应答、对细胞组分生物发生的调节、对细胞迁移的正向调节、病毒过程、多生物细胞过程、活性氧类代谢过程、对蛋白质修饰过程的负向调节、对细胞粘附的正向调节、共生生物对宿主的粘附、细胞-基质粘附、侣伴蛋白介导的蛋白质折叠、肽基-酪氨酸修饰、趋性、对其他生物体的防御应答、甾醇生物合成过程、对氮化合物的细胞应答或前述项的任何项的组合。

[0083] 在所提供方法的特定实施方案中，所述一种或多种基因产物与以下相关或参与以下：免疫应答、血管发生、甾醇代谢过程、氧化应激、抗氧化防御、一氧化氮信号传导途径、细胞粘附或前述项的任何项的组合。在所提供方法的一些实施方案中，所述一种或多种基因产物选自：Gbp4、Gbp5、Gbp2、Gbp8、Angpt2、Angptl4、Hif3a、Lrg1、Mmrn2、Xdh、Acer2、Atf3、Pdk4、Pla2g3、Sult1a1、CD274(PD-L1)、Tgtp1、Vwf、Ncf1、Aox1、Bnip3、Pxdn、Scara3、Mgst3、Ptgs2、Nos3、VCAM-1、ICAM-1、E-选择素、P-选择素或CD31。

[0084] 在所提供方法的某些实施方案中，所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是改变的血液化学或者与改变的血液化学相关，并且所述改变的血液化学包括血清葡萄糖、血清白蛋白、总血清蛋白和/或血清钙水平的降低。在所提供方法的特定实施方案中，所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是组织损伤或者与组织损伤相关，任选地，其中所述组织损伤包括所述组织的组织细胞肉芽肿性浸润、坏死、血管损伤和/或血管渗漏。在所提供方法的一些实施方案中，所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是改变的行为或者与改变的行为相关，任选地，其中所述改变的行为包括食物摄入减少、水摄入减少、理毛行为减少和/或运动活动减少。

[0085] 在所提供方法的某些实施方案中，评估所述小鼠中的所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是通过聚合酶链式反应(PCR)、RNA印迹、DNA印迹、微阵列、测序技术、免疫测定、流式细胞术、组织化学、监测体重、监测体温和/或观察身体、表型和/或行为变化或特征来确定。在所提供方法的特定实施方案中，通过RNA测序(RNA-seq)评估所述一种或多种基因产物或其部分的表达。在所提供方法的一些实施方案中，所述淋巴细胞清除剂或疗法不包括全身放射和/或不包括完全或基本上完全的免疫消融。

[0086] 在所提供方法的某些实施方案中，所述免疫疗法结合至和/或识别在所述免疫活性小鼠的细胞或组织之上或之中表达的抗原。在所提供方法的特定实施方案中，所述抗原是在鼠类细胞上天然表达的抗原，和/或所述抗原是细胞表面抗原，和/或所述免疫疗法结合至或识别所述抗原的细胞外表位。在所提供方法的一些实施方案中，所述细胞是鼠类细胞。在所提供方法的某些实施方案中，所述抗原是在循环细胞的表面上表达，或者所述细胞是循环细胞。

[0087] 在所提供方法的特定实施方案中，所述抗原是B细胞抗原，或者是在B细胞的表面

上表达，或者其中所述细胞是鼠类B细胞。在所提供方法的一些实施方案中，所述免疫疗法是刺激或激活免疫细胞的药剂。在所提供方法的某些实施方案中，所述免疫疗法是T细胞接合疗法，任选地，其中所述T细胞接合疗法包括双特异性抗体，其中至少一个结合部分特异性地结合至T细胞抗原，任选地CD3。在所提供方法的特定实施方案中，所述T细胞接合疗法的氨基酸序列包含鼠类序列，和/或对所述小鼠无免疫原性。

[0088] 在所提供方法的一些实施方案中，所述免疫疗法包括细胞疗法，所述细胞疗法任选地包括表达重组受体的遗传工程化细胞的剂量或组合物。在所提供方法的某些实施方案中，所述工程化细胞包含从生物样品获得的细胞，所述生物样品来自所述免疫活性小鼠或来自与所述免疫活性小鼠属于相同品系或亚品系的小鼠。

[0089] 在所提供方法的特定实施方案中，所述生物样品包含脾细胞。在所提供方法的某些实施方案中，所述工程化细胞包含NK细胞或T细胞，任选地，其中所述T细胞是CD4+和/或CD8+T细胞。在所提供方法的一些实施方案中，所述重组受体是T细胞受体或功能性非T细胞受体。

[0090] 在所提供方法的特定实施方案中，所述重组受体是嵌合受体，任选地嵌合抗原受体(CAR)。在所提供方法的某些实施方案中：所述重组受体的氨基酸序列是鼠类的；和/或所述嵌合受体的单独区域或结构域包含天然鼠类蛋白的区域或结构域和/或包含鼠类序列；和/或所述嵌合受体的单独区域或结构域对所述小鼠无免疫原性。在所提供方法的一些实施方案中，所述重组受体是嵌合抗原受体(CAR)，并且所述CAR包含特异性地结合至所述抗原的细胞外抗原结合结构域。

[0091] 在所提供方法的特定实施方案中，所述抗原结合结构域是抗体或抗原结合片段，其中所述抗原结合片段任选地是单链片段，任选地scFv。在所提供方法的某些实施方案中，所述CAR包含含有ITAM的细胞内信号传导结构域，其中任选地，所述细胞内信号传导结构域包含CD3-zeta(CD3ζ)链(任选地鼠类CD3-ζ)的细胞内结构域。在所提供方法的一些实施方案中，所述细胞内信号传导结构域进一步包含共刺激信号传导区，所述共刺激信号传导区任选地包含CD28或4-1BB(任选地鼠类CD28或鼠类4-1BB)的信号传导结构域。

[0092] 在所提供方法的特定实施方案中，所述抗原是或包含ROR1、B细胞成熟抗原(BCMA)、碳酸酐酶9(CAIX)、Her2/neu(受体酪氨酸激酶erbB2)、L1-CAM、CD19、CD20、CD22、间皮素、CEA和乙型肝炎表面抗原、抗叶酸受体、CD23、CD24、CD30、CD33、CD38、CD44、EGFR、上皮糖蛋白2(EPG-2)、上皮糖蛋白40(EPG-40)、EPHa2、erb-B2、erb-B3、erb-B4、erbB二聚体、EGFR vIII、叶酸结合蛋白(FBP)、FCRL5、FCRH5、胎儿乙酰胆碱受体、GD2、GD3、HMW-MAA、IL-22R-α、IL-13R-α2、激酶插入结构域受体(kdr)、κ轻链、路易斯Y、L1-细胞粘附分子(L1-CAM)、黑色素瘤相关抗原3(MAGE)-A1、MAGE-A3、MAGE-A6、优先表达的黑色素瘤抗原(PRAME)、存活蛋白、TAG72、B7-H6、IL-13受体α2(IL-13Ra2)、CA9、GD3、HMW-MAA、CD171、G250/CAIX、HLA-AI MAGE A1、HLA-A2NY-ESO-1、PSCA、叶酸受体-a、CD44v6、CD44v7/8、avb6整合素、8H9、NCAM、VEGF受体、5T4、胎儿AchR、NKG2D配体、CD44v6、双重抗原、癌症-睾丸抗原、间皮素、鼠类CMV、粘蛋白1(MUC1)、MUC16、PSCA、NKG2D、NY-ESO-1、MART-1、gp100、癌胚胎抗原(oncofetal antigen)、ROR1、TAG72、VEGF-R2、癌胚抗原(carcinoembryonic antigen)(CEA)、前列腺特异性抗原、PSMA、Her2/neu、雌激素受体、孕酮受体、肝配蛋白B2、CD123、c-Met、GD-2、O-乙酰化GD2(OGD2)、CE7、Wilms肿瘤1(WT-1)、细胞周期蛋白、细胞周期蛋白A2、

CCL-1、CD138、和/或病原体特异性抗原。

[0093] 在所提供方法的某些实施方案中，所述抗原是B细胞成熟抗原(BCMA)、CD19、CD20、CD22、CD24、CD30、和/或CD38。在所提供方法的一些实施方案中，所述抗原是CD19。在所提供方法的特定实施方案中：所述抗原是在给予所述小鼠的细胞上表达；和/或所述方法包括向所述免疫活性小鼠给予表达所述抗原的一种或多种细胞，任选地，其中所述抗原表达细胞是在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法之前给予。在所提供方法的某些实施方案中，所述抗原是在肿瘤和/或癌细胞之上或之中表达，和/或所述抗原表达细胞是肿瘤和/或癌细胞，并且其中：所述免疫活性小鼠包含所述肿瘤和/或癌细胞；和/或所述方法进一步包括任选地在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法之前，向所述免疫活性小鼠给予一种或多种癌细胞和/或肿瘤或肿瘤组织。

[0094] 在所提供方法的一些实施方案中，所述癌细胞和/或肿瘤与所述免疫活性小鼠属于相同物种和/或是小鼠细胞或小鼠肿瘤，任选地，其中所述抗原是在所述一种或多种癌细胞之上或之中(任选地在其表面上)表达和/或在所述肿瘤之上或之中表达。在所提供方法的特定实施方案中，所述一种或多种癌细胞和/或所述肿瘤包含癌性B细胞，任选地小鼠B细胞，和/或是B细胞衍生的。在所提供方法的某些实施方案中，所述小鼠含有和/或所述一种或多种癌细胞和/或肿瘤细胞包含L1210细胞、38C13细胞、BCL1细胞、A20细胞、4TOO细胞、B6自发模型细胞、CH44细胞、S11细胞、LY-ar细胞、LY-as细胞、Pi-BCL1细胞、38C13 Her2/neu细胞、Myc5-M5细胞、小鼠淋巴肉瘤细胞系细胞、由Bcl2细胞转染的FL5.12、38C13 CD20+细胞、A20.IIA-GFP/IIA1.6-GFP细胞、和/或LMycSN-p53无效细胞。

[0095] 在所提供方法的一些实施方案中，所述小鼠含有和/或所述一种或多种癌细胞或肿瘤细胞包含A20细胞。在所提供方法的特定实施方案中，所述免疫活性小鼠不包含或没有工程化以包含减少细胞因子应答的突变和/或不包含NLRP12基因中的突变，NLRP12基因中的所述突变任选地位于赖氨酸1034，任选地是K1034R。在所提供方法的某些实施方案中，所述免疫活性小鼠不是C57BL/6小鼠或其亚品系。在所提供方法的一些实施方案中，所述免疫活性小鼠不是C57BL/6J小鼠、C57BL/6JJcl小鼠、C57BL/6JJmsSlc小鼠、C57BL/6NJcl小鼠、C57BL/6NCrlCrlj小鼠、C57BL/6NTac小鼠或C57BL/6CrSlc小鼠，和/或不是前述任一种的亚品系。

[0096] 在所提供方法的特定实施方案中，在用抗原和任选地佐剂激发后，所述免疫活性小鼠与被给予相同抗原的免疫活性C57BL/6小鼠相比，一种或多种细胞因子有所增加，任选地，其中所述一种或多种细胞因子是炎性细胞因子。在所提供方法的某些实施方案中，所述免疫活性小鼠是BALB/c小鼠或者是其亚品系。在所提供方法的一些实施方案中，所述BALB/c小鼠或其亚品系是BALB/cJ小鼠或BALB/cByJ小鼠。在所提供方法的特定实施方案中，所述淋巴细胞清除剂或疗法包括化学治疗剂。在所提供方法的某些实施方案中，所述化学治疗剂包含以下中的一种或多种：毒素、烷化剂、DNA断链剂、拓扑异构酶II抑制剂、DNA小沟结合剂、抗代谢物、微管蛋白相互作用剂、孕激素、肾上腺皮质类固醇、促黄体激素释放剂拮抗剂、促性腺激素释放激素拮抗剂或抗激素抗原。在所提供方法的特定实施方案中，化学治疗剂包含以下中的一种或多种：环磷酰胺、苯丁酸氮芥、苯达莫司汀、异环磷酰胺、泼尼松、地塞米松、顺铂、卡铂、奥沙利铂、氟达拉滨、喷司他丁、克拉屈滨、阿糖胞苷、吉西他滨、甲氨蝶呤、普拉曲沙、长春新碱、多柔比星、米托蒽醌、依托泊苷、博来霉素或其组合。在所提供方法

的某些实施方案中，所述化学治疗剂是或包含环磷酰胺。

[0097] 在所提供方法的一些实施方案中：所述淋巴细胞清除剂或疗法包括按以下剂量给予环磷酰胺：至少或至少约50mg/kg、至少或至少约100mg/kg、至少或至少约200mg/kg、至少或至少约250mg/kg、至少或至少约300mg/kg、至少或至少约400mg/kg、至少或至少约500mg/kg或至少或至少约750mg/kg或介于前述任何项之间的范围；或者所述淋巴细胞清除剂或疗法包括按以下剂量给予环磷酰胺：介于或介于约50mg/kg与750mg/kg之间、50mg/kg与500mg/kg之间、50mg/kg与250mg/kg之间、50mg/kg与100mg/kg之间、100mg/kg与750mg/kg之间、100mg/kg与500mg/kg之间、100mg/kg与250mg/kg之间、250mg/kg与750mg/kg之间、250mg/kg与500mg/kg之间或500mg/kg与750mg/kg之间，每个都包含端值。

[0098] 在所提供方法的特定实施方案中，所述淋巴细胞清除剂或疗法包括以250mg/kg或约250mg/kg的剂量给予环磷酰胺。在所提供方法的某些实施方案中，环磷酰胺的所述剂量是在开始给予所述免疫疗法之前一次给予。在所提供方法的一些实施方案中，腹膜内给予所述环磷酰胺。在所提供方法的特定实施方案中，开始给予所述免疫疗法是在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法之后介于0.5小时与120小时之间进行。在所提供方法的某些实施方案中，开始给予所述免疫疗法是在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法之后介于12小时与48小时之间进行。在所提供方法的一些实施方案中，开始给予所述免疫疗法是在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法之后24小时或约24小时进行。在所提供方法的特定实施方案中，所述细胞疗法包括给予从或从约$1x\ 10^6$至$1x\ 10^8$个总重组受体表达细胞或总T细胞。在所提供方法的特定实施方案中，所述细胞疗法包括给予至少或大约至少或为或为约$5x\ 10^6$个总重组受体表达细胞或总T细胞、$10x\ 10^6$个总重组受体表达细胞或总T细胞、或$50x\ 10^6$个总重组受体表达细胞或总T细胞。

[0099] 在一些实施方案中，所述抗原是B细胞抗原，或者是在B细胞的表面上表达，或者其中所述细胞是鼠类B细胞。在某些实施方案中，所述抗原是在给予所述小鼠的细胞上表达。在各个实施方案中，表达所述抗原的所述细胞是肿瘤细胞。在一些实施方案中，在开始给予所述淋巴细胞清除剂或疗法或所述免疫疗法之前给予表达所述抗原的所述细胞。

[0100] 本文提供了产生免疫疗法相关毒性或免疫疗法相关毒性结果的小鼠模型的方法，所述方法包括：i)向免疫活性小鼠给予表达抗原的肿瘤细胞；ii)在给予所述肿瘤细胞后，将淋巴细胞清除剂或疗法给予所述免疫活性小鼠，其中所述淋巴细胞清除剂或疗法不包括全身放射和/或不包括完全或基本上完全的免疫消融；和iii)随后向所述小鼠给予免疫疗法，其中所述免疫疗法结合至和/或识别在所述肿瘤细胞上表达的所述抗原。

[0101] 本文提供了产生免疫疗法相关毒性或免疫疗法相关毒性结果的小鼠模型的方法，所述方法包括：i)将淋巴细胞清除剂或疗法给予包含表达抗原的肿瘤细胞的免疫活性小鼠，任选地，其中所述肿瘤细胞是在开始给予所述淋巴细胞清除剂或疗法之前已被给予所述小鼠，其中所述淋巴细胞清除剂或疗法不包括全身放射和/或不包括完全或基本上完全的免疫消融；和ii)随后向所述小鼠给予免疫疗法，其中所述免疫疗法结合至和/或识别在所述肿瘤细胞上表达的所述抗原。

[0102] 在某些实施方案中，以足以在所述小鼠中形成肿瘤的量给予所述肿瘤细胞。在各个实施方案中，在所述小鼠中的肿瘤负荷包含以下之后的一个时间，将所述淋巴细胞清除剂或疗法和/或所述免疫疗法给予所述小鼠：直径大于或大于约或为约5mm、大于或大于约

或为约10mm、大于或大于约或为约15mm，任选地5mm至15mm或10mm至15mm的肿瘤大小；和/或大于或大于约或为约60mm^3、大于或大于约或为约70mm^3、大于或大于约或为约80mm^3、大于或大于约或为约90mm^3或大于或大于约或为约100mm^3的肿瘤体积。在一些实施方案中，所述肿瘤细胞是在开始给予所述淋巴细胞清除剂或疗法或所述免疫疗法之前介于或介于约7天与28天之间、14天与21天之间、或17天与19天之间给予，每个都包含端值。在某些实施方案中，所述肿瘤细胞是在给予所述免疫疗法之前17天、18天或19天或约17天、约18天或约19天给予。在各个实施方案中，所述肿瘤细胞是在给予所述免疫疗法之前27天或约27天给予。肿瘤细胞是B细胞癌细胞系。

[0103] 在一些实施方案中，所述B细胞癌细胞系选自L1210细胞、38C13细胞、BCL1细胞、A20细胞、4TOO细胞、B6自发模型细胞、CH44细胞、S11细胞、LY-ar细胞、LY-as细胞、Pi-BCL1细胞、38C13 Her2/neu细胞、Myc5-M5细胞、小鼠淋巴肉瘤细胞系细胞、由Bcl2细胞转染的FL5.12、38C13 CD20+细胞、A20.IIA-GFP/IIA1.6-GFP细胞、和/或LMycSN-p53无效细胞或其组合。

[0104] 在某些实施方案中，所述B细胞癌细胞系包含A20细胞。在各个实施方案中，所述细胞疗法包括表达重组受体的鼠类T细胞，所述重组受体结合至和/或识别在所述免疫活性小鼠的B细胞上表达的鼠类抗原。在一些实施方案中，所述细胞疗法包括给予介于或介于约5x 10^6与约5x 10^7个之间的总重组受体表达细胞或总T细胞。

[0105] 本文提供了小鼠模型，所述小鼠模型包含免疫活性小鼠，所述免疫活性小鼠包含：与相同品系的初试小鼠中一种或多种淋巴细胞群的平均数量相比，所述一种或多种淋巴细胞群的数量的部分耗尽；免疫疗法，其中所述免疫疗法结合至和/或识别抗原，其中所述免疫疗法对于所述免疫活性小鼠是外源的，任选地，其中所述免疫疗法是重组的或嵌合的；和包含所述抗原的肿瘤细胞，任选地，其中所述抗原是在所述肿瘤细胞表面上表达。

[0106] 在各个实施方案中，所述B细胞癌细胞系选自L1210细胞、38C13细胞、BCL1细胞、A20细胞、4TOO细胞、B6自发模型细胞、CH44细胞、S11细胞、LY-ar细胞、LY-as细胞、Pi-BCL1细胞、38C13 Her2/neu细胞、Myc5-M5细胞、小鼠淋巴肉瘤细胞系细胞、由Bcl2细胞转染的FL5.12、38C13 CD20+细胞、A20.IIA-GFP/IIA1.6-GFP细胞、和/或LMycSN-p53无效细胞。在一些实施方案中，所述B细胞癌细胞系包含A20细胞。

[0107] 在某些实施方案中，所述免疫疗法包括细胞疗法，所述细胞疗法包括表达重组受体的遗传工程化细胞。在各个实施方案中，所述工程化细胞包含从生物样品获得的细胞，所述生物样品来自所述免疫活性小鼠或来自与所述免疫活性小鼠属于相同品系或亚品系的小鼠。在一些实施方案中，所述生物样品包含脾细胞。在某些实施方案中，所述细胞疗法包括表达重组受体的鼠类T细胞，所述重组受体结合至和/或识别在所述免疫活性小鼠的B细胞上表达的鼠类抗原。在各个实施方案中，所述重组受体是T细胞受体或功能性非T细胞受体。在一些实施方案中，所述重组受体是嵌合受体，任选地嵌合抗原受体(CAR)。在某些实施方案中，所述抗原是B细胞成熟抗原(BCMA)、CD19、CD20、CD22、CD24、CD30、和/或CD38。在各个实施方案中，所述抗原是CD19。

附图说明

[0108] 图1A-图1D显示如下的图，其展示被给予100mg/kg腹膜内环磷酰胺(100mpk CPA)

或250mg/kg腹膜内环磷酰胺(250mpk CPA)和含有表达抗小鼠CD19嵌合抗原受体的细胞的细胞组合物(CD19 CAR-T)或不含CAR表达细胞的细胞组合物(模拟)的小鼠中循环细胞的量。图1A显示100mpk CPA+CD19 CAR-T和100mpk CPA+CD19 CAR-T治疗组中循环Thy1.1+细胞的水平(指示CAR表达)。显示接受以下治疗的小鼠中B细胞(图1B)、T细胞(图1C)和CD11b+细胞(图1D)的循环水平:100mpk CPA;100mpk CPA+CD19 CAR-T;250mpk CPA;250mpk CPA+模拟;和250mpk CPA+CD19 CAR。

[0109] 图2A-图2V显示初试小鼠和接受以下治疗的小鼠中循环细胞因子的水平:250mg/kg腹膜内CPA(250mpk CPA)、250mg/kg腹膜内CPA和模拟细胞组合物(CPA+模拟)、以及250mg/kg腹膜内CPA和含有表达抗小鼠CD19嵌合抗原受体的T细胞的T细胞组合物(CPA+CAR-T)。显示以下的循环水平:IL-2(图2A)、IL-4(图2B)、IL-5(图2C)、GM-CSF(图2D)、IFN-γ(图2E)、TNF-α(图2F)、IL-10(图2G)、MIP-1b(图2H)、MCP-1(图2I)、IL-6(图2J)、血管生成素-2(图2K)、EPO(图2L)、IL-12p70(图2M)、IL-13(图2N)、IL-15(图2O)、IL-17E/IL-25(图2P)、IL-21(图2Q)、IL-23(图2R)、IL-30(图2S)、IP-10(图2T)、KC/GRO(图2U)和MIP-1a(图2V)。

[0110] 图2W显示初试小鼠和接受以下治疗的小鼠中的循环IL-6水平:250mg/kg腹膜内环磷酰胺(CPA)、250mg/kg腹膜内CPA和24小时后的抗小鼠CD19 CAR表达T细胞(CPA+muCD19 CAR-T)或250mg/kg腹膜内CPA和24小时后的非靶标对照抗人CD19 CAR+T细胞(CPA+对照CAR-T)细胞。在输注CAR T细胞后第2天、第5天和第6天确定血清IL-6水平。

[0111] 图2X显示初试小鼠和接受以下治疗的小鼠中的血清血管生成素-2:血管生成素-1比率(Ang2:Ang1比率):250mg/kg腹膜内环磷酰胺(CPA)、250mg/kg腹膜内CPA和24小时后的抗小鼠CD19 CAR表达T细胞(CPA+muCD19 CAR-T)或250mg/kg腹膜内CPA和24小时后的非靶标对照抗人CD19 CAR+T细胞(CPA+对照CAR-T)细胞。在输注CAR T细胞后第2天、第5天和第6天确定血清血管生成素-2和血管生成素-1水平。

[0112] 图3A-图3G显示如下的图,其展示在用所述细胞治疗后24小时、48小时或72小时,如通过流式细胞术所评估,初试小鼠或用以下治疗的小鼠的血液中循环细胞的水平:250mg/kg腹膜内CPA(仅250mpk CPA)、250mg/kg腹膜内CPA和模拟细胞组合物(CPA+模拟)、以及250mg/kg腹膜内CPA和含有表达抗小鼠CD19嵌合抗原受体的T细胞的T细胞组合物的5x 10^6个细胞(CPA+5e6 muCD19 CAR-T)。显示总活CD45+细胞(图3A)、CD11b+细胞(图3B)、T细胞(图3C)、B细胞(图3D)和CAR-T(Thy1.1+;图3E)细胞的循环水平。还显示循环CD4+与CD8+CAR-T细胞的比率(图3F)和总T细胞(图3G)。沿X轴显示在24小时、48小时和72小时时间点通过双因素ANOVA比较CPA+模拟与CPA+CAR-T治疗的小鼠的统计学分析的结果:ns=不显著;*=$p<0.05$;**=$p<0.01$;***=$p<0.001$;****=$p<0.0001$。

[0113] 图4A-图4H展示在用所述细胞治疗后24小时、48小时或72小时,初试小鼠或用以下治疗的小鼠中的细胞水平:250mg/kg腹膜内CPA(CPA)、250mg/kg腹膜内CPA和模拟细胞组合物(CPA+模拟)、以及250mg/kg腹膜内CPA和含有表达抗小鼠CD19嵌合抗原受体的T细胞的T细胞组合物(CPA+CAR-T)。图4A显示流式细胞术图,其展示Thy1.2+门控T细胞(Y轴)和Thy1.1(CAR+)X轴。显示对于初试小鼠(左列)以及用CPA+模拟(中列)和CPA+CAR-T(右列)治疗的小鼠,从血液(顶行)、脾(中行)和脑(底行)分离的细胞的结果。显示如下的图,其展示从单独小鼠的脑分离的CAR-T(Thy1.1+)细胞(图4B)、T细胞(图4D)、B细胞(图4F)、总CD45+

活细胞(图4G)和CD11b+细胞(图4H)的水平。图4C和图4E显示如下的图,其展示呈CD4阳性的CAR-T细胞(图4C)和总T细胞(图4E)的百分比。沿X轴显示在24小时、48小时和72小时时间点通过双因素ANOVA比较CPA+模拟与CPA+CAR-T治疗的小鼠的统计学分析的结果:ns＝不显著;*＝p<0.05;**＝p<0.01;***＝p<0.001;****＝p<0.0001。

[0114] 图5A和图5B显示对初试(0h)或用以下治疗的小鼠的脑的RNA测序(RNA-seq)分析的结果:250mg/kg腹膜内CPA(CPA)、250mg/kg腹膜内CPA和模拟细胞组合物(CPA+模拟T)、以及250mg/kg腹膜内CPA和抗小鼠CD19 CAR-T细胞组合物(CPA+CAR-T)。在用所述细胞治疗后24小时、48小时或72小时收集脑。图5A显示脑中通过RNA-seq检测的转录物的比对,所述转录物编码抗小鼠CD19 CAR的scFv区。图5B显示如下的图,其展示编码抗小鼠CD19嵌合抗原受体(CAR)的scFv区的转录物的水平,表示为转录物/百万(TPM)。

[0115] 图6A和图6B显示RNA-Seq分析的结果。图6A显示热图,其描绘来自初试小鼠或用以下治疗的小鼠的脑中的基因表达:250mg/kg腹膜内CPA(仅CPA)、250mg/kg腹膜内CPA和模拟细胞组合物(CPA+模拟)、或250mg/kg腹膜内CPA和抗小鼠CD19 CAR T-细胞组合物(CY+CAR-T)。标度指示log10Q值。图6B显示对RNA-seq基因表达分析的结果进行的本体富集分析的概述。列出在小鼠脑组织中检测的具有最大量的差异表达基因的三十个基因本体种类,所述小鼠用250mg/kg腹膜内CPA和含有表达抗小鼠CD19 CAR的T细胞的T细胞组合物治疗。显示每个种类中检测的差异表达基因的量(在3,558个总差异表达基因中)、每个种类中检测的基因的量(在17,589个总检测基因中)、富集倍数和富集ω值。

[0116] 图7A-图7P显示如下的图,其展示RNA测序(RNA-seq)分析的结果。显示来自用以下治疗的小鼠的脑的单独基因的表达:250mg/kg腹膜内CPA(CPA)、250mg/kg腹膜内CPA和模拟细胞组合物(CPA+模拟)、以及250mg/kg腹膜内CPA和抗小鼠CD19 CAR T-细胞组合物(CPA+CAR-T),所述脑是在给予细胞后24小时、48小时和72小时收集。将所述基因表达针对从初试小鼠收集的脑中的基因表达进行归一化,并展示为转录物/百万(TPM)。显示来自不同种类的示例性基因。图7A和图7B显示示例性粘附分子基因VCAM-1、ICAM-1、Sele(E-选择素)、SELP(P-选择素)和CD31的表达。图7C和图7D显示示例性免疫应答基因GBP2、GBP4、GBP5和GBP9的表达。图7E-图7G显示示例性血管发生基因Angpt2、Angpl4、Hif3a、Lrg1、Mmrn2和Xdh的表达。图7H-图7J显示示例性甾醇代谢过程基因Acer2、Atf3、Pdk4、Pla2g3和Sult1a1的表达。图7K-7M显示示例性氧化应激和抗氧化防御基因Ncf1、Aox1、Bnip3、Pxdn、Scara3、Mgst3和Ptgs2的表达。图7N和图7O显示示例性一氧化氮信号传导途径基因Ncf1、Nos3和Scara3的表达。图7P显示示例性细胞因子编码基因IL-4、IL-6和GM-CSF的表达水平。

[0117] 图8显示如下的图,其展示RNA测序(RNA-seq)分析的结果。显示来自用以下治疗的小鼠的脑的单独基因的表达:250mg/kg腹膜内CPA(CPA)、250mg/kg腹膜内CPA和模拟细胞组合物(CPA+模拟)、以及250mg/kg腹膜内CPA和抗小鼠CD19 CAR T-细胞组合物(CPA+CAR-T),所述脑是在给予细胞后24小时、48小时和72小时收集。将所述基因表达针对从初试小鼠收集的脑中的基因表达进行归一化,并展示为TPM。显示CD274(PD-L1)、Tgtp1和Vwf的表达。

[0118] 图9A-图9D显示如下的图,其展示从初试小鼠和用以下治疗的小鼠收集的在给予细胞后24小时、48小时、72小时和5天获取的血清样品的血清化学分析的结果:250mg/kg腹膜内CPA(CPA)、250mg/kg腹膜内CPA和模拟细胞组合物(CPA+模拟)、以及250mg/kg腹膜内CPA和含有表达抗小鼠CD19嵌合抗原受体的T细胞的T细胞组合物(CPA+CAR-T)。图11A-图

11D显示血清葡萄糖(图9A)、血清白蛋白(图9B)和血清钙(图9D)的水平以及白蛋白与球蛋白的血清比率(图9C)。显示统计学比较:*＝p<0.05;**＝p<0.01;***＝p<0.001;****＝p<0.0001。

[0119] 图10显示如下的图,其展示初试小鼠(无Tx)和用以下治疗的小鼠的体重变化:CPA(250mg/kg CPA)、CPA和模拟细胞组合物(250mg/kg CPA+模拟CAR-T)、以及CPA和含有表达抗小鼠CD19 CAR的T细胞的T细胞组合物(250mg/kg CPA+CAR-T)。在CPA治疗时(第0天)以及在CPA治疗后第1-4天测量体重。

[0120] 图11A-图11C展示来自初试小鼠和用以下治疗的小鼠的组织的组织病理学分析的结果:250mg/kg腹膜内CPA(CPA)、250mg/kg腹膜内CPA和模拟细胞组合物(CPA+模拟)、以及250mg/kg腹膜内CPA和含有表达抗小鼠CD19嵌合抗原受体的T细胞的T细胞组合物(CPA+CAR-T)。显示在肝(图11A)、肺(图11B)和脾(图11C)中观察到的组织细胞肉芽肿性浸润的严重程度的得分。

[0121] 图12显示如下的图,其展示体重变化。上图展示初试小鼠和用以下治疗的小鼠的体重变化:CPA和模拟细胞组合物(CPA+模拟)、以及CPA和抗小鼠CD19 CAR-T细胞组合物(CPA+CAR-T)。下图显示初试小鼠和被给予以下的小鼠的体重变化:A20细胞(A20);A20细胞和CPA(A20+CPA);A20细胞、CPA和模拟细胞组合物(A20+CPA+模拟);以及A20细胞、CPA和抗小鼠CD19 CAR-T细胞组合物(A20+CPA+CAR-T)。

[0122] 图13A-图13D显示如下的图,其展示脾的组织病理学分析的结果,所述脾是在给予细胞后3天和6天从以下小鼠收集:初试小鼠,和用CPA和模拟细胞组合物(CPA+模拟);CPA和抗小鼠CD19 CAR-T细胞组合物(CPA+CAR-T)治疗的小鼠,以及被给予以下的小鼠:A20细胞(A20);A20细胞和CPA(A20+CPA);A20细胞、CPA和模拟细胞组合物(A20+CPA+模拟);以及CPA和抗小鼠CD19 CAR-T细胞组合物(A20+CPA+CAR-T)。针对以下的严重程度对脾进行评级:淋巴耗尽(图13A)、髓外造血(图13B)、纤维化(图13C)和组织细胞肉芽肿性浸润(图13D)。

[0123] 图14A和图14B显示如下的图,其展示肝的组织病理学分析的结果,所述肝是在给予细胞后3天和6天从以下小鼠收集:初试小鼠,和用CPA和模拟细胞组合物(CPA+模拟);CPA和抗小鼠CD19 CAR-T细胞组合物(CPA+CAR-T)治疗的小鼠,以及被给予以下的小鼠:A20细胞(A20);A20细胞和CPA(A20+CPA);A20细胞、CPA和模拟细胞组合物(A20+CPA+模拟);以及CPA和抗小鼠CD19 CAR-T细胞组合物(A20+CPA+CAR-T)。针对以下对肝进行评级:髓外造血(图14A)和组织细胞/肉芽肿性浸润(图14B)。

[0124] 图15A和图15B显示如下的图,其展示脾(图15A)和肝(图15B)的肿瘤块,所述肿瘤块是在给予细胞后3天和6天从以下小鼠收集:初试小鼠,何用CPA和模拟细胞组合物(CPA+模拟);CPA和抗小鼠CD19 CAR-T细胞组合物(CPA+CAR-T)治疗的小鼠,以及被给予以下的小鼠:A20细胞(A20);A20细胞和CPA(A20+CPA);A20细胞、CPA和模拟细胞组合物(A20+CPA+模拟);以及CPA和抗小鼠CD19 CAR-T细胞组合物(A20+CPA+CAR-T)。

[0125] 图16A-图16C显示如下的图,其展示初试小鼠和用以下治疗的小鼠的体重(图16A)、体温(图16B)和脑含水量(图16C)的变化:CPA、CPA和对照抗人CD19 CAR-T细胞组合物的10^7个细胞(CPA+10e6对照CAR-T)、以及CPA和抗小鼠CD19 CAR-T细胞组合物的10^7个细胞(CPA+10e6 muCD19 CAR-T)。在CPA治疗时(第-1天)、在给予细胞时(第0天)和在细胞治疗后第1-5天测量体重。

[0126] 图17显示如下的图，其展示在荷载A20肿瘤细胞的小鼠的脑组织中检测到的IL-4、IL-6和CM-CSF蛋白的量，所述小鼠接受以下：无治疗、用环磷酰胺治疗(仅cy)、用环磷酰胺和抗人CD19 CAR-T细胞治疗(cy+对照CAR-T)、或用环磷酰胺和抗小鼠CD19 CAR-T细胞治疗(cy+muCD19 CAR-T)。

[0127] 图18A-图18K提供如下的图，其展示在注射A20肿瘤细胞的小鼠中在CAR-T细胞注射后的不同时间点收集的血清中细胞因子的浓度，所述小鼠接受以下：无治疗(仅A20肿瘤)、用环磷酰胺和抗人CD 19CAR-T细胞治疗(+Cy+对照CAR-T)、或用环磷酰胺和抗小鼠CD19 CAR-T细胞治疗(+Cy+muCD19 CAR-T)。显示在CAR-T细胞注射后0天与5天之间检测到的IFN-γ(图18A)、TNF-α(图18B)、GM-CSF(图18C)、IL-2(图18D)、IL4(图18E)、IL-5(图18F)、IL-6(图18G)、IL-10(图18H)、MIP-1b(图18I)和MCP-1(图18J)的浓度。在CAR-T细胞注射后2天和5天在血清中检测到的血管生成素2与血管生成素1的浓度比率显示于图18K中。

[0128] 图19A-图19N展示如下的图，其描绘RNA-Seq分析的结果。

[0129] 图19A提供热图，其展示来自荷载A20肿瘤的小鼠的灌注脑组织的样品按照所有稳定表达基因(>5TPM)进行的样品聚类，所述小鼠接受以下：无治疗(A20肿瘤无Tx)、用环磷酰胺和抗人CD19 CAR-T细胞治疗(+Cy+对照CAR-T)、或用环磷酰胺和抗小鼠CD19 CAR-T细胞治疗(+Cy+mCD19 CAR-T)。标度指示log10 Q值。

[0130] 图19B提供概述本体富集分析的表格和图。列出在小鼠脑组织中检测的具有最大量的差异表达基因的二十个基因GO种类，对所述小鼠用A20肿瘤细胞注射并用250mg/kg腹膜内环磷酰胺和含有表达抗小鼠CD19 CAR的T细胞的T细胞组合物治疗。显示每个种类中检测的差异表达基因的量(在1,822个总差异表达基因中)、每个种类中检测的基因的量(在17,783个总检测基因中)和富集Q值。

[0131] 图19C显示热图，其描绘荷载A20肿瘤的小鼠的脑中与炎症和血管变化相关的示例性差异表达基因的表达，所述小鼠接受以下：无治疗(A20肿瘤无Tx)、用环磷酰胺和抗人CD19 CAR-T细胞治疗(+Cy+对照CAR-T)、或用环磷酰胺和抗小鼠CD19 CAR-T细胞治疗(+Cy+mCD19 CAR-T)。

[0132] 图19D-19N显示如下的图，其展示在CAR-T细胞注射后48小时收集的脑中的单独基因表达的结果。对于每个图，显示来自荷载A20肿瘤的小鼠的脑的单独基因的表达，所述小鼠接受以下：无治疗(A20肿瘤无Tx；左侧条形)、用环磷酰胺和抗人CD19 CAR-T细胞治疗(A20肿瘤，+CPA+对照CAR-T；中间条形)、或用环磷酰胺和抗小鼠CD19 CAR-T细胞治疗(A20肿瘤，+CPA+muCD19 CAR-T；右侧条形)。所述基因表达展示为转录物/百万(TPM)。显示与以下相关的示例性基因：炎症和血管变化(图19D)、免疫应答(图19E)、血管发生(图19F和图19G)、甾醇代谢过程(图19H和图19I)、粘附分子(图19J和图19K)、细胞因子、趋化因子和MHC蛋白(图19L和图19M)和其他示例性基因(图19N)。对于统计学比较，NS＝不显著，*＝$p<0.05$，**＝$p<0.01$，***＝$p<0.001$，****＝$p<0.0001$，通过单因素ANOVA和Sidak多重比较检验进行。

具体实施方式

[0133] 本文提供了对免疫疗法(例如，细胞疗法)的毒性的小鼠模型，以及产生所述小鼠模型和用所述小鼠模型进行研究的方法。在一些方面，所述模型是或包括具有减少的B细胞

数(例如,B细胞发育不全)的小鼠,所述模型含有免疫疗法,如表达重组受体(例如,CAR)的工程化细胞。在一些实施方案中,本文提供产生对免疫疗法的毒性的小鼠模型的方法,例如通过将淋巴细胞清除剂或疗法和免疫疗法给予小鼠,如免疫活性小鼠。在一些实施方案中,此类方法导致与在人受试者中给予所述免疫疗法的各方面类似的体征、症状或结果。在一些实施方案中,这些方面包括不良作用,如毒性,如与全身和/或神经炎症相关的毒性。在一些实施方案中,本文所提供的小鼠模型可作为临床前模型用于研发(research)、研究(study)和/或调查(investigate)给予免疫疗法的一个或多个方面,如免疫疗法的扩增、持久性和活性,以及与免疫疗法相关的毒性的机制和潜在干预。

[0134] 免疫疗法可以有效治疗癌症和其他疾病和障碍,所述免疫疗法如过继细胞疗法(包括涉及给予表达对目的疾病或障碍具有特异性的嵌合受体(如嵌合抗原受体(CAR)和/或其他重组抗原受体)的细胞的那些,以及其他过继免疫细胞和过继T细胞疗法)。在某些情况下,免疫疗法(如过继细胞疗法)的可行途径可能并不总是完全令人满意。在一些情况下,一种或多种所需结果(如最佳功效)可能取决于所给予细胞进行一种或多种活性或功能和/或展现一种或多种特定特性的能力(例如,其一种或多种亚群的能力)。在一些方面,最佳功效取决于所述细胞识别并结合至靶标(例如,靶抗原)的能力;在一些方面,其取决于所述细胞运输至受试者体内的一个或多个适当位点、定位至所述位点和/或成功进入所述位点和/或经所述位点循环的能力,所述位点如表达靶抗原或其中需要活性的位点或组织。示例性进入位点是肿瘤及其环境,例如,微环境、脉管系统和/或淋巴系统或器官。最佳功效通常取决于所述细胞被激活、扩增和/或发挥各种效应子功能的能力,所述效应子功能包括细胞毒性杀伤和/或分泌各种因子,如细胞因子。最佳功效可以取决于所述工程化细胞在所需位置或环境中持续存在和/或持续存在所需时间段的能力,如长期持续存在和/或在肿瘤或疾病环境中持续存在的能力。在一些方面,最佳功效可以取决于至少所述细胞的亚组分化、转变或参与重编程为一种或多种的某些表型状态(如效应子、长期记忆、较低分化和效应子状态)的能力。在一些实施方案中,最佳功效可以取决于所述细胞的如下能力:在清除和再暴露于靶配体或靶抗原之后的情况下,如在清除疾病之后(如再暴露于抗原,如在复发的情况下,在先前已实现完全缓解、任选地最小残留疾病(MRD)消极缓解的受试者中),实现回忆应答(如稳健且有效的回忆应答);因此,在一些方面,最佳功效可以取决于细胞避免在初始或早期暴露于抗原后采取次最佳状态或表型的能力,如所述细胞避免被消耗或变得无反应性或终末分化(或者展现与参考细胞群相比降低程度的消耗、无反应性、终末分化)的能力。在一些方面,最佳功效可以取决于所述细胞避免采取或分化为抑制性状态的能力。

[0135] 在一些方面,所提供的实施方案是基于以下观察:过继细胞疗法的功效在一些情况下可能因在给予此类细胞的受试者中发生毒性或一种或多种毒性结果或者发生所述毒性或一种或多种毒性结果的风险而受限。在一些情况下,此类毒性可能是严重的。例如,在一些情况下,给予一定剂量的表达重组受体(例如CAR)的细胞可能导致毒性或其风险,如CRS或神经毒性。在一些情况下,一种或多种毒性结果的风险可能以与特性的增加相关联的方式增加,所述特性与改进的功效相关。例如,虽然在一些情况下,给予相对较高剂量的此类细胞和/或与另外的药剂的组合疗法以增加所给予细胞的活性、功效和/或持久性可以例如通过增加对所述细胞的暴露(如通过促进扩增和/或持久性)来增加功效,但是它们也可能导致甚至更高的发生毒性或更严重毒性的风险。类似地,虽然在一些情况下,共给予一种

或多种药剂以促进免疫功能可以促进所需活性和功能，如细胞因子的分泌和靶特异性细胞毒性，和/或减少抑制因子，但是这在某些方面中也可能与增加的与毒性相关的一种或多种因素的风险相关。

[0136] 用于治疗或改善毒性的某些可用的方法可能并不总是完全令人满意。在一些情况下，用于治疗或改善毒性的可用方法因缺少对毒性原因的理解而受限或被妨碍。例如，还没有完全理解，一些疗法和/或一种或多种特定细胞疗法如何会引起毒性或具有导致毒性的风险，所述毒性如CRS、神经毒性和/或脑水肿。许多可用方法集中于例如靶向毒性的下游效应(如通过细胞因子阻断)和/或递送药剂如高剂量类固醇，所述药剂也可能消除或损害所给予细胞的功能。另外，此类方法通常涉及仅在检测到毒性的身体体征或症状和/或其某些程度或水平时才给予此类干预，所述身体体征或症状通常涉及中度或严重毒性(例如，中度或严重CRS)的体征或症状，这种方式在许多情况下可能与所述干预的无效风险相关和/或需要给予更大剂量或更高强度的干预，这可能与一种或多种不期望的副作用相关和/或降低所述疗法的功效。在一些实施方案中，可用方法降低或预防毒性(如神经毒性)的多种形式中的一种或多种的能力并非完全令人满意。

[0137] 在一些情况下，旨在降低或改善疗法相关毒性的可用的药剂和/或疗法(例如，类固醇)本身与毒性副作用相关。在较高剂量的所述药剂和/或疗法下，如在为了治疗或改善毒性的严重程度可能需要的相对较高的剂量或频率下，在给予时，例如在体征或症状或其水平或程度之后，此类副作用的强度可能较大。另外，在一些方面，用于治疗毒性的可用药剂或疗法可限制细胞疗法的功效，如作为细胞疗法的一部分提供的嵌合受体(例如，CAR)表达细胞的功效(Sentman Immunotherapy,5:10(2013))，例如，通过降低活性或由这种疗法诱导的一种或多种所需下游效应来限制。

[0138] 理解给予免疫疗法(例如，细胞疗法)的体征、症状或结果对于评价当前或潜在疗法是有用的，特别是在可能危及生命的副作用(例如，细胞因子释放综合征或严重神经毒性)的情况下。在一些方面，此类体征、症状或结果可涉及全身效应或组织特异性(如脑特异性)效应，所述效应可导致免疫疗法(例如，细胞疗法，例如CAR-T细胞疗法)的不期望的结果。

[0139] 在一些实施方案中，本文提供小鼠模型和用于产生小鼠模型的方法，所述小鼠模型是研究(study)、调查(investigate)和/或评价免疫疗法各方面(例如，如针对免疫疗法的毒性的机制)的有用工具。在一些实施方案中，本文所提供的小鼠模型可以用于测定可以降低毒性的潜在干预或药剂，包括可治疗或预防毒性同时将细胞疗法的功效的任何损失降到最低的潜在干预或药剂。例如，在一些实施方案中，本文所提供的小鼠模型可用于在可以潜在地预防或治疗神经毒性的多种药剂之间评价并优先化潜在药剂和/或干预。在一些实施方案中，本文所提供的小鼠模型还可以用于鉴定新的干预剂和/或鉴定新的干预靶向途径。在一些方面，采用毒性的临床前小鼠模型使得能够更高效且稳健地评价或优先化此类药剂和/或鉴定使用此类药剂的潜力。

[0140] 某些实施方案考虑到，缺少适合于研究针对免疫疗法的毒性的动物模型，特别是小鼠模型。不受限于理论，在一些实施方案中，将免疫疗法给予小鼠不一定会在所述小鼠中导致与毒性相关的任何体征、症状或特征。在一些实施方案中，在将免疫疗法给予小鼠后是否会表现与毒性相关的任何体征、症状或特征可能取决于先前未鉴定的因素，例如但不限

于所述小鼠的遗传背景、所述免疫疗法的靶标或剂量和/或淋巴细胞清除的方式和时间安排。在一些实施方案中，本文所提供的方法显示，小鼠可以用于产生针对免疫疗法的毒性的动物模型，并且另外，所述方法提供产生所述动物模型所需的步骤和条件。除了其他用途以外，考虑本文所提供的小鼠模型起到用于临床前研究的作用，例如，用于研究和鉴定毒性的潜在机制，评价新的免疫疗法，和用于鉴定预防或降低毒性的潜在干预。

[0141] 虽然本文所提供的小鼠模型可用于研究针对免疫疗法的毒性，但是这种模型的研究应用并不限于毒性研究。例如，在一些实施方案中，本文所提供的小鼠模型可以用于评价免疫疗法的与毒性无关的特征，如免疫疗法(如细胞疗法，例如CAR-T细胞疗法)的体内扩增、持久性和活性。例如，在一些实施方案中，所述小鼠模型可以用于评价将第二治疗剂与所述免疫疗法一起给予可以如何影响所述免疫疗法的扩增率和/或所述免疫疗法去除体内肿瘤或癌细胞和/或实现或加重所述免疫疗法或组合疗法的新的或潜在毒性的活性或能力。在一些此类实施方案中，所述第二治疗剂可以在所述免疫疗法之前、伴随所述免疫疗法或在所述免疫疗法之后给予。在一些实施方案中，给予所述免疫疗法和所述第二治疗剂的时间安排使得两种药剂在受试者体内同时存在，和/或所述第二治疗剂在一时间段期间以治疗水平存在，在所述时间段中，第一治疗剂的水平是以所述受试者或其器官或体液或组织内对应于所述免疫疗法的治疗窗的水平存在，或者被预测或推断为以所述水平或在所述水平内存在。因此，在一些实施方案中，本文所提供的小鼠模型可用于评价或评估给予免疫疗法的任何方面或结果。

[0142] 所提供的方法和小鼠模型提供对于研究免疫疗法，例如研究针对免疫疗法的毒性的特别优点。小鼠在解剖学、生理学和遗传学方面与人有许多相似之处；快速生长和繁殖；体型小；并且寿命相对较短。这使得可以在相对较短的时间段内解决相对复杂的生物学问题。关于免疫疗法的研究，开发反映在人中给予所述免疫疗法的某些方面(例如，在一些情况下，可能因所述免疫疗法而发生的毒性)的小鼠模型允许评价或评估给定免疫疗法或者用于利用或给予所述免疫疗法的程序的多种不同条件、调整和改变，而这在其他动物中开发的模型中是不可能的。因此，在一些实施方案中，本文所提供的小鼠模型代表用于研究和理解免疫疗法治疗的许多不同方面的有用工具。

[0143] 本文所提供的方法的特定实施方案利用靶向在循环细胞上表达的抗原以在小鼠中产生毒性的免疫疗法。例如，在一些实施方案中，所述免疫疗法是含有靶向在B细胞之上或之中表达的抗原(例如，CD19)的工程化细胞(例如，CAR表达细胞)的细胞组合物。循环细胞提供分散于全身的靶标，其与局部靶标(例如，在实体瘤上表达的抗原)相反。在一些实施方案中，所述靶标的分散性质可以允许工程化细胞的快速扩增、广泛炎症、细胞因子的稳健释放和/或对多个器官或组织的损伤。因此，在一些实施方案中，本文所提供的产生小鼠毒性模型的方法包括给予靶向在循环细胞上表达的抗原的免疫疗法的一个或多个步骤。

[0144] 除非另外定义，否则本文使用的所有技术术语、符号和其他技术和科学术语或用辞旨在具有与所要求保护的主题所属领域的普通技术人员的通常理解的含义相同的含义。在一些情况下，为了清楚和/或为了便于参考而在本文中定义具有通常理解的含义的术语，并且本文中包含的此类定义不应一定被解释为表示与本领域通常理解的实质性差异。

[0145] 本申请中提及的所有出版物(包括专利文献、科学文章和数据库)出于所有目的通过引用以其整体并入，在程度上如同每个单独的出版物通过引用单独并入。如果本文所述

的定义与通过引用并入本文的专利、申请、公开的申请和其他出版物中所述的定义相反或在其他方面不一致，则本文所述的定义优先于通过引用并入本文的定义。

[0146] 本文使用的章节标题仅用于组织目的，而不应解释为限制所描述的主题。

[0147] I.针对免疫疗法的毒性的小鼠模型

[0148] 本文提供了针对免疫疗法的毒性的小鼠模型。在一些实施方案中，本文所提供的小鼠模型是或包括被给予免疫疗法(例如，表达嵌合抗原受体(CAR)的细胞的组合物)和淋巴细胞清除剂或疗法(例如，环磷酰胺(CPA))的小鼠。在某些实施方案中，本文所提供的小鼠模型是或包括被给予免疫疗法的具有降低的一种或多种免疫细胞群体的水平或量的小鼠。在特定实施方案中，本文所提供的小鼠模型是或包括在给予淋巴细胞清除剂或疗法之后被给予免疫疗法的小鼠。在某些实施方案中，本文所提供的小鼠模型是或包括具有降低的一种或多种淋巴细胞(例如，T细胞和/或B细胞)群体的水平或量并且含有所述免疫疗法的至少一部分的小鼠。例如，在一些实施方案中，所述免疫疗法在所述小鼠体内循环，和/或存在于一种或多种器官和组织中。在某些实施方案中，一种或多种淋巴细胞群体的水平或量已经通过使用淋巴细胞清除剂或疗法的先前治疗降低了。在一些实施方案中，所述免疫疗法是含有表达重组受体(例如，CAR)的一种或多种细胞的细胞组合物。在一些实施方案中，所述重组受体结合至和/或识别小鼠抗原，如小鼠B细胞抗原或小鼠CD19。

[0149] 在某些实施方案中，本文提供产生所述小鼠模型的小鼠的方法。在一些实施方案中，所述方法包括给予免疫疗法的一个或多个步骤以及减少小鼠中一种或多种淋巴细胞群体的一个或多个步骤。在某些实施方案中，所述一种或多种淋巴细胞群体是通过给予淋巴细胞清除剂或疗法而减少的。在一些实施方案中，本文所提供的方法包括将免疫疗法给予具有减少的一种或多种淋巴细胞的群体的小鼠的一个或多个步骤。在某些实施方案中，所述方法包括将免疫疗法给予已经被给予淋巴细胞清除剂或疗法的小鼠的一个或多个步骤。在一些实施方案中，所述方法包括检测和/或测量所述模型的体征、症状或结果。在某些实施方案中，所述一种或多种体征、症状或结果是毒性或与毒性相关。在一些实施方案中，给予作为细胞组合物的免疫疗法，所述细胞组合物含有表达重组受体(例如，CAR)的一种或多种细胞。在一些实施方案中，免疫疗法是或包括细胞组合物，所述细胞组合物含有表达重组受体(例如，CAR)的一种或多种细胞，所述重组受体结合至和/或识别小鼠抗原，如小鼠B细胞抗原或小鼠CD19。

[0150] 在特定实施方案中，将所述免疫疗法给予具有一种或多种淋巴细胞群体的减少的小鼠。在某些实施方案中，一种或多种淋巴细胞群体的所述减少不是淋巴细胞的完全减少、去除或消融。因此，在某些实施方案中，将所述免疫疗法给予具有一定量的一种或多种淋巴细胞群体的小鼠。在某些实施方案中，所述淋巴细胞清除剂或疗法的给予不会完全减少、去除或消融一种或多种淋巴细胞群体。在一些实施方案中，将所述免疫疗法和/或所述淋巴细胞清除剂给予免疫活性小鼠，例如，能够具有正常或未受损的免疫应答的小鼠。在一些实施方案中，所述小鼠具有淋巴细胞的减少，其中所述减少并非完全减少。在特定实施方案中，所述小鼠不是免疫受损的小鼠，如免疫受损的小鼠品系的小鼠，和/或适合于和/或能够接受异种移植物(例如，人细胞)而不经历免疫应答的小鼠。

[0151] 在一些实施方案中，本文所提供的方法导致所述小鼠中降低或耗尽的B细胞水平。在某些实施方案中，本文所提供的方法导致B细胞发育不全。在特定实施方案中，向所述小

鼠给予淋巴细胞清除剂和结合至和/或靶向B细胞的免疫疗法。在某些实施方案中，所述模型的体征、症状或结果是或包括B细胞发育不全。

[0152] 在一些实施方案中，可以向本文所提供的模型的小鼠给予一种或多种细胞。在一些实施方案中，所述一种或多种细胞是抗原表达细胞，其表达由所述免疫疗法识别和/或结合的抗原。在某些实施方案中，所述抗原表达细胞提供所述免疫疗法(例如，CAR表达细胞)的另外的靶标。在一些实施方案中，所述抗原表达细胞的给予可以增加所述免疫疗法的扩增、持久性和/或活性，如通过提供所述免疫疗法的另外的靶标。在某些实施方案中，所述抗原表达细胞的给予可以改变与所述小鼠模型相关的体征、症状或结果。例如，在一些实施方案中，抗原表达细胞可能增加结果或毒性的一种或多种体征、症状的程度或严重程度。在某些实施方案中，抗原表达细胞是癌症和/或肿瘤细胞，其清除率可以用于评估所述免疫疗法的活性。在某些实施方案中，另外的药剂或测试剂对免疫疗法的活性的效应可以在含有和/或已经被给予抗原表达细胞的本文所提供的小鼠模型的小鼠中进行评价。在特定实施方案中，所述抗原表达细胞是小鼠细胞和/或属于衍生自小鼠细胞的稳定细胞系。在一些实施方案中，所述抗原表达细胞对于所述小鼠是同基因的。

[0153] 在一些实施方案中，本文所提供的小鼠模型可用于研究与所述小鼠模型相关的体征、症状和/或结果。在一些实施方案中，本文所提供的小鼠模型复制和/或是在人受试者中所见的一种或多种体征、症状和/或结果的模型。在一些实施方案中，所述一种或多种体征、症状或结果是或包括所述免疫疗法的体内扩增、持久性、分布和/或活性。在特定实施方案中，本文所提供的模型对于为可能在人体中发生的毒性(如CRS或神经毒性)建模特别有用。在一些实施方案中，本文所提供的模型可用于评估、评价和/或研究可能促进在人体中观察到的针对细胞疗法的毒性(例如，严重神经毒性和/或CRS)或与所述毒性相关的方面、症状、特性和/或特征。在一些实施方案中，这些特征包括但不限于升高的血清细胞因子和指示全身炎症应答的血液化学的改变，血清白蛋白和葡萄糖水平的降低，与细胞因子和趋化因子表达相关的基因表达的变化，小神经胶质细胞激活，内皮炎症和氧化应激，在包括脾、肝和肺的器官中观察到的病理学，以及体重和体温的降低。

[0154] 在一些实施方案中，本文所提供的毒性模型的小鼠可具有一种或多种癌性细胞，例如，癌性B细胞。在某些实施方案中，所述癌细胞提供所述免疫疗法(例如，CAR表达细胞)的另外的靶标。例如，在一些实施方案中，向所述小鼠注射表达CD19的癌性和/或致瘤性B细胞，然后用表达抗CD19 CAR的细胞进行后续输注。在某些实施方案中，由所述癌性B细胞提供的另外的靶标导致所述CAR表达细胞的快速体内扩增。在一些实施方案中，所述快速体内扩增伴随较高程度或严重程度的毒性。因此，在一些实施方案中，所述模型中所述程度或严重程度的毒性在注射有或以其他方式具有癌性和/或致瘤性细胞的小鼠中增加或增强。

[0155] 在一些实施方案中，本文所提供的小鼠模型可用于研究与免疫疗法相关的毒性。在一些实施方案中，本文所提供的小鼠模型复制在人受试者中所见的与免疫疗法(如T细胞疗法)相关的一种或多种体征、症状和/或结果。在某些实施方案中，体征、症状和/或症状是毒性的体征、症状和/或症状。在特定实施方案中，本文所提供的模型对于为可能在人体中发生的毒性(如CRS或神经毒性)建模特别有用。在某些实施方案中，本文所提供的模型可用作针对免疫疗法的毒性的临床前模型，所述免疫疗法包括治疗性T细胞疗法，如使用重组抗原受体表达细胞，例如，嵌合抗原受体(CAR)。在某些实施方案中，本文所提供的模型对促进

在人体中观察到的针对细胞疗法的毒性(例如,严重神经毒性和/或CRS)或与所述毒性相关的一个或多个方面、症状、特性和/或特征进行建模。在某些实施方案中,此类症状、特性和/或特征包括但不限于工程化细胞的快速体内扩增、CAR表达细胞在体内扩增至不同组织(包括脑组织)中。在一些实施方案中,这些特征包括但不限于升高的血清细胞因子和指示全身炎症应答的血液化学的改变,血清白蛋白和葡萄糖水平的降低,与细胞因子和趋化因子表达相关的基因表达的变化,小神经胶质细胞激活,内皮炎症和氧化应激,在包括脾、肝和肺的器官中观察到的病理学,以及体重和体温的降低。

[0156] 在一些实施方案中,本文所提供的小鼠模型可用于对针对免疫疗法的毒性(例如,针对免疫细胞疗法(如CAR T细胞疗法)的神经毒性)进行建模。在某些实施方案中,所提供的小鼠模型是通过以下方式来产生:将淋巴细胞清除剂或疗法给予免疫活性小鼠,然后给予免疫疗法。在特定实施方案中,所述免疫活性小鼠不是C57BL/6小鼠或其品系或亚品系。在特定实施方案中,所述淋巴细胞清除剂或疗法的给予不会导致完全免疫消融。在某些实施方案中,所述免疫疗法结合至或识别由所述免疫活性小鼠的细胞或组织或所述免疫活性小鼠内的细胞或组织表达的抗原。

[0157] 在某些实施方案中,所提供的小鼠模型是通过以下方式来产生:(i)将抗原表达细胞(例如,癌细胞)注射至免疫活性小鼠,(ii)随后给予淋巴细胞清除剂或疗法,然后(iii)随后给予结合至或识别所述抗原表达细胞的抗原的免疫疗法。在某些实施方案中,所述抗原表达细胞在所述小鼠中不触发免疫应答。在特定实施方案中,所述免疫活性小鼠不是C57BL/6小鼠或其品系或亚品系。在特定实施方案中,所述淋巴细胞清除剂或疗法的给予不会导致完全免疫消融。

[0158] A.小鼠

[0159] 在一些实施方案中,小鼠毒性模型是通过对小鼠进行、实行和/或执行本文所提供的方法而生成和/或产生。在某些实施方案中,所述小鼠是成年小鼠。在特定实施方案中,所述小鼠是雄性小鼠。在一些实施方案中,所述小鼠是雌性小鼠。在特定实施方案中,所述小鼠的年龄为约或至少约3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、11周、12周、14周、16周、18周、20周、24周、28周、32周、6个月、9个月、12个月、15个月、18个月、21个月,或约或至少约24个月。

[0160] 在一些实施方案中,所述小鼠不是免疫缺陷和/或免疫抑制的小鼠。在一些实施方案中,免疫缺陷和/或免疫抑制的小鼠包括可以用于异种移植物(例如,人肿瘤和/或癌症细胞异种移植物)的小鼠的品系和亚品系。在一些实施方案中,免疫缺陷和/或免疫抑制的小鼠是可以注射来自另一物种(例如,人)的蛋白质或细胞而不排斥外来蛋白质或细胞和/或不经历对外来蛋白质或细胞的免疫应答的小鼠。免疫缺陷和/或免疫抑制的小鼠的例子包括无胸腺裸鼠、严重受损的免疫缺陷的(SCID)小鼠、和非肥胖糖尿病(NOD)/SCID人源化小鼠。在一些实施方案中,小鼠毒性模型是通过对不是免疫受损和/或免疫抑制小鼠的小鼠进行、实行和/或执行本文所提供的方法而生成和/或产生。

[0161] 在特定实施方案中,所述小鼠表达和/或能够表达一种或多种人源化或嵌合蛋白质。在某些实施方案中,所述一种或多种人源化或嵌合蛋白质是由免疫细胞表达和/或释放的蛋白质。在某些实施方案中,所述免疫细胞是淋巴细胞。在特定实施方案中,所述淋巴细胞是T细胞或B细胞。在特定实施方案中,所述一种或多种人源化或嵌合蛋白质是或包括人

源化或嵌合MHC蛋白和/或人源化或嵌合TCR蛋白。在某些实施方案中，所述一种或多种人源化和/或嵌合蛋白质是或包括人或嵌合抗体。

[0162] 在一些实施方案中，所述小鼠是免疫活性的。在某些实施方案中，免疫活性小鼠是能够发生例如针对抗原的免疫应答的小鼠。在一些实施方案中，免疫活性小鼠能够排斥外来细胞或蛋白质(例如，人细胞或蛋白质)和/或发生针对所述外来细胞或蛋白质的免疫应答。在某些实施方案中，小鼠毒性模型是通过对免疫活性小鼠进行、实行和/或执行本文所提供的方法而生成和/或产生。

[0163] 在一些实施方案中，所述小鼠属于远交品系。在某些实施方案中，所述远交小鼠品系是繁殖以维持最大杂合性的至少四代遗传可变动物的闭锁群体。远交品系是可获得的(包括商业获得)，并且详细描述于以下文献中:Chia等人Nature Genetics 37(11):1181-1186(2005);和Festing ILAR Journal 55(3):399-404(2014)。另外，实验动物研究所(The Institute for Laboratory Animal Research)在其网站(dels.nas.edu/ilar_n/ilarhome/)上具有在实验动物供应商的网站上搜索已命名品系和原种及其供应商的工具。国际小鼠品系资源(International Mouse Strain Resource,http://www.imsr.org/)是品系和原种的数据库，其在世界范围内可用并且具有来自贡献储存库的更新。

[0164] 在一些实施方案中，所述小鼠属于近交品系。特定实施方案考虑到，与本文所提供的方法一起使用近交小鼠品系的优点在于，可以将来自近交品系的单独小鼠的细胞输注和/或给予至相同近交品系的不同单独小鼠，无需任何免疫抑制干预或治疗，不触发针对所述细胞的免疫应答。在某些实施方案中，针对细胞疗法的毒性的所述小鼠模型是从近交小鼠品系的一种或多种小鼠产生。在特定实施方案中，所述模型是从近交小鼠品系的亚品系的一种或多种小鼠产生。

[0165] 在某些实施方案中，近交小鼠品系包括但不限于129S1、129T2、129X1、129P3、129P1、A、AKR、BALB/c、C3H、C57BL/10、C57BLKS、C57BR/cd、C57L、CAST/Ei、CBA、DBA/1、DBA/2、FVB、MRL、NOD、SJL、MOLF/Ei、SWR、NOR、NZB、NZW、RBF、BUB、I、LP、NON、P、PL、RIIS、SM、C58、ALR、ALS、BPH、BPL、BPN、DDY、EL、KK、LG、MA、NH、NZM2410、NZO、RF、SB、SEA、SI、SOD1、SPRET/Ei、WSB/Ei、YBR和这些小鼠品系各自的所有近交亚品系。

[0166] 在特定实施方案中，所述小鼠属于近交亚品系。在某些实施方案中，亚品系是相同小鼠品系内的小鼠群(colony)和/或群体(population)，所述小鼠在遗传上与来自相同小鼠品系的其他小鼠、群和/或群体不同。例如，在一些实施方案中，可以产生亚品系，其中相同近交品系的两个群已经分离超过10代，或者在一些实施方案中，可以产生所述亚品系，其中相同品系的单独群之间存在遗传差异。在一些实施方案中，不同亚品系之间的遗传差异也可能是在分离时祖先中残留杂合性的结果，所述遗传差异在后续世代期间被固定和/或变成自发突变的结果(例如，遗传漂变)。

[0167] 在某些实施方案中，合适的亚品系包括但不限于129S1/SvImJ、129T2/SvEmsJ、129X1/SvJ、129P3/J、A/J、AKR/J、BALB/cByJ、BALB/cJ、BTBR T^{+}tf/J、BUB/BnJ、C3H/HeJ、C3H/HeOuJ、C3HeB/FeJ、C57BL/10J、C57L/J、C58/J、C57BR/cdJ、CBA/CaHN-Btkxid/J、CBA/J、DBA/1J、CAST/EiJ、DBA/1LacJ、DBA/2J、DDY/Jc1SidSeyFrkJ、FVB/NJ、KK/H1J、MRL/MpJ、MOLF/EiJ、NONcNZO10/LtJ、NON/ShiLtJ、NOD/ShiLtJ、NZL/LtJ、PL/J、SM/J、SJL/J、SWR/J、NOR/LtJ、NZB/B1NJ、NZW/LacJ、PWD/PhJ、RBF/DnJ、WSB/EiJ、129S6/SvEvTac、AJTAC、BALB/

cAnNTac、BALB/cJBomTac、BALB/cABomTac、C57BL/6NTac、C57BL/6JBomTac、C57BL/10SgAiTac、C3H/HeNTac、CBA/JBomTac、DBA/1JBomTac、DBA/2NTac、DBA/2JBomTac、FVB/NTac、NOD/MrkTac、NZM/AegTac、SJL/JcrNTac、BALB/cAnNCr1BR、C3H/HeNCr1BR、C57BL/6NCr1BR、DBA/2NCr1BR、FVB/NCr1BR、C.B-17/IcrCr1BR、129/SvPasIcoCr1BR、SJL/Jor1IcoCr1BR、A/Jo1aHsd、BALB/cAnNHsd、C3H/HeNHsd、C57BL/10ScNHsd、C57BL/6NHsd、CBA/JCrHsd、DBA/2NHsd、FVB/NHsd、SAMP1/KaHsd、SAMP6/TaHsd、SAMP8/TaHsd、SAMP10/TaHsd、SJL/JCrHsd、AKR/O1aHsd、BiozziABII/RijIIsd、C57BL/6JO1aHsd、FVB/NhanIIsd、MRL/MpO1aIIsd、NZB/O1aIIsd、NZW/O1aHsd、SWR/O1aHsd、129P2/O1aHsd和129S2/SvHsd。在某些实施方案中，近交小鼠品系是通过转基因、敲除、siRNA和/或CRISPR技术或其他遗传操纵技术产生的品系，所述其他遗传操纵技术已经用兄弟与姐妹交配或亲子交配持续十代或更多连续世代。

[0168] 在特定实施方案中，所述小鼠不是C57BL/6小鼠。在某些实施方案中，所述小鼠不属于C57BL/6的亚品系。在一些实施方案中，所述小鼠不是C57BL/6J、C57BL/6JJcl、C57BL/6JJmsSlc、C57BL/6NJcl、C57BL/6NCrlCrlj、C57BL/6NTac和/或C57BL/6CrSlc小鼠。在某些实施方案中，所述小鼠具有小于约100％、90％、80％、75％、70％、60％、50％、40％、34％、30％、25％、20％、12.5％、10％、6.25％、5％、4％、3％、2％、1％、0.1％或0.01％的C57BL/6背景。在一些实施方案中，所述小鼠具有小于约100％、90％、80％、75％、70％、60％、50％、40％、34％、30％、25％、20％、12.5％、10％、6.25％、5％、4％、3％、2％、1％、0.1％或0.01％的C57BL/6J、C57BL/6JJcl、C57BL/6JJmsSlc、C57BL/6NJcl、C57BL/6NCrlCrlj、C57BL/6NTac和/或C57BL/6CrSlc背景。

[0169] 在某些实施方案中，小鼠模型用作针对免疫疗法的毒性的模型的能力部分依赖于小鼠品系和/或小鼠的遗传背景。例如，在一些实施方案中，不对C57BL/6小鼠实行、进行和/或执行本文所提供的方法。在特定实施方案中，C57BL/6小鼠不适合于对针对细胞疗法的毒性进行建模，因为所述小鼠具有如与其他品系的小鼠(例如，BALB/c小鼠)相比降低的和/或延迟的免疫应答和/或炎症应答。例如，在一些实施方案中，与在其他品系中相比，本文所提供的方法在C57BL/6小鼠中刺激较低的细胞因子表达和/或刺激较少细胞因子。在某些实施方案中，在C57BL/6小鼠中没有复制对应于在人体中所见针对细胞疗法的毒性的毒性的方面、特征和/或表型。因此，在一些实施方案中，先前在开发和/或鉴定适合于研究毒性的小鼠模型中的困难在部分上是由于C57BL/6小鼠出于研究目的的广泛使用所致。

[0170] 在一些实施方案中，C57BL/6小鼠的受损的免疫应答至少部分是由于以下事实所致：C57BL/6小鼠可能在含有Nod样受体热蛋白结构域的蛋白12(NLRP12)基因中具有突变。最近鉴定了抑制C57BL/6J小鼠中的免疫应答的NLRP12错义突变。研究揭示，所述突变发生在1971年之前，可能影响了数十年的对受影响小鼠模型进行的研究。NLRP12是先天免疫系统的组分，其调节免疫细胞运输和细胞因子产生。C57BL/6J突变(在染色体7，位置3,222,537的G至A)引起NLRP12中在保守的富亮氨酸重复(LRR)结构域中的氨基酸取代(残基1034处的精氨酸至赖氨酸)，所述保守的富亮氨酸重复(LRR)结构域据推定对于蛋白质间相互作用是重要的。来自NLRP12的受影响的LRR结构域在哺乳动物之间是高度保守的。在小鼠属(Mus genus)内有两个重要的例外：1)在位置1034的赖氨酸(K)至精氨酸(R)取代和2)在位置1035的甲硫氨酸(M)/缬氨酸(V)至赖氨酸(K)取代。本质上，在小鼠属内，在所述结构域中

位置1034的赖氨酸移位一个残基。应注意，随后的C57BL/6J突变在这个结构域中引入双赖氨酸残基，这在所有哺乳动物中是独特的。这个高度保守的结构域内的双赖氨酸可能潜在地影响蛋白质间的相互作用或NLRP12的翻译后调节。还不清楚，所述小鼠NLRP12变体中的任一种是如何在功能上与人NLRP12相比的；然而，数据指示，如与来自其他小鼠品系(例如，BALB/c)的NLRP12相比，所述C57BL/6J NLRP12变体是功能损失型突变。(参见Ulland等人，Nature Communications 7:13180(2016))。因此，在一些实施方案中，对小鼠执行、实行和/或进行本文所提供的方法，所述小鼠具有一个或更少拷贝的编码在残基1034具有精氨酸至赖氨酸取代的突变体和/或变体NLRP多肽的NLRP12基因。

[0171] 在一些实施方案中，所述小鼠具有少于两个拷贝的有一个或多个错义突变的NLRP12突变体和/或变体。在某些实施方案中，所述小鼠具有一个或更少拷贝的NLRP12突变体，和/或具有一种或更少的有一个或多个错义突变的NLRP变体。在特定实施方案中，具有一个或多个错义突变的所述NLRP12突变体和/或变体导致针对刺激物的缺陷性嗜中性粒细胞募集。在一些实施方案中，如与不具有所述NLRP12突变体和/或变体的拷贝的小鼠相比，所述NLRP12突变体或变体导致针对刺激物的嗜中性粒细胞募集的至少10％、至少20％、至少30％、至少40％、至少50％、至少60％、至少70％、至少80％、至少90％、至少95％、至少97％、至少99％、至少99.9％和/或至少99.99％降低。在某些实施方案中，NLRP12突变体或变体编码在残基1034具有精氨酸至赖氨酸取代的NLRP多肽。在某些实施方案中，所述针对刺激物的嗜中性粒细胞募集可以作为常规事项来评估，例如如以下文献中所述：Ulland等人，Nature Communications 7:13180(2016)。

[0172] 在特定实施方案中，所述小鼠响应刺激物的嗜中性粒细胞募集是在不具有NLRP12突变体或变体基因的拷贝的小鼠中响应相同激发的嗜中性粒细胞募集的至少50％、至少60％、至少70％、至少80％、至少90％、至少95％、至少97％、至少99％，所述NLRP12突变体或变体基因编码在残基1034具有精氨酸至赖氨酸取代的NLRP12多肽。在一些实施方案中，所述小鼠响应刺激物的嗜中性粒细胞募集是在不具有NLRP12突变体或变体基因的拷贝的小鼠中响应相同激发的嗜中性粒细胞募集的至少50％、至少60％、至少70％、至少80％、至少90％、至少95％、至少97％、至少99％，所述NLRP12突变体或变体基因编码在残基1034具有精氨酸至赖氨酸取代的NLRP12多肽。

[0173] 在特定实施方案中，C57BL/6小鼠含有一个或多个拷贝的有一个或多个错义突变的NLRP12突变体和/或变体基因。在某些实施方案中，C57BL/6小鼠含有一个或多个拷贝的NLRP12突变体和/或变体基因，所述NLRP12突变体和/或变体基因编码在残基1034具有精氨酸至赖氨酸取代的NLRP12多肽。

[0174] 在一些实施方案中，所述小鼠的循环促炎细胞因子的量或水平响应于抗原的增加比C57BL/6小鼠的大。在某些实施方案中，所述小鼠具有增加的一种或多种促炎细胞因子的水平或量，所述一种或多种促炎细胞因子的水平或量在暴露于所述抗原(如在相同或类似条件下暴露于所述抗原)的C57BL/6小鼠中不增加。促炎细胞因子包括但不限于白细胞介素(IL)(如IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10和IL-18)和肿瘤坏死因子(TNF)、IFN-γ、MCP-1、MIP-1a、MIP-1b、GM-CSF和血管生成素-2。

[0175] 在一些实施方案中，小鼠的遗传背景可以作为常规事项来确定，并且包括如下进行的遗传技术，如鉴定与特定小鼠品系相关的SNP和多态性，例如通过公众可获得的数据库

(例如,由Jackson Laboratories维护的小鼠基因组信息库(Mouse Genome Informatics))鉴定的SNP和/或多态性。

[0176] 在特定实施方案中,所述小鼠是BALB/c小鼠。在某些实施方案中,所述小鼠属于BALB/c亚品系。在一些实施方案中,所述小鼠是BALB/cJ、BALB/cAnNCr、BALB/cByJ或BALB/cCum小鼠。在某些实施方案中,所述小鼠具有大约至少10%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少75%、至少80%、至少87.5%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或至少99.9%的BALB/c背景。在特定实施方案中,所述小鼠具有10%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少75%、至少80%、至少87.5%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或至少99.9%的BALB/cJ、BALB/cAnNCr、BALB/cByJ或BALB/cCum背景。

[0177] 在一些实施方案中,所述小鼠具有一种或多种淋巴细胞和/或免疫细胞群体的减少的群体。在某些实施方案中,所述小鼠已经被给予淋巴细胞清除剂或疗法。在某些实施方案中,所述一种或多种淋巴细胞或免疫细胞群体相对于以下小鼠有所减少:免疫活性小鼠、尚未给予淋巴细胞清除剂或疗法的免疫活性小鼠、和/或本文所提及的品系和/或亚品系中的任一种的免疫活性小鼠。在特定实施方案中,淋巴细胞或免疫细胞的所述群体是或包括总淋巴细胞、总免疫细胞、T细胞、B细胞和/或天然杀伤细胞。在一些实施方案中,淋巴细胞或免疫细胞的所述群体是或包括效应T细胞、辅助T细胞、细胞毒性T细胞、记忆T细胞、调节性(抑制)T细胞、天然杀伤T细胞、粘膜相关的不变T细胞、γδT细胞、浆细胞、记忆B细胞、滤泡性B细胞、边缘区B细胞、B1细胞、B2细胞、调节B细胞和/或天然杀伤细胞。在一些实施方案中,所述一种或多种淋巴细胞是或包括$CD45^+$细胞、$CD11b^+$细胞、$CD45^{hi}$;$CD11b^+$细胞、B细胞、T细胞、$CD4^+$细胞和/或$CD8^+$细胞。在一些实施方案中,所述小鼠的每1μl血液具有介于或介于约0.0001与1,000个细胞之间、0.0001与0.1个细胞之间、0.001与1cell、0.01与10个细胞之间、0.1与10个细胞之间、0.1与100个细胞之间、0.1与50个细胞之间、1与10个细胞之间、1与100个细胞之间、10与1,000个细胞之间、10与500个细胞之间、2.5与250个细胞之间、5与1,000个细胞之间或0.01与10个细胞之间(每个都包含端值)的淋巴细胞或免疫细胞的群体。

[0178] 在一些实施方案中,所述小鼠具有表达由免疫疗法结合和/或识别的抗原的一种或多种外源细胞,如来自另一小鼠和/或来自细胞系的细胞,例如,抗原表达细胞。在一些实施方案中,已经将表达所述抗原的所述外源细胞(例如,来自另一小鼠和/或来自细胞系的细胞)给予、注射或输注至所述小鼠。在某些实施方案中,所述小鼠具有或者已经被注射和/或输注了介于或介于约$5x\ 10^4$与$1x\ 10^9$个之间的抗原表达细胞、$1x\ 10^5$与$1x\ 10^8$个之间的CD4+抗原表达细胞、$1x\ 10^5$与$1x\ 10^6$个之间的抗原表达细胞、$5x\ 10^5$与$1x\ 10^7$个之间的抗原表达细胞、$2x\ 10^5$与$1x\ 10^7$个之间的抗原表达细胞、$5x\ 10^5$与$5x\ 10^7$个之间的抗原表达细胞、$1x\ 10^5$与$1x\ 10^7$个之间的抗原表达细胞、$1x\ 10^7$与$1x\ 10^8$个之间的抗原表达细胞、$5x\ 10^5$与$5x\ 10^7$个之间的抗原表达细胞、$1x\ 10^6$与$1x\ 10^8$个之间的抗原表达细胞、$1x\ 10^7$与$1x\ 10^9$个之间的抗原表达细胞、$1x\ 10^5$与$1x\ 10^8$个之间的抗原表达细胞,每个都包含端值。在特定实施方案中,所述小鼠具有或者已经被注射和/或输注了为、至少为或约为以下的量的抗原表达细胞:$1x\ 10^5$、$2x\ 10^5$、$2.5x\ 10^5$、$3x\ 10^5$、$4x\ 10^5$、$5x\ 10^5$、$6x\ 10^5$、$7x\ 10^5$、$7.5x\ 10^5$、$8x\ 10^5$、$9x\ 10^5$、$1x\ 10^6$、$2x\ 10^6$、$2.5x\ 10^6$、$3x\ 10^6$、$4x\ 10^6$、$5x\ 10^6$、$6x\ 10^6$、$7x\ 10^6$、$8x\ 10^6$、$9x\ 10^6$、$1x\ 10^7$、$1.1x\ 10^7$、$1.2x\ 10^7$、$1.25x\ 10^7$、$1.3x\ 10^7$、$1.4x\ 10^7$、$1.5x\ 10^7$、$1.6x\ 10^7$、$1.7x$

10^7、1.75x 10^7、1.8x 10^7、1.9x 10^7、2x 10^7、2.5x 10^7、5x 10^7、7.5x 10^7、3x 10^7、3.5x 10^7、4x 10^7、5x 10^7、7x 10^7、8x 10^7、9x 10^7、1x 10^8、2x 10^8、3x 10^8、4x 10^8、5x 10^8、6x 10^7、7x 10^8、8x 10^8、1x 10^8、1x 10^9、5x 10^9或1x 10^{10}。

[0179] B.淋巴细胞清除剂或疗法

[0180] 在一些实施方案中，本文所提供的方法含有将淋巴细胞清除剂或疗法给予小鼠的一个或多个步骤。在特定实施方案中，所述淋巴细胞清除剂或疗法降低所述小鼠中一种或多种淋巴细胞的水平和/或量。在某些实施方案中，所述淋巴细胞清除剂或疗法降低所述小鼠中一种或多种循环淋巴细胞的水平和/或量。在一些实施方案中，所述一种或多种淋巴细胞群体是或包括T细胞、B细胞和/或天然杀伤细胞。

[0181] 在一些实施方案中，所述一种或多种淋巴细胞是或包括效应T细胞、辅助T细胞、细胞毒性T细胞、记忆T细胞、调节性(抑制)T细胞、天然杀伤T细胞、粘膜相关的不变T细胞、γδT细胞、浆细胞、记忆B细胞、滤泡性B细胞、边缘区B细胞、B1细胞、B2细胞、调节B细胞和/或天然杀伤细胞。在一些实施方案中，所述一种或多种淋巴细胞是或包括$CD45^+$细胞、$CD11b^+$细胞、$CD45^{hi}$;$CD11b^+$细胞、B细胞、T细胞、$CD4^+$细胞和/或$CD8^+$细胞。在特定实施方案中，所述淋巴细胞清除剂或疗法将一种或多种淋巴细胞的水平和/或量降低至少10％、至少20％、至少30％、至少40％、至少50％、至少60％、至少70％、至少80％、至少90％、至少95％、至少97％、至少99％、至少99.9％或至少99.99％。在一些实施方案中，所述淋巴细胞清除剂或疗法去除介于或介于约10％与99.99％之间、30％与99.9％之间、30％与70％之间、40％与80％之间、50％与90％之间、40％与60％之间、50％与70％之间、60％与80％之间、70％与90％之间、75％与99％之间、60％与90％之间、80％与99.9％之间、90％与99.9％之间、95％与99.99％之间、50％与60％之间、55％与65％之间、60％与70％之间、65％与75％之间、70％与80％之间、75％与85％之间、80％与90％之间、85％与95％之间或80％与100％之间(每个都包含端值)或约100％的所述一种或多种淋巴细胞。在某些实施方案中，在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法之后在、在约或在至少30分钟、1小时、2小时、3小时、4小时、6小时、8小时、12小时、24小时、36小时、48小时、60小时、72小时、5天、7天、1周、2周、3周或4周，测量和/或确定所述淋巴细胞清除剂或疗法导致的所述一种或多种淋巴细胞群体的减少。在特定实施方案中，所述淋巴细胞清除剂或疗法减少以下的所述一种或多种淋巴细胞：少于100％、少于95％、少于90％或少于85％。

[0182] 在一些实施方案中，所述淋巴细胞清除剂或疗法不是或不包括全身放射，也称为全身照射或TBI。在某些实施方案中，TBI是递送到全身的放射治疗。

[0183] 在特定实施方案中，所述淋巴细胞清除剂或疗法不会完全去除所有淋巴细胞或引起完全或基本上完全的免疫消融。在一些实施方案中，在给予所述淋巴细胞清除疗法之后，存在至少0.001％、至少0.01％、至少0.1％、至少1％、至少5％、至少10％、至少％、至少20％、至少25％、至少30％、至少40％或至少50％的一种或多种群体。在某些实施方案中，在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法之后30分钟、1小时、2小时、3小时、4小时、6小时、8小时、12小时、24小时、36小时、48小时、60小时、72小时、5天、7天、1周、2周、3周或4周，存在至少或至少约0.001％、至少0.01％、至少0.1％、至少1％、至少5％、至少10％、至少％、至少20％、至少25％、至少30％、至少40％或至少50％的一种或多种群体。

[0184] 在特定实施方案中，所述淋巴细胞清除剂或疗法(i)不是或不包括全身照射，并且

(ii)不会完全去除所有淋巴细胞或引起完全或基本上完全的免疫消融。

[0185] 在一些实施方案中,将淋巴细胞清除剂给予所述小鼠,例如,免疫活性BALB/c小鼠。在某些实施方案中,将淋巴细胞清除疗法给予所述小鼠。在特定实施方案中,所述淋巴细胞清除疗法是或包括给予两个或更多个剂量的一种或多种淋巴细胞清除剂。在某些实施方案中,所述淋巴细胞清除疗法是或包括给予两种或更多种不同的淋巴细胞清除剂。在一些实施方案中,所述淋巴细胞清除疗法是或包括给予至少两种、三种、四种、五种、十种、二十种或五十种不同的淋巴细胞清除剂。

[0186] 在特定实施方案中,将所述淋巴细胞清除剂给予荷瘤小鼠,如先前注射抗原表达细胞或肿瘤细胞的小鼠,如第I.D节中所述的那些。在一些实施方案中,在肿瘤负荷是或包括以下肿瘤大小时,将所述淋巴细胞清除剂给予小鼠:直径大于或大于约或为约1mm、2mm、3mm、4mm、5mm、6mm、7mm、8mm、9mm、10mm、15mm、20mm或大于20mm。在一些实施方案中,所述肿瘤负荷是直径介于或介于约1mm与20mm之间、5mm与15mm之间、5mm与10mm之间或10mm与15mm之间,包括端值。在某些实施方案中,所述肿瘤负荷是或包括直径为、为约或为至少5mm的肿瘤大小。在各个实施方案中,所述肿瘤负荷是或包括以下的肿瘤体积:大于或大于约或为约30mm^3、40mm^3、50mm^3、60mm^3、70mm^3、80mm^3、90mm^3、100mm^3、500mm^3或1,000mm^3。在特定实施方案中,所述肿瘤负荷是或包括以下的肿瘤体积:大于或大于约或为约60mm^3、70mm^3、80mm^3、90mm^3或100mm^3。测量肿瘤负荷的方法和技术是已知的,并且包括以下文献中所述的那些:Bendandi等人,J Vaccines Immunol:JVII-120.DOI:10.29011/2575-789X.000020。

[0187] 在一些实施方案中,所述淋巴细胞清除剂是或包括靶向在淋巴细胞和/或一种或多种淋巴细胞群体上存在的抗原的抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,淋巴细胞清除剂是或包括结合至T细胞抗原的抗体或其抗原结合片段。在某些实施方案中,所述抗原是CD2、CD3、CD4、CD8、CD11a、CD18和/或CD52。

[0188] 在一些实施方案中,所述淋巴细胞清除剂是或包括化学治疗剂。在一些实施方案中,所述淋巴细胞清除剂是或包括选自以下的一种或多种化学治疗剂:烷化剂、顺铂和其类似物、抗代谢物、拓扑异构酶相互作用剂、抗微管剂、干扰素、白细胞介素-2、组蛋白脱乙酰基酶抑制剂、单克隆抗体、雌激素调节剂、甲地孕酮和/或芳香酶抑制剂。在某些实施方案中,所述淋巴细胞清除剂是或包括毒素(例如,皂草素、蓖麻毒素、相思豆毒蛋白、溴乙啶、白喉毒素、假单胞菌外毒素和上文列出的其他毒素);烷化剂(例如,氮芥(nitrogen mustard),如苯丁酸氮芥、环磷酰胺、异环磷酰胺、氮芥(mechlorethamine)、美法仑和尿嘧啶氮芥;氮丙啶,如噻替哌;甲磺酸酯,如白消安;亚硝基脲,如卡莫司汀、洛莫司汀和链脲佐菌素;铂络合物,如顺铂和卡铂;生物还原性烷化剂,如丝裂霉素、丙卡巴肼、达卡巴嗪和六甲蜜胺);DNA断链剂(例如,博来霉素);拓扑异构酶II抑制剂(例如,安吖啶、更生霉素、柔红霉素、伊达比星、米托蒽醌、多柔比星、依托泊苷和替尼泊苷);DNA小沟结合剂(例如,普卡霉素);抗代谢物(例如,叶酸拮抗剂,如甲氨蝶呤和三甲曲沙;嘧啶拮抗剂,如氟尿嘧啶、氟脱氧尿苷、CB3717、阿扎胞苷、阿糖胞苷和氟尿苷;嘌呤拮抗剂,如巯嘌呤、6-硫鸟嘌呤、氟达拉滨、喷司他丁;天冬酰胺酶;和核糖核苷酸还原酶抑制剂,如羟基脲);微管蛋白相互作用剂(例如,长春新碱、长春碱和紫杉醇(泰素));激素剂(例如,雌激素;缀合雌激素;炔雌醇;二乙基己烯雌酚;氯烯雌醚;己二烯雌酚;孕激素,如己酸羟孕酮、甲羟孕酮和甲地孕酮;和雄激素,如睾酮、丙酸睾酮、氟甲睾酮和甲基睾酮);肾上腺皮质类固醇(例如,泼尼松、地塞米

松、甲基泼尼松龙和泼尼松龙)；促黄体激素释放剂或促性腺激素释放激素拮抗剂(例如，醋酸亮丙瑞林和醋酸戈舍瑞林)；和抗激素抗原(例如，他莫昔芬、抗雄激素剂，如氟他胺；和抗肾上腺剂，如米托坦和氨鲁米特)。

[0189] 在一些实施方案中，所述淋巴细胞清除剂是或包括烷化剂。在某些实施方案中，所述烷化剂是或包括氮芥(nitrogen mustard)。在特定实施方案中，所述烷化剂是或包括苯丁酸氮芥、环磷酰胺、异环磷酰胺、氮芥(mechlorethamine)、美法仑或尿嘧啶氮芥。在一些实施方案中，所述烷化剂是或包括氮丙啶。在某些实施方案中，所述烷化剂是或包括噻替哌。在特定实施方案中，所述烷化剂是或包括甲磺酸酯。在一些实施方案中，所述烷化剂是或包括白消安。在特定实施方案中，所述烷化剂是或包括亚硝基脲。在特定实施方案中，所述烷化剂是或包括卡莫司汀、洛莫司汀或链脲佐菌素。在特定实施方案中，所述烷化剂是或包括铂络合物。在特定实施方案中，所述烷化剂是或包括顺铂或卡铂。在一些实施方案中，所述烷化剂是或包括生物还原性烷化剂。在一些实施方案中，所述烷化剂是或包括丝裂霉素、丙卡巴肼、达卡巴嗪或六甲蜜胺。

[0190] 在一些实施方案中，所述免疫疗法是或包括一个或多个剂量的一种或多种淋巴细胞清除剂。在一些实施方案中，将单一剂量的所述淋巴细胞清除剂给予所述小鼠，例如，免疫活性小鼠。在特定实施方案中，将一个剂量、两个剂量、三个剂量、四个剂量、五个剂量、六个剂量、七个剂量、八个剂量、九个剂量、十个剂量、多于十个剂量、多于二十个剂量、多于三十个剂量、多于四十个剂量或多于五十个剂量的所述一种或多种淋巴细胞清除剂给予所述小鼠。在一些实施方案中，一种或多种淋巴细胞清除剂是一次给予。在某些实施方案中，多于一个剂量的所述淋巴细胞清除剂是在为或为约24小时、48小时、72小时、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、2周、3周、4周、5周、6周或超过6周的时间段内给予。在特定实施方案中，多于一个剂量的所述淋巴细胞清除剂是在以下的时间段内给予：少于24小时、少于48小时、少于72小时、少于4天、少于5天、少于6天、少于7天、少于8天、少于9天、少于10天、少于11天、少于12天、少于13天、少于14天、少于2周、少于3周、少于4周、少于5周或少于6周。在某些实施方案中，将所述淋巴细胞清除剂按以下频率给予所述受试者：每天一次、每天两次、每天三次、每天四次、每天五次、每天六次、每天八次、每天十次或每天十二次。在一些实施方案中，所述淋巴细胞清除剂的多个剂量是相隔以下时间、大约相隔以下时间或相隔以下时间内给予：相隔1小时、相隔2小时、相隔3小时、相隔4小时、或相隔5分钟与1小时之间、相隔1小时与2小时之间、相隔2与4小时之间、相隔4与12小时之间、或相隔12与24小时之间，每个都包含端值。在一些实施方案中，所述淋巴细胞清除剂是按以下频率给予：一天一次、每2天、3天、4天、5天、6天一次、一周一次、一周两次、一周三次、一个月一次、一个月两次、一个月三次、一个月四次或一个月五次。在一些实施方案中，所述淋巴细胞清除疗法是或包括在三天时间段内给予的两个或更多个剂量。在一些实施方案中，所述淋巴细胞清除疗法是或包括给予一个或多个剂量或两种或更多种淋巴细胞清除剂。在某些实施方案中，所述两种或更多种淋巴细胞清除剂是或包括氟达拉滨和环磷酰胺。在一些实施方案中，所述淋巴细胞清除疗法是或包括一个或多个剂量的单一淋巴细胞清除剂。在一些实施方案中，所述淋巴细胞清除疗法是或包括单一剂量的单一淋巴细胞清除剂。在某些实施方案中，所述淋巴细胞清除剂是或包括环磷酰胺。

[0191] 在一些实施方案中，所述一个或多个剂量的所述淋巴细胞清除剂是按以下方式给

予:口服、静脉内、腹膜内、经皮、鞘内、肌内、鼻内、经粘膜、皮下或经直肠。在一些实施方案中,所述淋巴细胞清除剂的剂量是或包括介于或介于约1μg/kg与1,000mg/kg之间、介于1μg/kg与100μg/kg之间、介于100μg/kg与500μg/kg之间、介于500μg/kg与1,000μg/kg之间、介于1mg/kg与10mg/kg之间、介于10mg/kg与100mg/kg之间、介于100mg/kg与500mg/kg之间、介于200mg/kg与300mg/kg之间、介于100mg/kg与250mg/kg之间、介于200mg/kg与400mg/kg之间、介于250mg/kg与500mg/kg之间、介于250mg/kg与750mg/kg之间、介于50mg/kg与750mg/kg之间、介于1mg/kg与10mg/kg之间或介于100mg/kg与1,000mg/kg之间(所述淋巴细胞清除剂相对于体重的量,每个都包含端值)。在一些实施方案中,所述淋巴细胞清除剂的剂量为、为至少、或为约1μg/kg、5μg/kg、10μg/kg、50μg/kg、100μg/kg、200μg/kg、300μg/kg、400μg/kg、500μg/kg、600μg/kg、700μg/kg、800μg/kg、900μg/kg、1mg/kg、5mg/kg、10mg/kg、25mg/kg、50mg/kg、100mg/kg、150mg/kg、200mg/kg、250mg/kg、300mg/kg、350mg/kg、400mg/kg、450mg/kg、500mg/kg、550mg/kg、600mg/kg、650mg/kg、700mg/kg、750mg/kg、800mg/kg、850mg/kg、900mg/kg、950mg/kg或1g/kg。

[0192] 在某些实施方案中,所述淋巴细胞清除剂是或包括环磷酰胺。在一些实施方案中,所述环磷酰胺是一次给予。在特定实施方案中,所述环磷酰胺是按以下方式给予:口服、静脉内、腹膜内、经皮、鞘内、肌内、鼻内、经粘膜、皮下或经直肠。在特定实施方案中,所述环磷酰胺(CPA)是腹膜内给予。在特定实施方案中,环磷酰胺的剂量为介于1mg/kg与10mg/kg之间、介于10mg/kg与100mg/kg之间、介于100mg/kg与500mg/kg之间、介于200mg/kg与300mg/kg之间、介于100mg/kg与250mg/kg之间、介于200mg/kg与400mg/kg之间、介于250mg/kg与500mg/kg之间、介于250mg/kg与750mg/kg之间、介于50mg/kg与750mg/kg之间、介于1mg/kg与10mg/kg之间或介于100mg/kg与1,000mg/kg之间(所述环磷酰胺相对于体重的量,每个都包含端值)。在一些实施方案中,所述环磷酰胺的剂量为或为约10mg/kg、25mg/kg、50mg/kg、100mg/kg、150mg/kg、200mg/kg、250mg/kg、300mg/kg、350mg/kg、400mg/kg、450mg/kg、500mg/kg、550mg/kg、600mg/kg、650mg/kg、700mg/kg、750mg/kg、800mg/kg、850mg/kg、900mg/kg、950mg/kg或1g/kg。

[0193] 在一些实施方案中,将约、大于或大于约100mg/kg的环磷酰胺腹膜内给予小鼠,例如,免疫活性小鼠。在某些实施方案中,将100mg/kg环磷酰胺腹膜内(i.p.)给予小鼠,例如,免疫活性小鼠。在各个实施方案中,将约、至少或至少约250mg/kg的环磷酰胺腹膜内给予小鼠,例如,免疫活性小鼠。在某些实施方案中,将250mg/kg的环磷酰胺腹膜内给予小鼠,例如,免疫活性小鼠。

[0194] C.免疫疗法

[0195] 本文所提供的方法的特定实施方案包括给予免疫疗法的一个或多个步骤,所述免疫疗法如细胞疗法、T细胞疗法(例如,工程化T细胞疗法,如CAR表达T细胞)和/或T细胞接合疗法。在一些实施方案中,将所述免疫疗法给予小鼠,例如,免疫活性小鼠。

[0196] 在一些实施方案中,本文所提供的方法含有将所述免疫疗法给予本文所述小鼠(例如,第I.A节中所述小鼠)的一个或多个步骤。在特定实施方案中,本文所提供的方法包括将所述免疫疗法给予具有减少的淋巴细胞或免疫细胞的群体的小鼠的一个或多个步骤。在某些实施方案中,本文所提供的方法包括将所述免疫疗法(例如,如本文中(如在第I.C节中)所述的免疫疗法)给予已经给予淋巴细胞清除剂或疗法(例如,在本文中(如在第I.B节

中)所述的淋巴细胞清除剂或疗法)的小鼠的一个或多个步骤。在一些实施方案中,本文所提供的方法包括将所述免疫疗法给予小鼠的一个或多个步骤,所述小鼠具有表达由所述免疫疗法结合和/或识别的抗原的外源细胞。在一些实施方案中,本文所提供的方法包括将所述免疫疗法给予小鼠的一个或多个步骤,所述小鼠已经被给予、注射或输注抗原表达细胞,例如,表达由所述免疫疗法结合和/或识别的抗原的外源细胞。在某些实施方案中,所述外源细胞和/或所述抗原表达细胞是本文所述的抗原表达细胞,如在第I.D节中所述的那些。

[0197] 在某些实施方案中,所述免疫疗法是在给予淋巴细胞清除剂之前、之后或期间给予。在某些实施方案中,所述免疫疗法是在给予所述淋巴细胞清除剂期间给予。在一些实施方案中,所述淋巴细胞清除剂是在给予所述淋巴细胞清除剂之后给予。在某些实施方案中,所述免疫疗法是在给予所述淋巴细胞清除剂之后的以下时间给予:约4周内、3周内、2周内、14天内、13天内、12天内、11天内、10天内、9天内、8天内、7天内、6天内、5天内、4天内、3天内、72小时内、60小时内、48小时内、42小时内、36小时内、30小时内、24小时内、18小时内、12小时内、6小时内、4小时内、3小时内、2小时内或1小时内。在特定实施方案中,所述免疫疗法是在给予所述淋巴细胞清除剂之后在以下时间、大约在以下时间或在以下时间内给予:4周、3周、2周、14天、13天、12天、11天、10天、9天、8天、7天、6天、5天、4天、3天、72小时、60小时、48小时、42小时、36小时、30小时、24小时、18小时、12小时、6小时、4小时、3小时、2小时或1小时。

[0198] 在某些实施方案中,所述免疫疗法结合至抗原。在特定实施方案中,所述免疫疗法结合至和/或识别在细胞或组织之上或之中表达的抗原。在某些实施方案中,所述抗原是在细胞或组织之上或之中表达。在一些实施方案中,所述抗原是在小鼠细胞或组织之上或之中表达。在特定实施方案中,所述抗原是在细胞表面上表达。在一些实施方案中,所述抗原是在小鼠细胞表面上表达。在特定实施方案中,所述抗原是在循环细胞中或循环细胞上表达。在一些实施方案中,所述抗原是在循环细胞的表面上表达。在特定实施方案中,所述抗原是在小鼠细胞循环细胞的表面上表达。

[0199] 在某些实施方案中,向小鼠注射免疫疗法,所述免疫疗法被给予人受试者用于治疗疾病,或者是给予人受试者用于治疗疾病的候选免疫疗法。在特定实施方案中,所述免疫疗法结合至和/或识别与疾病相关的抗原。可以在人受试者中用所述免疫疗法治疗的疾病、病症和障碍包括肿瘤,包括实体瘤、血液学恶性肿瘤和黑色素瘤,并且包括局部和转移性肿瘤;感染性疾病,如病毒或其他病原体的感染,例如,HIV、HCV、HBV、CMV、HPV和寄生虫病;以及自身免疫和炎性疾病。在一些实施方案中,所述疾病或病症是肿瘤、癌症、恶性肿瘤、赘生物或其他增殖性疾病或障碍。此类疾病包括但不限于白血病、淋巴瘤(例如慢性淋巴细胞白血病(CLL)、ALL、非霍奇金淋巴瘤、急性髓样白血病、多发性骨髓瘤、难治性滤泡性淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、惰性B细胞淋巴瘤、B细胞恶性肿瘤)、结肠癌、肺癌、肝癌、乳腺癌、前列腺癌、卵巢癌、皮肤癌、黑素瘤、骨癌和脑癌、卵巢癌、上皮癌、肾细胞癌、胰腺腺癌、霍奇金淋巴瘤、宫颈癌、结肠直肠癌、胶质母细胞瘤、神经母细胞瘤、尤因肉瘤、髓母细胞瘤、骨肉瘤、滑膜肉瘤和/或间皮瘤。

[0200] 在一些实施方案中,所述疾病或病症是肿瘤,例如,大型肿瘤负荷,如大型实体瘤,或大量或大体积的疾病相关(例如,肿瘤)细胞。在一些方面,疾病或病症是或包括大量转移和/或转移的广泛定位。在一些方面,受试者体内的肿瘤负荷低,并且所述受试者具有极少

转移。

[0201] 在一些实施方案中，所述抗原与疾病或病症相关。在特定实施方案中，所述抗原是与疾病或病症相关的人抗原的小鼠蛋白同源物。在特定实施方案中，所述疾病或病症是感染性疾病或病症，例如但不限于病毒、逆转录病毒、细菌和原生动物感染、免疫缺陷、巨细胞病毒(CMV)、埃-巴二氏病毒(EBV)、腺病毒、BK多瘤病毒。在一些实施方案中，所述疾病或病症是自身免疫性或炎性疾病或病症，如关节炎(例如类风湿性关节炎(RA))、I型糖尿病、系统性红斑狼疮(SLE)、炎性肠病、银屑病、硬皮病、自身免疫性甲状腺疾病、格雷夫斯病、克罗恩病、多发性硬化症、哮喘和/或与移植相关的疾病或病症。

[0202] 在某些实施方案中，所述抗原是小鼠蛋白或其部分。在一些实施方案中，所述抗原选自αvβ6整合素(avb6整合素)、B细胞成熟抗原(BCMA)、B7-H3、B7-H6、碳酸酐酶9(CA9，也称为CAIX或G250)、癌症-睾丸抗原、癌症/睾丸抗原1B(CTAG，也称为NY-ESO-1和LAGE-2)、癌胚抗原(CEA)、细胞周期蛋白、细胞周期蛋白A2、C-C基序趋化因子配体1(CCL-1)、CD19、CD20、CD22、CD23、CD24、CD30、CD33、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD123、CD133、CD138、CD171、硫酸软骨素蛋白聚糖4(CSPG4)、表皮生长因子蛋白(EGFR)、III型表皮生长因子受体突变(EGFR vIII)、上皮糖蛋白2(EPG-2)、上皮糖蛋白40(EPG-40)、肝配蛋白B2、肝配蛋白受体A2(EPHa2)、雌激素受体、Fc受体样蛋白5(FCRL5；也称为Fc受体同源物5或FCRH5)、胎儿乙酰胆碱受体(胎儿AchR)、叶酸结合蛋白(FBP)、叶酸受体α、神经节苷脂GD2、O-乙酰化GD2(OGD2)、神经节苷脂GD3、糖蛋白100(gp100)、磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(GPC3)、G蛋白偶联受体5D(GPCR5D)、Her2/neu(受体酪氨酸激酶erb-B2)、Her3(erb-B3)、Her4(erb-B4)、erbB二聚体、人高分子量黑色素瘤相关抗原(HMW-MAA)、乙型肝炎表面抗原、人白细胞抗原A1(HLA-A1)、人白细胞抗原A2(HLA-A2)、IL-22受体α(IL-22Rα)、IL-13受体α2(IL-13Rα2)、激酶插入结构域受体(kdr)、κ轻链、L1细胞粘附分子(L1-CAM)、L1-CAM的CE7表位、含有富亮氨酸重复序列的蛋白8家族成员A(LRRC8A)、路易斯Y、黑色素瘤相关抗原(MAGE)-A1、MAGE-A3、MAGE-A6、MAGE-A10、间皮素(MSLN)、c-Met、鼠类巨细胞病毒(CMV)、粘蛋白1(MUC1)、MUC16、自然杀伤细胞2族成员D(NKG2D)配体、黑色素A(MART-1)、神经细胞粘附分子(NCAM)、癌胚胎抗原、优先表达的黑色素瘤抗原(PRAME)、孕酮受体、前列腺特异性抗原、前列腺干细胞抗原(PSCA)、前列腺特异性膜抗原(PSMA)、受体酪氨酸激酶样孤儿受体1(ROR1)、存活蛋白、滋养层糖蛋白(TPBG，也称为5T4)、肿瘤相关糖蛋白72(TAG72)、酪氨酸酶相关蛋白1(TRP1，也称为TYRP1或gp75)、酪氨酸酶相关蛋白2(TRP2，也称为多巴色素互变异构酶、多巴色素δ异构酶或DCT)、血管内皮生长因子受体(VEGFR)、血管内皮生长因子受体2(VEGFR2)、Wilms肿瘤1(WT-1)、病原体特异性或病原体表达的抗原、或与通用标签相关的抗原、和/或生物素化分子、和/或由HIV、HCV、HBV或其他病原体表达的分子。所述受体靶向的抗原在一些实施方案中包括与B细胞恶性肿瘤相关的抗原，如多种已知B细胞标记中的任一种。在一些实施方案中，所述抗原是或包括CD20、CD19、CD22、ROR1、CD45、CD21、CD5、CD33、Igκ、Igλ、CD79a、CD79b或CD30。

[0203] 在特定实施方案中，所述抗原是在B细胞上表达的小鼠抗原。在B细胞中或B细胞上表达的抗原包括但不限于CD19、CD20、CD22、CD23、CD38、B220、CD40、CD43、CD138、CXCR4、BCMA、IL-6R、B220、CD21、CD35、CD24、CD23和/或CD40。在某些实施方案中，所述抗原是B细胞成熟抗原(BCMA)、CD19、CD20、CD22、CD24、CD30、和/或CD38。在一些实施方案中，所述抗原是

CD19。

[0204] 在一些实施方案中，所述免疫疗法具有外源来源，如非宿主细胞、抗体或蛋白质。在某些实施方案中，所述免疫疗法对于所述小鼠是外源的。因此，在一些实施方案中，所述免疫疗法(例如，细胞、抗体或蛋白质)是外来的，例如对于所述小鼠是外来的。在一些实施方案中，所述免疫疗法通常不是所述小鼠产生的或且并非衍生自所述小鼠。

[0205] 在特定实施方案中，将所述免疫疗法给予荷瘤小鼠，如先前用抗原表达细胞或肿瘤细胞注射的小鼠，如第I.D节中所述的那些。在特定实施方案中，在肿瘤负荷是或包括以下肿瘤大小时，将所述免疫疗法给予小鼠：直径大于或大于约或为约1mm、2mm、3mm、4mm、5mm、6mm、7mm、8mm、9mm、10mm、15mm、20mm或大于20mm。在一些实施方案中，所述肿瘤负荷是直径介于或介于约1mm与20mm之间、5mm与15mm之间、5mm与10mm之间或10mm与15mm之间，包括端值。在某些实施方案中，所述肿瘤负荷是或包括直径为、为约或为至少5mm的肿瘤大小。在各个实施方案中，所述肿瘤负荷是或包括以下的肿瘤体积：大于或大于约或为约30mm^3、40mm^3、50mm^3、60mm^3、70mm^3、80mm^3、90mm^3、100mm^3、500mm^3或1,000mm^3。在特定实施方案中，所述肿瘤负荷是或包括以下的肿瘤体积：大于或大于约或为约60mm^3、70mm^3、80mm^3、90mm^3或100mm^3。

[0206] 在特定实施方案中，所述小鼠模型是通过以下方式来产生：(i)将不会导致完全免疫消融的淋巴细胞清除剂给予免疫活性小鼠，和(ii)给予免疫疗法。在一些实施方案中，所述免疫疗法是在所述淋巴细胞清除剂之后在以下时间、大约在以下时间或在以下时间内给予：7天、6天、5天、4天、3天、72小时、60小时、48小时、36小时、24小时、18小时、12小时或6小时。在特定实施方案中，所述小鼠模型是通过以下方式来产生：以不会导致完全免疫消融的剂量给予淋巴细胞清除剂(例如，环磷酰胺(CPA))，然后在给予所述淋巴细胞清除剂之后在以下时间、大约在以下时间或在以下时间内将免疫疗法(例如，免疫细胞疗法)给予免疫活性小鼠(例如，BALB/c小鼠)：72小时、60小时、48小时、36小时、30小时、24小时、18小时、12小时或6小时，或介于或介于约6小时与72小时之间、12小时与48小时之间或18小时与30小时之间，每个都包含端值。在一些实施方案中，所述免疫疗法是免疫系统刺激剂或细胞疗法，例如，CAR T细胞疗法。在某些实施方案中，所述免疫活性小鼠先前被给予或注射抗原表达细胞，所述抗原表达细胞表达由所述免疫疗法结合或识别的抗原。

[0207] 在某些实施方案中，所述小鼠模型是通过以下方式来产生：将介于或介于约1mg/kg与1,000mg/kg之间、介于10mg/kg与750mg/kg之间或介于50mg/kg与500mg/kg之间(所述药剂相对于体重的量)的淋巴细胞清除剂腹膜内给予免疫活性BALB/c小鼠(或其品系或亚品系)，然后在给予所述淋巴细胞清除剂之后介于或介于约6小时与72小时之间、12小时与48小时之间或18小时与30小时之间，给予免疫疗法(例如，免疫细胞疗法)。在特定实施方案中，所述淋巴细胞清除剂是CPA。在特定实施方案中，所述免疫活性BALB/c小鼠先前被给予或注射抗原表达细胞，所述抗原表达细胞表达由所述免疫疗法结合或识别的抗原。

[0208] 1.免疫系统刺激剂

[0209] 在某些实施方案中，所述免疫疗法是或含有免疫系统激活剂或刺激剂。在某些实施方案中，所述免疫系统刺激剂是激活至少一种免疫细胞的药剂或疗法。在一些实施方案中，所述免疫细胞是T细胞。在某些实施方案中，所述免疫细胞激活剂是IL-2，例如，阿地白介素；rhu-IFN-α-2a和/或rhu-IFN-α-2b，例如，派罗欣、罗扰素-A、内含子-A和PEG内含子；

抗CD3单克隆抗体，例如，莫罗单抗-CD3和/或Orthoclone OKT 3;TGN-1412;和/或博纳吐单抗，例如，抗CD3xCD19 BiTE。

[0210] 在一些实施方案中，所述免疫疗法是或含有T细胞接合疗法，所述T细胞接合疗法是或包含能够结合至T细胞上表达的表面分子的结合分子。在一些实施方案中，所述表面分子是T细胞的激活组分，如T细胞受体复合物的组分。在一些实施方案中，所述表面分子是CD3或者是CD2。在一些实施方案中，所述T细胞接合疗法是或包含抗体或抗原结合片段。在一些实施方案中，所述T细胞接合疗法是双特异性抗体，其含有结合至T细胞的激活组分(例如，T细胞表面分子，例如CD3或CD2)的至少一个抗原结合结构域和结合至靶细胞上的表面抗原(如肿瘤或癌细胞上的表面抗原，例如如本文所述的所列出抗原中的任一种，例如CD19)的至少一个抗原结合结构域。在一些实施方案中，这种抗体与其两种靶标同时或几乎同时结合可以导致靶细胞和T细胞之间的短暂相互作用，从而导致所述T细胞的激活(例如细胞毒活性)和随后所述靶细胞的裂解。

[0211] 此类示例性双特异性抗体T细胞接合器包括双特异性T细胞接合器(BiTE)分子，其含有通过柔性接头融合的串联scFv分子(参见例如，Nagorsen和Bauerle,Exp Cell Res 317,1255-1260(2011))；通过例如柔性接头彼此融合的串联scFv分子，并且还含有由能够稳定缔合的第一和第二亚基构成的Fc结构域(WO 2013026837)；双抗体及其衍生物，包括串联双抗体(Holliger等人,Prot Eng 9,299-305(1996);Kipriyanov等人,J Mol Biol 293,41-66(1999))；双亲和重靶向(DART)分子，其可以包括具有C末端二硫桥的双抗体形式;或者包括完整的杂合小鼠/大鼠IgG分子的三功能单抗(triomab)(Seimetz等人,Cancer Treat Rev 36,458-467(2010))。在一些实施方案中，所述T细胞接合疗法是博纳吐单抗或AMG 330。此类T细胞接合器中的任一种可以用于所提供的方法、组合物或组合中。

[0212] 所述免疫系统刺激剂和/或所述T细胞接合疗法可以通过任何合适的方式来给予，例如，通过推注输注，通过注射，静脉内或皮下注射、眼内注射、眼周注射、视网膜下注射、玻璃体内注射、经中隔注射、巩膜下注射、脉络膜内注射、前房注射、结膜下(subconjectval)注射、结膜下(subconjuntival)注射、眼球筋膜囊下(sub-Tenon)注射、球后注射、球周注射或后近巩膜(posterior juxtascleral)递送。在一些实施方案中，通过以下方式来给予所述免疫疗法:肠胃外、肺内和鼻内，并且，如果需要局部治疗，则进行病灶内给予。肠胃外输注包括肌内、静脉内、动脉内、腹膜内、胸腔内、颅内或皮下给予。

[0213] 在某些实施方案中，给予一个或多个剂量的T细胞接合疗法和/或免疫系统刺激剂。在特定实施方案中，给予介于或介于约0.001μg与约5,000μg之间(包括端值)的所述T细胞接合疗法和/或免疫系统刺激剂。在特定实施方案中，给予以下量的所述T细胞接合疗法:介于或介于约0.001μg与1,000μg之间、0.001μg至1μg之间、0.01μg至1μg之间、0.1μg至10μg之间、0.01μg至1μg之间、0.1μg与5μg之间、0.1μg与50μg之间、1μg与100μg之间、10μg与100μg之间、50μg与500μg之间、100μg与1,000μg之间、1,000μg与2,000μg之间或2,000μg与5,000μg之间。在一些实施方案中，所述T细胞接合疗法的剂量是或包括介于或介于约0.01μg/kg与100mg/kg之间、0.1μg/kg与10μg/kg之间、10μg/kg与50μg/kg之间、50μg/kg与100μg/kg之间、0.1mg/kg与1mg/kg之间、1mg/kg与10mg/kg之间、10mg/kg与100mg/kg之间、100mg/kg与500mg/kg之间、200mg/kg与300mg/kg之间、100mg/kg与250mg/kg之间、200mg/kg与400mg/kg之间、250mg/kg与500mg/kg之间、250mg/kg与750mg/kg之间、50mg/kg与750mg/kg之间、1mg/

kg与10mg/kg之间或100mg/kg与1,000mg/kg之间(所述淋巴细胞清除剂相对于体重的量),每个都包含端值。在一些实施方案中,所述T细胞接合疗法的剂量是至少或至少约或者为或为约0.1μg/kg、0.5μg/kg、1μg/kg、5μg/kg、10μg/kg、20μg/kg、30μg/kg、40μg/kg、50μg/kg、60μg/kg、70μg/kg、80μg/kg、90μg/kg、0.1mg/kg、0.5mg/kg、1mg/kg、2.5mg/kg、5mg/kg、10mg/kg、15mg/kg、20mg/kg、25mg/kg、30mg/kg、35mg/kg、40mg/kg、45mg/kg、50mg/kg、55mg/kg、60mg/kg、65mg/kg、70mg/kg、75mg/kg、80mg/kg、85mg/kg、90mg/kg、95mg/kg、100mg/kg、200mg/kg、300mg/kg、400mg/kg、500mg/kg、600mg/kg、700mg/kg、800mg/kg、900mg/kg或1,000mg/kg。在特定实施方案中,所述T细胞接合疗法是按以下方式给予:口服、静脉内、腹膜内、经皮、鞘内、肌内、鼻内、经粘膜、皮下或经直肠。

[0214] 2.细胞疗法

[0215] 在一些实施方案中,本文所提供的方法含有给予和/或输注免疫疗法的一个或多个步骤。在某些实施方案中,所述免疫疗法是含有一种或多种工程化细胞的细胞组合物。在一些实施方案中,所述工程化细胞表达重组受体。在特定实施方案中,所述重组受体是嵌合抗原受体(CAR)。在特定实施方案中,所述重组受体是T细胞受体(TCR),例如,重组TCR。在一些实施方案中,所述细胞组合物包括或含有表达重组受体的细胞。在特定实施方案中,所述细胞组合物包括或含有表达CAR的细胞。在某些实施方案中,所述细胞组合物是或包括表达重组TCR的细胞。在特定实施方案中,所述细胞组合物包括小鼠细胞和/或是由小鼠细胞构成。

[0216] 在一些实施方案中,用于本文所提供的免疫疗法或与本文所提供的免疫疗法结合给予的细胞含有或经工程化以含有工程化受体,例如,工程化抗原受体(如嵌合抗原受体(CAR))或T细胞受体(TCR)。还提供此类细胞(例如,免疫细胞)的群体、含有此类细胞和/或富集此类细胞的组合物,如其中富集或选择某一类型的细胞,如T细胞或CD8+或CD4+细胞。在一些实施方案中,所述细胞是或包括免疫细胞,如从脾细胞(例如,小鼠脾细胞)分离、富集或选择的免疫细胞。所述组合物包括用于给予(如用于过继细胞疗法)的药物组合物和配制品。还提供根据所提供的方法将所述细胞和组合物给予受试者(例如患者)的治疗方法。

[0217] 在一些实施方案中,所述细胞包括通过遗传工程化引入的一种或多种核酸,并由此表达此类核酸的重组或遗传工程化产物。在一些实施方案中,通过以下方式完成基因转移:首先刺激所述细胞,如通过将其与诱导应答(如增殖、存活和/或激活,例如如通过细胞因子或激活标记的表达所测量的)的刺激进行组合,然后转导激活的细胞,并且在培养中扩增至足以用于临床应用的数量。

[0218] 在某些实施方案中,所述免疫疗法是或含有通常表达重组受体的细胞,所述重组受体例如抗原受体,包括功能性非TCR抗原受体,例如,嵌合抗原受体(CAR);和其他抗原结合受体,如转基因T细胞受体(TCR)。所述受体包括其他嵌合受体。

[0219] 在某些实施方案中,所述小鼠模型是通过以下方式来产生:将介于或介于约1mg/kg与1,000mg/kg之间、介于10mg/kg与750mg/kg之间或介于50mg/kg与500mg/kg之间(所述药剂相对于体重的量)的淋巴细胞清除剂腹膜内给予免疫活性BALB/c小鼠(或其品系或亚品系),然后在给予所述淋巴细胞清除剂之后介于或介于约6小时与72小时之间、12小时与48小时之间或18小时与30小时之间,给予免疫疗法(例如,免疫细胞疗法)。在特定实施方案中,所述淋巴细胞清除剂是CPA。在一些实施方案中,所述免疫疗法是或包括表达重组受体

的细胞(例如,小鼠细胞)的组合物。在一些实施方案中,给予介于或介于约1x 10^6与50x 10^6个之间的细胞。在某些实施方案中,给予介于或介于约1x 10^6与50x 10^6个之间的表达重组受体(例如,TCR或CAR)的细胞。在一些实施方案中,所述免疫活性BALB/c小鼠先前被给予或注射抗原表达细胞,所述抗原表达细胞表达由所述免疫疗法结合或识别的抗原。

[0220] a.嵌合抗原受体(CAR)

[0221] 在一些实施方案中,嵌合受体(如嵌合抗原受体(CAR))含有一种或多种结构域,所述结构域组合提供针对所需抗原(例如,肿瘤抗原)的特异性的配体结合结构域(例如,抗体或抗体片段)与细胞内信号传导结构域。在一些实施方案中,所述细胞内信号传导结构域是激活细胞内结构域部分,如T细胞激活结构域,从而提供初级激活信号。在一些实施方案中,所述细胞内信号传导结构域含有或另外含有共刺激信号传导结构域以促进效应子功能。在一些实施方案中,嵌合受体在被遗传工程化至免疫细胞中时,可以调节T细胞活性,并且在一些情况下可以调节T细胞分化或稳态,由此产生在体内具有改进的寿命、存活和/或持久性的遗传工程化细胞,如用于过继细胞治疗方法。

[0222] 示例性抗原受体(包括CAR)和用于将此类受体工程化和引入细胞中的方法包括例如以下文献中所述的那些:国际专利申请公开号WO 200014257、WO 2013126726、WO 2012/129514、WO 2014031687、WO 2013/166321、WO 2013/071154、WO 2013/123061;美国专利申请公开号US 2002131960、US 2013287748、US 20130149337;美国专利号:6,451,995、7,446,190、8,252,592,、8,339,645、8,398,282、7,446,179、6,410,319、7,070,995、7,265,209、7,354,762、7,446,191、8,324,353和8,479,118;和欧洲专利申请号EP2537416;和/或以下文献中所述的那些:Sadelain等人,Cancer Discov.2013年4月;3(4):388-398;Davila等人(2013)PLoS ONE 8(4):e61338;Turtle等人,Curr.Opin.Immunol.,2012年10月;24(5):633-39;Wu等人,Cancer,2012年3月18日(2):160-75。在一些方面,所述抗原受体包括如美国专利号7,446,190中所述的CAR,以及国际专利申请公开号WO/2014055668A1中所述的那些。所述CAR的例子包括如前述出版物中任一项中披露的CAR,所述出版物如WO 2014031687、US 8,339,645、US 7,446,179、US 2013/0149337、美国专利号7,446,190、美国专利号8,389,282;Kochenderfer等人,2013,Nature ReviewsClinical Oncology,10,267-276(2013);Wang等人(2012)J.Immunother.35(9):689-701;和Brentjens等人,Sci Transl Med.2013 5(177)。还参见WO 2014031687、US 8,339,645、US 7,446,179、US 2013/0149337、美国专利号7,446,190和美国专利号8,389,282。

[0223] 所述嵌合受体(如CAR)通常包括细胞外抗原结合结构域,如抗体分子的一部分,通常是抗体的可变重(VH)链区和/或可变轻(VL)链区,例如scFv抗体片段。

[0224] 在一些实施方案中,所述嵌合受体(如CAR)包括细胞外抗原结合结构域,如抗体分子的一部分,通常是所述抗体的可变重(VH)链区和/或可变轻(VL)链区,例如,衍生自结合至和/或识别小鼠B细胞抗原的抗体的scFv抗体片段。在某些实施方案中,所述细胞外抗原结合结构域识别和/或结合至鼠类CD19。在某些实施方案中,所述嵌合受体(如CAR)包括细胞外抗原结合结构域,如抗体分子的一部分,通常是所述抗体的可变重(VH)链区和/或可变轻(VL)链区,例如,衍生自1D3大鼠单克隆抗小鼠CD19抗体的scFv抗体片段。在一些实施方案中,所述细胞外抗原结合结构域含有可变重(VH)链区,所述可变重(VH)链区与SEQ ID NO:2中所示的可变重(VH)链区至少85%、90%或95%相同。在某些实施方案中,所述细胞外

抗原结合结构域含有SEQ ID NO:2中所示的可变重(VH)链区。在某些实施方案中,所述细胞外抗原结合结构域含有可变轻(VL)链区,所述可变轻(VL)链区与SEQ ID NO:3中所示的可变轻(VL)链区至少85%、90%或95%相同。在某些实施方案中,所述细胞外抗原结合结构域含有SEQ ID NO:3中所示的可变轻(VL)链区。

[0225] 在一些实施方案中,设计识别或结合至人而不是小鼠中的抗原的对照受体。因此,在一些实施方案中,所述受体含有结合至和/或识别人抗原而不是小鼠抗原的细胞外结合结构域。在某些实施方案中,对照受体的所述细胞外抗原结合结构域识别和/或结合至人CD19而不是小鼠CD19。在某些实施方案中,所述嵌合受体(如CAR)包括细胞外抗原结合结构域,如抗体分子的一部分,通常是所述抗体的可变重(VH)链区和/或可变轻(VL)链区,例如,衍生自单克隆FMC63抗人CD19抗体的scFv抗体片段。在一些实施方案中,所述细胞外抗原结合结构域含有可变重(VH)链区,所述可变重(VH)链区与SEQ ID NO:9中所示的可变重(VH)链区至少85%、90%或95%相同。在某些实施方案中,所述细胞外抗原结合结构域含有SEQ ID NO:9中所示的可变重(VH)链区。在某些实施方案中,所述细胞外抗原结合结构域含有可变轻(VL)链区,所述可变轻(VL)链区与SEQ ID NO:10中所示的可变轻(VL)链区至少85%、90%或95%相同。在某些实施方案中,所述细胞外抗原结合结构域含有SEQ ID NO:10中所示的可变轻(VL)链区。

[0226] 在一些实施方案中,所述受体靶向的抗原是多肽,例如,小鼠多肽。在一些实施方案中,所述抗原是碳水化合物或其他分子,例如,对于小鼠为内源的碳水化合物或其他分子。在一些实施方案中,所述抗原在抗原表达细胞(例如,本文(如在第I.D节中)所述的抗原表达细胞)上选择性表达或过表达。

[0227] 所述受体靶向的抗原在一些实施方案中包括与B细胞恶性肿瘤相关的抗原,如多种已知B细胞标记中的任一种。在一些实施方案中,所述受体靶向的抗原是CD20、CD19、CD22、ROR1、CD45、CD21、CD5、CD33、Igκ、Igλ、CD79a、CD79b或CD30。在某些实施方案中,所述受体靶向的抗原是在B细胞上表达和/或与B细胞恶性肿瘤相关的小鼠抗原,如多种已知的小鼠B细胞标记中的任一种。在一些实施方案中,所述抗原是小鼠CD20、CD19、CD22、ROR1、CD45、CD21、CD5、CD33、Igκ、Igλ、CD79a、CD79b或CD30。在特定实施方案中,所述抗原是小鼠CD19。

[0228] 在一些实施方案中,所述嵌合抗原受体包括含有抗体或抗体片段的细胞外部分。在一些方面,所述嵌合抗原受体包括含有抗体或片段的细胞外部分和细胞内信号传导结构域。在一些实施方案中,所述抗体或片段包括scFv。

[0229] 在一些实施方案中,所述重组受体(例如,CAR)的抗体部分进一步包括免疫球蛋白恒定区的至少一部分,如铰链区(例如IgG3铰链区)和/或CH1/CL和/或Fc区。在一些实施方案中,所述恒定区或部分是小鼠IgG(如IgG3或IgG1)的。在一些实施方案中,小鼠IgG的所述恒定区或部分是或包括小鼠IgG3。在某些实施方案中,所述小鼠IgG是SEQ ID NO:4中所示的IgG或是其一部分。在特定实施方案中,所述小鼠IgG是与SEQ ID NO:4中所示IgG的全部或一部分具有至少85%、90%或95%序列同一性的IgG序列或是其一部分。在一些方面,所述恒定区的部分用作抗原识别组分(例如,scFv)与跨膜结构域之间的间隔子区。如与所述间隔子不存在的情况相比,所述间隔子的长度可以提供在抗原结合后增加的细胞反应性。示例性间隔子包括但不限于以下文献中所述的那些:Hudecek等人(2013)Clin.Cancer

Res.,19:3153;国际专利申请公开号WO 2014031687、美国专利号8,822,647或公开的申请号US 2014/0271635。

[0230] 在一些实施方案中,所述抗原受体包含与细胞外结构域直接或间接连接的细胞内结构域。在一些实施方案中,所述嵌合抗原受体包括将细胞外结构域与细胞内信号传导结构域连接的跨膜结构域。在一些实施方案中,所述细胞内信号传导结构域包含ITAM。例如,在一些方面,抗原识别结构域(例如细胞外结构域)通常与一种或多种细胞内信号传导组分(如模拟在CAR的情况下通过抗原受体复合物(如TCR复合物)进行激活和/或通过另一种细胞表面受体传导信号的信号传导组分)连接。在一些实施方案中,所述嵌合受体包含在细胞外结构域(例如,scFv)与细胞内信号传导结构域之间连接或融合的跨膜结构域。因此,在一些实施方案中,所述抗原结合组分(例如,抗体)与一种或多种跨膜结构域和细胞内信号传导结构域连接。

[0231] 在一个实施方案中,使用与所述受体(例如,CAR)中的一种结构域天然相连的跨膜结构域。在一些情形中,通过氨基酸取代选择或修饰所述跨膜结构域,以避免此类结构域与相同或不同表面膜蛋白的跨膜结构域结合,以使与受体复合物的其他成员的相互作用最小化。在特定实施方案中,所述跨膜结构域衍生自小鼠蛋白。

[0232] 在一些实施方案中,所述跨膜结构域衍生自天然来源或衍生自合成来源。在所述来源是天然来源的情况下,所述结构域在一些方面衍生自任何膜结合蛋白或跨膜蛋白。跨膜区包括衍生自以下的那些(即,至少包含以下中的一种或多种跨膜区):T细胞受体的α、β或ζ链,CD28,CD3ε,CD45,CD4,CD5,CDS,CD9,CD16,CD22,CD33,CD37,CD64,CD80,CD86,CD134,CD137,CD154。可替代地,在一些实施方案中,跨膜结构域是合成的。在一些方面,所述合成跨膜结构域主要包含疏水残基,如亮氨酸和缬氨酸。在一些方面,将在合成跨膜结构域的每个末端发现苯丙氨酸、色氨酸和缬氨酸的三联体。在一些实施方案中,所述连接是通过接头、间隔子和/或一种或多种跨膜结构域来实现。在一些方面,所述跨膜结构域含有CD28的跨膜部分。

[0233] 在一些实施方案中,所述跨膜结构域衍生自鼠类CD28。在特定实施方案中,所述跨膜结构域示于SEQ ID NO:5。在特定实施方案中,所述跨膜结构域与SEQ ID NO:5中所示的跨膜结构域的全部或一部分具有至少85%、90%、95%序列同一性。

[0234] 在一些实施方案中,所述细胞外结构域和跨膜结构域可以直接或间接连接。在一些实施方案中,所述细胞外结构域和跨膜结构域是通过间隔子(如本文所述的任一种)连接。在一些实施方案中,所述受体含有衍生出跨膜结构域的分子的细胞外部分,如CD28细胞外部分。在某些实施方案中,所述细胞外部分衍生自小鼠蛋白,例如,小鼠CD28。

[0235] 细胞内信号传导结构域是模拟或接近于通过天然抗原受体的信号、通过与共刺激受体结合的这种受体的信号和/或仅通过共刺激受体的信号的那些细胞内信号传导结构域。在一些实施方案中,存在短的寡肽或多肽接头(例如,长度在2与10个氨基酸之间的接头,如含有甘氨酸和丝氨酸的接头,例如甘氨酸-丝氨酸双联体),并在CAR的跨膜结构域与细胞质信号传导结构域之间形成连接。

[0236] T细胞激活在一些方面被描述为由两个类别的细胞质信号传导序列来介导:通过TCR启动抗原依赖性初级激活的那些序列(初级细胞质信号传导序列),和以非抗原依赖性方式作用以提供次级或共刺激信号的那些序列(次级细胞质信号传导序列)。在一些方面,

所述CAR包括此类信号传导组分中的一种或两种。在某些实施方案中，所述一种或两种信号传导组分衍生自小鼠蛋白。

[0237] 所述受体(例如，CAR)通常包括至少一种或多种细胞内信号传导组分。在一些方面，所述CAR包括调节TCR复合物的初级激活的初级细胞质信号传导序列。以刺激方式起作用的初级细胞质信号传导序列可以含有信号传导基序(其被称为基于免疫受体酪氨酸的激活基序或ITAM)。含有初级细胞质信号传导序列的ITAM的例子包括衍生自CD3ζ链、FcRγ、CD3γ、CD3δ和CD3ε的那些。在一些实施方案中，所述CAR中的一种或多种细胞质信号传导分子含有衍生自CD3ζ的细胞质信号传导结构域、其部分或序列。在某些实施方案中，所述ITAM是小鼠ITAM和/或衍生自小鼠蛋白。

[0238] 在一些实施方案中，所述受体包括TCR复合物的细胞内组分，如介导T细胞激活和细胞毒性的TCR CD3链，例如CD3ζ链。因此，在一些方面，所述抗原结合部分连接至一种或多种细胞信号传导模块。在一些实施方案中，细胞信号传导模块包括CD3跨膜结构域、CD3细胞内信号传导结构域和/或其他CD跨膜结构域。在一些实施方案中，所述受体(例如CAR)进一步包括一种或多种另外的分子(如Fc受体γ、CD8、CD4、CD25或CD16)的一部分。例如，在一些方面，所述CAR或其他嵌合受体包括CD3-ζ(CD3-ζ)或Fc受体γ与CD8、CD4、CD25或CD16之间的嵌合分子。

[0239] 在一些实施方案中，所述受体包括鼠类TCR复合物的细胞内组分，如介导T细胞激活和细胞毒性的鼠类TCR CD3链，例如，鼠类CD3ζ链。在某些实施方案中，所述TCR复合物是鼠类TCR复合物。在一些实施方案中，细胞信号传导模块包括鼠类CD3跨膜结构域、鼠类CD3细胞内信号传导结构域和/或其他鼠类CD跨膜结构域。在一些实施方案中，所述受体(例如，CAR)进一步包括一种或多种另外的分子的部分，如鼠类Fc受体γ、鼠类CD8、鼠类CD4、鼠类CD25或鼠类CD16。例如，在一些方面，所述鼠类CAR或其他嵌合受体包括鼠类CD3-ζ(CD3-ζ)或鼠类Fc受体γ与鼠类CD8、鼠类CD4、鼠类CD25或鼠类CD16之间的嵌合分子。

[0240] 在一些实施方案中，在连接CAR或其他嵌合受体后，所述受体的细胞质结构域或细胞内信号传导结构域激活免疫细胞(例如工程化以表达所述CAR的T细胞)的正常效应子功能或应答中的至少一种。例如，在一些情况下，所述CAR诱导T细胞的功能，如细胞毒活性或T辅助活性，如细胞因子或其他因子的分泌。在一些实施方案中，使用抗原受体组分或共刺激分子的细胞内信号传导结构域的截短部分代替完整的免疫刺激链，例如条件是所述截短部分转导效应子功能信号。在一些实施方案中，一种或多种细胞内信号传导结构域包括所述T细胞受体(TCR)的细胞质序列，在一些方面还包括共受体的那些细胞质序列，所述共受体在天然情况下与此类受体协同作用以在抗原受体接合后起始信号转导。

[0241] 在天然TCR的情况下，完全激活通常不仅需要通过所述TCR进行信号传导，还需要共刺激信号。因此，在一些实施方案中，为了促进完全激活，用于生成次级或共刺激信号的组分也被包括在所述CAR中。在其他实施方案中，所述CAR不包括用于生成共刺激信号的组分。在一些方面，另外的CAR在同一细胞中表达，并且提供用于生成次级或共刺激信号的组分。

[0242] 在一些实施方案中，所述嵌合抗原受体含有T细胞共刺激分子的细胞内结构域。在一些实施方案中，T细胞共刺激分子的细胞内结构域衍生自小鼠T细胞共刺激分子。在一些实施方案中，所述CAR包括信号传导结构域和/或共刺激受体(如CD28、4-1BB、OX40、DAP10和

ICOS)的跨膜部分。在一些方面，相同的CAR包括激活组分和共刺激组分二者。在一些实施方案中，所述嵌合抗原受体含有衍生自T细胞共刺激分子或其功能变体的细胞内结构域，如位于跨膜结构域与细胞内信号传导结构域之间。在一些方面，所述T细胞共刺激分子是CD28或41BB。在某些实施方案中，所述T细胞共刺激分子是小鼠CD28、4-1BB、OX40、DAP10或ICOS。

[0243] 在一些实施方案中，所述激活结构域包括在一个CAR中，而所述共刺激组分由识别另一种抗原的另一个CAR提供。在一些实施方案中，所述CAR包括激活或刺激CAR、共刺激CAR，它们均在相同细胞上表达(参见WO 2014/055668)。在一些方面，所述细胞包括一种或多种刺激或激活CAR和/或共刺激CAR。在一些实施方案中，细胞还包括抑制性CAR(iCAR，参见Fedorov等人，Sci.Transl.Medicine,5(215)(2013年12月))，如识别除了与疾病或病症相关和/或为所述疾病或病症特有的抗原以外的抗原的CAR，其中通过靶向疾病的CAR递送的激活信号因抑制性CAR与其配体的结合而被减小或抑制，例如，以减小脱靶效应。

[0244] 在某些实施方案中，所述细胞内信号传导结构域包含与CD3(例如，CD3-ζ)细胞内结构域连接的CD28跨膜和信号传导结构域。在一些实施方案中，所述细胞内信号传导结构域包含与CD3ζ细胞内结构域连接的嵌合CD28和CD137(4-1BB、TNFRSF9)共刺激结构域。在一些实施方案中，所述细胞内信号传导结构域包含与CD3ζ细胞内结构域连接的嵌合CD28和CD137(4-1BB、TNFRSF9)共刺激结构域。在一些实施方案中，所述CAR含有SEQ ID NO:5中所示的跨膜区和SEQ ID NO:6中所述的细胞内信号传导结构域和/或SEQ ID NO:7中所示的信号传导结构域。

[0245] 在一些实施方案中，所述CAR涵盖在细胞质部分中的一种或多种(例如，两种或更多种)共刺激结构域和激活结构域(例如，初级激活结构域)。示例性CAR包含CD3-ζ、CD28和4-1BB的细胞内组分。在一些实施方案中，所述细胞内组分衍生自小鼠CD3-ζ、CD28和4-1BB。

[0246] 在一些实施方案中，所述抗原受体进一步包括标记，和/或表达所述CAR或其他抗原受体的细胞进一步包括替代标记，如细胞表面标记，所述标记可以用于证实细胞被转导或工程化以表达所述受体。在一些方面，所述标记包括CD34、NGFR或表皮生长因子受体的全部或部分(例如截短形式)，如这种细胞表面受体的截短形式(例如，tEGFR)。在一些实施方案中，编码所述标记的核酸与编码接头序列(如可切割接头序列，例如，T2A)的多核苷酸可操作地连接。例如，标记以及任选地接头序列可以是如公开的专利申请号WO 2014031687中所披露的任一种。例如，所述标记可以是截短的EGFR(tEGFR)，其任选地连接至接头序列，如T2A可切割接头序列。

[0247] 在一些实施方案中，所述CAR或其他抗原受体进一步包括标记，如细胞表面标记，其可以用于确认所述细胞被转导或工程化以表达所述受体，如细胞表面受体的截短形式，如截短的EGFR(tEGFR)。在一些方面，所述标记包括CD34、NGFR或表皮生长因子受体(例如，tEGFR)的全部或部分(例如，截短形式)。在一些实施方案中，编码所述标记的核酸与编码接头序列(如可切割接头序列，例如，T2A)的多核苷酸可操作地连接。例如，标记以及任选地接头序列可以是如公开的专利申请号WO 2014031687中所披露的任一种。例如，所述标记可以是截短的EGFR(tEGFR)，其任选地连接至接头序列，如T2A可切割接头序列。

[0248] 在一些实施方案中，所述CAR或其他抗原受体进一步包括标记，如细胞表面标记，其可以用于确认所述细胞被转导或工程化以表达所述受体。在一些实施方案中，所述标记是肽、蛋白质或其部分，其不会在受试者(例如，被给予所述细胞组合物的小鼠)中诱导免疫

应答,但对于所述受试者并非内源的和/或并非由所述受试者表达。在一些实施方案中,所述肽是小鼠Thy1、Ly45或CD45的亚型。

[0249] Thy1.1的示例性多肽包含SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列或展现与SEQ ID NO:8至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高序列同一性的氨基酸序列。

[0250] 在一些实施方案中,所述标记是并未在T细胞上天然发现的或并未在T细胞表面上天然发现的分子(例如,细胞表面蛋白)或其部分。在一些实施方案中,所述分子是非自身分子(例如,非自身蛋白),即没有被细胞过继转移到其中的宿主的免疫系统识别为“自身”的分子。

[0251] 在一些实施方案中,所述标记不起任何治疗作用和/或不产生除了用作遗传工程化(例如,用于选择成功工程化的细胞)的标记以外的作用。在其他实施方案中,所述标记可以是治疗性分子或另外发挥一些所需作用的分子,如在体内细胞将遇到的配体,如共刺激性或免疫检查点分子,以在过继转移和遇到配体时增强和/或减弱所述细胞的应答。

[0252] 在一些情况下,CAR被称为第一代、第二代和/或第三代CAR。在一些方面,第一代CAR是在抗原结合时仅提供CD3链诱导的信号的CAR;在一些方面,第二代CAR是提供这种信号和共刺激信号的CAR,如包括来自共刺激受体(如CD28或CD137)的细胞内信号传导结构域的信号;在一些方面,第三代CAR是包括不同共刺激受体的多个共刺激结构域的CAR。

[0253] 例如,在一些实施方案中,所述CAR含有抗体(例如,抗体片段)、是或含有CD28或其功能变体的跨膜部分的跨膜结构域、以及含有CD28的信号传导部分或其功能变体和CD3ζ的信号传导部分或其功能变体的细胞内信号传导结构域。在一些实施方案中,所述CAR含有抗体(例如,抗体片段),是或含有CD28的跨膜部分或其功能变体的跨膜结构域、以及含有4-1BB的信号传导部分或其功能变体和CD3ζ的信号传导部分或其功能变体的细胞内信号传导结构域。在一些这样的实施方案中,所述受体还包括含有Ig分子(如人Ig分子)的一部分(如Ig铰链,如IgG4铰链)的间隔子,如仅铰链间隔子。

[0254] 在一些实施方案中,所述重组受体(例如,所述CAR)的跨膜结构域是或包括小鼠CD28的跨膜结构域(或其变体,如包含SEQ ID NO:5中所示氨基酸序列或展现与SEQ ID NO:5至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高序列同一性的氨基酸序列的跨膜结构域。

[0255] 在一些实施方案中,所述重组受体(例如,所述CAR)的细胞内信号传导结构域包含小鼠CD3ζ刺激性信号传导结构域或其功能变体,如小鼠CD3ζ细胞质结构域(登录号:P20963.2)或CD3ζ信号传导结构域。例如,在一些实施方案中,所述细胞内信号传导结构域包含如SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列或展现与SEQ ID NO:7至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高序列同一性的氨基酸序列。

[0256] 在一些方面,所述间隔子仅含有IgG的铰链区,如仅小鼠IgG3或IgG1的铰链。在其他实施方案中,所述间隔子是或含有任选地连接至CH2和/或CH3结构域的Ig铰链,例如,小鼠IgG3衍生的铰链。在一些实施方案中,所述间隔子是或包含富甘氨酸-丝氨酸序列或其他柔性接头,如已知的柔性接头。

[0257] 例如,在一些实施方案中,CAR包括抗体(如抗体片段,包括scFv)、间隔子(如含有

免疫球蛋白分子的一部分(如铰链区和/或重链分子的一个或多个恒定区)的间隔子,如含有Ig铰链的间隔子)、含有CD28衍生的跨膜结构域的全部或部分的跨膜结构域、CD28衍生的细胞内信号传导结构域和CD3ζ信号传导结构域。在一些实施方案中,所述CAR包括抗体或片段(如scFv)、间隔子(如任何含有Ig铰链的间隔子)、CD28衍生的跨膜结构域、4-1BB衍生的细胞内信号传导结构域和CD3ζ衍生的信号传导结构域。

[0258] 在一些实施方案中,编码此类CAR构建体的核酸分子进一步包括编码T2A核糖体跳跃元件的序列和/或Thy1.1序列(例如,位于编码所述CAR的序列的下游)。在一些实施方案中,还可以产生表达抗原受体(例如,CAR)的T细胞以表达Thy1.1作为非免疫原性选择表位(例如,通过引入编码由T2A核糖体开关隔开的所述CAR和Thy1.1的构建体以从同一构建体表达两种蛋白质),然后可以使用所述非免疫原性选择表位作为标记来检测此类细胞(参见例如,美国专利号8,802,374)。在一些实施方案中,所述序列编码SEQ ID NO:8中所示的Thy1.1序列或展现与SEQ ID NO:8至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高序列同一性的氨基酸序列。在一些情况下,所述肽(如T2A)可以导致核糖体跳过(核糖体跳跃)2A元件C末端处的肽键的合成,这导致2A序列末端与下游的下一个肽之间的分离(参见例如,de Felipe.Genetic Vaccines and Ther.2:13(2004)和deFelipe等人Traffic 5:616-626(2004))。许多2A元件是已知的。

[0259] 由给予受试者的细胞表达的重组受体(如CAR)通常识别或特异性地结合以下分子,所述分子在被治疗的疾病或病症或其细胞中表达、与被治疗的疾病或病症或其细胞相关和/或对被治疗的疾病或病症或其细胞具特异性。在与分子例如抗原特异性结合后,受体通常将免疫刺激信号(如ITAM转导的信号)递送到细胞中,从而促进靶向疾病或病症的免疫应答。例如,在一些实施方案中,所述细胞表达CAR,所述CAR特异性地结合至由疾病或病症的细胞或组织表达的或与所述疾病或病症相关的抗原。

[0260] 特定实施方案中,所述小鼠模型是通过以下方式来产生:将CPA(例如,介于或大约介于50mg/kg与500mg/kg之间的腹膜内CPA)给予免疫活性BALB/c小鼠(或其品系或亚品系),然后在给予所述CPA之后介于或介于约18与30小时之间,给予介于或介于约1x 10^6与50x 10^6个之间的表达CAR的细胞。在某些实施方案中,所述CAR结合至或识别由所述小鼠内的细胞表达的抗原,例如,由小鼠细胞或由已经注射至所述小鼠中的细胞表达的抗原。在一些实施方案中,所述抗原与癌症相关。在特定实施方案中,所述CAR识别或结合至B细胞抗原,如小鼠B细胞抗原或B细胞标记。在一些实施方案中,所述CAR结合至或识别小鼠CD20、CD19、CD22、ROR1、CD45、CD21、CD5、CD33、Igκ、Igλ、CD79a、CD79b或CD30。在某些实施方案中,所述CAR结合至或识别小鼠CD19。在特定实施方案中,所述免疫活性BALB/c小鼠在注射所述CPA和所述免疫疗法之前,预先注射了抗原表达细胞。

[0261] 在一些实施方案中,所述小鼠模型是通过以下方式来产生:(i)将为或为约100mg/kg或250mg/kg的剂量腹膜内给予免疫活性BALB/c小鼠(或其品系或亚品系),然后(ii)在CPA注射后24小时、约24小时或24小时内,给予为或为约5x 10^6、10x 10^6或20x 10^6个总CAR表达细胞的剂量。在一些实施方案中,所述CAR是抗小鼠CD19 CAR。

[0262] b.TCR

[0263] 在一些实施方案中,所述免疫疗法是或包括所提供的工程化细胞(如T细胞),其表达识别靶多肽(如肿瘤、病毒或自身免疫蛋白的抗原)的肽表位或T细胞表位的T细胞受体

(TCR)或其抗原结合部分。

[0264] 在一些实施方案中,“T细胞受体”或“TCR”是含有可变α和β链(也分别称为TCRα和TCRβ)或可变γ和δ链(也分别称为TCRα和TCRβ)的分子或其抗原结合部分,并且其能够特异性地结合至与MHC分子结合的肽。在一些实施方案中,所述TCR呈αβ形式。通常,以αβ和γδ形式存在的TCR在结构上总体上相似,但是表达它们的T细胞可以具有不同的解剖学位置或功能。TCR可以在细胞的表面上发现或以可溶形式发现。通常,发现TCR在T细胞(或T淋巴细胞)的表面上,在此处它通常负责识别与主要组织相容性复合物(MHC)分子结合的抗原。在某些实施方案中,所述TCR是小鼠TCR。

[0265] 在一些实施方案中,TCR包括完整TCR或其抗原结合部分或抗原结合片段。在一些实施方案中,所述TCR是完整或全长TCR,包括呈αβ形式或γδ形式的TCR。在一些实施方案中,所述TCR是这样的抗原结合部分,其少于全长TCR但与在MHC分子中结合的特定肽结合,如与MHC-肽复合物结合。在一些情况下,TCR的抗原结合部分或片段可以仅含有全长或完整TCR的结构性结构域的一部分,但是仍能够结合与完整TCR结合的肽表位(如MHC-肽复合物)。在一些情况下,抗原结合部分含有TCR的可变结构域(如TCR的可变α链和可变β链),足以形成用于与特定MHC-肽复合物结合的结合位点。通常,TCR的可变链含有参与对肽、MHC和/或MHC-肽复合物的识别的互补决定区。

[0266] 在一些实施方案中,TCR的可变结构域含有超变环或互补决定区(CDR),其通常是抗原识别和结合能力和特异性的主要贡献者。在一些实施方案中,TCR的CDR或其组合形成给定TCR分子的全部或基本上全部的抗原结合位点。TCR链的可变区内的各个CDR通常由框架区(FR)隔开,如与所述CDR相比,所述框架区通常在TCR分子之间展示较低可变性(参见例如,Jores等人,Proc.Nat'l Acad.Sci.U.S.A.87:9138,1990;Chothia等人,EMBO J.7:3745,1988;还参见Lefranc等人,Dev.Comp.Immunol.27:55,2003)。在一些实施方案中,CDR3是负责抗原结合或特异性的主要CDR,或者在给定TCR可变区上在三个CDR中对于抗原识别和/或对于与肽-MHC复合物的经加工肽部分的相互作用最重要。在一些情况下,所述α链的CDR1可以与某些抗原肽的N-末端部分相互作用。在一些情况下,所述β链的CDR1可以与所述肽的C末端部分相互作用。在一些情况下,CDR2对与MHC-肽复合物的MHC部分的相互作用或对所述MHC-肽复合物的MHC部分的识别的贡献最大或者是主要负责的CDR。在一些实施方案中,所述β链的可变区可以含有另一个高变区(CDR4或HVR4),其通常参与超抗原结合并且不参与抗原识别(Kotb(1995)Clinical Microbiology Reviews,8:411-426)。

[0267] 在一些实施方案中,TCR还可以含有恒定结构域、跨膜结构域和/或短细胞质尾(参见例如,Janeway等人,Immunobiology:The Immune System in Health and Disease,第3版,Current Biology Publications,第4:33页,1997)。在一些方面,TCR的每条链可以具有一个N末端免疫球蛋白可变结构域、一个免疫球蛋白恒定结构域、跨膜区和位于C末端的短细胞质尾。在一些实施方案中,TCR与参与介导信号转导的CD3复合物的不变蛋白缔合。

[0268] 在一些实施方案中,TCR链含有一个或多个恒定结构域。例如,给定TCR链(例如,α链或β链)的细胞外部分可以含有与细胞膜相邻的两个免疫球蛋白样结构域,如可变结构域(例如,Vα或Vβ;通常基于Kabat编号的氨基酸1至116,Kabat等人,“Sequences of Proteins of Immunological Interest”,US Dept.Health and Human Services,Public Health Service National Institutes of Health,1991,第5版)和恒定结构域(例如,α链恒定结

构域或Cα，通常为基于Kabat编号的链的位置117至259，或β链恒定结构域或Cβ，通常为基于Kabat的链的位置117至295)。例如，在一些情况下，由两条链形成的TCR的细胞外部分含有两个膜近端恒定结构域和两个膜远端可变结构域，所述可变结构域各自含有CDR。所述TCR的恒定结构域可以含有短连接序列，其中半胱氨酸残基形成二硫键，由此连接所述TCR的两条链。在一些实施方案中，TCR可在α和β链中各自具有另外的半胱氨酸残基，使得所述TCR在恒定结构域中含有两个二硫键。

[0269] 在一些实施方案中，所述TCR链含有跨膜结构域。在某些实施方案中，所述跨膜结构域衍生自小鼠TCR。在一些实施方案中，所述跨膜结构域带正电荷。在一些情况下，所述TCR链含有细胞质尾。在一些情况下，所述结构允许所述TCR与其他分子(如CD3和其亚基)缔合。例如，含有具有跨膜区的恒定结构域的TCR可以将所述蛋白质锚定在细胞膜中，并与CD3信号传导装置或复合物的不变亚基缔合。CD3信号传导亚基(例如，CD3γ、CD3δ、CD3ε和CD3ζ链)的细胞内尾含有TCR复合物的信号传导能力中所涉及的一个或多个基于免疫受体酪氨酸的激活基序或ITAM。在一些实施方案中，所述CD3是小鼠CD3和/或衍生自小鼠CD3。在特定实施方案中，所述CD3信号传导亚基(例如，CD3γ、CD3δ、CD3ε和CD3ζ链)的细胞内尾是小鼠CD3信号传导亚基和/或衍生自小鼠CD3蛋白。

[0270] 在一些实施方案中，所述TCR可以是两条链α和β(或者任选地γ和δ)的异二聚体，或者其可以是单链TCR构建体。在一些实施方案中，所述TCR是含有如通过一个或多个二硫键连接的两条单独链(α和β链或γ和δ链)的异二聚体。

[0271] 在一些实施方案中，所述TCR可以从一种或多种已知的TCR序列(如Vα、Vβ链的序列)产生，所述一种或多种已知的TCR序列的基本上全长的编码序列是容易获得的。用于从细胞来源获得全长TCR序列(包括V链序列)的方法是熟知的。在一些实施方案中，所述序列是小鼠序列，例如，小鼠TCR的序列。在一些实施方案中，编码TCR的核酸可以从多种来源获得，如通过一种或多种给定细胞内的或从所述一种或多种给定细胞分离的编码TCR的核酸的聚合酶链式反应(PCR)扩增获得，或者通过公众可获得的TCR DNA序列的合成获得。

[0272] 在一些实施方案中，所述TCR是从生物来源获得，如来自细胞(如来自小鼠T细胞，例如细胞毒性T细胞)、小鼠T细胞杂交瘤或其他公众可获得的来源。在一些实施方案中，所述小鼠T细胞可以从体内分离的细胞获得。在一些实施方案中，所述TCR是胸腺选择的TCR。在一些实施方案中，所述TCR是新表位限制性TCR。在一些实施方案中，所述T细胞可以是培养的T细胞杂交瘤或克隆。在一些实施方案中，所述TCR或其抗原结合部分或其抗原结合片段可以根据对所述TCR序列的了解以合成方式产生。

[0273] 在一些实施方案中，所述TCR是从通过针对靶多肽抗原或其靶T细胞表位筛选候选小鼠TCR文库而鉴定或选择的小鼠TCR产生的。TCR文库可以通过扩增来自从小鼠(例如，供体小鼠)脾或其他淋巴器官分离的T细胞的Vα和Vβ库来产生。在一些情况下，T细胞可以从肿瘤浸润的淋巴细胞(TIL)扩增。在一些实施方案中，TCR文库可以从CD4+或CD8+细胞产生。在一些实施方案中，所述TCR可以从正常或健康受试者的T细胞来源扩增，即正常TCR文库。在一些实施方案中，所述TCR可以从患病受试者的T细胞来源扩增，即患病TCR文库。在一些实施方案中，使用简并引物扩增Vα和Vβ的基因库，如通过在从人获得的样品(如T细胞)中进行RT-PCR。在一些实施方案中，scTv文库可以从天然Vα和Vβ文库组装，其中扩增的产物被克隆或组装以通过接头分开。根据所述受试者和细胞的来源，所述文库可以是HLA等位基因特异

性的。可替代地，在一些实施方案中，TCR文库可以通过亲本或支架TCR分子的诱变或多样化产生。在一些方面，使所述TCR经历例如α或β链的定向进化，如通过诱变来进行。在一些方面，所述TCR的CDR内的特定残基被改变。在一些实施方案中，可以通过亲和力成熟来修饰选择的TCR。在一些实施方案中，可以如通过筛选以评估针对所述肽的CTL活性来选择抗原特异性T细胞。在一些方面，可以选择例如存在于抗原特异性T细胞上的TCR，如通过结合活性，例如对所述抗原的特定亲和力或亲合力来选择。

[0274] 在一些实施方案中，所述TCR或其抗原结合部分是已经修饰或工程化的。在一些实施方案中，使用定向进化方法来产生具有改变的特性(如对特定MHC-肽复合物具有较高亲和力)的TCR。在一些实施方案中，定向进化是通过展示方法来实现，所述展示方法包括但不限于酵母展示(Holler等人(2003)Nat Immunol,4,55-62;Holler等人(2000)Proc Natl Acad Sci U S A,97,5387-92)、噬菌体展示(Li等人(2005)Nat Biotechnol,23,349-54)或T细胞展示(Chervin等人(2008)J Immunol Methods,339,175-84)。在一些实施方案中，展示方法涉及工程化或修饰已知的亲本或参考TCR。例如，在一些情况下，野生型TCR可以用作模板以用于产生诱变的TCR，其中CDR的一个或多个残基被突变，并且选择具有所需改变的特性(如对所需靶抗原具有更高的亲和力)的突变体。

[0275] 在一些实施方案中，用于产生或生成目的TCR的靶多肽的肽是已知的或者可以容易地鉴定。在一些实施方案中，适用于产生TCR或抗原结合部分的肽可以基于目的靶多肽(如下文所述的靶多肽)中MHC限制性基序的存在来确定。在一些实施方案中，使用可用的计算机预测模型来鉴定肽。在一些实施方案中，对于预测MHC I类结合位点，此类模型包括但不限于ProPred1(Singh和Raghava(2001)Bioinformatics 17(12):1236-1237)和SYFPEITHI(参见Schuler等人(2007)Immunoinformatics Methods in Molecular Biology,409(1):75-93 2007)。

[0276] 在一些实施方案中，所述TCR或其抗原结合部分可以是重组产生的天然蛋白或其突变形式，其中一种或多种特性(如结合特征)已经发生改变。在一些实施方案中，TCR可以衍生自多个动物物种之一，如人、小鼠、大鼠或其他哺乳动物。TCR可以是细胞结合的或呈可溶形式。在一些实施方案中，出于所提供的方法的目的，所述TCR呈在细胞表面上表达的细胞结合形式。在某些实施方案中，所述TCR衍生自小鼠。

[0277] 在一些实施方案中，所述TCR是全长TCR。在一些实施方案中，所述TCR是抗原结合部分。在一些实施方案中，所述TCR是二聚体TCR(dTCR)。在一些实施方案中，所述TCR是单链TCR(sc-TCR)。在一些实施方案中，dTCR或scTCR具有如WO 03/020763、WO 04/033685、WO 2011/044186中所述的结构。

[0278] 在一些实施方案中，所述TCR含有对应于跨膜序列的序列。在一些实施方案中，所述TCR确实含有对应于细胞质序列的序列。在一些实施方案中，所述TCR能够形成与CD3的TCR复合物。在一些实施方案中，任何TCR(包括dTCR或scTCR)可以与信号传导结构域连接，从而在T细胞表面上产生活性TCR。在一些实施方案中，所述TCR是在细胞表面上表达。

[0279] 在一些实施方案中，dTCR含有第一多肽(其中对应于TCRα链可变区序列的序列与对应于TCRα链恒定区细胞外序列的序列的N末端融合)和第二多肽(其中对应于TCRβ链可变区序列的序列与对应于TCRβ链恒定区细胞外序列的序列的N末端融合)，所述第一和第二多肽通过二硫键连接。在一些实施方案中，所述键可以对应于天然二聚αβTCR中存在的天然链

间二硫键。在一些实施方案中，所述链间二硫键不存在于天然TCR中。例如，在一些实施方案中，可以将一个或多个半胱氨酸掺入dTCR多肽对的恒定区细胞外序列中。在一些情况下，可能需要天然和非天然二硫键二者。在一些实施方案中，所述TCR含有跨膜序列以锚定至膜。在一些实施方案中，所述dTCR衍生自一种或多种小鼠蛋白。

[0280] 在一些实施方案中，dTCR含有TCRα链(含有可变α结构域、恒定α结构域和附接至恒定α结构域C末端的第一二聚化基序)和TCRβ链(包含可变β结构域、恒定β结构域和附接至恒定β结构域C末端的第一二聚化基序)，其中所述第一和第二二聚化基序易于相互作用以在第一二聚化基序的氨基酸与第二二聚化基序的氨基酸之间形成共价键，从而将TCRα链与TCRβ链连接在一起。

[0281] 在一些实施方案中，所述TCR是scTCR。通常，可以使用已知的方法产生scTCR，参见例如Soo Hoo,W.F.等人PNAS(USA)89,4759(1992)；Wülfing,C.和Plückthun,A.,J.Mol.Biol.242,655(1994)；Kurucz,I.等人PNAS(USA)90 3830(1993)；国际公开PCT号WO 96/13593、WO 96/18105、WO99/60120、WO99/18129、WO 03/020763、WO2011/044186；和Schlueter,C.J.等人J.Mol.Biol.256,859(1996)。在一些实施方案中，scTCR含有引入的非天然链间二硫键以促进TCR链的缔合(参见例如，国际公开的PCT号WO 03/020763)。在一些实施方案中，scTCR是非二硫键连接的截短的TCR，其中与其C-末端融合的异源亮氨酸拉链促进链缔合(参见例如国际公开的PCT号WO 99/60120)。在一些实施方案中，scTCR含有经由肽接头与TCRβ可变结构域共价连接的TCRα可变结构域(参见例如，国际公开的PCT号WO 99/18129)。在特定实施方案中，所述scTCR衍生自一种或多种小鼠蛋白。

[0282] 在一些实施方案中，scTCR含有由对应于TCRα链可变区的氨基酸序列构成的第一区段、由对应于TCRβ链可变区序列的氨基酸序列构成的第二区段(融合至对应于TCRβ链恒定结构域细胞外序列的氨基酸序列的N末端)和将第一区段的C末端连接至第二区段的N末端的接头序列。

[0283] 在一些实施方案中，scTCR含有第一区段(其由与α链细胞外恒定结构域序列的N末端融合的α链可变区序列构成)和第二区段(其由与序列β链细胞外恒定和跨膜序列的N末端融合的β链可变区序列构成)以及任选地接头序列(其将所述第一区段的C末端连接至所述第二区段的N末端)。

[0284] 在一些实施方案中，scTCR含有第一区段(其由与β链细胞外恒定结构域序列的N末端融合的TCRβ链可变区序列构成)和第二区段(其由与序列α链细胞外恒定和跨膜序列的N末端融合的α链可变区序列构成)以及任选地接头序列(其将所述第一区段的C末端连接至所述第二区段的N末端)。

[0285] 在一些实施方案中，scTCR的连接所述第一和第二TCR区段的接头可以是能够形成单多肽链同时保留TCR结合特异性的任何接头。在一些实施方案中，所述接头序列可以例如具有式-P-AA-P-，其中P是脯氨酸并且AA表示氨基酸序列，其中所述氨基酸是甘氨酸和丝氨酸。在一些实施方案中，所述第一和第二区段配对，使得其可变区序列定向用于这种结合。因此，在一些情况下，所述接头具有足够的长度以跨越所述第一区段的C末端与所述第二区段的N末端之间的距离，或反之亦然，但是不能太长而阻断或减少所述scTCR与靶配体的结合。在一些实施方案中，所述接头可以含有从或从约10至45个氨基酸，如10至30个氨基酸或26至41个氨基酸残基，例如29、30、31或32个氨基酸。

[0286] 在一些实施方案中，scTCR含有共价二硫键，其将α链的恒定结构域的免疫球蛋白区域的残基连接至β链的恒定结构域的免疫球蛋白区域的残基。在一些实施方案中，天然TCR中不存在链间二硫键。例如，在一些实施方案中，可以将一个或多个半胱氨酸掺入所述scTCR多肽的第一和第二区段的恒定区细胞外序列中。在一些情况下，可能需要天然和非天然二硫键二者。

[0287] 在含有引入的链间二硫键的dTCR或scTCR的一些实施方案中，不存在天然二硫键。在一些实施方案中，形成天然链间二硫键的一个或多个天然半胱氨酸被取代为另一残基，如丝氨酸或丙氨酸。在一些实施方案中，引入的二硫键可以通过使第一和第二区段上的非半胱氨酸残基突变为半胱氨酸来形成。TCR的示例性非天然二硫键描述于公开的国际PCT号WO 2006/000830中。

[0288] 在一些实施方案中，TCR或其抗原结合片段对靶抗原以平衡结合常数展现出亲和力，所述平衡结合常数在或在约10^{-5}与10^{-12}M之间以及其中的所有单独值和范围。在一些实施方案中，所述靶抗原是MHC-肽复合物或配体。

[0289] 在一些实施方案中，编码TCR(如α和β链)的一种或多种核酸可以通过PCR、克隆或其他合适的方法扩增，并且克隆到合适的表达载体中。所述表达载体可以是任何合适的重组表达载体，并且可以用于转化或转染任何合适的宿主。合适的载体包括设计用于繁殖和扩增或用于表达或用于两者的那些，如质粒和病毒。

[0290] 在一些实施方案中，所述载体可以是以下系列的载体：pUC系列(Fermentas Life Sciences)、pBluescript系列(Stratagene，加利福尼亚州拉霍亚)、pET系列(Novagen，威斯康星州麦迪逊)、pGEX系列(Pharmacia Biotech，瑞典乌普萨拉)或pEX系列(Clontech，加利福尼亚州帕罗奥图)。在一些情况下，也可以使用噬菌体载体，如λG10、λGT11、λZapII(Stratagene)、λEMBL4和λNM1149。在一些实施方案中，可以使用植物表达载体，并且包括pBI01、pBI101.2、pBI101.3、pBI121和pBIN19(Clontech)。在一些实施方案中，动物表达载体包括pEUK-C1、pMAM和pMAMneo(Clontech)。在一些实施方案中，使用病毒载体，如逆转录病毒载体。

[0291] 在一些实施方案中，所述重组表达载体可以使用标准的重组DNA技术来制备。在一些实施方案中，载体可以含有调节序列，如转录和翻译起始和终止密码子，其对引入载体的宿主(例如，细菌、真菌，植物或动物)的类型具特异性，酌情并考虑所述载体是基于DNA还是基于RNA。在一些实施方案中，载体可以含有非天然启动子，其可操作地连接至编码TCR或抗原结合部分(或其他MHC-肽结合分子)的核苷酸序列。在一些实施方案中，所述启动子可以是非病毒启动子或病毒启动子，如巨细胞病毒(CMV)启动子、SV40启动子、RSV启动子和在鼠干细胞病毒的长末端重复序列中发现的启动子。也考虑其他已知的启动子。

[0292] 在一些实施方案中，为了产生编码TCR的载体，将α和β链从表达目标TCR的T细胞克隆分离的总cDNA进行PCR扩增，并将其克隆到表达载体中。在一些实施方案中，将所述α和β链克隆至相同载体中。在一些实施方案中，将所述α和β链克隆至不同载体中。在一些实施方案中，将所产生的α和β链掺入逆转录病毒(例如，慢病毒)载体中。

[0293] 3.遗传工程化细胞和产生细胞的方法

[0294] 在一些实施方案中，所提供的方法涉及向受试者进行给予，所述受试者例如具有疾病或病症细胞的受试者和/或表达重组抗原受体的小鼠。用于引入遗传工程化组分(例如

重组受体,例如,CAR或TCR)的各种方法是熟知的,并且可以与所提供的方法和组合物一起使用。示例性方法包括用于转移编码所述受体的核酸的那些,包括通过病毒(例如,逆转录病毒或慢病毒)、转导、转座子和电穿孔。

[0295] 表达所述受体并且通过所提供的方法给予的细胞包括工程化细胞。遗传工程化通常涉及将编码重组或工程化组分的核酸引入含有所述细胞的组合物中,如通过逆转录病毒转导、转染或转化。

[0296] a.用于遗传工程化的载体和方法

[0297] 在一些实施方案中,使用重组感染性病毒粒子(如例如,衍生自猿猴病毒40(SV40)、腺病毒、腺相关病毒(AAV)的载体)将重组核酸转移至细胞中。在一些实施方案中,使用重组慢病毒载体或逆转录病毒载体(如γ-逆转录病毒载体)将重组核酸转移至T细胞中(参见例如,Koste等人(2014)Gene Therapy 2014年4月3日.doi:10.1038/gt.2014.25;Carlens等人(2000)Exp Hematol 28(10):1137-46;Alonso-Camino等人(2013)Mol Ther Nucl Acids 2,e93;Park等人,Trends Biotechnol.2011年11月29日(11):550-557)。

[0298] 在一些实施方案中,逆转录病毒载体具有长末端重复序列(LTR),例如,衍生自莫洛尼鼠白血病病毒(MoMLV)、骨髓增生性肉瘤病毒(MPSV)、鼠胚胎干细胞病毒(MESV)、鼠干细胞病毒(MSCV)、脾病灶形成病毒(SFFV)或腺相关病毒(AAV)的逆转录病毒载体。大多数逆转录病毒载体衍生自鼠逆转录病毒。在一些实施方案中,所述逆转录病毒包括衍生自任何禽类或哺乳动物细胞来源的那些。所述逆转录病毒通常是双嗜性的,这意味着它们能够感染包括人在内的若干个物种的宿主细胞。在一个实施方案中,待表达的基因替代逆转录病毒gag、pol和/或env序列。已经描述了许多说明性逆转录病毒系统(例如,美国专利号5,219,740;6,207,453;5,219,740;Miller和Rosman(1989)BioTechniques 7:980-990;Miller,A.D.(1990)Human Gene Therapy 1:5-14;Scarpa等人(1991)Virology 180:849-852;Burns等人(1993)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:8033-8037;以及Boris-Lawrie和Temin(1993)Cur.Opin.Genet.Develop.3:102-109。

[0299] 慢病毒转导的方法是已知的。示例性方法描述于例如以下文献中:Wang等人(2012)J.Immunother.35(9):689-701;Cooper等人(2003)Blood.101:1637-1644;Verhoeyen等人(2009)Methods Mol Biol.506:97-114;和Cavalieri等人(2003)Blood.102(2):497-505。

[0300] 在一些实施方案中,通过电穿孔将重组核酸转移至T细胞中(参见例如,Chicaybam等人,(2013)PLoS ONE 8(3):e60298;和Van Tedeloo等人(2000)Gene Therapy 7(16):1431-1437)。在一些实施方案中,通过转座将重组核酸转移至T细胞中(参见例如,Manuri等人(2010)Hum Gene Ther 21(4):427-437;Sharma等人(2013)Molec Ther Nucl Acids 2,e74;和Huang等人(2009)Methods Mol Biol 506:115-126)。在免疫细胞中引入和表达遗传物质的其他方法包括磷酸钙转染(例如,如以下文献中所述:Current Protocols in Molecular Biology,John Wiley&Sons,纽约州纽约市)、原生质体融合、阳离子脂质体介导的转染;钨粒子促进的微粒轰击(Johnston,Nature,346:776-777(1990));和磷酸锶DNA共沉淀(Brash等人,Mol.Cell Biol.,7:2031-2034(1987))。

[0301] 用于转移编码所述重组产物的核酸的其他方法和载体是例如在国际专利申请公开号WO 2014055668和美国专利号7,446,190中所述的那些。

[0302] 在一些实施方案中,可以在扩增期间或之后例如用T细胞受体(TCR)或嵌合抗原受体(CAR)对所述细胞(例如,小鼠T细胞)进行转染。例如,这种用于引入所需受体的基因的转染可以用任何合适的逆转录病毒载体进行。然后可以使遗传修饰的细胞群摆脱初始刺激物(例如,抗CD3/抗CD28刺激物),随后用第二类型的刺激物例如通过从头引入的受体进行刺激。这种第二类型的刺激物可以包括呈肽/MHC分子形式的抗原性刺激物、遗传引入的受体的同源(交联)配体(例如,CAR的天然配体)或在新受体的框架内直接结合(例如,通过识别所述受体内的恒定区)的任何配体(如抗体)。参见例如,Cheadle等人,"Chimeric antigen receptors for T-cell based therapy"Methods Mol Biol.2012;907:645-66;或Barrett等人,Chimeric Antigen Receptor Therapy for Cancer Annual Review of Medicine第65卷:333-347(2014)。

[0303] 在一些情况下,可以使用不需要激活所述细胞(例如,T细胞)的载体。在一些此类情况下,可以在激活之前选择和/或转导所述细胞。因此,可以在培养所述细胞之前或之后将所述细胞工程化,并且在一些情况下在培养的至少一部分的同时或期间将所述细胞工程化。

[0304] 另外的核酸(例如,用于引入的基因)包括用于改善治疗功效的那些,如通过促进转移细胞的活力和/或功能;用于提供选择和/或评估细胞的遗传标记的基因,如以评估体内存活或定位;改善安全性的基因,例如通过使细胞在体内对阴性选择易感,如Lupton S.D.等人,Mol.and Cell Biol.,11:6(1991)和Riddell等人,Human Gene Therapy 3:319-338(1992)所述;还参见Lupton等人的PCT/US91/08442和PCT/US94/05601的出版物,其描述了使用由将显性阳性选择性标记与阴性选择性标记融合而得到的双功能选择性融合基因。参见例如,Riddell等人,美国专利号6,040,177,第14-17栏。

[0305] b.用于遗传工程化的细胞和细胞的制备

[0306] 在一些实施方案中,所述核酸是异源的,即通常在细胞或从所述细胞获得的样品中不存在,如从另一种生物体或细胞获得的核酸,所述核酸例如通常未在被工程化的细胞和/或衍生出这种细胞的生物体中发现。在一些实施方案中,核酸不是天然存在的,如自然界中未发现的核酸,包括包含编码来自多种不同细胞类型的多种结构域的核酸的嵌合组合的核酸。

[0307] 在一些实施方案中,所述工程化细胞的制备包括一个或多个培养和/或制备步骤,用于引入编码转基因受体(如CAR)的核酸的细胞可以从样品分离,所述样品如生物样品,例如,从受试者或供体(例如,与给予所述细胞疗法的小鼠具有相同品系、亚品系或基因构成的供体小鼠)获得或衍生的样品。

[0308] 因此,所述细胞在一些实施方案中是原代细胞,例如,原代小鼠细胞。所述样品包括直接从受试者(例如,小鼠)或供体(例如,供体小鼠)获取的组织、体液和其他样品,以及从一个或多个加工步骤得到的样品,所述加工步骤如分离、离心、遗传工程化(例如,用病毒载体转导)、洗涤和/或孵育。所述生物样品可以是从生物来源直接获得的样品或经过加工的样品。生物样品包括但不限于体液(如血液、血浆、血清、脑脊液、滑液、尿液和汗液)、组织和器官样品,包括由其衍生的加工样品。在特定实施方案中,所述样品是或包括脾细胞,例如,小鼠脾细胞。

[0309] 在一些实施方案中,所述细胞衍生自血液、骨髓、淋巴、脾或淋巴器官,是免疫系统

的细胞，如先天或适应性免疫的细胞，例如，骨髓或淋巴细胞(包括淋巴细胞，通常是T细胞和/或NK细胞)。在特定实施方案中，所述细胞衍生自脾(例如，小鼠脾)，和/或是从脾细胞(例如，小鼠脾细胞)分离、选择或富集。其他示例性细胞包括干细胞，如多潜能干细胞和多能干细胞，包括诱导多能干细胞(iPSC)。所述细胞通常是原代细胞，例如，原代小鼠细胞，如从受试者(例如，小鼠，如供体小鼠)直接分离和/或从受试者(例如，小鼠受试者)分离并冷冻(例如，低温冷冻、低温冻结或冷藏保存)的那些。在一些实施方案中，所述细胞包括小鼠T细胞或其他细胞类型的一个或多个亚组，如全小鼠T细胞群、CD4+细胞、CD8+细胞和其亚群，如依据以下限定的那些：功能、激活状态、成熟性、分化潜力、扩增、再循环、定位和/或持久性能力、抗原特异性、抗原受体类型、在特定器官或区室中的存在、标记或细胞因子分泌概况和/或分化程度。在特定实施方案中，小鼠T细胞的所述一个或多个亚组是从小鼠脾细胞分离、选择或富集。关于要治疗的受试者(例如，单独的小鼠受试者)，所述细胞可以是同种异体和/或自体的。在特定实施方案中，所述同种异体细胞可以衍生自与所述受试者具有相同品系或亚品系的小鼠，如与所述受试者的基因组具有相同或类似基因构成(例如，至少80％、85％、90％、95％、97％、98％、99％、99.9％、99.99％或99.999％同一性)的小鼠。在一些实施方案中，在给予没有进行淋巴细胞清除的受试者时或在所述细胞尚未被工程化以表达重组受体时，所述同种异体细胞不会诱导免疫应答或诱导极低免疫应答。

[0310] 所述方法包括现成的方法。在一些方面，如对于现成的技术，所述细胞是多能和/或多潜能的，如干细胞，如诱导多能干细胞(iPSC)。在一些实施方案中，所述方法包括从所述受试者分离细胞、制备、加工、培养和/或将它们工程化，并在冷冻保存之前或之后将它们重新引入同一受试者中。

[0311] 小鼠T细胞和/或小鼠CD4+和/或小鼠CD8+T细胞的亚型和亚群包括初试T(T_N)细胞、效应T细胞(T_{EFF})、记忆T细胞及其亚型(如干细胞记忆T(T_{SCM})、中枢记忆T(T_{CM})、效应记忆T(T_{EM})或终末分化的效应记忆T细胞)、肿瘤浸润性淋巴细胞(TIL)、未成熟T细胞、成熟T细胞、辅助T细胞、细胞毒性T细胞、粘膜相关恒定T(MAIT)细胞、天然存在和适应性调节性T(Treg)细胞、辅助T细胞(如TH1细胞、TH2细胞、TH3细胞、TH17细胞、TH9细胞、TH22细胞、滤泡性辅助T细胞)、α/βT细胞以及δ/γT细胞。

[0312] 在一些实施方案中，所述细胞是小鼠天然杀伤(NK)细胞。在一些实施方案中，所述细胞是小鼠单核细胞或小鼠粒细胞，例如，骨髓细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、树突细胞、肥大细胞、嗜酸性粒细胞和/或嗜碱性粒细胞。

[0313] 在一些实施方案中，所述细胞包括通过遗传工程化引入的一种或多种核酸，并由此表达此类核酸的重组或遗传工程化产物。在一些实施方案中，所述核酸是异源的，即通常在细胞或从所述细胞获得的样品中不存在，如从另一种生物体或细胞获得的核酸，所述核酸例如通常未在被工程化的细胞和/或衍生出这种细胞的生物体中发现。在一些实施方案中，核酸不是天然存在的，如自然界中未发现的核酸，包括包含编码来自多种不同细胞类型的多种结构域的核酸的嵌合组合的核酸。

[0314] 在一些实施方案中，所述工程化细胞的制备包括一个或多个培养和/或制备步骤，用于引入编码转基因受体(如CAR)的核酸的细胞可以从样品(如生物样品，例如，从受试者获得或衍生的生物样品)分离。在一些实施方案中，从中分离细胞的受试者是患有疾病或病症或需要细胞疗法或将被给予细胞疗法的受试者。在一些实施方案中，受试者是需要特定

治疗性干预(如所分离、加工和/或工程化的细胞所用于的过继细胞疗法)的人。

[0315] 因此,在一些实施方案中,所述细胞是原代细胞,例如,原代人细胞。所述样品包括从受试者(例如,小鼠,如供体小鼠)直接获取的组织、体液和其他样品,以及从一个或多个加工步骤得到的样品,所述加工步骤如分离、离心、遗传工程化(例如,用病毒载体转导)、洗涤和/或孵育。所述生物样品可以是从生物来源直接获得的样品或经过加工的样品。生物样品包括但不限于体液(如血液、血浆、血清、脑脊液、滑液、尿液和汗液)、组织和器官样品,包括由其衍生的加工样品。

[0316] 在一些方面,衍生或分离出所述细胞的样品是血液或血液衍生的样品,或者是或衍生自单采术或白细胞分离术产物。示例性样品包括全血、外周血单核细胞(PBMC)、白细胞、骨髓、胸腺、组织活检、肿瘤、白血病、淋巴瘤、淋巴结、肠相关淋巴组织、粘膜相关淋巴组织、脾、其他淋巴组织、肝、肺、胃、肠、结肠、肾、胰腺、乳房、骨、前列腺、子宫颈、睾丸、卵巢、扁桃体或其他器官和/或由其衍生的细胞。在细胞疗法(例如,过继细胞疗法)的情况下,样品包括来自自体和同种异体来源的样品。在特定实施方案中,所述细胞是从小鼠脾和/或小鼠淋巴结衍生或分离。在特定实施方案中,所述细胞是从衍生自和/或产生自小鼠脾和/或小鼠淋巴结的单细胞悬浮液衍生或分离。

[0317] 在一些实施方案中,所述细胞衍生自细胞系,例如,小鼠T细胞系。在一些实施方案中,所述细胞是从异种来源(例如,从大鼠、非人灵长类动物、人和猪)获得。

[0318] 在一些实施方案中,所述细胞的分离包括一个或多个制备步骤和/或非基于亲和力的细胞分离步骤。在一些例子中,将细胞在一种或多种试剂的存在下洗涤、离心和/或孵育,例如以去除不需要的组分、针对所需组分进行富集、裂解或去除对特定试剂敏感的细胞。在一些例子中,基于一种或多种特性(如密度、粘附特性、大小、对特定组分的敏感性和/或抗性)分离细胞。

[0319] 在一些例子中,来自受试者(例如,小鼠受试者)的循环血液的细胞是通过例如单采术或白细胞分离术获得。在一些方面,所述样品含有淋巴细胞,包括T细胞、单核细胞、粒细胞、B细胞、其他有核白细胞、红细胞和/或血小板,并且在一些方面含有除红细胞和血小板之外的细胞。

[0320] 在一些实施方案中,洗涤从受试者收集的所述血细胞以例如去除血浆级分,并将所述细胞置于适当缓冲液或介质中用于后续加工步骤。在一些实施方案中,用磷酸盐缓冲盐水(PBS)洗涤所述细胞。在一些实施方案中,所述洗涤溶液缺少钙和/或镁和/或许多或所有二价阳离子。在一些方面,洗涤步骤是在半自动化"流通式"离心机(例如,Cobe 2991细胞加工器,Baxter)中根据制造商的说明书来完成的。在一些方面,洗涤步骤是通过切向流过滤(TFF)根据制造商的说明书完成的。在一些实施方案中,洗涤后将所述细胞重悬于多种生物相容性缓冲液(例如像不含Ca^{++}/Mg^{++}的PBS)中。在某些实施方案中,去除血细胞样品的组分并将所述细胞直接重悬于培养基中。

[0321] 在一些实施方案中,所述方法包括基于密度的细胞分离方法,如通过裂解红细胞并通过Percoll或Ficoll梯度离心而从外周血制备白细胞。

[0322] 在一些实施方案中,所述分离方法包括基于一种或多种特定分子(如表面标记(例如表面蛋白)、细胞内标记或核酸)在所述细胞中的表达或存在分离不同细胞类型。在一些实施方案中,可以使用任何已知的基于此类标记的分离方法。在一些实施方案中,所述分离

是基于亲和力或基于免疫亲和力的分离。例如,在一些方面,所述分离包括基于一种或多种标记(通常是细胞表面标记)在细胞中的表达或表达水平来分离细胞和细胞群,例如,通过与特异性结合至此类标记的抗体或结合配偶体一起孵育,之后通常进行洗涤步骤并将已经结合所述抗体或结合配偶体的细胞与尚未结合至所述抗体或结合配偶体的那些细胞分离。

[0323] 此类分离步骤可以基于阳性选择(其中保留已经结合所述试剂的细胞以供进一步使用)和/或阴性选择(其中保留尚未结合至所述抗体或结合配偶体的细胞)。在一些例子中,保留两种级分以供进一步使用。在一些方面,在无法获得专门鉴定异质性群体中的细胞类型的抗体,使得最好实施基于除了所需群体以外的细胞表达的标记来实施分离的情况下,阴性选择可以特别有用。

[0324] 所述分离无需导致特定细胞群或表达特定标记的细胞的100%富集或去除。例如,特定类型的细胞(如表达标记的那些细胞)的阳性选择或富集是指增加此类细胞的数量或百分比,但是无需使不表达所述标记的细胞完全不存在。同样,特定类型的细胞(如表达标记的那些细胞)的阴性选择、去除或耗尽是指减少此类细胞的数量或百分比,但不需要导致所有此类细胞的完全去除。

[0325] 在一些例子中,实施多轮分离步骤,其中使来自一个步骤的阳性或阴性选择的级分经历另一分离步骤,如后续阳性或阴性选择。在一些例子中,单个分离步骤可以如通过将细胞与多种抗体或结合配偶体一起孵育而同时耗尽表达多种标记的细胞,每种抗体或结合配偶体对于针对阴性选择靶向的标记是特异性的。同样地,通过将细胞与在各种细胞类型上表达的多种抗体或结合配偶体一起孵育,多种细胞类型可以同时进行阳性选择。

[0326] 例如,在一些方面,通过阳性或阴性选择技术来分离小鼠T细胞的特定亚群,如对一种或多种表面标记呈阳性或表达高水平的所述一种或多种表面标记的细胞,例如,$CD28^+$、$CD62L^+$、$CCR7^+$、$CD27^+$、$CD127^+$、$CD4^+$、$CD8^+$、$CD45RA^+$和/或$CD45RO^+$T细胞。

[0327] 例如,可以使用抗CD3/抗CD28缀合的磁珠(例如,DYNABEADS® M-450CD3/CD28 T细胞扩增器)对小鼠$CD3^+$,$CD28^+$T细胞进行阳性选择。

[0328] 在一些实施方案中,分离是通过阳性选择富集特定细胞群或通过阴性选择耗尽特定细胞群来实施。在一些实施方案中,阳性或阴性选择是通过将细胞与一种或多种抗体或其他结合剂一起孵育来完成,所述一种或多种抗体或其他结合剂与分别在阳性或阴性选择的细胞上表达(标记$^+$)或以相对较高水平表达(标记^{高})的一种或多种表面标记特异性地结合。

[0329] 在一些实施方案中,小鼠T细胞是通过在非T细胞(如B细胞、单核细胞或其他白细胞)上表达的标记(如CD14)的阴性选择从PBMC样品分离的。在一些方面,$CD4^+$或$CD8^+$选择步骤用于分离$CD4^+$辅助T细胞和$CD8^+$细胞毒性T细胞。通过对在一种或多种初试、记忆和/或效应T细胞亚群上表达或以相对较高程度表达的标记的阳性或阴性选择,可以将此类$CD4^+$和$CD8^+$群体进一步分类成亚群。

[0330] 在一些实施方案中,将小鼠$CD8^+$细胞针对初始、中枢记忆、效应子记忆和/或中枢记忆干细胞进一步富集或耗尽,如通过基于与相应亚群相关的表面抗原的阳性或阴性选择来进行。在一些实施方案中,针对中枢记忆T(T_{CM})细胞进行富集以增加功效,如以改善给予后的长期存活、扩增和/或移植,这在一些方面在此类亚群中特别稳健。参见Terakura等人(2012)Blood.1:72-82;Wang等人.(2012)J Immunother.35(9):689-701。在一些实施方案

中，组合富含T_{CM}的$CD8^+$T细胞与$CD4^+$T细胞进一步增强功效。

[0331] 在实施方案中，记忆T细胞同时存在于$CD8^+$外周血淋巴细胞的$CD62L^+$和$CD62L^-$亚组中。可以如使用抗CD8和抗CD62L抗体使PBMC富含或耗尽$CD62L^-CD8^+$和/或$CD62L^+CD8^+$级分。

[0332] 在一些实施方案中，中枢记忆T(T_{CM})细胞的富集是基于CD45RO、CD62L、CCR7、CD28、CD3和/或CD127的阳性或高表面表达；在一些方面，所述富集是基于表达或高度表达CD45RA和/或颗粒酶B的细胞的阴性选择。在一些方面，富含T_{CM}细胞的$CD8^+$群体的分离是通过耗尽表达CD4、CD14、CD45RA的细胞以及对表达CD62L的细胞的阳性选择或富集来实施的。在一个方面中，对中枢记忆T(T_{CM})细胞的富集是用基于CD4表达选择的细胞的阴性级分开始实施的，基于CD14和CD45RA的表达对所述阴性级分进行阴性选择，并基于CD62L进行阳性选择。在一些方面，此类选择是同时实施，并且在其他方面中是以任一顺序依序实施。在一些方面，用于制备$CD8^+$细胞群或亚群的相同的基于CD4表达的选择步骤也用于生成$CD4^+$细胞群或亚群，使得来自基于CD4的分离的阳性和阴性级分被保留并用于所述方法的后续步骤中，任选地在一个或多个其他阳性或阴性选择步骤之后。

[0333] 在特定例子中，使PBMC样品或其他白细胞样品或从小鼠脾和/或小鼠淋巴结制备和/或衍生的单细胞悬浮液经历$CD4^+$细胞的选择，其中保留阴性和阳性级分二者。然后使所述阴性级分经历基于CD14和CD45RA或CD19的表达进行的阴性选择，和基于中枢记忆T细胞特有的标记(如CD62L或CCR7)进行的阳性选择，其中以任何顺序进行所述阳性和阴性选择。

[0334] 通过鉴定具有细胞表面抗原的细胞群将$CD4^+$T辅助细胞分选为初试、中枢记忆和效应子细胞。$CD4^+$淋巴细胞可以通过标准方法来获得。在一些实施方案中，初试$CD4^+$T淋巴细胞是$CD45RO^-$、$CD45RA^+$、$CD62L^+$和$CD4^+$T细胞。在一些实施方案中，中枢记忆$CD4^+$细胞是$CD62L^+$且$CD45RO^+$。在一些实施方案中，效应$CD4^+$细胞是$CD62L^-$且$CD45RO^-$。

[0335] 在一个例子中，为了通过阴性选择富集$CD4^+$细胞，单克隆抗体混合剂通常包括针对CD14、CD20、CD11b、CD16、HLA-DR和CD8的抗体。在一些实施方案中，所述抗体或结合配偶体结合至固体支持物或基质(如磁珠或顺磁珠)，以允许分离细胞以供阳性和/或阴性选择。例如，在一些实施方案中，使用免疫磁性(或亲和磁性)分开技术来分开或分离细胞和细胞群(综述于Methods in Molecular Medicine，第58卷:Metastasis Research Protocols，第2卷:Cell Behavior In Vitro and In Vivo，第17-25页S.A.Brooks和U.Schumacher编辑©Humana Press Inc.，新泽西州托托瓦)。

[0336] 在一些方面，将待分离的细胞的样品或组合物与小的可磁化或磁响应材料(如磁响应颗粒或微粒，如顺磁珠(例如像Dynabeads或MACS珠))一起孵育。所述磁响应材料(例如，颗粒)通常直接或间接地附着于结合配偶体(例如，抗体)，所述结合配偶体与希望分离(例如，希望阴性地或阳性地选择)的一种或多种细胞或细胞群上存在的分子(例如，表面标记)特异性结合。

[0337] 在一些实施方案中，磁粒或磁珠包含结合至特异性结合成员(如抗体或其他结合配偶体)的磁响应材料。存在许多用于磁分离方法的熟知的磁响应材料。合适的磁粒包括以下文献中所述的那些:Molday的美国专利号4,452,773，以及欧洲专利说明书EP 452342B，所述文献通过引用并入本文。胶体大小的颗粒是其他例子，如以下文献中所述的那些:Owen的美国专利号4,795,698，和Liberti等人的美国专利号5,200,084。

[0338] 孵育通常在这样的条件下进行，由此抗体或结合配偶体或者与附着于磁粒或磁珠

的此类抗体或结合配偶体特异性结合的分子(如二抗或其他试剂)与细胞表面分子(如果存在于所述样品内的细胞上的话)特异性结合。

[0339] 在一些方面,将样品置于磁场中,并且具有附着于其上的磁响应或可磁化颗粒的那些细胞将被吸引到磁体并与未标记的细胞分离。对于阳性选择,保留被磁体吸引的细胞;对于阴性选择,保留未被吸引的细胞(未标记的细胞)。在一些方面,在相同的选择步骤期间进行阳性与阴性选择的组合,其中保留阳性和阴性级分并进一步加工或进行进一步的分离步骤。

[0340] 在某些实施方案中,磁响应颗粒被包被在一抗或其他结合配偶体、二抗、凝集素、酶或链霉亲和素中。在某些实施方案中,所述磁粒通过对一种或多种标记具特异性的一抗的包被而附着于细胞。在某些实施方案中,将所述细胞而不是所述珠用一抗或结合配偶体标记,之后添加细胞类型特异性二抗或其他结合配偶体(例如,链霉亲和素)包被的磁性颗粒。在某些实施方案中,链霉亲和素包被的磁粒是与生物素化一抗或二抗结合使用。

[0341] 在一些实施方案中,磁响应颗粒保持附着于所述细胞,所述细胞随后被孵育,培养和/或工程化;在一些方面,所述颗粒保持附着于所述细胞以用于给予患者。在一些实施方案中,从所述细胞去除所述可磁化或磁响应颗粒。从细胞中去除可磁化颗粒的方法是已知的,并且包括例如使用竞争的非标记抗体和与可切割接头缀合的可磁化颗粒或抗体。在一些实施方案中,所述可磁化颗粒是可生物降解的。

[0342] 在一些实施方案中,基于亲和力的选择是经由磁激活的细胞分选(MACS)(Miltenyi Biotech,Auburn,CA)进行的。磁激活的细胞分选(MACS)系统能够高纯度选择附着有磁化颗粒的细胞。在某些实施方案中,MACS以如下模式操作,其中在施加外部磁场之后依次洗脱非靶物质和靶物质。也就是说,附着于磁化颗粒的细胞被保持在适当的位置,而未附着的物质被洗脱。然后,在完成第一次洗脱步骤之后,以某种方式释放被捕获在磁场中并被阻止洗脱的种类,使得它们可以被洗脱和回收。在某些实施方案中,非靶细胞被标记并从异质细胞群中耗尽。

[0343] 在某些实施方案中,使用这样的系统、装置或设备进行分离或分开,所述系统、装置或设备进行所述方法的分离、细胞制备、分开、加工、孵育、培养和/或制备步骤中的一个或多个。在一些方面,使用所述系统在封闭或无菌环境中实施这些步骤中的每一个,例如,以使误差、用户操作和/或污染最小化。在一个例子中,所述系统是如国际专利申请公开号WO 2009/072003或US 20110003380 A1中所述的系统。

[0344] 在一些实施方案中,所述系统或设备在集成或独立系统中和/或以自动或可编程方式进行分离、加工、工程化和配制步骤中的一个或多个(例如,全部)。在一些方面,所述系统或设备包括与所述系统或设备通信的计算机和/或计算机程序,所述计算机和/或计算机程序允许用户编程、控制、评估所述加工、分离、工程化和配制步骤的结果和/或调整所述加工、分离、工程化和配制步骤的各个方面。

[0345] 在一些方面,使用CliniMACS系统(Miltenyi Biotic)进行分离和/或其他步骤,例如用于在封闭和无菌系统中在临床规模水平上的细胞的自动化分离。部件可包括集成微计算机、磁分离单元、蠕动泵和各种夹管阀。在一些方面,所述集成计算机控制所述仪器的所有部件并指示所述系统以标准化顺序执行重复程序。在一些方面,所述磁分离单元包括可移动的永磁体和用于选择柱的支架。所述蠕动泵控制整个管组的流速,并且与所述夹紧阀

一起确保经过所述系统的缓冲液的受控流动和细胞的连续悬浮。

[0346] 在一些方面,所述CliniMACS系统使用在无菌无热原溶液中供应的抗体偶联的可磁化颗粒。在一些实施方案中,在用磁粒标记细胞后,洗涤所述细胞以去除多余颗粒。然后将细胞制备袋连接到管组,再将所述管组连接到含有缓冲液的袋和细胞收集袋。所述管组由预装配的无菌管(包括预柱和分离柱)组成,并且仅供一次性使用。在启动分离程序后,所述系统将细胞样品自动施加到分离柱上。标记的细胞保留在柱内,而未标记的细胞通过一系列洗涤步骤去除。在一些实施方案中,用于与本文描述的方法一起使用的细胞群是未标记的并且不保留在柱中。在一些实施方案中,用于与本文描述的方法一起使用的细胞群被标记并保留在柱中。在一些实施方案中,用于与本文所述方法一起使用的细胞群在去除磁场后从柱中洗脱,并收集在细胞收集袋内。

[0347] 在某些实施方案中,使用CliniMACS Prodigy系统(Miltenyi Biotec)实施分离和/或其他步骤。在一些方面,CliniMACS Prodigy系统配备有细胞加工联合体,其允许通过离心自动化洗涤和分级分离细胞。CliniMACS Prodigy系统还可以包括机载相机和图像识别软件,其通过辨别源细胞产物的宏观层来确定最佳的细胞分级分离终点。例如,外周血自动分离成红细胞、白细胞和血浆层。CliniMACS Prodigy系统还可以包括集成细胞培育室,其实现细胞培养方案例如细胞分化和扩增、抗原加载和长期细胞培养。输入端口可允许无菌移除和补充培养基,并且可以使用集成显微镜监测细胞。参见例如,Klebanoff等人(2012)J Immunother.35(9):651-660;Terakura等人(2012)Blood.1:72-82;和Wang等人(2012)J Immunother.35(9):689-701。

[0348] 在一些实施方案中,通过流式细胞术收集并富集(或耗尽)本文所述的细胞群,其中针对多种细胞表面标记染色的细胞携载于流体流中。在一些实施方案中,通过制备规模的(FACS)分类来收集和富集(或耗尽)本文描述的细胞群。在某些实施方案中,通过使用微机电系统(MEMS)芯片结合基于FACS的检测系统来收集和富集(或耗尽)本文描述的细胞群(参见例如,WO 2010/033140,Cho等人(2010)Lab Chip 10,1567-1573;和Godin等人(2008)J Biophoton.1(5):355-376)。在两种情况下,可以用多种标记来标记细胞,从而允许以高纯度分离明确限定的T细胞亚组。

[0349] 在一些实施方案中,用一种或多种可检测标记来标记所述抗体或结合配偶体,以促进用于阳性和/或阴性选择的分离。例如,分离可以基于与荧光标记的抗体的结合。在一些例子中,基于对一种或多种细胞表面标记具有特异性的抗体或其他结合配偶体的结合来分离细胞是在流体流中进行,如通过荧光激活细胞分选(FACS),包括制备规模(FACS)和/或微机电系统(MEMS)芯片,例如,与流式细胞检测系统组合。此类方法允许基于多种标记同时进行阳性和阴性选择。

[0350] 在一些实施方案中,制备方法包括在分离、孵育和/或工程化之前或之后冷冻(例如,冷冻保存)所述细胞的步骤。在一些实施方案中,所述冷冻和后续解冻步骤去除所述细胞群中的粒细胞,并且在一定程度上去除单核细胞。在一些实施方案中,例如,在洗涤步骤去除血浆和血小板之后,使所述细胞悬浮于冷冻溶液中。在一些方面,可以使用多种已知的冷冻溶液和参数中的任何一种。一个例子涉及使用含有20%DMSO和8%人血清白蛋白(HSA)的PBS,或其他合适的细胞冷冻培养基。然后将其用培养基1:1稀释,使得DMSO和HSA的最终浓度分别为10%和4%。然后通常将所述细胞以1°/分钟的速率冷冻至-80℃并储存在液氮

储罐的气相中。

[0351] 在一些实施方案中，在遗传工程化之前或结合遗传工程化孵育和/或培养所述细胞。所述孵育步骤可以包括培养、培育、刺激、激活和/或繁殖。孵育和/或工程化可以在培养容器中进行，所述培养容器是如单元、室、孔、柱、管、管组、阀、小瓶、培养皿、袋或其他用于培养或培育细胞的容器。在一些实施方案中，在刺激条件或刺激剂的存在下孵育所述组合物或细胞。此类条件包括设计用于在群体中诱导细胞的增殖、扩增、激活和/或存活以模拟抗原暴露和/或引发细胞用于遗传工程化(如用于引入重组抗原受体)的那些。

[0352] 条件可以包括以下中的一种或多种:特定培养基、温度、氧含量、二氧化碳含量、时间、药剂(例如，营养素、氨基酸、抗生素、离子和/或刺激因子(如细胞因子、趋化因子、抗原、结合配偶体、融合蛋白、重组可溶性受体和任何其他旨在激活细胞的药剂))。

[0353] 在一些实施方案中，刺激条件或药剂包括一种或多种药剂(例如配体)，其能够激活TCR复合物的细胞内信号传导结构域。在一些方面，所述药剂在T细胞中开启或起始TCR/CD3细胞内信号传导级联。此类药剂可以包括抗体，如对TCR具有特异性的那些，例如抗CD3。在一些实施方案中，刺激条件包括能够刺激共刺激受体的一种或多种药剂(例如，配体)，例如，抗CD28。在一些实施方案中，此类药剂和/或配体可以结合至固体支持物(如珠)和/或一种或多种细胞因子。任选地，所述扩增方法可以进一步包括将抗CD3和/或抗CD28抗体添加至培养基(例如，以至少约0.5ng/ml的浓度)的步骤。在一些实施方案中，所述刺激剂包括IL-2、IL-15和/或IL-7。在一些方面，IL-2浓度为至少约10单位/mL。

[0354] 在一些方面，根据多种技术实施孵育，所述技术如以下文献中所述的那些：Riddell等人的美国专利号6,040,177;Klebanoff等人(2012)J Immunother.35(9):651-660;Terakura等人(2012)Blood.1:72-82;和/或Wang等人(2012)J Immunother.35(9):689-701。

[0355] 在一些实施方案中，通过以下方法扩增T细胞:向培养起始组合物中加入饲养细胞(如非分裂外周血单核细胞(PBMC))(例如，使得所得细胞群含有至少约5、10、20或40种或更多种PBMC饲养细胞，以使初始群体中的每种T淋巴细胞进行扩增);以及孵育培养物(例如，持续足以扩增T细胞数量的时间)。在一些方面，非分裂饲养细胞可包含γ辐射的PBMC饲养细胞。在一些实施方案中，用约3000至3600拉德范围内的γ射线照射PBMC以防止细胞分裂。在一些方面，在添加所述T细胞群之前将饲养细胞添加至培养基。

[0356] 在一些实施方案中，刺激条件包括适合于人T淋巴细胞生长的温度，例如至少约25摄氏度，通常为至少约30摄氏度，并且通常在或在约37摄氏度。任选地，所述孵育还可以包括添加非分裂EBV转化的类淋巴母细胞(LCL)作为饲养细胞。可以用约6,000至10,000拉德范围内的γ射线照射LCL。在一些方面，所述LCL饲养细胞以任何合适的量(如LCL饲养细胞与初始T淋巴细胞的比率为至少约10:1)提供。

[0357] 在一些实施方案中，通过用抗原刺激初试或抗原特异性T淋巴细胞获得抗原特异性T细胞，如抗原特异性CD4+和/或CD8+T细胞。例如，可以通过从感染的受试者分离T细胞并用相同的抗原在体外刺激细胞，针对巨细胞病毒抗原生成抗原特异性T细胞系或克隆。

[0358] c.给予细胞组合物

[0359] 在某些实施方案中，所述细胞组合物可以通过任何合适的方式给予，例如通过推注输注，通过注射(例如静脉内或皮下注射、眼内注射、眼周注射、视网膜下注射、玻璃体内

注射、经中隔注射、巩膜下注射、脉络膜内注射、前房注射、结膜下(subconjectval)注射、结膜下(subconjuntival)注射、眼球筋膜囊下(sub-Tenon)注射、球后注射、球周注射)或后近巩膜(posterior juxtascleral)递送。在一些实施方案中,通过以下方式来给予所述免疫疗法:肠胃外、肺内和鼻内,并且,如果需要局部治疗,则进行病灶内给予。肠胃外输注包括肌内、静脉内、动脉内、腹膜内、胸腔内、颅内或皮下给予。在一些实施方案中,通过细胞的单次推注给药来给予给定剂量。在特定实施方案中,所述细胞组合物是静脉内给予。在某个实施方案中,将所述细胞组合物静脉内给予至侧尾静脉中。

[0360] 在一些实施方案中,所述细胞组合物含有先前没有被低温冷冻(例如,冷藏保存、冷冻保护或低温冻结)的细胞。在特定实施方案中,所述细胞组合物中的细胞或至少一部分细胞已经在产生、制造和/或生产所述细胞组合物的过程期间一次或多次进行低温冷冻。在一些实施方案中,所述细胞组合物中的细胞或至少一部分细胞已经和/或在收集、分离、激活、转导和/或扩增所述细胞的步骤之间。

[0361] 在某些实施方案中,给予所述组合物中介于或介于约1x 10^5与1x 10^{10}个之间的细胞(例如,总细胞)、1x 10^5与1x 10^7个之间的细胞、1x 10^6与1x 10^8个之间的细胞、5x 10^5与5x 10^8个之间的细胞、1x 10^7与5x 10^9个之间的细胞、5x 10^6与2x 10^7个之间的细胞、5x 10^6与1x 10^8个之间的细胞、5x 10^6与2x 10^7个之间的细胞、1x 10^6与2x 10^7个之间的细胞、1x 10^7与5x 10^7个之间的细胞、5x 10^6与2x 10^7个之间的细胞、2x 10^7与3x 10^7个之间的细胞、3x 10^7与4x 10^7个之间的细胞、或5x 10^7与1x 10^8个之间的细胞,每个都包含端值。在特定实施方案中,给予所述组合物中至少或至少约或者为或为约1x 10^5、2.5x 10^5、5x 10^5、6x 10^5、7x 10^5、8x 10^5、9x 10^5、1x 10^6、1.5x 10^6、2x 10^6、2.5x 10^6、5x 10^6、7.5x 10^6、1x 10^7、2x 10^7、4x 10^7、5x 10^7、7x 10^7、8x 10^7、9x 10^7、1x 10^8、2x 10^8、3x 10^8、4x 10^8、5x 10^8、6x 10^8、7x 10^8、8x 10^8、1x 10^9、2x 10^9、5x 10^9或1x 10^{10}的量的细胞(例如,总细胞)。

[0362] 在特定实施方案中,给予介于或介于约1x 10^5与1x 10^9个之间表达重组受体(例如,CAR)的细胞、1x 10^5与1x 10^7个之间的细胞、1x 10^6与1x 10^8个之间的细胞、1x 10^6与5x 10^7个之间的细胞、5x 10^6与2x 10^7个之间的细胞、5x 10^6与2x 10^7个之间的细胞、5x 10^6与1x 10^8个之间的细胞、5x 10^6与2x 10^7个之间的细胞、1x 10^7与2x 10^8个之间的细胞、1x 10^7与5x 10^7个之间的细胞、5x 10^6与1x 10^8个之间的细胞、5x 10^6与3x 10^7个之间的细胞、3x 10^6与4x 10^6个之间的细胞、或5x 10^6与5x 10^7个之间的细胞,每个都包含端值。在特定实施方案中,给予至少或至少约或者为或为约1x 10^5、2.5x 10^5、5x 10^5、7.5x 10^5、1x 10^6、1x 10^6、2.5x 10^6、5x 10^6、6x 10^6、7x 10^6、8x 10^6、9x 10^6、1x 10^7、1.1x 10^7、1.2x 10^7、1.25x 10^7、1.3x 10^7、1.4x 10^7、1.5x 10^7、1.6x 10^7、1.7x 10^7、1.75x 10^7、1.8x 10^7、1.9x 10^7、2x 10^7、2.5x 10^7、5x 10^7、7.5x 10^7、3x 10^7、3.5x 10^7、4x 10^7、5x 10^7、7x 10^7、8x 10^7、9x 10^7、1x 10^8、2x 10^8、3x 10^8、4x 10^8、5x 10^8、6x 10^7、7x 10^8、8x 10^8、1x 10^8、1x 10^9、5x 10^9、或1x 10^{10}的量的表达重组受体(例如,CAR)的细胞。

[0363] 在特定实施方案中,给予介于或介于约1x 10^5与1x 10^9个之间的表达重组受体(例如,CAR)的CD4+细胞、1x 10^5与1x 10^7个之间的CD4+细胞、1x 10^6与1x 10^8个之间的CD4+细胞、1x 10^6与5x 10^6个之间的CD4+细胞、2.5x 10^6与1x 10^7个之间的CD4+细胞、2.5x 10^6与1x 10^7个之间的CD4+细胞、5x 10^6与2x 10^7个之间的CD4+细胞、5x 10^6与2x 10^7个之间的CD4+细胞、5x 10^6与1x 10^8个之间的CD4+细胞、5x 10^6与2x 10^7个之间的CD4+细胞、1x 10^7与2x 10^8

个之间的CD4+细胞、1x 10^7与5x 10^7个之间的CD4+细胞、5x 10^6与1x 10^8个之间的CD4+细胞、5x 10^6与3x 10^7个之间的CD4+细胞、3x 10^6与4x 10^6个之间的CD4+细胞、或5x 10^6与5x 10^7个之间的CD4+细胞，每个都包含端值。在特定实施方案中，给予至少或至少约或者为或为约1x 10^5、2.5x 10^5、5x 10^5、7.5x 10^5、1x 10^6、1x 10^6、2.5x 10^6、5x 10^6、6x 10^6、7x 10^6、8x 10^6、9x 10^6、1x 10^7、1.1x 10^7、1.2x 10^7、1.25x 10^7、1.3x 10^7、1.4x 10^7、1.5x 10^7、1.6x 10^7、1.7x 10^7、1.75x 10^7、1.8x 10^7、1.9x 10^7、2x 10^7、2.5x 10^7、5x 10^7、7.5x 10^7、3x 10^7、3.5x 10^7、4x 10^7、5x 10^7、7x 10^7、8x 10^7、9x 10^7、1x 10^8、2x 10^8、3x 10^8、4x 10^8、5x 10^8、6x 10^7、7x 10^8、8x 10^8、1x 10^8、1x 10^9、5x 10^9、或1x 10^{10}的量的表达重组受体(例如，CD4+CAR)的CD4+细胞。

[0364] 在特定实施方案中，给予介于或介于约1x 10^5与约1x 10^9个之间的表达重组受体(例如，CAR)的CD8+细胞、介于1x 10^5与1x 10^7个之间的CD8+细胞、介于1x 10^6与1x 10^8个之间的CD8+细胞、介于1x 10^6与5x 10^6个之间的CD8+细胞、介于2.5x 10^6与1x 10^7个之间的CD8+细胞、介于2.5x 10^6与1x 10^7个之间的CD8+细胞、介于5x 10^6与2x 10^7个之间的CD8+细胞、介于5x 10^6与2x 10^7个之间的CD8+细胞、介于5x 10^6与1x 10^8个之间的CD8+细胞、介于5x 10^6与2x 10^7个之间的CD8+细胞、介于1x 10^7与2x 10^8个之间的CD8+细胞、介于1x 10^7与5x 10^7个之间的CD8+细胞、介于5x 10^6与1x 10^8个之间的CD8+细胞、介于5x 10^6与3x 10^7个之间的CD8+细胞、介于3x 10^6与4x 10^6个之间的CD8+细胞、或介于5x 10^6与5x 10^7个之间的CD8+细胞，每个都包含端值。在特定实施方案中，给予至少或至少约或者为或为约1x 10^5、2.5x 10^5、5x 10^5、7.5x 10^5、1x 10^6、1x 10^6、2.5x 10^6、5x 10^6、6x 10^6、7x 10^6、8x 10^6、9x 10^6、1x 10^7、1.1x 10^7、1.2x 10^7、1.25x 10^7、1.3x 10^7、1.4x 10^7、1.5x 10^7、1.6x 10^7、1.7x 10^7、1.75x 10^7、1.8x 10^7、1.9x 10^7、2x 10^7、2.5x 10^7、5x 10^7、7.5x 10^7、3x 10^7、3.5x 10^7、4x 10^7、5x 10^7、7x 10^7、8x 10^7、9x 10^7、1x 10^8、2x 10^8、3x 10^8、4x 10^8、5x 10^8、6x 10^7、7x 10^8、8x 10^8、1x 10^8、1x 10^9、5x 10^9、或1x 10^{10}的量的表达重组受体(例如，CD8+CAR)的CD8+细胞。

[0365] 在特定实施方案中，将免疫疗法给予先前已经给予淋巴细胞清除剂或疗法的小鼠，由此产生毒性(例如，针对免疫疗法的毒性)的小鼠模型。在某些实施方案中，所述淋巴细胞清除剂或疗法描述于本文中，如第I.B节中。在特定实施方案中，所述淋巴细胞清除剂或疗法是CPA。在一些实施方案中，所述CPA是以大于100mg/kg的剂量腹膜内给予。在一些实施方案中，所述免疫疗法是含有表达结合至和/或识别小鼠抗原的重组受体(例如，CAR)的细胞的细胞组合物。在某些实施方案中，所述免疫疗法结合至和/或识别小鼠CD19。在特定实施方案中，所述免疫疗法是在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法之后24小时或约24小时给予。在一些实施方案中，所述小鼠是免疫活性BALB/c小鼠。

[0366] 在特定实施方案中，向免疫活性BALB/c小鼠按照为、为约或大于100mg/kg腹膜内或250mg/kg腹膜内的剂量给予CPA，然后给予含有表达结合至和/或识别小鼠抗原的CAR的T细胞的T细胞组合物，由此产生毒性(例如，针对免疫疗法的毒性)的小鼠模型。在某些实施方案中，向免疫活性BALB/c小鼠给予介于100mg/kg与500mg/kg之间的腹膜内CPA，然后在24小时或约24小时后，向所述小鼠给予介于5x 10^6个细胞与2x 10^7个细胞之间的含有抗小鼠CD19 CAR表达T细胞的细胞组合物。

[0367] 在特定实施方案中，所述小鼠模型是通过以下方式来产生：将介于或大约介于

50mg/kg与500mg/kg之间的腹膜内CPA给予免疫活性BALB/c小鼠(或其品系或亚品系),然后在给予所述CPA之后介于或介于约18与30小时之间,给予介于或介于约1x 10^6与50x 10^6个之间的表达CAR的细胞。在某些实施方案中,所述CAR结合至或识别由所述小鼠内的细胞表达的抗原,例如,由小鼠细胞或由已经注射至所述小鼠中的细胞表达的抗原。在一些实施方案中,所述抗原与癌症相关。在特定实施方案中,所述CAR识别或结合至B细胞抗原,如小鼠B细胞抗原或B细胞标记。在一些实施方案中,所述CAR结合至或识别小鼠CD20、CD19、CD22、ROR1、CD45、CD21、CD5、CD33、Igκ、Igλ、CD79a、CD79b或CD30。在某些实施方案中,所述CAR结合至或识别小鼠CD19。在一些实施方案中,所述CPA是按照为或为约100mg/kg或250mg/kg的剂量腹膜内给予。在某些实施方案中,按照为或为约5x 10^6、10x 10^6或20x 10^6个总CAR表达细胞的剂量来给予表达所述CAR的细胞。在特定实施方案中,表达所述CAR的细胞是在给予所述CPA之后24小时、约24小时或24小时内给予。

[0368] D.抗原表达细胞

[0369] 在特定实施方案中,本文所提供的方法含有将细胞(例如,抗原表达细胞)注射至小鼠(例如,本文(如在第I.A节中)所述的小鼠)中的一个或多个步骤。在某些实施方案中,所述细胞(例如,抗原表达细胞)对于所述小鼠是外源的、异源的和/或自体的。在一些实施方案中,所述细胞对于单独小鼠是外源的。在某些实施方案中,所述细胞(例如,抗原表达细胞)表达由所述免疫疗法结合和/或识别的抗原。在一些实施方案中,在所述免疫疗法是或包括细胞组合物时,所述抗原表达细胞与所述免疫疗法的一些或所有细胞是分开的和/或不同的。在某些实施方案中,所述抗原表达细胞是在给予所述免疫疗法期间或之后给予。在特定实施方案中;所述抗原表达细胞是在给予所述免疫疗法之前给予。在一些实施方案中,所述抗原表达细胞是肿瘤细胞。

[0370] 在一些实施方案中,所述抗原表达细胞是在免疫活性小鼠中不触发免疫应答的细胞。在某些实施方案中,所述抗原表达细胞是小鼠细胞。在特定实施方案中,所述抗原表达细胞是原代细胞。在一些实施方案中,所述细胞系是永生细胞系。在一些实施方案中,所述抗原表达细胞是衍生自或源自小鼠细胞或小鼠组织的细胞系的细胞。在特定实施方案中,所述细胞衍生自或源自BALB/c小鼠细胞或组织。在特定实施方案中,所述抗原表达细胞是癌性细胞和/或肿瘤细胞。在一些实施方案中,所述抗原表达细胞衍生自癌细胞和/或肿瘤细胞,例如,小鼠癌细胞和/或小鼠肿瘤细胞。

[0371] 在特定实施方案中,所述抗原表达细胞是肿瘤细胞。在一些实施方案中,所述抗原表达细胞是循环肿瘤细胞,例如,肿瘤免疫细胞,如肿瘤B细胞(或衍生自肿瘤B细胞的细胞)。

[0372] 在特定实施方案中,所述抗原表达细胞表达αvβ6整合素(avb6整合素)、B细胞成熟抗原(BCMA)、B7-H3、B7-H6、碳酸酐酶9(CA9,也称为CAIX或G250)、癌症-睾丸抗原、癌症/睾丸抗原1B(CTAG,也称为NY-ESO-1和LAGE-2)、癌胚抗原(carcinoembryonic antigen)(CEA)、细胞周期蛋白、细胞周期蛋白A2、C-C基序趋化因子配体1(CCL-1)、CD19、CD20、CD22、CD23、CD24、CD30、CD33、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD123、CD133、CD138、CD171、硫酸软骨素蛋白聚糖4(CSPG4)、表皮生长因子蛋白(EGFR)、截短表皮生长因子蛋白(tEGFR)、III型表皮生长因子受体突变(EGFR vIII)、上皮糖蛋白2(EPG-2)、上皮糖蛋白40(EPG-40)、肝配蛋白B2、肝配蛋白受体A2(EPHa2)、雌激素受体、Fc受体样蛋白5(FCRL5;也称为Fc受体同源

物5或FCRH5)、胎儿乙酰胆碱受体(胎儿AchR)、叶酸结合蛋白(FBP)、叶酸受体α、胎儿乙酰胆碱受体、神经节苷脂GD2、O-乙酰化GD2(OGD2)、神经节苷脂GD3、糖蛋白100(gp100)、磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(GPC3)、G蛋白偶联受体5D(GPCR5D)、Her2/neu(受体酪氨酸激酶erb-B2)、Her3(erb-B3)、Her4(erb-B4)、erbB二聚体、人高分子量黑色素瘤相关抗原(HMW-MAA)、乙型肝炎表面抗原、人白细胞抗原A1(HLA-AIA1)、人白细胞抗原A2(HLA-A2)、IL-22受体α(IL-22Rα)、IL-13受体α2(IL-13Rα2)、激酶插入结构域受体(kdr)、κ轻链、L1细胞粘附分子(L1-CAM)、L1-CAM的CE7表位、含有富亮氨酸重复序列的蛋白8家族成员A(LRRC8A)、路易斯Y、黑色素瘤相关抗原(MAGE)-A1、MAGE-A3、MAGE-A6、MAGE-A10、间皮素(MSLN)、c-Met、鼠类巨细胞病毒(CMV)、粘蛋白1(MUC1)、MUC16、自然杀伤细胞2族成员D(NKG2D)配体、黑色素A(MART-1)、神经细胞粘附分子(NCAM)、癌胚胎抗原(oncofetal antigen)、优先表达的黑色素瘤抗原(PRAME)、孕酮受体、前列腺特异性抗原、前列腺干细胞抗原(PSCA)、前列腺特异性膜抗原(PSMA)、受体酪氨酸激酶样孤儿受体1(ROR1)、存活蛋白、滋养层糖蛋白(TPBG,也称为5T4)、肿瘤相关糖蛋白72(TAG72)、酪氨酸酶相关蛋白1(TRP1,也称为TYRP1或gp75)、酪氨酸酶相关蛋白2(TRP2,也称为多巴色素,互变异构酶、多巴色素δ异构酶或DCT)、血管内皮生长因子受体(VEGFR)、血管内皮生长因子受体2(VEGFR2)、Wilms肿瘤1(WT-1)或其组合。在一些实施方案中,所述抗原表达细胞表达病原体特异性或病原体表达的抗原、或与通用标签相关的抗原、和/或生物素化分子、和/或由HIV、HCV、HBV或其他病原体表达的分子。在特定实施方案中,所述抗原表达细胞表达一种或多种与B细胞恶性肿瘤相关的抗原,如多种已知B细胞标记中的任一种。在某些实施方案中,所述抗原表达细胞表达CD20、CD19、CD22、ROR1、CD45、CD21、CD5、CD33、Igκ、Igλ、CD79a、CD79b、CD30或其组合。在一些实施方案中,所述抗原表达细胞表达CD19,例如,小鼠CD19。

[0373] 在一些实施方案中,所述抗原是或包括病原体特异性抗原或病原体表达的抗原。在一些实施方案中,所述抗原是病毒抗原(如来自HIV、HCV、HBV等的病毒抗原)、细菌抗原和/或寄生虫抗原。

[0374] 在某些实施方案中,所述抗原表达细胞是或衍生自肿瘤细胞。在一些实施方案中,所述肿瘤细胞是癌性的。在特定实施方案中,所述肿瘤细胞是非癌性的。在一些实施方案中,所述肿瘤细胞是或衍生自循环B细胞,如能够在体内形成肿瘤的循环B细胞。在一些实施方案中,所述肿瘤细胞是或衍生自作为肿瘤性、致瘤性或癌性B细胞的循环B细胞。

[0375] 在某些实施方案中,所述肿瘤细胞是或衍生自小鼠癌细胞。在一些实施方案中,所述肿瘤细胞衍生自以下癌症的细胞:AIDS相关癌症、乳腺癌、消化道/胃肠道癌、肛门癌、阑尾癌、胆管癌、结肠癌、结直肠癌、食管癌、胆囊癌、胰岛细胞瘤、胰腺神经内分泌瘤、肝癌、胰腺癌、直肠癌、小肠癌、胃(胃的)癌、内分泌系统癌、肾上腺皮质癌、甲状旁腺癌、嗜铬细胞瘤、垂体瘤、甲状腺癌、眼癌、眼内黑色素瘤、视网膜母细胞瘤、膀胱癌、肾(肾细胞)癌、阴茎癌、前列腺癌、移行细胞肾盂和输尿管癌、睾丸癌、尿道癌、Wilms肿瘤或其他儿童肾肿瘤、胚细胞癌、中枢神经系统癌、颅外胚细胞瘤、性腺外胚细胞瘤、卵巢胚细胞瘤、妇科癌症、宫颈癌、子宫内膜癌、妊娠滋养细胞肿瘤、卵巢上皮癌、子宫肉瘤、阴道癌、外阴癌、头颈癌、下咽癌、喉癌、唇和口腔癌、转移性鳞颈癌(metastatic squamous neck cancer)、鼻咽癌、口咽癌、鼻窦和鼻腔癌、咽癌、唾液腺癌、咽喉癌、肌肉骨骼癌、骨癌、尤因氏肉瘤、胃肠道间质瘤(GIST)、骨肉瘤、骨恶性纤维组织细胞瘤、横纹肌肉瘤、软组织肉瘤、子宫肉瘤、神经系统癌、

脑肿瘤、星形细胞瘤、脑干神经胶质瘤、中枢神经系统非典型畸胎瘤/横纹肌样瘤、中枢神经系统胚胎瘤、中枢神经系统胚细胞瘤、颅咽管瘤、室管膜瘤、成神经管细胞瘤、脊髓肿瘤、幕上原始神经外胚层肿瘤和松果体母细胞瘤、神经母细胞瘤、呼吸系统癌、胸腺癌、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、恶性间皮瘤、胸腺瘤、胸腺癌、皮肤癌、卡波西肉瘤、黑色素瘤或Merkel细胞癌，或其任何等效的小鼠癌症，例如，人癌症的小鼠模型中的癌症。

[0376] 在特定实施方案中，所述肿瘤细胞衍生自非血液学癌症，例如，实体瘤。在某些实施方案中，所述肿瘤细胞衍生自血液学癌症。在某些实施方案中，所述肿瘤细胞衍生自作为B细胞恶性肿瘤或血液学恶性肿瘤的癌症。在特定实施方案中，所述肿瘤细胞衍生自非霍奇金淋巴瘤(NHL)、急性成淋巴细胞性白血病(ALL)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、急性髓性白血病(AML)或骨髓瘤(例如，多发性骨髓瘤(MM))。在一些实施方案中，所述抗原表达细胞是肿瘤性、癌性和/或致瘤性B细胞。

[0377] 在某些实施方案中，所述抗原表达细胞是或包括B细胞癌系的细胞。在特定实施方案中，所述B细胞癌系是源自或衍生自肿瘤性、癌性和/或致瘤性B细胞(例如，小鼠B细胞)的细胞系。在某些实施方案中，所述抗原表达细胞是或包括L1210细胞、38C13细胞、BCL1细胞、A20细胞、4TOO细胞、B6自发模型细胞、CH44细胞、S11细胞、LY-ar细胞、LY-as细胞、Pi-BCL1细胞、38C13 Her2/neu细胞、Myc5-M5细胞、小鼠淋巴肉瘤细胞系细胞、由Bcl2细胞转染的FL5.12、38C13 CD20+细胞、A20.IIA-GFP/IIA1.6-GFP细胞、和/或LMycSN-p53无效细胞。在某些实施方案中，所述抗原表达细胞是A20细胞。A20细胞是已知的，并且描述于例如以下文献中:Kim等人,(1979)Establishment and characterization of BALB/c lymphoma lines with B cell properties.Journal of Immunology,122(2):549-554;和Graner等人,Immunoprotective activities of multiple chaperone proteins isolated from murine B-cell leukemia/lymphoma.Clin Cancer Res 2000;6(3):909-915。

[0378] 在某些实施方案中，所述抗原表达细胞是通过任何合适的方式给予，例如通过推注输注，通过注射(例如静脉内或皮下注射、眼内注射、眼周注射、视网膜下注射、玻璃体内注射、经中隔注射、巩膜下注射、脉络膜内注射、前房注射、结膜下(subconjectval)注射、结膜下(subconjuntival)注射、眼球筋膜囊下(sub-Tenon)注射、球后注射、球周注射)或后近巩膜(posterior juxtascleral)递送。在一些实施方案中，通过以下方式来给予所述免疫疗法:肠胃外、肺内和鼻内，并且，如果需要局部治疗，则进行病灶内给予。肠胃外输注包括肌内、静脉内、动脉内、腹膜内、胸腔内、颅内或皮下给予。在一些实施方案中，通过细胞的单次推注给药来给予给定剂量。在特定实施方案中，静脉内给予所述抗原表达细胞。在某个实施方案中，将所述抗原表达细胞静脉内给予至侧尾静脉中。在一些实施方案中，皮下给予所述抗原表达细胞。

[0379] 在某些实施方案中，给予、注射或输注介于5x 10^3至1x 10^9个之间的抗原表达细胞、介于1x 10^5至1x 10^8个之间的CD4+抗原表达细胞、介于1x 10^4至1x 10^6个之间的抗原表达细胞、介于5x 10^4至1x 10^7个之间的抗原表达细胞、介于2x 10^4至1x 10^6个之间的抗原表达细胞、介于5x 10^4至5x 10^6个之间的抗原表达细胞、介于1x 10^4至1x 10^6个之间的抗原表达细胞、介于1x 10^6至1x 10^7个之间的抗原表达细胞、介于5x 10^6至5x 10^8个之间的抗原表达细胞、介于1x 10^5至1x 10^7个之间的抗原表达细胞、介于1x 10^6至1x 10^8个之间的抗原表达细胞、或介于1x 10^5至1x 10^6个抗原表达细胞。在特定实施方案中，注射和/或输注为、为

约或至少1x 10^4、2x 10^4、2.5x 10^4、3x 10^4、4x 10^4、5x 10^4、6x 10^4、7x 10^4、7.5x 10^4、8x 10^4、9x 10^4、1x 10^5、2x 10^5、2.5x 10^5、3x 10^5、4x 10^5、5x 10^5、6x 10^5、7x 10^5、7.5x 10^5、8x 10^5、9x 10^5、1x 10^6、2x 10^6、2.5x 10^6、3x 10^6、4x 10^6、5x 10^6、6x 10^6、7x 10^6、8x 10^6、9x 10^6、1x 10^7、1.1x 10^7、1.2x 10^7、1.25x 10^7、1.3x 10^7、1.4x 10^7、1.5x 10^7、1.6x 10^7、1.7x 10^7、1.75x 10^7、1.8x 10^7、1.9x 10^7、2x 10^7、2.5x 10^7、5x 10^7、7.5x 10^7、3x 10^7、3.5x 10^7、4x 10^7、5x 10^7、7x 10^7、8x 10^7、9x 10^7、1x 10^8、2x 10^8、3x 10^8、4x 10^8、5x 10^8、6x 10^7、7x 10^8、8x 10^8、1x 10^8、1x 10^9、5x 10^9或1x 10^{10}个的量的抗原表达细胞。在特定实施方案中，给予、注射或输注为、为约或至少5x 10^4、1x 10^5、2x 10^5、5x 10^5或1x 10^6个的量的细胞。在一些实施方案中，给予、注射或输注为、为约或为至少2x 10^5的量的细胞。在某些实施方案中，所述抗原表达细胞是B细胞癌系的细胞，例如，A20细胞。

[0380] 在特定实施方案中，所述抗原表达细胞是在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法和/或所述免疫疗法之前、期间或之后进行给予、注射或输注。在特定实施方案中，所述抗原表达细胞是在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法和/或所述免疫疗法之前进行给予、注射或输注。在一些实施方案中，所述抗原表达细胞是在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法和/或所述免疫疗法之前介于20周与1小时之间、介于20周与10周之间、介于15周与5周之间、介于10周与1周之间、介于10周与5周之间、介于6周与1周之间、介于6周与4周之间、介于5周与1周之间、介于约3周与约2周之间、介于3周与1天之间、介于28天与14天之间、介于21天与7天之间、介于21天与14天之间、介于18天与10天之间、介于20天与10天之间、或介于17天与1天之间(每个都包含端值)进行给予和/或输注。在特定实施方案中，所述抗原表达细胞是在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法和/或所述免疫疗法之前在以下时间、大约在以下时间或在以下时间内给予：20周、16周、12周、10周、8周、6周、5周、4周、28天、24天、21天、20天、19天、18天、17天、16天、15天、14天、13天、12天、11天、10天、9天、8天、7天、6天、5天、4天、3天、2天、48小时、36小时、24小时、12小时、8小时、6小时、4小时、2小时或1小时。在某些实施方案中，所述抗原表达细胞是在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法和/或所述免疫疗法之前在以下时间、大约在以下时间或在以下时间内给予：20周、16周、12周、10周、8周、6周、5周、4周、28天、24天、21天、20天、19天、18天、17天、16天、15天、14天、13天、12天、11天、10天、9天、8天、7天、6天、5天、4天、3天、2天、48小时、36小时、24小时、12小时、8小时、6小时、4小时、2小时或1小时。在特定实施方案中，所述抗原表达细胞是在给予所述免疫疗法之前在或在约2周和4周或2周和3周(每个都包含端值)进行给予和/或输注。在各个实施方案中，所述抗原表达细胞是在给予所述免疫疗法之前在或在约17天、约19天或约27天进行给予和/或输注。

[0381] 在某些实施方案中，皮下给予、注射和/或输注介于1x 10^4至1x 10^6个之间的A20细胞。在特定实施方案中，将介于1x 10^4至1x 10^6个之间的A20细胞静脉内注射或输注至侧尾静脉中。在某些实施方案中，将2x 10^5或约2x 10^5个的量的A20细胞注射或输注至侧尾静脉中。

[0382] 在特定实施方案中，所述小鼠模型是通过将淋巴细胞清除剂和免疫疗法给予含有抗原表达细胞的小鼠来产生。在特定实施方案中，所述免疫疗法结合至或识别所述抗原。在一些实施方案中，所述抗原表达细胞是癌症或肿瘤细胞。在特定实施方案中，所述抗原是B细胞抗原，例如，由B细胞表达的抗原，如由B细胞内源或天然表达的抗原。在特定实施方案中，所述抗原表达细胞表达B细胞抗原，如小鼠B细胞抗原或B细胞标记。在一些实施方案中，

所述抗原表达细胞表达小鼠CD20、CD19、CD22、ROR1、CD45、CD21、CD5、CD33、Igκ、Igλ、CD79a、CD79b或CD30。在特定实施方案中，所述抗原结合细胞表达小鼠CD19。在特定实施方案中，所述小鼠模型是通过将淋巴细胞清除剂和结合至或识别小鼠CD19的免疫疗法给予含有表达小鼠CD19的细胞的小鼠来产生。在某些实施方案中，所述表达小鼠CD19的细胞是或包括A20细胞。

[0383] 在特定实施方案中，所提供的小鼠模型是通过以下方式来产生：(i)将抗原表达细胞(例如，癌细胞)注射至免疫活性小鼠中，然后(ii)随后在注射所述抗原表达细胞之后在以下时间、大约在以下时间或在以下时间内给予淋巴细胞清除剂或疗法：6周、5周、4周、3周、28天、27天、26天、25天、24天、23天、22天、21天、20天、19天、18天、17天、16天、15天、14天、13天、12天、11天、10天、9天、8天、7天、6天、5天、4天、3天、2天或1天，然后(iii)在给予所述淋巴细胞清除剂之后在以下时间、大约在以下时间或在以下时间内给予结合至或识别所述抗原表达细胞的抗原的免疫疗法：30小时、24小时或18小时。在某些实施方案中，所述免疫疗法是在注射所述抗原表达细胞之后大约在以下时间或在以下时间内给予：6周、5周、4周、3周、28天、27天、26天、25天、24天、23天、22天、21天、20天、19天、18天、17天、16天、15天、14天、13天、12天、11天、10天、9天、8天、7天、6天、5天、4天、3天、2天或1天。在一些实施方案中，所述淋巴细胞清除剂或所述免疫疗法是在注射所述抗原表达细胞之后介于或介于约1周与6周之间、2周与4周之间、或2周与3周之间(每个都包含端值)给予。

[0384] 在某些实施方案中，所述小鼠模型是通过以下方式来产生：(i)注射介于或介于约1x 10^4至1x 10^6个之间的抗原表达细胞，包括端值，然后(ii)在注射所述抗原表达细胞之后介于1周与4周之间(包括端值)内给予介于或大约介于1mg/kg与1,000mg/kg之间的淋巴细胞清除剂或疗法，然后(iii)在给予所述淋巴细胞清除剂之后介于18小时与30小时之间(包括端值)内给予结合至或识别所述抗原表达细胞表达的抗原的免疫疗法(例如，免疫细胞疗法)。

[0385] 在特定实施方案中，所述小鼠模型是通过以下方式来产生：(i)将介于或介于约5x 10^4至5x 10^5个之间(包括端值)的表达B细胞抗原或标记的抗原表达细胞注射至免疫活性BALB/c小鼠(或其品系或亚品系)中，然后(ii)在注射所述抗原表达细胞之后介于1周与4周之间(包括端值)内给予介于或大约介于50mg/kg与500mg/kg之间的腹膜内CPA，然后(iii)在注射所述CPA之后介于18小时与30小时之间(包括端值)内给予结合至或识别所述B细胞抗原或标记的CAR-T细胞。

[0386] 在一些实施方案中，所述小鼠模型是通过以下方式来产生：(i)将介于或介于约5x 10^4至5x 10^5个之间(包括端值)的A20细胞注射至免疫活性BALB/c小鼠(或其品系或亚品系)的尾静脉中，然后(ii)在注射所述抗原表达细胞之后介于2周与4周之间(包括端值)内给予介于或大约介于50mg/kg与500mg/kg之间的腹膜内CPA，然后(iii)在注射所述CPA之后介于18小时与30小时之间(包括端值)内给予介于或介于约5x 10^6与50x 10^6个之间的抗小鼠CD19 CAR-T细胞。在特定实施方案中，所述小鼠模型是通过以下方式来产生：(i)将为或为约2x 10^6个的量的A20细胞注射至免疫活性BALB/c小鼠(或其品系或亚品系)的尾静脉中，然后(ii)在注射或输注所述抗原表达细胞之后介于2周与4周之间(包括端值)内给予为或为约100mg/kg或250mg/kg的剂量的腹膜内CPA，然后(iii)在注射CPA之后24小时或约24小时给予为或为约5x 10^6、10x 10^6或20x 10^6个的剂量的抗小鼠CD19CAR-T细胞。在一些实施

方案中，所述CPA或所述CAR-T细胞是在注射所述A20细胞之后在或在约17天、约19天或约27天给予。

[0387] II.小鼠模型的属性和表型

[0388] 在一些实施方案中，作为小鼠毒性模型的小鼠已经被给予免疫疗法。在某些实施方案中，所述小鼠是通过本文所述任何方法产生的小鼠。在特定实施方案中，作为小鼠毒性模型的所述小鼠已经被给予本文(例如，在第I.C节中)所述的免疫疗法。在某些实施方案中，作为小鼠毒性模型的所述小鼠已经在被给予淋巴细胞清除剂或疗法之后被给予了免疫疗法。在特定实施方案中，所述淋巴细胞清除剂或疗法是本文(例如，在第I.B节中)所述的淋巴细胞清除剂或疗法。在一些实施方案中，所述免疫疗法是T细胞接合免疫疗法。在一些实施方案中，所述免疫疗法是细胞疗法，例如，含有表达重组受体的细胞的细胞组合物。在某些实施方案中，所述重组受体是CAR。在某些实施方案中，所述小鼠是小鼠毒性模型，已经被给予、注射或输注表达抗原的细胞，例如，表达由所述免疫疗法结合和/或识别的抗原的外源细胞。在某些实施方案中，所述小鼠已经被给予、注射或输注本文(例如，在第I.D节中)所述的抗原表达细胞。

[0389] 在特定实施方案中，在给予所述免疫疗法之前或与给予所述免疫疗法同时的时间，关于单独小鼠，对本文所述的小鼠模型的体征、症状或结果进行评估、测量、检测和/或定量。因此，在某些实施方案中，所述小鼠模型的一种或多种表型或属性的出现、增加或减少与在给予所述免疫疗法之前或给予所述免疫疗法时所述小鼠的一种或多种表型相关。在一些实施方案中，关于未接受过所述免疫疗法的小鼠或关于初试小鼠，对本文所述小鼠模型的属性或表型进行评估、测量、检测和/或定量。在某些实施方案中，所述小鼠模型的一种或多种表型或属性的出现、增加或减少与未给予所述免疫疗法的小鼠的一种或多种表型相关。在一些实施方案中，所述小鼠模型的体征、症状或结果(例如，属性(例如，分子的表达)改变的水平、量或表达)包括与给予所述淋巴细胞清除疗法和/或免疫疗法之前所述小鼠中所述分子的水平、量或表达相比，和/或与相同品系的初试小鼠中所述分子的平均水平、量或表达相比，和/或与相同品系的初试小鼠中所述分子的平均水平、量或表达相比，增加的水平、量或表达。

[0390] 在一些实施方案中，在给予免疫疗法之后，例如，在给予所述免疫疗法之后约或至少约1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、9小时、12小时、24小时、36小时、48小时、60小时、72小时、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天、21天、22天、23天、24天、25天、26天、27天、28天、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、11周、12周、13周、14周、15周或16周，对所述小鼠模型的一种或多种表型或属性的出现、增加或减少进行评估、测量、检测和/或定量。在一些实施方案中，在给予免疫疗法之前，对所述小鼠模型的一种或多种表型或属性的出现、增加或减少进行评估、测量、检测和/或定量。在一些实施方案中，在给予免疫疗法时，对所述小鼠模型的一种或多种表型或属性的出现、增加或减少进行评估、测量、检测和/或定量。

[0391] 在某些实施方案中，在给予所述免疫疗法后4周内、3周内、2周内、1周内、10天内、9天内、8天内、7天内、6天内、5天内、4天内、3天内、2天内或1天内，所述小鼠模型的一种或多种表型或属性的出现、增加或减少是可检测的。在一些实施方案中，在给予所述免疫疗法后介于1天与4周之间、介于1天与21天之间、介于1天与14天之间、介于1与7天之间、介于1与3

天之间或介于2天与5天之间，所述小鼠模型的一种或多种表型或属性的出现、增加或减少是可检测的。在某些实施方案中，在给予所述免疫疗法后在以下时间、大约在以下时间或在以下时间内，所述小鼠模型的一种或多种表型或属性的出现、增加或减少是可检测的：1天、2天、3天、4天、5天、6天或7天。

[0392] 在特定实施方案中，所述小鼠含有免疫疗法的部分、方面或组分，例如，免疫疗法的循环抗体或细胞。在某些实施方案中，作为小鼠毒性模型的所述小鼠含有本文(例如，在第I.C节中)所述免疫疗法的部分、方面或组分。在一些实施方案中，作为小鼠毒性模型的所述小鼠含有T细胞接合疗法或其方面或部分，例如，含有循环水平的与T细胞接合疗法相关的药剂和/或抗体。在某些实施方案中，所述小鼠含有与免疫疗法相关的一种或多种细胞。在一些实施方案中，所述小鼠含有表达重组受体的一种或多种细胞。在某些实施方案中，所述重组受体是CAR。在某些实施方案中，所述小鼠含有表达抗原的细胞，例如，表达由所述免疫疗法结合和/或识别的抗原的外源细胞。在某些实施方案中，所述小鼠含有本文(例如，在第I.D节中)所述的抗原表达细胞。

[0393] 在一些实施方案中，所述免疫疗法或其部分、方面或组分经历在所述小鼠中的体内扩增。在一些实施方案中，所述免疫疗法的一种或多种细胞经历和/或已经经历在所述小鼠中的体内扩增。在一些实施方案中，在给予所述免疫疗法后介于约1天与约7天之间、介于3天与5天之间、介于2天与4天之间、介于2天与5天之间、介于3天与10天之间、介于1天与5天之间、介于5天与10天之间、介于2天与7天之间、介于3天与8天之间、介于4天与9天之间、介于7天与9天之间、介于6天与10天之间、介于1天与20天之间、介于10天与14天之间、介于14天与21天之间和/或介于7天与28天之间(每个都包含端值)，经历和/或已经经历扩增的所述细胞达到循环细胞的峰值水平。在特定实施方案中，在给予所述免疫疗法后介于7天与14天之间，达到所述峰值水平。在某些实施方案中，在给予所述免疫疗法后10天或约10天，达到所述峰值水平。

[0394] 在一些实施方案中，细胞(例如，所述免疫疗法的细胞)的所述峰值水平为、为至少、或为约0.01个细胞/μl血液、0.1个细胞/μl血液、0.2个细胞/μl血液、0.3个细胞/μl血液、0.4个细胞/μl血液、0.5个细胞/μl血液、06个细胞/μl血液、0.7个细胞/μl血液、0.8个细胞/μl血液、0.9个细胞/μl血液、1个细胞/μl血液、1.2个细胞/μl血液、1.4个细胞/μl血液、1.6个细胞/μl血液、1.8个细胞/μl血液、2个细胞/μl血液、2.5个细胞/μl血液、3个细胞/μl血液、4个细胞/μl血液、5个细胞/μl血液、6个细胞/μl血液、7个细胞/μl血液、8个细胞/μl血液、9个细胞/μl血液、或大于10个细胞/μl血液、15个细胞/μl血液、20个细胞/μl血液、25个细胞/μl血液、50个细胞/μl血液、100个细胞/μl血液、200个细胞/μl血液、200个细胞/μl血液、200个细胞/μl血液、300个细胞/μl血液、400个细胞/μl血液、500个细胞/μl血液、600个细胞/μl血液、700个细胞/μl血液、800个细胞/μl血液、900个细胞/μl血液、1,000个细胞/μl血液、2,000个细胞/μl血液、3,000个细胞/μl血液、4,000个细胞/μl血液或5,000个细胞/μl血液。在特定实施方案中，所述峰值水平介于1个细胞/μl血液与10个细胞/μl血液之间，包括端值。在某些实施方案中，所述峰值水平介于10个细胞/μl血液与200个细胞/μl血液之间，包括端值。在特定实施方案中，所述峰值水平介于130个细胞/μl血液与170个细胞/μl血液之间。在一些实施方案中，所述细胞表达重组受体(例如，CAR)。

[0395] 在某些实施方案中，所述小鼠模型的免疫疗法持续一段时间。在特定实施方案中，

所述免疫疗法在给予所述免疫疗法后的一段时间中在体内是可检测的。在某些实施方案中，在给予所述免疫疗法后，所述免疫疗法在体内持续至少或至少约12小时、24小时、36小时、48小时、60小时、72小时、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天、21天、22天、23天、24天、25天、26天、27天、28天、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、11周、12周、13周、14周、15周或16周。在一些实施方案中，所述免疫疗法在体内持续至少或至少约42天。在一些实施方案中，所述免疫疗法是或含有T细胞组合物，所述T细胞组合物含有表达重组受体或CAR的细胞。在某些实施方案中，在给予所述免疫疗法后，CAR表达细胞在体内持续至少或至少约12小时、24小时、36小时、48小时、60小时、72小时、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天、21天、22天、23天、24天、25天、26天、27天、28天、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、11周、12周、13周、14周、15周或16周。在特定实施方案中，所述CAR表达细胞在体内持续至少或至少约42天。

[0396] 在某些实施方案中，所述免疫疗法是活性的和/或具有活性。在一些实施方案中，所述免疫疗法在体内是活性的和/或具有活性。在特定实施方案中，所述活性是去除癌细胞和/或肿瘤细胞。在某些实施方案中，所述活性是去除表达由所述免疫疗法识别和/或结合的抗原的细胞。在特定实施方案中，所述活性是去除抗原表达细胞，例如，本文(如在第I.D节中)所述的任何一种或多种抗原表达细胞。在一些实施方案中，所述抗原表达细胞是A20细胞。在某些实施方案中，与被给予等量抗原表达细胞且未被给予所述免疫疗法的小鼠相比，被给予所述免疫疗法的所述小鼠具有少至少约10％、20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％、95％、99％、99.9％、99.99％、99.999％或99.9999％的抗原表达细胞(例如，A20细胞)。

[0397] 在一些实施方案中，所述免疫疗法(例如，表达所述重组受体和/或CAR的细胞)结合至和/或识别在B细胞上表达的抗原。在某些实施方案中，所述小鼠先前已经被给予淋巴细胞清除剂或疗法。在一些实施方案中，所述小鼠患有B细胞发育不全。在某些实施方案中，所述小鼠具有降低的B细胞的量和/或水平。在某些实施方案中，如与不含表达重组受体的细胞和/或尚未被给予淋巴细胞清除剂或疗法的小鼠中B细胞的水平和/或量相比，B细胞的所述水平和/或量有所降低。在一些实施方案中，所述小鼠的B细胞减少至少25％、至少33％、至少50％、至少60％、至少70％、至少80％、至少90％、至少95％、至少97％、至少98％、至少99％、至少99.5％、至少99.9％、至少99.95％、至少99.99％或至少99.999％。在特定实施方案中，所述小鼠的循环B细胞减少至少25％、至少33％、至少50％、至少60％、至少70％、至少80％、至少90％、至少95％、至少97％、至少98％、至少99％、至少99.5％、至少99.9％、至少99.95％、至少99.99％或至少99.999％。在一些实施方案中，所述小鼠具有小于或等于或大约等于以下的B细胞的量：100个B细胞/μl血液、50个B细胞/μl血液、40个B细胞/μl血液、30个B细胞/μl血液、25个B细胞/μl血液、20个B细胞/μl血液、15个B细胞/μl血液、14个B细胞/μl血液、13个B细胞/μl血液、12个B细胞/μl血液、11个B细胞/μl血液、10个B细胞/μl血液、9个B细胞/μl血液、8个B细胞/μl血液、7个B细胞/μl血液、6个B细胞/μl血液、5个B细胞/μl血液、4个B细胞/μl血液、3个B细胞/μl血液、2个B细胞/μl血液、1个B细胞/μl血液、0.5个B细胞/μl血液、0.1B细胞/μl血液、0.05个B细胞/μl血液或0.01个B细胞/μl血液。

[0398] 在某些实施方案中，在给予所述免疫疗法后至少约12小时、24小时、36小时、48小

时、60小时、72小时、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天、21天、22天、23天、24天、25天、26天、27天、28天、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、11周、12周、13周、14周、15周或16周，B细胞或循环B细胞的水平和/或量降低。

[0399] 在某些实施方案中，所述免疫疗法(例如，表达重组受体和/或CAR的一种或多种细胞)浸润一种或多种组织。在某些实施方案中，所述免疫疗法浸润以下组织中的一种或多种：结缔组织、肌肉组织、神经组织或上皮组织。在某些实施方案中，所述免疫疗法和/或所述免疫疗法的细胞浸润以下中的一种或多种组织：心脏、脉管系统、唾液腺、食管、胃、肝、胆囊、胰腺、肠、结肠、直肠、下丘脑、垂体、松果腺、甲状腺、甲状旁腺、肾上腺、肾、输尿管、膀胱、尿道、淋巴系统、皮肤、肌肉、脑、脊髓、神经、卵巢、子宫、睾丸、前列腺、咽、喉、气管、支气管、肺、膈膜、骨、软骨、韧带或肌腱。在某些实施方案中，所述一种或多种组织是脑组织、肝组织、脾组织、肺组织或肾组织。在一些实施方案中，所述免疫疗法浸润脑组织。

[0400] 在一些实施方案中，所述免疫疗法(例如，表达重组受体和/或CAR的一种或多种细胞)按以下量浸润组织：为或为约0.001个细胞、0.005个细胞、0.01个细胞、0.05个细胞、0.1个细胞、0.5个细胞、1.0个细胞、1.5个细胞、2.0个细胞、2.5个细胞、3.0个细胞、3.5个细胞、4.0个细胞、4.5个细胞、5.0个细胞、5.5个细胞、6.0个细胞、6.5个细胞、7.0个细胞、7.5个细胞、8.0个细胞、8.5个细胞、9.0个细胞、9.5个细胞、10个细胞、15个细胞、20个细胞、25个细胞、30个细胞、35个细胞、40个细胞、45个细胞、50个细胞、100个细胞、200个细胞、300个细胞、400个细胞、500个细胞、600个细胞、700个细胞、800个细胞、900个细胞、1,000个细胞、1,200个细胞、1,400个细胞、1,600个细胞、1,800个细胞、2,000个细胞、3,000个细胞、4,000个细胞、5,000个细胞、或者大于或大于约5,000个细胞的所述免疫疗法(例如，表达重组受体和/或CAR的一种或多种细胞)/mg组织。在特定实施方案中，所述免疫疗法(例如，表达重组受体和/或CAR的一种或多种细胞)按以下量浸润组织：至少约0.001个细胞、0.005个细胞、0.01个细胞、0.05个细胞、0.1个细胞、0.5个细胞、1.0个细胞、1.5个细胞、2.0个细胞、2.5个细胞、3.0个细胞、3.5个细胞、4.0个细胞、4.5个细胞、5.0个细胞、5.5个细胞、6.0个细胞、6.5个细胞、7.0个细胞、7.5个细胞、8.0个细胞、8.5个细胞、9.0个细胞、9.5个细胞、10个细胞、15个细胞、20个细胞、25个细胞、30个细胞、35个细胞、40个细胞、45个细胞、50个细胞、100个细胞、200个细胞、300个细胞、400个细胞、500个细胞、600个细胞、700个细胞、800个细胞、900个细胞、1,000个细胞、1,200个细胞、1,400个细胞、1,600个细胞、1,800个细胞、2,000个细胞、3,000个细胞、4,000个细胞或5,000个细胞的免疫疗法(例如，表达重组受体和/或CAR的一种或多种细胞)/mg组织。

[0401] 在一些实施方案中，所述免疫疗法(例如，表达重组受体和/或CAR的一种或多种细胞)按以下量浸润脑组织：为或为约0.001个细胞、0.005个细胞、0.01个细胞、0.05个细胞、0.1个细胞、0.5个细胞、1.0个细胞、1.5个细胞、2.0个细胞、2.5个细胞、3.0个细胞、3.5个细胞、4.0个细胞、4.5个细胞、5.0个细胞、5.5个细胞、6.0个细胞、6.5个细胞、7.0个细胞、7.5个细胞、8.0个细胞、8.5个细胞、9.0个细胞、9.5个细胞、10个细胞、15个细胞、20个细胞、25个细胞、30个细胞、35个细胞、40个细胞、45个细胞、50个细胞、或者大于或大于约50个细胞的所述免疫疗法(例如，表达重组受体和/或CAR的一种或多种细胞)/mg组织。在特定实施方案中，所述免疫疗法(例如，表达重组受体和/或CAR的一种或多种细胞)按以下量浸润脑组

织:至少约0.001个细胞、0.005个细胞、0.01个细胞、0.05个细胞、0.1个细胞、0.5个细胞、1.0个细胞、1.5个细胞、2.0个细胞、2.5个细胞、3.0个细胞、3.5个细胞、4.0个细胞、4.5个细胞、5.0个细胞、5.5个细胞、6.0个细胞、6.5个细胞、7.0个细胞、7.5个细胞、8.0个细胞、8.5个细胞、9.0个细胞、9.5个细胞、10个细胞、15个细胞、20个细胞、25个细胞、30个细胞、35个细胞、40个细胞、45个细胞或50个细胞的所述免疫疗法(例如,表达重组受体和/或CAR的一种或多种细胞)/mg组织。

[0402] 在特定实施方案中,所述体征、症状和/或结果与人受试者中的毒性相关的体征、症状和/或结果类似、等同和/或相似。在特定实施方案中,所述小鼠的所述体征、症状和/或结果与人受试者中针对免疫疗法的毒性相关的体征、症状或结果类似、等同和/或相似。在一些实施方案中,所述毒性是人受试者中针对免疫系统刺激剂的毒性。在某些实施方案中,所述毒性是人受试者中针对T细胞接合疗法的毒性。在特定实施方案中,所述毒性是人受试者中针对细胞疗法的毒性。在某些实施方案中,所述细胞疗法是或包括给予含有一种或多种工程化细胞的细胞组合物。在某些实施方案中,所述细胞组合物含有表达重组受体的一种或多种细胞。在某些实施方案中,所述组合物含有表达CAR的一种或多种细胞。在特定实施方案中,所述细胞组合物含有结合至和/或识别B细胞表达的抗原的一种或多种细胞。在一些实施方案中,所述抗原是CD19。在特定实施方案中,所述人受试者经历的针对所述免疫疗法的毒性是或包括细胞因子释放综合征。在某些实施方案中,所述人受试者经历的针对所述免疫疗法的毒性是或包括神经毒性。

[0403] 在一些实施方案中,所述小鼠具有与所述小鼠模型相关的一种或多种体征、症状或结果,所述体征、症状或结果是由以下引起的,表现为以下,和/或与以下相关:增加的炎症、基因表达的变化、改变的血液化学、组织损伤、脑水肿、体重减轻、降低的体温和/或改变的行为。在特定实施方案中,如与尚未被给予所述免疫疗法的小鼠相比,所述小鼠具有一种或多种体征、症状或结果,例如,毒性症状。在某些实施方案中,如与尚未被给予所述淋巴细胞清除剂或疗法的小鼠相比,所述小鼠具有一种或多种体征、症状和/或结果。在某些实施方案中,如与初试小鼠相比,所述小鼠具有一种或多种体征、症状和/或结果,例如,毒性症状,所述初试小鼠即尚未被给予所述淋巴细胞清除剂或疗法并且尚未被给予所述免疫疗法,也没有被给予所述免疫疗法的任何模拟或对照免疫疗法的小鼠。在一些实施方案中,尚未被给予所述免疫疗法的小鼠已经被给予模拟免疫疗法。在某些实施方案中,所述模拟免疫疗法不会识别和/或结合至由所述免疫疗法识别和/或结合的抗原。在一些实施方案中,所述模拟免疫疗法是或包括不含表达重组受体的任何细胞的细胞组合物。在一些实施方案中,尚未被给予所述免疫疗法的小鼠已经被给予对照免疫疗法。在一些实施方案中,所述对照免疫疗法不结合至所述抗原。在特定实施方案中,所述对照免疫疗法结合至和/或识别人抗原,而不是小鼠抗原。在某些实施方案中,所述对照免疫疗法是或包括含有表达重组受体(例如,CAR)的细胞的细胞组合物,所述重组受体结合至和/或识别人抗原而不是小鼠抗原。

[0404] 在某些实施方案中,所述小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果是炎症和/或炎症的增加。炎性标记包括但不限于细胞因子或促进对白细胞或炎性细胞的吸引的其他炎性介质。炎性标记可以但不一定是从炎性细胞释放。炎性标记包括但不限于8-异前列烷、髓过氧化物酶、IL-6和C反应蛋白。氧化应激标记指示由氧化剂或自由基引起的细胞损伤。氧化应激标记包括到达其相应靶标(如脂质、蛋白质或DNA)的自由基和氧化剂,以及由自由

基和氧化剂引起的损伤的间接标记。氧化应激标记包括但不限于游离铁、8-异前列烷、超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化酶、脂质氢过氧化物酶、二酪氨酸和8-羟基鸟嘌呤。例如，8-异前列烷既可以归类为炎性标记也可以归类为氧化应激标记。

[0405] 在某些实施方案中，所述小鼠模型的所述一种或多种体征、症状和/或结果是或包括一种或多种细胞因子和/或趋化因子的增加。在一些实施方案中，所述增加是一种或多种循环或血清细胞因子和/或趋化因子的增加。在一些实施方案中，所述一种或多种细胞因子和/或趋化因子是促炎细胞因子和/或趋化因子。在一些实施方案中，所述一种或多种细胞因子和/或趋化因子是或包括以下中的一种或多种：IL-2、IL-4、IL-5、GM-CSF、IFN-γ、TNF-α、IL-10、MIP-1b、MCP-1、IL-6、血管生成素-2、EPO、IL-12p70、IL-13、IL-15、IL-17E/IL25、IL-21、IL-23、IL-30、IP-10、KC/GRO和MIP-1a。

[0406] 在某些实施方案中，所述一种或多种细胞因子和/或趋化因子增加至少10％、至少20％、至少30％、至少40％、至少50％、至少60％、至少70％、至少80％、至少90％、至少100％、至少150％、至少200％、至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍、至少50倍、至少100倍、至少500倍、至少1,000倍或至少5,000倍。在某些实施方案中，IL-2、IL-4、IL-5、GM-CSF、IFN-γ、TNF-α、IL-10、MIP-1b、MCP-1、IL-6、血管生成素-2、EPO、IL-12p70、IL-13、IL-15、IL-17E/IL25、IL-21、IL-23、IL-30、IP-10、KC/GRO和MIP-1a中的一种或多种增加至少10％、至少20％、至少30％、至少40％、至少50％、至少60％、至少70％、至少80％、至少90％、至少100％、至少150％、至少200％、至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍、至少50倍、至少100倍、至少500倍、至少1,000倍或至少5,000倍。

[0407] 在一些实施方案中，一种或多种细胞因子和/或趋化因子的所述增加是与对照小鼠中一种或多种细胞因子和/或趋化因子的水平相比的。在一些实施方案中，一种或多种细胞因子和/或趋化因子的所述增加是与尚未被给予所述免疫疗法的小鼠、已经被给予对照(非靶标)免疫疗法的小鼠、或初试小鼠中一种或多种细胞因子和/或趋化因子的水平相比的。在一些实施方案中，一种或多种细胞因子和/或趋化因子的所述增加是与相同小鼠在给予免疫疗法之前和给予免疫疗法时的一种或多种细胞因子和/或趋化因子的水平相比的。在一些实施方案中，一种或多种细胞因子和/或趋化因子的所述增加是与所述小鼠在给予所述淋巴细胞清除疗法和/或免疫疗法之前的一种或多种细胞因子和/或趋化因子的增加相比的，和/或是与相同品系的初试小鼠中一种或多种细胞因子和/或趋化因子的平均增加相比的。

[0408] 在一些实施方案中，一种或多种细胞因子和/或趋化因子的所述增加是在给予免疫疗法之后观察到，例如，在给予所述免疫疗法之后约或至少约1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、9小时、12小时、24小时、36小时、48小时、60小时、72小时、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天、21天、22天、23天、24天、25天、26天、27天、28天、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、11周、12周、13周、14周、15周或16周观察到。在一些实施方案中，一种或多种细胞因子和/或趋化因子的所述增加是在给予免疫疗法之前观察到的。在一些实施方案中，一种或多种细胞因子和/或趋化因子的所述增加是在给予免疫疗法时观察到的。

[0409] 在一些实施方案中，如在给予所述免疫疗法后14天、10天、7天、5天、4天、3天、72小

时、60小时、48小时、36小时、24小时、18小时或12小时内的时间点，所述一种或多种细胞因子或趋化因子(例如，以下中的一种或多种：IL-2、IL-4、IL-5、GM-CSF、IFN-γ、TNF-α、IL-10、MIP-1b、MCP-1、IL-6、血管生成素-2、EPO、IL-12p70、IL-13、IL-15、IL-17E/IL25、IL-21、IL-23、IL-30、IP-10、KC/GRO和MIP-1a)是按以下浓度存在于血清中：为、为约或至少5pg/μl、10pg/μl、25pg/μl、50pg/μl、75pg/μl、100pg/μl、200pg/μl、250pg/μl、300pg/μl、400pg/μl、500pg/μl、600pg/μl、700pg/μl、750pg/μl、800pg/μl、900pg/μl或1,000pg/μl。在一些实施方案中，所述时间点是在给予所述免疫疗法后72小时或约72小时。在特定实施方案中，所述模型的一种或多种体征、症状或结果是或包括在给予所述免疫疗法后在3天、大约在3天或在3天内，IL-2、GM-CSF、IFN-γ、TNF-α、IL-10、EPO、IL-19p70、IL-15、IL-30、IL-23或MIP-1a中的一种或多种的至少10pg/μl的血清浓度。在各个实施方案中，所述模型的一种或多种体征、症状或结果是或包括在给予所述免疫疗法后在3天、大约在3天或在3天内，IL-4、IL-5、MIP-1b、MCP1、IL-6、血管生成素-2、IL-13、IP-10或KC/GRO中的一种或多种的至少100pg/μl的血清浓度。

[0410] 在特定实施方案中，所述小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果是或包括血管生成素-2与血管生成素-1的比率(Ang2:Ang1比率)的增加。在一些实施方案中，所述Ang2:Ang1比率是血清或循环中存在的血管生成素-2与血管生成素-1的比率。在一些实施方案中，例如，与给予所述淋巴细胞清除疗法和/或免疫疗法之前所述小鼠中的Ang2:Ang1比率相比，和/或与相同品系的初试小鼠中的平均Ang2:Ang1比率相比，所述血管生成素-2与血管生成素-1的比率(Ang2:Ang1比率)增加至少10％、至少20％、至少30％、至少40％、至少50％、至少60％、至少70％、至少80％、至少90％、至少100％、至少150％、至少200％、至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍、至少50倍、至少100倍、至少500倍、至少1,000倍或至少5,000倍。

[0411] 在一些实施方案中，所述小鼠在给予所述免疫疗法之前或之后的任何时间点展现的所述血管生成素-2与血管生成素-1的比率(Ang2:Ang1比率)较高，例如，至少1或更高，例如，至少2、至少3、至少4、至少5、至少10、至少15、至少20、至少25、至少30、至少40、至少50、至少100、至少500、至少1,000或至少5,000或更高。在一些实施方案中，在给予所述免疫疗法后2、3或4天内，所述血管生成素-2与血管生成素-1的比率大于1，例如，介于约2与100之间，如32或约32。

[0412] 在一些实施方案中，所述Ang2:Ang1比率与对照小鼠相比有所增加。在一些实施方案中，所述Ang2:Ang1比率与以下小鼠中的所述比率相比有所增加：尚未被给予所述免疫疗法的小鼠、已经被给予对照(非靶标)免疫疗法的小鼠、已经被给予对照(非靶标)免疫疗法的小鼠或在初试小鼠中。在一些实施方案中，所述Ang2:Ang1比率与相同小鼠在给予免疫疗法之前或给予免疫疗法时的所述比率相比有所增加。

[0413] 在一些实施方案中，Ang2:Ang1比率的所述增加或高Ang2:Ang1比率(例如，至少1或更高的Ang2:Ang1比率)是在给予免疫疗法之后观察到的，例如，在给予所述免疫疗法之后约或至少约1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、9小时、12小时、24小时、36小时、48小时、60小时、72小时、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天、21天、22天、23天、24天、25天、26天、27天、28天、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、11周、12周、13周、14周、15周或16周。在一些实施方案中，Ang2:Ang1比

率的所述增加或高Ang2:Ang1比率是在给予免疫疗法之前观察到的。在一些实施方案中，Ang2:Ang1比率的所述增加或高Ang2:Ang1比率是在给予免疫疗法时观察到的。

[0414] 所提供的小鼠毒性模型展现在人受试者中观察到的一种或多种毒性特征。在一些情况下，与不展现CRS的受试者相比，在展现严重CRS(例如，4级或更高级CRS)的人受试者(例如，人患者)中观察到较高的血管生成素-2与血管生成素-1的比率。在一些情况下，在展现严重CRS的人受试者(例如，人患者)中观察到较高的Ang2:Ang1比率，包括在开始淋巴细胞清除化学疗法之前、在CAR-T细胞输注前(输注前)和在CAR-T细胞输注后第1天(参见Hay等人Blood 2017:blood-2017-06-793141)。在一些情况下，所述小鼠模型展现类似的体征、症状和/或结果，包括至少1的Ang2:Ang1比率和/或与对照小鼠或初试小鼠相比较高的Ang2:Ang1比率。

[0415] 在特定实施方案中，所述小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果是或包括器官、组织或细胞类型中一种或多种基因的基因表达的变化。在特定实施方案中，基因表达的所述变化是如与本文所述的对照(例如，初试小鼠或没被给予所述免疫疗法的小鼠)相比，基因表达的增加。在一些实施方案中，基因表达的所述变化是基因表达的减少。在一些实施方案中，基因表达的所述变化是如与对照相比，至少高于0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.2、1.4、1.6、1.8或2.0的log2倍数变化，或者是至少低于-0.1、-0.2、-0.3、-0.4、-0.5、-0.6、-0.7、-0.8、-0.9、-1.0、-1.2、-1.4、-1.6、-1.8或-2.0的log2倍数变化。在各个实施方案中，基因表达的所述变化是如与对照(例如，初试小鼠或未接受过所述免疫疗法的小鼠)相比，至少高于0.5、1.0、1.4或2.0的log2倍数变化，或者是至少低于-0.1、-0.2、-0.3、-0.4、-0.5、-0.6、-0.7、-0.8、-0.9、-1.0、-1.2、-1.4、-1.6、-1.8或-2.0的log2倍数变化。

[0416] 在某些实施方案中，所述小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果是或包括一种或多种基因的表达的变化。在某些实施方案中，所述一种或多种体征、症状和/或结果是细胞类型内、来自组织或器官的细胞内、或组织或器官内(例如，在脑、脑组织、脑细胞和/或脑的一部分中)一种或多种基因的表达的变化。在某些实施方案中，基因表达的所述变化是如与对照小鼠(例如，未接受过所述免疫疗法的小鼠)相比，基因表达的增加或减少。在一些实施方案中，所述对照小鼠未接受过所述免疫疗法或者接受所述免疫疗法的无活性变化形式，如不会结合或识别所述小鼠中存在的抗原的免疫疗法。在一些实施方案中，所述对照小鼠是初试小鼠。在特定实施方案中，一种或多种基因的表达的所述变化是在给予所述免疫疗法后在以下时间、大约在以下时间或在以下时间内，在所述小鼠的细胞或组织中观察到的:1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天、10天、14天、18天、21天、25天或28天。在一些实施方案中，一种或多种基因的表达的所述变化在细胞、组织或器官中是可检测的，例如，在某些实施方案中，基因表达的所述变化是或包括在所述小鼠的组织(例如，脑)或组织内发现的细胞中的一种或多种基因的表达的变化。

[0417] 在各个实施方案中，所述一种或多种基因是或包括以下中的一种或多种:Acer2(碱性神经酰胺酶2)、Adipoq(脂联素)、Aif1(同种异体移植物炎性因子1)、Angpt1(血管生成素1)、Angpt14(血管生成素样4)、Angpt2(血管生成素2)、Aox1(醛氧化酶)、Aqp4(水通道蛋白-4)、Atf3(环AMP依赖性转录因子ATF-3)、Bnip3(BCL2/腺病毒E1B 19kDa蛋白相互作用蛋白3)、Ccl2(C-C基序趋化因子2)、CCL4(MIP-1b,C-C基序趋化因子4)、CD31(PECAM-1)、

CD274、CD68、CIITA(II类反式激活因子)、CXCL1(KC,生长调节α蛋白)、CXCL10(IP-10)、CXCL11(I-TAC,C-X-C基序趋化因子11)、Edn1(内皮素-1)、Gbp2(鸟苷酸结合蛋白2)、Gbp4(鸟苷酸结合蛋白4)、Gdp5(鸟苷酸结合蛋白5)、Gdp9(鸟苷酸结合蛋白9)、GM-CSF、Gzmb(颗粒酶B)、HIF3a(缺氧诱导因子3α亚基)、ICAM-1(细胞间粘附分子1)、IL2ra(白细胞介素-2受体亚基α)、IL-4、IL-6、IL-13、Lrg1(富含亮氨酸的α-2-糖蛋白1)、Mgst3(微粒体谷胱甘肽S-转移酶3)、Mmrn2(多聚蛋白-2)、Ncf1(嗜中性粒细胞胞质溶胶因子1)、NLRC5(I类反式激活因子)、Nos3(一氧化氮合酶,内皮型)、Pdk4(丙酮酸脱氢酶激酶,同工酶4)、Pla2g3(3族分泌型磷脂酶A2前体)、Ptgs2(前列腺素G/H合酶2)、Pxdn(过氧蛋白同源物)、Scara3(清道夫受体A类成员3)、Sele(E-选择素)、Selp(P-选择素)、IL2ra、IL-13、Serpine 1、Sult1a1(磺基转移酶1A1)、Tgfb1(转化生长因子β-1)、Tgfb2(转化生长因子β2)、Tgfb3(转化生长因子β3)、Tgtp1(T细胞特异性鸟嘌呤核苷酸三磷酸结合蛋白1)、Tlr2(Toll样受体2)、Tlr4(toll样受体4)、TNF(肿瘤坏死因子)、VCAM-1(血管细胞粘附蛋白1)、Vwf(血管性血友病因子)和Xdh(黄嘌呤脱氢酶)。

[0418] 在某些实施方案中,所述小鼠模型(例如,被给予淋巴细胞清除剂或疗法和免疫疗法的小鼠)的一种或多种体征、症状和/或结果是或包括如与对照小鼠中的所述表达相比,以下中的一种或多种的表达的变化:Acer2、Angpt14、Angpt2、Aox1、Atf3、Bnip3、CD274(也称为PD-L1)、CD31(PECAM-1)、E-选择素、Gbp2、Gbp4、Gbp5和Gbp9、GM-CSF、Hif3a、ICAM-1、IL-4、IL-6、Lrg1、Mgst3、Mmrn2、Ncf1、Nos3、Pdk4、Pla2g3、P-选择素、Ptgs2、Pxdn、Scara3、Scara3、Sult1a1、Ncf1、Tgtp1、Vwf、VCAM-1和Xdh。在一些实施方案中,所述小鼠模型是或包括被给予CPA和CAR-T细胞的小鼠。

[0419] 在各个实施方案中,所述小鼠模型(例如,被给予淋巴细胞清除剂和免疫疗法的小鼠)的一种或多种体征、症状和/或结果是或包括如与对照小鼠中的所述表达相比,以下中的一种或多种的表达的变化:Acer2(碱性神经酰胺酶2)、Aif1(同种异体移植物炎性因子1)、Angpt14(血管生成素样4)、Angpt2(血管生成素2)、CD31(PECAM-1)、CXCL10(IP-10)、Gbp2(鸟苷酸结合蛋白2)、Gbp4(鸟苷酸结合蛋白4)、Gdp5(鸟苷酸结合蛋白5)、Gdp9(鸟苷酸结合蛋白9)、GM-CSF、Gzmb(颗粒酶B)、ICAM-1(细胞间粘附分子1)、IL2ra(白细胞介素-2受体亚基α)、IL-4、NLRC5(I类反式激活因子)、Pdk4(丙酮酸脱氢酶激酶,同工酶4)、Sele(E-选择素)、IL2ra、IL-13、Serpine 1、Sult1a1(磺基转移酶1A1)、Tgfb1(转化生长因子β-1)、TNF(肿瘤坏死因子)、VCAM-1(血管细胞粘附蛋白1)、Vwf(血管性血友病因子)和Xdh(黄嘌呤脱氢酶)。在一些实施方案中,所述小鼠模型是或包括被给予CPA和CAR-T细胞的小鼠。

[0420] 在各个实施方案中,所述小鼠模型(例如,给予抗原表达细胞、淋巴细胞清除剂和免疫疗法的小鼠)的一种或多种体征、症状和/或结果是或包括如与对照小鼠中的所述表达相比,以下中的一种或多种的表达的变化:Acer2、Adipoq(脂联素)、Aif1(同种异体移植物炎性因子1)、Xdh(黄嘌呤脱氢酶)、Angpt1、Angpt14(血管生成素样4)、Angpt2(血管生成素2)、Aqp4(水通道蛋白-4)、Atf3(环AMP依赖性转录因子ATF-3)、Ccl2(C-C基序趋化因子2)、CD68、Edn1(内皮素-1)、Gbp2(鸟苷酸结合蛋白2)、Gbp4(鸟苷酸结合蛋白4)、Gdp5(鸟苷酸结合蛋白5)、Gdp9(鸟苷酸结合蛋白9、HIF3a(缺氧诱导因子3α亚基)、同工酶4)、Lrg1(富含亮氨酸的α-2-糖蛋白1)、Mmrn2、Pdk4(丙酮酸脱氢酶激酶、Pla2g3(3族分泌型磷脂酶A2前体)、Sele(E-选择素)、Serpine 1、Sult1a1(磺基转移酶1A1)、Tgfb1(转化生长因子β-1)、Tgfb2

(转化生长因子β2)、Tgfb3(转化生长因子β3)、Tlr2(Toll样受体2)、Tlr4(toll样受体4)、VCAM-1(血管细胞粘附蛋白1)、Vwf(血管性血友病因子)、ICAM-1(细胞间粘附分子1)、Selp(P-选择素)、IL2ra、IL-13、Gzmb(颗粒酶B)、TNF、CXCL10(IP-10)、CCL2(MCP-1,C-C基序趋化因子2)、CXCL11(I-TAC,C-X-C基序趋化因子11)、CXCL1(KC,生长调节α蛋白)、CCL4(MIP-1b,C-C基序趋化因子4)、NLRC5(I类反式激活因子)、CIITA(II类反式激活因子)、CD274和Tgtp(T细胞特异性鸟嘌呤核苷酸三磷酸结合蛋白1)。在某些实施方案中,所述小鼠模型是或包括被给予A20细胞、CPA和CAR-T细胞的小鼠。

[0421] 在某些实施方案中,所述一种或多种基因是或包括如与对照小鼠中的所述表达相比,以下中的一种或多种:Adipoq(脂联素)、Aif1(同种异体移植物炎性因子1)、Aqp4(水通道蛋白-4)、Ccl2(C-C基序趋化因子2)、CD68、Edn1(内皮素-1)、Serpine 1、Tgfb1(转化生长因子β-1)、Tgfb2(转化生长因子β2)、Tgfb3(转化生长因子β3)、Tlr2(Toll样受体2)、Tlr4(toll样受体4)、IL2ra、IL-13、Gzmb(颗粒酶B)、TNF、CXCL10(IP-10)、CCL2(MCP-1,C-C基序趋化因子2)、CXCL11(I-TAC,C-X-C基序趋化因子11)、CXCL1(KC,生长调节α蛋白)、CCL4(MIP-1b,C-C基序趋化因子4)、NLRC5(I类反式激活因子)、CIITA(II类反式激活因子)。在某些实施方案中,所述小鼠模型是或包括被给予A20细胞、CPA和CAR-T细胞的小鼠。

[0422] 在特定实施方案中,所述一种或多种基因与特定活性或功能相关,和/或编码与特定活性或功能相关的多肽。在特定实施方案中,所述表达是表达的增加。在一些实施方案中,所述活性是表达的减少。在一些实施方案中,所述特定活性或功能是基因本体种类或与基因本体种类相关。在一些实施方案中,所述基因本体种类涉及生物过程、分子功能和/或细胞组分。在一些实施方案中,所述基因本体种类是由联合会、数据库和/或学会定义。例如,在一些实施方案中,所述基因本体种类是如由基因本体联合会(Gene Ontology Consortium)和/或通过与基因本体联合会相关的数据库或研究工具或程序所定义的种类。此类资源的例子包括但不限于如以下文献中所述的那些:The Gene Ontology Consortium (2008)Nucleic Acids Research.36(数据库发布):D440-4;Smith等人,Nature Biotechnology.25(11):1251-5(2007);Dessimoz,C;Skunca,N.The Gene Ontology Handbook.Methods in Molecular Biology.1446.Springer(New York);Carbon等人Bioinformatics.25(2):288-9(2009);和Götz等人,Nucleic Acids Research.36(10):3420-35(2008)。

[0423] 在一些实施方案中,差异表达(例如,在脑中差异表达)的所述一种或多种基因是与活性或功能相关的基因,例如,基因本体种类,所述活性或功能是或包括:对细胞因子的应答、对干扰素-β的应答、对干扰素-β的细胞应答、通过MHC I类进行的肽抗原的抗原加工和呈递、对细胞形态发生的调节、对细胞因子刺激物的细胞应答、肽抗原的抗原加工和呈递、先天免疫应答、对干扰素-γ的应答、抗原加工和呈递、细胞连接组装、血管发生、对细胞投射组织化的正向调节、对神经元投射发育的调节、血管形态发生、对蛋白质修饰过程的负向调节、对神经递质受体活性的调节、对细胞形状的调节、对细胞组分大小的调节、对流体剪切应力的应答、细胞连接组织化、肌动蛋白丝组织化、胞吞作用、对干扰素γ的细胞应答、对谷氨酸受体信号传导途径的调节、对磷酸化的负向调节、内源肽抗原的抗原加工和呈递、对肽激素的应答、对细胞组分生物发生的正向调节、对细胞迁移的正向调节、病毒过程、多生物细胞过程、活性氧类代谢过程、对蛋白质修饰过程的负向调节、对细胞粘附的正向调

节、共生生物对宿主的粘附、细胞-基质粘附、侣伴蛋白介导的蛋白质折叠、肽基-酪氨酸修饰、趋性、对其他生物体的防御应答、甾醇生物合成过程、对氮化合物的细胞应答或前述项的任何项的组合。

[0424] 在某些实施方案中，所述一种或多种基因与免疫应答相关。在一些实施方案中，与免疫应答相关的所述基因是或包括GBP2(鸟苷酸结合蛋白2)、GBP4(鸟苷酸结合蛋白4)、GBP5(鸟苷酸结合蛋白5)和/或GBP9(鸟苷酸结合蛋白9)。在一些实施方案中，所述一种或多种基因与血管发生相关。在特定实施方案中，与血管发生相关的所述一种或多种基因是或包括ANGPT1(血管生成素-1)、ANGPT2(血管生成素-2)、ANGPTL4(血管生成素相关蛋白4)、HIF3A(缺氧诱导因子3-α)、LRG1(富含亮氨酸的α-2-糖蛋白)、MMRN2(多聚蛋白-2)和/或XDH(黄嘌呤脱氢酶/氧化酶)。在特定实施方案中，所述一种或多种基因与甾醇代谢过程相关。在一些实施方案中，与甾醇代谢过程相关的所述基因是或包括ACER2(碱性神经酰胺酶2)、ATF3(环AMP依赖性转录因子ATF-3)、PDK4(丙酮酸脱氢酶(乙酰基转移)]激酶同工酶4)、PLA2G3(3组分泌型磷脂酶A2)和/或SULT1A1(磺基转移酶1A1)。在一些实施方案中，将来自两个或更多个种类或聚类的基因合并为单一种类或聚类。在特定实施方案中，所述基因是CD274(程序性细胞死亡蛋白1配体1;PD-L1)、TGTP1(T细胞特异性鸟嘌呤核苷酸三磷酸结合蛋白1)和/或VWF(血管性血友病因子)。

[0425] 在一些实施方案中，所述一种或多种基因与细胞粘附相关。在特定实施方案中，与细胞粘附相关的所述一种或多种基因是或包括VCAM-1(血管细胞粘附蛋白1)、ICAM-1(细胞间粘附分子1)、SELE(E-选择素)、SELP(P-选择素)、CD31(PECAM-1)、IL2ra(白细胞介素-2受体亚基α)和Aqp4(水通道蛋白-4)。在一些实施方案中，与细胞粘附相关的所述一种或多种基因是或包括血小板内皮细胞粘附分子(PECAM-1)，也称为分化簇31(CD31)。在一些实施方案中，这些基因在组织中的上调促进所述免疫疗法(例如，表达重组受体和/或CAR的一种或多种细胞)的浸润。在某些实施方案中，所述一种或多种基因与氧化应激和抗氧化防御相关。在一些实施方案中，与氧化应激和氧化防御相关的所述基因是或包括NCF1(嗜中性粒细胞胞质溶胶因子1)、AOX1(醛氧化酶)、BNIP3(BCL2/腺病毒E1B 19kDa蛋白相互作用蛋白3)、PXDN(过氧蛋白(Peroxidasin))、SCARA3(清道夫受体A类成员3)、MGST3(微粒体谷胱甘肽S-转移酶3)和PTGS2(前列腺素G/H合酶2)。在某些实施方案中，所述一种或多种基因与一氧化氮信号传导途径相关。在某些实施方案中，与一氧化氮信号传导途径相关的所述一种或多种基因是或包括NCF1(嗜中性粒细胞胞质溶胶因子1)、NOS3(一氧化氮合酶，内皮型)和/或SCARA3(清道夫受体A类成员3)。

[0426] 在一些实施方案中，所述一种或多种基因是编码细胞因子、趋化因子和MHC蛋白的基因。在特定实施方案中，编码细胞因子、趋化因子和MHC蛋白的所述一种或多种基因是或包括CCL4(C-C基序趋化因子4)、CIITA(II类反式激活因子)、CXCL1、CXCL10(IP-10)、CXCL11(I-TAC)、GM-CSF、IL-13、IL-4、IL-6、TNF(肿瘤坏死因子)、Ccl2(C-C基序趋化因子2)和CCL4(MIP-1b)。在特定实施方案中，所述一种或多种基因是参与炎症和血管变化的基因。在某些实施方案中，参与炎症和血管变化的所述一种或多种基因是或包括Adipoq(脂联素)、Aif1(同种异体移植物炎性因子1)、CD68、Edn1(内皮素-1)、Serpine 1、Tgfb1(转化生长因子β-1)、Tgfb2(转化生长因子β2)、Tgfb3(转化生长因子β3)、Tlr2(Toll样受体2)和Tlr4(toll样受体4)。

[0427] 在某些实施方案中，所述一种或多种基因是内皮激活的标记。在特定实施方案中，内皮激活的一种或多种标记是或包括Gbp5、Selp或vwf。在某些实施方案中，内皮激活的类似或相同标记在与免疫疗法(例如，CAR-T细胞疗法)相关的神经毒性(例如，严重神经毒性)的人病例中升高。在各个实施方案中，Gbp5、Selp和vwf中的一种或多种的表达在与免疫疗法(例如，CAR-T细胞疗法)相关的神经毒性(例如，严重神经毒性)的人病例中的脑内皮细胞中升高。在一些实施方案中，内皮激活的一种或多种标记在小鼠模型的脑内皮细胞中升高，在与免疫疗法相关的神经毒性的人病例的人脑内皮细胞中升高。在神经毒性的人病例的脑内皮细胞中升高的内皮激活的标记描述于以下文献中:Gust等人，Cancer Discov;7(12);1-16(2017)。

[0428] 在某些实施方案中，所述小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果是或包括本文(包括在本文所提供的例子、图和/或表格中的任一者中)所列出的任何基因中的一种或多种的表达变化。在一些实施方案中，所述一种或多种体征、症状和/或结果是或包括编码本文(包括在本文所提供的例子、图和/或表格中的任一者中)所列出的任何蛋白质中的一种或多种(例如，细胞因子)的基因的表达变化。在特定实施方案中，所述一种或多种基因是参与本文所述小鼠模型的任何体征、症状和/或结果和/或编码蛋白质的基因，所述蛋白质参与所述体征、症状和/或结果或参与对所述体征、症状和/或结果的反应。

[0429] 在一些实施方案中，基因表达的变化是基因表达的增加。在某些实施方案中，所述增加是基因表达的至少10％、至少20％、至少30％、至少40％、至少50％、至少60％、至少70％、至少80％、至少90％、至少100％、至少150％、至少200％、至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍、至少50倍、至少100倍、至少500倍、至少1,000倍或至少5,000倍增加。

[0430] 在某些实施方案中，基因表达的变化是基因表达的减少或降低。在一些实施方案中，基因表达的减少或降低是至少10％、至少20％、至少30％、至少40％、至少50％、至少60％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％、至少95％、至少97％、至少98％、至少99％、至少99.9％或至少99.99％。在一些实施方案中，所述减少或降低是100％或约100％的减少或降低。在一些实施方案中，基因表达的减少或降低是基因表达的至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍、至少50倍、至少100倍、至少500倍、至少1,000倍或至少5,000倍的减少或降低。

[0431] 在一些实施方案中，基因表达的变化(例如，基因表达的增加或减少)是与对照小鼠中的所述基因表达相比的。在一些实施方案中，基因表达的变化(例如，基因表达的增加或减少)是与尚未被给予所述免疫疗法的小鼠或初试小鼠中的所述基因表达相比的。在一些实施方案中，基因表达的变化(例如，基因表达的增加或减少)是与在给予免疫疗法之前或给予免疫疗法时相同小鼠中的基因表达相比的。

[0432] 在一些实施方案中，基因表达的变化(例如，基因表达的增加或减少)是在给予免疫疗法之后观察到的，例如，在给予免疫疗法之后约或至少约1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、9小时、12小时、24小时、36小时、48小时、60小时、72小时、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天、21天、22天、23天、24天、25天、26天、27天、28天、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、11周、12周、13周、14周、15周或16周。在一些实施方案中，基因表达的变化(例如，基因表达的增加或减少)是在

给予免疫疗法之前观察到的。在一些实施方案中，基因表达的变化(例如，基因表达的增加或减少)是在给予免疫疗法时观察到的。

[0433] 在某些实施方案中，小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果是或包括组织中一种或多种基因的表达的变化。在一些实施方案中，小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果是或包括结缔组织、肌肉组织、神经组织或上皮组织中一种或多种基因的表达的变化。在特定实施方案中，小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果是或包括以下中的一种或多种基因的表达的变化：心脏、脉管系统、唾液腺、食管、胃、肝、胆囊、胰腺、肠、结肠、直肠、下丘脑、垂体、松果腺、甲状腺、甲状旁腺、肾上腺、肾、输尿管、膀胱、尿道、淋巴系统、皮肤、肌肉、脑、脊髓、神经、卵巢、子宫、睾丸、前列腺、咽、喉、气管、支气管、肺、膈膜、骨、软骨、韧带或肌腱。在某些实施方案中，所述一种或多种组织是脑组织、肝组织、脾组织、肺组织或肾组织。在一些实施方案中，一种或多种基因的表达在脑组织中发生变化。在特定实施方案中，表达变化是表达的增加。

[0434] 在一些实施方案中，小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果是或包括血液和/或血液化学的一种或多种参数和/或方面的改变或变化。在特定实施方案中，血液和/或血液化学的一种或多种参数和/或方面是或包括电解质的水平、量或浓度(如钠、钾、氯化物、钙的水平)和/或对血浆重量摩尔渗透压浓度或肾功能(例如，肌酸酐尿素BUN与肌酸酐的比率)的测量。在一些实施方案中，血液和/或血液化学的一种或多种参数和/或方面是或包括酸碱水平，例如，阴离子水平、动脉血气、碱过量、碳酸氢盐含量和二氧化碳含量。在一些实施方案中，血液和/或血液化学的一种或多种参数和/或方面涉及血液铁含量，如铁蛋白的水平或量、血清铁、转铁蛋白饱和度、总铁结合力和/或转铁蛋白受体。在一些实施方案中，血液和/或血液化学的一种或多种参数和/或方面是激素(例如，甲状腺刺激激素)的水平或量。在特定实施方案中，血液和/或血液化学的一种或多种参数和/或方面涉及心血管功能的标记，如肌钙蛋白、乳酸脱氢酶、肌红蛋白和/或糖原磷酸化酶同工酶BB的量或水平。在一些实施方案中，血液和/或血液化学的一种或多种参数和/或方面是或包括蛋白质(例如，血清白蛋白、总血清蛋白、ALP、ALT、AST、胆红素和/或未缀合胆红素)的水平、浓度或量。在某些实施方案中，小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果是或包括血清或血液钙的量、水平或浓度的降低。

[0435] 在某些实施方案中，血液和/或血液化学的一种或多种参数和/或方面是或包括血清葡萄糖、血清白蛋白和/或总血清蛋白的量或水平的一个或多个变化。在一些实施方案中，血液化学的所述参数或方面是或包括血清或血液中以下的水平、量或浓度的水平、量或浓度：钠、钾、钙、尿素、肌酸酐、葡萄糖、高密度脂蛋白、低密度脂蛋白、C反应蛋白、甲状腺刺激激素、白蛋白、碱性磷酸酶、ALT(丙氨酸氨基转移酶)、AST(天冬氨酸氨基转移酶)、BUN(血尿素氮)、氯化物、二氧化碳和/或胆红素。

[0436] 在一些实施方案中，小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果是或包括血清葡萄糖的量或水平的降低。在特定实施方案中，小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果是或包括血清白蛋白的量或水平的降低。在某些实施方案中，小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果是或包括血清白蛋白与球蛋白的比率的减小。

[0437] 在特定实施方案中，小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果是或包括对一种或多种组织的损伤和/或伤害。在一些实施方案中，所述组织损伤和/或伤害与炎症引起的

或与炎症相关的组织损伤相关，由炎症引起的或与炎症相关的组织损伤引起，和/或具有炎症引起的或与炎症相关的组织损伤的外观。在特定实施方案中，所述炎症是急性炎症。在特定实施方案中，所述炎症是慢性炎症。在某些实施方案中，结缔组织、肌肉组织、神经组织和/或上皮组织受到伤害或损伤。在某些实施方案中，心脏、脉管系统、唾液腺、食管、胃、肝、胆囊、胰腺、肠、结肠、直肠、下丘脑、垂体、松果腺、甲状腺、甲状旁腺、肾上腺、肾、输尿管、膀胱、尿道、淋巴系统、皮肤、肌肉、脑、脊髓、神经、卵巢、子宫、睾丸、前列腺、咽、喉、气管、支气管、肺、膈膜、骨、软骨、韧带和/或肌腱中的一种或多种组织受到损伤或伤害。在某些实施方案中，肝、脾和/或肺受到损伤或伤害。

[0438] 在特定实施方案中，所述损伤是或包括一种或多种肉芽肿的存在或形成。在一些实施方案中，所述肉芽肿是或包括免疫细胞。在特定实施方案中，所述肉芽肿是或包括巨噬细胞。在一些实施方案中，所述肉芽肿是或包括组织细胞。在特定实施方案中，所述肉芽肿包括一种或多种死亡或坏死细胞。在特定实施方案中，所述肉芽肿是组织细胞肉芽肿。

[0439] 在一些实施方案中，所述损伤是或包括坏死。在特定实施方案中，所述坏死是或包括凝固性坏死、液化性坏死、坏疽性坏死、干酪样坏死、脂肪坏死和/或纤维样坏死。在一些实施方案中，所述坏死是或包括纤维化。在特定实施方案中，所述坏死是或包括因血管损伤(例如，免疫介导的血管损伤)形成的和/或与所述血管损伤相关的坏死。在一些实施方案中，所述损伤的组织含有一种或多种坏死和/或死亡细胞。

[0440] 在特定实施方案中，小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果是或包括脑水肿。在特定实施方案中，所述水肿是血管性水肿。在一些实施方案中，所述脑水肿是或包括以下的脑含水量：等于或大于75％、76％、77％、78％、79％、80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％的脑含水量。在某些实施方案中，所述脑含水量增加或至少增加2％、3％、4％、5％、6％、7％、8％、9％、10％、11％、12％、13％、14％、15％、20％、25％或30％。

[0441] 在某些实施方案中，小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果是或包括脑组织损伤。在一些实施方案中，所述脑组织损伤是或包括一种或多种出血，如急性出血。在一些实施方案中，出血(例如，急性出血)可能存在于脑中任何区域，包括但不限于间脑和小脑。脑组织中的出血可以作为常规事项，如使用组织学染色技术来鉴定和表征。在一些实施方案中，小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果是展示血管外红细胞的出血(例如，急性出血)。在一些实施方案中，所述出血是在给予所述免疫疗法后在以下时间、大约在以下时间或在以下时间内发生：14天、12天、10天、8天、7天、6天、5天、4天、3天或2天。在特定实施方案中，所述出血是在给予所述免疫疗法后5天、约5天或5天内发生。

[0442] 特定实施方案考虑到，所述小鼠在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法或所述免疫疗法时的肿瘤负荷(例如，肿瘤大小或肿瘤体积)与所述小鼠将在脑内发生出血(例如，急性出血)的机会、概率或可能性相关。不希望受限于理论，特定方面考虑到，在给予淋巴细胞清除剂或疗法或免疫疗法时肿瘤负荷的增加提高或增强了所述小鼠将发生脑出血的机会、概率或可能性。在一些实施方案中，给予增加数量的抗原表达细胞(例如，肿瘤细胞，如A20细胞)提高或增强了所述小鼠将发生脑出血的机会、概率或可能性。

[0443] 某些实施方案考虑到，免疫疗法的特征与所述小鼠将在脑内发生出血(例如，急性出血)的机会、概率或可能性相关。不希望受限于理论，特定方面考虑到，转导效率或CD8与

CD4细胞的比率的增加(例如,较高的CD8细胞比率)提高或增强了所述小鼠将发生脑出血的机会、概率或可能性。

[0444] 在一些实施方案中,小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果是或包括改变的外观或行为。在一些实施方案中,应激的一种或多种体征、症状和/或结果是或包括应激行为的体征。在一些实施方案中,小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果是或包括食物摄入减少。在特定实施方案中,应激的体征是或包括食物摄入减少、水摄入减少、理毛行为减少和/或运动活动减少。

[0445] 在特定实施方案中,小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果是或包括体重减轻。在某些实施方案中,所述体重减轻为、为约或至少减轻3%、减轻5%、减轻6%、减轻7%、减轻8%、减轻9%、减轻10%、减轻11%、减轻12%、减轻13%、减轻14%、减轻15%、减轻16%、减轻17%、减轻18%、减轻19%、减轻20%、减轻25%、减轻30%、减轻35%、减轻40%、减轻45%、减轻50%的体重。在某些实施方案中,所述体重减轻为、为约或至少减轻0.5克、1克、1.5克、2克、2.5克、3克、3.5克、4克、4.5克、5克、6克、7.5克、10克或15克体重。

[0446] 在某些实施方案中,小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果是或包括体温下降。在特定实施方案中,所述体温下降是以下的体温下降:为、为约或为至少2.5%下降、3%下降、4%下降、5%下降、6%下降、7%下降、8%下降、9%下降、10%下降、15%下降、20%下降、25%下降。在某些实施方案中,所述体温下降是以下的体重下降:为、为约或为至少0.5℃下降、1.0℃下降、1.5℃下降、2.0℃下降、2.5℃下降、3.0℃下降、3.5℃下降、4.0℃下降、4.5℃下降、5.0℃下降、6.0℃下降、7.5℃下降或10℃下降。

[0447] 在某些实施方案中,小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果是或包括发病或死亡。在一些实施方案中,所述小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果是或包括增加的发病或死亡概率。在某些实施方案中,在用所述免疫疗法治疗后1小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时、3天、4天、5天、6天、7天、1周、2周、3周、4周、6周、8周、10周、12周、16周或20周内的发病或死亡概率增加至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少100%、至少150%、至少200%、至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍、至少50倍。在一些实施方案中,小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果是或包括增加的需要治疗以阻止死亡的概率。在一些实施方案中,在用所述免疫疗法治疗后1小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时、3天、4天、5天、6天、7天、1周、2周、3周、4周、6周、8周、10周、12周、16周或20周内需要治疗以阻止死亡增加至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少100%、至少150%、至少200%、至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍、至少50倍。

[0448] 所提供的某些实施方案是基于本文关于多种机制和途径的观察结果,所述机制和途径涉及在给予某些免疫疗法(如CAR T疗法)之后可能促进毒性发生的事件和因素。例如,所述机制和途径包括可能促进毒性发生的那些,所述毒性涉及神经学症状或紊乱,例如,神经毒性(包括严重神经毒性)和/或脑水肿。所提供的实施方案包括靶向此类事件或途径或其组分的干预(如治疗性组合物和方法)。所提供的实施方案包括用于研究和阐明此类途径的组分和/或测试此类干预的方法和模型。

[0449] 在一些实施方案中，通过动物模型靶向或研究的途径和步骤可以包括局部或全身炎症(如细胞因子的局部或全身释放或积累，包括神经炎症)的各方面或与其相关的因素。

[0450] 在一些方面，工程化T细胞或响应免疫调节剂激活的T细胞的扩增可以导致炎性效应，如外周炎症以及增加的细胞因子和其他因子的产生。在一些情况下，这种炎症可以导致可能导致神经毒性结果的一种或多种事件或增加其风险。

[0451] 在一些方面，神经炎症(如增加的某些炎性细胞因子在脑中的积累)在一些情况下可能导致或涉及CNS或脑中炎性细胞的激活，如小神经角质细胞的激活。

[0452] 在一些方面，细胞因子和其他因子(如血源性或全身细胞因子)通过室周器官(CV或CVO)进入脑中。CVO通常可以被描述为脑中的结构，特征为广泛的脉管系统并且缺少正常的血脑屏障，由特化组织构成并且位于中线脑室系统中。在一些方面，循环PAMP和细胞因子可以与CVO和脉络丛相互作用并刺激细胞因子产生。在一些方面，此类细胞因子可以与CNS直接相互作用和/或进入CNS中。CVO可以表达免疫系统的组分，如TLR、IL-1β、IL-6和TNF-α的受体。参见Dantzer等人(2008)Nat Rev Neurosci 9:46。CVO可以是感觉器官(如最后区(AP)、皮质下器官(SFO)和终板的血管器官)或分泌器官(如脑室管膜连合下器官(SCO)、垂体后叶素、松果腺、正中隆起和垂体中叶)。

[0453] 在一些实施方案中，全身或外周炎症可能导致血脑屏障(BBB)的变化，这可能是破坏性或非破坏性的。Varatharaj和Galea(2017)Brain,Behavior,and Immunity 60(2017)1-12。用免疫疗法(例如CAR-T细胞)治疗的受试者中神经毒性的病理生理学可能涉及CNS环境的破坏性和/或非破坏性变化。血脑屏障破裂可能参与病理生理学，但可能不一定是必需的。

[0454] 在一些方面，与神经毒性和/或脑水肿相关的病理生理学和变化可能与细胞疗法的工程化细胞(如CAR+T细胞)在CNS或脑中的浸润(例如，血管周围浸润)无关或不是由所述浸润引起的。

[0455] 在一些方面，全身炎症可能促进脑中潜在的病理生理学变化。在一些情况下，过继细胞疗法给予的T细胞和/或工程化细胞可能促进全身细胞因子的产生，这在一些情况下可能通过单独或组合的各种途径导致不良结果。在某些情况下，全身细胞因子可能直接损伤脑脉管系统的内皮细胞。在一些情况下，全身细胞因子进入脑中并通过对脑细胞或组织(如小神经胶质细胞)的作用引起不良结果。因此，在一些情况下，诸如毒性的不良作用可能是由于全身和/或局部产生的细胞因子在脑中的多种作用所致。

[0456] 在一些情况下，脑中的细胞因子活性可能直接或间接触发小神经胶质细胞的激活。在某些情况下，所述小神经胶质细胞的位置非常靠近维持血脑屏障的神经脉管系统和细胞。因此，在一些情况下，所述小神经胶质细胞的激活可能损伤这些细胞，包括通过改变星形胶质细胞形态和损伤对准血脑屏障的星形胶质细胞过程。此外，在一些情况下，脑中外周、全身或局部产生的细胞因子可能破坏内皮细胞的细胞间粘附。在一些情况下，这些事件可以导致血脑屏障的血管损伤和渗漏，继而导致脑水肿或其他不良作用。

[0457] III.小鼠模型的测定和使用方法

[0458] 在特定实施方案中，本文所提供的小鼠模型可用于研究和/或评价体征、症状或结果(例如，针对免疫疗法的毒性的体征、症状或结果)的假说、机制和改性剂。在某些实施方案中，所述小鼠模型是通过本文所述的任何方法(如在第I节中描述的那些)来产生，和/或

是具有如本文(如在第II节中)所述的属性或表型的小鼠。

[0459] A.测试免疫疗法

[0460] 在某些实施方案中,本文所提供的小鼠模型可用于研究替代性和/或改良的免疫疗法或用于给予免疫疗法的技术。例如,在一些实施方案中,小鼠模型可用于评价新的或替代性的淋巴细胞清除剂或疗法。在某些实施方案中,所述小鼠模型可用于评价替代性或下一代免疫疗法,例如,具有诸如自毁开关(kill switch)的修饰的CAR-T细胞组合物。

[0461] 在一些实施方案中,所述方法包括将测试免疫疗法给予小鼠的一个或多个步骤。在特定实施方案中,向本文(例如,在第I.A节中)所描述的小鼠给予所述测试免疫疗法。在特定实施方案中,在向所述小鼠给予淋巴细胞清除剂或疗法之前、期间或之后,向所述小鼠给予所述测试免疫疗法。在某些实施方案中,所述淋巴细胞清除剂或疗法是本文(例如,在第I.B节中)描述的淋巴细胞清除剂或疗法。在某些实施方案中,在向所述小鼠给予抗原表达细胞之前、期间或之后,进行所述测试免疫疗法。在特定实施方案中,所述抗原表达细胞是本文所述的抗原表达细胞,例如,在第I.D接中描述的抗原表达细胞。

[0462] 在一些实施方案中,本文所提供的方法包括检测、测量和/或评估被给予所述测试免疫疗法的小鼠的一种或多种体征、症状或结果的一个或多个步骤。在特定实施方案中,所述一种或多种体征、症状和/或结果是本文(例如,在第II节中)描述的体征、症状和/或结果中的一种或多种。在某些实施方案中,将所述检测、测量和/或评估与对未接受过所述测试免疫疗法的小鼠中的小鼠模型的体征、症状和/或结果的检测、测量和/或评估相比较。在一些实施方案中,所述体征、症状或结果是所述免疫疗法的活性、扩增和/或持久性。在某些实施方案中,所述体征、症状和/或结果是毒性的体征、症状或结果。

[0463] 在特定实施方案中,未接受过所述测试免疫疗法的小鼠未接受抗原表达细胞或淋巴细胞清除剂或疗法的任何先前治疗。在特定实施方案中,未接受过所述测试免疫疗法的小鼠是初试小鼠。在某些实施方案中,向未接受过所述测试免疫疗法的小鼠给予淋巴细胞清除剂或疗法。在某些实施方案中,所述淋巴细胞清除剂或疗法是如本文(例如,在第I.B节中)所述的淋巴细胞清除剂或疗法。在特定实施方案中,所述淋巴细胞清除剂或疗法是给予接受所述测试免疫疗法的小鼠的相同的淋巴细胞清除剂或疗法。在某些实施方案中,向未接受过所述测试免疫疗法的小鼠给予抗原表达细胞。在某些实施方案中,所述抗原表达细胞是本文(例如,在第I.D节中)所述的抗原表达细胞。在特定实施方案中,所述抗原表达细胞是给予接受所述测试免疫疗法的小鼠的相同的细胞。在特定实施方案中,未接受过所述测试免疫疗法的小鼠未接受过免疫疗法。在特定实施方案中,未接受过所述测试免疫疗法的小鼠接受过免疫疗法。在一些实施方案中,所述免疫疗法是本文(例如,在第I.C节中)所述的免疫疗法。

[0464] 在一些实施方案中,可以改变与培养、处理或产生所述免疫疗法结合的任何一种或多种条件或试剂以产生测试免疫疗法。例如,在特定实施方案中,所述测试免疫疗法是从细胞群产生,所述细胞群是从与用于产生所述免疫疗法的供体细胞来源或群体不同的供体细胞来源或群体分离和/或富集的。在某些实施方案中,所述测试免疫疗法是从细胞群产生,所述细胞群是从供体细胞分离和/或富集的,在一种或多种试剂的存在下进行激活、转导和/或扩增,所述试剂与用于产生所述免疫疗法的试剂不同。

[0465] 在一些实施方案中,所述测试免疫疗法是从与所述免疫疗法不同的细胞群产生。

在一些实施方案中，所述不同的免疫细胞群可以包括T细胞亚型或亚群，包括但不限于T细胞亚群和/或CD4+T细胞亚群和/或CD8+T细胞亚群，其为初试T(T_N)细胞、效应T细胞(T_{EFF})、记忆T细胞和其亚型(如干细胞记忆T(T_{SCM})、中枢记忆T(T_{CM})、效应子记忆T(T_{EM})或终末分化的效应子记忆T细胞)、肿瘤浸润性淋巴细胞(TIL)、未成熟T细胞、成熟T细胞、辅助T细胞、细胞毒性T细胞、粘膜相关恒定T(MAIT)细胞、天然存在的和适应性调节T(Treg)细胞、辅助T细胞(如TH1细胞、TH2细胞、TH3细胞、TH17细胞、TH9细胞、TH22细胞、滤泡性辅助T细胞)、α/βT细胞和δ/γT细胞。

[0466] 在一些实施方案中，所述测试免疫疗法是从细胞产生，所述细胞是在与用于培养用于所述免疫疗法的细胞的试剂不同的一种或多种试剂的存在下培养的。在特定实施方案中，用于产生所述测试免疫疗法的细胞是在转导之前和/或之后用与免疫疗法不同的一种或多种试剂培养的。在某些实施方案中，用于产生所述测试免疫疗法的细胞是在与用于产生所述免疫疗法的试剂不同的一种或多种试剂的存在下转染的。在一些实施方案中，所述测试免疫疗法是从在分离、处理、培养、激活、转导、工程化、扩增和/或配制的一个或多个步骤期间用一种或多种与免疫疗法不同的试剂孵育、培养和/或处理的细胞产生的。

[0467] 在某些实施方案中，所述测试免疫疗法是从在与所述免疫疗法不同的设备中处理的细胞产生的。在一些实施方案中，测试免疫疗法是从在分离、处理、培养、激活、转导、工程化、扩增和/或配制的一个或多个步骤期间在与所述免疫疗法不同的设备中处理的细胞产生的。

[0468] 在某个实施方案中，所述测试免疫疗法和所述免疫疗法结合至和/或识别相同抗原。在某些实施方案中，所述测试免疫疗法表达与所述免疫疗法不同的重组受体。

[0469] 在特定实施方案中，所述测试免疫疗法表达与所述免疫疗法相同的重组受体。在一些实施方案中，所述测试免疫疗法是从用与所述免疫疗法不同的病毒转导的细胞产生的。在特定实施方案中，所述病毒是逆转录病毒。在某些实施方案中，所述病毒是慢病毒。在一些实施方案中，所述测试免疫疗法的细胞是用非病毒技术转导的。

[0470] 在一些实施方案中，所述测试免疫疗法具有重组受体或CAR，所述重组受体或CAR具有与所述免疫疗法的重组受体或CAR不同的一种或多种结构域。在某些实施方案中，所述测试免疫疗法的重组受体或CAR与所述免疫疗法的重组受体或CAR具有不同的抗原识别结构域。在特定实施方案中，所述测试免疫疗法具有与所述免疫疗法不同的scFv。在一些实施方案中，所述测试免疫疗法的scFv结合至和/或识别与所述免疫疗法的scFv不同的抗原。在特定实施方案中，所述测试免疫疗法的scFv与所述免疫疗法的scFv结合至和/或识别相同抗原。在特定实施方案中，所述测试免疫疗法的重组受体或CAR与所述免疫疗法的重组受体或CAR具有不同的跨膜结构域。在某些实施方案中，所述测试免疫疗法的重组受体或CAR与所述免疫疗法的重组受体或CAR具有不同的跨膜结构域。在一些实施方案中，所述测试免疫疗法的重组受体或CAR与所述免疫疗法的重组受体或CAR具有不同的IgG铰链区。在一些实施方案中，所述测试免疫疗法的重组受体或CAR与所述免疫疗法的重组受体或CAR具有一种或多种不同的间隔子。在特定实施方案中，所述测试免疫疗法的重组受体或CAR与所述免疫疗法的重组受体或CAR具有一种或多种不同的细胞内信号传导结构域。

[0471] 在特定实施方案中，所述测试免疫疗法是或包括免疫系统刺激剂。在一些实施方案中，所述测试免疫疗法是或包括T细胞接合疗法。在某些实施方案中，所述测试免疫疗法

是细胞组合物，例如，治疗性细胞组合物。在一些实施方案中，所述测试免疫疗法是含有表达重组受体的细胞的细胞组合物。在特定实施方案中，所述重组受体是CAR。

[0472] 在某些实施方案中，所述测试免疫疗法是改良的和/或第二代CAR-T细胞疗法。在一些实施方案中，所述测试免疫疗法是或包括含有TRUCK(用于通用细胞因子杀伤的重定向T细胞)的T细胞组合物。在一些实施方案中，TRUCK共表达嵌合抗原受体(CAR)和抗肿瘤细胞因子。在特定实施方案中，所述细胞因子表达可以是组成型的或者是通过T细胞激活(例如，白细胞介素-12(IL-12))诱导的。在一些实施方案中，促炎性细胞因子的局部产生是通过CAR的特异性来集中和/或靶向，将内源免疫细胞募集至肿瘤位点并协调和/或加强抗肿瘤反应。在一些实施方案中，所述测试免疫疗法是或包括通用同种异体CAR-T细胞。在一些实施方案中，通用CAR-T细胞进行工程化以不再表达内源T细胞受体(TCR)和/或主要组织相容性复合物(MHC)分子。

[0473] 在某些实施方案中，所述测试免疫疗法是或包括含有表达自驱动CAR的细胞的细胞组合物。在一些实施方案中，自驱动CAR共表达CAR和趋化因子受体。在特定实施方案中，所述自驱动CAR-T细胞结合至肿瘤配体，例如，以增强肿瘤归巢。在某些实施方案中，所述测试免疫疗法是含有CAR-T细胞的细胞组合物，所述CAR-T细胞进行工程化以抵抗免疫抑制，例如，装甲CAR。在一些实施方案中，所述装甲CAR可以进行遗传修饰以具有降低的一种或多种免疫检查点分子(例如，细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4(CTLA4)或程序性细胞死亡蛋白1(PD1))的表达或不再表达所述免疫检查点分子。在一些实施方案中，将装甲CAR与免疫检查点开关受体和/或阻断免疫检查点信号传导的单克隆抗体一起给予。

[0474] 在某些实施方案中，所述测试免疫疗法是或包括含有表达自毁CAR的细胞的细胞组合物。在某些实施方案中，自毁CAR是使用通过电穿孔递送以编码CAR的RNA进行设计、工程化和/或转染的。在某些实施方案中，结合至在表达自毁CAR的T细胞中的胸苷激酶的更昔洛韦诱导所述T细胞的细胞凋亡。在一些实施方案中，在表达自毁CAR的T细胞中通过小分子二聚化因子激活人半胱天冬酶9诱导所述T细胞的细胞凋亡。在特定实施方案中，所述测试免疫疗法是或包括含有表达条件性CAR的细胞的细胞组合物。在某些实施方案中，所述条件性CAR-T细胞是默认无反应的，或者被转换为“关闭(off)”，直到添加小分子以允许完全激活所述CAR为止。在一些实施方案中，条件性CAR-T细胞进行工程化以表达对随后给予的针对靶抗原的二抗具有亲和力的衔接子特异性受体。在某些实施方案中，所述测试免疫疗法是或包括含有表达标记的CAR的细胞的细胞组合物。在某些实施方案中，标记的CAR-T细胞表达CAR加现有单克隆抗体剂所结合的肿瘤表位。在一些实施方案中，所述标记的CAR的设计使得在毒性(例如，严重神经毒性或CRS)的事件中，给予单克隆抗体清除CAR T细胞并减轻症状，并且没有另外的肿瘤外(off-tumor)效应。在特定实施方案中，所述测试免疫疗法是或包括含有串联CAR-T细胞(TanCAR)的细胞组合物。在某些实施方案中，TanCAR-T细胞表达由两个连接的单链可变片段(scFv)组成的单一CAR，所述scFv具有不同亲和力，融合至一种或多种细胞内共刺激结构域和CD3ζ结构域。在一些实施方案中，TanCAR T细胞激活仅在靶细胞共表达两个靶标时实现。在某些实施方案中，所述测试免疫疗法是或包括含有双重CAR-T细胞的细胞组合物。在一些实施方案中，双重CAR-T表达两种单独的CAR，所述CAR具有不同的配体结合靶；一种CAR仅包括CD3ζ结构域，并且另一种CAR仅包括一种或多种共刺激结构域。在某些实施方案中，双重CAR T细胞激活需要肿瘤上两种靶标的共表达。在某些实

施方案中，所述测试免疫疗法是或包括含有表达安全性CAR(sCAR)的细胞的细胞组合物。在特定实施方案中，所述sCAR是由融合至细胞内抑制结构域(例如，CTLA4或PD1)的细胞外scFv组成。在特定实施方案中，共表达标准CAR的sCAR-T细胞仅在遇到具有标准CAR靶标但缺少sCAR靶标的靶细胞时才被激活。

[0475] 在一些实施方案中，如果在接受过所述测试免疫疗法的小鼠中对毒性的检测、测量和/或评估大于在未接受过所述测试免疫疗法的小鼠中对毒性的检测、测量和/或评估，比在未接受过所述测试免疫疗法的小鼠中对毒性的检测、测量和/或评估更严重，和/或显示比在未接受过所述测试免疫疗法的小鼠中对毒性的检测、测量和/或评估更高的毒性程度，则所述测试免疫疗法与人受试者中高的、升高的或增加的毒性风险相关。在特定实施方案中，如果在接受过所述测试免疫疗法的小鼠中对毒性的检测、测量和/或评估低于在确实接受过免疫疗法(例如，第I.C节中所述的免疫疗法)的小鼠中对毒性的检测、测量和/或评估，不如在确实接受过免疫疗法(例如，第I.C节中所述的免疫疗法)的小鼠中对毒性的检测、测量和/或评估严重，和/或显示比在确实接受过免疫疗法(例如，第I.C节中所述的免疫疗法)的小鼠中对毒性的检测、测量和/或评估更低的毒性程度，则所述测试免疫疗法与人受试者中低的、降低的或减小的毒性风险相关。在某些实施方案中，所述毒性是神经毒性。在特定实施方案中，所述毒性是严重神经毒性。在特定实施方案中，所述神经毒性是3级或延长的3级、4级或5级。在一些实施方案中，所述毒性是细胞因子释放综合征(CRS)。在特定实施方案中，所述CRS是严重CRS。在特定实施方案中，所述CRS是3级、4级或5级。

[0476] 在一些实施方案中，高的、升高的或增加的毒性风险为、为约或至少5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、97％、98％或99％的在给予所述免疫疗法(例如，所述测试免疫疗法)后发生毒性的概率。在特定实施方案中，低的、降低的或减小的毒性风险为、为约或小于50％、45％、40％、35％、30％、25％、20％、15％、10％、5％、1％、0.1％、0.01％、0.001％或0.0001％的在给予所述免疫疗法后发生毒性的概率。

[0477] B.测试淋巴细胞清除剂或疗法

[0478] 在某些实施方案中，所述方法包括将测试淋巴细胞清除剂或疗法给予小鼠的一个或多个步骤。在特定实施方案中，向本文(例如，在第I.A节中)描述的小鼠给予所述淋巴细胞清除剂或疗法，例如，如在第I.B节中描述的那些的淋巴细胞清除剂或疗法。在特定实施方案中，在向所述小鼠给予免疫疗法之前、期间或之后，向所述小鼠给予所述测试淋巴细胞清除剂或疗法。在某些实施方案中，所述免疫疗法是本文(例如，在第I.C节中)描述的免疫疗法。在某些实施方案中，在向小鼠给予抗原表达细胞之前、期间或之后，进行所述测试淋巴细胞清除剂或疗法。在特定实施方案中，所述抗原表达细胞是本文(例如，在第I.D节中)描述的细胞。

[0479] 在一些实施方案中，本文所提供的方法包括检测、测量和/或评估被给予所述测试淋巴细胞清除剂或疗法的小鼠的一种或多种体征、症状或结果的一个或多个步骤。在特定实施方案中，所述一种或多种体征、症状和/或结果是本文(例如，在第II节中)描述的体征、症状和/或结果中的一种或多种。在某些实施方案中，将所述检测、测量和/或评估与对接受并非所述测试淋巴细胞清除剂或疗法的淋巴细胞清除剂或疗法的小鼠的体征、症状和/或结果的检测、测量和/或评估相比较。在某些实施方案中，将所述检测、测量和/或评估与对

未接受过淋巴细胞清除剂或疗法的小鼠的体征、症状和/或结果的检测、测量和/或评估相比较。在一些实施方案中，所述体征、症状或结果是所述免疫疗法的活性、扩增和/或持久性。在某些实施方案中，所述体征、症状和/或结果是毒性的体征、症状或结果。

[0480] 在特定实施方案中，未接受过所述测试淋巴细胞清除剂或疗法的所述小鼠未接受过抗原表达细胞或免疫疗法的任何先前治疗。在特定实施方案中，未接受过所述测试淋巴细胞清除剂或疗法的所述小鼠是初试小鼠。在某些实施方案中，向未接受过所述测试淋巴细胞清除剂或疗法的所述小鼠给予不同的淋巴细胞清除剂或疗法。在某些实施方案中，所述淋巴细胞清除剂或疗法是如在第I.B节中所述的淋巴细胞清除剂或疗法。在某些实施方案中，向未接受过所述测试淋巴细胞清除剂或疗法的所述小鼠给予抗原表达细胞。在某些实施方案中，所述抗原表达细胞是在第I.D节中描述的细胞。在特定实施方案中，所述抗原表达细胞是给予接受所述测试淋巴细胞清除剂或疗法的小鼠的相同的细胞。在特定实施方案中，未接受过所述测试淋巴细胞清除剂或疗法的所述小鼠接受免疫疗法。在特定实施方案中，所述免疫疗法是本文(例如，在第I.C节中)描述的免疫疗法。在一些实施方案中，将相同的免疫疗法给予至接受过所述测试淋巴细胞清除剂或疗法的小鼠并且给予至未接受过所述测试淋巴细胞清除剂或疗法的小鼠。

[0481] 在一些实施方案中，如果在接受过所述测试淋巴细胞清除剂或疗法的小鼠中对毒性的检测、测量和/或评估大于在未接受过所述测试淋巴细胞清除剂或疗法的小鼠中对毒性的检测、测量和/或评估，比在未接受过所述测试淋巴细胞清除剂或疗法的小鼠中对毒性的检测、测量和/或评估更严重，和/或显示比在未接受过所述测试淋巴细胞清除剂或疗法的小鼠中对毒性的检测、测量和/或评估更高的毒性程度，则所述测试淋巴细胞清除剂或疗法与人受试者中高的、升高的或增加的毒性风险相关。在特定实施方案中，如果在接受过所述测试淋巴细胞清除剂或疗法的小鼠中对毒性的检测、测量和/或评估低于在确实接受过并非所述测试剂或疗法的淋巴细胞清除剂或疗法(例如，本文(如在第I.C节中)描述的淋巴细胞清除剂或疗法)的小鼠中对毒性的检测、测量和/或评估，不如在确实接受过并非所述测试剂或疗法的淋巴细胞清除剂或疗法(例如，本文(如在第I.C节中)描述的淋巴细胞清除剂或疗法)的小鼠中对毒性的检测、测量和/或评估严重，和/或显示比在确实接受过并非所述测试剂或疗法的淋巴细胞清除剂或疗法(例如，本文(如在第I.C节中)描述的淋巴细胞清除剂或疗法)的小鼠中对毒性的检测、测量和/或评估更低的毒性程度，则所述测试淋巴细胞清除剂或疗法与人受试者中低的、降低的或减小的毒性风险相关。在某些实施方案中，所述毒性是神经毒性。在特定实施方案中，所述毒性是严重神经毒性。在特定实施方案中，所述神经毒性是3级或延长的3级、4级或5级。在一些实施方案中，所述毒性是细胞因子释放综合征(CRS)。在特定实施方案中，所述CRS是严重CRS。在特定实施方案中，所述CRS是3级、4级或5级。

[0482] C.测试剂

[0483] 在一些实施方案中，本文提供的小鼠毒性模型可用于评价药剂，如可以抑制或加重毒性的一种或多种体征、症状或结果的药剂。此类药剂可以用于评价降低毒性的干预，和/或鉴定用于治疗或改善人受试者的毒性的潜在治疗靶。在一些实施方案中，本文提供鉴定和/或评估药剂(例如，测试剂)的一种或多种作用的方法。在特定实施方案中，所述测试剂是在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法和/或所述免疫疗法之前、之后或期间给予。

[0484] 在一些实施方案中，所述测试剂是或包括小分子、小有机化合物、肽、多肽、抗体或其抗原结合片段、非肽化合物、合成化合物、发酵产物、细胞提取物、多核苷酸、寡核苷酸、RNAi、siRNA、shRNA、多价siRNA、miRNA和/或病毒。

[0485] 在某些实施方案中，所述测试剂是在给予和/或开始所述淋巴细胞清除剂或疗法之前在、在约或在至少5分钟、10分钟、15分钟、30分钟、60分钟、1小时、2小时、4小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、2周、3周、4周、5周、6周或超过6周给予。在特定实施方案中，所述测试剂是在给予和/或开始所述免疫疗法之前在、在约或在至少5分钟、10分钟、15分钟、30分钟、60分钟、1小时、2小时、4小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、2周、3周、4周、5周、6周或超过6周给予。

[0486] 在一些实施方案中，在所述淋巴细胞清除剂或疗法和/或所述免疫疗法期间和/或结合所述淋巴细胞清除剂或疗法和/或所述免疫疗法来给予所述测试剂。在某些实施方案中，所述测试剂是在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法的24小时内、18小时内、12小时内、8小时内、6小时内、4小时内、2小时内、1小时内、30分钟内、15分钟内、10分钟内、5分钟内、3分钟内或1分钟内给予。在特定实施方案中，所述测试剂是在给予所述免疫疗法的24小时内、18小时内、12小时内、8小时内、6小时内、4小时内、2小时内、1小时内、30分钟内、15分钟内、10分钟内、5分钟内、3分钟内或1分钟内给予。在某些实施方案中，所述测试剂是与所述免疫疗法和/或所述淋巴细胞清除剂或疗法同时给予。在一些实施方案中，所述测试剂的给予与所述免疫疗法和/或所述淋巴细胞清除剂或疗法的给予重叠。

[0487] 在某些实施方案中，所述测试剂是所述淋巴细胞清除剂或疗法的给予后和/或给予完成后在、在约或在至少5分钟、10分钟、15分钟、30分钟、60分钟、1小时、2小时、4小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、2周、3周、4周、5周、6周或超过6周给予。在特定实施方案中，所述测试剂是在所述免疫疗法的给予后和/或给予完成后在以下时间、大约在以下时间或在以下时间内给予：5分钟、10分钟、15分钟、30分钟、60分钟、1小时、2小时、4小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、2周、3周、4周、5周或6周。

[0488] 在一些实施方案中，给予一个或多个剂量的所述测试剂。在一些实施方案中，给予单一剂量的所述测试剂。在特定实施方案中，给予一个剂量、两个剂量、三个剂量、四个剂量、五个剂量、六个剂量、七个剂量、八个剂量、九个剂量、十个剂量、多于十个剂量、多于二十个剂量、多于三十个剂量、多于四十个剂量或多于五十个剂量的所述测试剂。在一些实施方案中，所述测试剂是一次给予。在某些实施方案中，在为或为约24小时、48小时、72小时、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、2周、3周、4周、5周、6周或超过6周的时间段内给予多于一个剂量的所述测试剂。在特定实施方案中，多于一个剂量的所述测试剂是在以下的时间段内给予：少于24小时、少于48小时、少于72小时、少于4天、少于5天、少于6天、少于7天、少于8天、少于9天、少于10天、少于11天、少于12天、少于13天、少于14天、少于2周、少于3周、少于4周、少于5周或少于6周。在某些实施方案中，所述测试剂是每天一次、每天两次、每天三次、每天四次、每天五次、每天六次、每天八次、每天十次或每天十二次给予。在一些实施方案中，所述测试剂的多个剂量是相隔以下时间、大约相隔以下时间或相隔以下时间内给予：相隔1小时、相隔2小时、相隔3小时、相隔4小时、或相隔5分钟与1小时之

间、相隔1小时与2小时之间、相隔2与4小时之间、相隔4与12小时之间、或相隔12与24小时之间，每个都包含端值。在一些实施方案中，所述测试剂是按以下频率给予：一天一次、每2天、3天、4天、5天、6天一次、一周一次、一周两次、一周三次、一个月一次、一个月两次、一个月三次、一个月四次或一个月五次。

[0489] 在一些实施方案中，一个或多个剂量的所述测试剂是按以下方式给予：口服、静脉内、腹膜内、经皮、鞘内、肌内、鼻内、经粘膜、皮下或经直肠。在一些实施方案中，所述测试剂的所述剂量是或包括介于或介于约1μg/kg与1,000mg/kg之间、1μg/kg与100μg/kg之间、100μg/kg与500μg/kg之间、500μg/kg与1,000μg/kg之间、1mg/kg与10mg/kg之间、10mg/kg与100mg/kg之间、100mg/kg与500mg/kg之间、200mg/kg与300mg/kg之间、100mg/kg与250mg/kg之间、200mg/kg与400mg/kg之间、250mg/kg与500mg/kg之间、250mg/kg与750mg/kg之间、50mg/kg与750mg/kg之间、1mg/kg与10mg/kg之间、或100mg/kg与1,000mg/kg之间(所述测试剂相对于体重的量;每个都包含端值)。在一些实施方案中，所述测试剂的所述剂量为或为约1μg/kg、5μg/kg、10μg/kg、50μg/kg、100μg/kg、200μg/kg、300μg/kg、400μg/kg、500μg/kg、600μg/kg、700μg/kg、800μg/kg、900μg/kg、1mg/kg、5mg/kg、10mg/kg、25mg/kg、50mg/kg、100mg/kg、150mg/kg、200mg/kg、250mg/kg、300mg/kg、350mg/kg、400mg/kg、450mg/kg、500mg/kg、550mg/kg、600mg/kg、650mg/kg、700mg/kg、750mg/kg、800mg/kg、850mg/kg、900mg/kg、950mg/kg或1g/kg。在一些实施方案中，所述测试剂是作为组合物或配制品(如本文所述的药物组合物或配制品)的一部分来给予。因此，在一些情况下，如本文所述来给予包含所述药剂的组合物。在其他方面，所述药剂是单独给予，并且例如关于组合物和配制品，可以通过任何已知的可接受的给予途径或通过本文所述的途径来给予。

[0490] 在一些实施方案中，所述测试剂是随意给予，例如加入和/或混合至食物(例如，小鼠粮(mouse chow))或饮用水中。

[0491] 在一些实施方案中，本文所提供的方法包括检测、测量和/或评估被给予所述测试剂的小鼠的一种或多种体征、症状或结果的一个或多个步骤。在特定实施方案中，所述一种或多种体征、症状和/或结果是本文(例如，在第II节中)描述的体征、症状和/或结果中的一种或多种。在某些实施方案中，将所述检测、测量和/或评估与对未接受过所述测试剂的小鼠的体征、症状和/或结果的检测、测量和/或评估相比较。在特定实施方案中，向未接受过所述测试剂的所述小鼠给予免疫疗法。在某些实施方案中，向未接受过所述测试剂的所述小鼠给予与接受过所述测试剂的小鼠相同的免疫疗法。在特定实施方案中，向未接受过所述测试剂的所述小鼠给予淋巴细胞清除剂或疗法。在某些实施方案中，向未接受过所述测试剂的所述小鼠给予与接受过所述测试剂的小鼠相同的淋巴细胞清除剂或疗法。在一些实施方案中，向未接受过所述测试剂的所述小鼠给予抗原表达细胞。在某些实施方案中，向未接受过所述测试剂的所述小鼠给予与接受过所述测试剂的小鼠相同的抗原表达细胞。在一些实施方案中，所述体征、症状或结果是所述免疫疗法的活性、扩增和/或持久性。在某些实施方案中，所述体征、症状和/或结果是毒性的体征、症状或结果。

[0492] 在一些实施方案中，将所述测试剂给予所述小鼠以评估和/或确定所述测试剂的靶标是否促进毒性(例如，针对免疫疗法的毒性)的一种或多种机制和/或与毒性(例如，针对免疫疗法的毒性)的一种或多种机制相关。在一些实施方案中，所述测试剂抑制和/或拮抗所述靶标。在某些实施方案中，所述测试剂激活和/或激动所述靶标。在特定实施方案中，

所述靶标是多核苷酸、DNA多核苷酸(例如,基因组DNA)、RNA多核苷酸(例如,mRNA)、多肽(例如,酶、激酶)、磷酸酯和/或受体。

[0493] 在一些实施方案中,如果对毒性的检测、测量和/或评估的比较指示,所述测试剂改变毒性的一种或多种体征、症状或结果,则将所述靶标鉴定为具有推定的在针对所述免疫疗法的毒性中的作用。例如,在一些实施方案中,如果所述测试剂抑制和/或拮抗所述靶标并且所述比较指示所述测试剂降低所述毒性,则将所述靶标鉴定为具有推定地促进所述毒性的活性。同样,在某些实施方案中,如果所述测试剂激活和/或激动所述靶标并且所述比较指示所述测试剂增加所述毒性,则将靶标鉴定为具有推定地促进所述毒性的活性。可以将这个靶标进一步认为毒性的治疗性干预的推定靶标。

[0494] 在某些实施方案中,所述测试剂是第二疗法或测试疗法(例如,免疫疗法),其可以与免疫疗法结合给予,以例如治疗与所述免疫疗法相同的疾病,和/或治疗病症,如与通过所述免疫疗法治疗的疾病或病症一起呈现或表现或者具有与通过所述免疫疗法治疗的疾病或病症一起呈现或表现的潜力的第二病症。

[0495] 1.候选和测试干预

[0496] 在一些实施方案中,将测试剂给予对本文所述毒性进行建模的小鼠,以确定所述测试剂是否是干预的候选药剂。在一些实施方案中,所述候选药剂是预防、降低和/或改善受试者(例如,人受试者)的毒性(例如,CRS或神经毒性)的潜在药剂或疗法。

[0497] 在一些实施方案中,如果对毒性的检测、测量和/或评估的比较指示所述测试剂改变毒性的一种或多种体征、症状或结果,则所述测试剂是降低受试者(例如,人受试者)的毒性的候选药剂。在一些实施方案中,所述比较指示所述测试剂是否是要在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法和/或所述免疫疗法之前、之后或期间给予的用于降低毒性的候选药剂。例如,在一些实施方案中,所述测试剂是在所述淋巴细胞清除剂或疗法和/或所述免疫疗法之前给予,并且所述测试剂降低、预防和/或改善毒性的一种或多种体征、症状,并且因此将所述药剂视为要在所述淋巴细胞清除剂或疗法和/或所述免疫疗法之前在受试者(例如,人)中给予的候选药剂。在某些实施方案中,所述测试剂是在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法和/或所述免疫疗法期间给予,并且所述测试剂降低、预防和/或改善毒性的一种或多种体征、症状,并且因此将所述药剂视为要在所述免疫疗法期间在受试者(例如,人受试者)中给予的候选药剂。在特定实施方案中,所述测试剂是在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法和/或所述免疫疗法之后给予,并且所述测试剂降低、预防和/或改善毒性的一种或多种体征、症状,并且因此将所述药剂视为要在所述免疫疗法之后在受试者(例如,人受试者)中给予的候选药剂。

[0498] 在某些实施方案中,所述测试剂是在毒性的一种或多种体征、症状和/或结果期间或出现时给予,并且所述测试剂降低、预防和/或改善毒性的一种或多种体征、症状。在一些实施方案中,因此将所述药剂视为要在毒性的一种或多种体征、症状和/或结果出现时或期间在受试者(例如,人受试者)中给予的候选药剂。

[0499] 在一些实施方案中,所述测试剂是与一种或多种肿瘤和/或癌细胞一起给予小鼠。在特定实施方案中,所述一种或多种肿瘤和/或癌细胞是表达由所述免疫疗法结合和/或识别的抗原的抗原表达细胞。在某些实施方案中,所述抗原表达细胞是本文(例如,在第I.D节中)描述的细胞。在一些实施方案中,所述免疫疗法的给予预防或减少由所述抗原表达细胞

构成或包括所述抗原表达细胞的肿瘤的形成。在特定实施方案中，如果在给予所述免疫疗法之前、期间和/或之后给予所述测试剂导致由所述抗原表达细胞构成或包括所述抗原表达细胞的一种或多种肿瘤的存在，则所述测试剂不是可治疗、预防和/或改善毒性的候选药剂。在某些实施方案中，如果如与接受所述免疫疗法而非所述测试剂的小鼠相比，所述测试剂的给予导致由所述抗原表达细胞构成或包括所述抗原表达细胞的一种或多种肿瘤的增加，则所述测试剂不是候选药剂。

[0500] 在一些实施方案中，所述测试剂是类固醇，是细胞因子受体(如IL-6受体、CD122受体(IL-2R/IL-15Rβ受体)或CCR2)的拮抗剂或抑制剂，或者是细胞因子(如IL-6、IL-15、MCP-1、IL-10、IFN-γ、IL-8或IL-18)的抑制剂。在一些实施方案中，所述测试剂是细胞因子受体和/或细胞因子(如TGF-β)的激动剂。在一些实施方案中，所述测试剂(例如，激动剂、拮抗剂或抑制剂)是抗体或抗原结合片段、小分子、蛋白质或肽、或核酸。在一些实施方案中，所述测试剂是抗组胺。

[0501] 在一些实施方案中，所述测试剂是类固醇，例如，皮质类固醇。皮质类固醇通常包括糖皮质激素和盐皮质激素。

[0502] 在一些实施方案中，所述测试剂是糖皮质激素。在一些实施方案中，糖皮质激素包括合成和非合成的糖皮质激素。示例性糖皮质激素包括但不限于：阿氯米松(alclomethasone)、阿尔孕酮(algestone)、倍氯米松(beclomethasone)(例如二丙酸倍氯米松)、倍他米松(betamethasone)(例如倍他米松17-戊酸酯、倍他米松醋酸钠、倍他米松磷酸钠、倍他米松戊酸酯)、布地奈德(budesonide)、氯倍他索(clobetasol)(例如丙酸氯倍他索)、氯倍他松(clobetasone)、氯可托龙(clocortolone)(例如氯可托龙新戊酸酯)、氯泼尼醇(cloprednol)、皮质酮、可的松(cortisone)和氢化可的松(hydrocortisone)(例如醋酸氢化可的松)、可的伐唑(cortivazol)、地夫可特(deflazacort)、地奈德(desonide)、去羟米松(desoximethasone)、地塞米松(dexamethasone)(例如地塞米松21-磷酸酯、醋酸地塞米松、地塞米松磷酸钠)、二氟拉松(diflorasone)(例如二氟拉松二醋酸酯)、二氟可龙(diflucortolone)、二氟泼尼酯(difluprednate)、甘草次酸(enoxolone)、氟扎可特(fluazacort)、氟氯奈德(flucloronide)、氟氢可的松(fludrocortisone)(例如醋酸氟氢可的松)、氟米松(flumethasone)(例如特戊酸氟米松)、氟尼缩松(flunisolide)、氟轻松(fluocinolone)(例如丙酮化氟轻松)、醋酸氟轻松(fluocinonide)、氟可丁(fluocortin)、氟可龙(fluocortolone)、氟米龙(fluorometholone)(例如醋酸氟米龙)、氟培龙(fluperolone)(例如醋酸氟培龙)、氟泼尼定(fluprednidene)、氟泼尼龙(fluprednisolone)、丙酮缩氟氢羟龙(flurandrenolide)、氟替卡松(fluticasone)(例如丙酸氟替卡松)、福莫可他(formocortal)、氯氟舒松(halcinonide)、卤倍他索(halobetasol)、卤米松(halometasone)、卤泼尼松(halopredone)、氢可他酯(hydrocortamate)、氢化可的松(例如氢化可的松21-丁酸酯、氢化可的松醋丙酯、醋酸氢化可的松、氢化可的松丁丙酸酯、丁酸氢化可的松、氢化可的松环戊丙酸酯、氢化可的松半琥珀酸酯、氢化可的松丙丁酸酯、氢化可的松磷酸钠、氢化可的松琥珀酸钠、戊酸氢化可的松)、依碳酸氯替泼诺(loteprednol etabonate)、马泼尼酮(mazipredone)、甲羟松(medrysone)、甲泼尼松(meprednisone)、甲基泼尼松龙(乙丙酸甲基泼尼松龙、醋酸甲基泼尼松龙、半琥珀酸甲基泼尼松龙、甲基泼尼松龙琥珀酸钠)、莫米松(mometasone)(如糠酸莫

米松)、帕拉米松(如醋酸帕拉米松)、泼尼卡酯(prednicarbate)、泼尼松龙(prednisolone)(例如泼尼松龙25-二乙氨基乙酸酯、泼尼松龙磷酸钠、泼尼松龙21-半琥珀酸盐、醋酸泼尼松龙;泼尼松龙法尼酯、泼尼松龙半琥珀酸盐、泼尼松龙-21(β-D-葡萄糖醛酸苷)、间磺苯甲酸泼尼松龙、泼尼松龙司替酸酯、泼尼松龙叔丁乙酸酯、四氢邻苯二甲酸泼尼松龙)、泼尼松(prednisone)、泼尼松龙戊酸酯(prednival)、泼尼立定(prednylidene)、利美索龙(rimexolone)、替可的松(tixocortol)、曲安西龙(triamcinolone)(例如曲安奈德(triamcinolone acetonide)、苯曲安奈德(triamcinolone benetonide)、己曲安奈德(triamcinolone hexacetonide)、曲安奈德21-棕榈酸酯、醋酸曲安西龙)。这些糖皮质激素及其盐详细论述于例如以下文献中:Remington's Pharmaceutical Sciences,A.Osol编辑,Mack Pub.Co.,宾夕法尼亚州伊斯顿市(第16版,1980)。

[0503] 在一些例子中,所述糖皮质激素选自可的松、地塞米松、氢化可的松、甲基泼尼松龙、泼尼松龙和泼尼松。在特定例子中,所述糖皮质激素是地塞米松。

[0504] 在一些实施方案中,所述测试剂是靶向细胞因子的药剂,例如,是细胞因子的拮抗剂或抑制剂,所述细胞因子如转化生长因子β(TGF-β)、白细胞介素6(IL-6)、白细胞介素10(IL-10)、白细胞介素15(IL-15)、干扰素γ(IFN-γ)或单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)。在一些实施方案中,所述测试剂靶向(例如,抑制或者是其拮抗剂)细胞因子受体,如IL-6受体(IL-6R)、CD122受体(IL-2R/IL-15Rβ)、MCP-1(CCL2)受体(CCR2或CCR4)、TGF-β受体(TGF-βI、II或II)、IFN-γ受体(IFNGR)、IL-1受体(IL-1R)或IL-10受体(IL-10R)。在一些实施方案中,所述测试剂是肿瘤坏死因子的阻断剂或抑制剂。在一些实施方案中,所述测试剂是JAK/STAT抑制剂。在一些实施方案中,所述测试剂是激酶抑制剂,例如,布鲁顿酪氨酸激酶(BTK)的抑制剂。在一些实施方案中,所述测试剂是用于减少细胞因子的装置,如物理细胞因子吸收器。

[0505] 在一些实施方案中,所述测试剂是抗体或抗原结合片段。在一些实施方案中,所述测试剂是托珠单抗、司妥昔单抗、萨瑞鲁单抗、克拉吉珠单抗、奥洛吉珠单抗(CDP6038)、伊西莫单抗、ALD518/BMS-945429、司卢库单抗(CNTO 136)、CPSI-2634、ARGX-109、FE301、FM101、Hu-Mik-β-1、托法替尼、鲁索替尼、CCX140-B、RO523444、BMS CCR2 22、INCB 3284二甲磺酸盐、JNJ27141491、RS 504393、阿达木单抗、培赛利珠单抗(certolizumab pegol)或戈利木单抗。在一些实施方案中,所述药剂是英利昔单抗、依那西普或阿那白滞素或其抗原结合片段或变体。在一些实施方案中,所述测试剂是司妥昔单抗或其抗原结合片段或变体。

[0506] 在一些实施方案中,治疗或改善神经毒性和/或CRS的症状的所述药剂是小分子。在一些实施方案中,所述药剂是依鲁替尼、鲁索替尼或其抗原结合片段。

[0507] 在一些实施方案中,所述测试剂是IL-6或IL-6受体(IL-6R)的拮抗剂或抑制剂。在一些方面,所述测试剂是中和IL-6活性的抗体,如结合至IL-6或IL-6R的抗体或抗原结合片段。例如,在一些实施方案中,所述测试剂是或包含托珠单抗(阿特利珠单抗)或萨瑞鲁单抗、抗IL-6R抗体。在一些实施方案中,所述测试剂是US 8562991中所述的抗IL-6R抗体。在一些情况下,靶向IL-6的测试剂是抗IL-6抗体,如司妥昔单抗、萨瑞鲁单抗、克拉吉珠单抗、伊西莫单抗、ALD518/BMS-945429、司卢库单抗(CNTO 136)、CPSI-2634、ARGX-109、FE301、FM101或奥洛吉珠单抗(CDP6038)或其抗原结合片段或变体。在一些方面,所述测试剂可以通过抑制配体-受体相互作用来中和IL-6活性。这种通用型方法的可行性已经用针对白细

胞介素-1的天然存在的受体拮抗剂来证明。参见Harmurn,C.H.等人,Nature(1990)343:336-340。在一些方面,IL-6/IL-6R拮抗剂或抑制剂是IL-6突变蛋白,如US 5591827中所述的IL-6突变蛋白。在一些实施方案中,作为IL-6/IL-6R的拮抗剂或抑制剂的所述测试剂是小分子、蛋白质或肽、或核酸。

[0508] 在一些实施方案中,所述测试剂是IL-15或IL-15受体(CD122)的拮抗剂或抑制剂。在一些方面,所述测试剂是中和IL-15活性的抗体,如结合至IL-15或其受体CD122的抗体或抗原结合片段。例如,在一些情况下,所述测试剂是Hu-Mik-β-1,其为一种阻断IL-15作用的针对IL-2/IL-15R-β亚基(CD122)的人源化单克隆抗体。在一些方面,所述IL-15拮抗剂或抑制剂是IL-15突变蛋白,如US 7235240中所述的IL-15突变蛋白。在一些实施方案中,作为IL-15/CD122的拮抗剂或抑制剂的所述药剂是小分子、蛋白质或肽、或核酸。

[0509] 在一些实施方案中,所述测试剂是TGF-β或TGF-β受体(例如,TGF-β受体I、II或III)的激动剂或刺激剂。在一些方面,所述测试剂是增加TGF-β活性的抗体,如结合至TGF-β或其受体之一的抗体或抗原结合片段。在一些实施方案中,作为TGF-β和/或其受体的激动剂或刺激剂的所述药剂是小分子、蛋白质或肽、或核酸。

[0510] 在一些实施方案中,所述测试剂是MCP-1(CCL2)或MCP-1受体(例如,MCP-1受体CCR2或CCR4)的拮抗剂或抑制剂。在一些方面,所述测试剂是中和MCP-1活性的抗体,如结合至MCP-1或其受体之一(CCR2或CCR4)的抗体或抗原结合片段。在一些实施方案中,所述MCP-1拮抗剂或抑制剂是以下文献中所述的任一种:Gong等人J Exp Med.1997年7月7日;186(1):131-137;或Shahrara等人J Immunol 2008;180:3447-3456。在一些实施方案中,作为MCP-1和/或其受体(CCR2或CCR4)的拮抗剂或抑制剂的所述药剂是小分子、蛋白质或肽或核酸。

[0511] 在一些实施方案中,所述药剂是IFN-γ或IFN-γ受体(IFNGR)的拮抗剂或抑制剂。在一些方面,所述药剂是中和IFN-γ活性的抗体,例如结合至IFN-γ或其受体(IFNGR)的抗体或抗原结合片段。在一些方面,所述IFN-γ中和抗体是以下文献中所述的任一种:Dobber等人Cell Immunol.1995年2月;160(2):185-92;或Ozmen等人J Immunol.1993年4月1日;150(7):2698-705。在一些实施方案中,作为IFN-γ/IFNGR的拮抗剂或抑制剂的所述药剂是小分子、蛋白质或肽、或核酸。

[0512] 在一些实施方案中,所述药剂是IL-10或IL-10受体(IL-10R)的拮抗剂或抑制剂。在一些方面,所述药剂是中和IL-10活性的抗体,例如结合至IL-10或IL-10R的抗体或抗原结合片段。在一些方面,所述IL-10中和抗体是以下文献中所述的任一种:Dobber等人Cell Immunol.1995年2月;160(2):185-92;或Hunter等人J Immunol.2005年6月1日;174(11):7368-75。在一些实施方案中,作为IL-10/IL-10R的拮抗剂或抑制剂的所述药剂是小分子、蛋白质或肽、或核酸。

[0513] 在一些实施方案中,所述药剂是IL-1或IL-1受体(IL-1R)的拮抗剂或抑制剂。在一些方面,所述药剂是IL-1受体拮抗剂,其是IL-1R的修饰形式,如阿那白滞素(参见例如,Fleischmann等人,(2006)Annals of the rheumatic diseases.65(8):1006-12)。在一些方面,所述药剂是中和IL-1活性的抗体,如结合至IL-1或IL-1R的抗体或抗原结合片段,如卡那单抗(canakinumab)(还参见EP 2277543)。在一些实施方案中,作为IL-1/IL-1R的拮抗剂或抑制剂的所述药剂是小分子、蛋白质或肽、或核酸。

[0514] 在一些实施方案中，所述药剂是肿瘤坏死因子(TNF)或肿瘤坏死因子受体(TNFR)的拮抗剂或抑制剂。在一些方面，所述药剂是阻断TNF活性的抗体，如结合至TNF(如TNFα)或其受体(TNFR，例如，TNFRp55或TNFRp75)的抗体或抗原结合片段。在一些方面，所述药剂选自英利昔单抗、阿达木单抗、培赛利珠单抗(certolizumab pegol)、戈利木单抗和依那西普。在一些实施方案中，作为TNF/TNFR的拮抗剂或抑制剂的所述药剂是小分子、蛋白质或肽、或核酸。在一些实施方案中，所述药剂是影响TNF的小分子，如来那度胺(参见例如，Muller等人(1999)Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters.9(11):1625)。

[0515] 在一些实施方案中，所述药剂是通过Janus激酶(JAK)和两个信号转导子和转录激活子(STAT)信号传导级联进行的信号传导的拮抗剂或抑制剂。JAK/STAT蛋白是细胞因子和细胞因子受体信号传导的常见组分。在一些实施方案中，作为JAK/STAT的拮抗剂或抑制剂的药剂例如为鲁索替尼(ruxolitinib)(参见，例如，Mesa等人(2012)Nature Reviews Drug Discovery.11(2):103-104)、托法替尼(tofacitinib)(也称为Xeljanz、Jakvinus tasocitinib和CP-690550)、巴瑞替尼(Baricitinib)(也称为LY-3009104、INCB-28050)、非戈替尼(Filgotinib)(G-146034、GLPG-0634)、甘多替尼(Gandotinib)(LY-2784544)、来他替尼(Lestaurtinib)(CEP-701)、莫美罗替尼(Momelotinib)(GS-0387、CYT-387)、帕克替尼(Pacritinib)(SB1518)和乌帕替尼(Upadacitinib)(ABT-494)。在一些实施方案中，所述药剂是小分子、蛋白质或肽、或核酸。

[0516] 在一些实施方案中，所述药剂是激酶抑制剂。在一些实施方案中，所述药剂是布鲁顿酪氨酸激酶(BTK)的抑制剂。在一些实施方案中，所述抑制剂是或包含依鲁替尼或阿卡卢替尼(参见例如，Barrett等人，ASH 58th Annual Meeting San Diego,CA 2016年12月3-6日，摘要654;Ruella等人，ASH 58th Annual Meeting San Diego,CA 2016年12月3-6日，摘要2159)。在一些实施方案中，所述药剂是如以下文献中所述的抑制剂:美国专利号7,514,444;8,008,309;8,476,284;8,497,277;8,697,711;8,703,780;8,735,403;8,754,090;8,754,091;8.957,079;8,999,999;9,125,889;9,181,257;或9,296,753。

[0517] 在一些实施方案中，所述测试剂是小神经胶质细胞活性的抑制剂。在一些实施方案中，所述抑制剂是抑制小神经胶质细胞中信号传导途径的活性的拮抗剂。在一些实施方案中，所述小神经胶质细胞抑制剂影响小神经胶质细胞的稳态、存活和/或增殖。在一些实施方案中，所述抑制剂靶向CSF1R信号传导通路。在一些实施方案中，所述抑制剂是CSF1R的抑制剂。在一些实施方案中，所述抑制剂是小分子。在一些情况下，所述抑制剂是抗体。

[0518] 在一些实施方案中，所述测试剂的给予导致小神经胶质细胞的稳态和存活力的改变、小神经胶质细胞增殖的降低或阻断、小神经胶质细胞的减少或消除、小神经胶质细胞激活的降低、小神经胶质细胞的一氧化氮产生的减少、小神经胶质细胞中一氧化氮合酶活性的降低、或对受到小神经胶质细胞激活影响的运动神经元的保护。在一些实施方案中，与紧临开始给予抑制剂之前的时间相比，所述测试剂改变CSF1R抑制的血清或血液生物标记的水平、或尿1型胶原交联N-端肽(NTX)的水平的下降。在一些实施方案中，所述测试剂的给予短暂地抑制小神经胶质细胞活性的活性，和/或其中对小神经胶质细胞活性的抑制并非永久的。在一些实施方案中，所述测试剂的给予短暂地抑制CSF1R的活性，和/或其中对CSF1R活性的抑制并非永久的。

[0519] 在一些实施方案中，所述测试剂是抑制小神经胶质细胞中信号传导途径的活性的

拮抗剂。在一些实施方案中，所述测试剂降低小神经胶质细胞活性，影响小神经胶质细胞的稳态、存活和/或增殖。

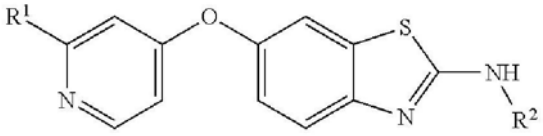
[0520] 在一些实施方案中，所述测试剂选自抗炎剂、NADPH氧化酶(NOX2)抑制剂、钙通道阻断剂、钠通道阻断剂，所述测试剂抑制GM-CSF，抑制CSF1R，特异性结合CSF-1，特异性结合IL-34，抑制核因子κB(NF-κB)的激活，激活CB_2受体和/或是CB_2激动剂、磷酸二酯酶抑制剂，抑制微小RNA-155(miR-155)，上调微小RNA-124(miR-124)，抑制小神经胶质细胞中的一氧化氮产生，抑制一氧化氮合酶，或激活转录因子NRF2(也称为核因子(红系细胞衍生的2)样2或NFE2L2)。

[0521] 在一些实施方案中，所述测试剂靶向CSF1(也称为巨噬细胞集落刺激因子MCSF)。在一些实施方案中，所述测试剂影响MCSF刺激的M-CSF受体的磷酸化(Pryer等人Proc Am Assoc Cancer Res,AACR Abstract nr DDT02-2(2009))。在一些情况下，所述测试剂是MCS110(国际专利申请公开号WO 2014001802;临床试验研究记录号:A1 NCT00757757;NCT02807844;NCT02435680;NCT01643850)。

[0522] 在一些实施方案中，所述测试剂是靶向CSF1途径的小分子。在一些实施方案中，所述测试剂是结合CSF1R的小分子。在一些实施方案中，所述测试剂是通过与ATP竞争结合至CSF1R激酶而抑制CSF1R激酶活性的小分子。在一些实施方案中，所述测试剂是抑制CFS1R受体激活的小分子。在一些情况下，所述测试剂抑制CSF-1配体的结合。在一些实施方案中，所述测试剂是美国专利申请公开号US20160032248中所述的任何抑制剂。

[0523] 在一些实施方案中，所述测试剂是选自以下的小分子抑制剂:PLX-3397、PLX7486、JNJ-40346527、JNJ28312141、ARRY-382、PLX73086(AC-708)、DCC-3014、AZD6495、GW2580、Ki20227、BLZ945、PLX647、PLX5622。在一些实施方案中，所述药剂是以下文献中所述的任何抑制剂:Conway等人,Proc Natl Acad Sci U S A,102(44):16078-83(2005);Dagher等人,Journal of Neuroinflammation,12:139(2015);Ohno等人,Mol Cancer Ther.5(11):2634-43(2006);von Tresckow等人,.Clin Cancer Res.,21(8)(2015);Manthey等人Mol Cancer Ther.(8(11):3151-61(2009);Pyonteck等人,Nat Med.19(10):1264-1272(2013);Haegel等人,Cancer Res AACR Abstract nr 288(2015);Smith等人,Cancer Res AACR Abstract nr 4889(2016);临床试验研究记录号:NCT01525602;NCT02734433;NCT02777710;NCT01804530;NCT01597739;NCT01572519;NCT01054014;NCT01316822;NCT02880371;NCT02673736;国际专利申请公开号WO 2008063888A2、WO 2006009755A2、美国专利申请公开号US20110044998、US 2014/0065141和US 2015/0119267。

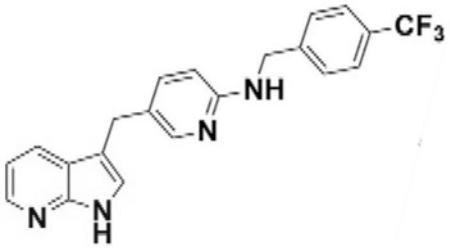
[0524] 在一些实施方案中，所述测试剂是4-((2-(((1R,2R)-2-羟基环己基)氨基)苯并[d]噻唑-6-基)氧基)-N-甲基吡啶甲酰胺(BLZ945)或其药学上可接受的盐或其衍生物。在一些实施方案中，所述药剂是以下化合物：

[0525] 

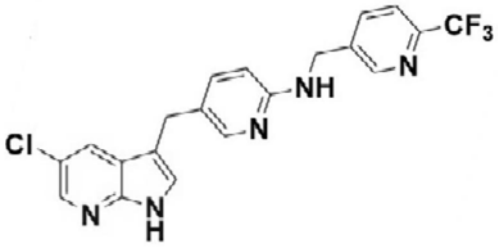
[0526] 其中R1是烷基吡唑或烷基甲酰胺，并且R2是羟基环烷基或其药学上可接受的盐。

[0527] 在一些实施方案中，所述测试剂是5-((5-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)甲基)-N-((6-(三氟甲基)吡啶-3-基)甲基)吡啶-2-胺、N-[5-[(5-氯-1H-吡咯并[2,3-b]吡

啶-3-基)甲基]-2-吡啶基]-6-(三氟甲基)-3-吡啶甲胺)(PLX 3397)或其药学上可接受的盐或其衍生物。在一些实施方案中,所述药剂是5-(1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基甲基)-N-[[4-(三氟甲基)苯基]甲基]-2-氨基吡啶二盐酸盐(PLX647)或其药学上可接受的盐或其衍生物。在一些实施方案中,所述测试剂是以下化合物:

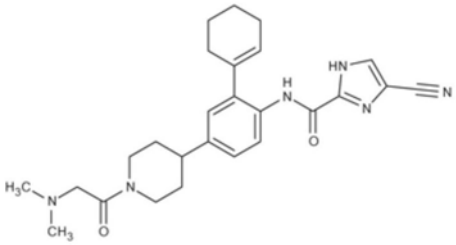
[0528] 

[0529] 或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中,所述测试剂是以下化合物:

[0530] 

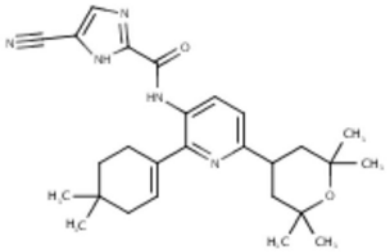
[0531] 或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中,所述药剂是美国专利号US7893075中描述的任何抑制剂。

[0532] 在一些实施方案中,所述测试剂是4-氰基-N-[2-(1-环己烯-1-基)-4-[1-[(二甲基氨基)乙酰基]-4-哌啶基]苯基]-1H-咪唑-2-甲酰胺单盐酸盐(JNJ28312141)或其药学上可接受的盐或其衍生物。在一些实施方案中,所述药剂是以下化合物:

[0533] 

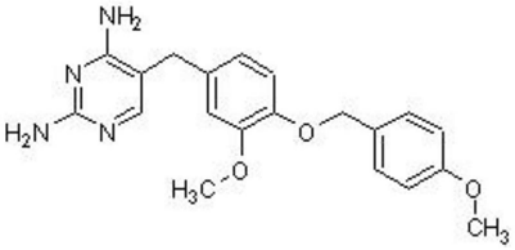
[0534] 或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中,所述药剂是美国专利号US7645755中描述的任何抑制剂。

[0535] 在一些实施方案中,所述测试剂是1H-咪唑-2-甲酰胺、5-氰基-N-(2-(4,4-二甲基-1-环己烯-1-基)-6-(四氢-2,2,6,6-四甲基-2H-吡喃-4-基)-3-吡啶基)-、4-氰基-1H-咪唑-2-甲酸N-(2-(4,4-二甲基环己-1-烯基)-6-(2,2,6,6-四甲基四氢吡喃-4-基)吡啶-3-基)酰胺、4-氰基-N-(2-(4,4-二甲基环己-1-烯-1-基)-6-(2,2,6,6-四甲基-四氢-2H-吡喃-4-基)吡啶-3-基)-1H-咪唑-2-甲酰胺(JNJ-40346527)或其药学上可接受的盐或其衍生物。在一些实施方案中,所述药剂是以下化合物:

[0536] 

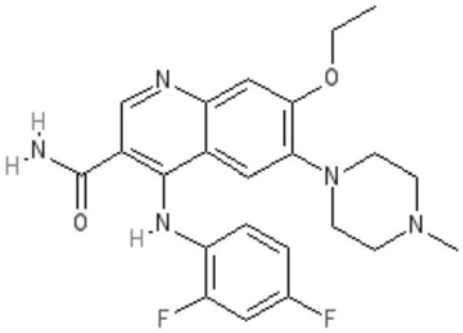
[0537] 或其药学上可接受的盐。

[0538] 在另一个实施方案中,所述测试剂是5-(3-甲氧基-4-((4-甲氧基苄基)氧基)苄基)嘧啶-2,4-二胺(GW2580)或其药学上可接受的盐或其衍生物。在一些实施方案中,所述药剂是以下化合物:

[0539] 

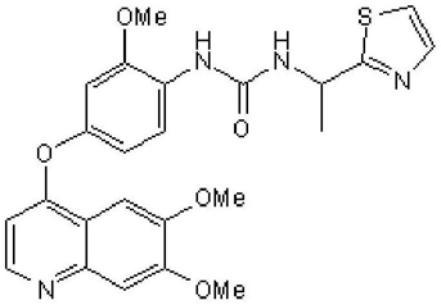
[0540] 或其药学上可接受的盐(国际专利申请公开号WO 2009099553)。

[0541] 在一些实施方案中,所述测试剂是4-(2,4-二氟苯胺基)-7-乙氧基-6-(4-甲基哌嗪-1-基)喹啉-3-甲酰胺(AZD6495)或其药学上可接受的盐或其衍生物。在一些实施方案中,所述药剂是以下化合物:

[0542] 

[0543] 或其药学上可接受的盐。

[0544] 在一些实施方案中,所述测试剂是N-{4-[(6,7-二甲氧基-4-喹啉基)氧基]-2-甲氧基苯基}-NO-[1-(1,3-噻唑-2-基)乙基]脲(Ki20227)或其药学上可接受的盐或其衍生物。在一些实施方案中,所述药剂是以下化合物:

[0545] 

[0546] 或其药学上可接受的盐。

[0547] 在一些实施方案中,降低小神经胶质细胞激活的所述药剂是靶向CSF1途径的抗

体。在一些实施方案中，所述药剂是结合CSF1R的抗体。在一些实施方案中，所述抗CSF1R抗体阻断CSF1R二聚化。在一些实施方案中，所述抗CSF1R抗体阻断由结构域D4和D5形成的CSF1R二聚化界面(Ries等人Cancer Cell 25(6):846-59(2014))。在一些情况下，所述药剂选自艾马珠单抗(RG7155;RO5509554)、卡比利珠单抗(Cabiralizumab)(FPA-008)、LY-3022855(IMC-CS4)、AMG-820、TG-3003、MCS110、H27K15、12-2D6、2-4A5(Rovida和Sbarba,J Clin Cell Immunol.6:6(2015)；临床试验研究记录号:NCT02760797;NCT01494688;NCT02323191;NCT01962337;NCT02471716;NCT02526017;NCT01346358;NCT02265536;NCT01444404;NCT02713529;NCT00757757;NCT02807844;NCT02435680;NCT01643850)。

[0548] 在一些实施方案中，降低小神经胶质细胞激活的所述药剂是四环素抗生素。例如，所述药剂影响小神经角质细胞中的IL-1b、IL-6、TNF-α或iNOS浓度(Yrjänheikki等人PNAS 95(26):15769-15774(1998)；临床试验研究记录号:NCT01120899)。在一些实施方案中，所述药剂是阿片样物质拮抗剂(Younger等人Pain Med.10(4):663-672(2009))。在一些实施方案中，所述药剂降低谷氨酸能神经传递(美国专利号5,527,814)。在一些实施方案中，所述药剂调节NFkB信号传导(Valera等人J.Neuroinflammation 12:93(2015)；临床试验研究记录号:NCT00231140)。在一些实施方案中，所述药剂靶向大麻素受体(Ramírez等人J.Neurosci 25(8):1904-13(2005))。在一些实施方案中，所述药剂选自米诺环素、纳洛酮、利鲁唑、来那度胺和大麻素(任选地WIN55或212-2)。

[0549] 在一些情况下，相信来自小神经胶质细胞的一氧化氮产生会导致或增加神经毒性。在一些实施方案中，所述药剂调节或抑制小神经胶质细胞的一氧化氮产生。在一些实施方案中，所述药剂抑制一氧化氮合酶(NOS)。在一些实施方案中，所述NOS抑制剂是罗诺蝶呤(Ronopterin)(VAS-203)，也称为4-氨基-四氢生物蝶呤(4-ABH4)。在一些实施方案中，所述NOS抑制剂是辛尼司他(cindunistat)、A-84643、ONO-1714、L-NOARG、NCX-456、VAS-2381、GW-273629、NXN-462、CKD-712、KD-7040或胍基乙基二硫化物。在一些实施方案中，所述药剂是以下文献中所述的任何抑制剂:Höing等人,Cell Stem Cell.2012年11月2日;11(5):620-32。

[0550] 在某些实施方案中，所述测试剂是能够预防、阻断或降低小神经胶质细胞激活或功能的药剂。在某些实施方案中，所述测试剂是能够阻断或降低小神经胶质细胞激活或功能的小分子、肽、蛋白质、抗体或其抗原结合片段、抗体模拟物、适体或核酸分子。在一些实施方案中，所述测试剂是或包括米诺环素、纳洛酮、尼莫地平、利鲁唑、MOR103、来那度胺、大麻素(任选地WIN55或212-2)、静脉内免疫球蛋白(IVIg)、异丁司特、抗miR-155锁核酸(LNA)、MCS110、PLX-3397、PLX647、PLX108-D1、PLX7486、JNJ-40346527、JNJ28312141、ARRY-382、AC-708、DCC-3014、5-(3-甲氧基-4-((4-甲氧基苄基)氧基)苄基)嘧啶-2,4-二胺(GW2580)、AZD6495、Ki20227、BLZ945、艾马珠单抗、IMC-CS4、FPA008、LY-3022855、AMG-820和TG-3003或其任何衍生物。

[0551] 在特定实施方案中，所述测试剂是集落刺激因子1受体(CSF1R)的抑制剂。在某些实施方案中，所述抑制剂是或包括PLX-3397、PLX647、PLX108-D1、PLX7486、JNJ-40346527、JNJ28312141、ARRY-382、AC-708、DCC-3014、5-(3-甲氧基-4-((4-甲氧基苄基)氧基)苄基)嘧啶-2,4-二胺(GW2580)、AZD6495、Ki20227、BLZ945或其药用盐或前药；艾马珠单抗、IMC-

CS4、FPA008、LY-3022855、AMG-820和TG-3003，或者是其抗原结合片段，或前述项的任何项的组合。

[0552] 在一些实施方案中，可以使用装置(如具有血液或血浆过滤的吸收性树脂技术)来降低细胞因子水平。在一些实施方案中，用于降低细胞因子水平的装置是物理细胞因子吸收器，如体外细胞因子吸收器。在一些实施方案中，物理细胞因子吸收器可以用于以离体的体外方式从血流消除细胞因子。在一些实施方案中，所述药剂是多孔聚合物。在一些实施方案中，所述药剂是CytoSorb(参见例如，Basu等人Indian J Crit Care Med.(2014)18(12):822-824)。

[0553] 2.用于组合疗法的测试剂

[0554] 在一些实施方案中，将免疫疗法(如细胞疗法，例如，一定剂量的T细胞(例如，CAR+T细胞))与另外的治疗剂或疗法组合给予受试者，所述另外的治疗剂或疗法通常不是所述细胞疗法或另一种细胞疗法，如不是CAR+T细胞疗法。在一些实施方案中，所述免疫疗法(例如，一定剂量的遗传工程化T细胞，如CAR+T细胞)是作为组合治疗或组合疗法的一部分来给予，如以任何顺序与一种或多种另外的治疗性干预同时、依次或间歇地给予。在一些实施方案中，所述一种或多种另外的治疗性干预包括用于治疗或预防疾病或病症(如B细胞恶性肿瘤，例如，NHL)的任何药剂或治疗，和/或用于增加所述工程化细胞疗法的功效、持久性和/或活性的任何药剂或治疗。

[0555] 在一些实施方案中，将另外的治疗剂或疗法给予受试者，所述受试者对于使用所述细胞疗法(例如，一定剂量的T细胞(例如，CAR+T细胞))的治疗是或可能是或被预测为是较差反应者，和/或所述受试者不反应，可能不反应和/或被预测为不反应或在某一时间内和/或在某一程度上不反应。在一些实施方案中，将所述另外的治疗剂给予受试者，所述受试者如在开始给予所述细胞疗法后1个月内、在两个月内或在三个月内不展现或不可能展现或被预测为不展现完全反应或总体反应。在一些实施方案中，将所述另外的治疗剂给予受试者，所述受试者如在给予所述细胞疗法后1个月、两个月或三个月内展现或可能展现或被预测为展现进行性疾病(PD)。在一些实施方案中，基于如此治疗或先前用所述细胞疗法治疗的多名类似情况的受试者，受试者可能或被预测为不展现反应或某一反应。

[0556] 在一些情况下，细胞疗法的最佳功效可能取决于所给予细胞的以下能力：识别并结合至靶标(例如，靶抗原)，运输、定位至和成功进入受试者、肿瘤及其环境内的适当位点。在一些情况下，最佳功效可能取决于所给予细胞的以下能力：被激活，扩增，发挥各种效应子功能(包括细胞毒性杀伤和分泌各种因子，如细胞因子)，持久(包括长期)，分化、转换或参与重编程为某些表型状态(如长期记忆、低分化和效应子状态)，避免或减少疾病局部微环境中的免疫抑制条件，在清除并重新暴露于靶配体或靶抗原后提供有效且稳健的回忆反应，以及避免或减少消耗、无反应性、外周耐受、终末分化和/或分化为抑制状态。

[0557] 在一些方面，免疫疗法(例如，T细胞疗法)的功效可能因疾病或障碍的局部微环境(例如TME)中存在的免疫抑制活性或因素而受限。在一些方面，TME含有或产生可抑制T细胞疗法所给予的T细胞的活性、功能、增殖、存活和/或持久性的因素或条件。

[0558] 在一些实施方案中，将测试剂给予本文所提供的小鼠模型的小鼠以评价和/或评估组合疗法。在一些实施方案中，所述组合疗法是或包括所述免疫疗法和/或另外的治疗剂或疗法。在特定实施方案中，将所述测试剂给予本文所提供的小鼠模型的小鼠以评估所述

另外的药剂或疗法对所述免疫疗法的一个或多个方面的作用。例如，在一些实施方案中，将所述测试剂给予所述小鼠以评价另外的药剂或疗法对所述免疫疗法的活性、扩增和/或持久性的作用。在某些实施方案中，给予所述测试剂以评估另外的药剂或疗法和/或组合疗法对所述模型的一种或多种体征、症状或结果的作用。在一些实施方案中，所述一种或多种体征、症状或结果是毒性的一种或多种体征、症状或结果。

[0559] 在一些实施方案中，将测试剂给予本文所提供模型的小鼠以评价或评估在开始给予所述免疫疗法(例如，一定剂量的T细胞(例如，CAR+T细胞))之前、与开始给予所述免疫疗法相伴随或与开始给予所述免疫疗法同时或在开始给予所述免疫疗法之后给予另外的药剂或疗法，是否可以导致改进的所述免疫疗法的活性、功效和/或持久性和/或改进所治疗受试者的反应。在一些实施方案中，将测试剂给予本文所提供模型的小鼠以评价或评估用于组合治疗或组合疗法的另外的药剂是否增强、加强和/或促进所述免疫疗法(例如，工程化T细胞疗法，如CAR+T细胞)的治疗效果的功效和/或安全性。在一些实施方案中，所述另外的药剂增强或改进所给予细胞(例如，表达重组受体(例如，CAR)的细胞)的功效、存活或持久性。在某些实施方案中，将所述测试剂给予所述小鼠以评估另外的药剂或疗法是否导致改进的所述免疫疗法的活性、功效和/或持久性。

[0560] 在一些实施方案中，所述测试剂(如另外的药剂或疗法)是抗体或细胞毒性剂或治疗剂，例如，化学治疗剂。在一些实施方案中，测试剂(如用于治疗或疗法的一种或多种另外的药剂)是免疫调节剂、免疫检查点抑制剂、腺苷途径或腺苷受体拮抗剂或激动剂和激酶抑制剂。在一些实施方案中，所述组合治疗或组合疗法包括另外的治疗，如手术治疗、移植和/或放射疗法。

[0561] 在一些实施方案中，所述测试剂(如另外的药剂)选自蛋白磷酸酶抑制剂、激酶抑制剂、细胞因子、免疫调节剂或降低调节性T(Treg)细胞的水平或活性的药剂。在一些实施方案中，所述测试剂(例如，所述另外的药剂)借助降低或改善所给予的细胞疗法的不良作用来增强安全性。在一些实施方案中，所述另外的药剂可以治疗相同的疾病、病症或共病。在一些实施方案中，所述另外的药剂可以改善、降低或消除与所述细胞(例如，CAR表达细胞)的给予相关的一种或多种毒性、不良影响或副作用。

[0562] 在一些实施方案中，所述测试剂(如另外的疗法、治疗或药剂)包括化学疗法、放射疗法、手术、移植、过继细胞疗法、抗体、细胞毒性剂、化学治疗剂、细胞因子、生长抑制剂、抗激素剂、激酶抑制剂、抗血管生成剂、保心药、免疫刺激剂、免疫抑制剂、免疫检查点抑制剂、抗生素、血管发生抑制剂、代谢调节剂或其他治疗剂或其任何组合。在一些实施方案中，所述测试剂(例如，另外的药剂)是蛋白质、肽、核酸、小分子药剂、细胞、毒素、脂质、碳水化合物或其组合、或任何其他类型的治疗剂(例如，放射)。在一些实施方案中，所述测试剂(如另外的疗法、药剂或治疗)包括手术、化学疗法、放射疗法、移植、给予表达重组受体(例如，CAR)的细胞、激酶抑制剂、免疫检查点抑制剂、mTOR途径抑制剂、免疫抑制剂、免疫调节剂、抗体、免疫清除剂、抗体和/或其抗原结合片段、抗体缀合物、其他抗体疗法、细胞毒素、类固醇、细胞因子、肽疫苗、激素疗法、抗代谢物、代谢调节剂、抑制钙依赖性磷酸酶钙调磷酸酶或p70S6激酶FK506或抑制p70S6激酶的药物、烷化剂、蒽环类抗生素、长春花生物碱、蛋白酶体抑制剂、GITR激动剂、蛋白质酪氨酸磷酸酶抑制剂、蛋白激酶抑制剂、溶瘤病毒和/或其他类型的免疫疗法。在一些实施方案中，所述测试剂(如另外的药剂或治疗)是骨髓移植、使用

化学治疗剂(如氟达拉滨)的T细胞清除疗法、外线束放射疗法(XRT)、环磷酰胺和/或抗体疗法。

[0563] 在一些实施方案中,所述测试剂(例如,所述另外的药剂)是激酶抑制剂,例如,布鲁顿酪氨酸激酶(BTK)抑制剂,例如,依鲁替尼。在一些实施方案中,所述另外的药剂是腺苷途径或腺苷受体拮抗剂或激动剂。在一些实施方案中,所述测试剂(例如,所述另外的药剂)是免疫调节剂,如沙立度胺或沙立度胺衍生物(例如,来那度胺)。在一些实施方案中,所述另外的疗法、药剂或治疗是细胞毒性剂或化学治疗剂、生物疗法(例如,抗体,例如,单克隆抗体,或细胞疗法)或抑制剂(例如,激酶抑制剂)。

[0564] 在一些实施方案中,所述测试剂(如另外的药剂)是化学治疗剂。示例性化学治疗剂包括蒽环类(例如多柔比星,如脂质体多柔比星);长春花生物碱(例如长春碱、长春新碱、长春地辛、长春瑞滨);烷化剂(例如环磷酰胺、达卡巴嗪、美法仑、异环磷酰胺、替莫唑胺);免疫细胞抗体(例如阿仑单抗、吉妥珠单抗、利妥昔单抗、托西莫单抗);抗代谢物(包括例如叶酸拮抗剂、嘧啶类似物、嘌呤类似物和腺苷脱氨酶抑制剂如氟达拉滨);TNFR糖皮质激素诱导的TNFR相关蛋白(GITR)激动剂;蛋白酶体抑制剂(例如阿克拉霉素A、胶霉毒素或硼替佐米);免疫调节剂,如沙利度胺或沙利度胺衍生物(例如来那度胺)。

[0565] 在一些实施方案中,所述测试剂(如另外的药剂)是免疫调节剂。在一些实施方案中,所述组合疗法包括如下免疫调节剂,所述免疫调节剂可以刺激、放大和/或以其他方式增强抗肿瘤免疫应答(例如,来自所给予工程化细胞的抗肿瘤免疫应答),如通过抑制免疫抑制信号传导或增强免疫刺激信号传导。在一些实施方案中,所述免疫调节剂是肽、蛋白质或是小分子。在一些实施方案中,所述蛋白质可以是融合蛋白或重组蛋白。在一些实施方案中,所述免疫调节剂结合至免疫靶标,如在免疫细胞(如T细胞、B细胞或抗原呈递细胞)上表达的细胞表面受体。例如,在一些实施方案中,所述免疫调节剂是抗体或抗原结合抗体片段、融合蛋白、小分子或多肽。在一些实施方案中,将所述结合分子、重组受体、细胞和/或组合物与作为抗体或其抗原结合片段(如单克隆抗体)的测试剂(例如,另外的药剂)组合给予。

[0566] 在一些实施方案中,所述免疫调节剂阻断、抑制或抵消免疫检查点途径的组分。免疫系统具有参与维持自身耐受性和用于调节免疫应答的多种抑制途径。肿瘤可以使用某些免疫检查点途径作为免疫抗性的主要机制,特别是针对对肿瘤抗原具有特异性的T细胞(Pardoll(2012)Nature Reviews Cancer 12:252-264),例如工程化细胞,如CAR表达细胞。因为许多此类免疫检查点是通过配体-受体相互作用起始的,所以它们可能易于被针对配体和/或其受体的抗体阻断。与大多数抗癌剂相反,检查点抑制剂不一定直接靶向肿瘤细胞,而是靶向淋巴细胞受体或其配体,以增强免疫系统的内源性抗肿瘤活性。

[0567] 在一些实施方案中,所述测试剂(例如,所述另外的药剂)是免疫调节剂,所述免疫调节剂是能够抑制或阻断涉及免疫检查点分子的分子功能或信号传导通路的拮抗剂分子或者是免疫检查点抑制剂。在一些实施方案中,所述免疫检查点分子或途径是PD-1、PD-L1、PD-L2、CTLA-4、LAG-3、TIM3、VISTA、腺苷2A受体(A2AR)、或腺苷或涉及任何前述项的途径。在某些实施方案中,阻断免疫检查点途径的拮抗性分子(如小分子、核酸抑制剂(例如,RNAi)或抗体分子)正在变成用于癌症和其他疾病的有前景的免疫疗法途径。

[0568] 在一些实施方案中,所述免疫检查点抑制剂是完全或部分降低、抑制、干扰或调节

一种或多种检查点蛋白的分子。检查点蛋白调节T细胞激活或功能。这些蛋白质负责T细胞应答的共刺激或抑制性相互作用。免疫检查点蛋白调节并维持自身耐受性和生理免疫应答的持续时间和幅度。

[0569] 免疫检查点抑制剂包括以统计学上显著的方式阻断或抑制免疫系统的抑制途径的任何药剂。此类抑制剂可以包括小分子抑制剂或者可以包括结合至并阻断或抑制免疫检查点受体、配体和/或受体-配体相互作用的抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中，特定受体的调节、增强和/或刺激可以胜过免疫检查点途径组分。可以被靶向用于阻断、抑制、调节、增强和/或刺激的示例性免疫检查点分子包括但不限于PD-1(CD279)、PD-L1(CD274、B7-H1)、PDL2(CD273、B7-DC)、CTLA-4、LAG-3(CD223)、TIM-3、4-1BB(CD137)、4-1BBL(CD137L)、GITR(TNFRSF18、AITR)、CD40、OX40(CD134、TNFRSF4)、CXCR2、肿瘤相关抗原(TAA)、B7-H3、B7-H4、BTLA、HVEM、GAL9、B7H3、B7H4、VISTA、KIR、2B4(属于分子的CD2家族并且在所有NK、γδ和记忆CD8+(αβ)T细胞上表达)、CD160(也称为BY55)、CGEN-15049、CEACAM(例如，CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3(CD276)、B7-H4(VTCN1)、HVEM(TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I类、MHC II类、GAL9、腺苷和转化生长因子受体(TGFR;例如，TGFRβ)。免疫检查点抑制剂包括抗体或其抗原结合片段或其他结合蛋白，其结合至并阻断或抑制和/或增强或刺激一种或多种任何所述分子的活性。

[0570] 示例性免疫检查点抑制剂包括曲美目单抗(CTLA-4阻断抗体，也称为替西木单抗、CP-675,206)、抗OX40、PD-L1单克隆抗体(抗B7-H1;MEDI4736)、MK-3475(PD-1阻断剂)、纳武单抗(抗PD-1抗体)、CT-011(抗PD-1抗体)、BY55单克隆抗体、AMP224(抗PD-L1抗体)、BMS-936559(抗PD-L1抗体)、MPLDL3280A(抗PD-L1抗体)、MSB0010718C(抗PD-L1抗体)和伊匹单抗(抗CTLA-4抗体，也称为Yervoy®、MDX-010和MDX-101)。免疫调节抗体的示例包括但不限于达珠单抗(Daclizumab)(Zenapax)、贝伐单抗(Bevacizumab)(Avastin®)、巴利昔单抗(Basiliximab)、伊匹单抗(Ipilimumab)、纳武单抗、派姆单抗(pembrolizumab)、MPDL3280A、匹地利珠单抗(Pidilizumab)(CT-011)、MK-3475、BMS-936559、MPDL3280A(阿特珠单抗(Atezolizumab))、曲美目单抗、IMP321、BMS-986016、LAG525、乌瑞鲁单抗(urelumab)、PF-05082566、TRX518、MK-4166、达西珠单抗(dacetuzumab)(SGN-40)、鲁卡木单抗(lucatumumab)(HCD122)、SEA-CD40、CP-870、CP-893、MEDI6469、MEDI6383、MOXR0916、AMP-224、MSB0010718C(阿维鲁单抗(Avelumab))、MEDI4736、PDR001、rHIgM12B7、乌洛鲁单抗(Ulocuplumab)、BKT140、伐立鲁单抗(Varlilumab)(CDX-1127)、ARGX-110、MGA271、利瑞鲁单抗(lirilumab)(BMS-986015、IPH2101)、IPH2201、ARGX-115、艾马珠单抗(Emactuzumab)、CC-90002和MNRP1685A或其抗体结合片段。其他示例性免疫调节剂包括例如阿夫土珠单抗(afutuzumab)(可以从Roche®获得)；培非格司亭(pegfilgrastim)(Neulasta®)；来那度胺(CC-5013，Revlimid®)；沙利度胺(thalidomide)(Thalomid®)、actimid(CC4047)；和IRX-2(人细胞因子的混合物，包括白细胞介素1、白细胞介素2和干扰素γ，CAS 951209-71-5，可以从IRX Therapeutics获得)。

[0571] 在一些实施方案中，所述测试剂(如另外的药剂)是结合至和/或抑制程序性细胞死亡1(PD-1)的药剂。PD-1是在B细胞、NK细胞和T细胞中表达的免疫检查点蛋白(Shinohara

等人,1995,Genomics 23:704-6;Blank等人,2007,Cancer Immunol Immunother 56:739-45;Finger等人,1997,Gene 197:177-87;Pardoll(2012)Nature Reviews Cancer 12:252-264)。PD-1的主要作用是在响应感染的炎症过程中限制外周组织中T细胞的活性,以及限制自身免疫。在激活的T细胞中诱导PD-1表达,并且PD-1与其内源性配体之一的结合通过抑制刺激性激酶起到抑制T细胞激活的作用。PD-1还起到抑制TCR“停止信号”的作用。PD-1在Treg细胞上高度表达,并且可以在配体存在下增加所述Treg细胞的增殖(Pardoll(2012)Nature Reviews Cancer 12:252-264)。抗PD 1抗体已被用于治疗黑色素瘤、非小细胞肺癌、膀胱癌、前列腺癌、结直肠癌、头颈癌、三阴性乳腺癌、白血病、淋巴瘤和肾细胞癌(Topalian等人,2012,N Engl J Med 366:2443-54;Lipson等人,2013,Clin Cancer Res 19:462-8;Berger等人,2008,Clin Cancer Res 14:3044-51;Gildener-Leapman等人,2013,Oral Oncol 49:1089-96;Menzies&Long,2013,Ther Adv Med Oncol 5:278-85)。示例性抗PD-1抗体包括纳武单抗(BMS的Opdivo)、派姆单抗(Merck的Keytruda)、匹地利珠单抗(Cure Tech的CT-011)、兰姆利珠单抗(lambrolizumab)(Merck的MK-3475)和AMP-224(Merck),纳武单抗(也称为Opdivo、BMS-936558或MDX1106;Bristol-Myers Squibb)是特异性阻断PD-1的完全人IgG4单克隆抗体。纳武单抗(克隆5C4)和特异性地结合PD-1的其他人单克隆抗体描述于US 8,008,449和WO 2006/121168。匹地利珠单抗(CT-011;Cure Tech)是与PD-1结合的人源化IgG1k单克隆抗体。匹地利珠单抗和其他人源化抗PD-1单克隆抗体描述于WO 2009/101611中。派姆单抗(先前称为兰姆利珠单抗,也称为Keytruda,MK03475;Merck)是与PD-1结合的人源化IgG4单克隆抗体。派姆单抗和其他人源化抗PD-1抗体描述于US 8,354,509和WO 2009/114335中。其他抗PD-1抗体包括AMP 514(Amplimmune),尤其是例如US 8,609,089、US 2010028330、US 20120114649和/或US 20150210769中描述的抗PD-1抗体。AMP-224(B7-DCIg;Amplimmune;例如,描述于WO 2010/027827和WO 2011/066342中)是阻断PD-1与B7-H1之间相互作用的PD-L2 Fc融合可溶性受体。

[0572] 在一些实施方案中,所述测试剂(如所述另外的药剂)是结合至或抑制PD-L1(也称为CD274和B7-H1)和/或PD-L2(也称为CD273和B7-DC)的药剂。PD-L1和PD-L2是PD-1的配体,发现于激活的T细胞、B细胞、骨髓细胞、巨噬细胞和一些类型的肿瘤细胞上。抗肿瘤疗法已集中于抗PD-L1抗体。PD-1与PD-L1的复合物抑制CD8+T细胞的增殖并降低免疫应答(Topalian等人,2012,N Engl J Med 366:2443-54;Brahmer等人,2012,N Eng J Med 366:2455-65)。抗PD-L1抗体已被用于治疗非小细胞肺癌、黑色素瘤、结直肠癌、肾细胞癌、胰腺癌、胃癌、卵巢癌、乳腺癌和血液恶性肿瘤(Brahmer等人,2012,N Eng J Med 366:2455-65;Ott等人,2013,Clin Cancer Res 19:5300-9;Radvanyi等人,2013,Clin Cancer Res 19:5541;Menzies&Long,2013,Ther Adv Med Oncol 5:278-85;Berger等人,2008,Clin Cancer Res 14:13044-51)。示例性抗PD-L1抗体包括MDX-1105(Medarex)、MEDI4736(Medimmune)、MPDL3280A(Genentech)、BMS-935559(Bristol-Myers Squibb)和MSB0010718C。MEDI4736(Medimmune)是结合至PD-L1并抑制所述配体与PD-1的相互作用的人单克隆抗体。MDPL3280A(Genentech/Roche)是结合至PD-L1的人Fc优化的IgG1单克隆抗体。MDPL3280A和针对PD-L1的其他人单克隆抗体描述于美国专利号7,943,743和美国公开号20120039906中。其他抗PD-L1结合剂包括YW243.55.S70(参见WO 2010/077634)和MDX-1105(也称为BMS-936559,以及例如描述于WO 2007/005874中的抗PD-L1结合剂)。

[0573] 在一些实施方案中，所述测试剂(例如，所述另外的药剂)是作为细胞毒性T-淋巴细胞相关抗原(CTLA-4，也称为CD152)的抑制剂或结合至CTLA-4的药剂。CTLA-4是用于调节T细胞激活的共抑制分子。CTLA-4是仅在T细胞上表达的免疫球蛋白超家族的成员。CTLA-4起到抑制T细胞激活的作用，并且据报道其抑制辅助T细胞活性并增强调节性T细胞免疫抑制活性。尽管CTLA-4的明确作用机制仍在研究之中，但已经表明其通过在与CD80和CD86结合中与CD28竞争而胜出以及积极地将抑制剂信号传递至T细胞来抑制T细胞激活(Pardoll(2012)Nature Reviews Cancer 12:252-264)。抗CTLA-4抗体已在临床试验中用于治疗黑色素瘤、前列腺癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌(Robert&Ghiringhelli,2009,Oncologist 14:848-61;Ott等人,2013,Clin Cancer Res 19:5300;Weber,2007,Oncologist 12:864-72;Wada等人,2013,J Transl Med 11:89)。抗CTLA-4的重要特征是抗肿瘤作用的动力学，其中在生理反应所需的初始治疗后迟滞期长达6个月。在一些情况下，在观察到缩小之前，肿瘤可能实际上在治疗开始后增大(Pardoll(2012)Nature Reviews Cancer 12:252-264)。示例性抗CTLA-4抗体包括伊匹单抗(Bristol-Myers Squibb)和曲美目单抗(Pfizer)。伊匹单抗最近已经被FDA批准用于治疗转移性黑色素瘤(Wada等人,2013,J Transl Med 11:89)。

[0574] 在一些实施方案中，所述测试剂(如另外的药剂)是结合至和/或抑制淋巴细胞激活基因-3(LAG-3，也称为CD223)的药剂。LAG-3是另一种免疫检查点蛋白。LAG-3与对淋巴细胞活性的抑制相关，并且在一些情况下与淋巴细胞无反应性的诱导相关。LAG-3在免疫系统中的各种细胞上表达，包括B细胞、NK细胞和树突细胞。LAG-3是MHC II类受体的天然配体，所述MHC II类受体基本上在黑色素瘤浸润的T细胞(包括具有有效免疫抑制活性的T细胞)上表达。示例性抗LAG-3抗体包括BMS-986016(Bristol-Myers Squib)，其是靶向LAG-3的单克隆抗体。IMP701(Immutep)是拮抗剂LAG-3抗体并且IMP731(Immutep和GlaxoSmithKline)是耗尽的LAG-3抗体。其他LAG-3抑制剂包括IMP321(Immutep)，其是LAG-3的可溶部分的重组融合蛋白；和结合MHC II类分子并激活抗原呈递细胞(APC)的Ig。其他抗体描述于例如WO 2010/019570和US 2015/0259420中。

[0575] 在一些实施方案中，所述测试剂(例如，所述另外的药剂)是结合至和/或抑制T细胞免疫球蛋白结构域和粘蛋白结构域-3(TIM-3)的药剂。TIM-3最初是在激活的Th1细胞上鉴定的，以显示其是免疫应答的负向调节物。TIM-3的阻断促进T细胞介导的抗肿瘤免疫，并且在一系列小鼠肿瘤模型中具有抗肿瘤活性。TIM-3阻断与其他免疫治疗剂(如TSR-042、抗CD137抗体和其他)的组合在增加抗肿瘤作用方面可以是加和的或协同的。TIM-3表达与许多不同的肿瘤类型(包括黑色素瘤、NSCLC和肾癌)相关，另外，肿瘤内TIM-3的表达已经被证明与跨越一系列肿瘤类型(包括NSCLC、宫颈癌和胃癌)的不良预后相关。TIM-3的阻断也有利于提高对许多慢性病毒性疾病的免疫。TIM-3也已被证明与许多配体(包括半乳糖凝集素-9、磷脂酰丝氨酸和HMGB1)相互作用，尽管目前尚不清楚这些配体中有哪些(如果存在)是与抗肿瘤反应的调节有关。在一些实施方案中，靶向TIM-3的抗体、抗体片段、小分子或肽抑制剂可以与TIM-3的IgV结构域结合以抑制与其配体的相互作用。抑制TIM-3的示例性抗体和肽描述于US 2015/0218274、WO 2013/006490和US 2010/0247521中。其他抗TIM-3抗体包括RMT3-23的人源化形式(Ngiow等人,2011,Cancer Res,71:3540-3551)和克隆8B.2C12(Monney等人,2002,Nature,415:536-541)。抑制TIM-3和PD-1的双特异性抗体描述于US

2013/0156774。

[0576] 在一些实施方案中，所述测试剂(例如，所述另外的药剂)是作为CEACAM抑制剂(例如，CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5抑制剂)的药剂。在一些实施方案中，所述CEACAM抑制剂是抗CEACAM抗体分子。示例性抗CEACAM-1抗体描述于WO 2010/125571、WO 2013/082366、WO 2014/059251和WO 2014/022332中，例如，单克隆抗体34B1、26H7和5F4；或其重组形式，如在例如US 2004/0047858、US 7,132,255和WO 99/052552中所述。在一些实施方案中，抗CEACAM抗体与CEACAM-5结合，如在例如Zheng等人PLoS One.(2011)6(6):e21146中所述；或与CEACAM-1和CEACAM-5交叉反应，如在例如WO 2013/054331和US 2014/0271618中所述。

[0577] 在一些实施方案中，所述测试剂(例如，另外的药剂)是结合至和/或抑制4-1BB(也称为CD137)的药剂。4-1BB是属于TNFR超家族的跨膜糖蛋白。4-1BB受体存在于激活的T细胞和B细胞和单核细胞上。示例性抗4-1BB抗体是乌瑞鲁单抗(BMS-663513)，其具有潜在的免疫刺激和抗肿瘤活性。

[0578] 在一些实施方案中，所述测试剂(例如，所述另外的药剂)是结合至和/或抑制肿瘤坏死因子受体超家族成员4(TNFRSF4，也称为OX40和CD134)的药剂。TNFRSF4是TNFR超家族的另一个成员。OX40在静止幼稚T细胞上并非组成型表达，并且起次级共刺激免疫检查点分子的作用。示例性抗OX40抗体是MEDI6469和MOXR0916(RG7888，Genentech)。

[0579] 在一些实施方案中，所述测试剂(如所述另外的药剂)是减小调节性T细胞(Treg)群体的药剂或分子。减小(例如，耗尽)Treg细胞数量的方法是本领域中已知的，并且包括例如CD25耗尽、环磷酰胺给予和调节糖皮质激素诱导的TNFR家族相关基因(GITR)功能。GITR是TNFR超家族的成员，其在激活的T细胞上发生上调，从而增强免疫系统。在单采术之前或在给予工程化细胞(例如，CAR表达细胞)之前减小受试者中Treg细胞的数量可以减小肿瘤微环境中不需要的免疫细胞(例如，Treg)的数量并降低所述受试者的复发风险。在一些实施方案中，所述另外的药剂包括靶向GITR和/或调节GITR功能的分子，如耗尽调节性T细胞(Treg)的GITR激动剂和/或GITR抗体。在一些实施方案中，所述另外的药剂包括环磷酰胺。在一些实施方案中，所述GITR结合分子和/或调节GITR功能的分子(例如GITR激动剂和/或耗尽Treg的GITR抗体)是在工程化细胞(例如CAR表达细胞)之前给予。例如，在一些实施方案中，所述GITR激动剂可以在所述细胞的单采术之前给予。在一些实施方案中，在给予(例如，输注或再输注)工程化细胞(例如，CAR表达细胞)之前或在所述细胞的单采术之前，将环磷酰胺给予所述受试者。在一些实施方案中，在给予(例如，输注或再输注)工程化细胞(例如，CAR表达细胞)之前或在所述细胞的单采术之前，将环磷酰胺和抗GITR抗体给予所述受试者。

[0580] 在一些实施方案中，所述测试剂(如所述另外的药剂)是作为GITR激动剂的药剂。示例性GITR激动剂包括例如GITR融合蛋白和抗GITR抗体(例如，二价抗GITR抗体)，例如美国专利号6,111,090、欧洲专利号090505B 1、美国专利号8,586,023、PCT公开号WO 2010/003118和2011/090754中描述的GITR融合蛋白；或例如美国专利号7,025,962、欧洲专利号1947183B 1、美国专利号7,812,135、美国专利号8,388,967、美国专利号8,591,886、欧洲专利号EP 1866339、PCT公开号WO 2011/028683、PCT公开号WO 2013/039954、PCT公开号WO 2005/007190、PCT公开号WO 2007/133822、PCT公开号WO 2005/055808、PCT公开号WO 99/

40196、PCT公开号WO 2001/03720、PCT公开号WO 99/20758、PCT公开号WO 2006/083289、PCT公开号WO 2005/115451、美国专利号7,618,632和PCT公开号WO 2011/051726中描述的抗GITR抗体。示例性抗GITR抗体是TRX518。

[0581] 在一些实施方案中，所述测试剂(例如，所述另外的药剂)增强所给予细胞(例如，CAR表达细胞)的肿瘤浸润或迁移。例如，在一些实施方案中，所述另外的药剂刺激CD40，如CD40L，例如，重组人CD40L。分化簇40(CD40)也是TNFR超家族的成员。CD40是在抗原呈递细胞上发现的共刺激蛋白，并且介导众多种免疫应答和炎症应答。CD40还在一些恶性肿瘤上表达，其中CD40促进增殖。示例性抗CD40抗体是达西珠单抗(SGN-40)、鲁卡木单抗(Novartis，拮抗剂)、SEA-CD40(Seattle Genetics)和CP-870,893。在一些实施方案中，增强肿瘤浸润的另外的药剂包括酪氨酸激酶抑制剂舒尼替尼、乙酰肝素酶和/或趋化因子受体(如CCR2、CCR4和CCR7)。

[0582] 在一些实施方案中，所述测试剂(例如，所述另外的药剂)是免疫调节剂，所述免疫调节剂是沙利度胺的结构或功能类似物或衍生物和/或E3泛素连接酶的抑制剂。在一些实施方案中，所述免疫调节剂结合至赛拉隆蛋白(cereblon)(CRBN)。在一些实施方案中，所述免疫调节剂结合至CRBN E3泛素连接酶复合物。在一些实施方案中，所述免疫调节剂结合至CRBN和CRBN E3泛素连接酶复合物。在一些实施方案中，所述免疫调节剂上调CRBN的蛋白质或基因表达。在一些方面，CRBN是$CRL4^{CRBN}$ E3泛素连接酶的底物衔接子，并调节所述酶的特异性。在一些实施方案中，与CRB或CRBN E3泛素连接酶复合物的结合会抑制E3泛素连接酶的活性。在一些实施方案中，所述免疫调节剂诱导KZF1(Ikaros)和IKZF3(Aiolos)的泛素化和/或诱导IKZF1(Ikaros)和IKZF3(Aiolos)的降解。在一些实施方案中，所述免疫调节剂通过$CRL4^{CRBN}$ E3泛素连接酶诱导酪蛋白激酶1A1(CK1α)的泛素化。在一些实施方案中，CK1α的泛素化导致CK1α降解。

[0583] 在一些实施方案中，所述免疫调节剂是Ikaros(IKZF1)转录因子的抑制剂。在一些实施方案中，所述免疫调节剂增强Ikaros的泛素化。在一些实施方案中，所述免疫调节剂增强Ikaros的降解。在一些实施方案中，所述免疫调节剂下调Ikaros的蛋白质或基因表达。在某些实施方案中，所述免疫调节剂的给予导致Ikaros蛋白水平的降低。

[0584] 在一些实施方案中，所述免疫调节剂是Aiolos(IKZF3)转录因子的抑制剂。在一些实施方案中，所述免疫调节剂增强Aiolos的泛素化。在一些实施方案中，所述免疫调节剂增强Aiolos的降解。在一些实施方案中，所述免疫调节剂下调Aiolos的蛋白质或基因表达。在某些实施方案中，所述免疫调节剂的给予导致Aiolos蛋白水平的降低。

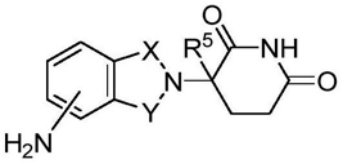
[0585] 在一些实施方案中，所述免疫调节剂是Ikaros(IKZF1)和Aiolos(IKZF3)转录因子二者的抑制剂。在一些实施方案中，所述免疫调节剂增强Ikaros和Aiolos二者的泛素化。在某些实施方案中，所述免疫调节剂增强Ikaros和Aiolos二者的降解。在一些实施方案中，所述免疫调节剂增强Ikaros和Aiolos二者的泛素化和降解。在一些实施方案中，所述免疫调节剂的给予引起Aiolos蛋白水平和Ikaros蛋白水平同时下降。

[0586] 在一些实施方案中，所述免疫调节剂是选择性细胞因子抑制药物(SelCID)。在一些实施方案中，所述免疫调节剂抑制磷酸二酯酶-4(PDE4)的活性。在一些实施方案中，所述免疫调节剂抑制CDC25磷酸酶的酶活性。在一些实施方案中，所述免疫调节剂改变CDC25磷酸酶的细胞内运输。

[0587] 在一些实施方案中，所述免疫调节剂是沙立度胺(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1H-异吲哚-1,3(2H)-二酮)或沙立度胺的类似物或衍生物。在某些实施方案中，沙利度胺衍生物包括具有相似生物学活性的沙利度胺的结构变体。示例性沙利度胺衍生物包括但不限于来那度胺(REVLIMMUNOMODULATORY COMPOUND™;Celgene Corporation)、泊马度胺(也称为ACTIMMUNOMODULATORY COMPOUND™或POMALYST™(Celgene Corporation))、CC-1088、CDC-501和CDC-801，和美国专利号5,712,291;7,320,991和8,716,315;美国申请号2016/0313300和PCT公开号WO 2002/068414和WO 2008/154252中披露的化合物。

[0588] 在一些实施方案中，所述免疫调节剂是用苯并环中的氨基取代的1-氧代-和1,3二氧代-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吲哚啉，如美国专利号5,635,517中所述，所述专利是通过引用并入本文。

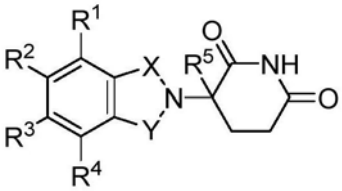
[0589] 在一些实施方案中，所述免疫调节剂是下式的化合物：

[0590] 

[0591] 其中X和Y中的一个是-C(O)-并且X和Y中的另一个是-C(O)-或-CH_2-，并且R^5是氢或低级烷基，或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中，X是-C(O)-并且Y是-CH_2-。在一些实施方案中，X和Y二者都是-C(O)-。在一些实施方案中，R^5是氢。在其他实施方案中，R^5是甲基。

[0592] 在一些实施方案中，免疫调节化合物是这样的化合物，其属于一类经取代的2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)邻苯二甲酸免疫调节化合物和经取代的2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚，例如美国专利号6,281,230;6,316,471;6,335,349;和6,476,052;以及国际专利申请号PCT/US 97/13375(国际公开号WO 98/03502)中所述的那些，将每一篇文献通过引用并入本文。

[0593] 在一些实施方案中，所述免疫调节剂是下式的化合物：

[0594] 

[0595] 其中

[0596] X和Y中的一个是-C(O)-，并且X和Y中的另一个是-C(O)-或-CH_2-；

[0597] (1)R^1、R^2、R^3和R^4中每一个独立地是卤素、1至4个碳原子的烷基或1至4个碳原子的烷氧基，或

[0598] (2)R^1、R^3、R^4和R^5中的一个是-NHR^a，并且R^1、R^2、R^3和R^4中其余的是氢，其中R^a是氢或1至8个碳原子的烷基；

[0599] R^5是氢或1至8个碳原子的烷基、苄基或卤素；

[0600] 条件是如果X和Y是-C(O)-并且(i)R^1、R^2、R^3和R^4中每一个是氟；或(ii)R^1、R^2、R^3和R^4中每一个是氨基，则R^5不是氢；

[0601] 或其药学上可接受的盐。

[0602] 在一些实施方案中，所述免疫调节剂是属于以下文献中披露的一类异吲哚免疫调

节化合物的化合物:美国专利号7,091,353、美国专利公开号2003/0045552和国际申请号PCT/US01/50401(国际公开号WO 02/059106),所述文献各自通过引用并入本文。例如,在一些实施方案中,所述免疫调节剂是[2-(2,6-二氧代-哌啶-3-基)-1,3-二氧代-2,3-二氢-1H-异吲哚-4-基甲基]-酰胺;(2-(2,6-二氧代-哌啶-3-基)-1,3-二氧代-2,3-二氢-1H-异吲哚-4-基甲基)-氨基甲酸叔丁酯;4-(氨基甲基)-2-(2,6-二氧代(3-哌啶基))-异吲哚啉-1,3-二酮;N-(2-(2,6-二氧代-哌啶-3-基)-1,3-二氧代-2,3-二氢-1H-异吲哚-4-基甲基)-乙酰胺;N-{(2-(2,6-二氧代(3-哌啶基)-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)甲基}环丙基-甲酰胺;2-氯-N-{(2-(2,6-二氧代)(3-哌啶基))-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)甲基}乙酰胺;N-(2-(2,6-二氧代(3-哌啶基))-1,3-二氧代异吲哚-4-基)-3-吡啶基甲酰胺;3-{1-氧代-4-(苄基氨基)异吲哚啉-2-基}哌啶-2,6-二酮;2-(2,6-二氧代(3-哌啶基))-4-(苄氨基)异吲哚啉-1,3-二酮;N-{(2-(2,6-二氧代(3-哌啶基))-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)甲基}丙酰胺;N-{(2-(2,6-二氧代(3-哌啶基))-1,3-二氧代异吲哚-4-基)甲基}-3-吡啶基甲酰胺;N-{(2-(2,6-二氧代(3-哌啶基))-1,3-二异吲哚啉-4-基)甲基}庚酰胺;N-{(2-(2,6-二氧代(3-哌啶基))-1,3-二氧代异吲哚-4-基)甲基}-2-呋喃甲酰胺;{N-(2-(2,6-二氧代(3-哌啶基))-1,3-二氧代异吲哚-4-基)氨基甲酰基}乙酸甲酯;N-(2-(2,6-二氧代(3-哌啶基))-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)戊酰胺;N-(2-(2,6-二氧代(3-哌啶基))-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)-2-噻吩基甲酰胺;N-{[2-(2,6-二氧代(3-哌啶基))-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基]甲基}(丁基氨基)甲酰胺;N-{[2-(2,6-二氧代(3-哌啶基))-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基]甲基}(辛基氨基)甲酰胺;或N-{[2-(2,6-二氧代(3-哌啶基))-1,3-二氧代异吲哚-4-基]甲基}(苄氨基)甲酰胺。

[0603] 在一些实施方案中,所述免疫调节剂是属于以下文献中披露的一类异吲哚-免疫调节化合物的化合物:美国专利申请公开号2002/0045643、国际公开号WO 98/54170和美国专利号6,395,754,所述文献各自通过引用并入本文。在一些实施方案中,所述免疫调节剂是通过引用并入本文的美国专利号5,798,368中所述的四取代的2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉。在一些实施方案中,所述免疫调节剂是通过引用并入本文的美国专利号6,403,613中披露的1-氧代和1,3-二氧代-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吲哚啉。在一些实施方案中,所述免疫调节剂是美国专利号6,380,239和美国专利号7,244,759中所述的在吲哚啉环的4-或5-位取代的1-氧代或1,3-二氧代异吲哚啉,所述两篇文献均通过引用并入本文。

[0604] 在一些实施方案中,所述免疫调节剂是2-(4-氨基-1-氧代-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-4-氨基甲酰基-丁酸或4-(4-氨基-1-氧代-1,3-二氢-异吲哚-2-基)-4-氨基甲酰基-丁酸。在一些实施方案中,免疫调节化合物是4-氨基甲酰基-4-{4-[(呋喃-2-基-甲基)-氨基]-1,3-二氧代-1,3-二氢-异吲哚-2-基}-丁酸、4-氨基甲酰基-2-{4-[(呋喃-2-基-甲基)-氨基]-1,3-二氧代-1,3-二氢-异吲哚-2-基}-丁酸、2-{4-[(呋喃-2-基-甲基)-氨基]-1,3-二氧代-1,3-二氢-异吲哚-2-基}-4-苯基氨基甲酰基-丁酸或2-{4-[(呋喃-2-基-甲基)-氨基]-1,3-二氧代-1,3-二氢-异吲哚-2-基}-戊二酸。

[0605] 在一些实施方案中,所述免疫调节剂是如通过引用并入本文的美国专利号6,458,810中所述的在2-位被2,6-二氧代-3-羟基哌啶-5-基取代的异吲哚啉-1-酮或异吲哚啉-1,3-二酮。在一些实施方案中,所述免疫调节化合物是3-(5-氨基-2-甲基-4-氧代-4H-喹唑

啉-3-基)-哌啶-2,6-二酮,或其对映异构体或对映异构体的混合物;或它们的药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物、共晶、包合物或多晶型物。在一些实施方案中,免疫调节化合物是3-[4-(4-吗啉-4-基甲基-苄氧基)-1-氧代-1,3-二氢-异吲哚-2-基]-哌啶-2,6-二酮。

[0606] 在一些实施方案中,所述免疫调节剂是如以下文献中所述:Oshima,K.等人,Nihon Rinsho.,72(6):1130-5(2014);Millrine,D.等人,Trends Mol Med.,23(4):348-364(2017);和Collins等人,Biochem J.,474(7):1127-1147(2017)。

[0607] 在一些实施方案中,所述免疫调节剂是来那度胺,泊马度胺,阿伐度胺,来那度胺、泊马度胺、阿伐度胺的立体异构体,或其药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物、共晶、包合物或多晶型物。在一些实施方案中,免疫调节化合物是来那度胺,来那度胺的立体异构体,或它们的药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物、共晶、包合物或多晶型。在一些实施方案中,所述免疫调节化合物是来那度胺或((RS)-3-(4-氨基-1-氧代-1,3-二氢-2H-异吲哚-2-基)哌啶-2,6-二酮)。

[0608] 在一些实施方案中,所述测试剂(例如,所述另外的药剂)包括沙立度胺药物或其类似物和/或其衍生物,如来那度胺、泊马度胺或阿普斯特。参见例如,Bertilaccio等人,Blood(2013)122:4171;Otahal等人,Oncoimmunology(2016)5(4):e1115940;Fecteau等人,Blood(2014)124(10):1637-1644;和Kuramitsu等人,Cancer Gene Therapy(2015)22:487-495。来那度胺((RS)-3-(4-氨基-1-氧代-1,3-二氢-2H-异吲哚-2-基)哌啶-2,6-二酮;也称为Revlimid)是沙立度胺的合成衍生物,并且具有多种免疫调节作用,包括加强T细胞与抗原呈递细胞(APC)之间的免疫突触形成。例如,在一些情况下,来那度胺调节T细胞应答并导致增加CD4+和CD8+T细胞中白细胞介素(IL)-2的产生,诱导T辅助(Th)应答从Th2转变为Th1,抑制调节性T细胞亚组(Treg)的扩增,以及改进滤泡性淋巴瘤和慢性淋巴细胞白血病(CLL)中免疫突触的功能(Otahal等人,Oncoimmunology(2016)5(4):e1115940)。来那度胺在患有多发性骨髓瘤(MM)的患者中也具有直接的肿瘤杀伤活性,并且通过影响支持细胞(如在淋巴组织的微环境中发现的呵护样细胞(nurse-like cell))直接和间接地调节CLL肿瘤细胞的存活。来那度胺还可以响应于经由CD3连接激活T细胞或树突细胞介导的激活而增强T细胞增殖和干扰素-γ产生。来那度胺还可以诱导恶性B细胞表达更高水平的免疫刺激分子,如CD80、CD86、HLA-DR、CD95和CD40(Fecteau等人,Blood(2014)124(10):1637-1644)。在一些实施方案中,以每天约1mg至约20mg,例如每天约1mg至约10mg、约2.5mg至约7.5mg、约5mg至约15mg,如每天约5mg、10mg、15mg或20mg的剂量来给予来那度胺。在一些实施方案中,以约10μg/kg至5mg/kg,例如约100μg/kg至约2mg/kg、约200μg/kg至约1mg/kg、约400μg/kg至约600μg/kg,如约500μg/kg的剂量给予来那度胺。

[0609] 在一些实施方案中,所述测试剂(例如,所述另外的药剂)是B细胞抑制剂。在一些实施方案中,所述测试剂是选自CD10、CD19、CD20、CD22、CD34、CD123、CD79a、CD79b、CD179b、FLT-3或ROR1或其组合的抑制剂的一种或多种B细胞抑制剂。在一些实施方案中,所述B细胞抑制剂是抗体(例如,单特异性或双特异性抗体)或其抗原结合片段。在一些实施方案中,所述测试剂(例如,所述另外的药剂)是表达靶向B细胞靶标(例如,CD10、CD19、CD20、CD22、CD34、CD123、CD79a、CD79b、CD179b、FLT-3或ROR1)的重组受体的工程化细胞。

[0610] 在一些实施方案中,所述测试剂(例如,所述另外的药剂)是CD20抑制剂,例如,抗CD20抗体(例如,抗CD20单特异性或双特异性抗体)或其片段。示例性抗CD20抗体包括但不

限于利妥昔单抗、奥法木单抗、奥瑞珠单抗(也称为GA101或RO5072759)、维妥珠单抗、奥比妥珠单抗、TRU-015(Trubion Pharmaceuticals)、奥卡妥珠单抗(也称为AME-133v或奥卡妥珠单抗)和Pro131921(Genentech)。参见例如,Lim等人Haematologica.(2010)95(1):135-43。在一些实施方案中,所述抗CD20抗体包含利妥昔单抗。利妥昔单抗是嵌合小鼠/人单克隆抗体IgG1κ,其结合至CD20并引起CD20表达细胞的细胞溶解。在一些实施方案中,所述测试剂包括利妥昔单抗。在一些实施方案中,所述CD20抑制剂是小分子。

[0611] 在一些实施方案中,所述测试剂(如所述另外的药剂)是CD22抑制剂,例如,抗CD22抗体(例如,抗CD22单特异性或双特异性抗体)或其片段。示例性抗CD22抗体包括依帕珠单抗和RFB4。在一些实施方案中,所述CD22抑制剂是小分子。在一些实施方案中,所述抗体是单特异性抗体,任选地与诸如化学治疗剂的第二药剂缀合。例如,在一些实施方案中,所述抗体是抗CD22单克隆抗体-MMAE缀合物(例如,DCDT2980S)。在一些实施方案中,所述抗体是抗CD22抗体的scFv,例如,抗体RFB4的scFv。在一些实施方案中,所述scFv与假单胞菌属(Pseudomonas)外毒素-A(例如,BL22)的全部或片段融合。在一些实施方案中,所述scFv与假单胞菌属外毒素-A(例如,moxetumomab pasudotox)的全部或片段(例如,38kDa片段)融合。在一些实施方案中,所述抗CD22抗体是抗CD19/CD22双特异性抗体,任选地与毒素缀合。例如,在一些实施方案中,所述抗CD22抗体包含抗CD19/CD22双特异性部分(例如,两个scFv配体,识别人CD19和CD22),任选地连接至白喉毒素(DT)的全部或一部分,例如白喉毒素(DT)的前389个氨基酸(DT 390),例如配体引导的毒素,如DT2219ARL。在一些实施方案中,所述双特异性部分(例如,抗CD19/抗CD22)与诸如脱糖基化蓖麻毒素A链(例如,Combotox)的毒素连接。

[0612] 在一些实施方案中,所述测试剂(如所述另外的药剂)是细胞因子或者是诱导增加的肿瘤微环境中的细胞因子表达的药剂。细胞因子具有与T细胞扩增、分化、存活和稳态相关的重要功能。可以给予接受所提供的方法或用途中的组合疗法、本文所提供的重组受体、细胞和/或组合物的受试者的细胞因子包括以下中的一种或多种:IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15、IL-18和IL-21。在一些实施方案中,所给予的细胞因子是IL-7、IL-15或IL-21或其组合。在一些实施方案中,将所述细胞因子给予对工程化细胞(例如,CAR表达细胞)的给予具有次最佳反应的受试者改进所给予细胞(例如CAR表达细胞)的功效和/或抗肿瘤活性。

[0613] 在一些实施方案中,所述测试剂,例如,所述另外的药剂,如作为细胞间介质作用于另一种细胞的蛋白质。此类细胞因子的例子是淋巴因子、单核因子和传统的多肽激素。所述细胞因子包括生长激素,如人生长激素、N-甲硫氨酰基人生长激素和牛生长激素;甲状旁腺激素;甲状腺素;胰岛素;胰岛素原;松弛素;松弛素原;糖蛋白激素,如卵泡刺激素(FSH)、甲状腺刺激素(TSH)和黄体化激素(LH);肝生长因子;成纤维细胞生长因子;泌乳素;胎盘催乳素;肿瘤坏死因子-α和-β;缪勒抑制物质;小鼠促性腺激素相关肽;抑制素;激活素;血管内皮生长因子;整合素;血小板产生素(TPO);神经生长因子,如NGF-β;血小板生长因子;转化生长因子(TGF),如TGF-α和TGF-β;胰岛素样生长因子-I和-II;促红细胞产生素(EPO);骨诱导因子;干扰素,如干扰素-α、-β和-γ;集落刺激因子(CSF),如巨噬细胞-CSF(M-CSF);粒细胞-巨噬细胞-CSF(GM-CSF);和粒细胞-CSF(G-CSF);白细胞介素(IL),如IL-1、IL-1α、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、IL-15;肿瘤坏死因子,如TNF-α或TNF-β;以及其他多肽因子,包括LIF和kit配体(KL)。如本文所用,术语细胞因子包

括来自天然来源或来自重组细胞培养物的蛋白质,以及天然序列细胞因子的生物活性等同物。例如,所述免疫调节剂是细胞因子,并且所述细胞因子是IL-4、TNF-α、GM-CSF或IL-2。

[0614] 在一些实施方案中,所述测试剂(如所述另外的药剂)包括白细胞介素-15(IL-15)多肽、白细胞介素-15受体α(IL-15Rα)多肽或其组合,例如,hetIL-15(Admune Therapeutics,LLC)。hetIL-15是IL-15与IL-15Rα的异二聚非共价复合物。hetIL-15描述于例如以下文献中:U.S.8,124,084、U.S.2012/0177598、U.S.2009/0082299、U.S.2012/0141413和U.S.2011/0081311。在一些实施方案中,所述免疫调节剂可以含有一种或多种细胞因子。例如,所述白细胞介素可以包括白细胞白细胞介素注射剂(Multikine),其是天然细胞因子的组合。

[0615] 在一些实施方案中,所述测试剂(如另外的药剂)是腺苷水平和/或腺苷途径组分的调节剂。腺苷可以在体内起免疫调节剂的功能。例如,腺苷和一些非选择性激活腺苷受体亚型的腺苷类似物减少炎性氧化产物的嗜中性粒细胞产生(Cronstein等人,Ann.N.Y.Acad.Sci.451:291,1985;Roberts等人,Biochem.J.,227:669,1985;Schrier等人,J.Immunol.137:3284,1986;Cronstein等人,Clinical Immunol.Immunopath.42:76,1987)。在一些情况下,细胞外腺苷或腺苷类似物的浓度在特定环境(例如,肿瘤微环境(TME))中可能增加。在一些情况下,腺苷或腺苷类似物信号传导取决于缺氧或者缺氧或其调节中所涉及的因子,例如,缺氧诱导因子(HIF)。在一些实施方案中,腺苷信号传导的增加可以增加细胞内cAMP和cAMP依赖性蛋白激酶,从而导致抑制促炎性细胞因子产生,并且可以导致免疫抑制分子的合成和Treg的发展(Sitkovsky等人,Cancer Immunol Res(2014)2(7):598-605)。在一些实施方案中,所述测试剂(例如,所述另外的药剂)可以降低或逆转腺苷、腺苷类似物和/或腺苷信号传导的免疫抑制作用。在一些实施方案中,所述测试剂(例如,所述另外的药剂)可以减少或逆转缺氧驱动的A2-腺苷酸能T细胞免疫抑制。在一些实施方案中,所述测试剂(例如,所述另外的药剂)选自腺苷受体的拮抗剂、细胞外腺苷降解剂、CD39/CD73胞外酶的腺苷产生的抑制剂、和缺氧-HIF-1α信号传导的抑制剂。在一些实施方案中,所述测试剂是腺苷受体拮抗剂或激动剂。

[0616] 在一些实施方案中,所述测试剂(如所述另外的药剂)是抑制腺苷受体的活性和/或量的药剂。特定实施方案考虑,通过细胞外腺苷的抑制剂(例如防止细胞外腺苷形成、降解细胞外腺苷、使细胞外腺苷失活和/或减少细胞外腺苷的药剂)和/或腺苷受体抑制剂(例如腺苷受体拮抗剂)可以增强免疫应答,如巨噬细胞、嗜中性粒细胞、粒细胞、树突细胞,T细胞和/或B细胞介导的应答。此外,Gs蛋白介导的cAMP依赖性细胞内途径的抑制剂和腺苷受体触发的Gi蛋白介导的细胞内途径的抑制剂也可以增加急性和慢性炎症。

[0617] 在一些实施方案中,所述测试剂(例如,所述另外的药剂)是腺苷受体拮抗剂或激动剂,例如腺苷受体A2a、A2b、A1和A3中的一种或多种的拮抗剂或激动剂。分别地,A1和A3抑制腺苷酸环化酶活性,并且A2a和A2b刺激腺苷酸环化酶活性。某些腺苷受体(如A2a、A2b和A3)可以在炎症期间抑制或降低免疫应答。因此,拮抗免疫抑制性腺苷受体可以扩大、加强或增强免疫应答,例如来自所给予细胞(例如,CAR表达T细胞)的免疫应答。在一些实施方案中,所述测试剂(如另外的药剂)抑制细胞外腺苷的产生和腺苷通过腺苷受体触发的信号传导。例如,通过抑制或减少产生腺苷的局部组织缺氧;通过降解积累的细胞外腺苷(或使其失活);通过阻止或减少免疫细胞上腺苷受体的表达;和/或通过抑制/拮抗腺苷配体通过腺

苷受体进行的信号传导，可以增强免疫应答、局部组织炎症和所靶向组织破坏的增强。

[0618] 在一些实施方案中，所述测试剂(如所述另外的药剂)是腺苷受体拮抗剂。在一些实施方案中，所述拮抗剂是腺苷受体(如A2a、A2b或A3受体)的小分子或化学化合物。在一些实施方案中，所述拮抗剂是结合腺苷受体但是不触发Gi蛋白依赖性细胞内途径的肽或拟肽。此类拮抗剂的例子描述于以下文献中：美国专利号5,565,566、5,545,627、5,981,524、5,861,405、6,066,642、6,326,390、5,670,501、6,117,998、6,232,297、5,786,360、5,424,297、6,313,131、5,504,090和6,322,771。

[0619] 在一些实施方案中，所述测试剂(如所述另外的药剂)是A2受体(A2R)拮抗剂，如A2a拮抗剂。示例性A2R拮抗剂包括但不限于KW6002(伊曲茶碱(istradefyline))、SCH58261、咖啡因、副黄嘌呤、3,7-二甲基-1-炔丙基黄嘌呤(DMPX)、8-(间氯苯乙烯基)咖啡因(CSC)、MSX-2、MSX-3、MSX-4、CGS-15943、ZM-241385、SCH-442416、瑞德南特(preladenant)、韦帕南特(vipadenant)(BII014)、V2006、ST-1535、SYN-115、PSB-1115、ZM241365、FSPTP和靶向A2R表达的抑制性核酸(例如，siRNA或shRNA)或靶向A2R的任何抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中，所述测试剂(如所述另外的药剂)是描述于例如以下文献中的A2R拮抗剂：Ohta等人，Proc Natl Acad Sci U S A(2006)103:13132-13137；Jin等人，Cancer Res.(2010)70(6):2245-2255；Leone等人，Computational and Structural Biotechnology Journal(2015)13:265-272；Beavis等人，Proc Natl Acad Sci U S A(2013)110:14711-14716；和Pinna,A.,Expert Opin Investig Drugs(2009)18:1619-1631；Sitkovsky等人，Cancer Immunol Res(2014)2(7):598-605；US 8,080,554；US 8,716,301；US 20140056922；WO2008/147482；US 8,883,500；US 20140377240；WO02/055083；US 7,141,575；US 7,405,219；US 8,883,500；US 8,450,329；和US 8,987,279。

[0620] 在特定实施方案中，腺苷受体拮抗剂是特异性结合编码腺苷受体的mRNA的反义分子、抑制性核酸分子(例如，小抑制性RNA(siRNA))或催化核酸分子(例如，核酶)。在一些实施方案中，所述反义分子、抑制性核酸分子或催化核酸分子结合编码A2a、A2b或A3的核酸。在一些实施方案中，反义分子、抑制性核酸分子或催化核酸靶向腺苷受体下游的生化途径。例如，所述反义分子或催化核酸可以抑制Gs蛋白或Gi蛋白依赖性细胞内途径中涉及的酶。在一些实施方案中，所述测试剂(如所述另外的药剂)包括腺苷受体(如A2a、A2b或A3)的显性阴性突变形式。

[0621] 在一些实施方案中，所述测试剂(如所述另外的药剂)是抑制细胞外腺苷的药剂。抑制细胞外腺苷的药剂包括使细胞外腺苷无功能(或降低这种功能)的药剂，如修饰腺苷结构以抑制腺苷通过腺苷受体进行信号传导的能力的物质。在一些实施方案中，所述测试剂(如所述另外的药剂)是产生细胞外腺苷或降解腺苷的酶、其修饰形式或其调节剂。例如，在一些实施方案中，所述测试剂(如所述另外的药剂)是酶(例如，腺苷脱氨酶)或另一种催化分子，所述酶或另一种催化分子选择性地结合并破坏腺苷，从而消除或显著降低内源形成的腺苷通过腺苷受体进行信号传导并终止炎症的能力。

[0622] 在一些实施方案中，所述测试剂(如所述另外的药剂)是腺苷脱氨酶(ADA)或其修饰形式，例如，重组ADA和/或聚乙二醇修饰的ADA(ADA-PEG)，其可以抑制细胞外腺苷的局部组织积累。ADA-PEG已用于治疗患有ADA SCID的患者(Hershfield(1995)Hum Mutat.5:107)。在一些实施方案中，抑制细胞外腺苷的药剂包括阻止或减少细胞外腺苷形成，和/或

阻止或减少细胞外腺苷积累，从而消除或显著降低腺苷的免疫抑制作用的药剂。在一些实施方案中，所述测试剂(如所述另外的药剂)特异性抑制参与对促炎性分子的合成和/或分泌的调节的酶和蛋白质，所述另外的药剂包括核转录因子的调节剂。对腺苷受体表达、或Gs蛋白或Gi蛋白依赖性细胞内途径、或cAMP依赖性细胞内途径的抑制可以导致免疫应答的增加/增强。

[0623] 在一些实施方案中，所述测试剂(如所述另外的药剂)可以靶向生成或产生细胞外腺苷的胞外酶。在一些实施方案中，所述测试剂(如所述另外的药剂)靶向共同作用于产生细胞外腺苷的CD39和CD73胞外酶。CD39(也称为外核苷三磷酸二磷酸水解酶)将细胞外ATP(或ADP)转化为5'AMP。随后，CD73(也称为5'核苷酸酶)将5'AMP转化为腺苷。CD39的活性可通过NDP激酶和腺苷酸激酶的作用逆转，而CD73的活性是不可逆的。CD39和CD73在肿瘤基质细胞(包括内皮细胞和Treg)上表达，并且也在许多癌细胞上表达。例如，在肿瘤微环境的缺氧条件下，CD39和CD73在内皮细胞上的表达增加。肿瘤缺氧可能源于血液供应不足和肿瘤脉管系统杂乱，从而影响氧气的输送(Carroll和Ashcroft(2005)，Expert.Rev.Mol.Med.7(6):1-16)。缺氧也抑制将腺苷转化为AMP的腺苷酸激酶(AK)，从而导致非常高的细胞外腺苷浓度。因此，腺苷响应于缺氧以高浓度释放，缺氧是在实体瘤中或实体瘤周围肿瘤微环境(TME)经常出现的条件。在一些实施方案中，所述测试剂(如所述另外的药剂)是以下中的一种或多种：抗CD39抗体或其抗原结合片段、抗CD73抗体或其抗原结合片段(例如，MEDI9447或TY/23)、α-β-亚甲基-腺苷二磷酸(ADP)、ARL 67156、POM-3、IPH52(参见例如，Allard等人Clin Cancer Res(2013)19(20):5626-5635;Hausler等人，Am J Transl Res(2014)6(2):129-139;Zhang,B.,Cancer Res.(2010)70(16):6407-6411)。

[0624] 在一些实施方案中，所述测试剂(如所述另外的药剂)是化学治疗剂(有时称为细胞毒性剂)。在特定实施方案中，所述化学治疗剂是本领域技术人员已知的对于过度增殖性障碍(如癌症)的治疗、预防或改善有效的任何药剂。化学治疗剂包括但不限于小分子、合成药物、肽、多肽、蛋白质、核酸(例如，DNA和RNA多核苷酸，其包括但不限于编码生物活性蛋白质、多肽或肽的反义核苷酸序列、三螺旋和核苷酸序列)、抗体、合成或天然无机分子、模拟剂和合成或天然有机分子。在特定实施方案中，化疗药物包括烷化剂、蒽环类、细胞骨架破坏剂(紫杉烷类)、埃博霉素、组蛋白脱乙酰酶抑制剂、拓扑异构酶抑制剂、拓扑异构酶II抑制剂、激酶抑制剂、核苷酸类似物和前体类似物、肽抗生素、基于铂的药剂以及长春花生物碱和衍生物。

[0625] 化学治疗剂可以包括但不限于阿巴瑞克、阿地白介素、阿仑单抗、阿利维A酸、别嘌呤醇、六甲蜜胺、氨磷汀、阿那曲唑、三氧化二砷、天冬酰胺酶、活性BCG、贝伐单抗、贝沙罗汀、博来霉素、硼替佐米、白消安、卡鲁睾酮、喜树碱、卡培他滨、卡铂、卡莫司汀、塞来昔布、西妥昔单抗、苯丁酸氮芥、西那卡塞、顺铂、克拉屈滨、环磷酰胺、阿糖胞苷、达卡巴嗪、更生霉素、阿法达贝泊汀、道诺霉素、地尼白介素、右雷佐生、多西紫杉醇、多柔比星、屈他雄酮、Elliott's B溶液、表柔比星、阿法依泊汀、雌莫司汀、依托泊苷、依西美坦、非格司亭、氟尿嘧啶、氟达拉滨、氟尿嘧啶、氟维司群、吉西他滨、吉妥珠单抗奥佐米星、吉非替尼、戈舍瑞林、羟基脲、替伊莫单抗、伊达比星、异环磷酰胺、伊马替尼、干扰素α-2a、干扰素α-2b、伊立替康、来曲唑、甲酰四氢叶酸、左旋咪唑、洛莫司汀、氯硝胺(mecloretha mine)、甲地孕酮、美法仑、巯嘌呤、美司钠、甲氨蝶呤、甲氧沙林、甲基泼尼松龙、丝裂霉素C、米托坦、米托蒽醌、

诺龙、诺菲单抗、奥利美生、奥普瑞白介素、奥沙利铂、紫杉醇、帕米膦酸二钠、培加酶、培门冬酶、培非格司亭、培美曲塞、喷司他丁、哌泊溴烷、普卡霉素、聚苯丙生、卟菲尔钠、丙卡巴肼、奎纳克林、拉布立酶、利妥昔单抗、沙格司亭、链脲佐菌素、滑石、他莫昔芬、特罗凯、替莫唑胺、替尼泊苷、睾内酯、硫鸟嘌呤、噻替哌、拓扑替康、托瑞米芬、托西莫单抗、曲妥珠单抗、维A酸、尿嘧啶氮芥、戊柔比星、长春碱、长春新碱、长春瑞滨和唑来膦酸盐。

[0626] 在一些实施方案中，所述测试剂(如所述另外的药剂)是缺氧诱导因子1α(HIF-1α)信号传导的抑制剂。HIF-1α的示例性抑制剂包括地高辛(digoxin)、吖啶黄素(acriflavine)、瑟土因-7(sirtuin-7)和加特司匹(ganetespib)。

[0627] 在一些实施方案中，所述测试剂(如所述另外的药剂)包括蛋白质酪氨酸磷酸酶抑制剂，例如，本文所述的蛋白质酪氨酸磷酸酶抑制剂。在一些实施方案中，所述蛋白酪氨酸磷酸酶抑制剂是SHP-1抑制剂，例如本文所述的SHP-1抑制剂，如例如，葡萄糖酸锑钠。在一些实施方案中，所述蛋白酪氨酸磷酸酶抑制剂是SHP-2抑制剂，例如本文所述的SHP-2抑制剂。

[0628] 在一些实施方案中，所述测试剂(如所述另外的药剂)是激酶抑制剂。激酶抑制剂(例如CDK4激酶抑制剂、BTK激酶抑制剂、MNK激酶抑制剂或DGK激酶抑制剂)可以调节存在于肿瘤细胞中的组成型活性存活途径和/或调节免疫细胞的功能。在一些实施方案中，所述激酶抑制剂是布鲁顿酪氨酸激酶(BTK)抑制剂，例如，依鲁替尼。在一些实施方案中，所述激酶抑制剂是磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸酯3-激酶(PI3K)抑制剂。在一些实施方案中，所述激酶抑制剂是CDK4抑制剂，例如，CDK4/6抑制剂。在一些实施方案中，所述激酶抑制剂是mTOR抑制剂，如例如雷帕霉素、雷帕霉素类似物、OSI-027。所述mTOR抑制剂可以是例如mTORC1抑制剂和/或mTORC2抑制剂，例如，mTORC1抑制剂和/或mTORC2抑制剂。在一些实施方案中，所述激酶抑制剂是MNK抑制剂或双重PI3K/mTOR抑制剂。在一些实施方案中，其他示例性激酶抑制剂包括AKT抑制剂哌立福辛(perifosine)、mTOR抑制剂替西罗莫司(temsirolimus)、Src激酶抑制剂达沙替尼(dasatinib)和福他替尼(fostamatinib)、JAK2抑制剂帕克替尼和鲁索替尼、PKCβ抑制剂恩扎妥林(enzastaurin)和苔藓抑素，以及AAK抑制剂阿立塞替(alisertib)。

[0629] 在一些实施方案中，所述激酶抑制剂是选自以下的BTK抑制剂：依鲁替尼(PCI-32765)；GDC-0834；RN-486；CGI-560；CGI-1764；HM-71224；CC-292；ONO-4059；CNX-774；和LFM-A13。在一些实施方案中，所述BTK抑制剂不会降低或抑制白细胞介素-2诱导型激酶(ITK)的激酶活性，并且选自GDC-0834；RN-486；CGI-560；CGI-1764；HM-71224；CC-292；ONO-4059；CNX-774；和LFM-A13。

[0630] 在一些实施方案中，所述激酶抑制剂是BTK抑制剂，例如，依鲁替尼(1-[(3R)-3-[4-氨基-3-(4-苯氧基苯基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基]哌啶-1-基]丙-2-烯-1-酮；也称为PCI-32765)。在一些实施方案中，所述激酶抑制剂是BTK抑制剂，例如，依鲁替尼(PCI-32765)，并且依鲁替尼是按以下剂量来给予：每天约250mg、300mg、350mg、400mg、420mg、440mg、460mg、480mg、500mg、520mg、540mg、560mg、580mg、600mg(例如，250mg、420mg或560mg)持续一段时间，例如，每天给予持续21天周期，或每天给予持续28天周期。在一些实施方案中，给予1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个周期的依鲁替尼。在一些实施方案中，所述BTK抑制剂是国际申请WO 2015/079417中描述的BTK抑制剂。

[0631] 在一些实施方案中,所述激酶抑制剂是PI3K抑制剂。PI3K是参与细胞周期调节和淋巴瘤存活的PI3K/Akt/mTOR途径的核心。示例性PI3K抑制剂包括艾代拉利司(idelalisib)(PI3Kδ抑制剂)。在一些实施方案中,所述测试剂(如所述另外的药剂)是艾代拉利司和利妥昔单抗。

[0632] 在一些实施方案中,所述测试剂(如所述另外的药剂)是雷帕霉素的哺乳动物靶标(mTOR)的抑制剂。在一些实施方案中,所述激酶抑制剂是选自以下的mTOR抑制剂:替西罗莫司;利罗莫司(ridaforolimus)(也称为AP23573和MK8669);依维莫司(RAD001);雷帕霉素(AY22989);simapimod;AZD8055;PF04691502;SF1126;和XL765。在一些实施方案中,所述测试剂(如所述另外的药剂)是丝裂原激活的蛋白激酶(MAPK)抑制剂,如维拉非尼(vemurafenib)、达拉非尼(dabrafenib)和曲美替尼(trametinib)。

[0633] 在一些实施方案中,所述测试剂(如所述另外的药剂)是调节促细胞凋亡或抗细胞凋亡蛋白的药剂。在一些实施方案中,所述测试剂(如所述另外的药剂)包括B细胞淋巴瘤2(BCL-2)抑制剂(例如,维奈妥拉(venetoclax),也称为ABT-199或GDC-0199;或ABT-737)。维奈妥拉是抑制抗细胞凋亡蛋白BCL-2的小分子(4-(4-{[2-(4-氯苯基)-4,4-二甲基-1-环己烯-1-基]甲基}-1-哌嗪基)-N-({3-硝基-4-[(四氢-2H-吡喃-4-基甲基)氨基]苯基}磺酰基)-2-(1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基氧基)苯甲酰胺)。调节促细胞凋亡或抗细胞凋亡蛋白的其他药剂包括BCL-2抑制剂ABT-737、那维妥拉(navitoclax)(ABT-263);用于最大功效的Mcl-1siRNA或Mcl-1抑制剂类视色素N-(4-羟苯基)维甲酰胺(4-HPR)。在一些实施方案中,所述测试剂(如所述另外的药剂)提供促细胞凋亡刺激,如重组肿瘤坏死因子相关细胞凋亡诱导配体(TRAIL),其可以通过结合至肿瘤细胞表面上的TRAIL死亡受体DR-4和DR-5激活细胞凋亡途径;或TRAIL-R2激动抗体。

[0634] 在一些实施方案中,所述测试剂(如所述另外的药剂)包括细胞毒性剂,例如,CPX-351(Celator Pharmaceuticals)、阿糖胞苷、道诺霉素、沃沙隆沙星(vosaroxin)(Sunesis Pharmaceuticals)、沙帕他滨(Cyclacel Pharmaceuticals)、伊达比星或米托蒽醌。在一些实施方案中,所述测试剂(如所述另外的药剂)包括低甲基化剂,例如,DNA甲基转移酶抑制剂,例如,阿扎胞苷或地西他滨。

[0635] 在另一个实施方案中,所述另外的疗法是移植,例如,同种异体干细胞移植。

[0636] 在一些实施方案中,所述另外的疗法是淋巴细胞清除疗法。在一些实施方案中,淋巴细胞清除是在例如给予工程化细胞(例如,CAR表达细胞)之前对受试者进行。在一些实施方案中,所述淋巴细胞清除包括给予以下中的一种或多种:美法仑、环磷酰胺(Cytoxan)、环磷酰胺(cyclophosphamide)和氟达拉滨。在一些实施方案中,在工程化细胞(例如,CAR表达细胞)的给予(例如,输注)之前、伴随所述给予或在所述给予之后,将淋巴细胞清除化学疗法给予受试者。在一个例子中,在工程化细胞(例如,CAR表达细胞)的给予之前将所述淋巴细胞清除化学疗法给予受试者。

[0637] 在一些实施方案中,所述测试剂(如所述另外的药剂)是溶瘤病毒。在一些实施方案中,溶瘤病毒能够在癌细胞中选择性复制并触发所述癌细胞的死亡或减慢所述癌细胞的生长。在一些情况下,溶瘤病毒对非癌细胞无影响或影响极小。溶瘤病毒包括但不限于溶瘤腺病毒、溶瘤单纯疱疹病毒、溶瘤逆转录病毒、溶瘤细小病毒、溶瘤痘苗病毒、溶瘤辛德毕斯病毒(oncolytic Sinbis virus)、溶瘤流感病毒或溶瘤RNA病毒(例如,溶瘤呼吸弧病毒、溶

瘤新城疫病毒(NDV)、溶瘤麻疹病毒或溶瘤水疱性口炎病毒(VSV))。

[0638] 其他示例性组合疗法、治疗和/或药剂包括抗过敏剂、止吐药、镇痛药和辅助疗法。在一些实施方案中,所述测试剂(如所述另外的药剂)包括细胞保护剂,如神经保护剂、自由基清除剂、心脏保护剂、蒽环类抗生素外渗中和剂和营养素。

[0639] 在一些实施方案中,用作测试剂(如所述另外的药剂)的抗体与本文所述的治疗剂缀合或以其他方式结合,所述治疗剂是例如化学治疗剂(例如,环磷酰胺、氟达拉滨、组蛋白脱乙酰酶抑制剂、脱甲基剂、肽疫苗、抗肿瘤抗生素、酪氨酸激酶抑制剂、烷化剂、抗微管剂或抗有丝分裂剂)、抗过敏剂、止吐药(anti-nausea agent)(或止吐药(anti-emetic))、止痛药或细胞保护剂。在一些实施方案中,所述测试剂(如所述另外的药剂)是抗体-药物缀合物。

[0640] 在一些实施方案中,可以使用一种或多种测试剂来评估或评价本文所述的任何另外的药剂,所述另外的药剂可以作为组合疗法、如在药物组合物中制备和给予,所述药物组合物包含所述组合疗法的一种或多种药剂和药学上可接受的载体,如本文所述的任一种。在一些实施方案中,给予所述测试剂以评价和/或评估组合疗法,所述组合疗法可以与另外的药剂、疗法或治疗同时、伴随或以任何顺序依次给予,其中这种给予在受试者体内提供每种所述药剂的治疗有效水平。在一些实施方案中,给予所述测试剂以评价或评估另外的药剂,所述另外的药剂可以在所提供的方法或用途中与组合疗法共给予,例如,作为相同的药物组合物的一部分或使用相同的递送方法。在一些实施方案中,给予所述测试剂以评估或评价另外的药剂,所述另外的药剂是与所述细胞疗法(例如,一定剂量的工程化T细胞(例如,CAR+T细胞))同时给予,但是是在单独组合物中给予。在一些实施方案中,在给予所述细胞之前,将所述另外的药剂与所述工程化细胞(例如,CAR表达细胞)一起孵育。

[0641] 在一些例子中,给予所述测试剂以评价一种或多种另外的药剂,所述另外的药剂是在给予所述细胞疗法(例如,一定剂量的工程化T细胞(例如,CAR+T细胞))之后或之前给予,相隔所选时间段。在一些例子中,所述时间段是1天、2天、3天、4天、5天、6天、1周、2周、3周、1个月、2个月或3个月。在一些例子中,所述一种或多种另外的药剂是多次给予。在一些实施方案中,在所提供的方法或用途中,所述另外的药剂是在所述细胞疗法(例如,一定剂量的工程化T细胞(CAR+T细胞))之前,例如,在给予之前2周、12天、10天、8天、1周、6天、5天、4天、3天、2天或1天给予。在一些实施方案中,在所提供的方法或用途中,所述另外的药剂是在所述细胞疗法(例如,一定剂量的工程化T细胞(例如,CAR+T细胞))之后,例如,在所述给予后2周、12天、10天、8天、1周、6天、5天、4天、3天、2天或1天给予。

[0642] 在一些实施方案中,给予所述测试剂以评估或评价所述另外的药剂的剂量,所述另外的药剂的剂量可以是任何治疗有效量,例如,本文所述的任何剂量量,并且所述另外的药剂的适当剂量可以取决于要治疗的疾病的类型、所给予的结合分子、重组受体、细胞和/或组合物的类型、剂量和/或频率、疾病的严重程度和病程、先前疗法、患者的临床病史和对细胞疗法(例如,一定剂量的工程化T细胞(CAR+T细胞))的反应、以及主治医师的决断。D.测量小鼠模型的体征、症状和结果

[0643] 在一些实施方案中,本文所提供的方法包括对毒性的一种或多种体征、症状和/或结果进行评估、测量、确定和/或定量的一个或多个步骤,例如以比较对接受测试剂、测试免疫疗法和/或测试淋巴细胞清除剂或疗法的小鼠中毒性的评估、测量和/或定量与对未接受

过所述测试剂、测试免疫疗法和/或测试淋巴细胞清除剂或疗法的小鼠中毒性的评估、测量和/或定量。

[0644] 在特定实施方案中，可以在小鼠中测量、评估、定量或检测的任何表型、属性、质量、体征、症状或结果可以用于比较本文所提供的小鼠模型的小鼠与另一种小鼠，例如已经接受测试剂、测试淋巴细胞清除剂和/或测试免疫疗法的小鼠。在一些实施方案中，将本文所提供的小鼠模型的小鼠与以下小鼠相比较：未接受任何治疗的小鼠(例如，初试小鼠)；或尚未被给予免疫疗法的小鼠；尚未被给予淋巴细胞清除剂或疗法(例如，如本文(如在第I.B节中)所述的淋巴细胞清除剂或疗法)的小鼠；尚未被给予抗原表达细胞的小鼠；和/或尚未被给予免疫疗法(例如，本文(如在第I.C节中)所述的免疫疗法)，但是已经被给予模拟或脱靶免疫疗法的小鼠。

[0645] 在一些实施方案中，对所述小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果进行评估、测量和/或定量是或包括对免疫疗法的体内扩增进行评估、测量和/或定量。在某些实施方案中，将对所述体内扩增的评估、测量和/或定量与另一种小鼠(例如接受测试剂和/或免疫疗法的小鼠和/或未接受过所述免疫疗法的小鼠)相比较。在一些实施方案中，通过在给予所述免疫疗法后的多个时间点收集一个或多个样品并对所述样品中的免疫疗法的量或水平进行测量或定量，对所述免疫疗法的体内扩增进行评估、测量和/或定量。在某些实施方案中，所述免疫疗法是细胞组合物，例如，CAR-T细胞组合物，并且对所述样品中的CAR-T细胞的量或水平进行测量或定量以确定所述免疫疗法的体内扩增。在一些实施方案中，所述样品是血液样品。在特定实施方案中，所述实施方案是组织样品。

[0646] 在一些实施方案中，对所述小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果进行评估、测量和/或定量是或包括对所述免疫疗法的体内持久性进行评估、测量和/或定量。在某些实施方案中，将对所述体内持久性的评估、测量和/或定量与另一种小鼠(例如接受测试剂和/或免疫疗法的小鼠和/或未接受过所述免疫疗法的小鼠)相比较。在某些实施方案中，通过在给予所述免疫疗法后的多个时间点收集一个或多个样品并对所述样品中免疫疗法的量或水平进行测量或定量，对所述免疫疗法的体内持久性进行评估、测量和/或定量。在某些实施方案中，所述免疫疗法是细胞组合物，例如，CAR-T细胞组合物，并且对所述样品中的CAR-T细胞的量或水平进行测量或定量以确定所述免疫疗法的持久性。在一些实施方案中，所述样品是血液样品。在特定实施方案中，所述实施方案是组织样品。

[0647] 在一些实施方案中，可以在给予后对所给予的免疫疗法的所述体内扩增和/或持久性的程度或范围进行检测或定量。例如，在一些方面，使用定量PCR(qPCR)或RNA测序(RNA-seq)来评估所述免疫疗法(例如，表达重组受体的细胞或CAR表达细胞)在血液或血清或器官或组织中的量。在一些方面，扩增和/或持久性被定量为所述免疫疗法编码、表达和/或含有的DNA或质粒的拷贝，如每微克DNA的受体(例如，CAR)或替代标记(例如，Thy1.1)，或者被定量为每微升样品(例如，血液或血清)中或每微升样品的血细胞或白细胞或T细胞的总数中受体表达细胞(例如，CAR表达细胞)的数量。在一些实施方案中，还可以进行检测表达所述受体的细胞的流式细胞术测定，其通常使用对所述受体具有特异性的抗体。还可以使用基于细胞的测定来检测功能细胞的数量或百分比，所述功能细胞如能够结合至和/或中和疾病或病症细胞或表达由所述受体所识别抗原的细胞的细胞，和/或能够诱导针对疾病或病症细胞或表达由所述受体所识别抗原的细胞的反应(例如细胞毒性反应)的细胞。

[0648] 在一些实施方案中，对所述小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果进行评估、测量和/或定量是或包括对所述免疫疗法的组织浸润进行评估、测量和/或定量。在某些实施方案中，将对组织浸润的评估、测量和/或定量与另一种小鼠(例如接受测试剂和/或免疫疗法的小鼠和/或未接受过所述免疫疗法的小鼠)相比较。在一些实施方案中，通过检测组织中所述免疫疗法的水平或量，对所述浸润进行评估、测量和/或定量。在某些实施方案中，所述免疫疗法是细胞组合物，例如，CAR-T细胞组合物，并且对组织中CAR-T细胞的量或水平进行测量或定量以确定所述免疫疗法的浸润。

[0649] 在一些实施方案中，可以在给予后对所给予的免疫疗法的浸润的程度或范围进行检测或定量。例如，在一些方面，使用定量PCR(qPCR)或RNA测序(RNA-seq)来评估所述免疫疗法(例如，表达重组受体的细胞或CAR表达细胞)在器官或组织中的量。在某些实施方案中，可以采用抗体染色技术(如免疫荧光、免疫组织化学和/或免疫组织化学)在组织或器官中(例如，在组织或器官的切片中)检测和/或鉴定所述免疫疗法(例如，CAR表达细胞)。在一些实施方案中，使用识别和/或结合至所述免疫疗法表达的重组受体或CAR的可检测抗体来评估在器官或组织中的浸润。在特定实施方案中，所述抗体不会结合至或识别对于所述小鼠为内源的任何抗原。在一些实施方案中，所述抗体识别或结合至并非由所述小鼠的内源细胞表达的分子，如替代标记。

[0650] 在一些实施方案中，对所述小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果进行评估、测量和/或定量是或包括对免疫疗法的体内活性进行评估、测量和/或定量。在某些实施方案中，将对所述体内活性的评估、测量和/或定量与另一种小鼠(例如接受测试剂和/或免疫疗法的小鼠和/或未接受过所述免疫疗法的小鼠)相比较。在一些实施方案中，通过测量在已给予免疫疗法后保留的靶标的量来确定所述免疫疗法的体内活性，所述靶标例如表达由所述免疫疗法结合和/或识别的抗原的细胞。在特定实施方案中，所述靶标是或包括作为癌细胞和/或肿瘤细胞的细胞。在一些实施方案中，所述细胞是抗原表达细胞，例如，本文(如在第I.D节中)所述的任何一种或多种抗原表达细胞。在一些实施方案中，所述抗原表达细胞是A20细胞。在某些实施方案中，所述免疫疗法所靶向的细胞可以通过任何合适的技术来定量，所述技术包括但不限于组织学(例如，以鉴定并测量病灶和/或肿瘤)、流式细胞术分析、抗体染色技术(如免疫荧光、免疫组织化学和/或免疫组织化学)、蛋白质印迹分析和/或qPCR。

[0651] 在特定实施方案中，对所述小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果进行评估、测量和/或定量是或包括对炎症和/或免疫应答，和/或与炎症和/或免疫应答相关的一种或多种生物标记进行评估、测量和/或定量。在某些实施方案中，将对所述炎症和/或免疫应答的评估、测量和/或定量与另一种小鼠(例如接受测试剂和/或免疫疗法的小鼠和/或未接受过所述免疫疗法的小鼠)相比较。在某些实施方案中，对炎症和/或免疫应答、和/或与炎症和/或免疫应答相关的一种或多种生物标记进行评估、测量和/或定量可以通过任何合适的方法来进行，包括本文所述的任何方法或技术。

[0652] 在一些实施方案中，与炎症和/或免疫应答相关的生物标记包括与免疫应答或炎症应答相关而增加或减少的任何分子。在一些实施方案中，所述生物标记是蛋白质、多核苷酸(例如，mRNA)、脂质、糖。在一些实施方案中，所述生物标记是蛋白质。在一些实施方案中，所述生物标记是特定状态的蛋白质，例如，具有或含有一种或多种翻译后修饰的蛋白质。在

一些实施方案中，翻译后修饰是指在蛋白质合成期间或之后对多肽的任何修饰。翻译后修饰包括但不限于磷酸化、乙酰化、甲基化、糖基化、脂化、豆蔻酰化、棕榈酰化、法尼基化、香叶酰香叶酰化、甲酰化、酰胺化、糖基磷脂酰肌醇化、脂酰化(lipoylation)、酰化、丁酰化、丙二酰化、羟基化、S-亚硝基化、琥珀酰化、SUMO化、泛素化和类泛素化(neddylation)。

[0653] 在一些实施方案中，对所述小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果进行评估、测量和/或定量是或包括对所述小鼠中一种或多种细胞因子的水平或量进行评估、测量和/或定量。在特定实施方案中，将对一种或多种细胞因子的评估、测量和/或定量与另一种小鼠(例如接受测试剂和/或免疫疗法的小鼠和/或未接受过所述免疫疗法的小鼠)相比较。

[0654] 在一些实施方案中，对来自血液或血清样品的一种或多种细胞因子进行评估、测量和/或定量。在某些实施方案中，对来自组织样品的一种或多种细胞因子进行评估、测量和/或定量。在某些实施方案中，通过任何合适的方式来测量一种或多种细胞因子。例如，在特定实施方案中，细胞因子可以通过以下方式来检测:ELISA(包括直接、间接、夹心式、竞争性、多重和便携式ELISA(参见例如，美国专利号7,510,687))、蛋白质印迹(包括一维、二维或更高维印迹或其他色谱方式，任选地包括肽测序)、RIA(放射免疫测定)、SPR(表面等离子体共振)、基于核酸或基于蛋白质的适体技术、HPLC(高精度液相色谱)、肽测序(如Edman降解测序或质谱(如MS/MS)，任选地与HPLC联用)和前述任一项的微阵列改编(包括核酸、抗体或蛋白质-蛋白质(即，非抗体)阵列)。

[0655] 在某些实施方案中，可以通过对编码细胞因子的基因的表达进行测量和/或定量，和或通过对响应于细胞因子上调或下调的基因进行测量和/或定量，对所述细胞因子进行评估、测量和/或定量。

[0656] 在某些实施方案中，对所述小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果进行评估、测量和/或定量是或包括对一种或多种基因的表达进行评估、测量和/或定量。在特定实施方案中，将对一种或多种基因的表达的评估、测量和/或定量与另一种小鼠(例如接受测试剂和/或免疫疗法的小鼠和/或未接受过所述免疫疗法的小鼠)相比较。在某些实施方案中，对基因的表达进行评估、测量、确定和/或定量是或包括对所述基因编码的基因产物的量或水平进行评估、测量、确定和/或定量。在某些实施方案中，所述基因产物是所述基因表达或编码的多核苷酸。在一些实施方案中，所述基因产物是蛋白质。在特定实施方案中，将所述基因表达针对未接受过所述免疫疗法的小鼠(例如，初试小鼠)的所述基因表达进行比较和/或归一化。

[0657] 在某些实施方案中，对所述小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果进行评估、测量和/或定量是或包括对脑中一种或多种基因的表达进行评估、测量和/或定量。在某些实施方案中，在脑中测量一种或多种基因的表达，所述基因与通过以下限定的种类(例如，基因本体种类)相关或属于所述种类:对细胞因子的应答、对干扰素-β的应答、对干扰素-β的细胞应答、通过MHCI类进行的肽抗原的抗原加工和呈递、对细胞形态发生的调节、对细胞因子刺激物的细胞应答、肽抗原的抗原加工和呈递、先天免疫应答、对干扰素-γ的应答、抗原加工和呈递、细胞连接组装、血管发生、对细胞投射组织化的正向调节、对神经元投射发育的调节、血管形态发生、对蛋白质修饰过程的负向调节、对神经递质受体活性的调节、对细胞形状的调节、对细胞组分大小的调节、对流体剪切应力的应答、细胞连接组织化、肌动蛋白丝组织化、胞吞作用、对干扰素γ的细胞应答、对谷氨酸受体信号传导途径的调

节、对磷酸化的负向调节、内源肽抗原的抗原加工和呈递、对肽激素的应答、对细胞组分生物发生的正向调节和/或对细胞迁移的正向调节。

[0658] 在一些实施方案中，通过测量所述基因表达的多核苷酸(例如，mRNA多核苷酸)来测量基因表达。在一些实施方案中，通过测量所述基因表达的mRNA多核苷酸产生的cDNA来测量所述基因表达。

[0659] 在特定实施方案中，可以对多核苷酸的量或水平进行评估、测量、确定和/或定量作为常规事项。例如，在一些实施方案中，可以通过以下方式对多核苷酸基因产物的量或水平进行评估、测量、确定和/或定量：聚合酶链式反应(PCR)，包括逆转录酶(rt)PCR、微滴式数字PCR、实时和定量PCR方法(包括例如，TAQMAN®、分子信标、LIGHTUP™、SCORPION™、SIMPLEPROBES®；参见例如，美国专利号5,538,848；5,925,517；6,174,670；6,329,144；6,326,145和6,635,427)；DNA印迹；例如逆转录产物和衍生物的DNA印迹；基于阵列的方法，包括印迹阵列、微阵列或原位合成阵列；和测序，例如，合成法测序、焦磷酸测序、双脱氧测序或连接法测序，或者本领域中已知的任何其他方法，如Shendure等人，Nat.Rev.Genet.5:335-44(2004)或Nowrousian,Euk.Cell 9(9):1300-1310(2010)中所讨论，包括诸如以下的这样的特定平台：HELICOS®、ROCHE® 454、ILLUMINA®/SOLEXA®、ABI SOLiD®和POLONATOR®测序。在特定实施方案中，核酸基因产物的水平是通过qRT-PCR来测量。

[0660] 在特定实施方案中，同时测量或评估两种或更多种所述基因的表达。在某些实施方案中，多重PCR(例如，多重rt-PCR)对两种或更多种基因产物的水平或量进行评估、测量、确定和/或定量。在一些实施方案中，使用微阵列(例如，AFFYMETRIX®、AGILENT®和ILLUMINA®型阵列)对两种或更多种基因产物的水平或量进行评估、测量、确定和/或定量。在一些实施方案中，使用微阵列对衍生自RNA基因产物的cDNA多核苷酸的水平或量进行评估、测量、确定和/或定量。

[0661] 特定实施方案中，通过RNA-Seq对一种或多种多核苷酸的表达进行测量、确定和/或定量。RNA测序方法已经针对最常见的DNA测序平台[HiSeq系统(Illumina)、454Genome Sequencer FLX系统(Roche)、Applied Biosystems SOLiD(Life Technologies)、IonTorrent(Life Technologies)]进行改编。这些平台需要首先将RNA逆转录为cDNA。

[0662] 在某些实施方案中，基因表达是通过测量所述基因编码的蛋白质来评估。对一种或多种蛋白质的水平或量进行评估、测量、确定和/或定量的合适的方法包括但不限于定量免疫细胞化学或免疫组织化学、ELISA(包括直接、间接、夹心式、竞争性、多重和便携式ELISA(参见例如，美国专利号7,510,687))、蛋白质印迹(包括一维、二维或更高维印迹或其他色谱方式，任选地包括肽测序)、RIA(放射免疫测定)、SPR(表面等离子体共振)、基于核酸或基于蛋白质的适体技术、HPLC(高精度液相色谱)、肽测序(如Edman降解测序或质谱(如MS/MS)，任选地与HPLC联用)和前述任一项的微阵列改编(包括核酸、抗体或蛋白质-蛋白质(即，非抗体)阵列)。

[0663] 在某些实施方案中，对在所述小鼠模型中差异表达的基因的鉴定可以用于鉴定一种或多种测试剂的潜在靶标，例如用于鉴定用以治疗或改善毒性的候选药剂。

[0664] 在某些实施方案中，对所述小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果进行评

估、测量和/或定量是或包括进行评估、测量和/或定量脑水肿。在特定实施方案中，将对脑水肿的评估、测量和/或定量与另一种小鼠(例如接受测试剂和/或免疫疗法的小鼠和/或未接受过所述免疫疗法的小鼠)相比较。在一些实施方案中，通过检测脑含水量对脑水肿进行评估、测量和/或定量。

[0665] 在某些实施方案中，通过测量脑的湿重和干重对脑含水量进行测量、确定和/或定量。在一些实施方案中，所述脑含水量是脑湿重减脑干重的差除以脑湿重的比率乘以100。在特定实施方案中，所述脑含水量是[(脑湿重-脑干重)/脑湿重]*100。在特定实施方案中，确定脑含水量作为常规事项，并且可以例如通过以下文献中所述的任何方法来进行：Kimbler等人PLoS ONE 7(7):e41229(2001)；和Wang等人Annals of Clinical and Laboratory science 1(42):14-20(2012)。

[0666] 在一些实施方案中，对所述小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果进行评估、测量和/或定量是或包括对血液和/或血液化学的方面进行评估、测量和/或定量。在某些实施方案中，将对血液和/或血液化学的方面的评估、测量和/或定量与另一种小鼠(例如接受测试剂和/或免疫疗法的小鼠和/或未接受过所述免疫疗法的小鼠)相比较。在某些实施方案中，检测血液化学的一个或多个方面。在一些实施方案中，血液化学的方面包括但不限于以下的水平、量或浓度：电解质、酸碱水平、血液铁含量、激素水平、心血管功能的标记、和蛋白质(例如，血清白蛋白)。在某些实施方案中，可以通过常规方式评估血液和/或血液化学的方面，所述常规方式包括通过常规医学实验室分析，包括使用兽医学诊断面板和/或标准血液化学面板。在某些实施方案中，可以通过标准研究实验室技术对血液化学的方面进行测量、定量和/或评估，所述标准研究实验室技术如免疫测定、ELISA、蛋白质印迹、高效液相色谱和质谱。

[0667] 在一些实施方案中，对所述小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果进行评估、测量和/或定量是或包括对组织损伤的方面进行评估、测量和/或定量。在某些实施方案中，将对所述组织损伤的评估、测量和/或定量与另一种小鼠(例如接受测试剂和/或免疫疗法的小鼠和/或未接受过所述免疫疗法的小鼠)相比较。在某些实施方案中，对组织损伤的标记进行定量。在特定实施方案中，组织损伤的标记包括但不限于纤维化、髓外造血、浸润(例如，组织细胞肉芽肿性浸润)、病灶和坏死。在某些实施方案中，通过病理生理学技术(如对从组织和/或器官获得的切片进行组织学染色)对组织损伤进行评估、测量和/或定量。在某些实施方案中，所述切片是冷冻切片，半薄切片，石蜡固定和/或包埋的切片，或在福尔马林、甲醛和/或多聚甲醛中固定的切片。在一些实施方案中，用一种或多种组织学染色对所述组织进行染色，包括但不限于苏木精和伊红(H&E)、甲基绿、亚甲蓝、派洛宁G、甲苯胺蓝、酸性富信(acid fushin)、苯胺蓝和/或橙黄G、马松三色(Masson's trichrome)、高碘酸-希夫反应、阿尔新蓝、范吉森氏染剂、网硬蛋白染色剂、吉姆萨染色剂(giemsa)、尼氏(Nissl)和亚甲蓝、和/或苏丹黑和锇。鉴定组织损伤的方法是常规的，并且描述于例如以下文献中：Scudamore,"A Practical Guide to Histology in the Mouse",John Wiley&Sons Inc.,纽约州(2014)；Treuting等人"Comparative Anatomy and Histology",Elsevier,阿姆斯特丹(2012)；Conti等人"Atlas of Laboratory Mouse Histology",Texas Histopages(2004)；和Gude,"Histological Atlas of the Laboratory Mouse",Springer,纽约州,(1982)。

[0668] 在一些实施方案中，对所述小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果进行评估、测量和/或定量是或包括对小鼠生理学和/或行为的一个或多个方面进行评估、测量和/或定量。在某些实施方案中，将对生理学和/或行为的评估、测量和/或定量与另一种小鼠(例如接受测试剂和/或免疫疗法的小鼠和/或未接受过所述免疫疗法的小鼠)相比较。在某些实施方案中，小鼠生理学和/或行为的所述方面是或包括疾病或应激的体征。在一些实施方案中，疾病或应激的体征可以包括但不限于诸如以下的行为：避开同笼小鼠、运动活动减少、发声增加、步态改变、驼背的姿势、理毛行为减少和/或缺少、毛发粗糙、食物和/或水耗尽减少、粪便或尿液排出减少、脱水、呼吸困难、斜眼/凹眼、自残行为增加、秃发、皮炎(例如，溃疡性皮炎)、和/或分泌卟啉(即，血泪症)。在一些实施方案中，小鼠行为的所述方面是食物摄入，例如，食物摄入减少。在特定实施方案中，小鼠行为的所述方面是或包括食物摄入减少、水摄入减少、理毛行为减少和/或运动活动减少。在一些实施方案中，小鼠生理学的所述方面是体重，例如，体重减轻；或体温，例如，体温降低。

[0669] 在特定实施方案中，对小鼠生理学和/或行为的方面进行评估、测量和/或定量作为常规事项。用于评估和/或测量小鼠生理学和行为的方面的方法综述于以下文献中：Hedrich，“The Laboratory Mouse，Second Edition”，Elsevier，阿姆斯特丹(2012)；Crawly，“What’s Wrong with My Mouse?”，Wiley(2007)；和Bogdanske等人，“Laboratory Mouse Procedural Techniques”，CRC Press(2010)。

[0670] 在一些实施方案中，对所述小鼠模型的一种或多种体征、症状和/或结果进行评估、测量和/或定量是或包括评估发病或死亡和/或死亡概率。在某些实施方案中，评估发病或死亡是或包括评估毒性的任何体征或症状的严重程度，例如包括降低的体温和/或体重。在一些实施方案中，通过以下方式来评估发病或死亡：评价小鼠以确定所述小鼠是否需要干预，例如，通过皮下注射流体、暴露于软质食物和/或与加热垫接触来治疗。在一些实施方案中，通过以下方式来评估发病或死亡：评价小鼠以确定所述小鼠是否需要安乐死作为人为干预以防止不必要的痛苦。在特定实施方案中，发病或死亡概率是或包括确定在给定时间段内所述小鼠将需要干预或安乐死的概率。

[0671] 1.组合物和配制品

[0672] 在一些实施方案中，所述免疫疗法(如用重组受体遗传工程化的细胞(例如，CAR-T细胞))、所述淋巴细胞清除剂或疗法、所述抗原表达细胞和/或任何测试剂、测试淋巴细胞清除剂和/或测试免疫疗法是作为组合物来提供，包括药物组合物和/或药物配制品。在一些实施方案中，所述免疫疗法是以组合物来提供，如单位剂型组合物，其包括用于以给定剂量或其部分给予的一定量的T细胞接合疗法或一定数量的细胞组合物的细胞。所述药物组合物和配制品通常包括一种或多种任选的药学上可接受的载体或赋形剂。

[0673] 术语“药物配制品”是指这样的制剂，其处于使得其中所含活性成分的生物活性有效的形式，并且不含对给予配制品的受试者具有不可接受的毒性的另外的组分。

[0674] “药学上可接受的载体”是指药物配制品中除了活性成分之外对受试者无毒的成分。药学上可接受的载体包括但不限于缓冲液、赋形剂、稳定剂或防腐剂。

[0675] 在一些方面，载体的选择部分取决于特定细胞和/或给予方法。因此，存在多种合适的配制品。例如，所述药物组合物可以含有防腐剂。合适的防腐剂可以包括例如对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、苯甲酸钠和苯扎氯铵。在一些方面，使用两种或更多种防腐

剂的混合物。所述防腐剂或其混合物通常以按总组合物的重量计约0.0001％至约2％的量存在。载体描述于例如以下文献中:Remington's Pharmaceutical Sciences第16版,Osol,A.编辑(1980)。药学上可接受的载体在所用剂量和浓度下通常对接受者无毒,并且包括但不限于:缓冲液,如磷酸盐、柠檬酸盐和其他有机酸;抗氧化剂,包括抗坏血酸和甲硫氨酸;防腐剂(如十八烷基二甲基苄基氯化铵;六甲氯铵;苯扎氯铵;苄索氯铵;苯酚、丁醇或苄醇;烷基对羟基苯甲酸酯,如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯;儿茶酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇;和间甲酚);低分子量(少于约10个残基)多肽;蛋白质,如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水性聚合物,如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸,如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸;单糖、二糖和其他碳水化合物,包括葡萄糖、甘露糖或糊精;螯合剂,如EDTA;糖类,如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨醇;成盐抗衡离子,如钠;金属络合物(例如锌-蛋白质络合物);和/或非离子表面活性剂,如聚乙二醇(PEG)。

[0676] 在一些方面,所述组合物中包括缓冲剂。合适的缓冲剂包括例如柠檬酸、柠檬酸钠、磷酸、磷酸钾和各种其他酸和盐。在一些方面,使用两种或更多种缓冲剂的混合物。所述缓冲剂或其混合物通常以按总组合物的重量计约0.001％至约4％的量存在。用于制备可给予的药物组合物的方法是已知的。示例性方法更详细地描述于例如以下文献中:Remington:The Science and Practice of Pharmacy,Lippincott Williams&Wilkins;第21版(2005年5月1日)。

[0677] 所述配制品可以包括水溶液。所述配制品或组合物还可含有可用于用细胞治疗的特定适应症、疾病或病症的多于一种活性成分,优选具有与所述细胞互补的活性的那些成分,其中各自的活性不会相互产生不利影响。此类活性成分以有效用于既定目的的量以合适的方式组合存在。因此,在一些实施方案中,所述药物组合物还包括其他药物活性药剂或药物,如化学治疗剂,例如,天冬酰胺酶、白消安、卡铂、顺铂、柔红霉素、多柔比星、氟尿嘧啶、吉西他滨、羟基脲、甲氨蝶呤、紫杉醇、利妥昔单抗、长春碱和/或长春新碱。

[0678] 在一些实施方案中,所述药物组合物以在小鼠中有效产生、刺激或触发与毒性相关的一种或多种体征、症状和/或结果的量含有所述免疫疗法。所需剂量可以通过所述免疫疗法的单次推注给予、通过所述免疫疗法的多次推注给予、或通过所述免疫疗法的连续输注给予来递送。

[0679] 可以使用标准给予技术、配制品和/或装置来给予所述细胞和组合物。所述细胞的给予可以是自体的或异源的。例如,免疫应答细胞或祖细胞可以从一种小鼠(例如,供体小鼠)获得,并且给予相同的小鼠或不同的相容性小鼠,例如,具有相同的品系、亚品系和/或基因构成的小鼠。衍生自供体小鼠或其后代(例如,体内、离体或体外衍生)的免疫应答细胞可以通过局部注射(包括导管给予)、全身注射、局部注射、静脉内注射或肠胃外给予来给予。

[0680] 配制品包括用于口服、静脉内、腹膜内、皮下、经肺、透皮、肌内、鼻内、经颊、舌下或栓剂给予的那些。在一些实施方案中,肠胃外给予细胞群。如本文所用的术语"肠胃外"包括静脉内、肌内、皮下、直肠、阴道和腹膜内给予。在一些实施方案中,通过静脉内、腹膜内或皮下注射使用外周全身递送将细胞给予受试者。

[0681] 在一些实施方案中,组合物作为无菌液体制剂提供,例如等渗水溶液、悬浮液、乳液、分散体或粘性组合物,其在一些方面可以被缓冲至选择的pH。液体制剂通常比凝胶、其

他粘性组合物和固体组合物更容易制备。另外，液体组合物稍微更方便给予，特别是通过注射。另一方面，粘性组合物可以配制在适当的粘度范围内，以提供与特定组织的更长的接触时间。液体或粘性组合物可以包含载体，所述载体可以是溶剂或分散介质，所述溶剂或分散介质含有例如水、盐水、磷酸盐缓冲盐水、多元醇(例如，甘油、丙二醇、液体聚乙二醇)及其合适的混合物。

[0682] 无菌可注射溶液可以通过将细胞掺入溶剂中来制备，如与合适的载体、稀释剂或赋形剂(如无菌水、生理盐水、葡萄糖、右旋糖等)混合。组合物可以含有辅助物质，如润湿剂、分散剂或乳化剂(例如甲基纤维素)、pH缓冲剂、胶凝或粘度增强添加剂、防腐剂、调味剂和/或颜料，这取决于给予途径和所需的制剂。在一些方面，可以查阅标准文本来制备合适的制剂。

[0683] 可以添加增强组合物的稳定性和无菌性的各种添加剂，包括抗微生物防腐剂、抗氧化剂、螯合剂和缓冲液。可以通过各种抗细菌和抗真菌剂(例如对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚和山梨酸)来确保对微生物作用的防止。可以通过使用延迟吸收的药剂(例如单硬脂酸铝和明胶)来实现可注射药物形式的延长吸收。

[0684] 用于体内给予的配制品通常是无菌的。可以例如通过经无菌滤膜过滤容易地实现无菌。

[0685] 在过继细胞疗法的背景下，给定“剂量”的给予涵盖以单一组合物和/或单次不间断给予的方式(例如以单次注射或连续输注的方式)给予给定量或数量的细胞，并且还涵盖以分割剂量的方式给予给定量或数量的细胞，所述分割剂量是在不超过3天的指定时间段中在多个单独组合物或输注中提供。因此，在一些情况下，所述剂量是指定数量的细胞的单一或连续给予，在单一时间点给予或起始。然而，在一些情况下，所述剂量是在不超过三天的时间段中以多次注射或输注给予，如一天一次持续三天或持续两天，或通过在一天时间段中多次输注来给予。

[0686] 因此，在一些方面，所述细胞是以单一药物组合物给予。

[0687] 在一些实施方案中，所述细胞是以共同含有单一剂量的所述细胞的多个组合物给予。

[0688] 因此，在一些方面，一个或多个剂量可以作为分割剂量来给予。例如，在一些实施方案中，可以在2天中或在3天中将所述剂量给予受试者。用于分割给药的示例性方法包括在第一天给予所述剂量的25％并在第二天给予所述剂量的剩余75％。在其他实施方案中，可以在第一天给予所述剂量的33％，并且在第二天给予剩余的67％。在一些方面，在第一天给予所述剂量的10％，在第二天给予所述剂量的30％，并且在第三天给予所述剂量的60％。在一些实施方案中，所述分割剂量持续不超过3天。

[0689] 在一些实施方案中，在一些方面，使用与关于第一剂量与第二剂量之间的时间安排的那些指南相同的时间安排指南给予多个剂量，例如，通过给予第一剂量和多个后续剂量，其中每个后续剂量是在给予第一或先前剂量后大于约28天的时间点给予。

[0690] IV.定义

[0691] 除非另外定义，否则本文使用的所有技术术语、符号和其他技术和科学术语或用辞旨在具有与所要求保护的主题所属领域的普通技术人员的通常理解的含义相同的含义。在一些情况下，为了清楚和/或为了便于参考而在本文中定义具有通常理解的含义的术语，

并且本文中包含的此类定义不应一定被解释为表示与本领域通常理解的实质性差异。

[0692] 如本文所用,叙述核苷酸或氨基酸位置“对应于”所公开序列中的核苷酸或氨基酸位置(例如序列表中所示)是指,在使用标准比对算法(例如GAP算法)与所公开序列比对以使同一性最大化之后,所鉴定的核苷酸或氨基酸位置。通过比对序列,本领域技术人员可例如使用保守和相同的氨基酸残基作为指导来鉴别相应残基。通常,为了鉴定对应位置,比对氨基酸序列使得获得最高阶匹配(参见,例如:Computational Molecular Biology,Lesk,A.M.编辑,Oxford University Press,纽约州,1988;Biocomputing:Informatics and Genome Projects,Smith,D.W.编辑,Academic Press,纽约州,1993;Computer Analysis of Sequence Data,Part I,Griffin,A.M.和Griffin,H.G.编辑,Humana Press,新泽西州,1994;Sequence Analysis in Molecular Biology,von Heinje,G.,Academic Press,1987;和Sequence Analysis Primer,Gribskov,M.和Devereux,J.编辑,M Stockton Press,纽约州,1991;Carrillo等人(1988)SIAM J Applied Math 48:1073)。

[0693] 如本文所用,“序列同一性百分比(%)”和“同一性百分比”在关于核苷酸序列(参考核苷酸序列)或氨基酸序列(参考氨基酸序列)使用时被分别定义为,在比对候选序列与参考序列并引入空位(如果需要)以实现最大序列同一性百分比之后,所述候选序列中与参考序列中的残基相同的核苷酸残基或氨基酸残基的百分比。用于确定序列同一性百分比的目的的比对可以以本领域技术范围内的多种方式来实现,例如,使用公众可获得的计算机软件,如BLAST、BLAST-2、ALIGN或Megalign(DNASTAR)软件。本领域技术人员可以确定用于比对序列的适当参数,包括在所比较序列的全长中实现最大比对所需的任何算法。

[0694] 如本文所用,在关于氨基酸序列(参考多肽序列)使用时,“氨基酸序列同一性百分比(%)”和“同一性百分比”定义为,在比对序列并在必要时引入空位以实现最大序列同一性百分比并且不将任何保守取代视作序列同一性的一部分之后,候选序列(例如,主题抗体或片段)中与参考多肽序列中的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分比。用于确定氨基酸序列同一性百分比的比对可以以本领域熟知的多种方式来实现,例如,使用公众可获得的计算机软件,如BLAST、BLAST-2、ALIGN或Megalign(DNASTAR)软件。本领域技术人员可以确定用于比对序列的适当参数,包括在所比较序列的全长中实现最大比对所需的任何算法。

[0695] 氨基酸取代可以包括用另一种氨基酸替代多肽中的一个氨基酸。示例性取代在表1中示出。可以将氨基酸取代引入目的结合分子(例如抗体)和针对所需活性(例如,保留/改进的抗原结合、降低的免疫原性或改进的ADCC或CDC)筛选的产物中。

[0696] 通常可以根据以下常见的侧链特性将氨基酸进行分组:

[0697] (1)疏水性:正亮氨酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile;

[0698] (2)中性亲水性:Cys、Ser、Thr、Asn、Gln;

[0699] (3)酸性:Asp、Glu;

[0700] (4)碱性:His、Lys、Arg;

[0701] (5)影响链取向的残基:Gly、Pro;

[0702] (6)芳香族:Trp、Tyr、Phe

[0703] 非保守氨基酸取代将涉及将这些类别之一的成员与另一个类别交换。

[0704] 除非上下文明确指示其他含义,否则如本文所用的单数形式“一个/一种(a)”、“一个/一种(an)”和“所述”包括复数指示物。例如,“一个/一种(a)”或“一个/一种(an)”意指

“至少一个/种”或“一个/种或多个/种”。应理解，本文描述的方面和变化包括“由方面和变化组成”和/或“本质上由方面和变化组成”。

[0705] 在整个本公开文本中，要求保护的主题的各个方面以范围形式呈现。应当理解，范围形式的描述仅仅是为了方便和简洁，并且不应该被解释为对所要求保护的主题的范围的硬性限制。因此，应该认为范围的描述明确公开了所有可能的子范围以及所述范围内的单独数值。例如，在提供值的范围的情况下，应理解，该范围的上限与下限之间的每个中间值以及该所述范围中的任何其他所述值或中间值涵盖于要求保护的主题内。这些较小范围的上限和下限可以独立地被包括在所述较小范围内，并且也涵盖在所要求保护的主题内，受制于在所陈述范围内任何明确排除的限值。在所陈述范围包括所述限值中的一个或两个的情况下，排除那些所包括限值中的任何一个或两个的范围也包括在所要求保护的主题内。无论范围的广度如何，这都适用。

[0706] 如本文所用术语“约”是指本技术领域的技术人员容易知道的相应值的常用误差范围。本文中在提到“约”某个值或参数时包括(并描述)涉及该值或参数本身的实施方案。例如，提及“约X”的描述包括“X”的描述。在一些实施方案中，“约”是指在所述值或参数的±25％、±20％、±15％、±10％、±5％或±1％内。

[0707] 术语“多肽”与“蛋白质”可互换使用以指代氨基酸残基的聚合物，并且不限于最小长度。多肽(包括所提供的抗体和抗体链和其他肽，例如接头)可以包括氨基酸残基，包括天然和/或非天然氨基酸残基。所述术语还包括多肽的表达后修饰，例如，糖基化、唾液酸化、乙酰化、磷酸化等。在一些方面，所述多肽可以含有关于自然或天然序列的修饰，只要所述蛋白质维持所需活性即可。这些修饰可能是故意的(如通过定点诱变)，或者可能是偶然的(如通过产生所述蛋白质的宿主的突变或由于PCR扩增引起的错误)。

[0708] 如本文所用，组合物是指两种或更多种产物、物质或化合物(包括细胞)的任何混合物。其可以是溶液、悬浮液、液体、粉末、糊剂、水性、非水性或其任何组合。

[0709] 如本文所用，细胞或细胞群针对特定标记呈“阳性”的陈述是指，特定标记(通常是表面标记)在细胞上或细胞中的可检测存在。当提及表面标记时，所述术语是指如通过流式细胞术检测到的，表面表达的存在，例如通过用与所述标记特异性结合的抗体进行染色并检测所述抗体，其中所述染色通过流式细胞术以如下水平是可检测的，所述水平基本上高于在其他方面相同的条件下用同种型匹配对照进行相同程序检测到的染色，和/或所述水平与已知对所述标记呈阳性的细胞的水平基本上相似，和/或所述水平基本上高于已知对所述标记呈阴性的细胞的水平。

[0710] 如本文所用，细胞或细胞群对特定标记呈“阴性”的陈述是指，特定标记(通常是表面标记)在细胞上或细胞中不存在基本上可检测的存在。当提及表面标记时，所述术语是指如通过流式细胞术检测到的，表面表达的不存在，例如通过用与所述标记特异性结合的抗体进行染色并检测所述抗体，其中所述染色通过流式细胞术以如下水平没有检测到，所述水平基本上高于在其他方面相同的条件下用同种型匹配对照进行相同程序检测到的染色，和/或所述水平基本上低于已知对所述标记呈阳性的细胞的水平，和/或所述水平与已知对所述标记呈阴性的细胞的水平相比是基本上相似的。

[0711] V.示例性实施方案

[0712] 所提供的实施方案包括：

[0713] 1.一种产生免疫疗法相关毒性或免疫疗法相关毒性结果的小鼠模型的方法,所述方法包括:

[0714] i)将淋巴细胞清除剂或疗法给予免疫活性小鼠,其中所述淋巴细胞清除剂或疗法不包括全身放射和/或不包括完全或基本上完全的免疫消融;和

[0715] ii)随后向所述小鼠给予免疫疗法,其中所述免疫疗法结合至和/或识别在所述免疫活性小鼠的细胞或组织之上或之中表达的抗原。

[0716] 2.根据实施方案1所述的方法,其中所述抗原是在鼠类细胞上天然表达的抗原,和/或所述抗原是细胞表面抗原,和/或所述免疫疗法结合至或识别所述抗原的细胞外表位。

[0717] 3.根据实施方案1或实施方案2所述的方法,其中所述细胞是鼠类细胞。

[0718] 4.根据实施方案1-3中任一项所述的方法,其中所述抗原在循环细胞的表面上表达,或者所述细胞是循环细胞。

[0719] 5.根据实施方案1-4中任一项所述的方法,其中所述抗原是B细胞抗原,或者是在B细胞的表面上表达,或者其中所述细胞是鼠类B细胞。

[0720] 6.根据实施方案1-5中任一项所述的方法,其中所述免疫疗法是刺激或激活免疫细胞的药剂。

[0721] 7.根据实施方案6所述的方法,其中所述免疫疗法是T细胞接合疗法,任选地,其中所述T细胞接合疗法包括双特异性抗体,其中至少一个结合部分特异性地结合至T细胞抗原,任选地CD3。

[0722] 8.根据实施方案6或实施方案7所述的方法,其中所述T细胞接合疗法的氨基酸序列包括鼠类序列,和/或对所述小鼠无免疫原性。

[0723] 9.根据实施方案1-5中任一项所述的方法,其中所述免疫疗法包括细胞疗法,所述细胞疗法任选地包括表达重组受体的遗传工程化细胞的剂量或组合物。

[0724] 10.根据实施方案9所述的方法,其中所述工程化细胞包含从生物样品获得的细胞,所述生物样品来自所述免疫活性小鼠或来自与所述免疫活性小鼠属于相同品系或亚品系的小鼠。

[0725] 11.根据实施方案10所述的方法,其中所述生物样品包含脾细胞。

[0726] 12.根据实施方案9-11中任一项所述的方法,其中所述工程化细胞包含NK细胞或T细胞,任选地,其中所述T细胞是CD4+和/或CD8+T细胞。

[0727] 13.一种产生免疫疗法相关毒性或免疫疗法相关毒性结果的小鼠模型的方法,所述方法包括:

[0728] i)将淋巴细胞清除剂或疗法给予免疫活性小鼠,其中所述淋巴细胞清除剂或疗法不包括全身放射和/或不包括完全或基本上完全的免疫消融;和

[0729] ii)随后向所述小鼠给予细胞疗法,所述细胞疗法包括表达重组受体的鼠类T细胞,所述重组受体结合至和/或识别在所述免疫活性小鼠的B细胞上表达的鼠类抗原。

[0730] 14.根据实施方案9-13中任一项所述的方法,其中所述重组受体是T细胞受体或功能性非T细胞受体。

[0731] 15.根据实施方案9-14中任一项所述的方法,其中所述重组受体是嵌合受体,任选地嵌合抗原受体(CAR)。

[0732] 16.根据实施方案9-15中任一项所述的方法,其中:

[0733] 所述重组受体的氨基酸序列是鼠类的;和/或

[0734] 所述嵌合受体的单独区域或结构域包含天然鼠类蛋白的区域或结构域和/或包含鼠类序列;和/或

[0735] 所述嵌合受体的单独区域或结构域对所述小鼠无免疫原性。

[0736] 17.根据实施方案15或实施方案16所述的方法,其中所述重组受体是嵌合抗原受体(CAR),并且所述CAR包含特异性地结合至所述抗原的细胞外抗原结合结构域。

[0737] 18.根据实施方案17所述的方法,其中所述抗原结合结构域是抗体或抗原结合片段,其中所述抗原结合片段任选地是单链片段,任选地scFv。

[0738] 19.根据实施方案15-18中任一项所述的方法,其中所述CAR包含含有ITAM的细胞内信号传导结构域,其中任选地,所述细胞内信号传导结构域包含CD3-zeta(CD3ζ)链任选鼠类CD3-ζ的细胞内结构域。

[0739] 20.根据实施方案19所述的方法,其中所述细胞内信号传导结构域进一步包含共刺激信号传导区,所述共刺激信号传导区任选地包含CD28或4-1BB任选鼠类CD28或鼠类4-1BB的信号传导结构域。

[0740] 21.根据实施方案1-20中任一项所述的方法,其中所述抗原是或包含ROR1、B细胞成熟抗原(BCMA)、碳酸酐酶9(CAIX)、tEGFR、Her2/neu(受体酪氨酸激酶erbB2)、L1-CAM、CD19、CD20、CD22、间皮素、CEA和乙型肝炎表面抗原、抗叶酸受体、CD23、CD24、CD30、CD33、CD38、CD44、EGFR、上皮糖蛋白2(EPG-2)、上皮糖蛋白40(EPG-40)、EPHa2、erb-B2、erb-B3、erb-B4、erbB二聚体、EGFR vIII、叶酸结合蛋白(FBP)、FCRL5、FCRH5、胎儿乙酰胆碱受体、GD2、GD3、HMW-MAA、IL-22R-α、IL-13R-α2、激酶插入结构域受体(kdr)、κ轻链、路易斯Y、L1-细胞粘附分子(L1-CAM)、黑色素瘤相关抗原3(MAGE)-A1、MAGE-A3、MAGE-A6、优先表达的黑色素瘤抗原(PRAME)、存活蛋白、TAG72、B7-H6、IL-13受体α2(IL-13Ra2)、CA9、GD3、HMW-MAA、CD171、G250/CAIX、HLA-AIMAGE A1、HLA-A2、PSCA、叶酸受体-a、CD44v6、CD44v7/8、avb6整合素、8H9、NCAM、VEGF受体、5T4、胎儿AchR、NKG2D配体、CD44v6、双重抗原、癌症-睾丸抗原、间皮素、鼠类CMV、粘蛋白1(MUC1)、MUC16、PSCA、NKG2D、NY-ESO-1、MART-1、gp100、癌胚胎抗原(oncofetal antigen)、ROR1、TAG72、VEGF-R2、癌胚抗原(carcinoembryonic antigen)(CEA)、前列腺特异性抗原、PSMA、Her2/neu、雌激素受体、孕酮受体、肝配蛋白B2、CD123、c-Met、GD-2、O-乙酰化GD2(OGD2)、CE7、Wilms肿瘤1(WT-1)、细胞周期蛋白、细胞周期蛋白A2、CCL-1、CD138和/或病原体特异性抗原或;其中所述抗原是或包含αvβ6整合素(avb6整合素)、B细胞成熟抗原(BCMA)、B7-H3、B7-H6、碳酸酐酶9(CA9,也称为CAIX或G250)、癌症-睾丸抗原、癌症/睾丸抗原1B(CTAG,也称为NY-ESO-1和LAGE-2)、癌胚抗原(carcinoembryonic antigen)(CEA)、细胞周期蛋白、细胞周期蛋白A2、C-C基序趋化因子配体1(CCL-1)、CD19、CD20、CD22、CD23、CD24、CD30、CD33、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD123、CD133、CD138、CD171、硫酸软骨素蛋白聚糖4(CSPG4)、表皮生长因子蛋白(EGFR)、III型表皮生长因子受体突变(EGFR vIII)、上皮糖蛋白2(EPG-2)、上皮糖蛋白40(EPG-40)、肝配蛋白B2、肝配蛋白受体A2(EPHa2)、雌激素受体、Fc受体样蛋白5(FCRL5;也称为Fc受体同源物5或FCRH5)、胎儿乙酰胆碱受体(胎儿AchR)、叶酸结合蛋白(FBP)、叶酸受体α、神经节苷脂GD2、O-乙酰化GD2(OGD2)、神经节苷脂GD3、糖蛋白100(gp100)、磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(GPC3)、G蛋白偶联受

体5D(GPCR5D)、Her2/neu(受体酪氨酸激酶erb-B2)、Her3(erb-B3)、Her4(erb-B4)、erbB二聚体、人高分子量黑色素瘤相关抗原(HMW-MAA)、乙型肝炎表面抗原、人白细胞抗原A1(HLA-A1)、人白细胞抗原A2(HLA-A2)、IL-22受体α(IL-22Rα)、IL-13受体α2(IL-13Rα2)、激酶插入结构域受体(kdr)、κ轻链、L1细胞粘附分子(L1-CAM)、L1-CAM的CE7表位、含有富亮氨酸重复序列的蛋白8家族成员A(LRRC8A)、路易斯Y、黑色素瘤相关抗原(MAGE)-A1、MAGE-A3、MAGE-A6、MAGE-A10、间皮素(MSLN)、c-Met、鼠类巨细胞病毒(CMV)、粘蛋白1(MUC1)、MUC16、自然杀伤细胞2族成员D(NKG2D)配体、黑色素A(MART-1)、神经细胞粘附分子(NCAM)、癌胚胎抗原(oncofetal antigen)、优先表达的黑色素瘤抗原(PRAME)、孕酮受体、前列腺特异性抗原、前列腺干细胞抗原(PSCA)、前列腺特异性膜抗原(PSMA)、受体酪氨酸激酶样孤儿受体1(ROR1)、存活蛋白、滋养层糖蛋白(TPBG,也称为5T4)、肿瘤相关糖蛋白72(TAG72)、酪氨酸酶相关蛋白1(TRP1,也称为TYRP1或gp75)、酪氨酸酶相关蛋白2(TRP2,也称为多巴色素互变异构酶、多巴色素δ异构酶或DCT)、血管内皮生长因子受体(VEGFR)、血管内皮生长因子受体2(VEGFR2)、Wilms肿瘤1(WT-1)、病原体特异性或病原体表达的抗原、或与通用标签相关的抗原、和/或生物素化分子、和/或由HIV、HCV、HBV或其他病原体表达的分子。

[0741] 22.根据实施方案1-21中任一项所述的方法,其中所述抗原是B细胞成熟抗原(BCMA)、CD19、CD20、CD22、CD24、CD30和/或CD38。

[0742] 23.根据实施方案1-22中任一项所述的方法,其中所述抗原是CD19。

[0743] 24.根据实施方案1-23中任一项所述的方法,其中:

[0744] 所述抗原是在给予至所述小鼠的细胞上表达;和/或

[0745] 所述方法包括向所述免疫活性小鼠给予表达所述抗原的一种或多种细胞,任选地,其中所述抗原表达细胞是在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法之前给予。

[0746] 25.根据实施方案1-24中任一项所述的方法,其中所述抗原是在肿瘤和/或癌细胞之上或之中表达,和/或所述抗原表达细胞是肿瘤和/或癌细胞,并且其中:

[0747] 所述免疫活性小鼠包含所述肿瘤和/或癌细胞;和/或

[0748] 所述方法还包括任选地在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法之前,向所述免疫活性小鼠给予一种或多种癌细胞和/或肿瘤或肿瘤组织。

[0749] 26.根据实施方案25所述的方法,其中所述癌细胞和/或肿瘤与所述免疫活性小鼠属于相同物种和/或是小鼠细胞或小鼠肿瘤,任选地,其中所述抗原是在所述一种或多种癌细胞之上或之中(任选地在其表面上)表达和/或在所述肿瘤之上或之中表达。

[0750] 27.根据实施方案25或实施方案26所述的方法,其中所述一种或多种癌细胞和/或所述肿瘤包含癌性B细胞,任选地小鼠B细胞,和/或是B细胞衍生的。

[0751] 28.根据实施方案1-27中任一项所述的方法,其中所述小鼠含有和/或所述一种或多种癌细胞和/或肿瘤细胞包含L1210细胞、38C13细胞、BCL1细胞、A20细胞、4TOO细胞、B6自发模型细胞、CH44细胞、S11细胞、LY-ar细胞、LY-as细胞、Pi-BCL1细胞、38C13 Her2/neu细胞、Myc5-M5细胞、小鼠淋巴肉瘤细胞系细胞、由Bcl2细胞转染的FL5.12、38C13 CD20+细胞、A20.IIA-GFP/IIA1.6-GFP细胞、和/或LMycSN-p53无效细胞。

[0752] 29.根据实施方案1-28中任一项所述的方法,其中所述小鼠含有和/或所述一种或多种癌细胞或肿瘤细胞包含A20细胞。

[0753] 30.根据实施方案1-29中任一项所述的方法,其中所述免疫活性小鼠不包含或没

有工程化以包含减少细胞因子应答的突变和/或不包含NLRP12基因中的突变，NLRP12基因中的所述突变任选地位于赖氨酸1034，任选地是K1034R。

[0754] 31.根据实施方案1-30中任一项所述的方法，其中所述免疫活性小鼠不是C57BL/6小鼠或其亚品系。

[0755] 32.根据实施方案1-31中任一项所述的方法，其中所述免疫活性小鼠不是C57BL/6J小鼠、C57BL/6JJcl小鼠、C57BL/6JJmsSlc小鼠、C57BL/6NJcl小鼠、C57BL/6NCrlCrlj小鼠、C57BL/6NTac小鼠或C57BL/6CrSlc小鼠，和/或不是前述任一种的亚品系。

[0756] 33.根据实施方案1-32中任一项所述的方法，其中在用抗原和任选地佐剂激发后，所述免疫活性小鼠与被给予相同抗原的免疫活性C57BL/6小鼠相比，一种或多种细胞因子有所增加，任选地，其中所述一种或多种细胞因子是炎性细胞因子。

[0757] 34.根据实施方案1-33中任一项所述的方法，其中所述免疫活性小鼠是BALB/c小鼠或者是其亚品系。

[0758] 35.根据实施方案34所述的方法，其中所述BALB/c小鼠或其亚品系是BALB/cJ小鼠或BALB/cByJ小鼠。

[0759] 36.根据实施方案1-35中任一项所述的方法，其中在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法之后24小时或约24小时或24小时内，所述小鼠包含：

[0760] i)与开始所述淋巴细胞清除剂或疗法之前相比，介于10％与95％之间、介于30％与85％之间、或介于约50％与75％之间的百分比的总循环淋巴细胞的耗尽；和/或

[0761] ii)与开始所述淋巴细胞清除剂或疗法之前相比，介于10％与95％之间、介于30％与85％之间、或介于约50％与75％之间的百分比的循环T细胞的耗尽；和/或

[0762] iii)与开始所述淋巴细胞清除剂或疗法之前相比，介于50％与99％之间、75％与99％之间、或75％与95％之间的百分比的循环B细胞的耗尽。

[0763] 37.根据实施方案1-36中任一项所述的方法，其中所述淋巴细胞清除剂或疗法包括化学治疗剂。

[0764] 38.根据实施方案37所述的方法，其中所述化学治疗剂包含以下中的一种或多种：毒素、烷化剂、DNA断链剂、拓扑异构酶II抑制剂、DNA小沟结合剂、抗代谢物、微管蛋白相互作用剂、孕激素、肾上腺皮质类固醇、促黄体激素释放剂拮抗剂、促性腺激素释放激素拮抗剂或抗激素抗原。

[0765] 39.根据实施方案37或实施方案38所述的方法，其中化学治疗剂包含以下中的一种或多种：环磷酰胺、苯丁酸氮芥、苯达莫司汀、异环磷酰胺、泼尼松、地塞米松、顺铂、卡铂、奥沙利铂、氟达拉滨、喷司他丁、克拉屈滨、阿糖胞苷、吉西他滨、甲氨蝶呤、普拉曲沙、长春新碱、多柔比星、米托蒽醌、依托泊苷、博来霉素或其组合。

[0766] 40.根据实施方案37-39中任一项所述的方法，其中所述化学治疗剂是或包含环磷酰胺。

[0767] 41.根据实施方案1-40中任一项所述的方法，其中：

[0768] 所述淋巴细胞清除剂或疗法包括按以下剂量给予环磷酰胺：至少或至少约50mg/kg、至少或至少约100mg/kg、至少或至少约200mg/kg、至少或至少约250mg/kg、至少或至少约300mg/kg、至少或至少约400mg/kg、至少或至少约500mg/kg或至少或至少约750mg/kg或介于前述任何项之间的范围；或

[0769] 所述淋巴细胞清除剂或疗法包括按以下剂量给予环磷酰胺:介于或介于约50mg/kg与750mg/kg之间、50mg/kg与500mg/kg之间、50mg/kg与250mg/kg之间、50mg/kg与100mg/kg之间、100mg/kg与750mg/kg之间、100mg/kg与500mg/kg之间、100mg/kg与250mg/kg之间、250mg/kg与750mg/kg之间、250mg/kg与500mg/kg之间或500mg/kg与750mg/kg之间,每个都包含端值。

[0770] 42.根据实施方案1-41中任一项所述的方法,其中所述淋巴细胞清除剂或疗法包括以250mg/kg或约250mg/kg的剂量给予环磷酰胺。

[0771] 43.根据实施方案41或实施方案42所述的方法,其中环磷酰胺的所述剂量是在开始给予所述免疫疗法之前一次给予。

[0772] 44.根据实施方案40-43中任一项所述的方法,其中腹膜内给予所述环磷酰胺。

[0773] 45.根据实施方案1-5和9-44中任一项所述的方法,其中所述细胞疗法先前未经低温冷冻。

[0774] 46.根据实施方案1-45中任一项所述的方法,其中开始给予所述免疫疗法是在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法之后介于0.5小时与120小时之间进行。

[0775] 47.根据实施方案1-46中任一项所述的方法,其中开始给予所述免疫疗法是在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法之后介于12小时与48小时之间进行。

[0776] 48.根据实施方案1-47中任一项所述的方法,其中开始给予所述免疫疗法是在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法之后24小时或约24小时进行。

[0777] 49.根据实施方案1-5和9-48中任一项所述的方法,其中所述细胞疗法包括给予从或从约1x 10^6至1x 10^8个总重组受体表达细胞或总T细胞。

[0778] 50.根据实施方案1-5和9-49中任一项所述的方法,其中所述细胞疗法包括给予至少或大约至少或为或为约5x 10^6个总重组受体表达细胞或总T细胞、1x 10^7个总重组受体表达细胞或总T细胞、或5x 10^7个总重组受体表达细胞或总T细胞。

[0779] 51.根据实施方案1-50中任一项所述的方法,其中所述方法产生毒性,所述毒性包括与以下相关或选自以下的一种或多种体征、症状或结果:增加的炎症,任选地全身炎症或神经炎症;一种或多种分子的改变的水平、量或表达或其比率,所述一种或多种分子任选地是细胞因子、趋化因子或生长因子,任选地炎性分子,任选地,其中所述分子是血清蛋白;一种或多种基因产物的改变的表达或其比率,任选地在组织中,任选地,其中所述组织是脑;改变的血液化学;组织损伤,任选地脑损伤;脑水肿;体重减轻;降低的体温;和/或改变的行为。

[0780] 52.根据实施方案51所述的方法,其中所述一种或多种体征、症状或结果是炎症或者与炎症相关,其中所述炎症包含任选地肝、肺、脾或脑的组织细胞肉芽肿性浸润。

[0781] 53.根据实施方案51所述的方法,其中所述一种或多种体征、症状或结果是血清中一种或多种分子的改变的水平、量或表达或其比率或者与所述改变的水平、量或表达或其比率相关,其中所述一种或多种分子是细胞因子、趋化因子或生长因子。

[0782] 54.根据实施方案51或实施方案53所述的方法,其中与给予所述淋巴细胞清除疗法和/或免疫疗法之前所述小鼠中所述分子的水平、量或表达相比,和/或与相同品系的初试小鼠中所述分子的平均水平、量或表达相比,和/或与相同品系的初试小鼠中所述分子的平均水平、量或表达相比,和/或与被给予非目标免疫疗法的小鼠中所述分子的水平、量或

表达相比，所述分子的改变的水平、量或表达或其比率包括增加的水平、量或表达。

[0783] 55.根据实施方案54所述的方法，其中所述水平、量或表达增加至少1.2倍、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、5.0倍、10.0倍、20.0倍、30.0倍、40.0倍、50.0倍、60.0倍、70.0倍、80.0倍、90.0倍、100倍、125倍、150倍、200倍或更多。

[0784] 56.根据实施方案53-55中任一项所述的方法，其中所述一种或多种分子选自IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-13、IL-21、IL-23、IP-10、KC/GRO、IL-16、IL-17A、EPO、IL-30、TNFα、IFNγ、MCP-1、MIP-1a、MIP-1b、GM-CSF和血管生成素-2。

[0785] 57.根据实施方案54-56中任一项所述的方法，其中在给予所述免疫疗法之后约或至少约1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、9小时、12小时、24小时、36小时、48小时、60小时、72小时、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天、21天、22天、23天、24天、25天、26天、27天、28天、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、11周、12周、13周、14周、15周或16周，观察到所述增加的水平、量或表达。

[0786] 58.根据实施方案51所述的方法，其中所述改变的水平、量或表达或其比率是或包含血清中改变的血管生成素-2与血管生成素-1的比率(Ang2:Ang1比率)，任选地，其中所述改变的比率是增加的比率。

[0787] 59.根据实施方案58所述的方法，其中与给予所述淋巴细胞清除疗法和/或免疫疗法之前所述小鼠中的Ang2:Ang1比率相比，和/或与相同品系的初试小鼠中的平均Ang2:Ang1比率相比，和/或与被给予非目标免疫疗法的小鼠中的Ang2:Ang1比率相比，所述Ang2:Ang1比率增加至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍、至少50倍、至少100倍、至少500倍、至少1,000倍或至少5,000倍。

[0788] 60.根据实施方案51所述的方法，其中所述改变的水平、量或表达或其比率是或包含以下的血清中血管生成素-2与血管生成素-1的比率(Ang2:Ang1比率)：至少1、至少2、至少3、至少4、至少5、至少10、至少15、至少20、至少25、至少30、至少40、至少50、至少100、至少500、至少1,000或至少5,000或更高。

[0789] 61.根据实施方案60所述的方法，其中在给予所述免疫疗法之后约或至少约1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、9小时、12小时、24小时、36小时、48小时、60小时、72小时、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天、21天、22天、23天、24天、25天、26天、27天、28天、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、11周、12周、13周、14周、15周或16周，观察到所述Ang2:Ang1比率。

[0790] 62.根据实施方案51或实施方案53所述的方法，其中与给予所述淋巴细胞清除疗法和/或免疫疗法之前所述小鼠中所述分子的水平、量或表达相比，和/或与相同品系的初试小鼠中所述分子的平均水平、量或表达相比，和/或与相同品系的初试小鼠中所述分子的平均水平、量或表达相比，和/或与被给予非目标免疫疗法的小鼠中所述分子的水平、量或表达相比，所述分子的改变的水平、量或表达或其比率包括降低的水平、量或表达。

[0791] 63.根据实施方案62所述的方法，其中所述水平、量或表达降低至少1.2倍、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、5.0倍、10.0倍、20.0倍、30.0倍、40.0倍、50.0倍、60.0倍、70.0倍、80.0倍、90.0倍、100倍、125倍、150倍、200倍或更多。

[0792] 64.根据实施方案53、实施方案62或实施方案63所述的方法，其中所述一种或多种分子选自IL-9、VEGF、IL-17E/IL-25、IL-15、IL-22、MIP-3a和IL-12/IL-23p40。

[0793] 65.根据实施方案63或实施方案64所述的方法，其中在给予所述免疫疗法之后约或至少约1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、9小时、12小时、24小时、36小时、48小时、60小时、72小时、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天、21天、22天、23天、24天、25天、26天、27天、28天、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、11周、12周、13周、14周、15周或16周，观察到所述降低的水平、量或表达。

[0794] 66.根据实施方案51所述的方法，其中所述一种或多种体征、症状或结果是组织中一种或多种基因产物的改变的表达或其比率或者与所述改变的表达或其比率相关，其中所述组织是脑。

[0795] 67.根据实施方案51或实施方案66所述的方法，其中所述一种或多种基因产物是或包含多核苷酸或其部分，任选地，其中所述部分是所述多核苷酸的部分转录物。

[0796] 68.根据实施方案67所述的方法，其中所述多核苷酸是RNA，任选地，其中所述RNA是信使RNA(mRNA)。

[0797] 69.根据实施方案51、实施方案67或实施方案68所述的方法，其中通过聚合酶链式反应(PCR)、RNA印迹、DNA印迹、微阵列和/或测序技术测量所述一种或多种基因产物或其部分的表达。

[0798] 70.根据实施方案51和67-69中任一项所述的方法，其中通过逆转录酶PCR(rtPCR)和/或实时或定量PCR(qPCR)评估一种或多种基因产物或其部分的表达。

[0799] 71.根据实施方案51和67-70中任一项所述的方法，其中通过微阵列评估所述一种或多种基因产物或其部分的表达。

[0800] 72.根据实施方案51和67-71中任一项所述的方法，其中通过测序技术、任选地非Sanger测序技术和/或下一代测序技术评估所述一种或多种基因产物或其部分的表达。

[0801] 73.根据实施方案51和67-72中任一项所述的方法，其中通过大规模平行标记测序(MPSS)、离子半导体测序、焦磷酸测序、SOLiD测序、单分子实时(SMRT)测序和/或纳米孔DNA测序评估所述一种或多种基因产物或其部分的表达。

[0802] 74.根据实施方案51和67-73中任一项所述的方法，其中通过RNA测序(RNA-seq)评估所述一种或多种基因产物或其部分的表达。

[0803] 75.根据实施方案51和67-74中任一项所述的方法，其中所述一种或多种基因产物的表达增加，任选地增加至少1.2倍、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、5.0倍、10.0倍、20.0倍、30.0倍、40.0倍、50.0倍、60.0倍、70.0倍、80.0倍、90.0倍、100倍、125倍、150倍、200倍或更多。

[0804] 76.根据实施方案51和67-75中任一项所述的方法，其中所述一种或多种基因产物与以下相关或参与以下：对细胞因子的应答、对干扰素β的应答、对干扰素β的细胞应答、抗原加工和呈递、对细胞形态发生的调节、对细胞因子刺激的细胞应答、先天免疫应答、对干扰素γ的应答、细胞连接组装、血管发生、对细胞投射组织化的调节、对神经元投射发育的调节、血管形态发生、对蛋白质修饰的调节、对神经递质受体活性的调节、对细胞形状的调节、对细胞组分大小的调节、对流体剪切应力的应答、细胞连接组织化、肌动蛋白丝组织化、胞吞作用、对干扰素γ的细胞应答、对谷氨酸受体信号传导途径的调节、对磷酸化的调节、对肽激素的应答、对细胞组分生物发生的调节、对细胞迁移的正向调节、病毒过程、多生物细胞过程、活性氧类代谢过程、对蛋白质修饰过程的负向调节、对细胞粘附的正向调节、共

生生物对宿主的粘附、细胞-基质粘附、侣伴蛋白介导的蛋白质折叠、肽基-酪氨酸修饰、趋性、对其他生物体的防御应答、甾醇生物合成过程、对氮化合物的细胞应答或前述项的任何项的组合。

[0805] 77.根据实施方案51和67-76中任一项所述的方法，其中所述一种或多种基因产物与以下相关或参与以下：免疫应答、血管发生、甾醇代谢过程、氧化应激、抗氧化防御、一氧化氮信号传导途径、细胞粘附或前述项的任何项的组合。

[0806] 78.根据实施方案51和67-77中任一项所述的方法，其中所述一种或多种基因产物选自Gbp4、Gbp5、Gbp2、Gbp8、Angpt2、Angptl4、Hif3a、Lrg1、Mmrn2、Xdh、Acer2、Atf3、Pdk4、Pla2g3、Sult1a1、CD274(PD-L1)、Tgtp1、Vwf、Ncf1、Aox1、Bnip3、Pxdn、Scara3、Mgst3、Ptgs2、Nos3、VCAM-1、ICAM-1、E-选择素、P-选择素或CD31。

[0807] 79.根据实施方案51和67-74中任一项所述的方法，其中所述一种或多种基因产物的表达降低，任选地降低至少1.2倍、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、5.0倍、10.0倍、20.0倍、30.0倍、40.0倍、50.0倍、60.0倍、70.0倍、80.0倍、90.0倍、100倍、125倍、150倍、200倍或更多。

[0808] 80.根据实施方案51所述的方法，其中所述相关的一种或多种体征、症状或结果是改变的血液化学或者与改变的血液化学相关，并且所述改变的血液化学包括血清葡萄糖、血清白蛋白、总血清蛋白和/或血清钙水平的降低。

[0809] 81.根据实施方案51所述的方法，其中所述一种或多种体征、症状或结果是组织损伤或者与组织损伤相关，任选地，其中所述组织损伤包括所述组织的组织细胞肉芽肿性浸润、坏死、血管损伤和/或血管渗漏。

[0810] 82.根据实施方案51所述的方法，其中所述一种或多种体征、症状或结果是改变的行为或者与改变的行为相关，任选地，其中所述改变的行为包括食物摄入减少、水摄入减少、理毛行为减少和/或运动活动减少。

[0811] 83.一种小鼠模型，所述小鼠模型包含通过根据实施方案1-82中任一项所述的方法产生的小鼠。

[0812] 84.一种小鼠模型，所述小鼠模型包含免疫活性小鼠，所述免疫活性小鼠包含：

[0813] 与相同品系的初试小鼠中一种或多种淋巴细胞群的平均数量相比，所述一种或多种淋巴细胞群的数量的部分耗尽；和

[0814] 免疫疗法，其中所述免疫疗法结合至和/或识别在所述免疫活性小鼠的细胞或组织之上或之中表达的抗原，任选地，其中所述免疫疗法对于所述免疫活性小鼠是外源的，任选地，其中所述免疫疗法是重组的或嵌合的。

[0815] 85.根据实施方案84所述的小鼠模型，其中所述部分耗尽不是永久的或者是短暂的，任选地，其中所述部分耗尽在给予淋巴细胞清除疗法或药剂之后存在超过14天、28天、45天、60天、3个月、6个月、1年或更久，任选地，其中所述淋巴细胞清除剂或疗法包括环磷酰胺。

[0816] 86.根据实施方案84或实施方案85所述的小鼠模型，其中所述小鼠包含：

[0817] i)介于10％与95％之间、介于30％与85％之间、或介于约50％与75％之间的百分比的总循环淋巴细胞的耗尽；和/或

[0818] ii)介于10％与95％之间、介于30％与85％之间、或介于约50％与75％之间的百分

比的循环T细胞的耗尽;和/或

[0819] iii)介于50%与99%之间、75%与99%之间、或75%与95%之间的百分比的循环B细胞的耗尽。

[0820] 87.根据实施方案84-86中任一项所述的小鼠模型,其中所述一种或多种淋巴细胞群体的数量包含:

[0821] 介于或介于约0.1与1,000个之间的淋巴细胞/μl血液;

[0822] 介于0.1与1,000个之间的B细胞/μl血液;和/或

[0823] 介于0.1与100个之间的T细胞/μl血液。

[0824] 88.根据实施方案84-87中任一项所述的小鼠模型,其中所述抗原是在鼠类细胞上天然表达的抗原,和/或所述抗原是细胞表面抗原,和/或所述免疫疗法结合至或识别所述抗原的细胞外表位。

[0825] 89.根据实施方案84-88中任一项所述的小鼠模型,其中所述细胞是鼠类细胞。

[0826] 90.根据实施方案84-89中任一项所述的小鼠模型,其中所述抗原在循环细胞的表面上表达,或者所述细胞是循环细胞。

[0827] 91.根据实施方案84-90中任一项所述的小鼠模型,其中所述抗原是B细胞抗原,或者是在B细胞的表面上表达,或者其中所述细胞是鼠类B细胞。

[0828] 92.根据实施方案84-91中任一项所述的小鼠模型,其中所述免疫疗法是刺激或激活免疫细胞的药剂。

[0829] 93.根据实施方案92所述的小鼠,其中所述免疫疗法是T细胞接合疗法,任选地,其中所述T细胞接合疗法包括双特异性抗体,其中至少一个结合部分特异性地结合至T细胞抗原,任选地CD3。

[0830] 94.根据实施方案92或实施方案93所述的小鼠模型,其中所述T细胞接合疗法的氨基酸序列包括鼠类序列,和/或对所述小鼠无免疫原性。

[0831] 95.根据实施方案84-91中任一项所述的小鼠模型,其中所述免疫疗法包括细胞疗法,所述细胞疗法任选地包括表达重组受体的遗传工程化细胞的剂量或组合物。

[0832] 96.根据实施方案95所述的小鼠模型,其中所述工程化细胞包含从生物样品获得的细胞,所述生物样品来自所述免疫活性小鼠或来自与所述免疫活性小鼠属于相同品系或亚品系的小鼠。

[0833] 97.根据实施方案96所述的小鼠模型,其中所述生物样品包含脾细胞。

[0834] 98.根据实施方案95-97中任一项所述的小鼠模型,其中所述工程化细胞包含NK细胞或T细胞,任选地,其中所述T细胞是CD4+和/或CD8+T细胞。

[0835] 99.根据实施方案95-98中任一项所述的小鼠模型,其中所述重组受体是T细胞受体或功能性非T细胞受体。

[0836] 100.根据实施方案95-99中任一项所述的小鼠模型,其中所述重组受体是嵌合受体,任选地嵌合抗原受体(CAR)。

[0837] 101.根据实施方案95-100中任一项所述的小鼠模型,其中:

[0838] 所述重组受体的氨基酸序列是鼠类的;和/或

[0839] 所述嵌合受体的单独区域或结构域包含天然鼠类蛋白的区域或结构域和/或包含鼠类序列;和/或

[0840] 所述嵌合受体的单独区域或结构域对所述小鼠无免疫原性。

[0841] 102.根据实施方案100或实施方案101所述的小鼠模型,其中所述重组受体是嵌合抗原受体(CAR),并且所述CAR包含特异性地结合至所述抗原的细胞外抗原结合结构域。

[0842] 103.根据实施方案102所述的小鼠模型,其中所述抗原结合结构域是抗体或抗原结合片段,其中所述抗原结合片段任选地是单链片段,任选地scFv。

[0843] 104.根据实施方案100-103中任一项所述的小鼠模型,其中所述CAR包含含有ITAM的细胞内信号传导结构域,其中任选地,所述细胞内信号传导结构域包含CD3-zeta(CD3ζ)链任选鼠类CD3-ζ的细胞内结构域。

[0844] 105.根据实施方案104所述的小鼠模型,其中所述细胞内信号传导结构域进一步包含共刺激信号传导区,所述共刺激信号传导区任选地包含CD28或4-1BB任选鼠类CD28或鼠类4-1BB的信号传导结构域。

[0845] 106.根据实施方案84-105中任一项所述的小鼠模型,其中所述抗原是或包含ROR1、B细胞成熟抗原(BCMA)、碳酸酐酶9(CAIX)、Her2/neu(受体酪氨酸激酶erbB2)、L1-CAM、CD19、CD20、CD22、间皮素、CEA和乙型肝炎表面抗原、抗叶酸受体、CD23、CD24、CD30、CD33、CD38、CD44、EGFR、上皮糖蛋白2(EPG-2)、上皮糖蛋白40(EPG-40)、EPHa2、erb-B2、erb-B3、erb-B4、erbB二聚体、EGFR vIII、叶酸结合蛋白(FBP)、FCRL5、FCRH5、胎儿乙酰胆碱受体、GD2、GD3、HMW-MAA、IL-22R-α、IL-13R-α2、激酶插入结构域受体(kdr)、κ轻链、路易斯Y、L1-细胞粘附分子(L1-CAM)、黑色素瘤相关抗原3(MAGE)-A1、MAGE-A3、MAGE-A6、优先表达的黑色素瘤抗原(PRAME)、存活蛋白、TAG72、B7-H6、IL-13受体α2(IL-13Ra2)、CA9、GD3、HMW-MAA、CD171、G250/CAIX、HLA-AI MAGE A1、HLA-A2NY-ESO-1、PSCA、叶酸受体-a、CD44v6、CD44v7/8、avb6整合素、8H9、NCAM、VEGF受体、5T4、胎儿AchR、NKG2D配体、CD44v6、双重抗原、癌症-睾丸抗原、间皮素、鼠类CMV、粘蛋白1(MUC1)、MUC16、PSCA、NKG2D、NY-ESO-1、MART-1、gp100、癌胚胎抗原(oncofetal antigen)、ROR1、TAG72、VEGF-R2、癌胚抗原(carcinoembryonic antigen)(CEA)、前列腺特异性抗原、PSMA、Her2/neu、雌激素受体、孕酮受体、肝配蛋白B2、CD123、c-Met、GD-2、O-乙酰化GD2(OGD2)、CE7、Wilms肿瘤1(WT-1)、细胞周期蛋白、细胞周期蛋白A2、CCL-1、CD138、和/或病原体特异性抗原。

[0846] 107.根据实施方案84-106中任一项所述的小鼠模型,其中所述抗原是B细胞成熟抗原(BCMA)、CD19、CD20、CD22、CD24、CD30和/或CD38。

[0847] 108.根据实施方案84-107中任一项所述的小鼠模型,其中所述抗原是CD19。

[0848] 109.根据实施方案84-108中任一项所述的小鼠模型,其中所述小鼠包含表达所述抗原的一种或多种外源细胞。

[0849] 110.根据实施方案109所述的小鼠模型,其中所述外源抗原表达细胞包含肿瘤和/或癌细胞。

[0850] 111.根据实施方案110所述的小鼠模型,其中所述癌细胞和/或肿瘤与所述免疫活性小鼠属于相同物种和/或是小鼠细胞或小鼠肿瘤,任选地,其中所述抗原是在所述一种或多种癌细胞之上或之中(任选地在其表面上)表达和/或在所述肿瘤之上或之中表达。

[0851] 112.根据实施方案110或实施方案111所述的小鼠模型,其中所述一种或多种癌细胞和/或所述肿瘤细胞包含癌性B细胞,任选地小鼠B细胞,和/或是B细胞衍生的。

[0852] 113.根据实施方案110-112中任一项所述的小鼠模型,其中所述一种或多种癌细

胞和/或肿瘤细胞包含L1210细胞、38C13细胞、BCL1细胞、A20细胞、4T00细胞、B6自发模型细胞、CH44细胞、S11细胞、LY-ar细胞、LY-as细胞、Pi-BCL1细胞、38C13 Her2/neu细胞、Myc5-M5细胞、小鼠淋巴肉瘤细胞系细胞、由Bcl2细胞转染的FL5.12、38C13 CD20+细胞、A20.IIA-GFP/IIA1.6-GFP细胞、和/或LMycSN-p53无效细胞。

[0853] 114.根据实施方案110-113中任一项所述的小鼠模型，其中所述一种或多种癌细胞和/或肿瘤细胞包含A20细胞。

[0854] 115.根据实施方案84-114中任一项所述的小鼠模型，其中所述免疫活性小鼠不包含或没有工程化以包含减少细胞因子应答的突变和/或不包含NLRP12基因中的突变，NLRP12基因中的所述突变任选地位于赖氨酸1034，任选地是K1034R。

[0855] 116.根据实施方案84-115中任一项所述的小鼠模型，其中所述免疫活性小鼠不是C57BL/6小鼠或其亚品系。

[0856] 117.根据实施方案84-116中任一项所述的小鼠模型，其中所述免疫活性小鼠不是C57BL/6J小鼠、C57BL/6JJcl小鼠、C57BL/6JJmsSlc小鼠、C57BL/6NJcl小鼠、C57BL/6NCrlCrlj小鼠、C57BL/6NTac小鼠或C57BL/6CrSlc小鼠，和/或不是前述任一种的亚品系。

[0857] 118.根据实施方案84-117中任一项所述的小鼠模型，其中在用抗原和任选地佐剂激发后，所述免疫活性小鼠与被给予相同抗原的免疫活性C57BL/6小鼠相比，一种或多种细胞因子有所增加，任选地，其中所述一种或多种细胞因子是炎性细胞因子。

[0858] 119.根据实施方案84-118中任一项所述的小鼠模型，其中所述免疫活性小鼠是BALB/c小鼠或者是其亚品系。

[0859] 120.根据实施方案119所述的小鼠模型，其中所述BALB/c小鼠或其亚品系是BALB/cJ小鼠或BALB/cByJ小鼠。

[0860] 121.根据实施方案84-120中任一项所述的小鼠模型，其中所述免疫活性小鼠展现与毒性相关和/或选自以下的一种或多种体征、症状或结果：增加的炎症，任选地全身炎症或神经炎症；一种或多种分子的改变的水平、量或表达或其比率，所述一种或多种分子任选地是细胞因子、趋化因子或生长因子，任选地炎性分子，任选地，其中所述分子是血清蛋白；一种或多种基因产物的改变的表达或其比率，任选地在组织中，任选地，其中所述组织是脑；改变的血液化学；组织损伤，任选地脑损伤；脑水肿；体重减轻；降低的体温；和/或改变的行为。

[0861] 122.根据实施方案121所述的小鼠模型，其中所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是炎症或者与炎症相关，其中所述炎症包含任选地肝、肺、脾或脑的组织细胞肉芽肿性浸润。

[0862] 123.根据实施方案121所述的小鼠模型，其中所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是血清中一种或多种分子的改变的水平、量或表达或其比率或者与所述改变的水平、量或表达或其比率相关，其中所述一种或多种分子是细胞因子、趋化因子或生长因子。

[0863] 124.根据实施方案121或实施方案123所述的小鼠模型，其中与相同品系的初试小鼠中所述分子的平均水平、量或表达相比，和/或与被给予非目标免疫疗法的小鼠中所述分子的水平、量或表达相比，所述分子的改变的水平、量或表达或其比率包括增加的水平、量或表达。

[0864] 125.根据实施方案124所述的小鼠模型，其中所述水平、量或表达增加至少1.2倍、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、5.0倍、10.0倍、20.0倍、30.0倍、40.0倍、50.0倍、60.0倍、70.0倍、80.0倍、90.0倍、100倍、125倍、150倍、200倍或更多。

[0865] 126.根据实施方案123-125中任一项所述的小鼠模型，其中所述一种或多种分子选自IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-13、IL-21、IL-23、IP-10、KC/GRO、IL-16、IL-17A、EPO、IL-30、TNFα、IFNγ、MCP-1、MIP-1a、MIP-1b、GM-CSF和血管生成素-2。

[0866] 127.根据实施方案124-126中任一项所述的小鼠模型，其中在给予所述免疫疗法之后约或至少约1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、9小时、12小时、24小时、36小时、48小时、60小时、72小时、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天、21天、22天、23天、24天、25天、26天、27天、28天、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、11周、12周、13周、14周、15周或16周，观察到所述增加的水平、量或表达。

[0867] 128.根据实施方案121所述的小鼠模型，其中所述改变的水平、量或表达或其比率是或包含血清中改变的血管生成素-2与血管生成素-1的比率(Ang2:Ang1比率)，任选地，其中所述改变的比率是增加的比率。

[0868] 129.根据实施方案128所述的小鼠模型，其中与给予所述淋巴细胞清除疗法和/或免疫疗法之前所述小鼠中的Ang2:Ang1比率相比，和/或与相同品系的初试小鼠中的平均Ang2:Ang1比率相比，和/或与被给予非目标免疫疗法的小鼠中的Ang2:Ang1比率相比，所述Ang2:Ang1比率增加至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少40倍、至少50倍、至少100倍、至少500倍、至少1,000倍或至少5,000倍。

[0869] 130.根据实施方案121所述的小鼠模型，其中所述改变的水平、量或表达或其比率是或包含以下的血清中血管生成素-2与血管生成素-1的比率(Ang2:Ang1比率)：至少1、至少2、至少3、至少4、至少5、至少10、至少15、至少20、至少25、至少30、至少40、至少50、至少100、至少500、至少1,000或至少5,000或更高。

[0870] 131.根据实施方案130所述的小鼠模型，其中在给予所述免疫疗法之后约或至少约1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、9小时、12小时、24小时、36小时、48小时、60小时、72小时、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天、21天、22天、23天、24天、25天、26天、27天、28天、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、11周、12周、13周、14周、15周或16周，观察到所述Ang2:Ang1比率。

[0871] 132.根据实施方案121或实施方案123所述的小鼠模型，其中与相同品系的初试小鼠中所述分子的平均水平、量或表达相比，和/或与被给予非目标免疫疗法的小鼠中所述分子的水平、量或表达相比，所述分子的改变的水平、量或表达或其比率包括降低的水平、量或表达。

[0872] 133.根据实施方案132所述的小鼠模型，其中所述水平、量或表达降低至少1.2倍、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、5.0倍、10.0倍、20.0倍、30.0倍、40.0倍、50.0倍、60.0倍、70.0倍、80.0倍、90.0倍、100倍、125倍、150倍、200倍或更多。

[0873] 134.根据实施方案121、实施方案132或实施方案133所述的小鼠模型，其中所述一种或多种分子选自IL-9、VEGF、IL-17E/IL-25、IL-15、IL-22、MIP-3a和IL-12/IL-23p40。

[0874] 135.根据实施方案133或实施方案134所述的小鼠模型,其中在给予所述免疫疗法之后约或至少约1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、9小时、12小时、24小时、36小时、48小时、60小时、72小时、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天、21天、22天、23天、24天、25天、26天、27天、28天、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、11周、12周、13周、14周、15周或16周,观察到所述降低的水平、量或表达。

[0875] 136.根据实施方案121所述的小鼠模型,其中所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是组织中一种或多种基因产物的改变的表达或其比率或者与所述改变的表达或其比率相关,其中所述组织是脑。

[0876] 137.根据实施方案121或实施方案136所述的小鼠模型,其中所述一种或多种基因产物是或包含多核苷酸或其部分,任选地,其中所述部分是所述多核苷酸的部分转录物。

[0877] 138.根据实施方案137所述的小鼠模型,其中所述多核苷酸是RNA,任选地,其中所述RNA是信使RNA(mRNA)。

[0878] 139.根据实施方案121、实施方案137或实施方案138所述的小鼠模型,其中通过聚合酶链式反应(PCR)、RNA印迹、DNA印迹、微阵列和/或测序技术确定所述一种或多种基因产物或其部分的表达。

[0879] 140.根据实施方案121和137-139中任一项所述的小鼠模型,其中通过逆转录酶PCR(rtPCR)和/或实时或定量PCR(qPCR)确定一种或多种基因产物或其部分的表达。

[0880] 141.根据实施方案121和137-140中任一项所述的小鼠模型,其中通过微阵列确定所述一种或多种基因产物或其部分的表达。

[0881] 142.根据实施方案121和137-141中任一项所述的小鼠模型,其中通过测序技术、任选地非Sanger测序技术和/或下一代测序技术确定所述一种或多种基因产物或其部分的表达。

[0882] 143.根据实施方案121和137-142中任一项所述的小鼠模型,其中通过大规模平行标记测序(MPSS)、离子半导体测序、焦磷酸测序、SOLiD测序、单分子实时(SMRT)测序和/或纳米孔DNA测序评估所述一种或多种基因产物或其部分的表达。

[0883] 144.根据实施方案121和137-143中任一项所述的小鼠模型,其中通过RNA测序(RNA-seq)评估所述一种或多种基因产物或其部分的表达。

[0884] 145.根据实施方案121和137-144中任一项所述的小鼠模型,其中所述一种或多种基因产物的表达增加,任选地增加至少1.2倍、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、5.0倍、10.0倍、20.0倍、30.0倍、40.0倍、50.0倍、60.0倍、70.0倍、80.0倍、90.0倍、100倍、125倍、150倍、200倍或更多。

[0885] 146.根据实施方案121和137-145中任一项所述的小鼠模型,其中所述一种或多种基因产物与以下相关或参与以下:对细胞因子的应答、对干扰素β的应答、对干扰素β的细胞应答、抗原加工和呈递、对细胞形态发生的调节、对细胞因子刺激的细胞应答、先天免疫应答、对干扰素γ的应答、细胞连接组装、血管发生、对细胞投射组织化的调节、对神经元投射发育的调节、血管形态发生、对蛋白质修饰的调节、对神经递质受体活性的调节、对细胞形状的调节、对细胞组分大小的调节、对流体剪切应力的应答、细胞连接组织化、肌动蛋白丝组织化、胞吞作用、对干扰素γ的细胞应答、对谷氨酸受体信号传导途径的调节、对磷酸化

的调节、对肽激素的应答、对细胞组分生物发生的调节、对细胞迁移的正向调节、病毒过程、多生物细胞过程、活性氧类代谢过程、对蛋白质修饰过程的负向调节、对细胞粘附的正向调节、共生生物对宿主的粘附、细胞-基质粘附、侣伴蛋白介导的蛋白质折叠、肽基-酪氨酸修饰、趋性、对其他生物体的防御应答、甾醇生物合成过程、对氮化合物的细胞应答或前述项的任何项的组合。

[0886] 147.根据实施方案121和137-146中任一项所述的小鼠模型,其中所述一种或多种基因产物与以下相关或参与以下:免疫应答、血管发生、甾醇代谢过程、氧化应激、抗氧化防御、一氧化氮信号传导途径、细胞粘附或前述项的任何项的组合。

[0887] 148.根据实施方案121和137-147中任一项所述的小鼠模型,其中所述一种或多种基因产物选自Gbp4、Gbp5、Gbp2、Gbp8、Angpt2、Angptl4、Hif3a、Lrg1、Mmrn2、Xdh、Acer2、Atf3、Pdk4、Pla2g3、Sult1a1、CD274(PD-L1)、Tgtp1、Vwf、Ncf1、Aox1、Bnip3、Pxdn、Scara3、Mgst3、Ptgs2、Nos3、VCAM-1、ICAM-1、E-选择素、P-选择素或CD31。

[0888] 149.根据实施方案121和137-148中任一项所述的小鼠模型,其中所述一种或多种基因产物的表达降低,任选地降低至少1.2倍、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、5.0倍、10.0倍、20.0倍、30.0倍、40.0倍、50.0倍、60.0倍、70.0倍、80.0倍、90.0倍、100倍、125倍、150倍、200倍或更多。

[0889] 150.根据实施方案121-149中任一项所述的小鼠模型,其中所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是改变的血液化学或者与改变的血液化学相关,并且所述改变的血液化学包括血清葡萄糖、血清白蛋白、总血清蛋白和/或血清钙水平的降低。

[0890] 151.根据实施方案121-150中任一项所述的小鼠模型,其中所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是组织损伤或者与组织损伤相关,任选地,其中所述组织损伤包括所述组织的组织细胞肉芽肿性浸润、坏死、血管损伤和/或血管渗漏。

[0891] 152.根据实施方案121-151中任一项所述的小鼠模型,其中所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是改变的行为或者与改变的行为相关,任选地,其中所述改变的行为包括食物摄入减少、水摄入减少、理毛行为减少和/或运动活动减少。

[0892] 153.一种组织样品,所述组织样品是从通过根据实施方案1-82中任一项所述的方法产生的小鼠或者从根据实施方案83-152中任一项所述的小鼠模型获得。

[0893] 154.根据实施方案153所述的组织,其中所述组织样品是或包含血液、血清、脑组织、肝组织、肺组织、肾组织和/或脾组织。

[0894] 155.根据实施方案153或实施方案154所述的组织,其中所述组织样品是或包含脑组织。

[0895] 156.一种鉴定和/或评估药剂的一种或多种作用的方法,所述方法包括:

[0896] i)将淋巴细胞清除剂或疗法和免疫疗法给予免疫活性小鼠以产生毒性和/或与毒性结果或副作用相关或指示毒性结果或副作用的一种或多种体征、症状或结果;

[0897] ii)将测试剂任选地以所述测试剂的测试剂量方案或频率给予所述免疫活性小鼠;和

[0898] iii)评估所述小鼠中的毒性和/或一种或多种体征、症状或结果。

[0899] 157.根据实施方案156所述的方法,其中所述测试剂是在开始给予所述淋巴细胞清除剂或疗法和/或开始给予所述免疫疗法之前、在开始给予所述淋巴细胞清除剂或疗法

和/或开始给予所述免疫疗法之后、或与开始给予所述淋巴细胞清除剂或疗法和/或开始给予所述免疫疗法相伴随和/或与开始给予所述淋巴细胞清除剂或疗法和/或开始给予所述免疫疗法同时给予。

[0900] 158.根据实施方案157所述的方法，其中所述测试剂是在开始给予所述淋巴细胞清除剂或疗法和/或开始给予所述免疫疗法之前给予。

[0901] 159.根据实施方案156-158中任一项所述的方法，其中所述方法还包括：

[0902] iv)将所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果与对照小鼠相比较，所述对照小鼠已被给予所述淋巴细胞清除剂或疗法和所述免疫疗法但未给予所述测试剂，其中所述对照小鼠是免疫活性的。

[0903] 160.一种鉴定和/或评估药剂的一种或多种作用的方法，所述方法包括：

[0904] i)将测试剂任选地以所述测试剂的测试剂量方案或频率给予免疫活性小鼠，所述免疫活性小鼠先前已被给予淋巴细胞清除剂或疗法和免疫疗法，其中所述免疫活性小鼠展现毒性和/或与毒性结果或副作用相关或指示毒性结果或副作用的一种或多种体征、症状或结果；和

[0905] ii)评估所述小鼠中的所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果。

[0906] 161.根据实施方案160所述的方法，其中所述免疫活性小鼠是通过根据实施方案1-82中任一项所述的方法产生的小鼠，或根据实施方案83-152中任一项所述的小鼠模型。

[0907] 162.根据任一实施方案160或实施方案161所述的方法，其中所述方法还包括：

[0908] iii)将所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果与对照小鼠相比较，所述对照小鼠已被给予所述淋巴细胞清除剂或疗法和所述免疫疗法但未给予所述测试剂，其中所述对照小鼠是免疫活性的。

[0909] 163.根据实施方案156-162中任一项所述的方法，其中所述测试剂是在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法和/或所述免疫疗法之后给予。

[0910] 164.根据实施方案156-163中任一项所述的方法，其中所述测试剂的所述测试剂量方案用于评估：用于给予的所述测试剂的特定或预定量或浓度和/或用于给予的所述药剂的给药频率是否改变所述小鼠中的所述毒性和/或一种或多种所述体征、症状或结果。

[0911] 165.根据实施方案156-164中任一项所述的方法，其中所述测试剂包含小分子、小有机化合物、肽、多肽、抗体或其抗原结合片段、非肽化合物、合成化合物、发酵产物、细胞提取物、多核苷酸、寡核苷酸、RNAi、siRNA、shRNA、多价siRNA、miRNA和/或病毒。

[0912] 166.根据实施方案156-165中任一项所述的方法，其中所述测试剂、任选地所述测试剂的测试剂量方案是改善所述毒性和/或所述体征、症状或结果的候选者。

[0913] 167.根据实施方案156-166中任一项所述的方法，其中，如果在所述测试剂、任选地所述测试剂的测试剂量方案的存在下，所述比较指示所述毒性和/或所述体征、症状或结果发生改变，任选地降低，则将所述测试剂鉴定为用于改善针对所述免疫疗法的毒性或者可能或被预测改善针对所述免疫疗法的毒性的药剂。

[0914] 168.根据实施方案156-165中任一项所述的方法，其中所述测试剂、任选地所述测试剂的测试剂量方案是与所述细胞疗法组合使用的药剂，任选地，其中所述药剂会改进或可能会改进所述细胞疗法的活性、功效、存活和/或持久性，或者是用以改进所述细胞疗法的活性、功效、存活和/或持久性的候选者。

[0915] 169.根据实施方案156-165和168中任一项所述的方法，其中，如果在所述测试剂、任选地所述测试剂的测试剂量方案的存在下，所述比较指示所述毒性和/或所述体征、症状或结果发生改变，任选地增加，则将所述测试剂或测试剂量方案鉴定为加重针对所述免疫疗法的毒性或者可能或被预测加重针对所述免疫疗法的毒性。

[0916] 170.根据实施方案156-169中任一项所述的方法，其中所述毒性包括和/或与所述毒性相关的所述一种或多种体征、症状或结果选自：增加的炎症，任选地全身炎症或神经炎症；一种或多种分子的改变的水平、量或表达或其比率，所述一种或多种分子任选地是细胞因子、趋化因子或生长因子，任选地炎性分子，任选地，其中所述分子是血清蛋白；一种或多种基因产物的改变的表达或其比率，任选地在组织中，任选地，其中所述组织是脑；改变的血液化学；组织损伤，任选地脑损伤；脑水肿；体重减轻；降低的体温；和/或改变的行为。

[0917] 171.根据实施方案156-170中任一项所述的方法，其中所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是炎症或者与炎症相关，其中所述炎症包含任选地肝、肺、脾或脑的组织细胞肉芽肿性浸润。

[0918] 172.根据实施方案156-170中任一项所述的方法，其中所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是血清中一种或多种分子的改变的水平、量或表达或其比率或者与所述改变的水平、量或表达或其比率相关，其中所述一种或多种分子是细胞因子、趋化因子或生长因子。

[0919] 173.根据实施方案172所述的方法，其中所述一种或多种分子选自IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-13、IL-21、IL-23、IP-10、KC/GRO、IL-16、IL-17A、EPO、IL-30、TNFα、IFNγ、MCP-1、MIP-1a、MIP-1b、GM-CSF和血管生成素-2。

[0920] 174.根据实施方案172所述的方法，其中所述一种或多种分子选自IL-9、VEGF、IL-17E/IL-25、IL-15、IL-22、MIP-3a和IL-12/IL-23p40。

[0921] 175.根据实施方案156-170中任一项所述的方法，其中所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是组织中一种或多种基因产物的改变的表达或其比率或者与所述改变的表达或其比率相关，其中所述组织是脑。

[0922] 176.根据实施方案170或实施方案175所述的方法，其中所述一种或多种基因产物是或包含多核苷酸或其部分，任选地，其中所述部分是所述多核苷酸的部分转录物。

[0923] 177.根据实施方案176所述的方法，其中所述多核苷酸是RNA，任选地，其中所述RNA是信使RNA(mRNA)。

[0924] 178.根据实施方案170和175-177中任一项所述的方法，其中所述一种或多种基因产物与以下相关或参与以下：对细胞因子的应答、对干扰素β的应答、对干扰素β的细胞应答、抗原加工和呈递、对细胞形态发生的调节、对细胞因子刺激的细胞应答、先天免疫应答、对干扰素γ的应答、细胞连接组装、血管发生、对细胞投射组织化的调节、对神经元投射发育的调节、血管形态发生、对蛋白质修饰的调节、对神经递质受体活性的调节、对细胞形状的调节、对细胞组分大小的调节、对流体剪切应力的应答、细胞连接组织化、肌动蛋白丝组织化、胞吞作用、对干扰素γ的细胞应答、对谷氨酸受体信号传导途径的调节、对磷酸化的调节、对肽激素的应答、对细胞组分生物发生的调节、对细胞迁移的正向调节、病毒过程、多生物细胞过程、活性氧类代谢过程、对蛋白质修饰过程的负向调节、对细胞粘附的正向调节、共生生物对宿主的粘附、细胞-基质粘附、侣伴蛋白介导的蛋白质折叠、肽基-酪氨酸修

饰、趋性、对其他生物体的防御应答、甾醇生物合成过程、对氮化合物的细胞应答或前述项的任何项的组合。

[0925] 179.根据实施方案170和175-178中任一项所述的方法，其中所述一种或多种基因产物与以下相关或参与以下：免疫应答、血管发生、甾醇代谢过程、氧化应激、抗氧化防御、一氧化氮信号传导途径、细胞粘附或前述项的任何项的组合。

[0926] 180.根据实施方案170和175-179中任一项所述的方法，其中所述一种或多种基因产物选自Gbp4、Gbp5、Gbp2、Gbp8、Angpt2、Angptl4、Hif3a、Lrg1、Mmrn2、Xdh、Acer2、Atf3、Pdk4、Pla2g3、Sult1a1、CD274(PD-L1)、Tgtp1、Vwf、Ncf1、Aox1、Bnip3、Pxdn、Scara3、Mgst3、Ptgs2、Nos3、VCAM-1、ICAM-1、E-选择素、P-选择素或CD31。

[0927] 181.根据实施方案156-172中任一项所述的方法，其中所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是改变的血液化学或者与改变的血液化学相关，并且所述改变的血液化学包括血清葡萄糖、血清白蛋白、总血清蛋白和/或血清钙水平的降低。

[0928] 182.根据实施方案156-170中任一项所述的方法，其中所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是组织损伤或者与组织损伤相关，任选地，其中所述组织损伤包括所述组织的组织细胞肉芽肿性浸润、坏死、血管损伤和/或血管渗漏。

[0929] 183.根据实施方案156-170中任一项所述的方法，其中所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是改变的行为或者与改变的行为相关，任选地，其中所述改变的行为包括食物摄入减少、水摄入减少、理毛行为减少和/或运动活动减少。

[0930] 184.根据实施方案156-183中任一项所述的方法，其中评估所述小鼠中的所述毒性和/或所述一种或多种体征、症状或结果是通过聚合酶链式反应(PCR)、RNA印迹、DNA印迹、微阵列、测序技术、免疫测定、流式细胞术、组织化学、监测体重、监测体温和/或观察身体、表型和/或行为变化或特征来确定。

[0931] 185.根据实施方案156-184中任一项所述的方法，其中通过RNA测序(RNA-seq)评估所述一种或多种基因产物或其部分的表达。

[0932] 186.根据实施方案156-185中任一项所述的方法，其中所述淋巴细胞清除剂或疗法不包括全身放射和/或不包括完全或基本上完全的免疫消融。

[0933] 187.根据实施方案156-186中任一项所述的方法，其中所述免疫疗法结合至和/或识别在所述免疫活性小鼠的细胞或组织之上或之中表达的抗原。

[0934] 188.根据实施方案187所述的方法，其中所述抗原是在鼠类细胞上天然表达的抗原，和/或所述抗原是细胞表面抗原，和/或所述免疫疗法结合至或识别所述抗原的细胞外表位。

[0935] 189.根据实施方案187或实施方案188所述的方法，其中所述细胞是鼠类细胞。

[0936] 190.根据实施方案187-189中任一项所述的方法，其中所述抗原在循环细胞的表面上表达，或者所述细胞是循环细胞。

[0937] 191.根据实施方案187-190中任一项所述的方法，其中所述抗原是B细胞抗原，或者是在B细胞的表面上表达，或者其中所述细胞是鼠类B细胞。

[0938] 192.根据实施方案156-191中任一项所述的方法，其中所述免疫疗法是刺激或激活免疫细胞的药剂。

[0939] 193.根据实施方案192所述的方法，其中所述免疫疗法是T细胞接合疗法，任选地，

其中所述T细胞接合疗法包括双特异性抗体，其中至少一个结合部分特异性地结合至T细胞抗原，任选地CD3。

[0940] 194.根据实施方案192或实施方案193所述的方法，其中所述T细胞接合疗法的氨基酸序列包括鼠类序列，和/或对所述小鼠无免疫原性。

[0941] 195.根据实施方案156-191中任一项所述的方法，其中所述免疫疗法包括细胞疗法，所述细胞疗法任选地包括表达重组受体的遗传工程化细胞的剂量或组合物。

[0942] 196.根据实施方案195所述的方法，其中所述工程化细胞包含从生物样品获得的细胞，所述生物样品来自所述免疫活性小鼠或来自与所述免疫活性小鼠属于相同品系或亚品系的小鼠。

[0943] 197.根据实施方案196所述的方法，其中所述生物样品包含脾细胞。

[0944] 198.根据实施方案195-197中任一项所述的方法，其中所述工程化细胞包含NK细胞或T细胞，任选地，其中所述T细胞是CD4+和/或CD8+T细胞。

[0945] 199.根据实施方案195-198中任一项所述的方法，其中所述重组受体是T细胞受体或功能性非T细胞受体。

[0946] 200.根据实施方案195-199中任一项所述的方法，其中所述重组受体是嵌合受体，任选地嵌合抗原受体(CAR)。

[0947] 201.根据实施方案195-200中任一项所述的方法，其中：

[0948] 所述重组受体的氨基酸序列是鼠类的；和/或

[0949] 所述嵌合受体的单独区域或结构域包含天然鼠类蛋白的区域或结构域和/或包含鼠类序列；和/或

[0950] 所述嵌合受体的单独区域或结构域对所述小鼠无免疫原性。

[0951] 202.根据实施方案200或实施方案201所述的方法，其中所述重组受体是嵌合抗原受体(CAR)，并且所述CAR包含特异性地结合至所述抗原的细胞外抗原结合结构域。

[0952] 203.根据实施方案202所述的方法，其中所述抗原结合结构域是抗体或抗原结合片段，其中所述抗原结合片段任选地是单链片段，任选地scFv。

[0953] 204.根据实施方案200-203中任一项所述的方法，其中所述CAR包含含有ITAM的细胞内信号传导结构域，其中任选地，所述细胞内信号传导结构域包含CD3-zeta(CD3ζ)链任选鼠类CD3-ζ的细胞内结构域。

[0954] 205.根据实施方案204所述的方法，其中所述细胞内信号传导结构域进一步包含共刺激信号传导区，所述共刺激信号传导区任选地包含CD28或4-1BB任选鼠类CD28或鼠类4-1BB的信号传导结构域。

[0955] 206.根据实施方案187-205中任一项所述的方法，其中所述抗原是或包含ROR1、B细胞成熟抗原(BCMA)、碳酸酐酶9(CAIX)、Her2/neu(受体酪氨酸激酶erbB2)、L1-CAM、CD19、CD20、CD22、间皮素、CEA和乙型肝炎表面抗原、抗叶酸受体、CD23、CD24、CD30、CD33、CD38、CD44、EGFR、上皮糖蛋白2(EPG-2)、上皮糖蛋白40(EPG-40)、EPHa2、erb-B2、erb-B3、erb-B4、erbB二聚体、EGFR vIII、叶酸结合蛋白(FBP)、FCRL5、FCRH5、胎儿乙酰胆碱受体、GD2、GD3、HMW-MAA、IL-22R-α、IL-13R-α2、激酶插入结构域受体(kdr)、κ轻链、路易斯Y、L1-细胞粘附分子(L1-CAM)、黑色素瘤相关抗原3(MAGE)-A1、MAGE-A3、MAGE-A6、优先表达的黑色素瘤抗原(PRAME)、存活蛋白、TAG72、B7-H6、IL-13受体α2(IL-13Ra2)、CA9、GD3、HMW-MAA、CD171、

G250/CAIX、HLA-AI MAGE A1、HLA-A2 NY-ESO-1、PSCA、叶酸受体-a、CD44v6、CD44v7/8、avb6整合素、8H9、NCAM、VEGF受体、5T4、胎儿AchR、NKG2D配体、CD44v6、双重抗原、癌症-睾丸抗原、间皮素、鼠类CMV、粘蛋白1(MUC1)、MUC16、PSCA、NKG2D、NY-ESO-1、MART-1、gp100、癌胚胎抗原(oncofetal antigen)、ROR1、TAG72、VEGF-R2、癌胚抗原(carcinoembryonic antigen)(CEA)、前列腺特异性抗原、PSMA、Her2/neu、雌激素受体、孕酮受体、肝配蛋白B2、CD123、c-Met、GD-2、O-乙酰化GD2(OGD2)、CE7、Wilms肿瘤1(WT-1)、细胞周期蛋白、细胞周期蛋白A2、CCL-1、CD138、和/或病原体特异性抗原。

[0956] 207.根据实施方案187-206中任一项所述的方法,其中所述抗原是B细胞成熟抗原(BCMA)、CD19、CD20、CD22、CD24、CD30和/或CD38。

[0957] 208.根据实施方案187-207中任一项所述的方法,其中所述抗原是CD19。

[0958] 209.根据实施方案187-208中任一项所述的方法,其中:

[0959] 所述抗原是在给予至所述小鼠的细胞上表达;和/或

[0960] 所述方法包括向所述免疫活性小鼠给予表达所述抗原的一种或多种细胞,任选地,其中所述抗原表达细胞是在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法之前给予。

[0961] 210.根据实施方案187-209中任一项所述的方法,其中所述抗原是在肿瘤和/或癌细胞之上或之中表达,和/或所述抗原表达细胞是肿瘤和/或癌细胞,并且其中:

[0962] 所述免疫活性小鼠包含所述肿瘤和/或癌细胞;和/或

[0963] 所述方法还包括任选地在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法之前,向所述免疫活性小鼠给予一种或多种癌细胞和/或肿瘤或肿瘤组织。

[0964] 211.根据实施方案210所述的方法,其中所述癌细胞和/或肿瘤与所述免疫活性小鼠属于相同物种和/或是小鼠细胞或小鼠肿瘤,任选地,其中所述抗原是在所述一种或多种癌细胞之上或之中(任选地在其表面上)表达和/或在所述肿瘤之上或之中表达。

[0965] 212.根据实施方案210或实施方案211所述的方法,其中所述一种或多种癌细胞和/或所述肿瘤包含癌性B细胞,任选地小鼠B细胞,和/或是B细胞衍生的。

[0966] 213.根据实施方案210-212中任一项所述的方法,其中所述小鼠含有和/或所述一种或多种癌细胞和/或肿瘤细胞包含L1210细胞、38C13细胞、BCL1细胞、A20细胞、4TOO细胞、B6自发模型细胞、CH44细胞、S11细胞、LY-ar细胞、LY-as细胞、Pi-BCL1细胞、38C13 Her2/neu细胞、Myc5-M5细胞、小鼠淋巴肉瘤细胞系细胞、由Bcl2细胞转染的FL5.12、38C13 CD20+细胞、A20.IIA-GFP/IIA1.6-GFP细胞、和/或LMycSN-p53无效细胞。

[0967] 214.根据实施方案210-213中任一项所述的方法,其中所述小鼠含有和/或所述一种或多种癌细胞或肿瘤细胞包含A20细胞。

[0968] 215.根据实施方案156-214中任一项所述的方法,其中所述免疫活性小鼠不包含或没有工程化以包含减少细胞因子应答的突变和/或不包含NLRP12基因中的突变,NLRP12基因中的所述突变任选地位于赖氨酸1034,任选地是K1034R。

[0969] 216.根据实施方案156-215中任一项所述的方法,其中所述免疫活性小鼠不是C57BL/6小鼠或其亚品系。

[0970] 217.根据实施方案156-216中任一项所述的方法,其中所述免疫活性小鼠不是C57BL/6J小鼠、C57BL/6JJcl小鼠、C57BL/6JJmsSlc小鼠、C57BL/6NJcl小鼠、C57BL/6NCrlCrlj小鼠、C57BL/6NTac小鼠或C57BL/6CrSlc小鼠,和/或不是前述任一种的亚品系。

[0971] 218.根据实施方案156-217中任一项所述的方法，其中在用抗原和任选地佐剂激发后，所述免疫活性小鼠与被给予相同抗原的免疫活性C57BL/6小鼠相比，一种或多种细胞因子有所增加，任选地，其中所述一种或多种细胞因子是炎性细胞因子。

[0972] 219.根据实施方案156-218中任一项所述的方法，其中所述免疫活性小鼠是BALB/c小鼠或者是其亚品系。

[0973] 220.根据实施方案219所述的方法，其中所述BALB/c小鼠或其亚品系是BALB/cJ小鼠或BALB/cByJ小鼠。

[0974] 221.根据实施方案156-220中任一项所述的方法，其中所述淋巴细胞清除剂或疗法包括化学治疗剂。

[0975] 222.根据实施方案221所述的方法，其中所述化学治疗剂包含以下中的一种或多种：毒素、烷化剂、DNA断链剂、拓扑异构酶II抑制剂、DNA小沟结合剂、抗代谢物、微管蛋白相互作用剂、孕激素、肾上腺皮质类固醇、促黄体激素释放剂拮抗剂、促性腺激素释放激素拮抗剂或抗激素抗原。

[0976] 223.根据实施方案221或实施方案222所述的方法，其中化学治疗剂包含以下中的一种或多种：环磷酰胺、苯丁酸氮芥、苯达莫司汀、异环磷酰胺、泼尼松、地塞米松、顺铂、卡铂、奥沙利铂、氟达拉滨、喷司他丁、克拉屈滨、阿糖胞苷、吉西他滨、甲氨蝶呤、普拉曲沙、长春新碱、多柔比星、米托蒽醌、依托泊苷、博来霉素或其组合。

[0977] 224.根据实施方案221-223中任一项所述的方法，其中所述化学治疗剂是或包含环磷酰胺。

[0978] 225.根据实施方案156-224中任一项所述的方法，其中：

[0979] 所述淋巴细胞清除剂或疗法包括按以下剂量给予环磷酰胺：至少或至少约50mg/kg、至少或至少约100mg/kg、至少或至少约200mg/kg、至少或至少约250mg/kg、至少或至少约300mg/kg、至少或至少约400mg/kg、至少或至少约500mg/kg或至少或至少约750mg/kg或介于前述任何项之间的范围；或

[0980] 所述淋巴细胞清除剂或疗法包括按以下剂量给予环磷酰胺：介于或介于约50mg/kg与750mg/kg之间、50mg/kg与500mg/kg之间、50mg/kg与250mg/kg之间、50mg/kg与100mg/kg之间、100mg/kg与750mg/kg之间、100mg/kg与500mg/kg之间、100mg/kg与250mg/kg之间、250mg/kg与750mg/kg之间、250mg/kg与500mg/kg之间或500mg/kg与750mg/kg之间，每个都包含端值。

[0981] 226.根据实施方案156-225中任一项所述的方法，其中所述淋巴细胞清除剂或疗法包括以250mg/kg或约250mg/kg的剂量给予环磷酰胺。

[0982] 227.根据实施方案225或实施方案226所述的方法，其中环磷酰胺的所述剂量是在开始给予所述免疫疗法之前一次给予。

[0983] 228.根据实施方案225-227中任一项所述的方法，其中腹膜内给予所述环磷酰胺。

[0984] 229.根据实施方案156-228中任一项所述的方法，其中开始给予所述免疫疗法是在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法之后介于0.5小时与120小时之间进行。

[0985] 230.根据实施方案156-229中任一项所述的方法，其中开始给予所述免疫疗法是在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法之后介于12小时与48小时之间进行。

[0986] 231.根据实施方案156-230中任一项所述的方法，其中开始给予所述免疫疗法是

在给予所述淋巴细胞清除剂或疗法之后24小时或约24小时进行。

[0987] 232.根据实施方案156-231中任一项所述的方法，其中所述细胞疗法包括给予从或从约1x 10^6至1x 10^8个总重组受体表达细胞或总T细胞。

[0988] 233.根据实施方案156-232中任一项所述的方法，其中所述细胞疗法包括给予至少或大约至少或为或为约5x 10^6个总重组受体表达细胞或总T细胞、1x 10^7个总重组受体表达细胞或总T细胞、或5x 10^7个总重组受体表达细胞或总T细胞。

[0989] 234.根据实施方案1-82中任一项所述的方法，其中在开始给予所述淋巴细胞清除剂或疗法或所述免疫疗法之前给予表达所述抗原的所述细胞。

[0990] 235.根据实施方案1-82或234中任一项所述的方法，其中在开始给予所述淋巴细胞清除剂或疗法或所述免疫疗法之前给予表达所述抗原的所述细胞。

[0991] 236.一种产生免疫疗法相关毒性或免疫疗法相关毒性结果的小鼠模型的方法，所述方法包括：

[0992] i)向免疫活性小鼠给予表达抗原的肿瘤细胞；

[0993] ii)在给予所述肿瘤细胞后，将淋巴细胞清除剂或疗法给予所述免疫活性小鼠，其中所述淋巴细胞清除剂或疗法不包括全身放射和/或不包括完全或基本上完全的免疫消融；和

[0994] iii)随后向所述小鼠给予免疫疗法，其中所述免疫疗法结合至和/或识别在所述肿瘤细胞上表达的所述抗原。

[0995] 237.一种产生免疫疗法相关毒性或免疫疗法相关毒性结果的小鼠模型的方法，所述方法包括：

[0996] i)将淋巴细胞清除剂或疗法给予包含表达抗原的肿瘤细胞的免疫活性小鼠，任选地，其中所述肿瘤细胞是在开始给予所述淋巴细胞清除剂或疗法之前已被给予所述小鼠，其中所述淋巴细胞清除剂或疗法不包括全身放射和/或不包括完全或基本上完全的免疫消融；和

[0997] ii)随后向所述小鼠给予免疫疗法，其中所述免疫疗法结合至和/或识别在所述肿瘤细胞上表达的所述抗原。

[0998] 238.根据实施方案1-82或234-237中任一项所述的方法，其中以足以在所述小鼠中形成肿瘤的量给予所述肿瘤细胞。

[0999] 239.根据实施方案1-82或234-238中任一项所述的方法，其中在所述小鼠中的肿瘤负荷包含以下之后的一个时间，将所述淋巴细胞清除剂或疗法和/或所述免疫疗法给予所述小鼠：

[1000] 直径大于或大于约或为约5mm、大于或大于约或为约10mm、大于或大于约或为约15mm，任选地5mm至15mm或10mm至15mm的肿瘤大小；和/或

[1001] 大于或大于约或为约60mm^3、大于或大于约或为约70mm^3、大于或大于约或为约80mm^3、大于或大于约或为约90mm^3、或大于或大于约或为约100mm^3的肿瘤体积。

[1002] 240.根据实施方案1-82或234-239中任一项所述的方法，其中所述肿瘤细胞是在开始给予所述淋巴细胞清除剂或疗法或所述免疫疗法之前介于或介于约7天与28天之间、14天与21天之间、或17天与19天之间给予，每个都包含端值。

[1003] 241.根据实施方案1-82或234-240中任一项所述的方法，其中所述肿瘤细胞是B细

胞癌细胞系。

[1004] 242.根据实施方案1-82或234-241中任一项所述的方法，其中所述B细胞癌细胞系选自L1210细胞、38C13细胞、BCL1细胞、A20细胞、4T00细胞、B6自发模型细胞、CH44细胞、S11细胞、LY-ar细胞、LY-as细胞、Pi-BCL1细胞、38C13 Her2/neu细胞、Myc5-M5细胞、小鼠淋巴肉瘤细胞系细胞、由Bcl2细胞转染的FL5.12、38C13 CD20+细胞、A20.IIA-GFP/IIA1.6-GFP细胞、和/或LMycSN-p53无效细胞或其组合。

[1005] 243.根据实施方案1-82或234-242中任一项所述的方法，其中所述细胞疗法包括表达重组受体的鼠类T细胞，所述重组受体结合至和/或识别在所述免疫活性小鼠的B细胞上表达的鼠类抗原。

[1006] 244.根据实施方案1-82或234-243中任一项所述的方法，其中所述肿瘤细胞是在给予所述免疫疗法之前17天、18天或19天或约17天、约18天或约19天给予。

[1007] 245.根据实施方案1-82或234-244中任一项所述的方法，其中所述淋巴细胞清除剂或疗法包括至少或至少约100mg/kg环磷酰胺或介于或介于约50mg/kg与500mg/kg之间的环磷酰胺的剂量，每个都包含端值。

[1008] 246.根据实施方案1-82或234-245中任一项所述的方法，其中所述淋巴细胞清除剂或疗法包括250mg/kg或约250mg/kg环磷酰胺的剂量。

[1009] 247.根据实施方案1-82或234-246中任一项所述的方法，其中所述细胞疗法包括给予介于或介于约5x 10^6与约5x 10^7个之间的总重组受体表达细胞或总T细胞。

[1010] 248.根据实施方案1-82或234-246中任一项所述的方法，其中所述一种或多种基因产物与以下相关或参与以下，其中所述一种或多种基因产物与以下相关或参与以下：病毒过程、多生物细胞过程、活性氧类代谢过程、对蛋白质修饰过程的负向调节、对细胞粘附的正向调节、共生生物对宿主的粘附、细胞-基质粘附、侣伴蛋白介导的蛋白质折叠、肽基-酪氨酸修饰、趋性、对其他生物体的防御应答、甾醇生物合成过程、对氮化合物的细胞应答。

[1011] 249.根据实施方案1-82或234-246中任一项所述的方法，其中所述一种或多种基因产物选自Gbp4、Gbp5、Gbp2、Gbp8、Angpt2、Angptl4、Hif3a、Lrg1、Mmrn2、Xdh、Acer2、Atf3、Pdk4、Pla2g3、Sult1a1、CD274(PD-L1)、Tgtp1、Vwf、Ncf1、Aox1、Bnip3、Pxdn、Scara3、Mgst3、Ptgs2、Nos3、VCAM-1、ICAM-1、E-选择素、P-选择素、或CD31。

[1012] 250.根据实施方案1-82或234-249中任一项所述的方法，其中所述一种或多种基因产物选自Adipoq(脂联素)、Aif1(同种异体移植物炎性因子1)、Aqp4(水通道蛋白-4)、Ccl2(C-C基序趋化因子2)、CD68、Edn1(内皮素-1)、Serpine 1、Tgfb1(转化生长因子β-1)、Tgfb2(转化生长因子β2)、Tgfb3(转化生长因子β3)、Tlr2(Toll样受体2)、Tlr4(toll样受体4)、IL2ra、IL-13、Gzmb(颗粒酶B)、TNF、CXCL10(IP-10)、CCL2(MCP-1，C-C基序趋化因子2)、CXCL11(I-TAC，C-X-C基序趋化因子11)、CXCL1(KC，生长调节α蛋白)、CCL4(MIP-1b，C-C基序趋化因子4)、NLRC5(I类反式激活因子)或CIITA(II类反式激活因子)。

[1013] 251.一种小鼠模型，所述小鼠模型包含免疫活性小鼠，所述免疫活性小鼠包含：

[1014] 与相同品系的初试小鼠中一种或多种淋巴细胞群的平均数量相比，所述一种或多种淋巴细胞群的数量的部分耗尽；免疫疗法，其中所述免疫疗法结合至和/或识别抗原，其中所述免疫疗法对于所述免疫活性小鼠是外源的，任选地，其中所述免疫疗法是重组的或嵌合的；和包含所述抗原的肿瘤细胞，任选地，其中所述抗原是在所述肿瘤细胞表面上表

达。

[1015] 252.根据实施方案83-151或252中任一项所述的小鼠模型,其中所述免疫疗法包括细胞疗法,所述细胞疗法包括表达重组受体的遗传工程化细胞。

[1016] 253.根据实施方案83-151或252-253中任一项所述的小鼠模型,其中所述工程化细胞包含从生物样品获得的细胞,所述生物样品来自所述免疫活性小鼠或来自与所述免疫活性小鼠属于相同品系或亚品系的小鼠。

[1017] 254.根据实施方案83-151或252中任一项所述的小鼠模型,其中所述生物样品包含脾细胞。

[1018] 255.根据实施方案83-151或252-253中任一项所述的小鼠模型,其中所述细胞疗法包括表达重组受体的鼠类T细胞,所述重组受体结合至和/或识别在所述免疫活性小鼠的B细胞上表达的鼠类抗原。

[1019] 256.根据实施方案83-151或252-254中任一项所述的小鼠模型,其中所述重组受体是T细胞受体或功能性非T细胞受体。

[1020] 257.根据实施方案83-151或252-256中任一项所述的小鼠模型,其中所述重组受体是嵌合受体,任选地嵌合抗原受体(CAR)。

[1021] 258.根据实施方案83-151或252中任一项所述的小鼠模型,其中:

[1022] 所述重组受体的氨基酸序列是鼠类的;和/或

[1023] 所述嵌合受体的单独区域或结构域包含天然鼠类蛋白的区域或结构域和/或包含鼠类序列;和/或

[1024] 所述嵌合受体的单独区域或结构域对所述小鼠无免疫原性。

[1025] 259.根据实施方案83-151或252-260中任一项所述的小鼠模型,其中所述抗原是B细胞成熟抗原(BCMA)、CD19、CD20、CD22、CD24、CD30和/或CD38。

[1026] 260.根据实施方案83-151或252-259中任一项所述的小鼠模型,其中所述抗原是CD19。

[1027] 261.根据实施方案83-151或252-260中任一项所述的小鼠模型,其中所述一种或多种基因产物与以下相关或参与以下:病毒过程、多生物细胞过程、活性氧类代谢过程、对蛋白质修饰过程的负向调节、对细胞粘附的正向调节、共生生物对宿主的粘附、细胞-基质粘附、侣伴蛋白介导的蛋白质折叠、肽基-酪氨酸修饰、趋性、对其他生物体的防御应答、甾醇生物合成过程、对氮化合物的细胞应答。

[1028] 262.根据实施方案83-151或252-261中任一项所述的小鼠模型,其中所述一种或多种基因产物与以下相关或参与以下:免疫应答、血管发生、甾醇代谢过程、氧化应激、抗氧化防御、一氧化氮信号传导途径、细胞粘附或前述项的任何项的组合。

[1029] 263.根据实施方案83-151或252-262中任一项所述的小鼠模型,其中毒性包括脑组织损伤。

[1030] 264.根据实施方案83-151或252-261中任一项所述的小鼠模型,其中所述脑组织损伤包括出血。

[1031] 265.根据实施方案51、67-77或79-82中任一项所述的方法,其中所述一种或多种基因产物选自Acer2(碱性神经酰胺酶2)、Adipoq(脂联素)、Aif1(同种异体移植物炎性因子1)、Angpt1(血管生成素1)、Angpt14(血管生成素样4)、Angpt2(血管生成素2)、Aox1(醛氧化

酶)、Aqp4(水通道蛋白-4)、Atf3(环AMP依赖性转录因子ATF-3)、Bnip3(BCL2/腺病毒E1B 19kDa蛋白相互作用蛋白3)、Ccl2(C-C基序趋化因子2)、CCL4(MIP-1b,C-C基序趋化因子4)、CD31(PECAM-1)、CD274、CD68、CIITA(II类反式激活因子)、CXCL1(KC,生长调节α蛋白)、CXCL10(IP-10)、CXCL11(I-TAC,C-X-C基序趋化因子11)、Edn1(内皮素-1)、Gbp2(鸟苷酸结合蛋白2)、Gbp4(鸟苷酸结合蛋白4)、Gdp5(鸟苷酸结合蛋白5)、Gdp9(鸟苷酸结合蛋白9)、GM-CSF、Gzmb(颗粒酶B)、HIF3a(缺氧诱导因子3α亚基)、ICAM-1(细胞间粘附分子1)、IL2ra(白细胞介素-2受体亚基α)、IL-4、IL-6、IL-13、Lrg1(富含亮氨酸的α-2-糖蛋白1)、Mgst3(微粒体谷胱甘肽S-转移酶3)、Mmrn2,(多聚蛋白-2)、Ncf1(嗜中性粒细胞胞质溶胶因子1)、NLRC5(I类反式激活因子)、Nos3(一氧化氮合酶,内皮型)、Pdk4(丙酮酸脱氢酶激酶,同工酶4)、Pla2g3(3族分泌型磷脂酶A2前体)、Ptgs2(前列腺素G/H合酶2)、Pxdn(过氧蛋白同源物)、Scara3(清道夫受体A类成员3)、Sele(E-选择素)、Selp(P-选择素)、IL2ra、IL-13、Serpine 1、Sult1a1(磺基转移酶1A1)、Tgfb1(转化生长因子β-1)、Tgfb2(转化生长因子β2)、Tgfb3(转化生长因子β3)、Tgtp1(T细胞特异性鸟嘌呤核苷酸三磷酸结合蛋白1)、Tlr2(Toll样受体2)、Tlr4(toll样受体4)、TNF(肿瘤坏死因子)、VCAM-1(血管细胞粘附蛋白1)、Vwf(血管性血友病因子)或Xdh(黄嘌呤脱氢酶)。

[1032] 266.根据实施方案121、137-147或149-152中任一项所述的小鼠模型,其中所述一种或多种基因产物选自:Acer2(碱性神经酰胺酶2)、Adipoq(脂联素)、Aif1(同种异体移植物炎性因子1)、Angpt1(血管生成素1)、Angpt14(血管生成素样4)、Angpt2(血管生成素2)、Aox1(醛氧化酶)、Aqp4(水通道蛋白-4)、Atf3(环AMP依赖性转录因子ATF-3)、Bnip3(BCL2/腺病毒E1B 19kDa蛋白相互作用蛋白3)、Ccl2(C-C基序趋化因子2)、CCL4(MIP-1b,C-C基序趋化因子4)、CD31(PECAM-1)、CD274、CD68、CIITA(II类反式激活因子)、CXCL1(KC,生长调节α蛋白)、CXCL10(IP-10)、CXCL11(I-TAC,C-X-C基序趋化因子11)、Edn1(内皮素-1)、Gbp2(鸟苷酸结合蛋白2)、Gbp4(鸟苷酸结合蛋白4)、Gdp5(鸟苷酸结合蛋白5)、Gdp9(鸟苷酸结合蛋白9)、GM-CSF、Gzmb(颗粒酶B)、HIF3a(缺氧诱导因子3α亚基)、ICAM-1(细胞间粘附分子1)、IL2ra(白细胞介素-2受体亚基α)、IL-4、IL-6、IL-13、Lrg1(富含亮氨酸的α-2-糖蛋白1)、Mgst3(微粒体谷胱甘肽S-转移酶3)、Mmrn2,(多聚蛋白-2)、Ncf1(嗜中性粒细胞胞质溶胶因子1)、NLRC5(I类反式激活因子)、Nos3(一氧化氮合酶,内皮型)、Pdk4(丙酮酸脱氢酶激酶,同工酶4)、Pla2g3(3族分泌型磷脂酶A2前体)、Ptgs2(前列腺素G/H合酶2)、Pxdn(过氧蛋白同源物)、Scara3(清道夫受体A类成员3)、Sele(E-选择素)、Selp(P-选择素)、IL2ra、IL-13、Serpine 1、Sult1a1(磺基转移酶1A1)、Tgfb1(转化生长因子β-1)、Tgfb2(转化生长因子β2)、Tgfb3(转化生长因子β3)、Tgtp1(T细胞特异性鸟嘌呤核苷酸三磷酸结合蛋白1)、Tlr2(Toll样受体2)、Tlr4(toll样受体4)、TNF(肿瘤坏死因子)、VCAM-1(血管细胞粘附蛋白1)、Vwf(血管性血友病因子)或Xdh(黄嘌呤脱氢酶)。

[1033] 267.根据实施方案170、175-179或181-233中任一项所述的方法,其中所述一种或多种基因产物选自:Acer2(碱性神经酰胺酶2)、Adipoq(脂联素)、Aif1(同种异体移植物炎性因子1)、Angpt1(血管生成素1)、Angpt14(血管生成素样4)、Angpt2(血管生成素2)、Aox1(醛氧化酶)、Aqp4(水通道蛋白-4)、Atf3(环AMP依赖性转录因子ATF-3)、Bnip3(BCL2/腺病毒E1B 19kDa蛋白相互作用蛋白3)、Ccl2(C-C基序趋化因子2)、CCL4(MIP-1b,C-C基序趋化因子4)、CD31(PECAM-1)、CD274、CD68、CIITA(II类反式激活因子)、CXCL1(KC,生长调节α蛋

白)、CXCL10(IP-10)、CXCL11(I-TAC,C-X-C基序趋化因子11)、Edn1(内皮素-1)、Gbp2(鸟苷酸结合蛋白2)、Gbp4(鸟苷酸结合蛋白4)、Gdp5(鸟苷酸结合蛋白5)、Gdp9(鸟苷酸结合蛋白9)、GM-CSF、Gzmb(颗粒酶B)、HIF3a(缺氧诱导因子3α亚基)、ICAM-1(细胞间粘附分子1)、IL2ra(白细胞介素-2受体亚基α)、IL-4、IL-6、IL-13、Lrg1(富含亮氨酸的α-2-糖蛋白1)、Mgst3(微粒体谷胱甘肽S-转移酶3)、Mmrn2(多聚蛋白-2)、Ncf1(嗜中性粒细胞胞质溶胶因子1)、NLRC5(I类反式激活因子)、Nos3(一氧化氮合酶,内皮型)、Pdk4(丙酮酸脱氢酶激酶,同工酶4)、Pla2g3(3族分泌型磷脂酶A2前体)、Ptgs2(前列腺素G/H合酶2)、Pxdn(过氧蛋白同源物)、Scara3(清道夫受体A类成员3)、Sele(E-选择素)、Selp(P-选择素)、IL2ra、IL-13、Serpine 1、Sult1a1(磺基转移酶1A1)、Tgfb1(转化生长因子β-1)、Tgfb2(转化生长因子β2)、Tgfb3(转化生长因子β3)、Tgtp1(T细胞特异性鸟嘌呤核苷酸三磷酸结合蛋白1)、Tlr2(Toll样受体2)、Tlr4(toll样受体4)、TNF(肿瘤坏死因子)、VCAM-1(血管细胞粘附蛋白1)、Vwf(血管性血友病因子)或Xdh(黄嘌呤脱氢酶)。

[1034] VI.实施例

[1035] 仅出于说明性目的包括以下实施例,并不意图限制本发明的范围。

[1036] 实施例1:抗鼠类CD19 CAR-T细胞的产生

[1037] 产生编码抗鼠类CD19嵌合抗原受体(CAR)的核酸分子,其中所编码的CAR包含N末端CD8α信号肽(SEQ ID NO:1);含有衍生自1D3大鼠单克隆抗鼠类CD19抗体(ATCC编号HB-305)的可变重链(VH;SEQ ID NO:2)和可变轻链(VL;SEQ ID NO:3)的抗鼠类CD19 scFv;鼠类IgG3铰链区(SEQ ID NO:4);衍生自鼠类CD28的跨膜区(SEQ ID NO:5);含有鼠类41BB的细胞内信号传导结构域(SEQ ID NO:6)的细胞内信号传导区;和鼠类CD3的细胞内信号传导结构域(SEQ ID NO:7)。所述核酸分子还包括小鼠Thy1.1序列(SEQ ID NO:8),以用作BALB/c小鼠中CAR表达的替代标记,所述小鼠Thy1.1序列是通过自切割型T2A序列与CAR序列分开。作为非靶标对照,产生类似的CAR构建体,但是其包含含有衍生自FMC63的VH(SEQ ID NO:9)和VL(SEQ ID NO:10)链的抗人CD19 scFv。

[1038] 将所述核酸分子单独克隆至逆转录病毒载体中以便引入鼠类T细胞中。将淋巴结和脾从BALB/c供体小鼠收集,加工为单细胞悬浮液,并使用全T细胞分离试剂盒(Miltenyi Biotec)对总T细胞进行阳性选择。将T细胞用80IU/ml鼠类IL-2培养,并在细胞培养的第2天和第3天用编码所述CAR的病毒连续转导。作为模拟对照,将细胞仅用培养基来孵育。在细胞培养的第4天,添加含有10IU/ml IL-15的新鲜培养基并在第5天收集细胞。将所产生的小鼠抗CD19-CAR表达T细胞给予如下文研究中所述的小鼠中。在一些情况下,将所产生的小鼠CAR表达细胞(muCAR-T)低温冷冻并在使用前储存在-80℃下。

[1039] 实施例2:针对免疫疗法的毒性的小鼠模型的开发

[1040] 通过腹膜内(i.p.)注射将单一剂量的100mg/kg或250mg/kg环磷酰胺(CPA)注射至初试BALB/c小鼠(无肿瘤)中。24小时后,通过静脉内注射至侧尾静脉中将约5x 10^6个如实施例1中所述产生的小鼠CAR表达T细胞或模拟(对照)细胞转移至小鼠中。作为对照,仅向小鼠注射CPA或对小鼠不作治疗。表E1示出治疗组。

[1041]

表E1：治疗组			
组	CPA	muCAR-T或模拟	小鼠数量
1	-	-	5
2	100 mg/kg	-	5
3	100 mg/kg	5 x 10^6个muCAR-T	5
4	250 mg/kg	-	5
5	250 mg/kg	5 x 10^6个模拟T	5
6	250 mg/kg	5 x 10^6个muCAR-T	5

[1042] 在所有组中，在细胞输注后第三天和第四天向小鼠皮下给予流体，并且如果观察到严重症状，将小鼠转移至软食。在接受仅250mg/kg CPA、250mg/kg CPA和模拟细胞疗法、以及100mg/kg CPA和muCAR-T细胞的小鼠中，存活率为100％。在给予250mg/kg CPA和5x 10^6个muCAR-T的小鼠组中，在细胞输注后3至4天之间，一半(4/8)小鼠死亡或需要安乐死。

[1043] 在细胞输注后第3天、第10天、第17天、第31天和在一些小鼠中在第43天，从所治疗小鼠收集血液样品。通过检测替代标记Thy 1.1来评估所给予细胞在血液中的药代动力学(PK)。还评估在治疗后的时间点，血液中循环B细胞、T细胞和CD11b+细胞的数量。如图1A中所示，Thy 1.1+muCAR+T细胞约在第10天达到峰值，并且血液中的细胞数截至大约第17天开始下降。如与100mg/kg CPA相比，在从用250mg/kg CPA治疗的小鼠获得的样品中观察到约40倍高的循环Thy 1.1+CAR+细胞的扩增。用CPA治疗耗尽循环B细胞(图1B)、T细胞(图1C)和CD11b+细胞(图1D)。如图1B中所示，与用100mg/kg CPA治疗相比，用250mg/kg CPA治疗以更大的程度降低循环B细胞的水平，并且对于给予250mg/kg CPA和muCAR-T细胞的小鼠组，在给予细胞组合物后第43天观察到持续的B细胞发育不全。与其他组相比，在用250mg/kg CPA和muCAR-T细胞治疗的小鼠中观察到循环CD11b+细胞水平的早期波峰(图1C)。

[1044] 在用250mg/kg CPA和抗小鼠CD19 CAR T细胞治疗后在B细胞发育不全后在小鼠中观察到的严重副作用展现了作为小鼠模型用于评价与给予CAR-T细胞相关的毒性的用途。另外，所述小鼠模型还可以用于评价CAR T细胞持久性和活性。

[1045] 实施例3：小鼠毒性模型中的细胞因子应答

[1046] 在实施例2中所述的小鼠毒性模型中评估循环细胞因子和趋化因子的水平以及此类水平随时间的变化。

[1047] A.循环细胞因子和趋化因子水平

[1048] 检查给予CPA和CAR-T细胞组合物对循环细胞因子和趋化因子的水平的作用。将如实施例1中所述制备的低温冷冻的抗小鼠CD19 CAR-T细胞和模拟T细胞组合物解冻并基本上如实施例2中所述在250mg/kg CPA的存在下给予小鼠。具体地，向BALB/c小鼠给予250mg/kg CPA(仅CPA)、250mg/kg CPA和5x 10^6个细胞模拟细胞(CPA+模拟)、或250mg/kg CPA和5x 10^6个细胞muCAR-T细胞(CPA+CAR-T)。还使用未接受过任何CPA或细胞治疗的初试小鼠作为对照。

[1049] 在输注CAR T细胞后72小时从小鼠收集血清样品，并通过Meso Scale Discovery(MSD)分析细胞因子的水平。所述分析包括对IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、TNF-α、IFN-γ、MCP-1、MIP-1b和GM-CSF的测量，它们是已经观察到在一些人受试者中增加的细胞因子，所述人受试者在给予CAR+T细胞后经历毒性(包括神经毒性)。表E2描绘两个示例性实验的结果。对于每种细胞因子，显示相比于给予模拟T细胞，在来自给予muCAR-T细胞的小鼠的血清

样品中的倍数增加。还评估但未检测IL-12p70、IL-1b、IL-17A/F、IL-17C、IL-17F、IL-31和IL-33。

[1050] 表E2:如与CPA+模拟血清相比,在CPA+CAR-T样品中血清细胞因子的倍数变化

[1051]

细胞因子	实验1	实验2
IL-4	352.66	300.71
GM-CSF	151.08	217.66
IFN-γ	149.85	110.69
IL-5	133.24	86.92
IL-13	31.17	44.98
MCP-1	21.08	10.60
IL-10	18.68	7.09
IL-2	15.01	42.44
MIP-1a	12.26	5.04
IL-6	7.63	63.68
IL-21	6.44	6.31
MIP-1B	6.31	2.41
IL-23	6.24	
IP-10	5.94	10.88
TNF-α	4.00	11.52
KC/GRO	2.26	6.69
IL-16	1.49	
IL-17A	1.30	1.54
EPO	1.25	1.79
IL-30	1.20	
IL-9	0.87	1.36
VEGF	0.84	0.9
IL-17E/IL-25	0.81	1.07
IL-15	0.74	0.84
IL-22	0.54	2.02
MIP-3a	0.38	0.71
IL-12/IL-23p40	0.36	0.47

[1052] 图2A-V描绘在以下小鼠组中,在CAR+T细胞给予后72小时,在小鼠血清中检测到的示例性细胞因子的水平:初试、250 mg/kg CPA、250 mg/kg CPA+模拟T细胞、或250 mg/kg CPA+muCAR+T细胞。显示以下的循环水平:IL-2(图2A)、IL-4(图2B)、IL-5(图2C)、GM-CSF(图2D)、IFN-γ(图2E)、TNF-α(图2F)、IL-10(图2G)、MIP-1b(图2H)、MCP-1(图2I)、IL-6(图2J)、血管生成素-2(图2K)、EPO(图2L)、IL-12p70(图2M)、IL-13(图2N)、IL-15(图2O)、IL-17E/IL25(图2P)、IL-21(图2Q)、IL-23(图2R)、IL-30(图2S)、IP-10(图2T)、KC/GRO(图2U)和MIP-1a(图2V)。

[1053] 与其他治疗组相比,在从CPA+CAR-T小鼠获得的样品中观察到的升高的血清细胞

因子水平与给予250 mg/kg CPA+muCAR+T细胞的小鼠中的全身炎症应答一致。这些细胞因子在小鼠体内升高的观察结果指示，在向BALB/c小鼠中给予250mg/kg CPA+muCAR+T细胞后，所述小鼠模型可以展现与在人受试者中观察到的那些相似的指示毒性的特征。

[1054] B.循环细胞因子水平随时间的变化

[1055] 评估在给予CPA和CAR-T细胞后细胞因子水平随时间的变化。基本上如实施例2中所述向小鼠给予小鼠CAR表达细胞或对照细胞。具体地，向BALB/c小鼠注射250mg/kg腹膜内环磷酰胺(CPA)，并在24小时后给予如实施例1中所述产生的抗小鼠CD19 CAR表达T细胞(muCD19 CAR-T)或非靶标对照抗人CD19 CAR+T细胞(对照CAR-T)细胞。还使用未接受过任何CPA或细胞治疗的初试小鼠作为对照。在输注CAR T细胞后第2天、第5天和第6天获得血清样品。

[1056] 图2W描绘在输注CAR T细胞后第2天、第5天和第6天，血清IL-6水平随时间的变化。如图所示，与通常展现血清IL-6水平非常低或无增加的对照小鼠相比，在CAR-T给予后第2天，所述CPA+抗muCD19 CAR-T小鼠展现升高的血清IL-6水平，且在第5天降低。图2X描绘在输注CAR T细胞后第2天、第5天和第6天，血管生成素-2:血管生成素-1比率(Ang2:Ang1比率)随时间的变化。结果显示，CPA+CAR-T小鼠在所有时间点展现升高的Ang2:Ang1比率，且第2天Ang2:Ang1比率最高，为约32。与之相比，对照小鼠通常在所有时间点具有低的Ang2:Ang1比率。在患有严重CRS的人受试者中观察到Ang2:Ang1比率的类似的升高。

[1057] 因此，所述结果与以下发现一致:接受CPA+CAR-T的小鼠模型可以展现与在人受试者中观察到的那些类似的指示毒性的特征。

[1058] 实施例4:在针对免疫疗法的毒性的小鼠模型中的免疫细胞和表达谱

[1059] 在BALB/c小鼠中评估与毒性有关的各个参数，所述BALB/c小鼠是基本上如实施例2中所述而产生，以在给予涉及抗CD19 CAR T细胞的免疫疗法后发展B细胞发育不全。BALB/c小鼠不接受治疗(初试)或被给予250mg/kg CPA(仅CPA)、CPA和5x 10^6个细胞(CPA+模拟)、或CPA和5x 10^6个小鼠抗CD19 CAR+T细胞(CPA+CAR-T)。

[1060] 在输注细胞组合物后24、48和72小时，对每组中三只最健康的小鼠进行麻醉，经心脏灌注磷酸盐缓冲盐水(PBS)以冲洗脑血管，并将其处死。收集血液和组织样品(脾、肾、肝和脑)用于分析免疫细胞群、基因表达和血液化学。将血液和组织样品加工用于流式细胞术或速冻用于RNA测序(RNA-Seq)分析。对于流式细胞术，消化组织样品并使细胞悬浮液沿密度梯度分层，以富集免疫细胞群。

[1061] A.免疫细胞

[1062] 如通过流式细胞术评估的血液中CAR+T细胞和免疫细胞的水平显示于图3A-3D中。CPA预调理导致血液中循环CD45+活细胞(图3A)、CD11b+细胞(图3B)、内源T细胞(图3C)和内源B细胞(图3D)的耗尽，它们在给予CAR+T细胞后继续下降持续至少72小时。虽然单独的CPA耗尽内源循环B细胞，但是在另外给予抗鼠类CD19 CAR+T细胞的小鼠中在24小时内B细胞发育不全显著增加(图3D)。在细胞输注后48小时检测循环CAR+T细胞水平，并且所述循环CAR+T细胞继续扩增直至72小时(图3E)。如在给予小鼠抗CD19 CAR-T细胞后通过CAR+T细胞的CD4:CD8比率所指示，几乎所有循环CAR+T细胞都是CD4+细胞，特别是在早期时间点(图3F)。在未经转导的T细胞中，在给予muCAR-T细胞后，血液中的CAR+T细胞CD4:CD8细胞的比率发生改变(图3G)。

[1063] 在给予CAR+T细胞之后48小时，分别基于表面标记Thy1.1和Thy 1.2通过流式细胞术评估CAR+T细胞和内源T细胞的存在。图4A描绘在CAR-T给予后48小时血液、脾和脑中的示例性流式细胞术结果。如图所示，对照(模拟)T细胞在血液和脾中可检测，而小鼠抗CD19 CAR-T细胞在脑中可检测。这个结果与CAR-T细胞特异性迁移至脑中一致。如下文所述，显示在来自给予CPA+muCD19 CAR-T细胞的小鼠的样品中ICAM-1、VCAM-1、E-选择素和P-选择素的表达上调的RNA-Seq分析可以支持以下假设:CAR-T细胞浸润至脑中可以指示神经炎症的存在和/或内皮细胞粘附分子的上调。

[1064] 如图4B中所示，在所评估的所有时间点都在小鼠脑中观察到muCD19 CAR-T细胞的存在，且与较早时间点相比，在输注CAR-T细胞后72小时观察到较高绝对数量。在脑中的CAR+T细胞中，几乎全部都是CD4+T细胞(图4C)。CPA预调理耗尽脑组织中的免疫细胞，包括内源T细胞(图4D)和内源B细胞(图4F)。与仅给予CPA的对照或CPA+模拟T细胞的小鼠相比，在给予CPA+muCD19 CAR-T细胞后72小时后，脑中存在更多的内源T细胞(图4D)、内源B细胞(图4F)、CD45+细胞(图4G)和CD11b+细胞(图4H)的绝对数量。这个结果与在给予CPA+小鼠抗CD19 CAR-T细胞后随时间增加的免疫细胞浸润至脑中的水平一致。图4E显示，作为总T细胞的百分比，CD4+细胞的百分比在治疗组之间的小鼠中类似。

[1065] 如通过Thy 1.1+表达所检测，在给予CAR+T细胞后，在肝中在24小时内，以及在脾和肾中在48小时内，存在小鼠抗CD19 CAR-T细胞的增加。与在脑组织中观察到的类似，脾、肾和肝中的大部分CAR+T细胞是CD4+。用CPA治疗导致这些组织中的免疫细胞耗尽，包括内源T细胞、B细胞、CD45+细胞和CD11b+细胞。另外，如与CPA-模拟治疗的小鼠相比，在细胞给予后72小时从CPA+CAR-T治疗的小鼠收集的肝、脾和肾中观察到CD4+T细胞百分比的较小但显著的降低。与其他治疗组相比，给予小鼠抗CD19 CAR+T细胞在给予后24小时内增加免疫细胞、特别是CD11b+细胞在脾中的百分比，并且截至给予后72小时增加B细胞在肾中的绝对数量。在肝中，如与CPA-模拟治疗的小鼠的肝相比，在T细胞给予后48小时和72小时，在从CPA+CAR-T小鼠获得的组织中观察到显著较少的T细胞。

[1066] B.脑组织的RNA测序(RNA-Seq)

[1067] 对于通过RNA-Seq进行的转录组分析，获得来自每个脑组织样品的RNA，将其片段化并用于产生互补DNA(cDNA)文库以供测序。处理读段并对计数进行归一化和对数变换(log2)。

[1068] 如图5A中所示，通过对序列的读段计数进行定量来检测抗小鼠CD19 CAR表达，所述序列与抗小鼠CD19 CAR构建体的scFv片段进行比对。在从CPA+CAR-T组收集的脑组织中检测编码抗小鼠CD19scFv的转录物，并且在所检查的时间点期间，这些转录物的水平在脑中增加(图5A)。RNA测序的结果指示抗小鼠CD19 CAR-T细胞可能浸润至脑中。

[1069] 通过RNA-Seq进行的全基因组表达分析鉴定了在小鼠脑中表达的约17,589种基因，并且在这些基因中，如与来自初试小鼠的脑相比，3,558种基因在来自用CPA+CAR-T细胞治疗的小鼠的脑中差异表达(相比于0，在CPA+CART中$p<0.05$并且log2倍数变化>0.5;在所有其他治疗组中$p>0.05$)。307种基因具有大于1.4的log2倍数变化和在至少一种条件下$p<0.05$的统计学显著性。与来自仅用CPA或用CPA-模拟治疗的小鼠的脑相比，来自CPA+CAR-T治疗的小鼠的脑具有更多的差异表达基因(即，如与初试组相比具有显著不同的表达的基因)数量。差异表达的基因数量在给予muCD19 CAR-T细胞后24小时至72小时的渐增时间获

得的脑样品中增加。进行分层聚类分析。如图6A中所示，聚类分析确认了如与对照组相比，用抗小鼠CD19 CAR T细胞治疗的小鼠脑中的差异性基因表达谱。

[1070] 如图6B中所示，本体富集分析证实，在来自CPA+CAR-T治疗的小鼠的脑中鉴定的所述3,558种差异表达基因中，三十个基因本体(GO)种类在来自CPA+CAR-T治疗的小鼠的脑中的差异表达基因中具有最大表示。这些基因本体种类包括与以下相关的GO种类：细胞因子活性、对干扰素的应答、通过MHC I类进行的抗原处理、先天免疫力和血管形态发生。这些结果与在用CPA和抗小鼠CD19 CAR-T细胞治疗后，炎症参与在脑中所观察到的转录应答相一致。

[1071] 在给予CPA+CAR-T之后而不是在仅给予CPA或给予CPA+模拟之后，在脑中差异性上调的各个GO类别中的示例性基因包括：粘附分子基因(包括图7A和图7B中所示的VCAM-1、ICAM-1、E-选择素、P-选择素和CD31(PECAM-1))；与免疫应答有关的基因(包括Gbp2、Gbp4、Gbp5和Gbp9，如图7C和图7D中所示)；与血管发生有关的基因(包括Angpt2、Angpt14、Hif3a、Lrg1、Mmrn2和Xdh，如图7E-图7G中所示)；与甾醇代谢过程有关的基因(包括Acer2、Atf3、Pdk4、Pla2g3、Sult1a1，如图7H-图7J中所示)；氧化应激和抗氧化防御中涉及的基因(包括Ncf1、Aox1、Bnip3、Pxdn、Scara3、Mgst3、Ptgs2，如图7K-图7M中所示)；和一氧化氮信号传导途径中涉及的基因(包括Ncf1、Nos3、Scara3，如图7N和图7O中所示)。观察到编码细胞因子的基因(包括IL-4、IL-6和GM-CSF，如图7P中所示)会差异表达。也是差异表达的其他示例性基因包括其他GO种类中的那些(包括CD274(也称为PD-L1)、Tgtp1和Vwf，如图8中所示)。

[1072] 总之，通过RNA-seq进行的全基因组表达分析的结果证实，与对照相比，用CPA和小鼠抗CD19 CAR-T细胞治疗在CPA+CD19 CAR-T治疗的小鼠的脑中引起数百种基因的转录应答。所述基因本体富集分析与在小鼠模型中给予CPA和小鼠抗CD19 CAR-T细胞后的炎症应答和血管应答一致，包括炎症、血管发生、内皮激活和氧化应激的几种基因标记的显著上调。

[1073] C.血液分析

[1074] 在CAR+T细胞给予后24小时、48小时和72小时以及5天，在从初试、仅CPA、CPA+模拟、和CPA+CAR-T治疗的小鼠收集的血清样品中分析血清化学谱。在分析完全血清化学面板(包括分析以下的水平：血清葡萄糖、白蛋白、白蛋白与球蛋白(A/G)的比率、球蛋白、总蛋白、钙、磷、ALT、AST和BUN酶)之前，将血清储存在-20℃下。

[1075] 如与其他治疗组相比，小鼠中的血清葡萄糖(图9A)和血清白蛋白(图9B)的水平在用CPA和抗小鼠CD18 CAR-T细胞治疗后发生改变。在细胞治疗后的各个时间点，如与来自初试小鼠的样品的水平相比，没有观察到血清球蛋白水平由于任何治疗而出现显著差异，然而，用仅CPA、CPA+模拟T细胞、和CPA+CAR-T细胞治疗的小鼠展现显著减小的血清白蛋白与球蛋白的比率(A/G比率)，如图9C中所示。在细胞治疗后五天，在从CPA+CAR-T治疗的小鼠收集的血清样品中观察到降低的血清钙水平(图9D)。在任何治疗组中都没有观察到血清磷、ALT、AST或BUN水平的显著变化。血清白蛋白和葡萄糖水平的降低与在一些经历针对CAR+T细胞疗法的毒性的人受试者中见到的炎症应答一致。

[1076] 实施例5：对与小鼠毒性模型相关的体重和病理学的评估。

[1077] 基本上如实施例2中所述向小鼠给予仅CPA、CPA和模拟细胞组合物(CPA+模拟)、以及CPA和抗小鼠CD19 CAR-T细胞组合物(CPA+CAR-T)。还使用初试小鼠作为对照组。在这项

研究中，将模拟和CAR-T细胞组合物二者的总计5x 10^6个细胞给予每只小鼠。将小鼠麻醉，经心脏灌注PBS，并处死。收集组织用于组织学分析。

[1078] 在用所述细胞组合物治疗后24小时、48小时和72小时，在所有组中测量体重。如图10中所示，所有用CPA治疗的小鼠组都展现在24小时内可检测的体重减轻，并且如与用CPA+模拟T细胞治疗的小鼠相比，在用CPA+CAR-T治疗的小鼠中在96小时观察到进一步体重减轻。

[1079] 为了评估治疗对脉管系统的作用，在细胞输注后72小时向每个治疗组的小鼠注射结合至伊文思蓝(Evans blue)染料的约70,000MW的白蛋白。在从任何治疗组收集的脑中，通过伊文思蓝染色没有观察到血管渗漏或血脑屏障破裂的证据。

[1080] 检查来自脑、脾、肝、肾和肺的组织的组织病理学。作为病理学的量度，对组织细胞肉芽肿性浸润进行评价并按1-5的严重程度得分进行评级，其中得分为5指示最严重的病理学，并且得分为0指示在所述组织中没有检测到病理学。组织细胞肉芽肿性浸润的评分指示，在来自CPA+CAR-T治疗的小鼠的肝和肺组织中存在显著病理学(图11A和图11B)。在来自所有CPA治疗组的脾中都观察到病理学，且来自CPA+CAR-T治疗的小鼠的脾显示最高程度的严重程度(图11C)。另外，在CPA+CAR-T治疗的小鼠的脾和肝中观察到较小坏死。在来自任何组的脑组织中没有观察到显著病理学。

[1081] 实施例6:对于抗原表达肿瘤负荷对小鼠毒性模型的作用的评价

[1082] 为了检查在小鼠的B细胞发育不全之后肿瘤负荷对毒性的作用，在用CPA和小鼠抗CD19 CAR-T细胞治疗之前向BALB/c小鼠注射表达CD19的A20细胞。A20细胞是衍生自BALB/cAnN小鼠中的自发性网状细胞肿瘤的B淋巴细胞的细胞系。由于所述细胞系最初衍生自BALB/c小鼠亚品系的个体的细胞，所述细胞对于所述BALB/c小鼠是同系的并且可以将所述细胞给予免疫活性BALB/c小鼠而不触发免疫应答。

[1083] 向BALB/c小鼠静脉内注射A20细胞。在26天后，向没有肿瘤的小鼠或已接受A20细胞的小鼠腹膜内注射250mg/kg CPA，并且对于一些组，在24小时后遵循基本上如实施例2中所述的程序给予5x 10^6个各自如实施例1中所述产生的抗小鼠CD19 CAR+T细胞或模拟T细胞。表E3示出治疗组。

[1084]

表E3：荷载A20-肿瘤的治疗组

组	描述	A20细胞	CPA	muCAR-T或模拟
1	初试	无肿瘤	-	-
2	CPA+模拟	无肿瘤	250 mg/kg	5 x 106个模拟T
3	CPA+CAR-T	无肿瘤	250 mg/kg	5 x 106个muCAR-T
4	仅A20	A20（静脉内）	-	-
5	A20+CPA	A20（静脉内）	250 mg/kg	-
6	A20+CPA+模拟	A20（静脉内）	250 mg/kg	5 x 106个模拟T
7	A20+CPA+CAR-T	A20（静脉内）	250 mg/kg	5 x 106个muCAR-T

[1085] 在输注模拟和CAR-T细胞组合物前24小时、在输注时、以及在输注后24小时、48小时和72小时，进行体重测量。如图12中所示，如与其他治疗组相比，在给予CPA+CAR-T细胞的

小鼠中(包括在A20+CPA+CAR-T治疗的小鼠中)存在略微较多的体重减轻。没有观察到小鼠体温的差异。

[1086] 为了测试潜在的血管渗漏和血脑屏障破坏,在输注模拟或CAR-T细胞组合物后3天和6天,向每个实验组的三只小鼠注射与德克萨斯红缀合的3,000MW的葡聚糖、与荧光素缀合的10,000MW的葡聚糖、和与伊文思蓝染料结合的约70,000MW的白蛋白。将小鼠麻醉,灌注PBS,并处死。收集组织用于通过荧光显微镜检查和组织学染色进行分析。

[1087] 通过荧光显微镜检查使德克萨斯红、荧光素和伊文思蓝染料在来自初试小鼠、CPA+CAR-T小鼠或A20+CPA+CAR-T小鼠的脑样品的血管中成像,用于作为血脑屏障破坏的指示物的外渗的证据。在所有样品中用所有染色剂观察到脑表面上软脑膜(pia)和脑神经毡中毛细血管中的空管腔和血管壁中的染色。在血管外空间中没有观察到来自染色剂的信号,指示缺少可检测的外渗。

[1088] 对于组织学,在输注CAR-T或模拟细胞组合物后3天和6天将不同治疗组的小鼠处死,并且收集肝和脾组织并检查髓外造血和组织细胞/肉芽肿浸润。还检查脾的淋巴耗尽和纤维化。按1-5的严重程度得分对这些参数进行评级,其中得分为5指示最严重的病理学,并且得分为0指示不存在病理学。

[1089] 如图13A中所示,在从接受CPA治疗的所有组收集的脾中观察到淋巴耗尽。在用CAR-T细胞组合物治疗后6天,在从CPA+CAR-T和A20+CPA+CAR-T治疗的小鼠收集的脾中观察到指示骨髓损伤和再生的髓外造血(图13B)和纤维化(图13C)。在用CAR-T细胞组合物治疗后3天和6天,在从CPA+CAR-T和A20+CPA+CAR-T治疗的小鼠收集的脾中观察到浸润(图13D)。分别如图14A和图14B中所示,在给予CAR-T或模拟细胞组合物后3天和6天,仅在从小鼠收集的肝中观察到髓外造血和组织细胞/肉芽肿性浸润。与在脾组织中观察到的类似,仅在从CAR-T细胞治疗的小鼠收集的肝中观察到髓外造血和浸润。

[1090] 还在所治疗小鼠中通过组织学评估肿瘤负荷。在来自仅A20、A20+CPA、和A20+CPA+模拟治疗组的一些肝(图15A)和脾(图15B)组织中观察到A20肿瘤块,但是在用A20+CPA+CAR-T细胞组治疗的组中没有观察到A20肿瘤块。在A20+模拟和A20+CPA中,肿瘤显示变性。用抗小鼠CD19 CAR细胞治疗导致清除肝肿瘤和脾肿瘤。

[1091] 实施例7:对CAR-T细胞的剂量在小鼠毒性模型中的作用的分析

[1092] 使用基本上如实施例2中所述的方法治疗小鼠,但是以10x 10^6个细胞/mL的剂量给予抗小鼠CD19 CAR+T细胞。向BALB/c小鼠腹膜内注射250mg/kg环磷酰胺(CPA),并且在24小时后给予10x 10^6个如实施例1中所述产生的小鼠CAR表达T细胞或非靶标(对照)细胞。

[1093] 在输注细胞组合物前24小时、在输注时以及在输注后每天(持续5天),进行体重和体温测量。如图16A中所示,如与初试对照相比,所有给予CPA的小鼠都展现降低的体重。与仅用CPA治疗的小鼠相比,用抗小鼠CD19 CAR+T细胞而不是用非靶标对照抗人CD19 CAR+T细胞治疗小鼠展现更大的体重减轻。如图16B中所示,对于体温见到类似的作用。截至细胞输注后6天,抗小鼠CD19 CAR治疗的小鼠的减轻的体重恢复到与来自仅CPA和CPA+非靶标对照CAR-T治疗组的小鼠类似的水平。截至第5天,体温恢复。

[1094] 在细胞输注后5天将小鼠处死,并使用湿干法检查脑的脑含水量。从小鼠取出脑并立刻称重以获得脑湿重。然后在孵育器烘箱中在约65℃下将脑脱水72小时。在72小时将脑再次称重以获得脑干重。通过比较湿重与干重的比率来估计脑水肿。使用下式计算组织含

水量百分比:BWC＝[(湿重-干重)/湿重]*100。在这项研究中在第5天小鼠的脑含水量显示于图16C中。

[1095] 在用抗小鼠CD19 CAR-T细胞治疗后,在脑组织中还检测到增加的编码这些细胞因子的mRNA的水平(图7G)。

[1096] 实施例8:CPA和抗小鼠CD19 CAR-T细胞治疗在荷载A20肿瘤的小鼠中的作用

[1097] 向荷载A20肿瘤的小鼠给予CPA和抗小鼠CD19 CAR-T细胞并评价各种参数。以与实施例6中所述类似的方式向BALB/c小鼠腹膜内注射2x 105个表达CD19的A20肿瘤细胞。在18天后,开始用CPA和CAR-T细胞治疗。对于用CAR-T细胞治疗,向小鼠注射10x 106个如实施例1中所述产生的抗小鼠CD19 CAR-T细胞或非靶标抗人CD19 CAR-T细胞。对照组还包括仅注射A20肿瘤细胞(仅A20)或注射A20肿瘤细胞和CPA的那些。在每个时间点从4至8只小鼠收集组织和血液样品。

[1098] A.血清细胞因子水平

[1099] 在用CAR-T细胞治疗后0、2、4和5天收集血清样品,并且基本上如实施例3中所述测量细胞因子。如与对照相比,观察到用CPA和抗小鼠CD19 CAR-T细胞治疗的动物具有升高的血清细胞因子的水平。如图18A-图18J中所示,在用抗小鼠CD19 CAR-T细胞治疗后0天与5天之间检测到血清IFN-γ(图18A)、TNF-α(图18B)、GM-CSF(图18C)、IL-2(图18D)、IL4(图18E)、IL-5(图18F)、IL-6(图18G)、IL-10(图18H)、MIP-1b(图18I)和MCP-1(图18J)水平的可检测增加。在这项研究中升高的血清细胞因子水平可以对应于在人受试者中观察到的那些,已经观察到所述人受试者在用抗CD19 CAR-T疗法治疗后展现毒性。

[1100] 在用Cy+muCD19 CAR T治疗后,还观察到血管生成素-1(ANG-1)和血管生成素-2(ANG-2)的失调血清水平。如与用抗人(模拟)CD19 CAR-T细胞或无CAR-T细胞(仅A20细胞)(图18K)治疗相比,在用CPA(环磷酰胺或Cy)和抗小鼠CD19 CAR-T细胞治疗后,观察到升高的血清血管生成素2与血管生成素1(Ang-2:Ang-1)的比率。升高的Ang-2:Ang1比率可能与脓毒症、脑水肿和血脑屏障功能障碍的较差结果相关,并且在一些实施方案中,升高的Ang-2是在用CAR-T细胞治疗后严重细胞因子释放综合征的潜在血清生物标记。

[1101] B.脑中的T细胞浸润

[1102] 通过免疫组织化学(IHC)检查脑组织的T细胞浸润。在CAR-T细胞注射后5天,将注射抗小鼠CD19 CAR-T细胞或抗人CD19 CAR-T细胞的荷载A20肿瘤细胞的小鼠处死并经心脏灌注。收集脑并沿大脑纵裂对切。冷冻一个矢状切面用于通过免疫荧光显微镜检查评估BBB渗透性,并保藏另一半用于组织学和IHC。将切面用抗CD3抗体染色。来自用抗小鼠CD19 CAR-T细胞治疗的小鼠的脑具有比小鼠抗人CD19 CAR-T更多的数量的在神经毡中检测到的CD3+细胞。这些数据与抗小鼠CD19 CAR-T细胞引导的浸润至脑中一致。

[1103] 还分析脑中细胞因子的存在。以与实施例3中所述类似的方式在CAR-T注射后48小时收集的经灌注脑组织中测量细胞因子。如图17中所示,如与其他治疗组相比,在用CPA和抗小鼠CD19 CAR-T细胞治疗后,脑IL-4、IL-6和GM-CSF水平增加。

[1104] C.脑中的基因表达

[1105] 通过RNA-Seq对来自小鼠的脑进行基因表达分析,所述小鼠是在CAR-T细胞注射后48小时被处死并进行心脏灌注,并且在该时间点收集脑,在液氮中急速冷冻并储存。基本上如实施例4中所述进行RNA-Seq。全基因组表达分析鉴定出17,783种基因在所检查小鼠的脑

中表达高于背景，并且如与对照相比，1,822种所述基因被视为在给予环磷酰胺(Cy)和抗小鼠CD19 CAR-T细胞后差异表达。

[1106] 对被视为稳定表达(大于5个转录物/百万(TPM))的基因进行分层聚类分析。如图19A中所示，所述聚类分析证实，如与对照组相比，用抗小鼠CD19 CAR T细胞治疗的荷载A20肿瘤的小鼠的脑中的差异性基因表达谱。

[1107] 相对于被鉴定为表达的17,783种基因，对被视为在用cy和抗小鼠CD19 CAR-T治疗后差异表达(DE)的1822种基因进行基因本体富集分析。图19B显示基于对1822中差异表达(DE)基因的富集的前20个基因本体(GO)项，其中阴影对应于富集Q值，log10。这些GO项是：对细胞因子刺激物的细胞应答(83/1822个DE基因相对于419/17783个表达的基因)、抗原加工和呈递(30/1822个DE基因相对于101/17783个表达的基因)、病毒过程(87/1822个DE基因相对于475/17783个表达的基因)、多生物细胞过程(75/1822个DE基因相对于478/17783个表达的基因)、血管发生(78/1822个DE基因相对于414/17783个表达的基因)、活性氧类代谢过程(50/1822个DE基因相对于227/17783个表达的基因)、对蛋白质修饰过程的负向调节(85/1822个DE基因相对于492/17783个表达的基因)、对细胞形态发生的调节(82/1822个DE基因相对于447/17783个表达的基因)、对细胞粘附的正向调节(64/1822个DE基因相对于347/17783个表达的基因)、共生生物对宿主的粘附(9/1822个DE基因相对于15/17783个表达的基因)、细胞-基质粘附(55/1822个DE基因相对于289/17783个表达的基因)、侣伴蛋白介导的蛋白质折叠(16/1822个DE基因相对于46/17783个表达的基因)、肽基-酪氨酸修饰(50/1822个DE基因相对于270/17783个表达的基因)、趋性(79/1822个DE基因相对于488/17783个表达的基因)、对其他生物体的防御应答(73/1822个DE基因相对于443/17783个表达的基因)、甾醇生物合成过程(15/1822个DE基因相对于48/17783个表达的基因)、对肽的应答(51/1822个DE基因相对于287/17783个表达的基因)、对氮化合物的细胞应答(68/1822个DE基因相对于416/17783个表达的基因)、肌动蛋白丝组织化(55/1822个DE基因相对于318/17783个表达的基因)、和对神经元投射发育的调节(包括与抗原加工和呈递相关的种类)、以及血管发生。

[1108] 在这项研究中鉴定这个模型中在CAR疗法后的单独差异表达基因和基因种类。此类基因和种类包括在一些实施方案中参与神经炎症和神经毒性的基因，包括TGF-β基因、血管生成素1和2、VWF、toll样受体基因和相关种类、参与粘附或血管发生或血管变化的基因，例如，Tgfb3(转化生长因子β3)、Aqp4(水通道蛋白-4)、Tlr4(toll样受体4)、Adipoq(脂联素)、Aif1(同种异体移植物炎性因子1)、Ccl2(C-C基序趋化因子2)、Angpt1(血管生成素1)、Tlr2(Toll样受体2)、Tgfb2(转化生长因子β2)、Sele(E-选择素)、Vwf(血管性血友病因子)、Angpt2(血管生成素2)、CD68、Edn1(内皮素-1)、Serpine1、Tgfb1(转化生长因子β-1)。差异表达基因和种类包括与以下相关的那些：炎症和血管变化(参见例如，图19C(Tgfb3、Aqp4、Tlr4、Adipoq、Aif1、Ccl2、Angpt1、Tlr2、Tgfb2、Sele、Vwf、Angpt2、CD68、Edn1、Serpine 1、Tgfb1)和图19D)；免疫应答，包括Gbp2(鸟苷酸结合蛋白2)、Gbp4(鸟苷酸结合蛋白4)、Gdp5(鸟苷酸结合蛋白5)和Gdp9(鸟苷酸结合蛋白9;图19E)；血管发生，包括Angpt14(血管生成素样4)、HIF3a(缺氧诱导因子3α亚基)、Lrg1(富含亮氨酸的α-2-糖蛋白1)、Mmrn2和Xdh(黄嘌呤脱氢酶;图19F和图19G)；甾醇代谢过程，包括Acer2、Atf3(环AMP依赖性转录因子ATF-3)、Pdk4(丙酮酸脱氢酶激酶，同工酶4)、Pla2g3(3族分泌型磷脂酶A2前体)和Sult1a1(磺基

转移酶1A1;图19H和图19I);和粘附分子,包括VCAM-1(血管细胞粘附蛋白1)、ICAM-1(细胞间粘附分子1)、Selp(P-选择素)、IL2ra、IL-13、Gzmb(颗粒酶B)和TNF(图19J和图19K)。用抗小鼠CD-19CAR-T细胞治疗的小鼠具有改变的编码如下的基因的表达:细胞因子、趋化因子和MHC蛋白,包括CXCL10(IP-10)、CCL2(MCP-1,C-C基序趋化因子2)、CXCL11(I-TAC,C-X-C基序趋化因子11)、CXCL1(KC,生长调节α蛋白)、CCL4(MIP-1b,C-C基序趋化因子4)、NLRC5(I类反式激活因子)和CIITA(II类反式激活因子;图19L和图19M)。差异表达的其他示例性基因包括诸如以下的那些:CD274和Tgtp(T细胞特异性鸟嘌呤核苷酸三磷酸结合蛋白1;图19N)。

[1109] 实施例9:对来自小鼠毒性模型的脑组织中单独基因的表达的评估

[1110] 在脑组织中通过原位杂交(ISH)评价在用抗小鼠CD19 CAR表达细胞治疗的小鼠中通过实施例3和8中所述的RNA-seq实验鉴定为差异表达的示例性基因。以与实施例8中所述类似的方式将如实施例1中所述制备的低温冷冻的抗小鼠CD19 CAR-T细胞(muCAR-T)和模拟T细胞(对照)组合物解冻并注射至小鼠中,所述小鼠在T细胞注射前17天预先注射了约200,000个A20细胞并在T细胞注射前1天给予了250mg/kg CPA。在用所述细胞治疗后两天或五天将小鼠处死,并且收获脑并进行原位杂交(ISH)。简单来说,用与被鉴定为差异表达的以下某些基因杂交的探针对切片进行ISH:Gbp5、Vwf或Selp。洗涤载玻片以去除过多的未杂交探针,进行染色以使杂交探针可视化,并用组织学染色剂处理。第2天和第5天的结果概述于表E4中。

[1111] 表E4:脑组织上的示例性差异表达基因的ISH染色的概述

[1112]

基因	描述	结果
Gbp5	IFN-γ诱导型基因	在第2天: • 在对照中具有低表达的阳性罕见细胞 • 具有高表达的细胞在muCAR-T治疗的小鼠的脑的所有区域中都是常见的 - 大多数内皮细胞呈阳性 - 对于阳性染色为异源的其他细胞类型,包括小神经胶质细胞和星形胶质细胞 在第5天: • 表达水平显现低于第2天,但阳性细胞在muCAR-T治疗的小鼠的脑中仍然是常见的
Vwf	在凝结中的作用	在第5天: • 如与对照相比,在muCAR-T治疗的小鼠的脑中表达增加
Selp	内皮激活的标记	在第2天: • 如与对照相比,在来自muCAR-T治疗的小鼠的脑膜的内皮细胞中表达增加 在第5天: • 在来自muCAR-T治疗的小鼠的脑内观察到

[1113]

		一些对于Selp表达呈阳性的内皮细胞

[1114] 表E4中描述的ISH结果与将抗CD19小鼠CAR-T细胞给予CPA治疗的小鼠后内皮细胞的激活一致。在一些方面，所述内皮激活可以至少部分促进在小鼠模型中观察到的病理学或表型，并且可以用作测试预防或降低用免疫疗法治疗后的毒性的候选干预的读出。另外，以下观察结果与炎症是由于全身细胞因子所致的观察结果一致：在用抗CD19小鼠CAR-T细胞治疗的小鼠的脑的所有区域中，而不是仅在muCAR-T细胞周围的被浸润细胞中，观察到通用炎症标记Gbp5的高表达。

[1115] 除了表E4中所述的差异表达基因以外，进行ISH以检查脑组织中IFN-γ、IL-6和CD3的表达。分别在第5天或在第2天和第5天两天从注射muCAR-T细胞的小鼠收获的脑中观察到对IFN-γ表达或IL-6表达呈阳性的细胞，但是对任一种基因呈阳性染色的细胞都非常罕见。这个结果与在给予CAR-T细胞后全身细胞因子在脑中可能的增加进一步一致，这可能导致广泛的脑部炎症和内皮细胞激活。在来自注射muCAR-T细胞的CPA治疗的小鼠的脑中观察到对CD3呈阳性的偶然细胞。CD3阳性细胞与所述脑中T细胞和可能的CAR+T细胞的存在一致。如与第2天相比在第5天观察到更多数量的CD3阳性细胞，而与第5天相比，Gbp5染色在第2天更强，这与在第2天由全身细胞因子引起的炎症一致。

[1116] 实施例10：对小鼠神经毒性模型中脑病理学的观察

[1117] 通过静脉内尾静脉注射向免疫活性BALB/c小鼠注射约2x 10^5个A20细胞，并且在16天后，向小鼠注射250mg/kg腹膜内CPA，在24小时后以与实施例8中所述类似的方式注射抗小鼠CD19 CAR-T细胞(muCAR-T；如实施例1中所述来制备)或模拟T细胞(对照)组合物。在T细胞给予后两天和五天将小鼠处死。在第2天时间点将仅注射A20细胞的小鼠处死并用作对照。将肝、脾和脑组织切片，用苏木精和伊红染色，并检查病理学体征。

[1118] 在第2天时间点从所有组收集的脑通常不展示任何值得注意的病理学体征。然而，在第5天时间点，被给予muCAR-T细胞的小鼠在所述脑的多个区域(包括间脑和小脑)中展示极轻至轻度多病灶实质和较少脑膜血管外红细胞(急性出血)。这些结果与这些小鼠中的脑出血一致，从而进一步强调这种模型在研究给予CAR-T细胞后的严重神经毒性和/或脑水肿的各方面和对所述严重神经毒性和/或脑水肿的潜在干预中的实用性。

[1119] 在从仅给予A20和给予模拟CAR-T的小鼠收集的肝中，在第2天时间点观察到肝肿瘤，且在大多数给予模拟CAR-T的小鼠中在第5天时间点观察到肝肿瘤的组织学消退。在给予muCAR-T细胞的小鼠中，观察到中度至区域性严重的多病灶至聚结的血管周、实质和血窦内淋巴细胞和组织细胞肝炎，以及偶然的血管内小至大圆细胞和罕见有丝分裂。另外，被给予muCAR-T细胞的小鼠展示轻度至中度多病灶肝坏死，以及在坏死病灶周围通常轻度的和在整个肝中较低程度的肝细胞的细胞质空泡形成。

[1120] 在第2天时间点从仅给予A20和给予模拟CAR-T的小鼠收集的脾的特征大体为轻度红髓发育不良以及轻度淋巴浆/白髓耗尽。在第5天时间点从给予模拟CAR-T的小鼠收集的脾中，存在轻度至中度EMH和细胞过多的红髓以及偶然的大型/非典型细胞，但有丝分裂罕见至没有。在第2天时间点从给予muCAR-T的小鼠收集的脾的特征大体为白髓/淋巴耗尽(轻度至中度)；轻度细胞凋亡；具有中等细胞质和可变大小的卵形核的圆细胞(组织细胞，假定的)的边缘区扩增，所述圆细胞也扩大红髓；轻度嗜酸性粒细胞炎症和轻度多病灶组织细胞(假定的)细胞质空泡形成和细胞内金褐色物质(含铁血黄素，假定的)。

[1121] 在从用muCAR-T细胞治疗的小鼠收集的脑中的急性出血的观察结果与所述小鼠模

型用于研究与免疫疗法(如CAR-T细胞疗法)相关的神经毒性的机制和潜在干预的用途一致。

[1122] 实施例11:对不同人受试者中神经病理学的评估和比较

[1123] 在患有急性成淋巴细胞性白血病(ALL)的四名受试者进行了神经病理学的尸检评估,所述受试者在用治疗性组合物治疗后发生了严重神经毒性(包括4级或5级神经毒性和/或脑水肿),所述治疗性组合物含有被工程化以表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞。所述结果通常支持以下结论:未观察到B-ALL所致的脑受累是一种因素。此外,在具有脑水肿的患者中,往往观察到水肿是血管源的,而不是细胞毒性的。在患有脑水肿的患者中,血管周围纤维蛋白和红细胞外渗表明血脑屏障破裂。然而,显现不存在任何显著的T细胞浸润,这与以下结论一致:脑水肿并非是由于脑或CNS内的CAR T细胞浸润和/或激活而发生。另外,在已发生脑水肿的受试者的脑中观察到星形胶质细胞和小神经胶质细胞损伤/激活的血管周和更弥散的模式。所述观察结果与以下结论一致:小神经胶质细胞激活在被给予CAR-T细胞疗法的受试者中促进脑水肿的发生。此外,在发生脑水肿的受试者中观察到对星形胶质细胞的不可逆损伤(星形胶质细胞突破折),与在发生4级神经毒性的受试者中观察到的星形胶质细胞增殖形成对比。在发生4级神经毒性的受试者中未观察到BBB的完全破裂和由此所致的血管源水肿。在未发生脑水肿的受试者中,观察到与对局灶性损伤的简单反应不一致的弥散性CD8+T细胞浸润。

[1124] 在涉及给予表达抗CD19 CAR的工程化细胞的另一项研究中,展现完全反应的受试者包括两名被治疗受试者,具有累及CNS的DLBCL受试者。在这些受试者中,观察到CNS淋巴瘤的完全消退且没有发生任何等级的神经毒性。在其他研究中,在用抗CD19 CAR T细胞治疗的患有ALL的受试者中,在神经毒性的发生率与脑中CNS白血病(已经观察到其对这种CAR T细胞疗法有反应)的存在之间没有观察到任何明确关系。因此,虽然在一些情况下在用CAR-T疗法治疗后可能发生神经毒性,但是这种神经毒性可能不一定是脑中的靶标表达或CNS中CAR T细胞的活性的结果,并且可能并非是由于所述CAR+T细胞的“中靶(on-target)”毒性引起的。

[1125] 本发明的范围意图不受所公开的具体实施方案的限制,所述实施方案的提供是用于例如说明本发明的各个方面。根据本文的描述和传授,对所述组合物和方法的各种修改将变得清楚。可在不脱离本公开文本的真实范围和精神的情况下实践这些变化,并且这些变化旨在落入本公开文本的范围内。

[1126] 序列

[1127]

#	序列	注释
1	MASPLTRFLSLNLLLLGESIILGSGEA	小鼠N末端CD8α信号肽
2	lqqsgaelvrpgtsvklsckvsgdtitfyymhfvkqrpgqglewigridpedestkysekfknkatltadtssntaylklssltsedtatyfciyggyyfdywgqgvmvtvs	衍生自1D3大鼠单克隆抗CD19抗体的抗鼠类CD19可变重链
3	iqmtqspaslstslgetvtiqcqasediysglawyqqkpgkspqlliygasdlqdgvpsrfsgsgsgtqyslkitsmqtedegvyfcqqgltyprtfgggtklel	衍生自1D3大鼠单克隆抗CD19抗体的抗鼠类CD19可变轻链
4	PRIPKPSTPPGSSCPP	鼠类IgG3铰链区
5	FWALVVVAGVLFCYGLLVTVALCVIWT	鼠类CD28跨膜区
6	SVLKWIRKKFPHIFKQPFKKTTGAAQEEDACSCRCPQEEEGGGGGGYEL	鼠类41BB的细胞内信号传导结构域
7	RAKFSRSAETAANLQDPNQLYNELNLGRREEYDVLEKKRARDPEMGGKQQRRRNPQEGVYNALQKDKMAEAYSEIGTKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQTLAPR	鼠类CD3的细胞内信号传导结构域
8	MNPAISVALLLSVLQVSRGQKVTSLTACLVNQNLRLDCRHENNTKDNSIQHEFSLTREKRKHVLSGTLGIPEHTYRSRVTLSNQPYIKVLTLANFTTKDEGDYFCELRVSGANPMSSNKSISVYRDKLVKCGGISLLVQNTSWMLLLLLSLSLLQALDFISL	小鼠Thy1.1
9	EVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYYNSALKSRLTIIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSVTVSS	衍生自FMC63抗CD19抗体的抗人CD19可变重链
10	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEI	衍生自FMC63抗CD19抗体的抗鼠类CD19可变轻链

序列表

<110> Juno Therapeutics, Inc.

SALMON, Ruth Amanda

CHADWICK, Eric Martin

HAUSE, Ronald James JR.

PONCE, Rafael Angel

LEVITSKY, Hyam I

JIANG, Yue

<120> 评估与免疫疗法相关的毒性的小鼠模型

<130> 735042011840

<140> 尚未分配

<141> 同时随同提交

<150> 62/527,030

<151> 2017-06-29

<150> 62/563,635

<151> 2017-09-26

<150> 62/584,731

<151> 2017-11-10

<160> 10

<170> PatentIn 3.5版

<210> 1

<211> 27

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 小鼠N末端CD8α信号肽

<400> 1

Met Ala Ser Pro Leu Thr Arg Phe Leu Ser Leu Asn Leu Leu Leu Leu
1 5 10 15

Gly Glu Ser Ile Ile Leu Gly Ser Gly Glu Ala
20 25

<210> 2

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 衍生自1D3大鼠单克隆抗CD19抗体的抗鼠类CD19可变重链

<400> 2

Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Thr Ser Val Lys
1 5 10 15
Leu Ser Cys Lys Val Ser Gly Asp Thr Ile Thr Phe Tyr Tyr Met His
20 25 30
Phe Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Arg Ile
35 40 45
Asp Pro Glu Asp Glu Ser Thr Lys Tyr Ser Glu Lys Phe Lys Asn Lys
50 55 60
Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr Leu Lys Leu
65 70 75 80
Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ile Tyr Gly
85 90 95
Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Val Met Val Thr Val Ser
100 105 110

<210> 3
<211> 105
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 衍生自1D3大鼠单克隆抗CD19抗体的抗鼠类CD19可变轻链
<400> 3
Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Thr Ser Leu Gly Glu
1 5 10 15
Thr Val Thr Ile Gln Cys Gln Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Ser Gly Leu
20 25 30
Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr
35 40 45
Gly Ala Ser Asp Leu Gln Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Thr Ser Met Gln Thr Glu
65 70 75 80
Asp Glu Gly Val Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Leu Thr Tyr Pro Arg Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Leu
100 105

<210> 4
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 鼠类IgG3铰链区
<400> 4
Pro Arg Ile Pro Lys Pro Ser Thr Pro Pro Gly Ser Ser Cys Pro Pro
1 5 10 15
<210> 5
<211> 27
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 鼠类CD28跨膜区
<400> 5
Phe Trp Ala Leu Val Val Val Ala Gly Val Leu Phe Cys Tyr Gly Leu
1 5 10 15
Leu Val Thr Val Ala Leu Cys Val Ile Trp Thr
20 25
<210> 6
<211> 48
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 鼠类41BB的细胞内信号传导结构域
<400> 6
Ser Val Leu Lys Trp Ile Arg Lys Lys Phe Pro His Ile Phe Lys Gln
1 5 10 15
Pro Phe Lys Lys Thr Thr Gly Ala Ala Gln Glu Glu Asp Ala Cys Ser
20 25 30
Cys Arg Cys Pro Gln Glu Glu Glu Gly Gly Gly Gly Gly Tyr Glu Leu
35 40 45
<210> 7
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 鼠类CD3的细胞内信号传导结构域
<400> 7
Arg Ala Lys Phe Ser Arg Ser Ala Glu Thr Ala Ala Asn Leu Gln Asp
1 5 10 15
Pro Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr

20 25 30

Asp Val Leu Glu Lys Lys Arg Ala Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
35 40 45

Gln Gln Arg Arg Arg Asn Pro Gln Glu Gly Val Tyr Asn Ala Leu Gln
50 55 60

Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Thr Lys Gly Glu
65 70 75 80

Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr
85 90 95

Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Thr Leu Ala Pro
100 105 110

Arg

<210> 8

<211> 162

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 小鼠Thy1.1

<400> 8

Met Asn Pro Ala Ile Ser Val Ala Leu Leu Leu Ser Val Leu Gln Val
1 5 10 15

Ser Arg Gly Gln Lys Val Thr Ser Leu Thr Ala Cys Leu Val Asn Gln
20 25 30

Asn Leu Arg Leu Asp Cys Arg His Glu Asn Asn Thr Lys Asp Asn Ser
35 40 45

Ile Gln His Glu Phe Ser Leu Thr Arg Glu Lys Arg Lys His Val Leu
50 55 60

Ser Gly Thr Leu Gly Ile Pro Glu His Thr Tyr Arg Ser Arg Val Thr
65 70 75 80

Leu Ser Asn Gln Pro Tyr Ile Lys Val Leu Thr Leu Ala Asn Phe Thr
85 90 95

Thr Lys Asp Glu Gly Asp Tyr Phe Cys Glu Leu Arg Val Ser Gly Ala
100 105 110

Asn Pro Met Ser Ser Asn Lys Ser Ile Ser Val Tyr Arg Asp Lys Leu
115 120 125

Val Lys Cys Gly Gly Ile Ser Leu Leu Val Gln Asn Thr Ser Trp Met
130 135 140

Leu Leu Leu Leu Leu Ser Leu Ser Leu Leu Gln Ala Leu Asp Phe Ile
145 150 155 160

Ser Leu

<210> 9

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 衍生自FMC63抗CD19抗体的抗人CD19可变重链

<400> 9

Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
1 5 10 15
Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr
20 25 30
Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45
Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys
50 55 60
Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu
65 70 75 80
Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 10

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 衍生自FMC63抗CD19抗体的抗鼠类CD19可变轻链

<400> 10

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105

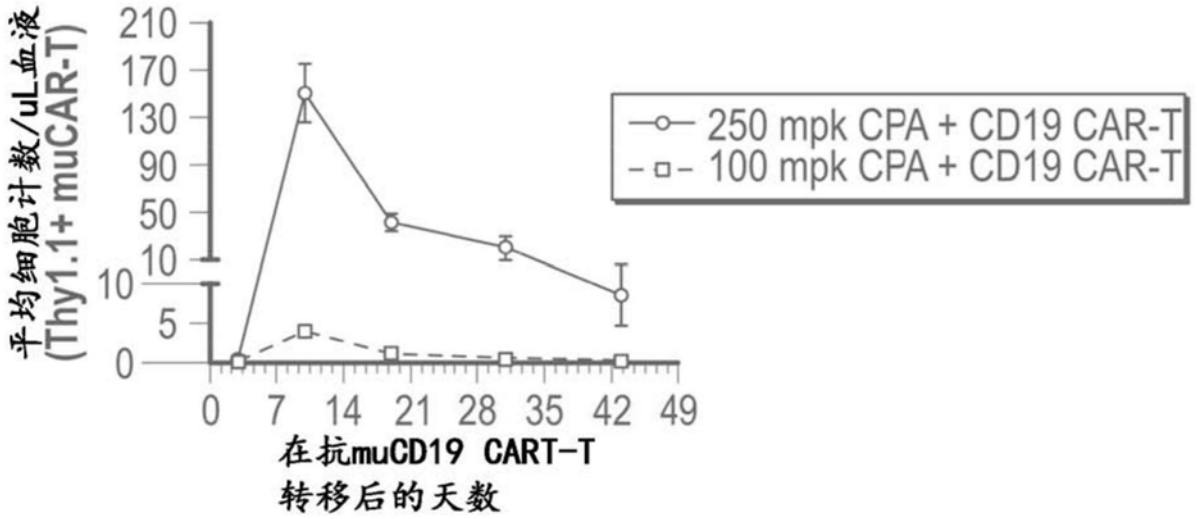

平均细胞计数/uL血液
(Thy1.1+ muCAR-T)
210
170
130
90
50
10
10
5
0
0 7 14 21 28 35 42 49
在抗muCD19 CART-T
转移后的天数
250 mpk CPA + CD19 CAR-T
100 mpk CPA + CD19 CAR-T

图1A

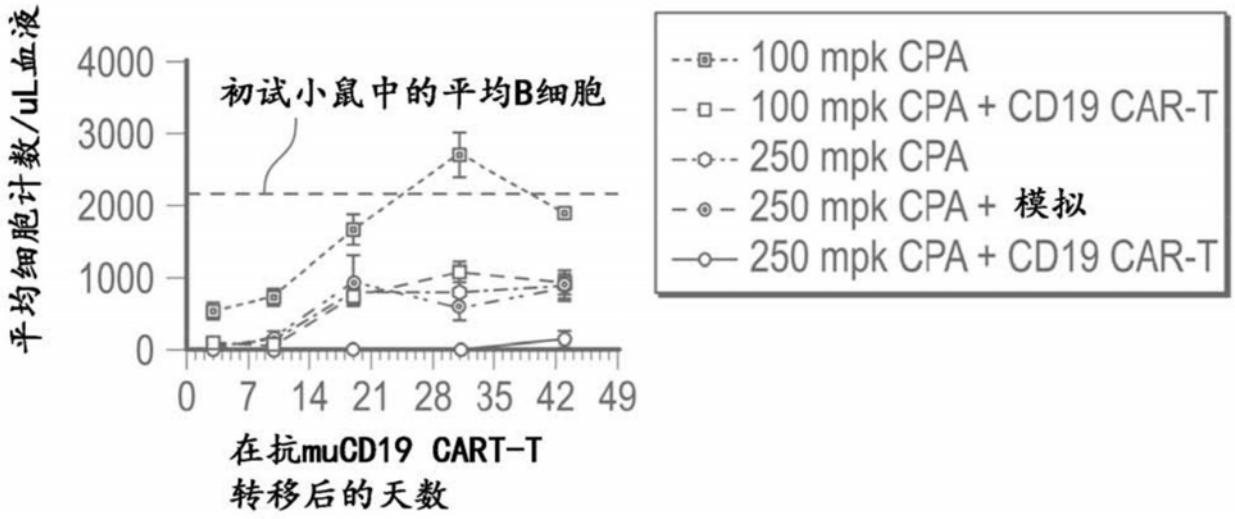

平均细胞计数/uL血液
4000
3000
2000
1000
0
初试小鼠中的平均B细胞
0 7 14 21 28 35 42 49
在抗muCD19 CART-T
转移后的天数
100 mpk CPA
100 mpk CPA + CD19 CAR-T
250 mpk CPA
250 mpk CPA + 模拟
250 mpk CPA + CD19 CAR-T

图1B

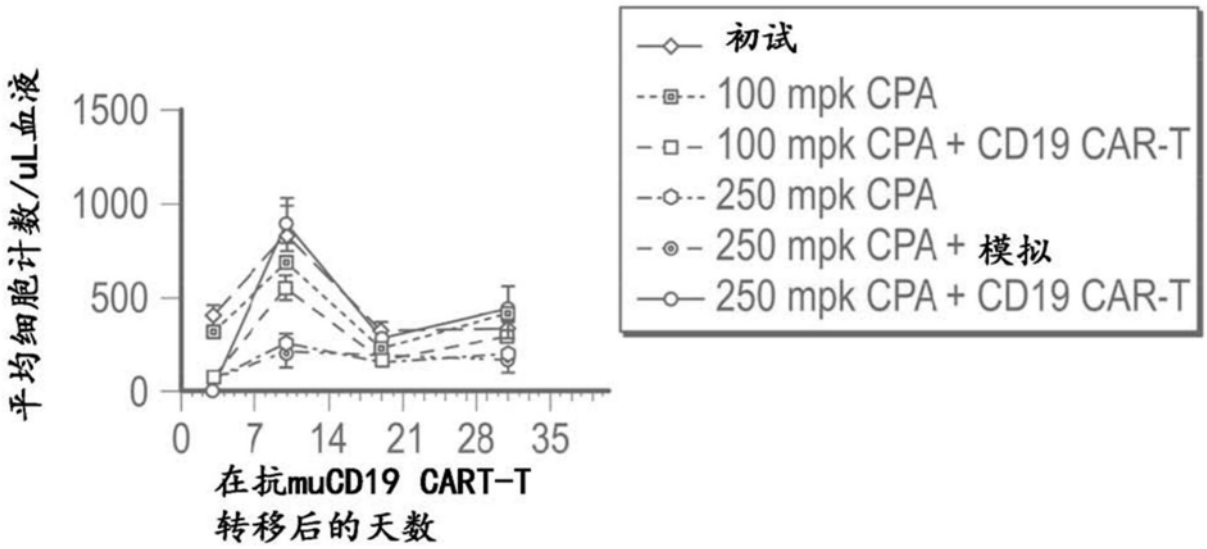

平均细胞计数/uL血液
1500
1000
500
0
0 7 14 21 28 35
在抗muCD19 CART-T
转移后的天数
初试
100 mpk CPA
100 mpk CPA + CD19 CAR-T
250 mpk CPA
250 mpk CPA + 模拟
250 mpk CPA + CD19 CAR-T

图1C

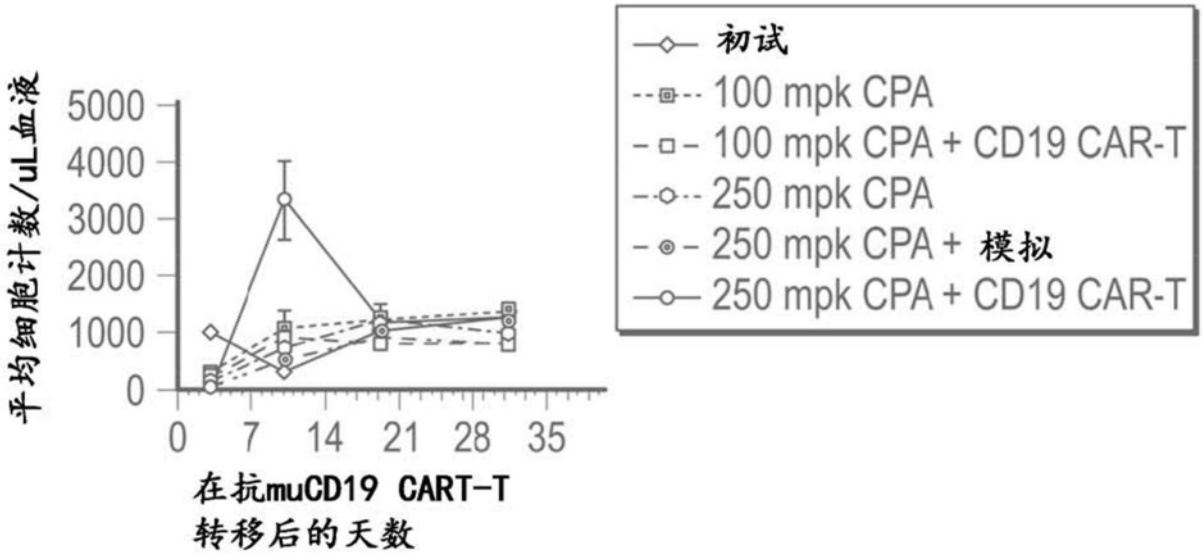

平均细胞计数/uL血液
5000
4000
3000
2000
1000
0
0 7 14 21 28 35
在抗muCD19 CART-T
转移后的天数
初试
100 mpk CPA
100 mpk CPA + CD19 CAR-T
250 mpk CPA
250 mpk CPA + 模拟
250 mpk CPA + CD19 CAR-T

图1D

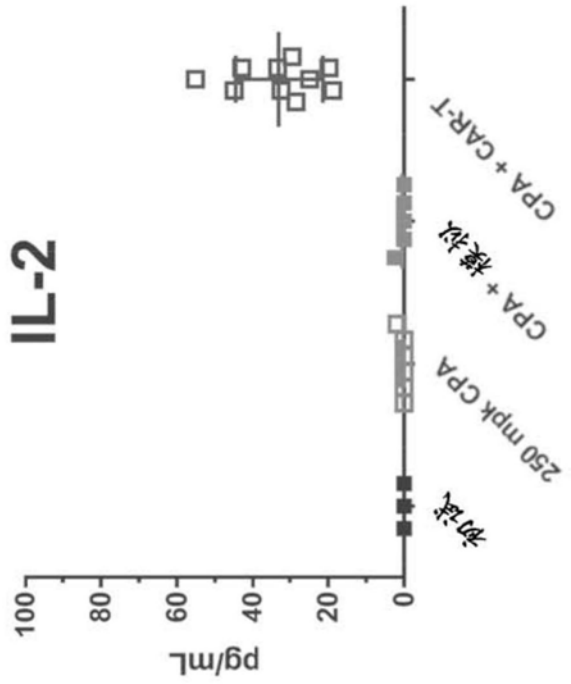

IL-2
pg/mL
0
20
40
60
80
100
媒质
250 mpk CPA
CPA + 疫苗
CPA + CAR-T

图2A

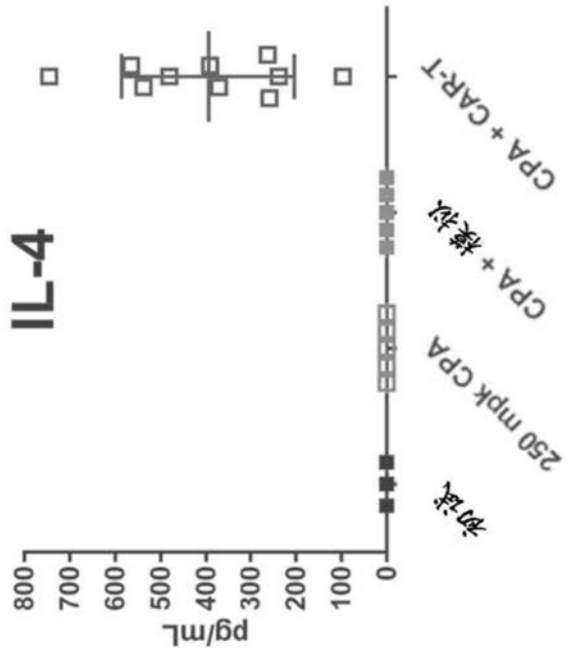

IL-4
pg/mL
0
100
200
300
400
500
600
700
800
媒质
250 mpk CPA
CPA + 疫苗
CPA + CAR-T

图2B

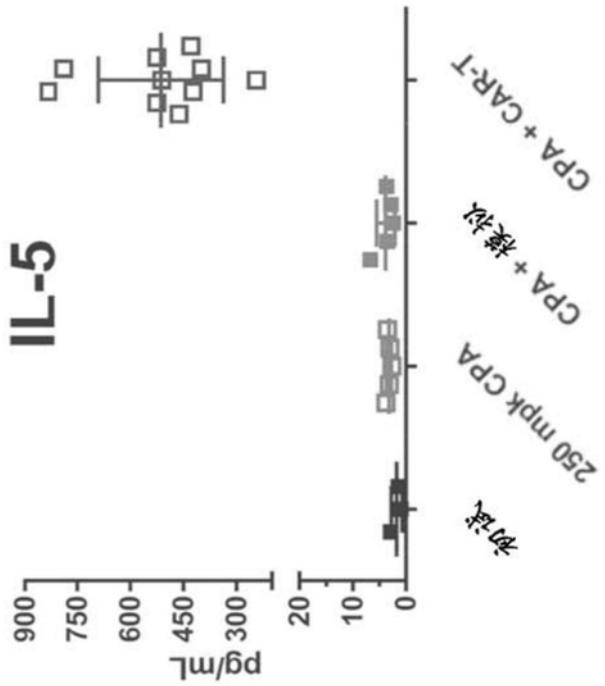

IL-5
pg/mL
900
750
600
450
300
20
10
0
媒剂
250 mpk CPA
CPA + 维拉
CPA + CAR-T

图2C

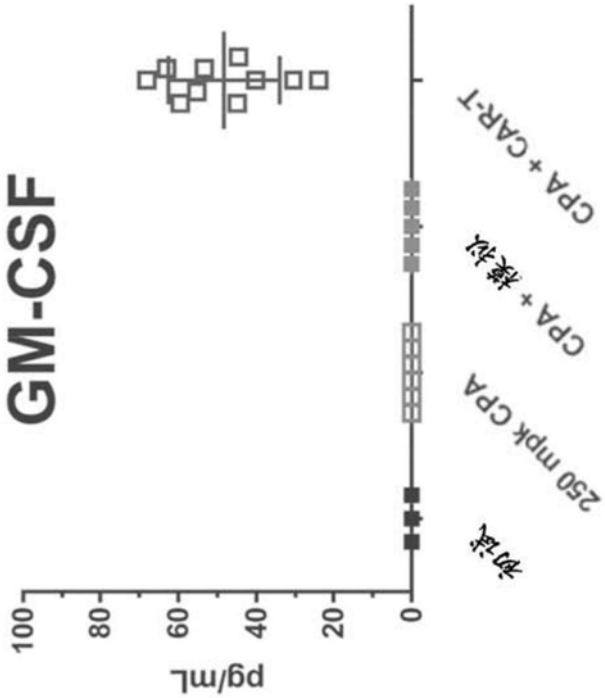

GM-CSF
pg/mL
100
80
60
40
20
0
媒剂
250 mpk CPA
CPA + 维拉
CPA + CAR-T

图2D

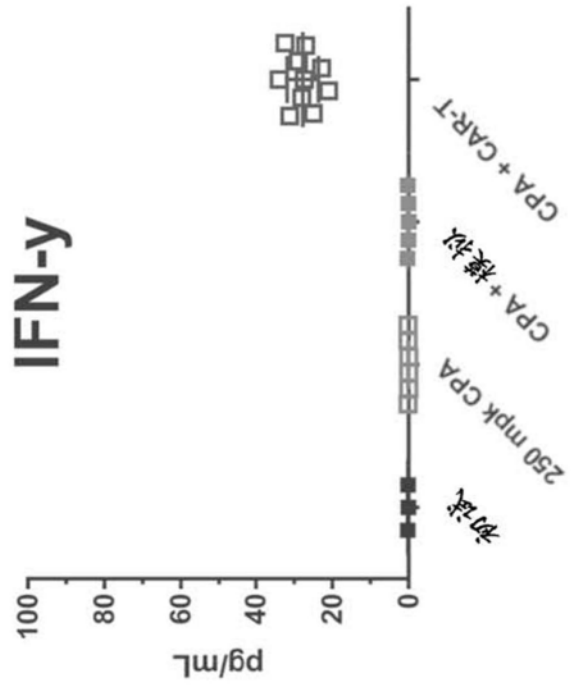

IFN-y
pg/mL
100
80
60
40
20
0
CPA + CAR-T
CPA + 模拟
250 mpk CPA
媒质

图2E

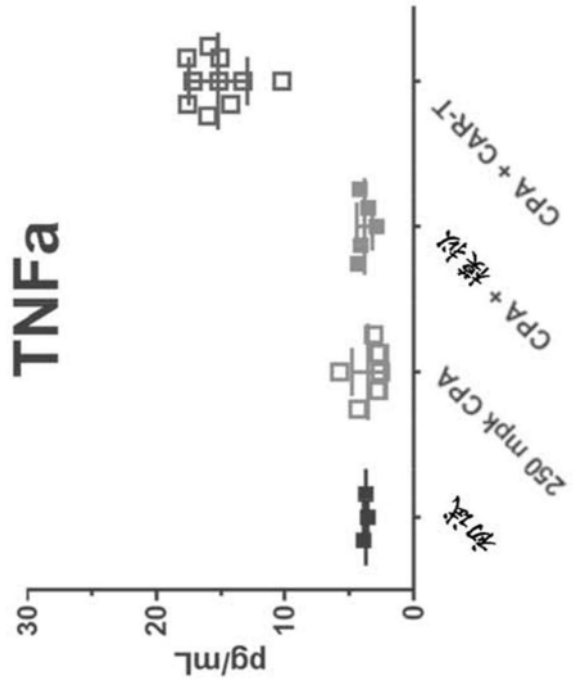

TNFa
pg/mL
30
20
10
0
CPA + CAR-T
CPA + 模拟
250 mpk CPA
媒质

图2F

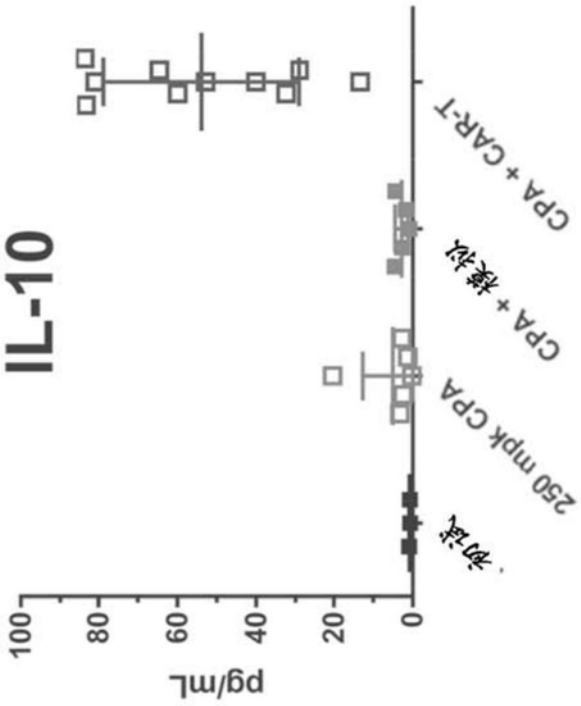

IL-10
pg/mL
100
80
60
40
20
0
媒剂
250 mpk CPA
CPA + 媒剂
CPA + CAR-T

图2G

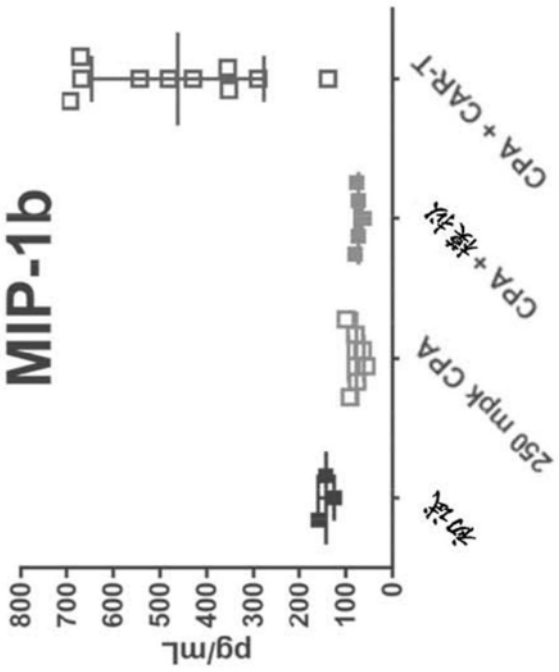

MIP-1b
pg/mL
800
700
600
500
400
300
200
100
0
媒剂
250 mpk CPA
CPA + 媒剂
CPA + CAR-T

图2H

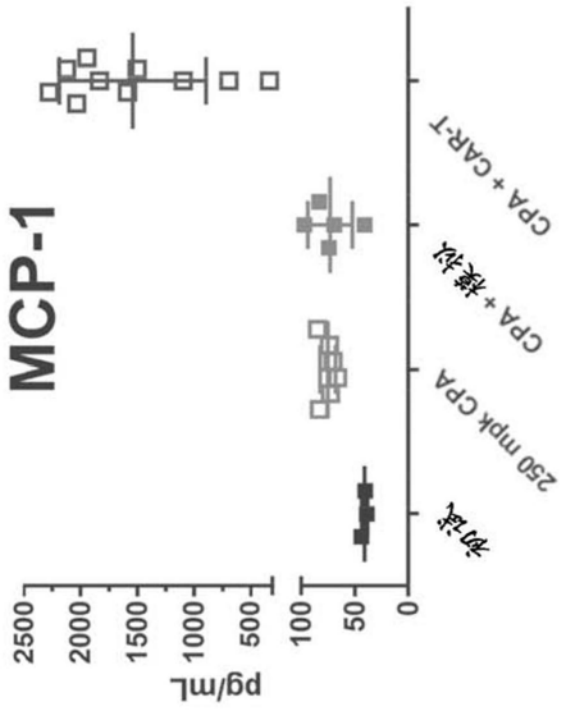

MCP-1
pg/mL
2500
2000
1500
1000
500
100
50
0
无治疗
250 mpk CPA
CPA + 模拟
CPA + CAR-T

图2I

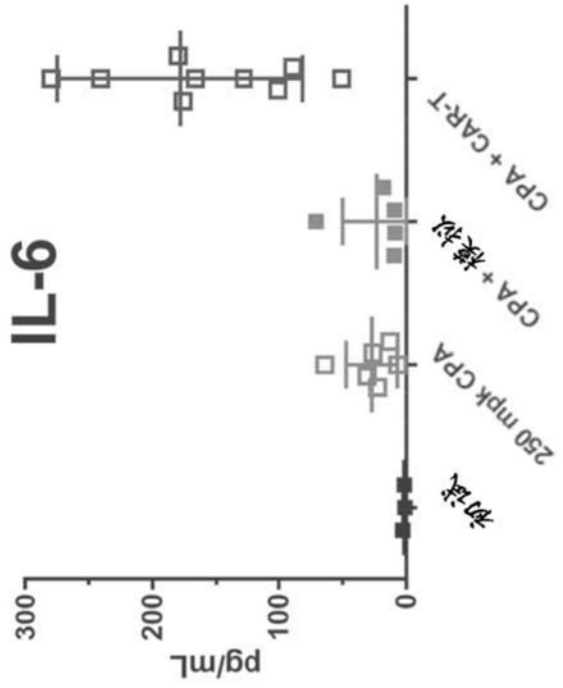

IL-6
pg/mL
300
200
100
0
无治疗
250 mpk CPA
CPA + 模拟
CPA + CAR-T

图2J

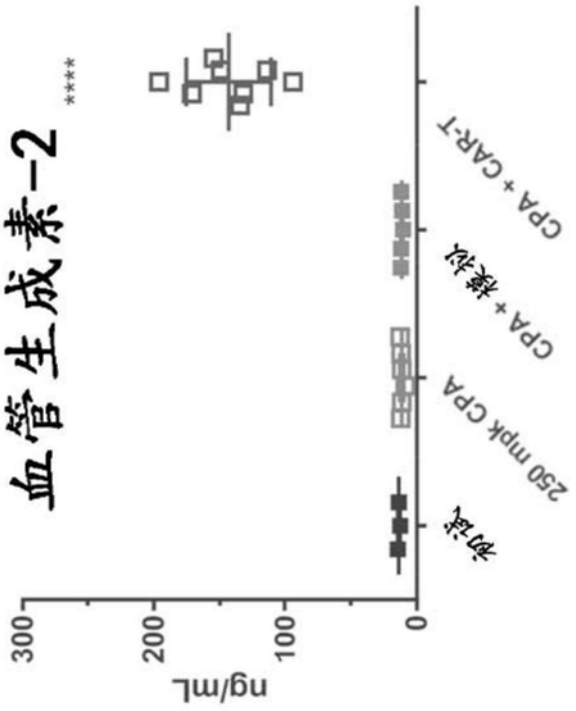

血管生成素-2
****
ng/mL
300
200
100
0
载体
250 mpk CPA
CPA + 维拉
CPA + CAR-T

图2K

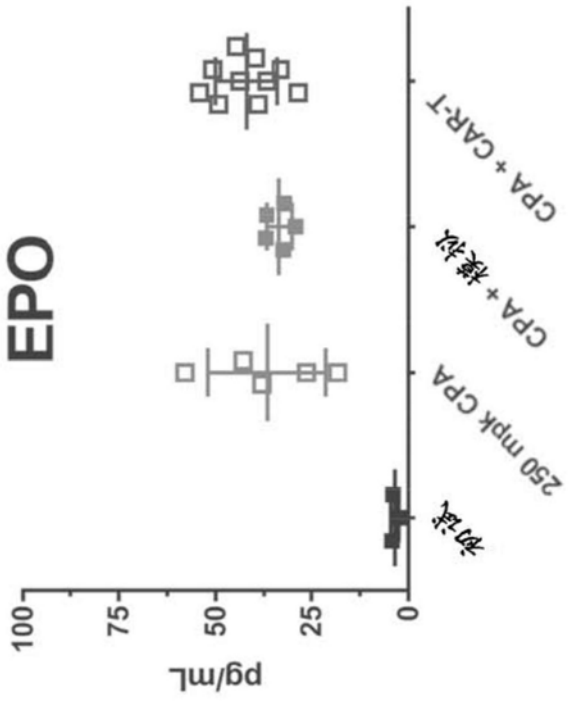

EPO
pg/mL
100
75
50
25
0
载体
250 mpk CPA
CPA + 维拉
CPA + CAR-T

图2L

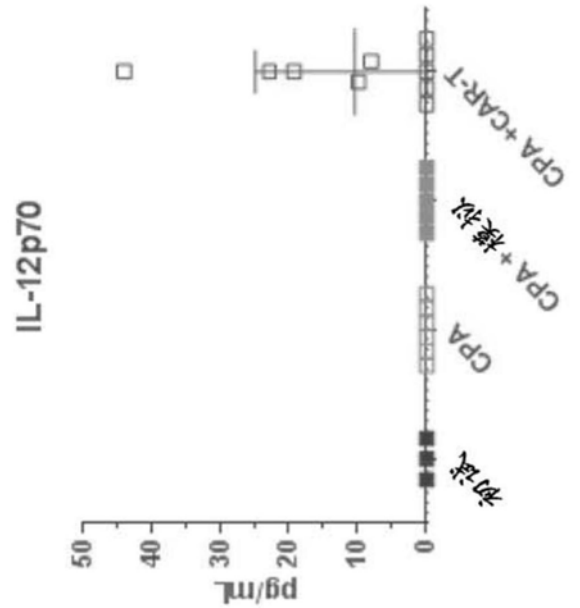

IL-12p70
pg/mL
0
10
20
30
40
50
初次
CPA
CPA + 疫苗
CPA +CAR-T

图2M

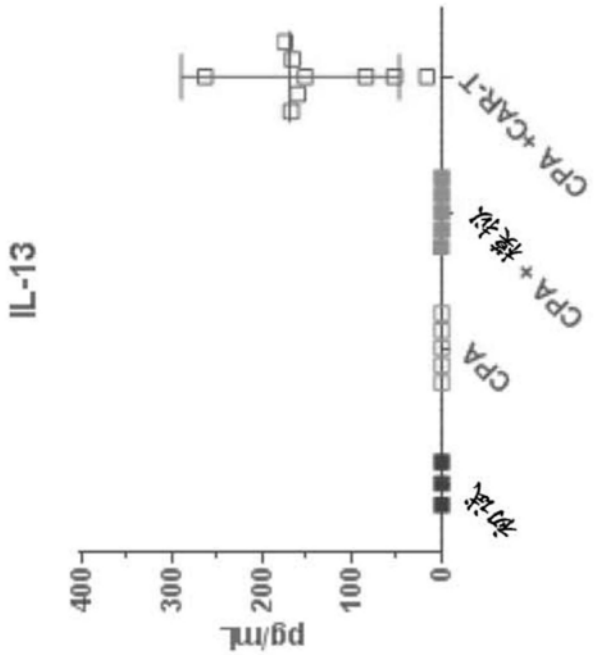

IL-13
pg/mL
0
100
200
300
400
初次
CPA
CPA + 疫苗
CPA +CAR-T

图2N

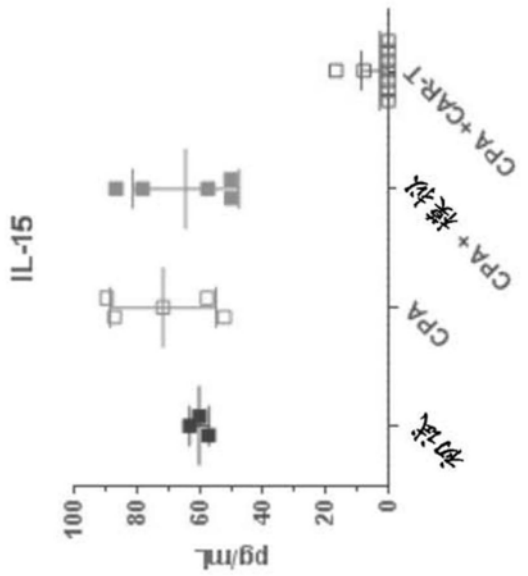

IL-15
pg/mL
0
20
40
60
80
100
对照
CPA
CPA+移液
CPA+CAR-T

图20

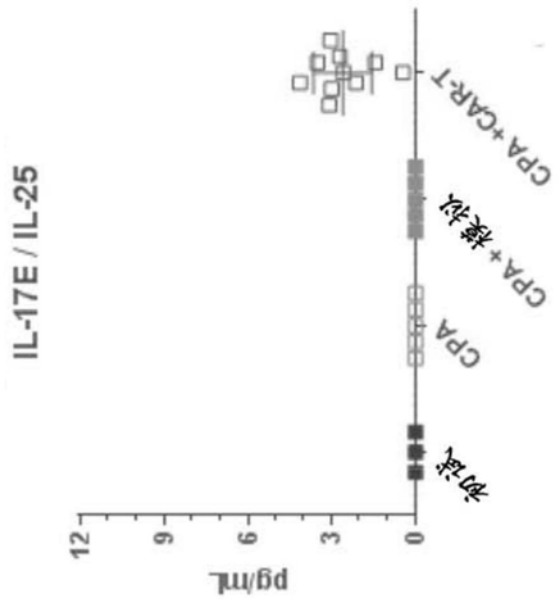

IL-17E / IL-25
pg/mL
0
3
6
9
12
对照
CPA
CPA+移液
CPA+CAR-T

图2P

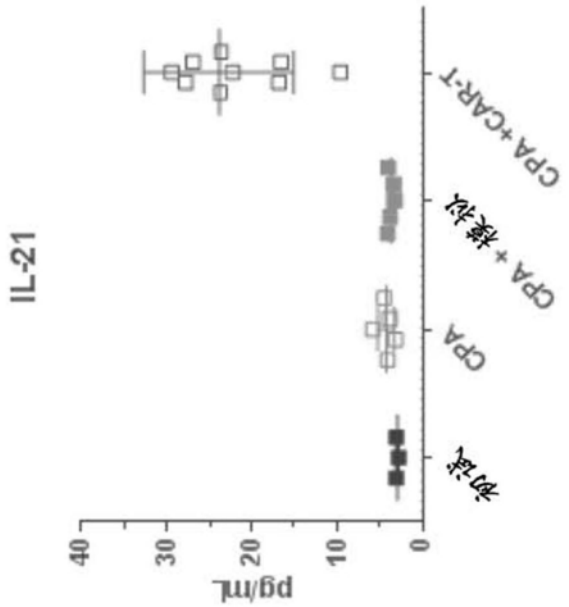

IL-21
pg/mL
0
10
20
30
40
初试
CPA
CPA + 接种
CPA +CAR-T

图2Q

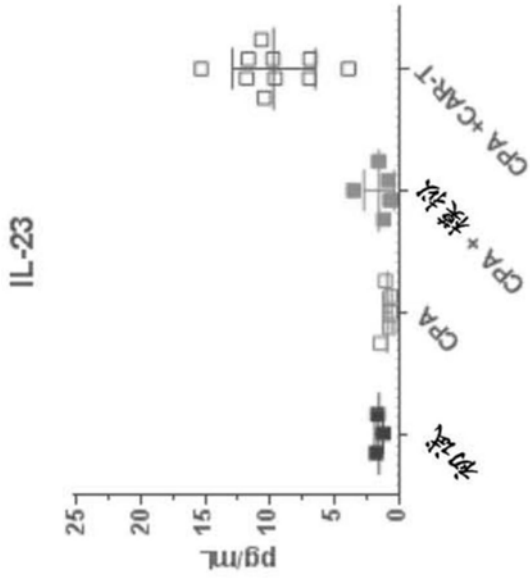

IL-23
pg/mL
0
5
10
15
20
25
初试
CPA
CPA + 接种
CPA +CAR-T

图2R

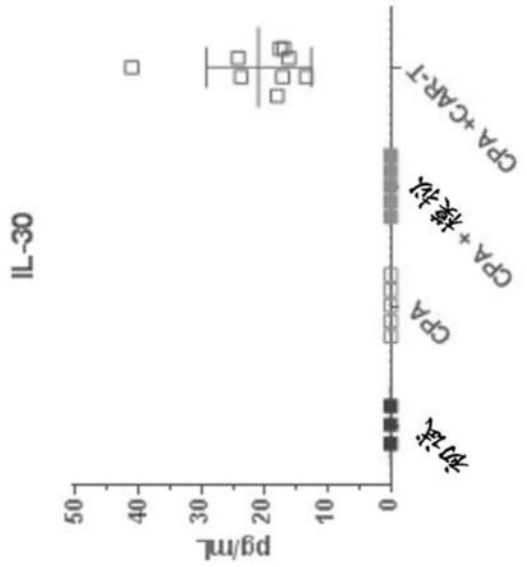

IL-30
pg/mL
0
10
20
30
40
50
对照
CPA
CPA+核心
CPA+CAR-T

图2S

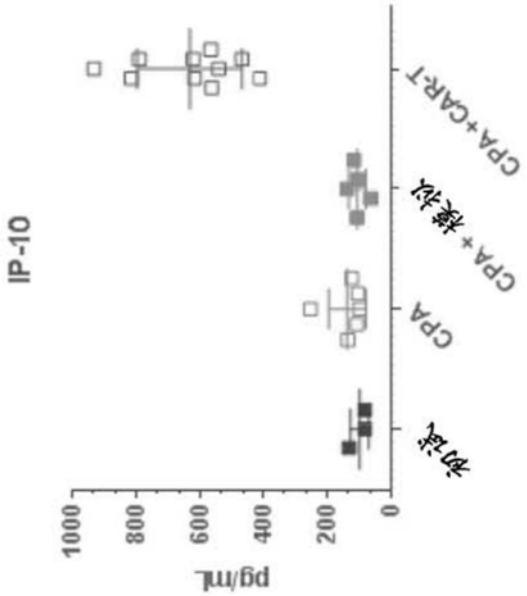

IP-10
pg/mL
0
200
400
600
800
1000
对照
CPA
CPA+核心
CPA+CAR-T

图2T

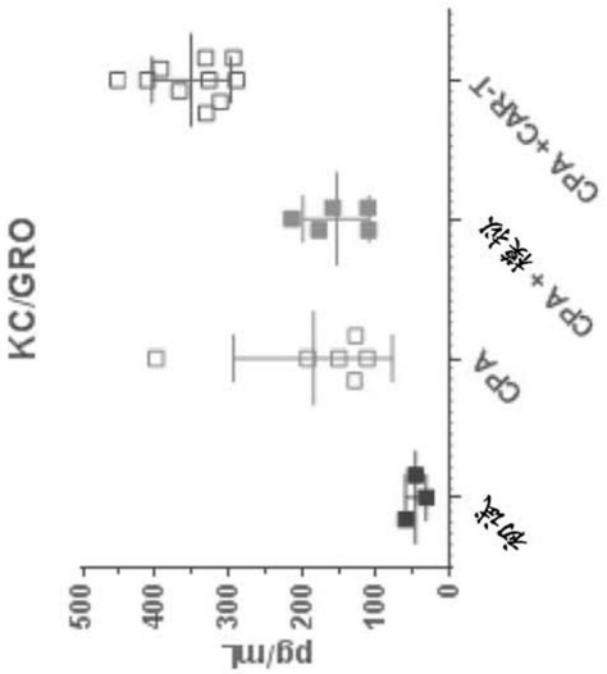

KC/GRO
pg/mL
500
400
300
200
100
0
对照
CPA
CPA + 模拟
CPA +CAR-T

图2U

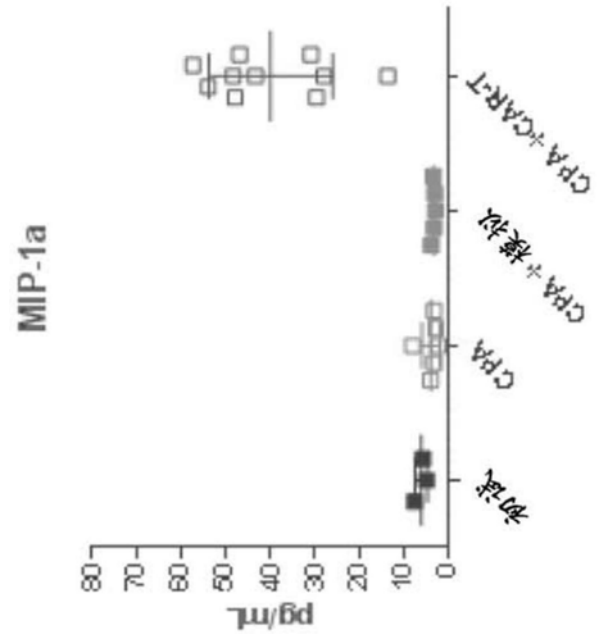

MIP-1a
pg/mL
80
70
60
50
40
30
20
10
0
对照
CPA
CPA + 模拟
CPA +CAR-T

图2V

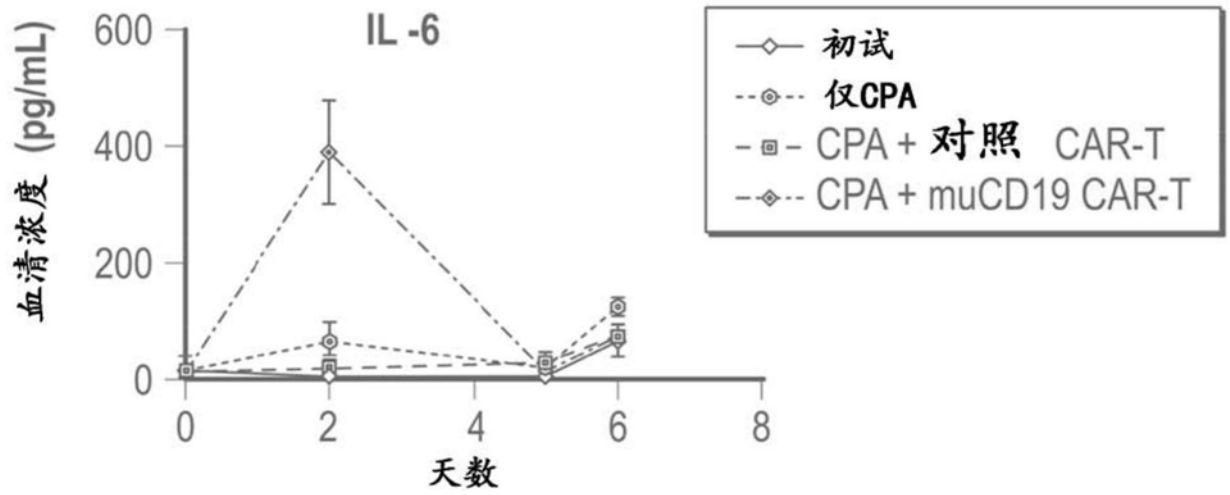

IL -6
血清浓度 (pg/mL)
600
400
200
0
0
2
4
6
8
天数
初试
仅CPA
CPA + 对照 CAR-T
CPA + muCD19 CAR-T

图2W

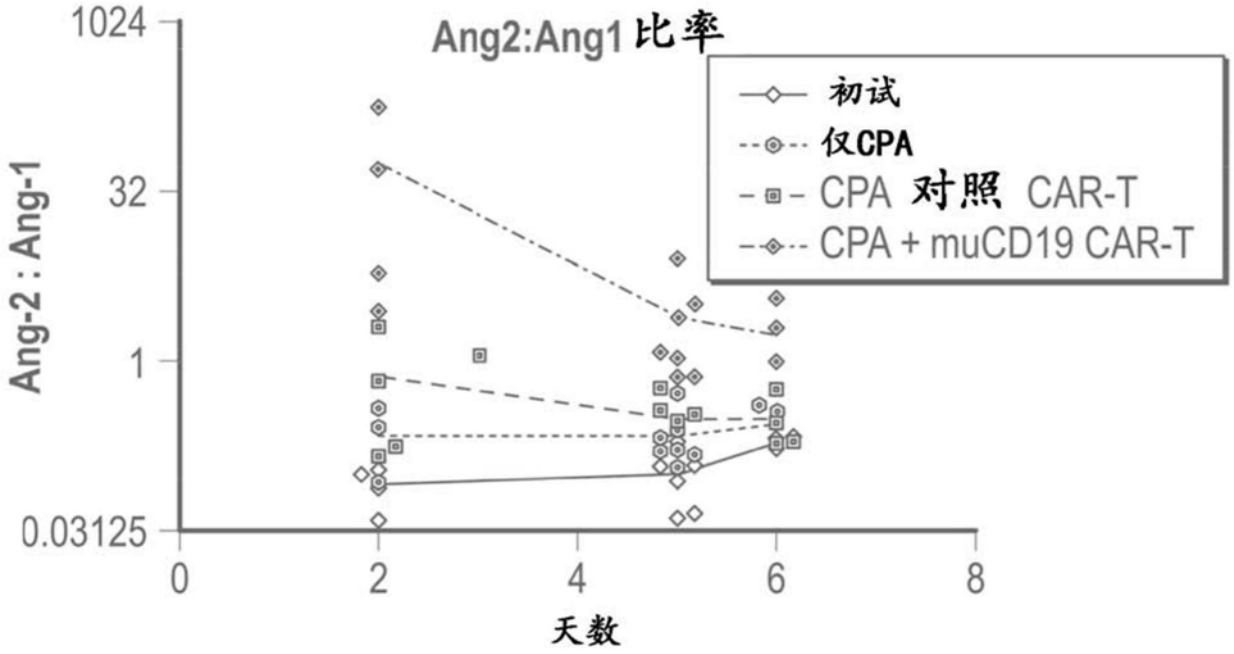

Ang2:Ang1 比率
Ang-2 : Ang-1
1024
32
1
0.03125
0
2
4
6
8
天数
初试
仅CPA
CPA 对照 CAR-T
CPA + muCD19 CAR-T

图2X

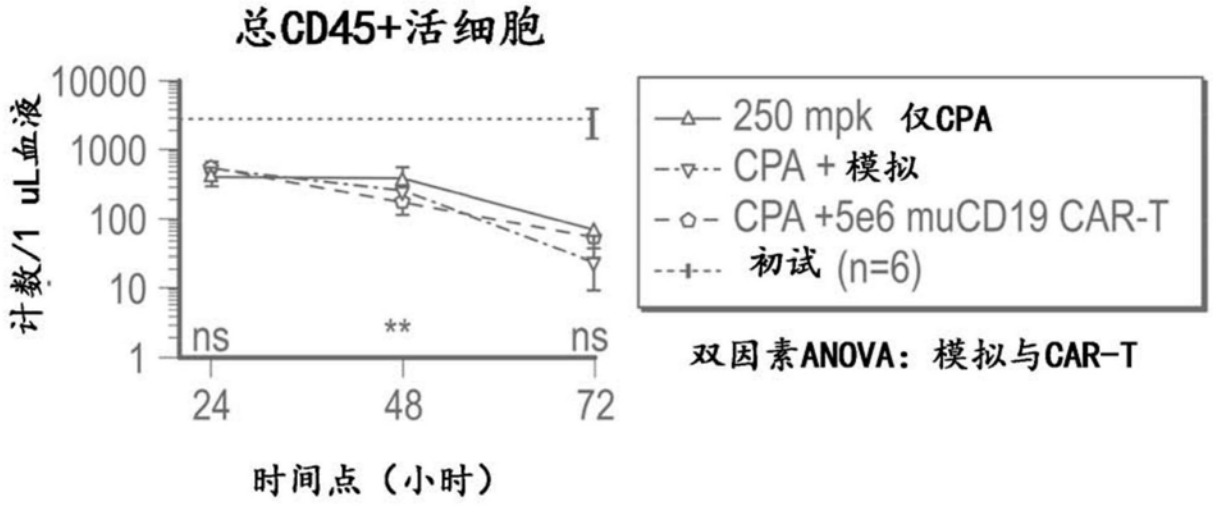

总CD45+活细胞
计数/1 uL血液
10000
1000
100
10
1
ns
**
ns
24
48
72
时间点（小时）
250 mpk 仅CPA
CPA + 模拟
CPA +5e6 muCD19 CAR-T
初试 (n=6)
双因素ANOVA：模拟与CAR-T

图3A

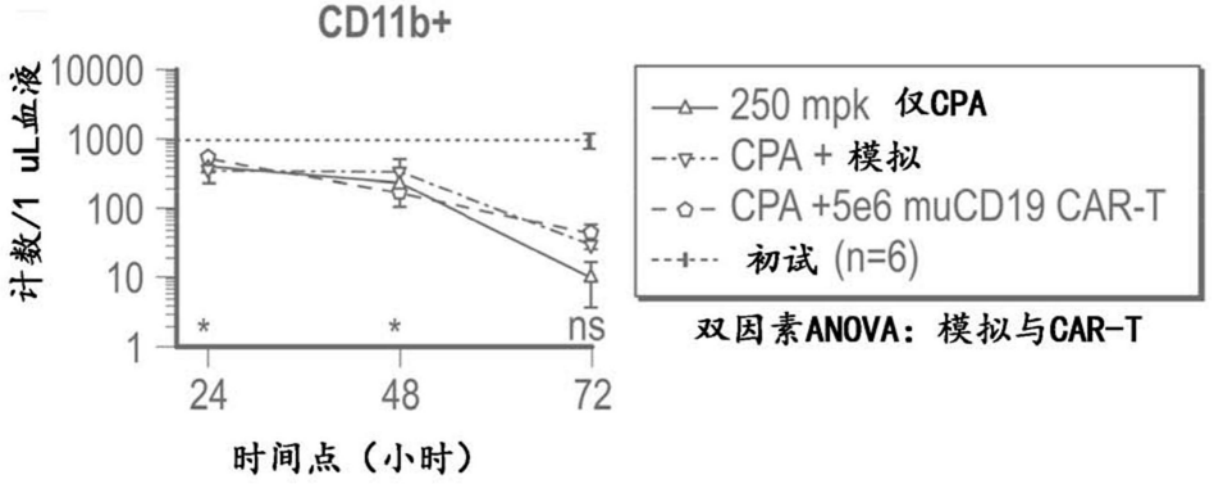

CD11b+
计数/1 uL血液
10000
1000
100
10
1
*
*
ns
24
48
72
时间点（小时）
250 mpk 仅CPA
CPA + 模拟
CPA +5e6 muCD19 CAR-T
初试 (n=6)
双因素ANOVA：模拟与CAR-T

图3B

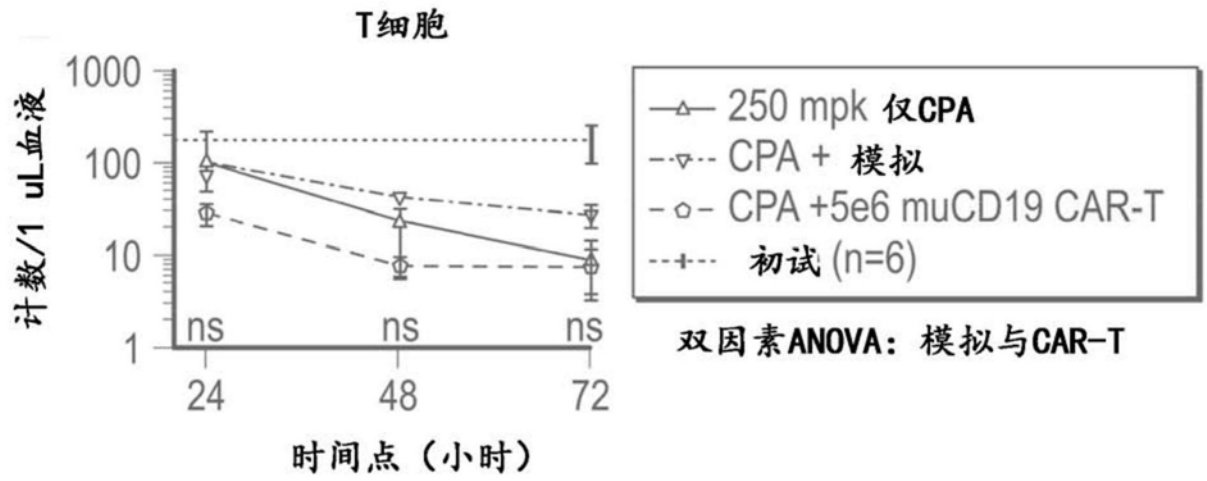

T细胞
计数/1 uL血液
1000
100
10
1
ns
ns
ns
24
48
72
时间点（小时）
250 mpk 仅CPA
CPA + 模拟
CPA +5e6 muCD19 CAR-T
初试 (n=6)
双因素ANOVA：模拟与CAR-T

图3C

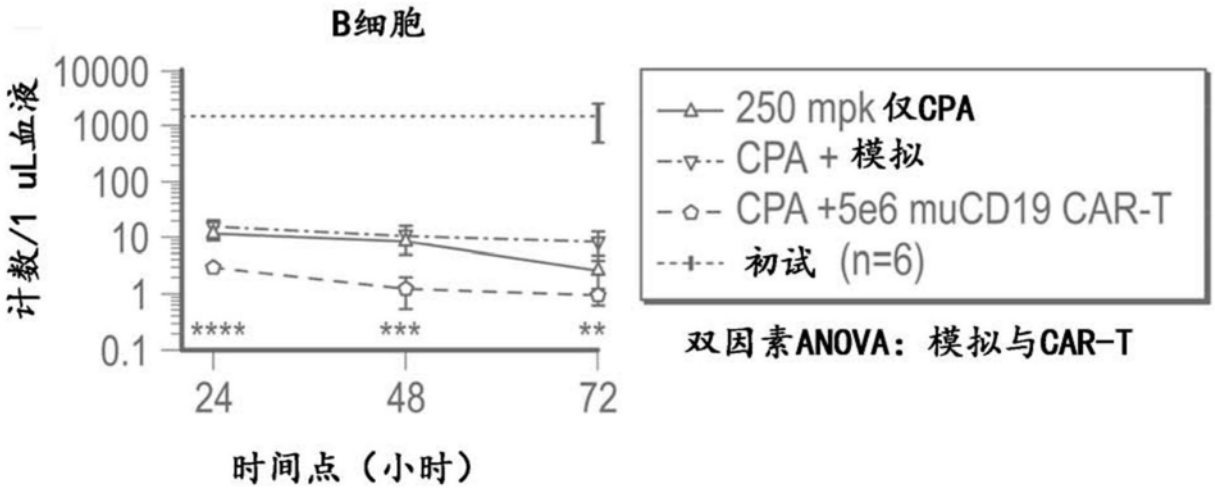

B细胞
计数/1 uL血液
10000
1000
100
10
1
0.1
****
***
**
24
48
72
时间点（小时）
250 mpk 仅CPA
CPA + 模拟
CPA +5e6 muCD19 CAR-T
初试 (n=6)
双因素ANOVA：模拟与CAR-T

图3D

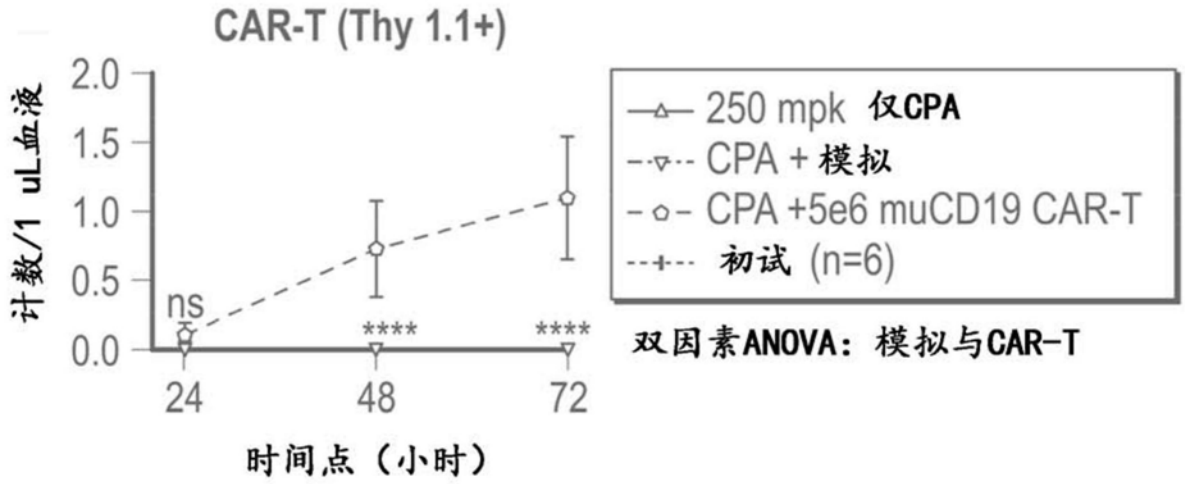

CAR-T (Thy 1.1+)
计数/1 uL血液
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
ns
****
****
24
48
72
时间点（小时）
250 mpk 仅CPA
CPA + 模拟
CPA +5e6 muCD19 CAR-T
初试 (n=6)
双因素ANOVA：模拟与CAR-T

图3E

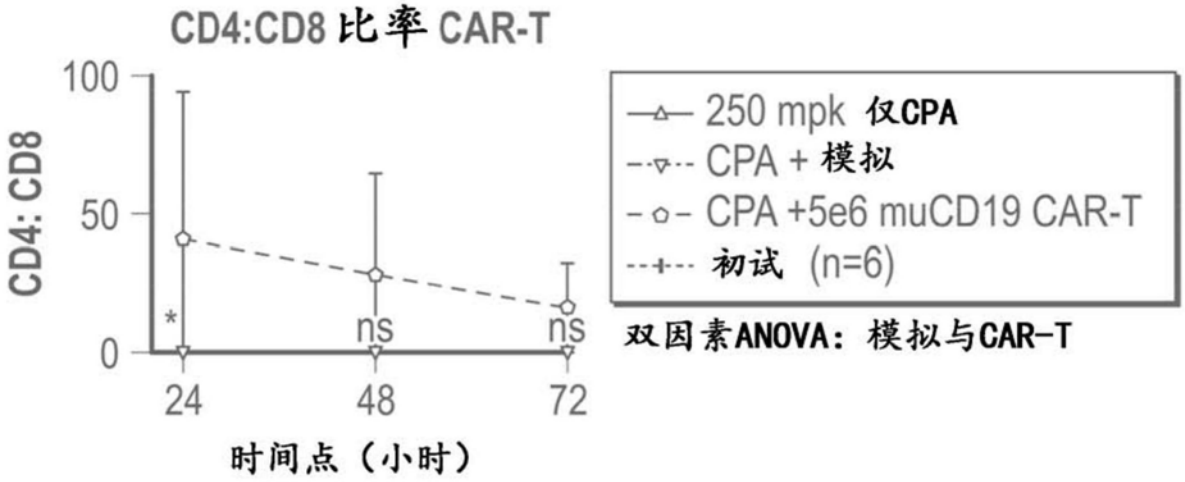

CD4:CD8 比率 CAR-T
CD4: CD8
100
50
0
*
ns
ns
24
48
72
时间点（小时）
250 mpk 仅CPA
CPA + 模拟
CPA +5e6 muCD19 CAR-T
初试 (n=6)
双因素ANOVA：模拟与CAR-T

图3F

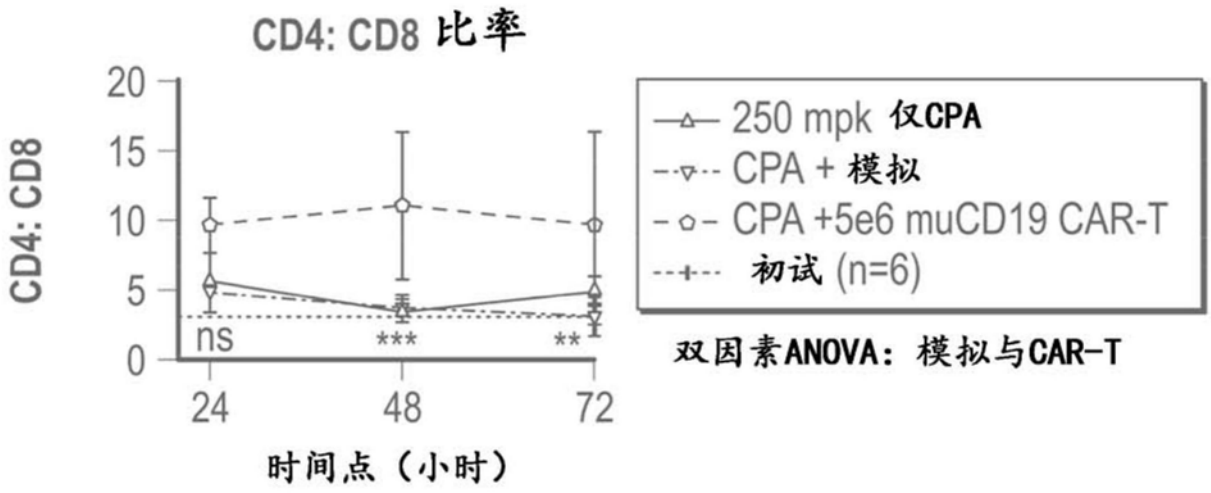

CD4: CD8 比率
CD4: CD8
20
15
10
5
0
ns
***
**
24
48
72
时间点（小时）
250 mpk 仅CPA
CPA + 模拟
CPA +5e6 muCD19 CAR-T
初试 (n=6)
双因素ANOVA：模拟与CAR-T

图3G

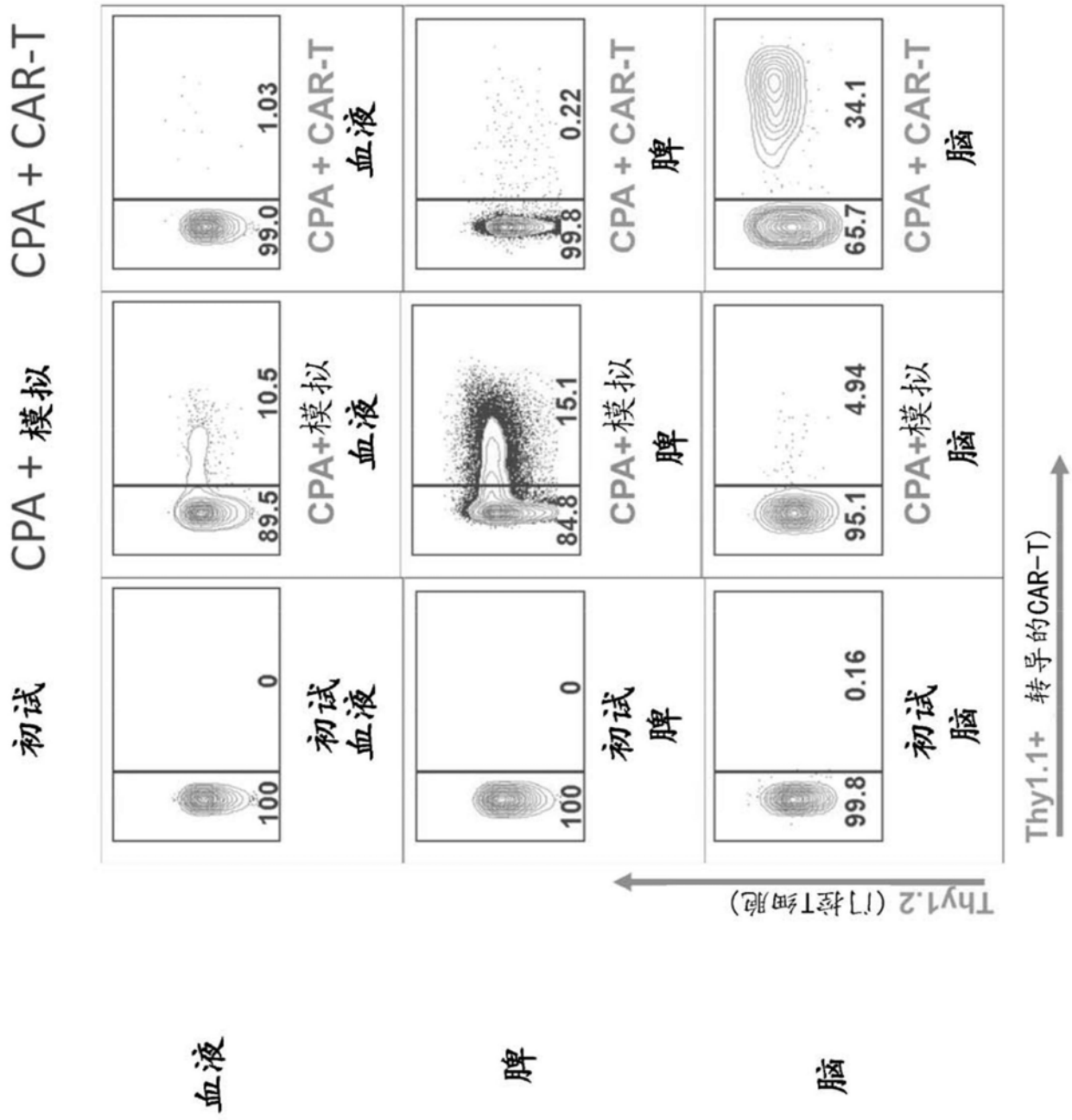

初试
CPA + 模拟
CPA + CAR-T
血液
脾
脑
初试 血液
CPA+模拟 血液
CPA + CAR-T 血液
初试 脾
CPA+模拟 脾
CPA + CAR-T 脾
初试 脑
CPA+模拟 脑
CPA + CAR-T 脑
100
0
89.5
10.5
99.0
1.03
100
0
84.8
15.1
99.8
0.22
99.8
0.16
95.1
4.94
65.7
34.1
Thy1.2 (门控T细胞)
Thy1.1+ 转导的CAR-T)

图4A

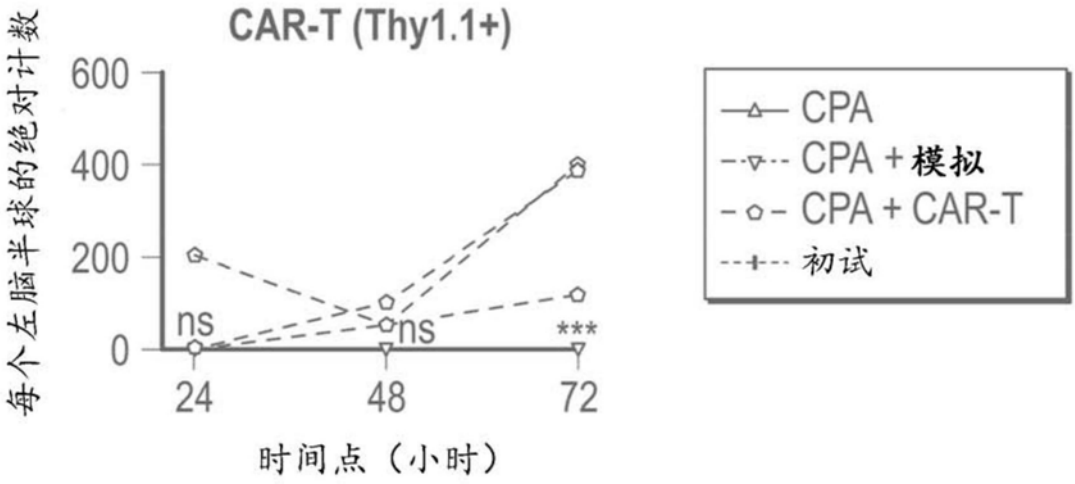

CAR-T (Thy1.1+)
每个左脑半球的绝对计数
600
400
200
0
ns
ns
***
24
48
72
时间点（小时）
CPA
CPA + 模拟
CPA + CAR-T
初试

图4B

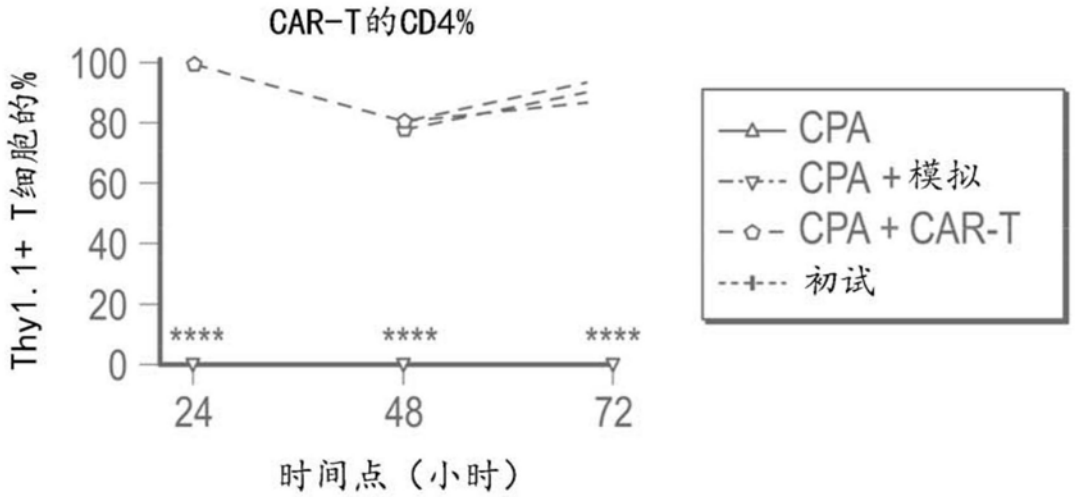

CAR-T的CD4%
Thy1.1+ T细胞的%
100
80
60
40
20
0
****
****
****
24
48
72
时间点（小时）
CPA
CPA + 模拟
CPA + CAR-T
初试

图4C

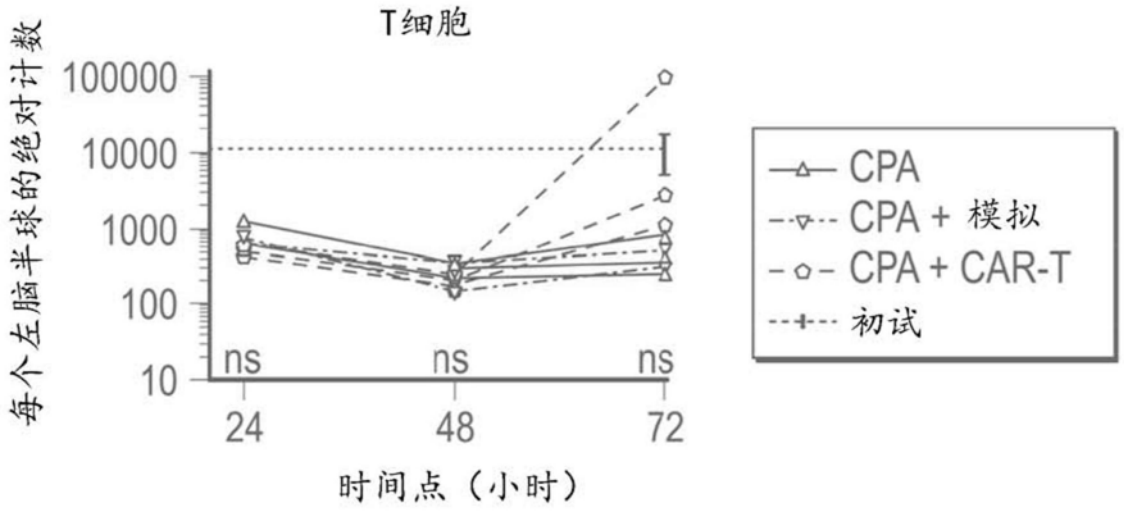

T细胞
每个左脑半球的绝对计数
100000
10000
1000
100
10
ns
ns
ns
24
48
72
时间点（小时）
CPA
CPA + 模拟
CPA + CAR-T
初试

图4D

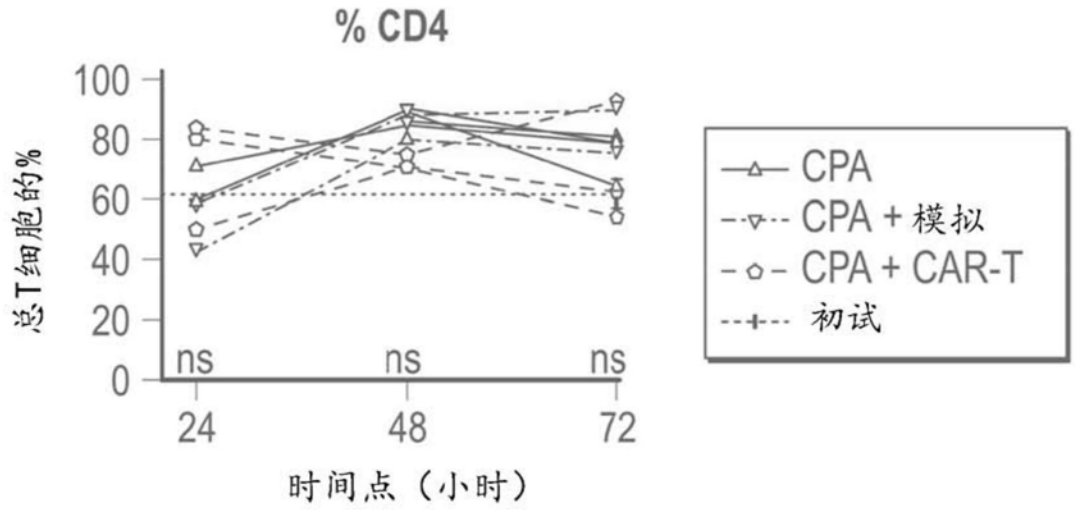

% CD4
总T细胞的%
100
80
60
40
20
0
ns
ns
ns
24
48
72
时间点（小时）
CPA
CPA + 模拟
CPA + CAR-T
初试

图4E

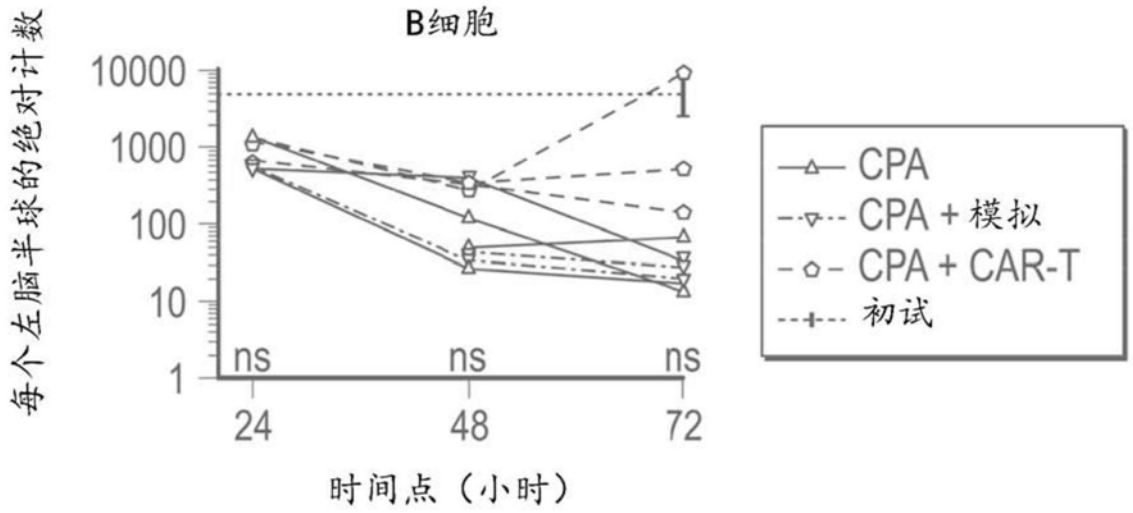

B细胞
每个左脑半球的绝对计数
10000
1000
100
10
1
ns
ns
ns
24
48
72
时间点（小时）
CPA
CPA + 模拟
CPA + CAR-T
初试

图4F

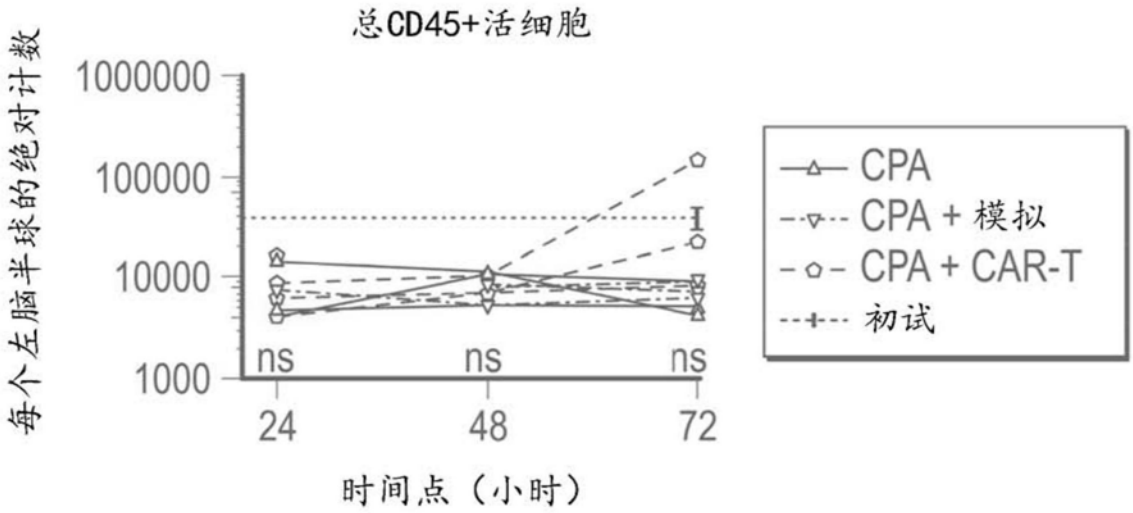

总CD45+活细胞
每个左脑半球的绝对计数
1000000
100000
10000
1000
ns
ns
ns
24
48
72
时间点（小时）
CPA
CPA + 模拟
CPA + CAR-T
初试

图4G

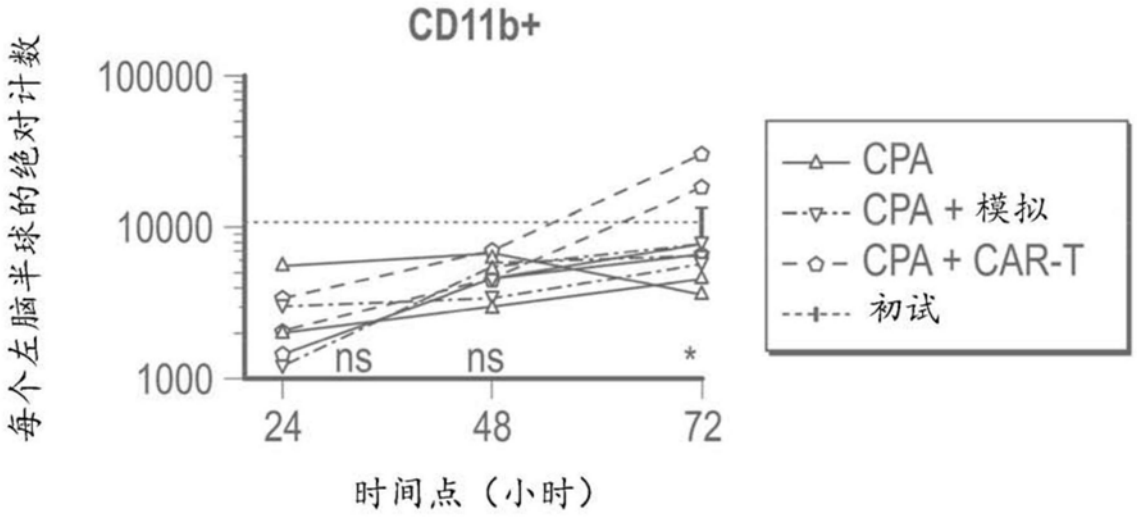

CD11b+
每个左脑半球的绝对计数
100000
10000
1000
ns
ns
*
24
48
72
时间点（小时）
CPA
CPA + 模拟
CPA + CAR-T
初试

图4H

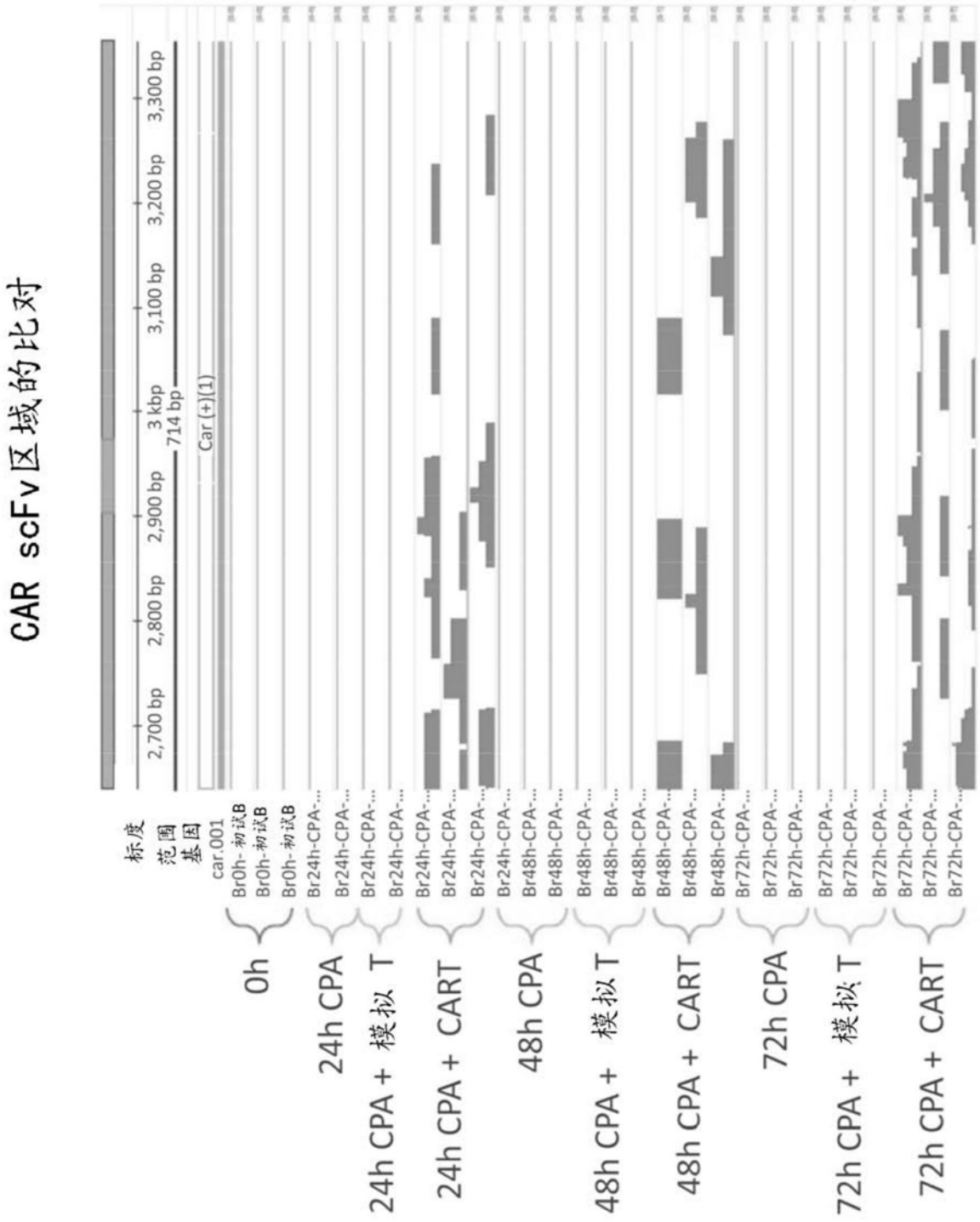

CAR scFv区域的比对
标度
范围
基因
car.001
2,700 bp
2,800 bp
2,900 bp
3 kbp
714 bp
3,100 bp
3,200 bp
3,300 bp
Car (+)(1)
BrOh-初试B
BrOh-初试B
BrOh-初试B
Br24h-CPA-...
Br24h-CPA-...
Br24h-CPA-...
Br24h-CPA-...
Br24h-CPA-...
Br24h-CPA-...
Br24h-CPA-...
Br24h-CPA-...
Br48h-CPA-...
Br48h-CPA-...
Br48h-CPA-...
Br48h-CPA-...
Br48h-CPA-...
Br48h-CPA-...
Br48h-CPA-...
Br48h-CPA-...
Br72h-CPA-...
Br72h-CPA-...
Br72h-CPA-...
Br72h-CPA-...
Br72h-CPA-...
Br72h-CPA-...
Br72h-CPA-...
Br72h-CPA-...
0h
24h CPA
24h CPA + 模拟 T
24h CPA + CART
48h CPA
48h CPA + 模拟 T
48h CPA + CART
72h CPA
72h CPA + 模拟 T
72h CPA + CART

图5A

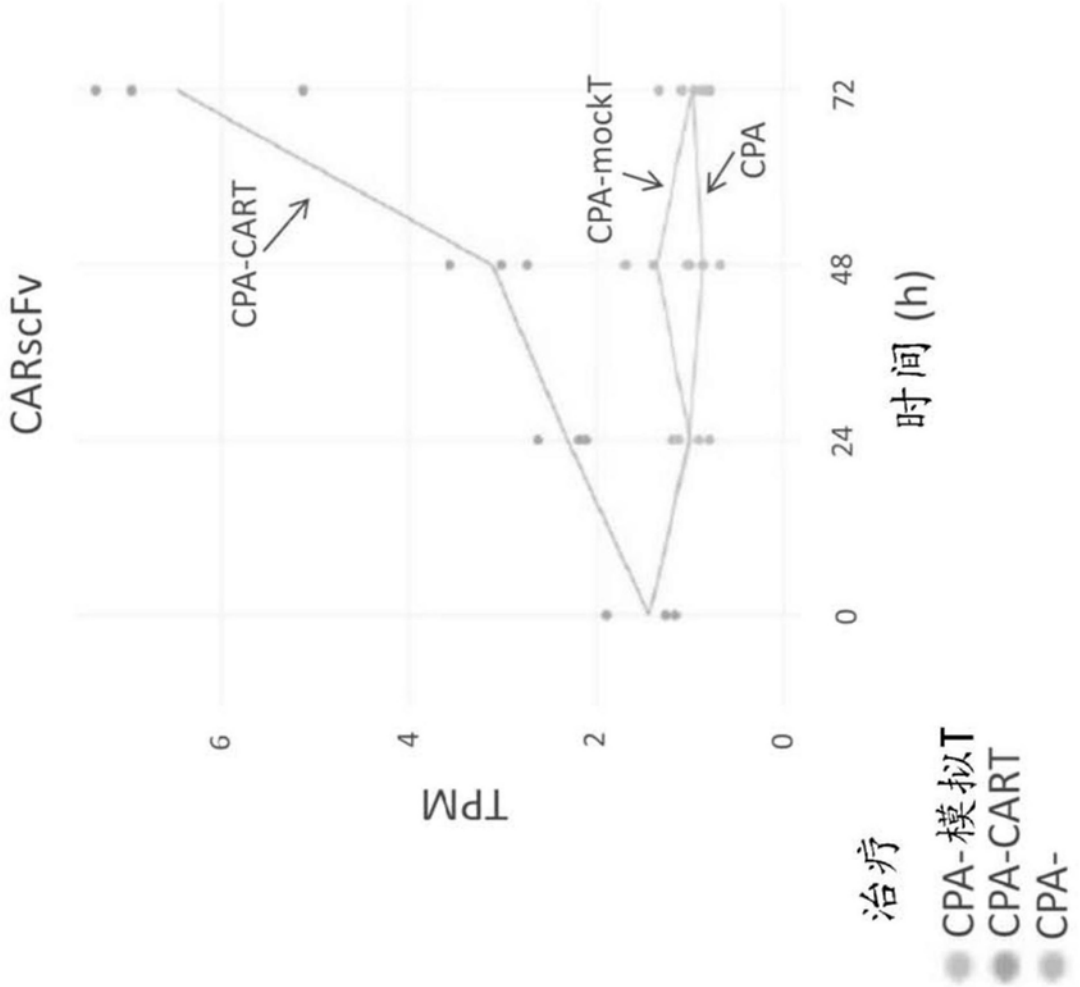

CARscFv
CPA-CART
CPA-mockT
CPA
TPM
6
4
2
0
0
24
48
72
时间 (h)
治疗
CPA-模拟T
CPA-CART
CPA-

图5B

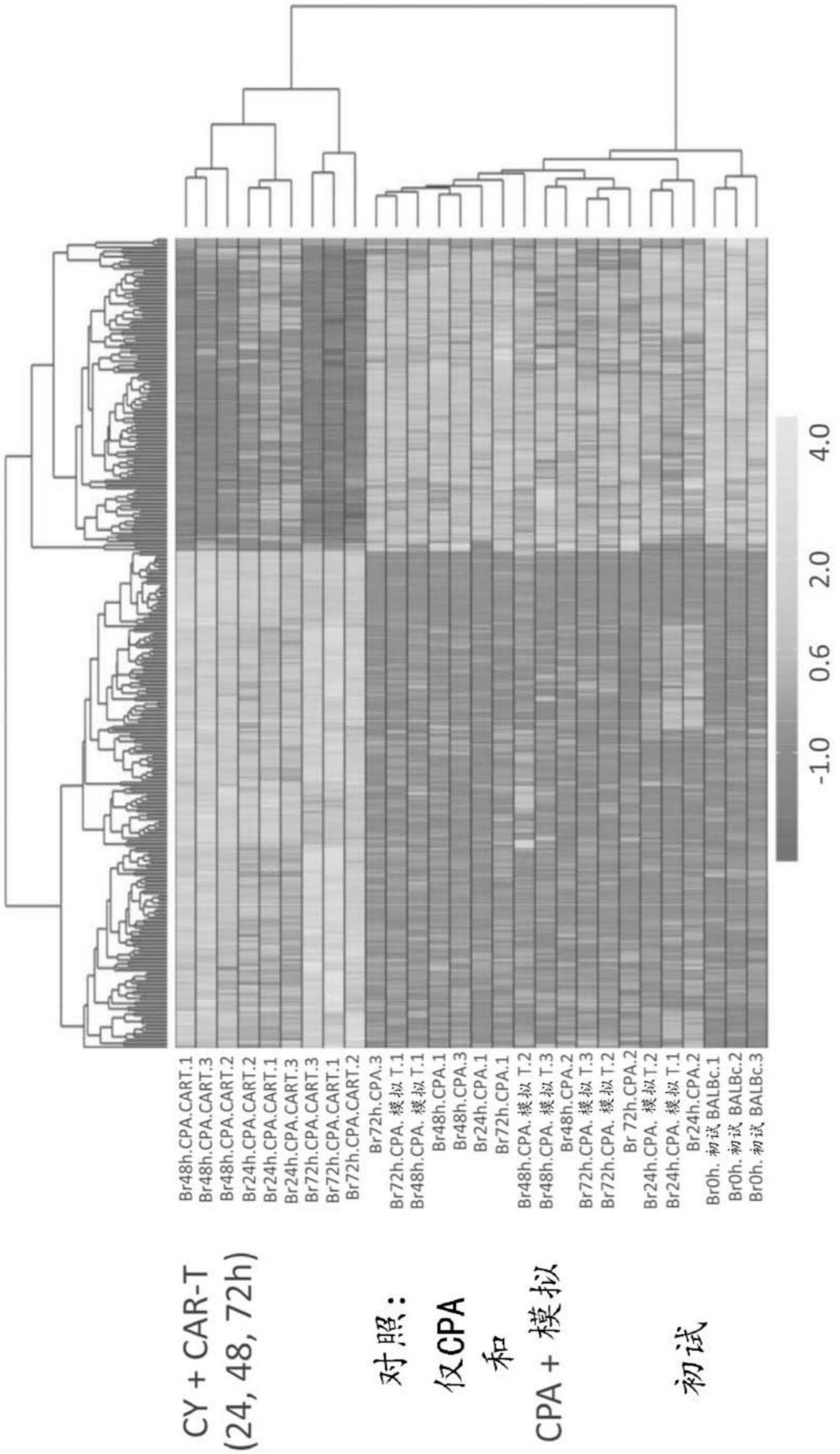

4.0
2.0
0.6
-1.0
Br48h.CPA.CART.1
Br48h.CPA.CART.3
Br48h.CPA.CART.2
Br24h.CPA.CART.2
Br24h.CPA.CART.1
Br24h.CPA.CART.3
Br72h.CPA.CART.3
Br72h.CPA.CART.1
Br72h.CPA.CART.2
Br72h.CPA.3
Br72h.CPA.模拟 T.1
Br48h.CPA.模拟 T.1
Br48h.CPA.1
Br48h.CPA.3
Br24h.CPA.1
Br72h.CPA.1
Br48h.CPA.模拟 T.2
Br48h.CPA.模拟 T.3
Br48h.CPA.2
Br72h.CPA.模拟 T.3
Br72h.CPA.模拟 T.2
Br 72h.CPA.2
Br24h.CPA.模拟 T.2
Br24h.CPA.模拟 T.1
Br24h.CPA.2
Br0h.初试 BALBc.1
Br0h.初试 BALBc.2
Br0h.初试 BALBc.3
CY + CAR-T
(24, 48, 72h)
对照：
仅CPA
和
CPA + 模拟
初试

图6A

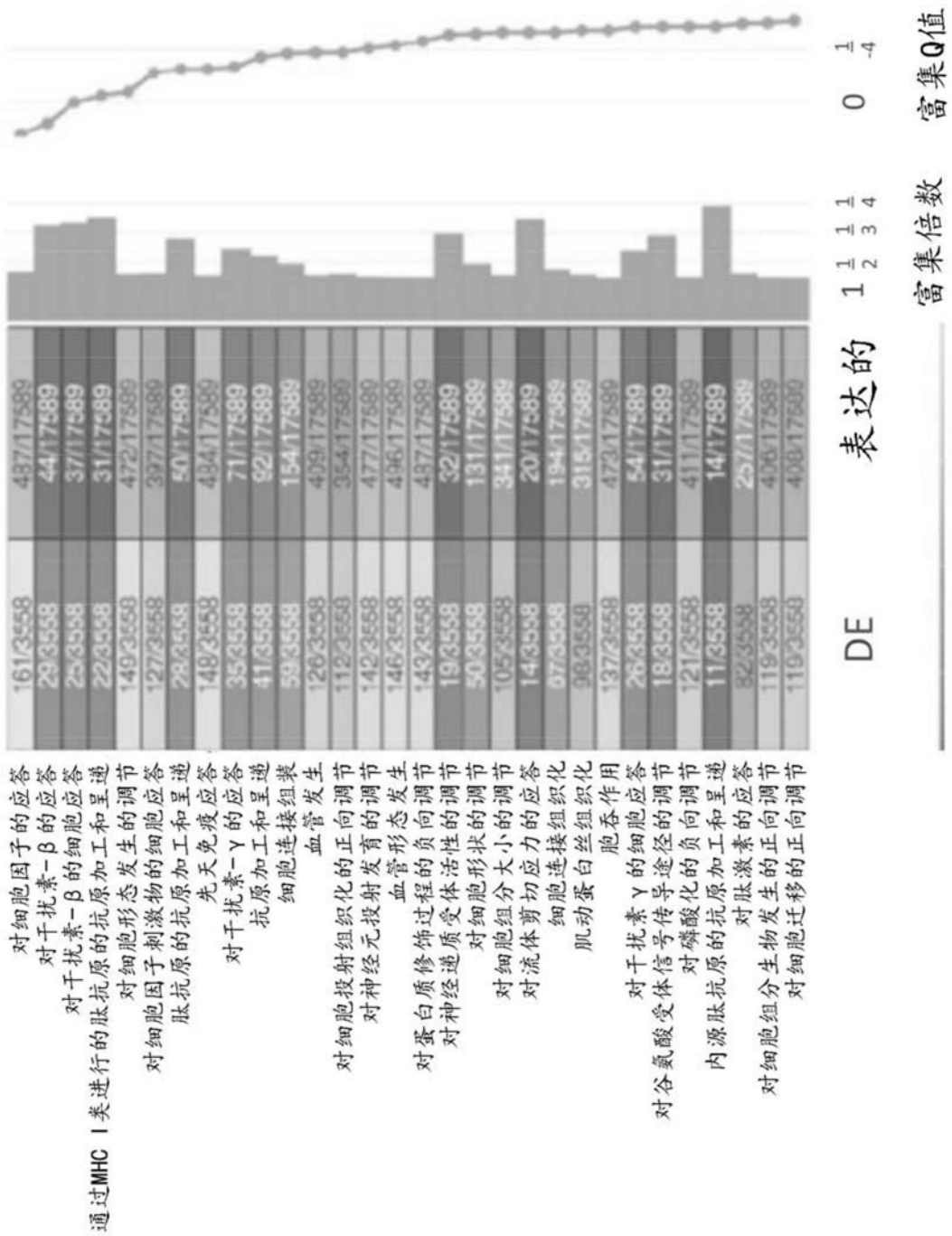

对细胞因子的应答
对干扰素-β的应答
对干扰素-β的细胞应答
通过MHC Ⅰ类进行的肽抗原的抗原加工和呈递
对细胞形态发生的调节
对细胞因子刺激物的细胞应答
肽抗原的抗原加工和呈递
先天免疫应答
对干扰素-γ的应答
抗原加工和呈递
细胞连接组装
血管发生
对细胞投射组织化的正向调节
对神经元投射发育的调节
血管形态发生
对蛋白质修饰过程的负向调节
对神经递质受体活性的调节
对细胞形状的调节
对细胞组分大小的调节
对流体剪切应力的应答
细胞连接组织化
肌动蛋白丝组织化
胞吞作用
对干扰素γ的细胞应答
对谷氨酸受体信号传导途径的调节
对磷酸化的负向调节
内源肽抗原的抗原加工和呈递
对肽激素的应答
对细胞组分生物发生的正向调节
对细胞迁移的正向调节
161/3558
29/3558
25/3558
22/3558
149/3558
127/3558
28/3558
148/3558
35/3558
41/3558
59/3558
126/3558
112/3558
142/3558
146/3558
143/3558
19/3558
50/3558
105/3558
14/3558
97/3558
98/3558
137/3558
26/3558
18/3558
121/3558
11/3558
82/3558
119/3558
119/3558
487/17589
44/17589
37/17589
31/17589
472/17589
397/17589
50/17589
484/17589
71/17589
92/17589
154/17589
409/17589
354/17589
477/17589
496/17589
487/17589
32/17589
131/17589
341/17589
20/17589
194/17589
315/17589
473/17589
54/17589
31/17589
411/17589
14/17589
25/17589
406/17589
408/17589
DE
表达的
1 1/2 1/3 1/4
富集倍数
0
1 -4
富集Q值

图6B

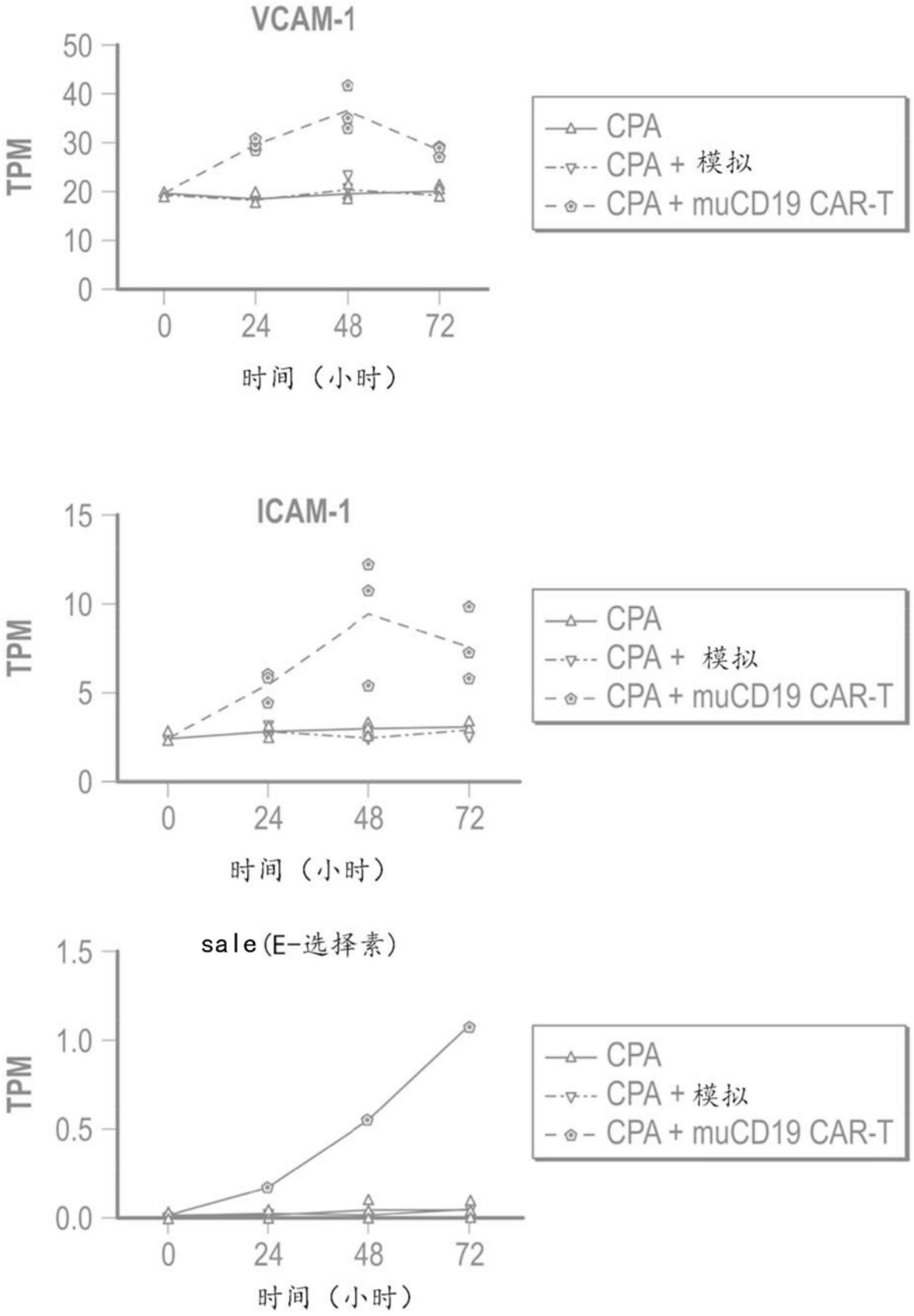

VCAM-1
TPM
50
40
30
20
10
0
0
24
48
72
时间（小时）
CPA
CPA + 模拟
CPA + muCD19 CAR-T
ICAM-1
TPM
15
10
5
0
0
24
48
72
时间（小时）
CPA
CPA + 模拟
CPA + muCD19 CAR-T
sale(E-选择素)
TPM
1.5
1.0
0.5
0.0
0
24
48
72
时间（小时）
CPA
CPA + 模拟
CPA + muCD19 CAR-T

图7A

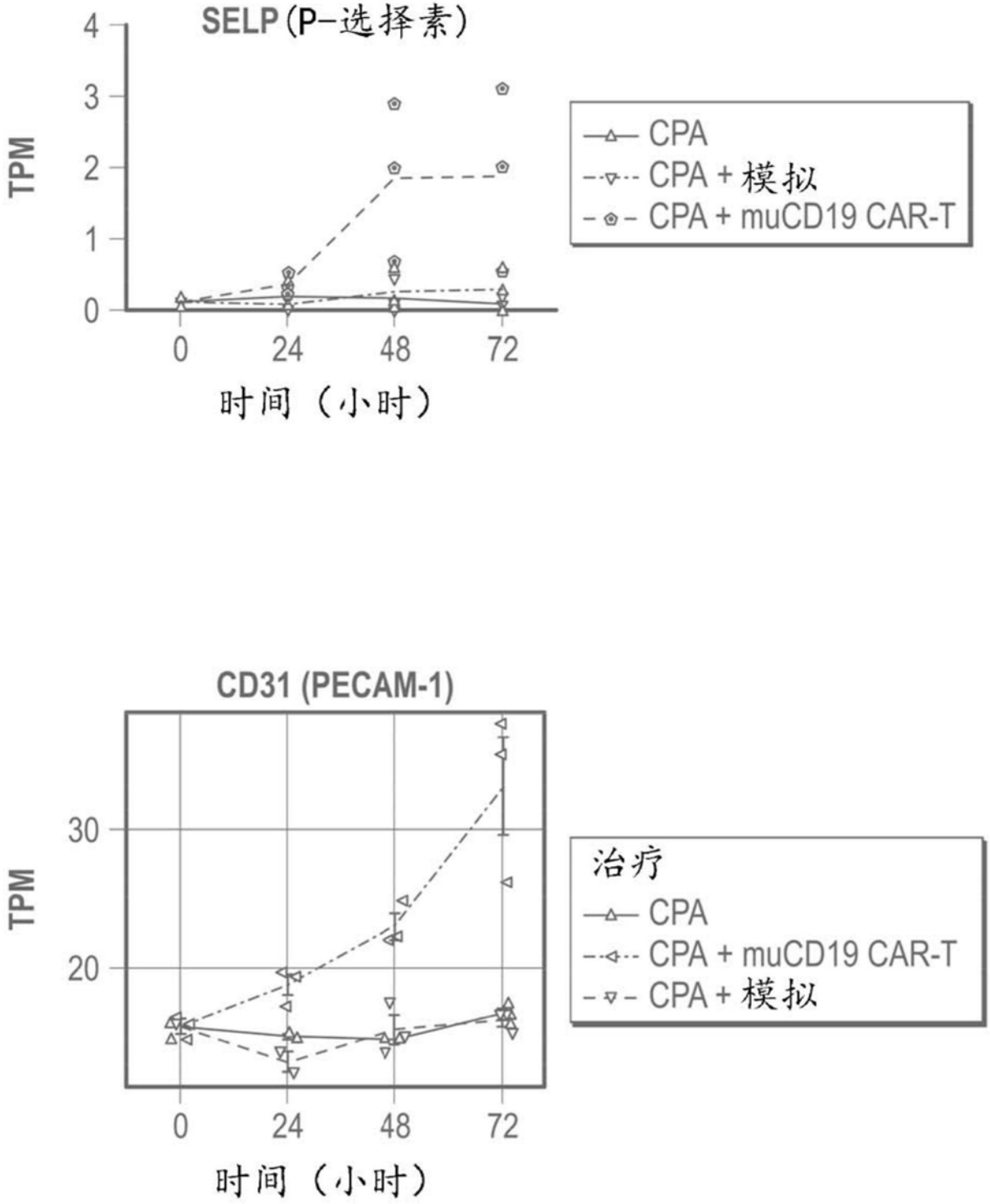

SELP (P-选择素)
TPM
4
3
2
1
0
0
24
48
72
时间（小时）
CPA
CPA + 模拟
CPA + muCD19 CAR-T
CD31 (PECAM-1)
TPM
30
20
0
24
48
72
时间（小时）
治疗
CPA
CPA + muCD19 CAR-T
CPA + 模拟

图7B

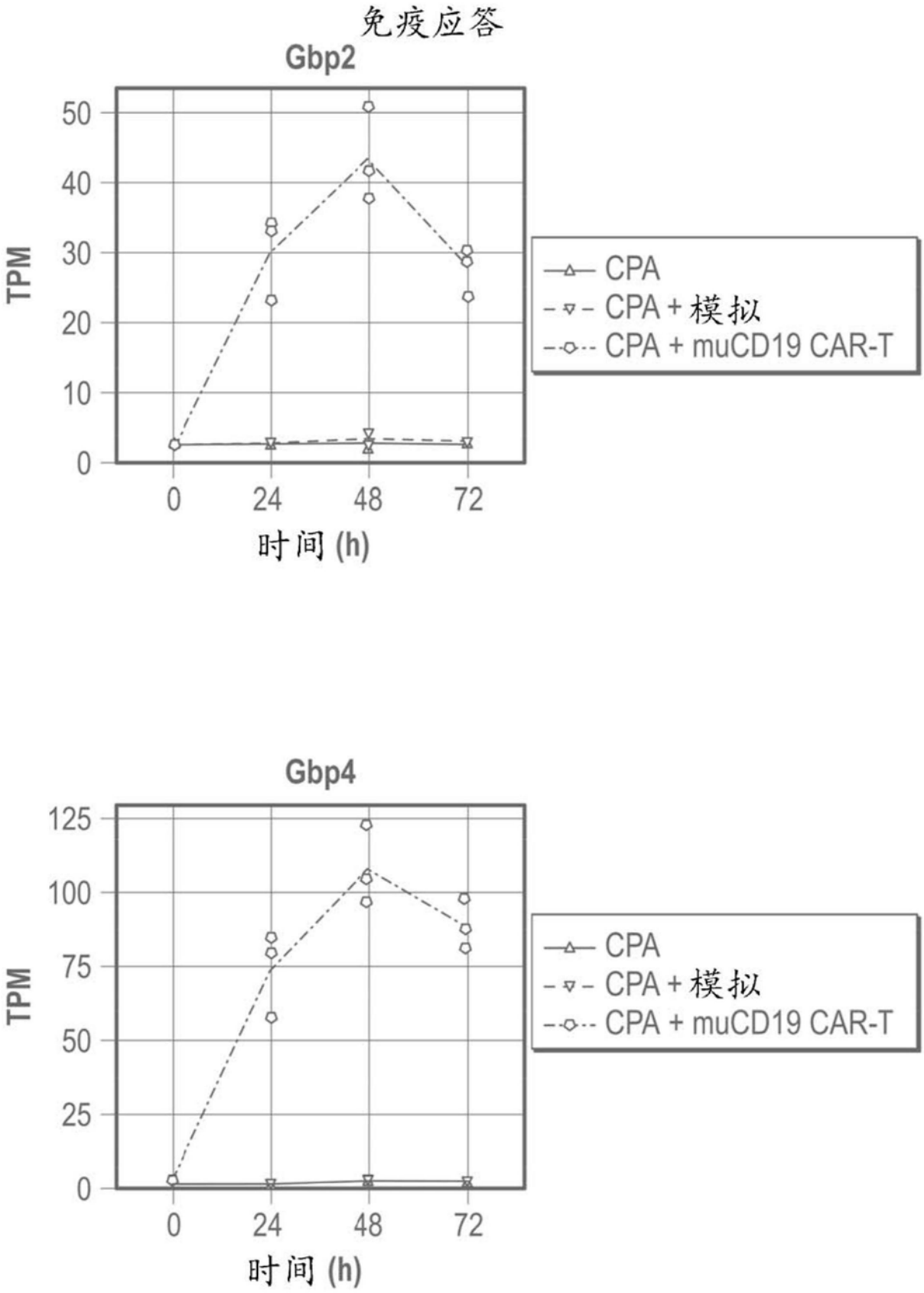

免疫应答
Gbp2
TPM
50
40
30
20
10
0
0
24
48
72
时间 (h)
CPA
CPA + 模拟
CPA + muCD19 CAR-T
Gbp4
TPM
125
100
75
50
25
0
0
24
48
72
时间 (h)
CPA
CPA + 模拟
CPA + muCD19 CAR-T

图7C

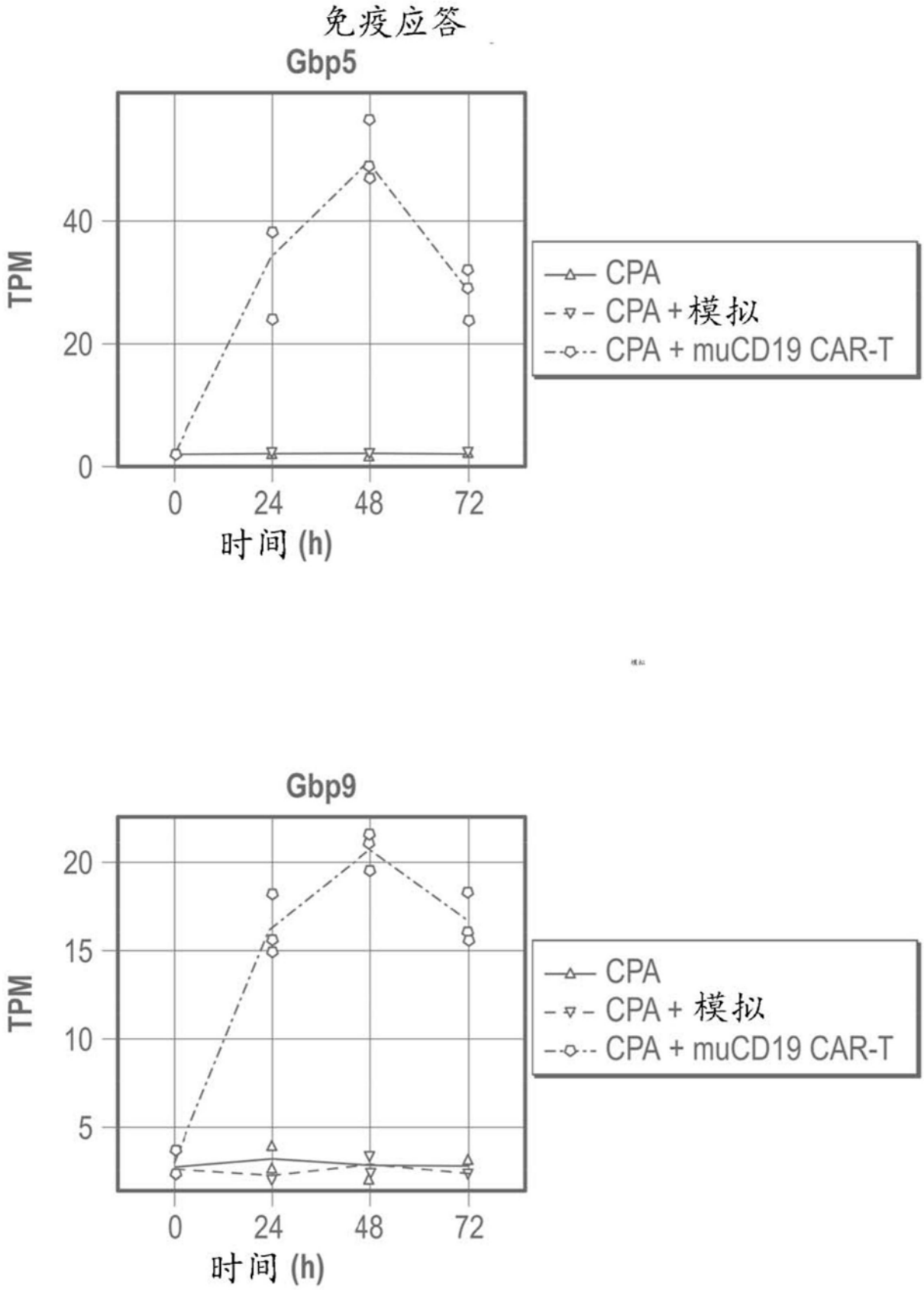

免疫应答
Gbp5
TPM
40
20
0
0
24
48
72
时间 (h)
CPA
CPA + 模拟
CPA + muCD19 CAR-T
Gbp9
TPM
20
15
10
5
0
24
48
72
时间 (h)
CPA
CPA + 模拟
CPA + muCD19 CAR-T

图7D

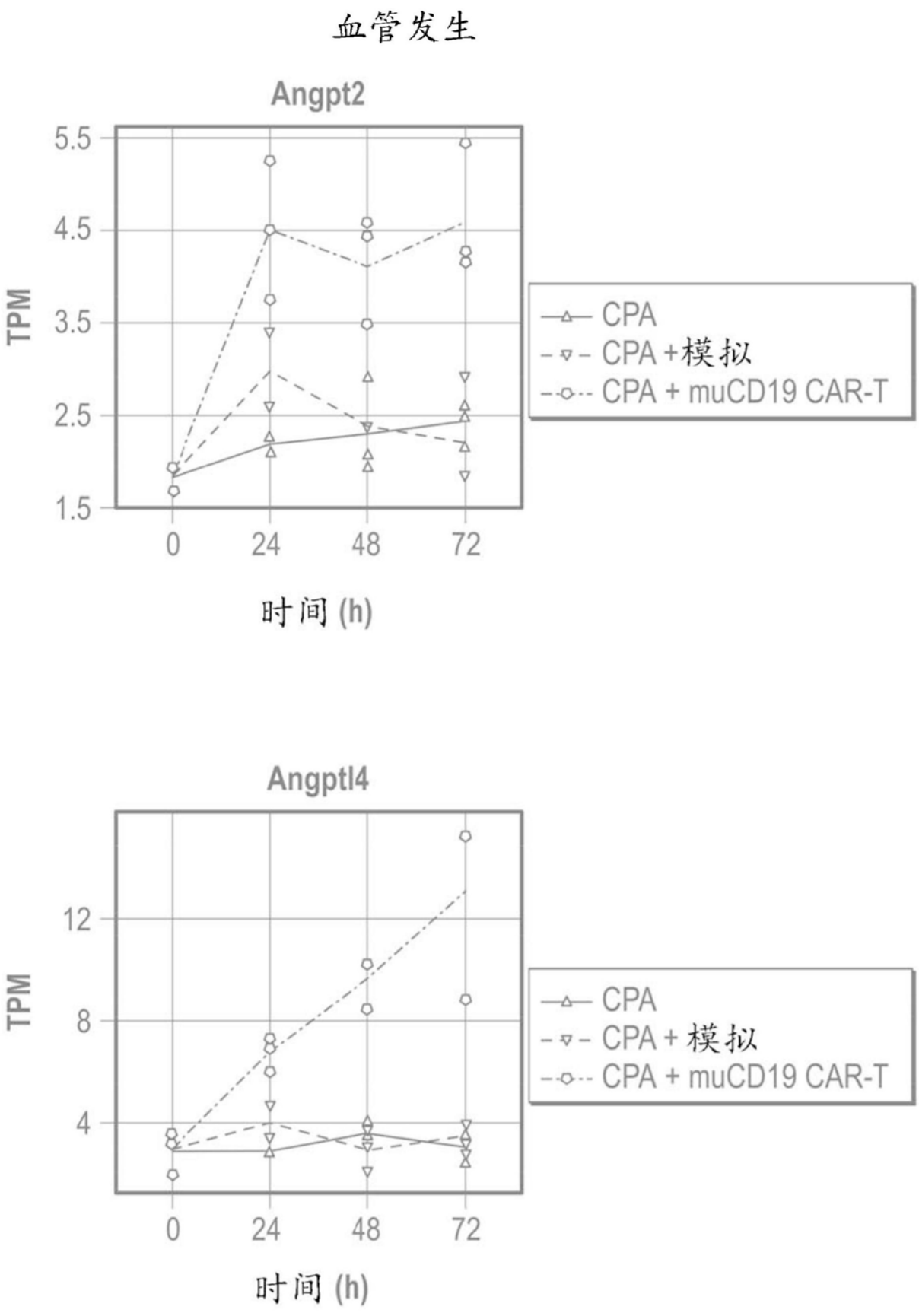

血管发生
Angpt2
TPM
5.5
4.5
3.5
2.5
1.5
0
24
48
72
时间 (h)
CPA
CPA +模拟
CPA + muCD19 CAR-T
Angptl4
TPM
12
8
4
0
24
48
72
时间 (h)
CPA
CPA + 模拟
CPA + muCD19 CAR-T

图7E

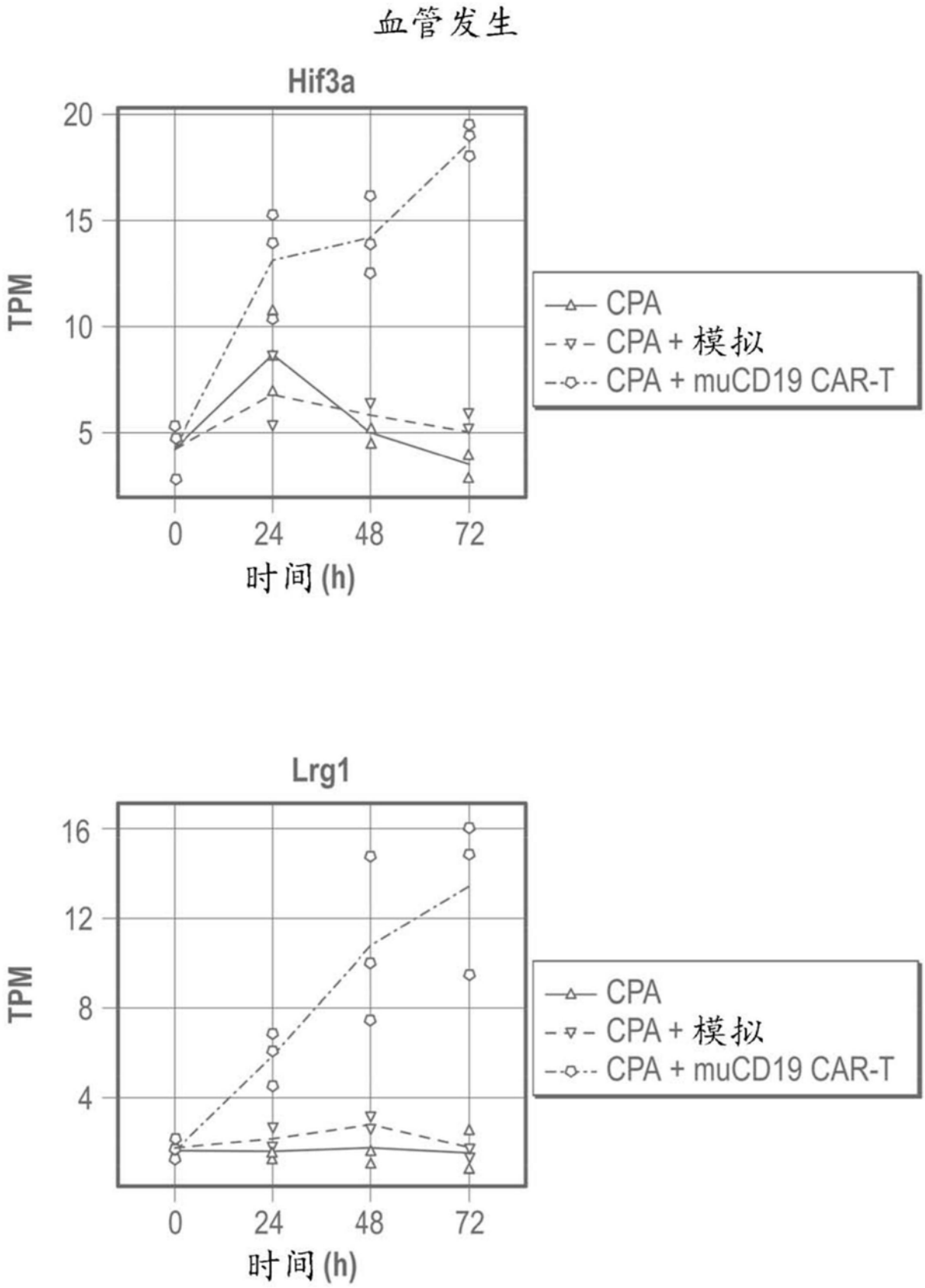

血管发生
Hif3a
TPM
20
15
10
5
0
24
48
72
时间 (h)
CPA
CPA + 模拟
CPA + muCD19 CAR-T
Lrg1
TPM
16
12
8
4
0
24
48
72
时间 (h)
CPA
CPA + 模拟
CPA + muCD19 CAR-T

图7F

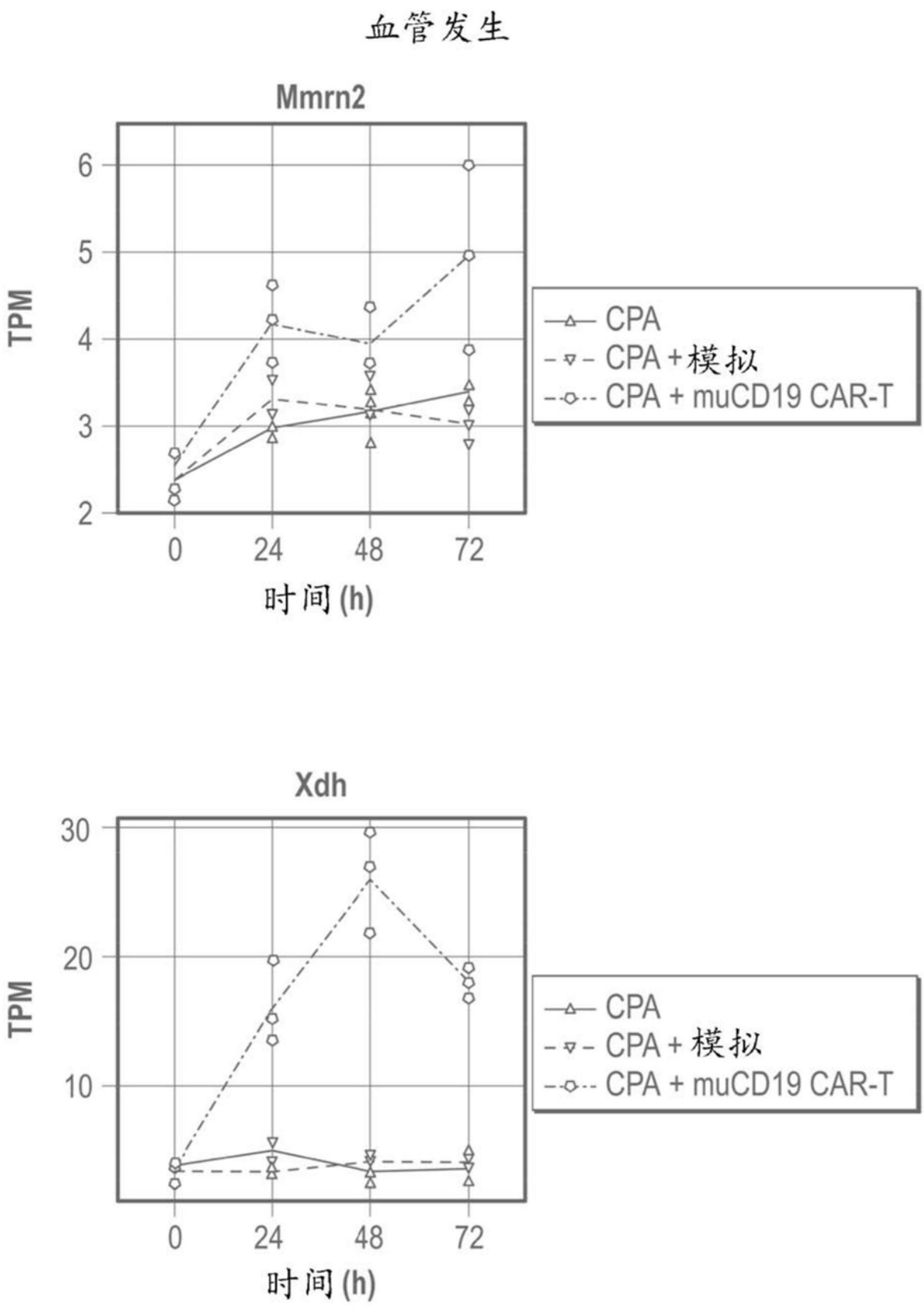

血管发生
Mmrn2
TPM
6
5
4
3
2
0
24
48
72
时间 (h)
CPA
CPA + 模拟
CPA + muCD19 CAR-T
Xdh
TPM
30
20
10
0
24
48
72
时间 (h)
CPA
CPA + 模拟
CPA + muCD19 CAR-T

图7G

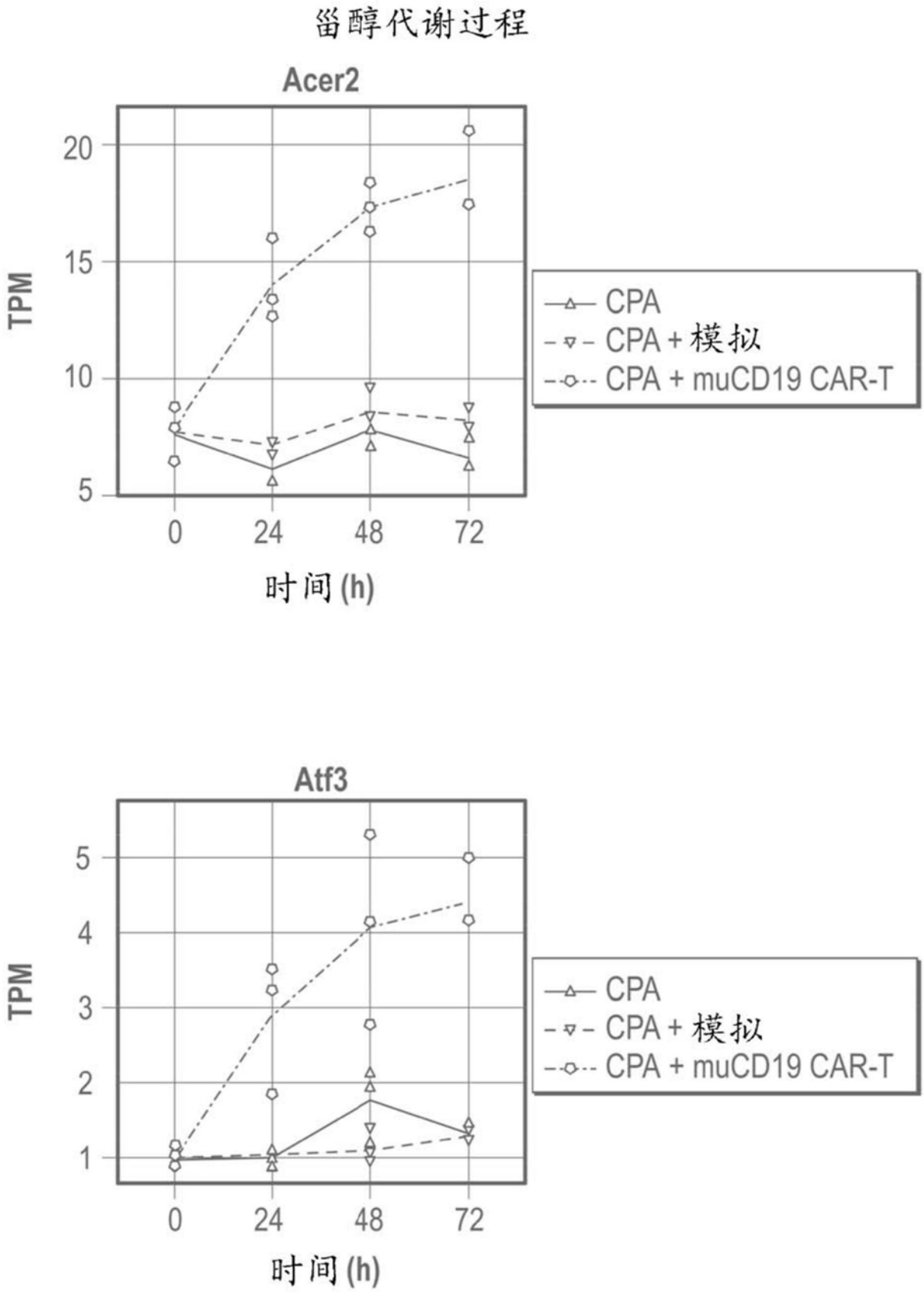

甾醇代谢过程
Acer2
TPM
20
15
10
5
0
24
48
72
时间 (h)
CPA
CPA + 模拟
CPA + muCD19 CAR-T
Atf3
TPM
5
4
3
2
1
0
24
48
72
时间 (h)
CPA
CPA + 模拟
CPA + muCD19 CAR-T

图7H

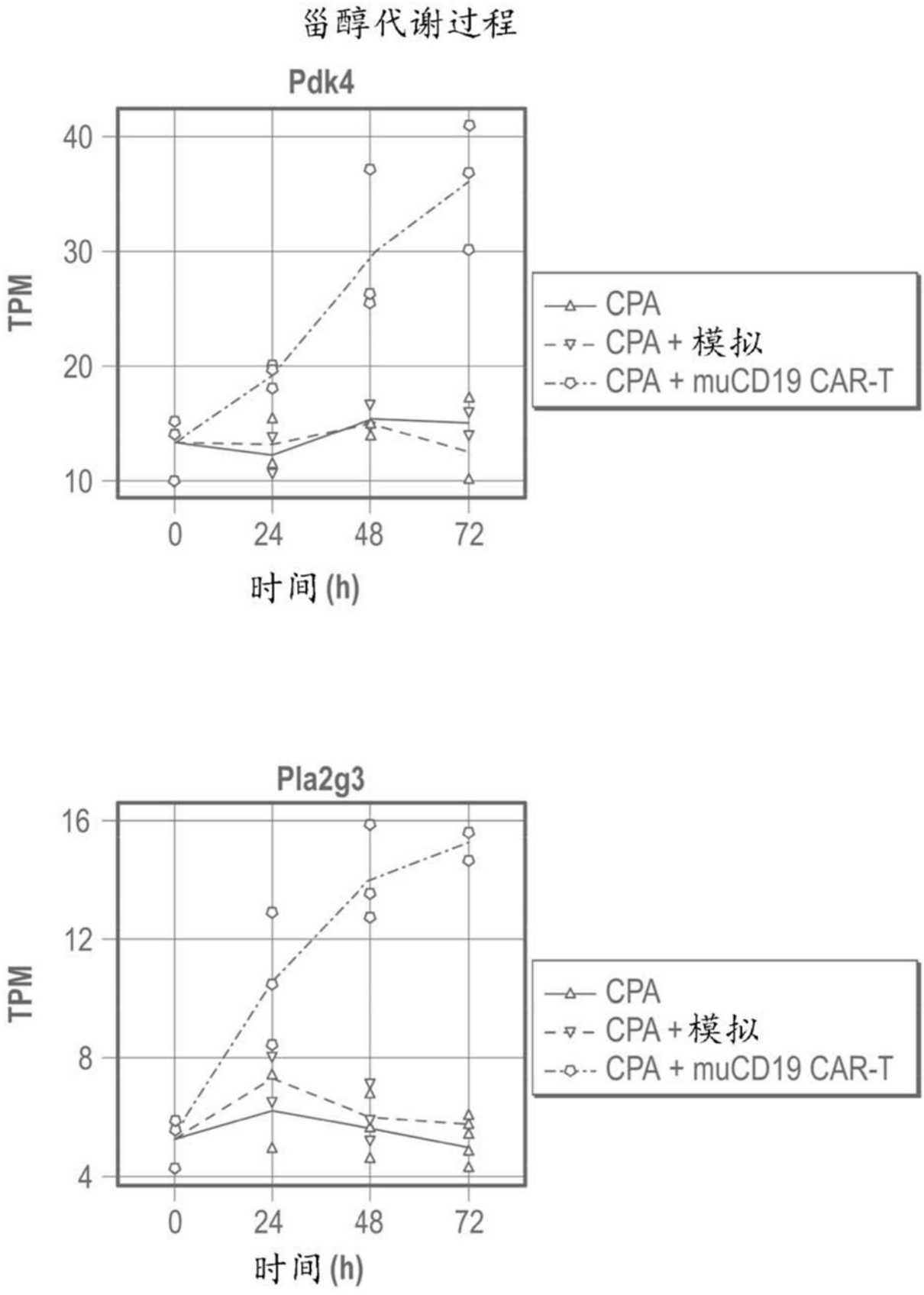

甾醇代谢过程
Pdk4
TPM
40
30
20
10
0
24
48
72
时间 (h)
CPA
CPA + 模拟
CPA + muCD19 CAR-T
Pla2g3
TPM
16
12
8
4
0
24
48
72
时间 (h)
CPA
CPA + 模拟
CPA + muCD19 CAR-T

图7I

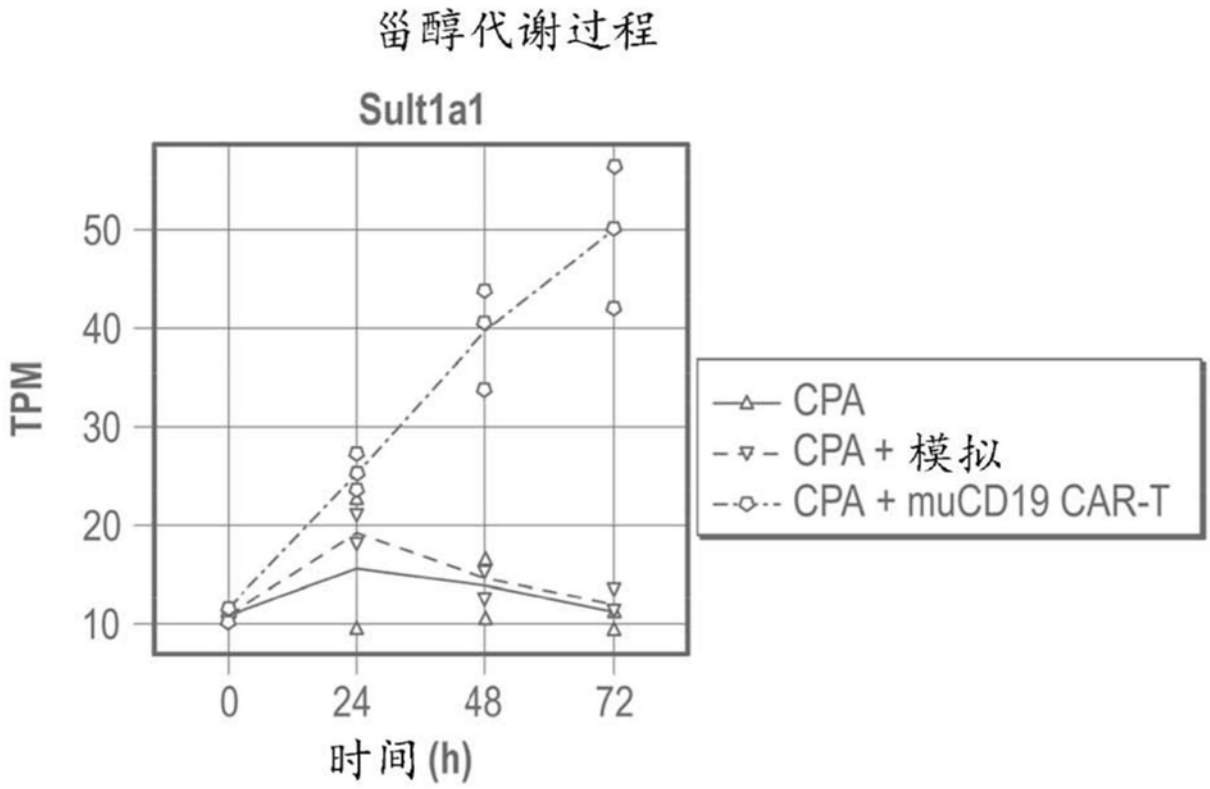

甾醇代谢过程
Sult1a1
TPM
50
40
30
20
10
0
24
48
72
时间 (h)
CPA
CPA + 模拟
CPA + muCD19 CAR-T

图7J

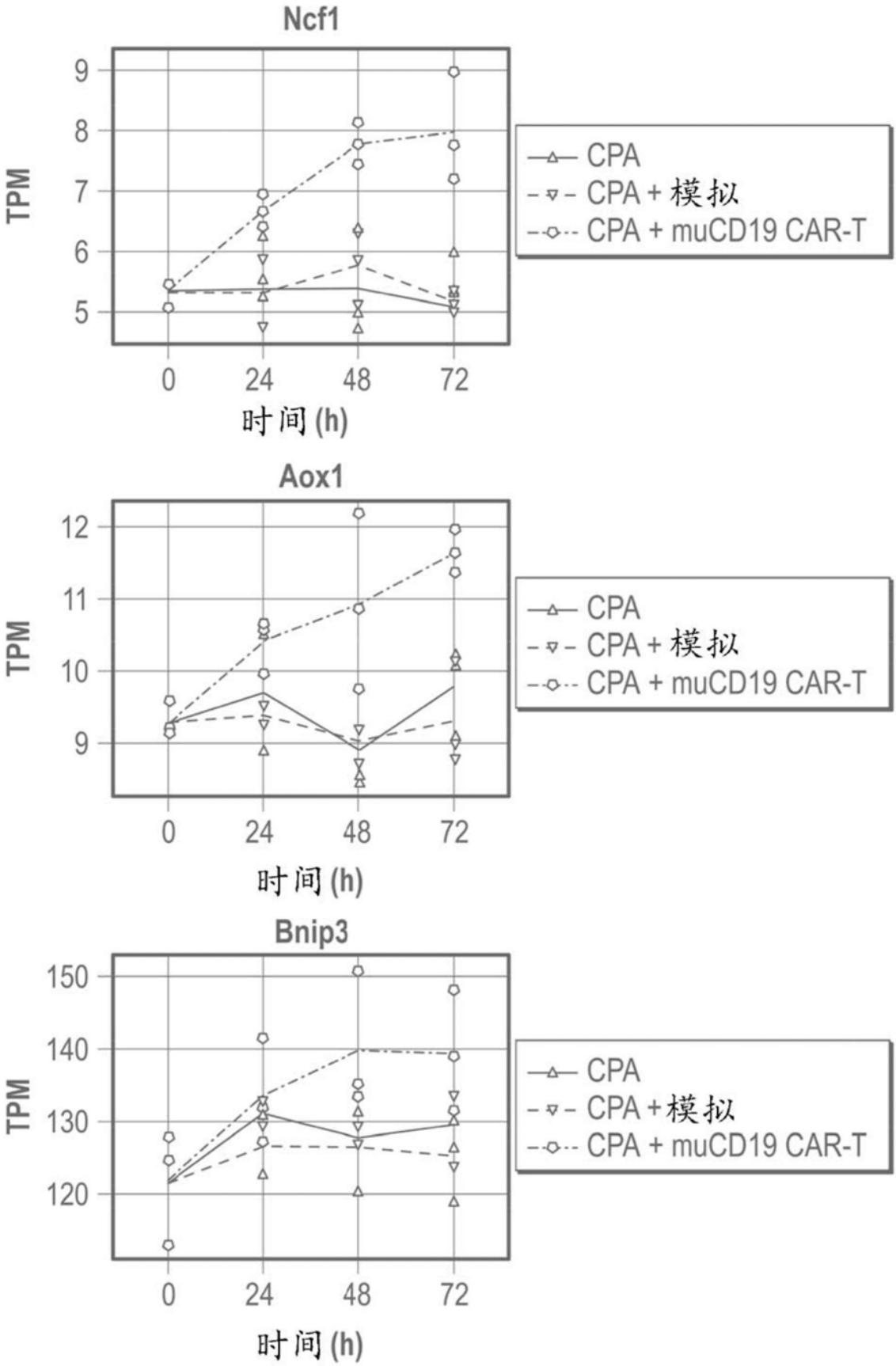

Ncf1
TPM
9
8
7
6
5
0
24
48
72
时间 (h)
CPA
CPA + 模拟
CPA + muCD19 CAR-T
Aox1
TPM
12
11
10
9
0
24
48
72
时间 (h)
CPA
CPA + 模拟
CPA + muCD19 CAR-T
Bnip3
TPM
150
140
130
120
0
24
48
72
时间 (h)
CPA
CPA + 模拟
CPA + muCD19 CAR-T

图7K

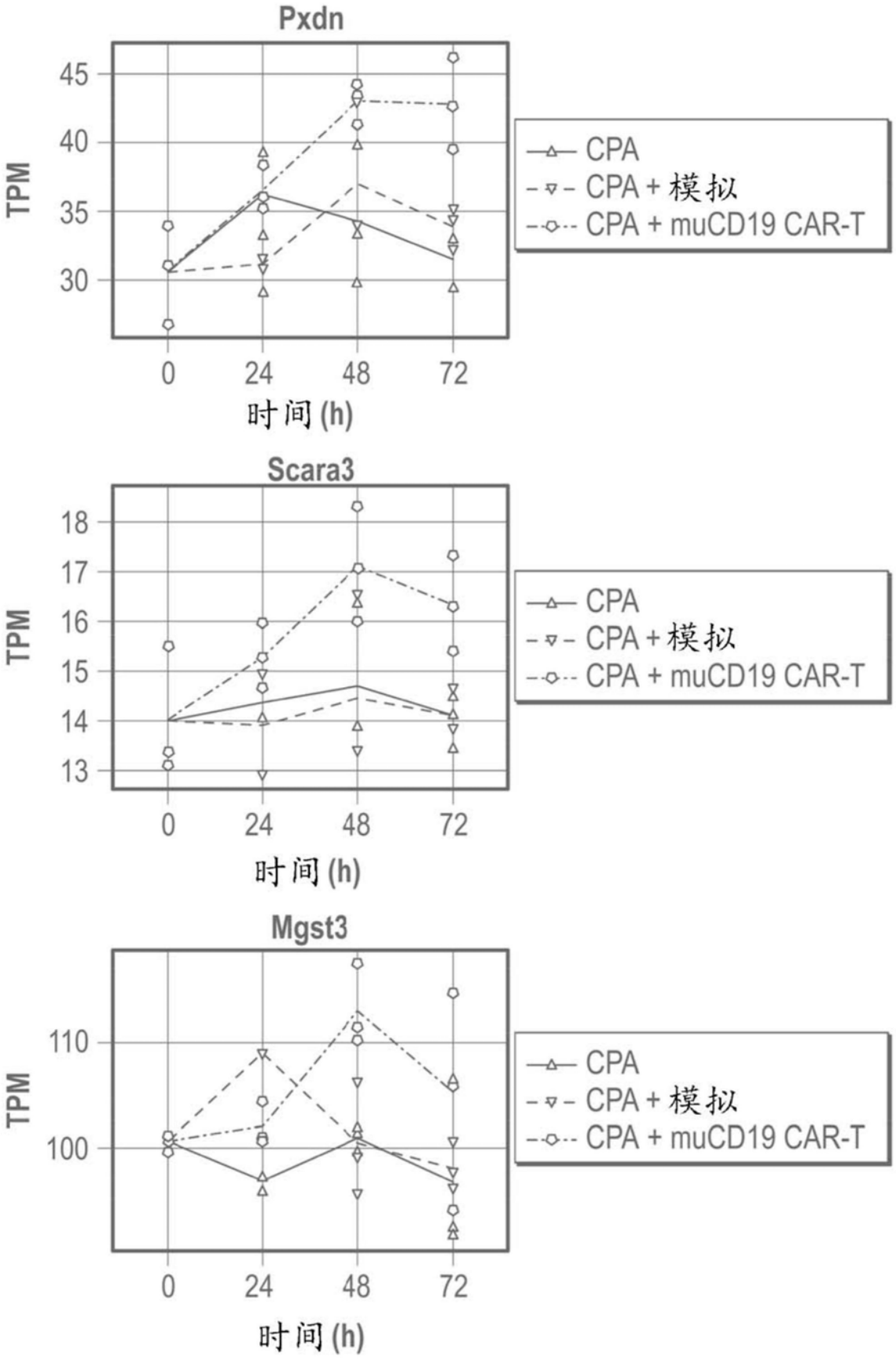

Pxdn
TPM
45
40
35
30
0
24
48
72
时间 (h)
CPA
CPA + 模拟
CPA + muCD19 CAR-T
Scara3
TPM
18
17
16
15
14
13
0
24
48
72
时间 (h)
CPA
CPA + 模拟
CPA + muCD19 CAR-T
Mgst3
TPM
110
100
0
24
48
72
时间 (h)
CPA
CPA + 模拟
CPA + muCD19 CAR-T

图7L

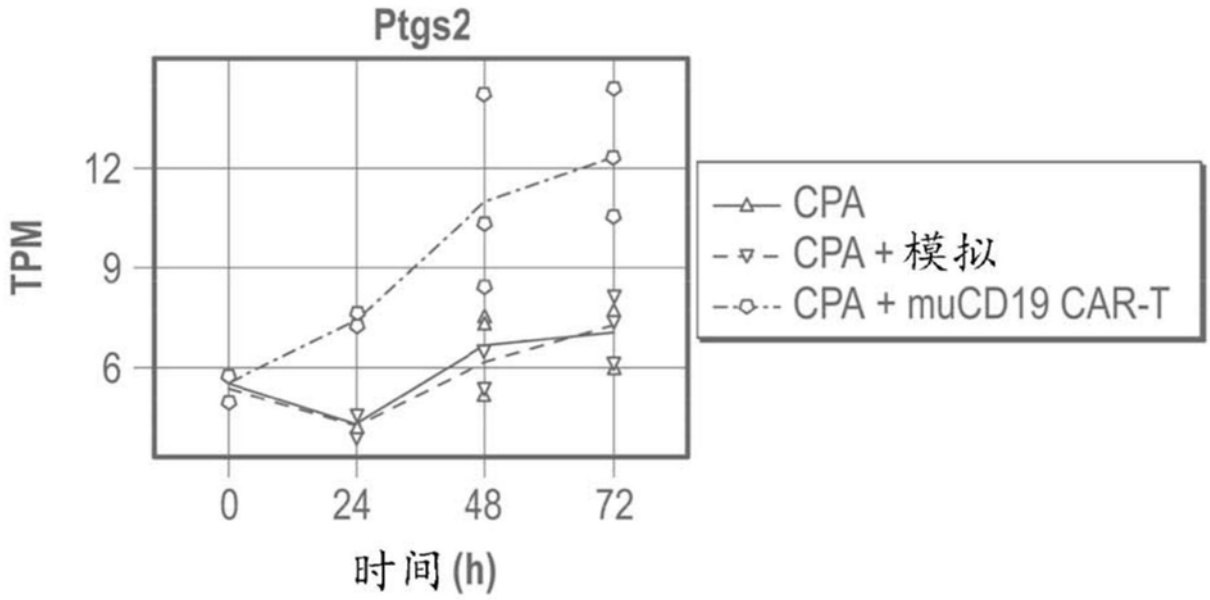


图7M

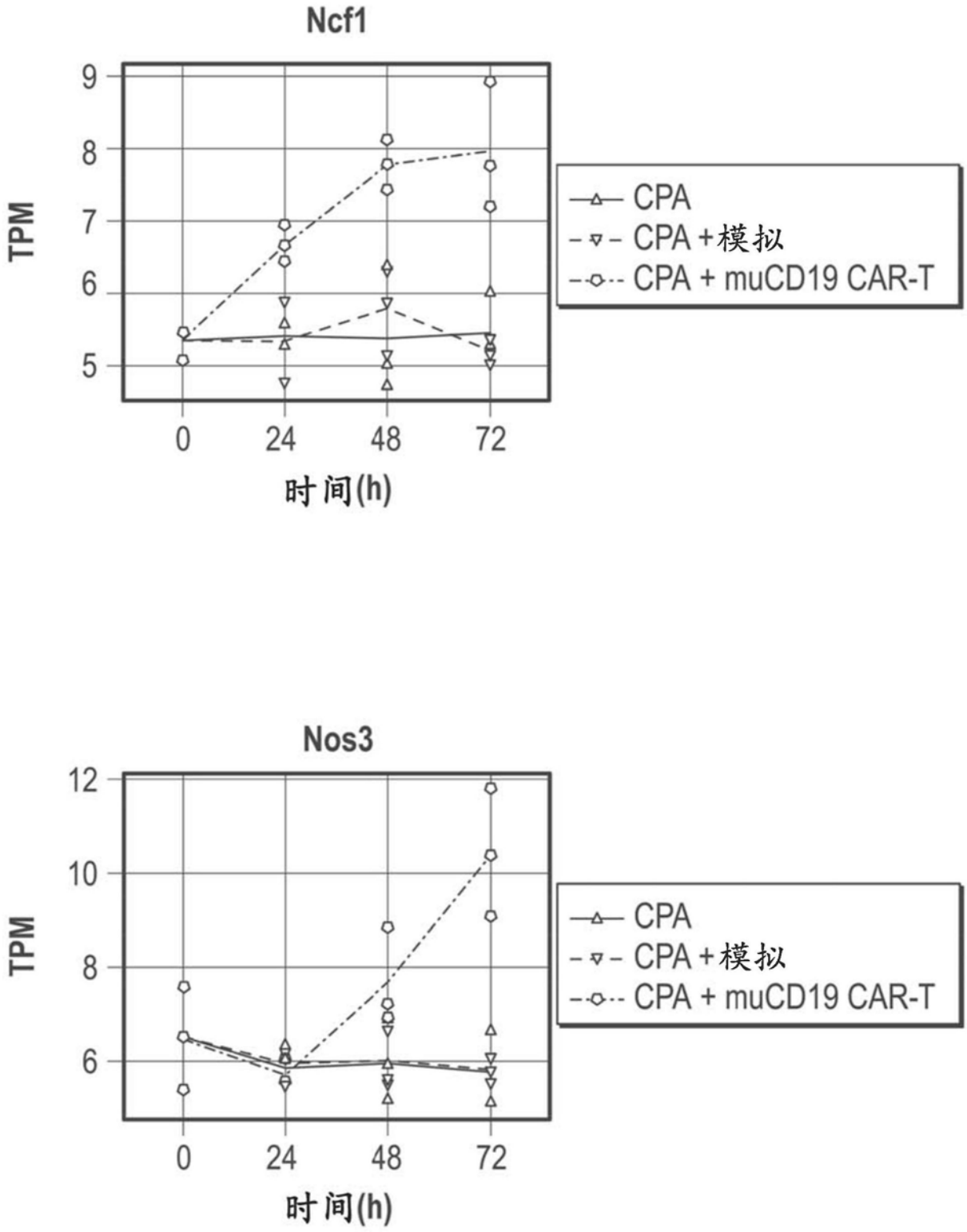

Ncf1
TPM
9
8
7
6
5
0
24
48
72
时间(h)
CPA
CPA +模拟
CPA + muCD19 CAR-T
Nos3
TPM
12
10
8
6
0
24
48
72
时间(h)
CPA
CPA +模拟
CPA + muCD19 CAR-T

图7N

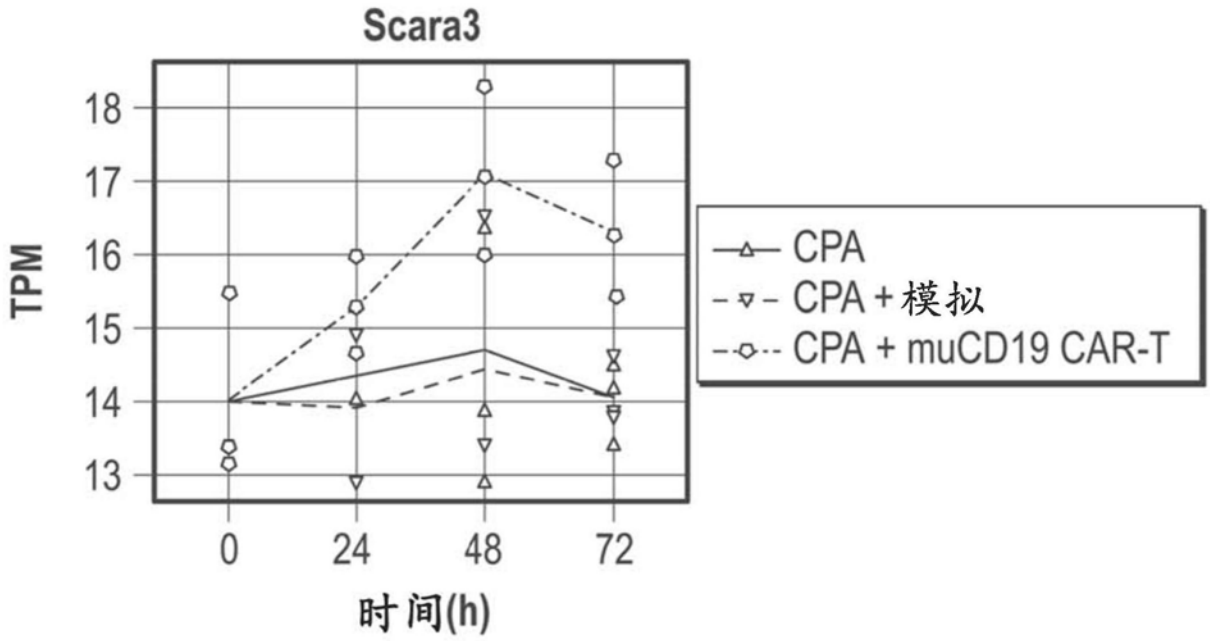

Scara3
TPM
18
17
16
15
14
13
0
24
48
72
时间(h)
CPA
CPA + 模拟
CPA + muCD19 CAR-T

图70

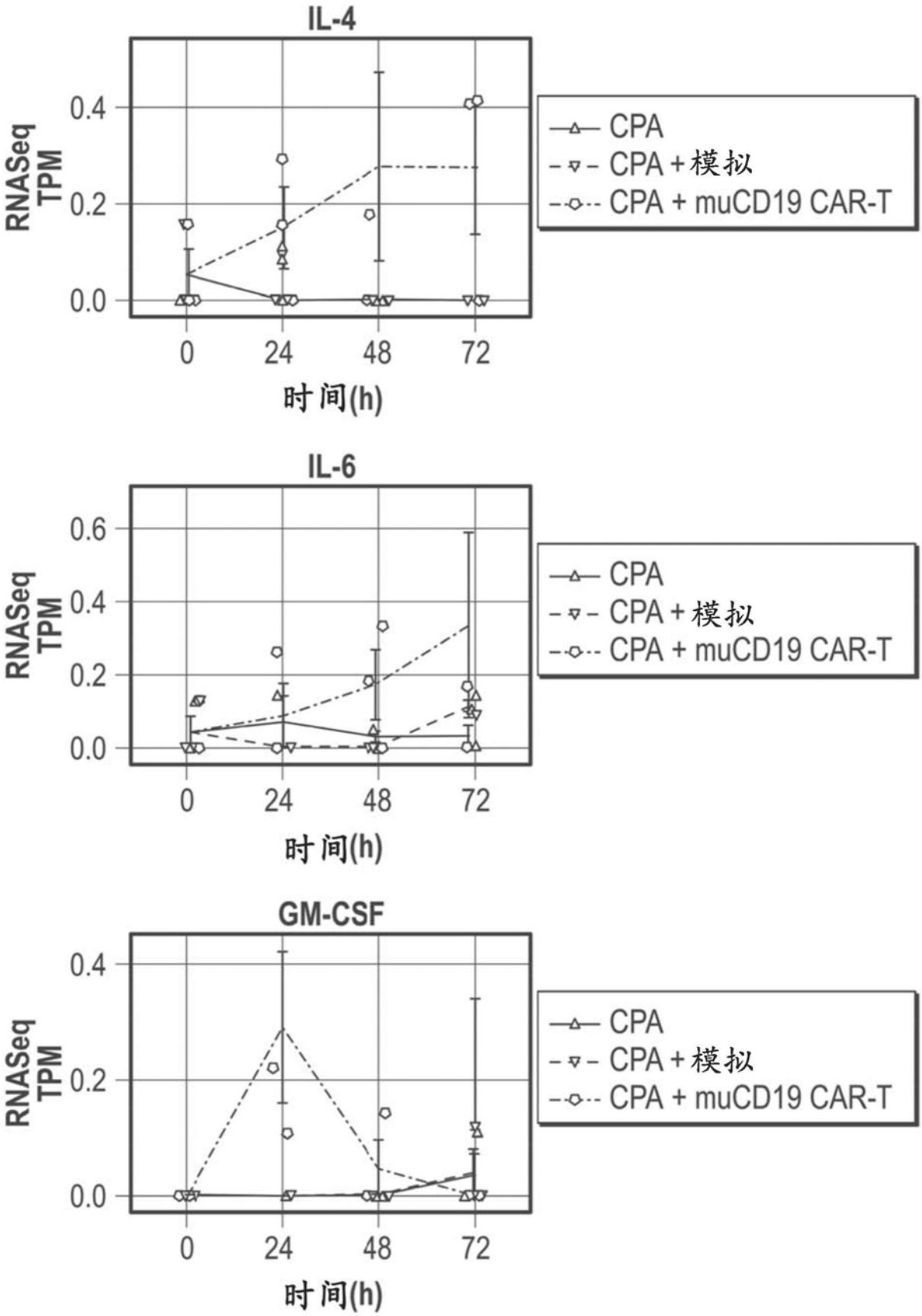

IL-4
RNASeq TPM
0.0
0.2
0.4
0
24
48
72
时间(h)
CPA
CPA + 模拟
CPA + muCD19 CAR-T
IL-6
RNASeq TPM
0.0
0.2
0.4
0.6
0
24
48
72
时间(h)
CPA
CPA + 模拟
CPA + muCD19 CAR-T
GM-CSF
RNASeq TPM
0.0
0.2
0.4
0
24
48
72
时间(h)
CPA
CPA + 模拟
CPA + muCD19 CAR-T

图7P

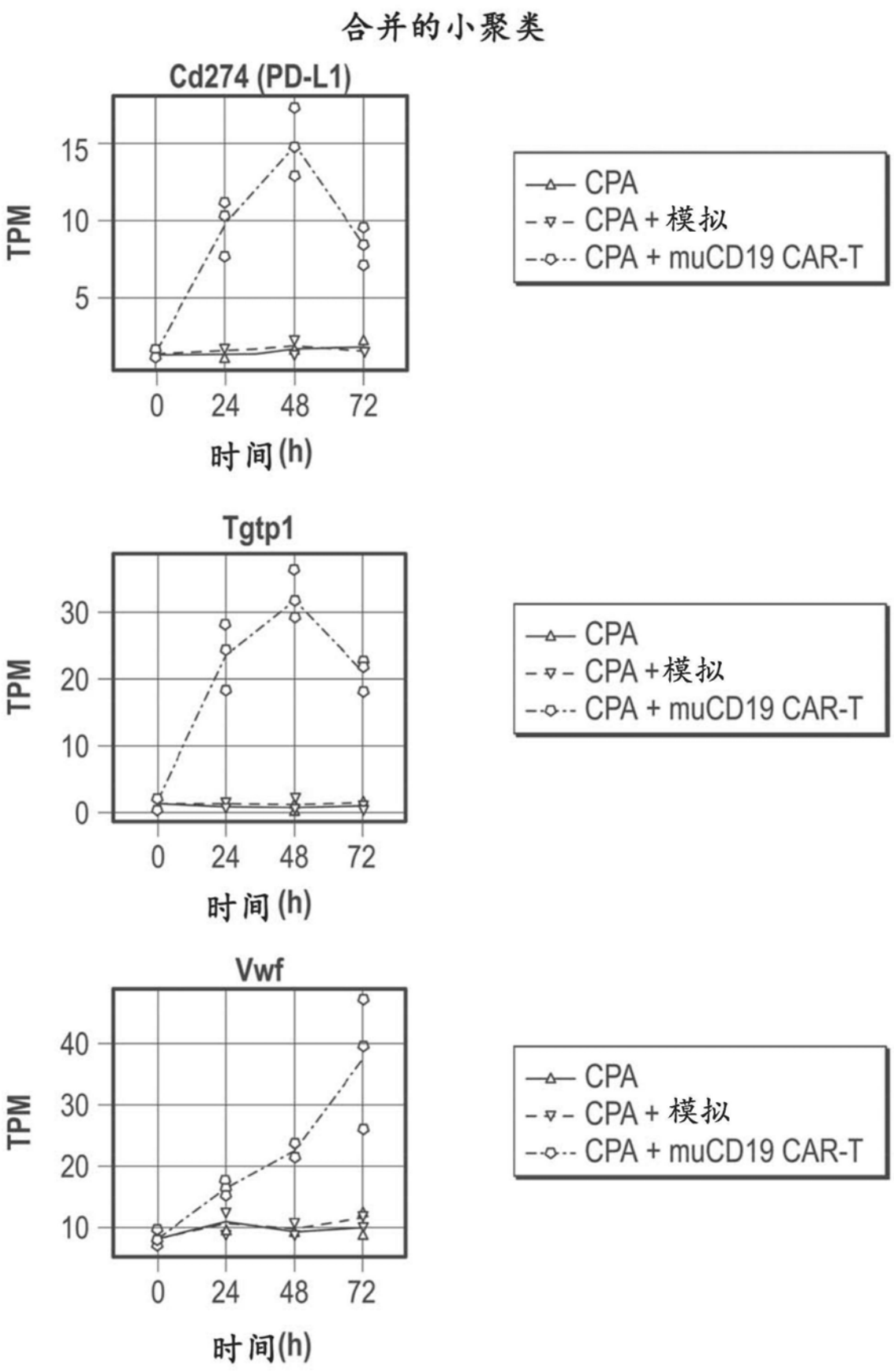
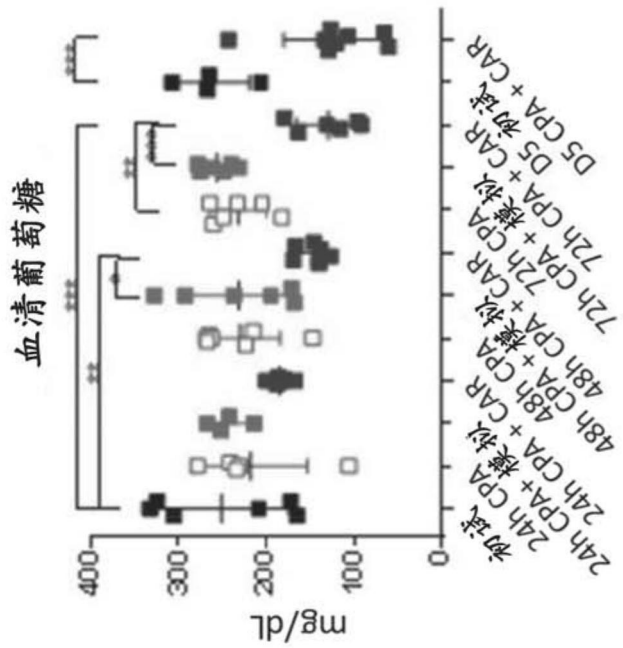

合并的小聚类
Cd274 (PD-L1)
TPM
15
10
5
0
24
48
72
时间(h)
CPA
CPA + 模拟
CPA + muCD19 CAR-T
Tgtp1
TPM
30
20
10
0
0
24
48
72
时间(h)
CPA
CPA +模拟
CPA + muCD19 CAR-T
Vwf
TPM
40
30
20
10
0
24
48
72
时间(h)
CPA
CPA + 模拟
CPA + muCD19 CAR-T

图8


血清葡萄糖
mg/dL
400
300
200
100
0
**
***
**
***
**
***

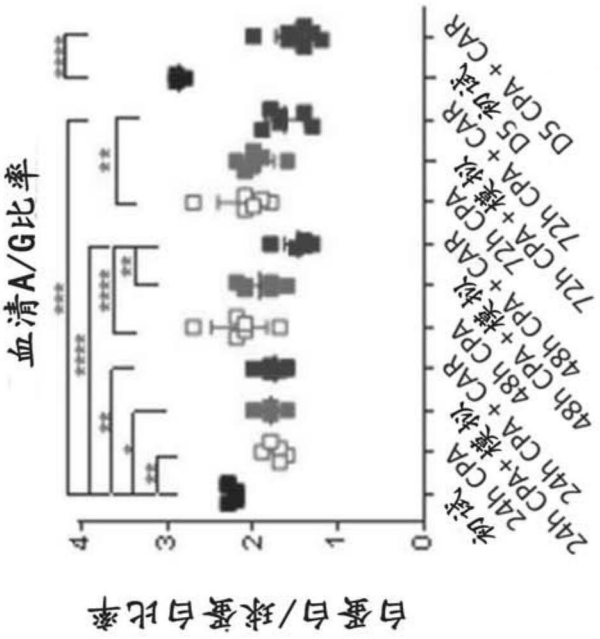

血清A/G比率
白蛋白/球蛋白比率
0
1
2
3
4
对照
24h CPA
24h CPA+索拉
24h CPA + CAR
48h CPA
48h CPA+索拉
72h CPA
72h CPA+索拉
D5 CPA + CAR
D5 对照
D5 CPA + CAR

图9C

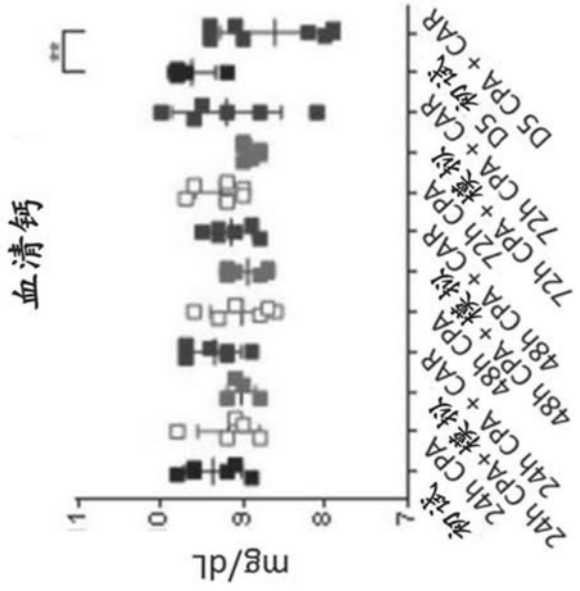

血清钙
mg/dL
7
8
9
10
11
对照
24h CPA
24h CPA+索拉
24h CPA + CAR
48h CPA
48h CPA+索拉
72h CPA
72h CPA+索拉
D5 CPA + CAR
D5 对照
D5 CPA + CAR

图9D

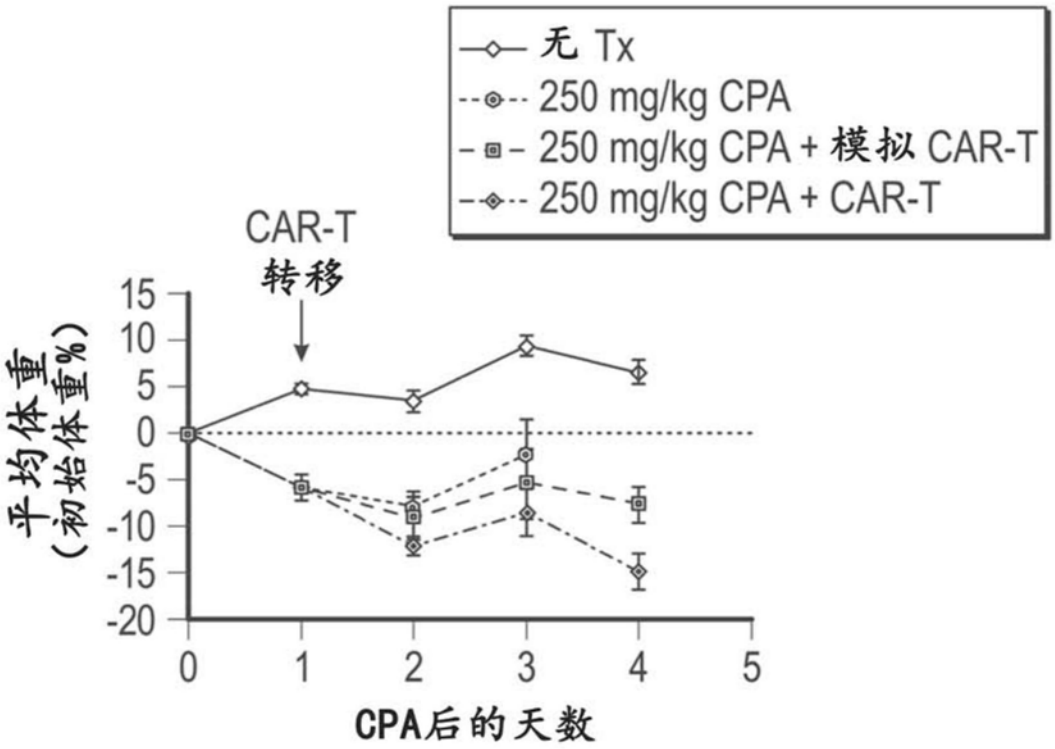

无 Tx
250 mg/kg CPA
250 mg/kg CPA + 模拟 CAR-T
250 mg/kg CPA + CAR-T
CAR-T
转移
平均体重
(初始体重%)
15
10
5
0
-5
-10
-15
-20
0
1
2
3
4
5
CPA后的天数

图10

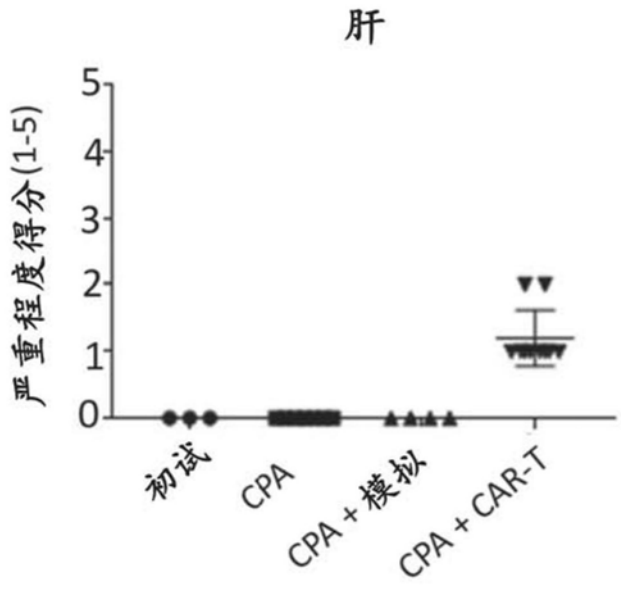

肝
严重程度得分(1-5)
5
4
3
2
1
0
初试
CPA
CPA + 模拟
CPA + CAR-T

图11A

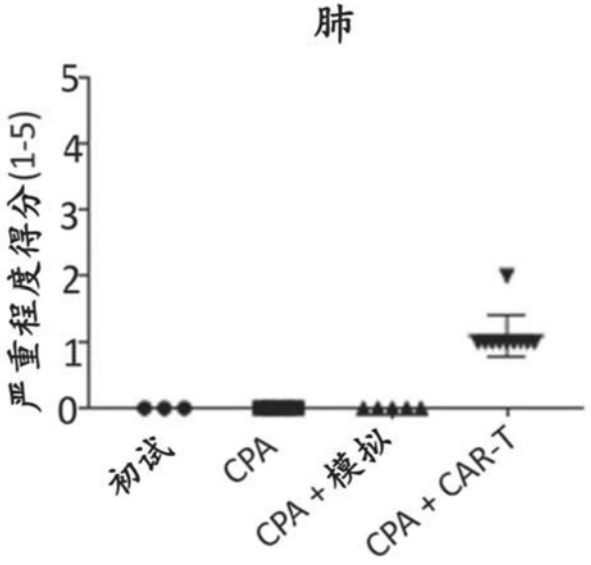

肺
严重程度得分(1-5)
0
1
2
3
4
5
初试
CPA
CPA + 模拟
CPA + CAR-T

图11B

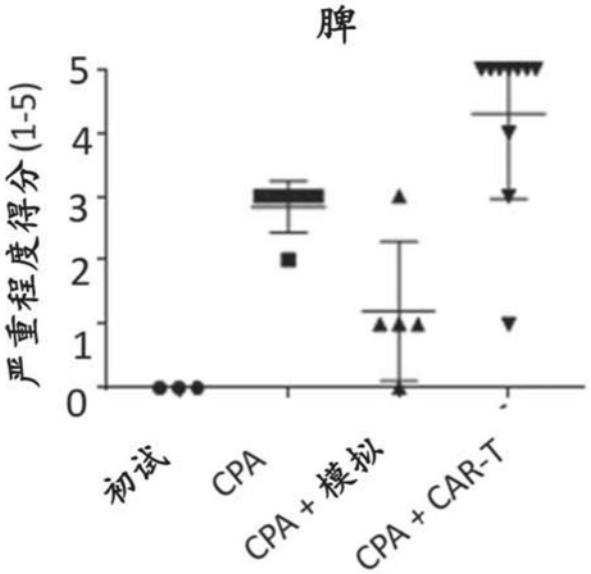

脾
严重程度得分(1-5)
0
1
2
3
4
5
初试
CPA
CPA + 模拟
CPA + CAR-T

图11C

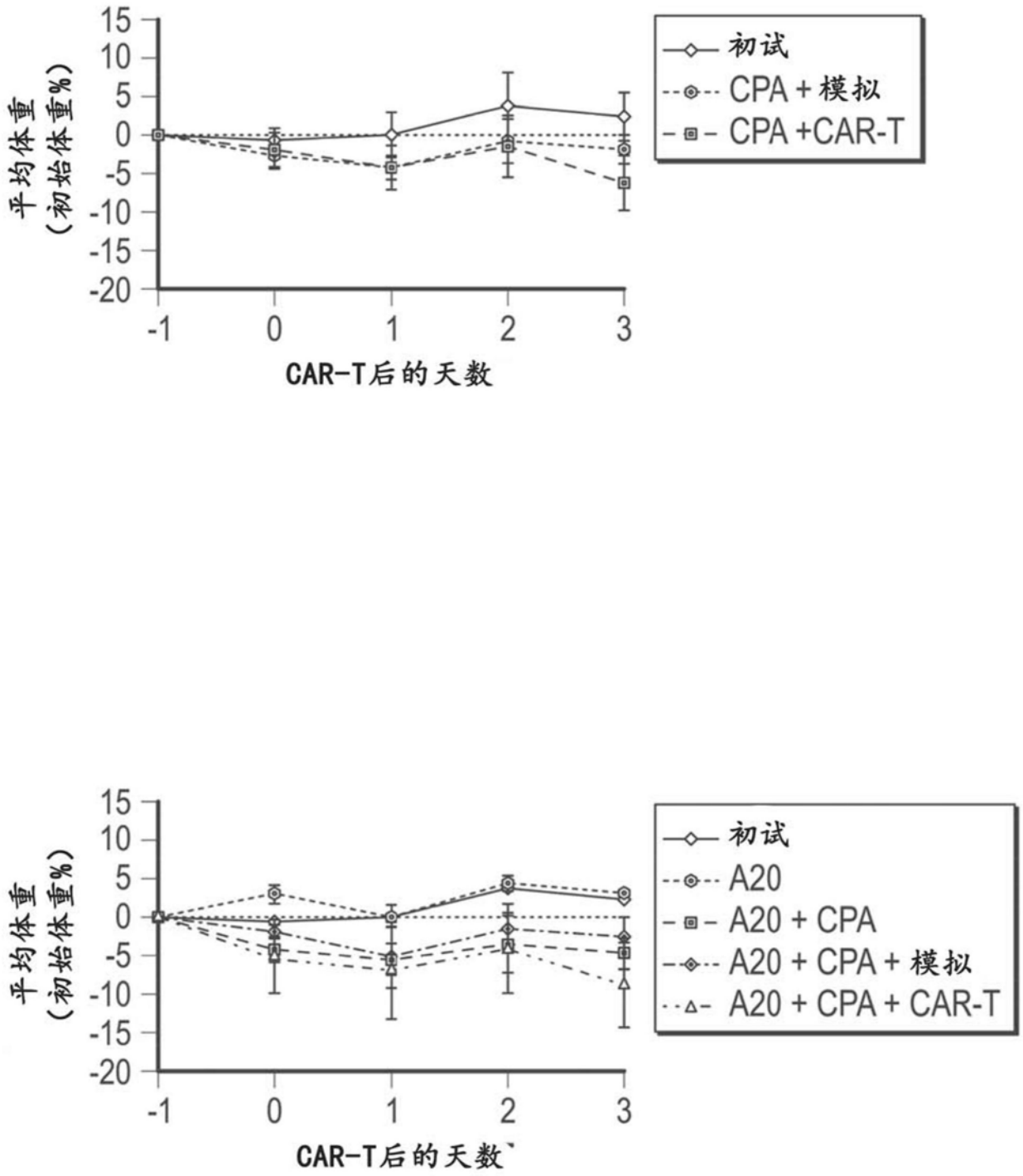

15
10
5
0
-5
-10
-15
-20
-1
0
1
2
3
平均体重
(初始体重%)
CAR-T后的天数
初试
CPA + 模拟
CPA +CAR-T
初试
A20
A20 + CPA
A20 + CPA + 模拟
A20 + CPA + CAR-T

图12

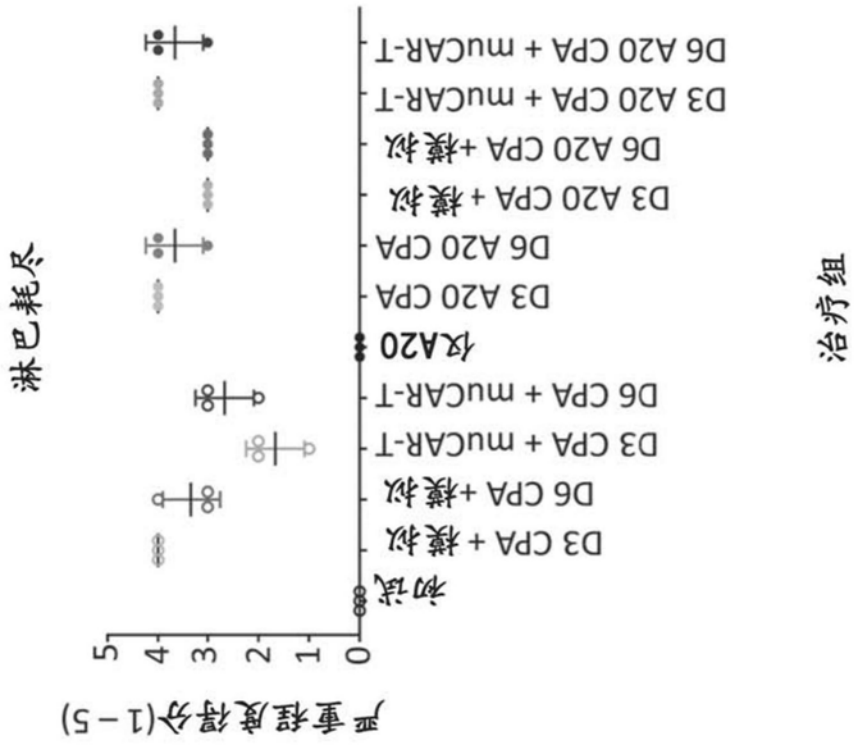

淋巴耗尽
严重程度得分(1－5)
0
1
2
3
4
5
载体
D3 CPA + 模拟
D6 CPA +模拟
D3 CPA + muCAR-T
D6 CPA + muCAR-T
仅A20
D3 A20 CPA
D6 A20 CPA
D3 A20 CPA + 模拟
D6 A20 CPA +模拟
D3 A20 CPA + muCAR-T
D6 A20 CPA + muCAR-T
治疗组

图13A

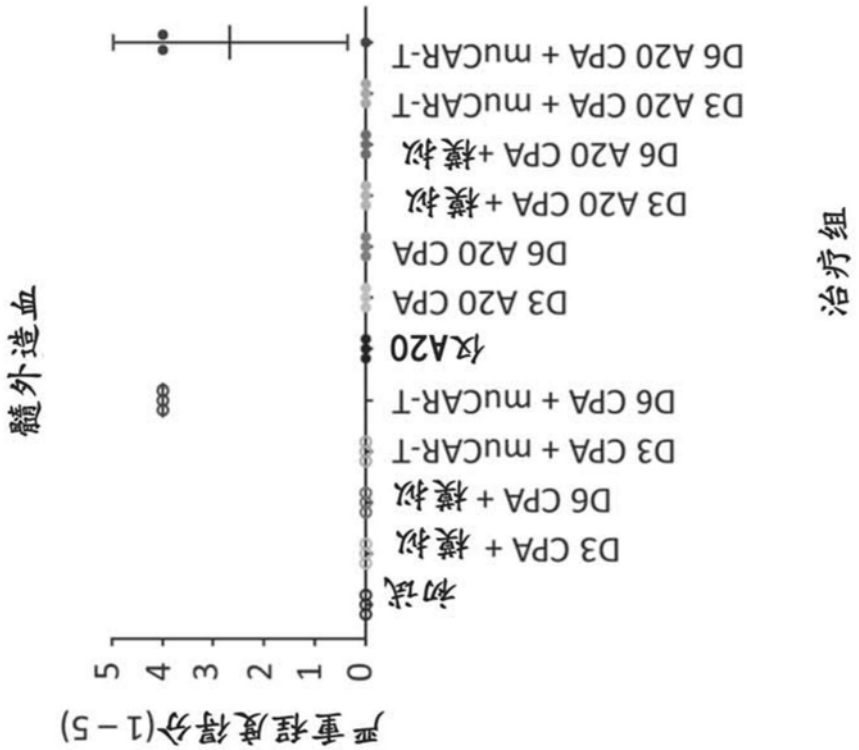

髓外造血
严重程度得分(1－5)
0
1
2
3
4
5
载体
D3 CPA + 模拟
D6 CPA + 模拟
D3 CPA + muCAR-T
D6 CPA + muCAR-T
仅A20
D3 A20 CPA
D6 A20 CPA
D3 A20 CPA + 模拟
D6 A20 CPA +模拟
D3 A20 CPA + muCAR-T
D6 A20 CPA + muCAR-T
治疗组

图13B

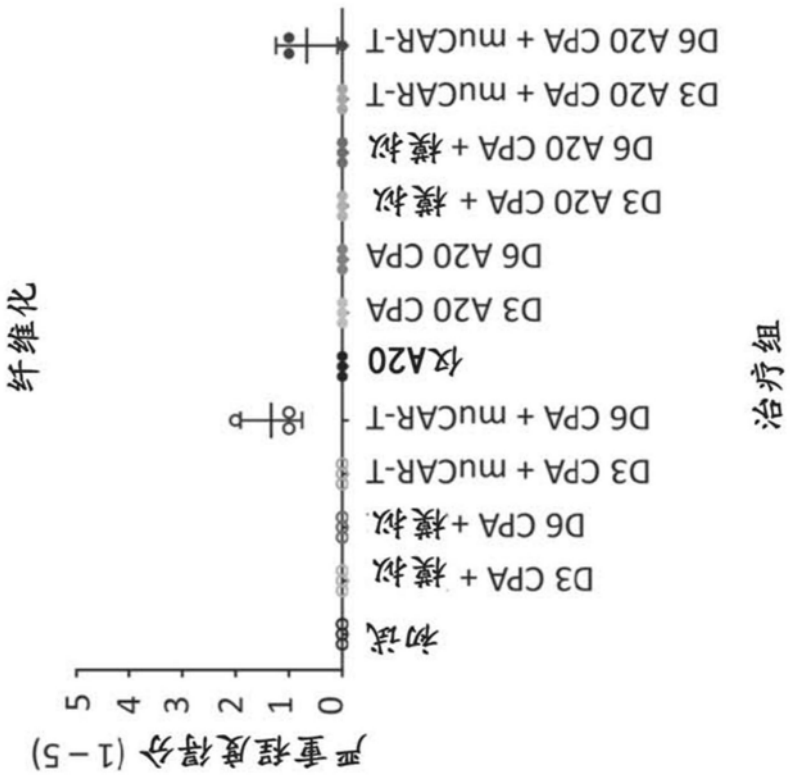

纤维化
肾重程度得分 (1－5)
0
1
2
3
4
5
载体
D3 CPA + 模拟
D6 CPA +模拟
D3 CPA + muCAR-T
D6 CPA + muCAR-T
仅A20
D3 A20 CPA
D6 A20 CPA
D3 A20 CPA + 模拟
D6 A20 CPA + 模拟
D3 A20 CPA + muCAR-T
D6 A20 CPA + muCAR-T
治疗组

图13C

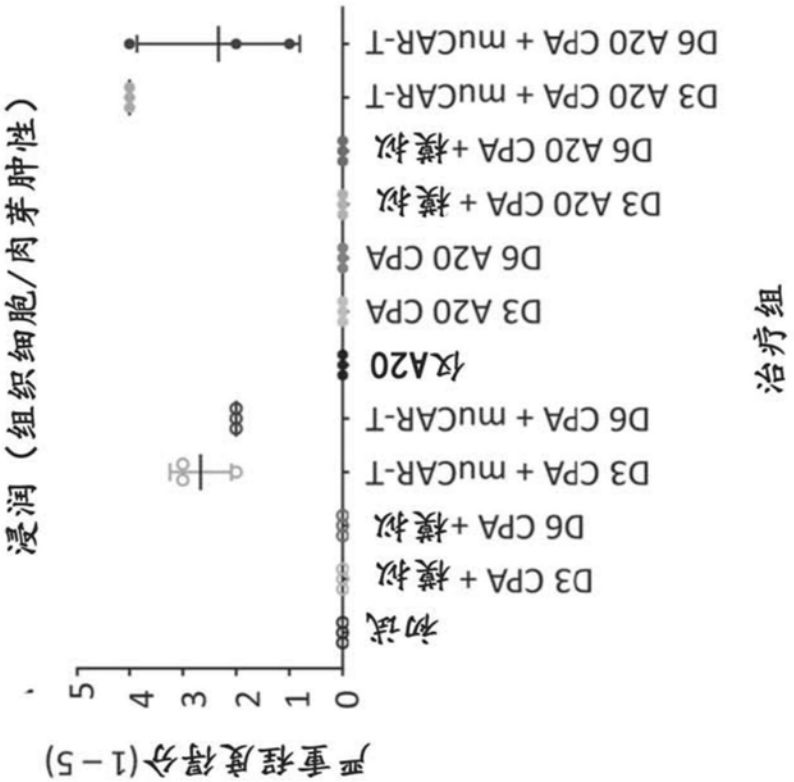

浸润（组织细胞/肉芽肿性）
肾重程度得分(1－5)
0
1
2
3
4
5
载体
D3 CPA + 模拟
D6 CPA +模拟
D3 CPA + muCAR-T
D6 CPA + muCAR-T
仅A20
D3 A20 CPA
D6 A20 CPA
D3 A20 CPA + 模拟
D6 A20 CPA +模拟
D3 A20 CPA + muCAR-T
D6 A20 CPA + muCAR-T
治疗组

图13D

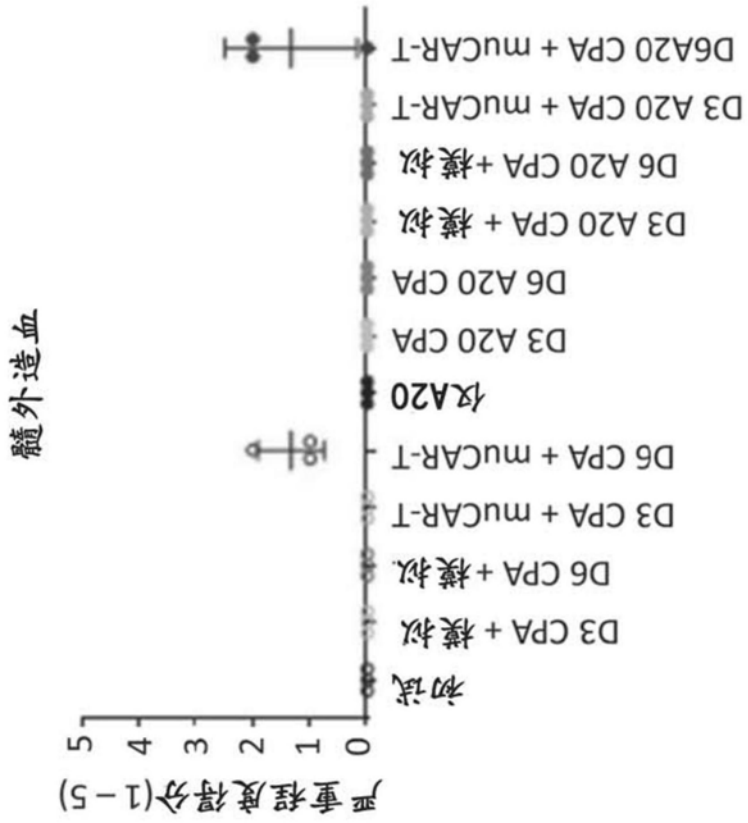

严重程度得分(1－5)
0
1
2
3
4
5
病情
D3 CPA + 模拟
D6 CPA + 模拟
D3 CPA + muCAR-T
D6 CPA + muCAR-T
仅A20
D3 A20 CPA
D6 A20 CPA
D3 A20 CPA + 模拟
D6 A20 CPA +模拟
D3 A20 CPA + muCAR-T
D6A20 CPA + muCAR-T
髓外造血

图14A

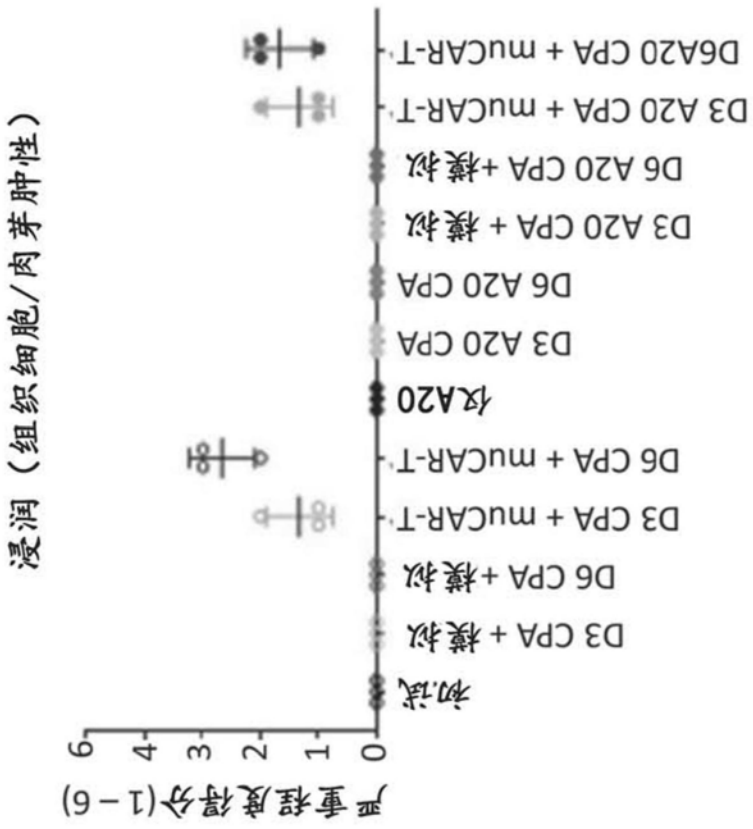

严重程度得分(1－6)
0
1
2
3
4
6
浸润（组织细胞/肉芽肿性）
载体
D3 CPA + 模拟
D6 CPA +模拟
D3 CPA + muCAR-T
D6 CPA + muCAR-T
仅A20
D3 A20 CPA
D6 A20 CPA
D3 A20 CPA + 模拟
D6 A20 CPA +模拟
D3 A20 CPA + muCAR-T
D6A20 CPA + muCAR-T

图14B

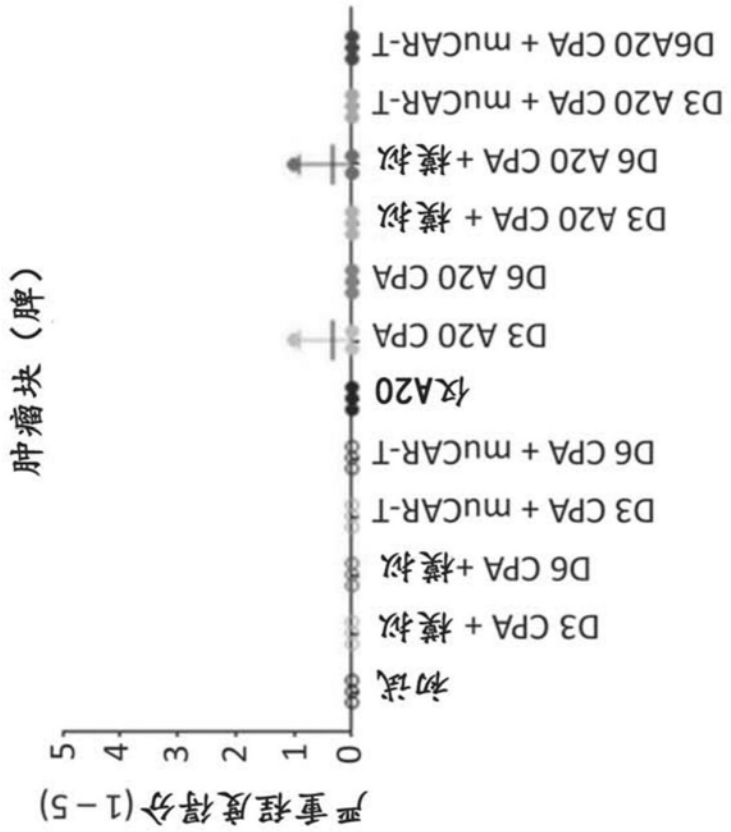

严重程度得分(1－5)
0
1
2
3
4
5
肿瘤块（脾）
和谈
D3 CPA + 模拟
D6 CPA +模拟
D3 CPA + muCAR-T
D6 CPA + muCAR-T
仅A20
D3 A20 CPA
D6 A20 CPA
D3 A20 CPA + 模拟
D6 A20 CPA +模拟
D3 A20 CPA + muCAR-T
D6A20 CPA + muCAR-T

图15A

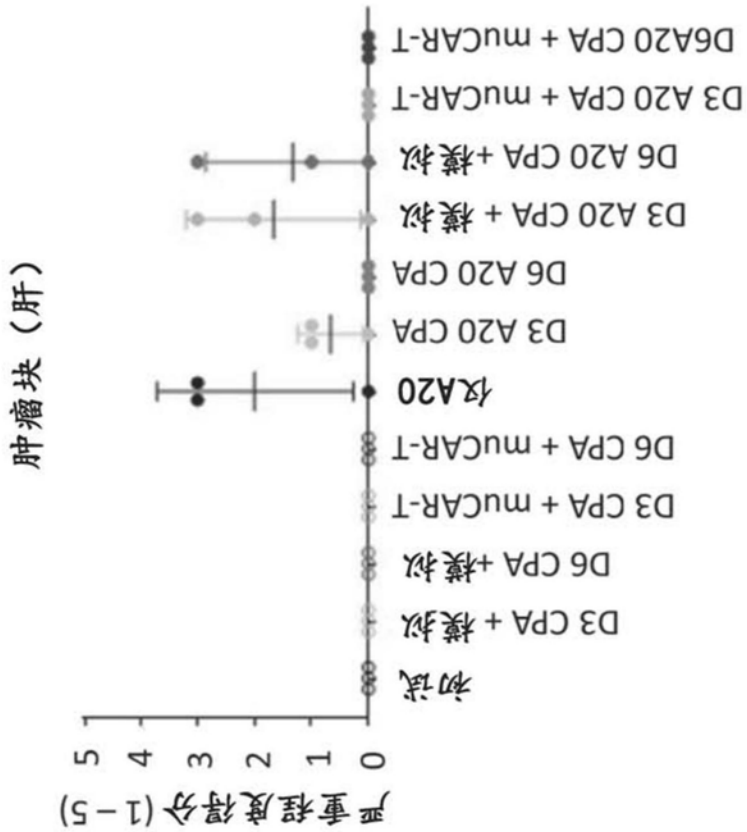

肿瘤块（肝）
严重程度得分(1－5)
0
1
2
3
4
5
初试
D3 CPA + 模拟
D6 CPA +模拟
D3 CPA + muCAR-T
D6 CPA + muCAR-T
仅A20
D3 A20 CPA
D6 A20 CPA
D3 A20 CPA + 模拟
D6 A20 CPA +模拟
D3 A20 CPA + muCAR-T
D6A20 CPA + muCAR-T

图15B

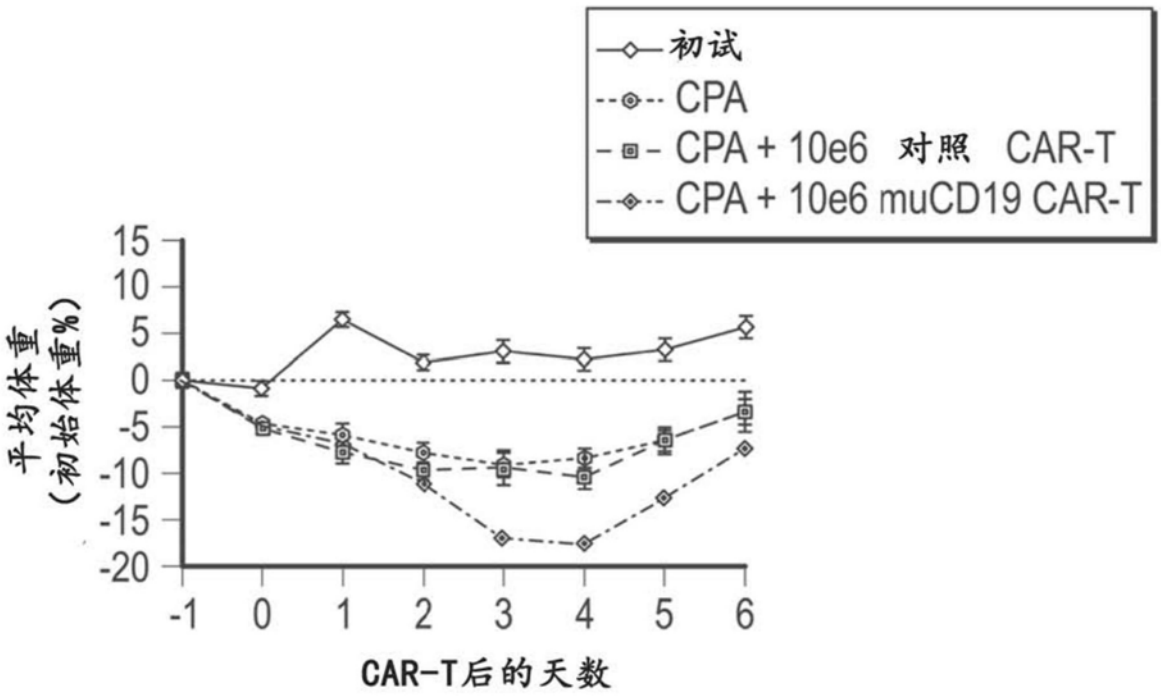

初试
CPA
CPA + 10e6 对照 CAR-T
CPA + 10e6 muCD19 CAR-T
平均体重
(初始体重%)
15
10
5
0
-5
-10
-15
-20
-1
0
1
2
3
4
5
6
CAR-T后的天数

图16A

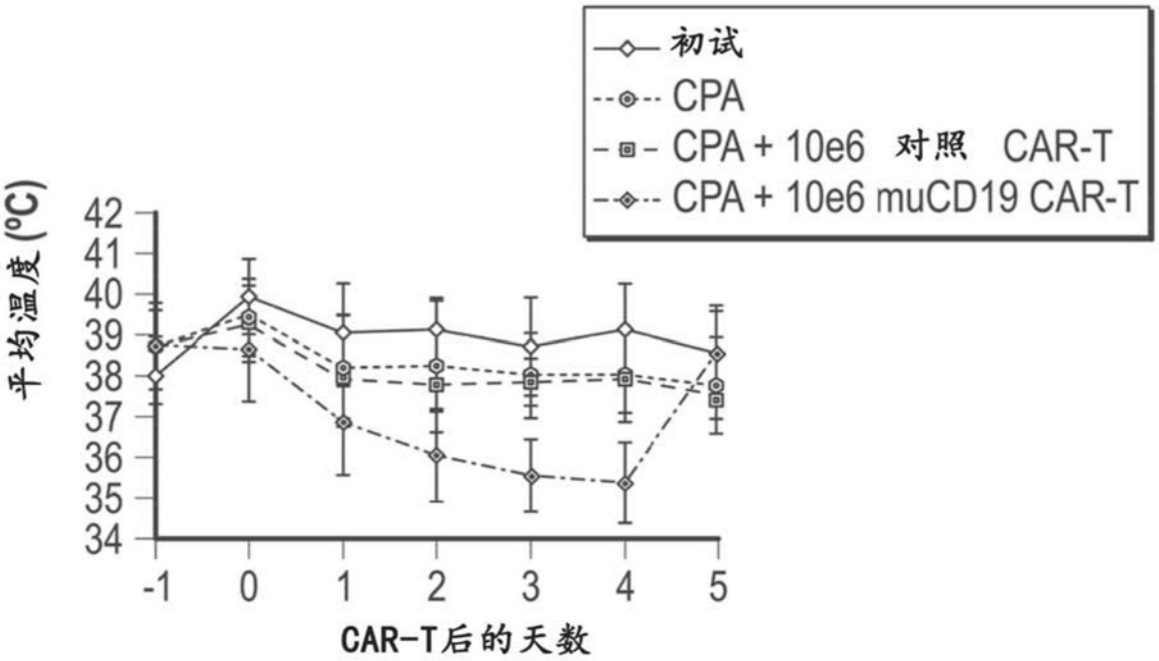

初试
CPA
CPA + 10e6 对照 CAR-T
CPA + 10e6 muCD19 CAR-T
平均温度(°C)
42
41
40
39
38
37
36
35
34
-1
0
1
2
3
4
5
CAR-T后的天数

图16B

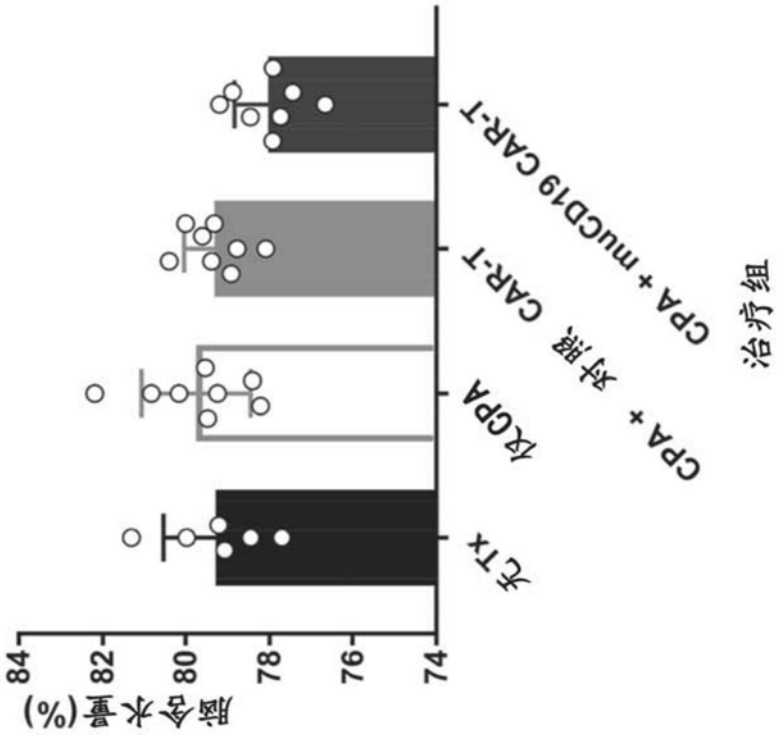

治疗组
CPA + muCD19 CAR-T
CPA + 对照 CAR-T
仅CPA
无Tx
脑含水量(%)
84
82
80
78
76
74

图16C

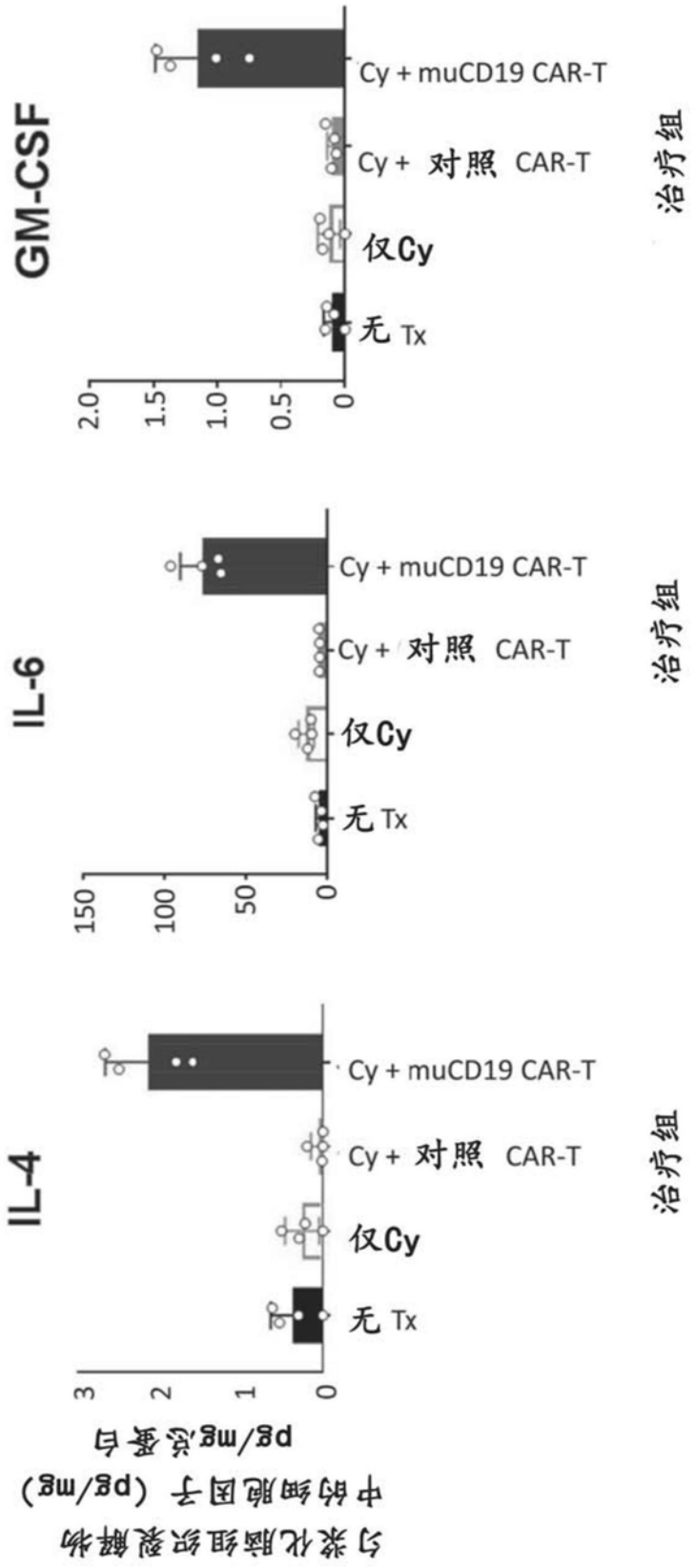

GM-CSF
IL-6
IL-4
Cy + muCD19 CAR-T
Cy + 对照 CAR-T
仅Cy
无 Tx
治疗组
2.0
1.5
1.0
0.5
0
150
100
50
3
2
1
pg/mg总蛋白
分浆化脑组织裂解物
中的细胞因子 (pg/mg)

图17

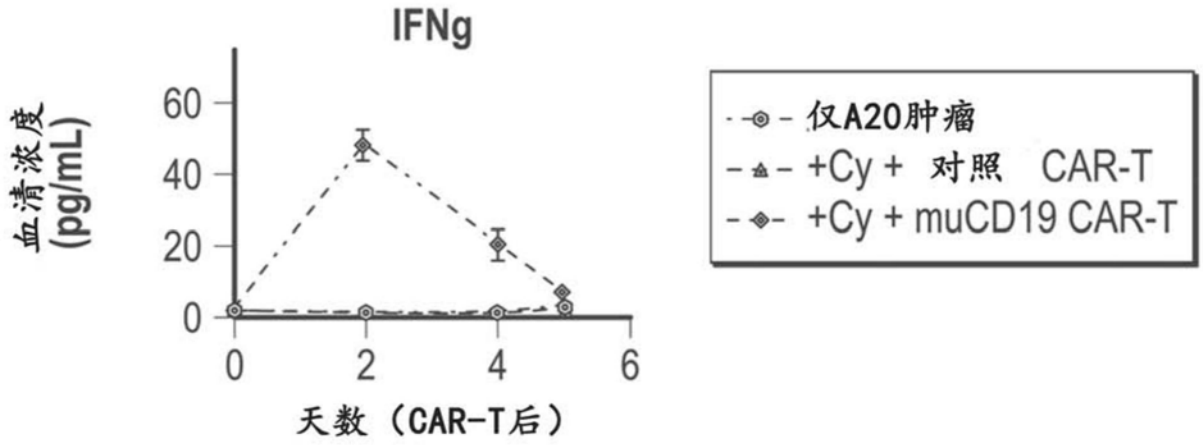


图18A

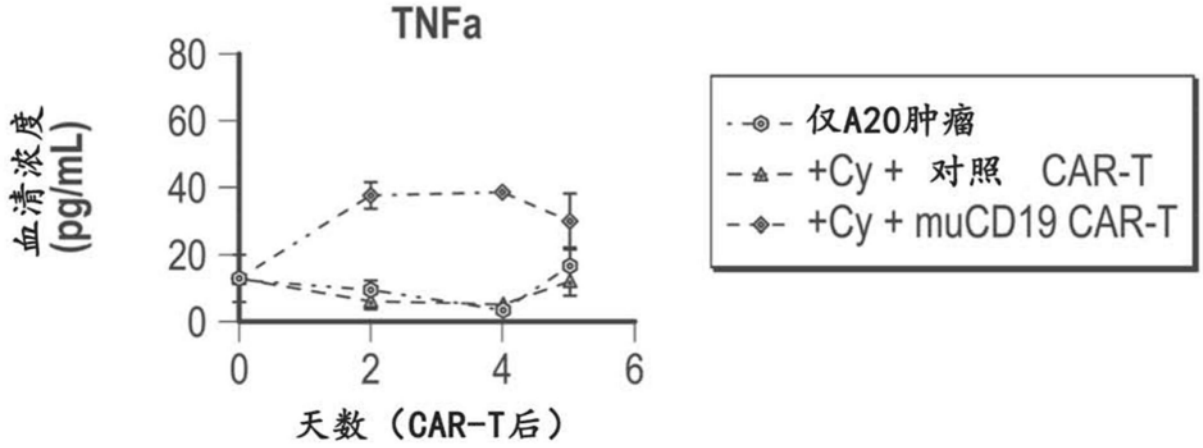


图18B

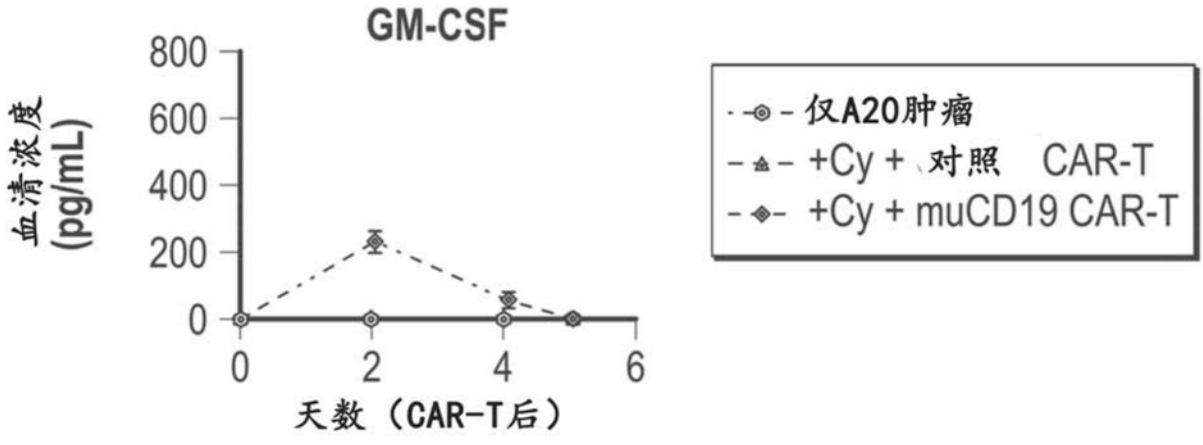


图18C

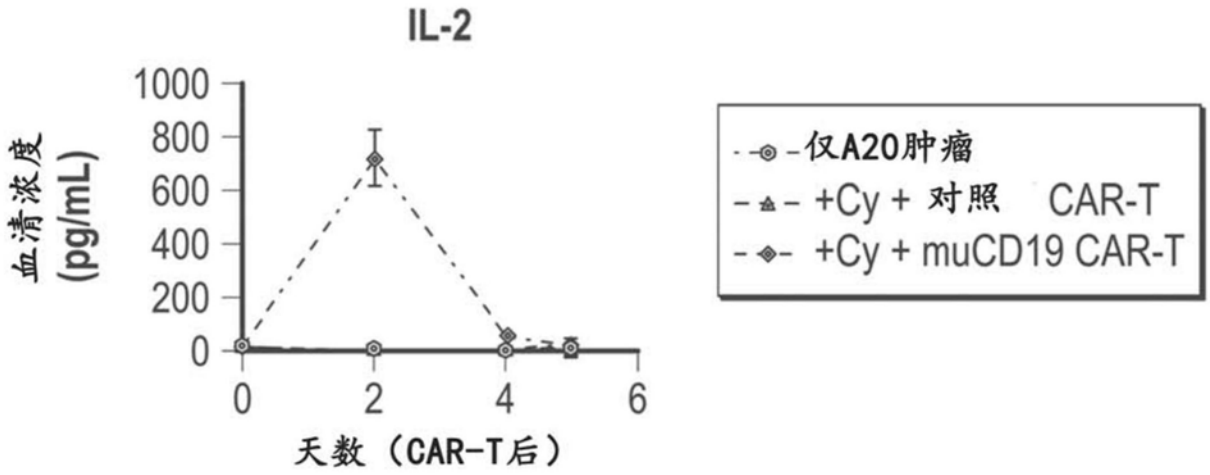


图18D

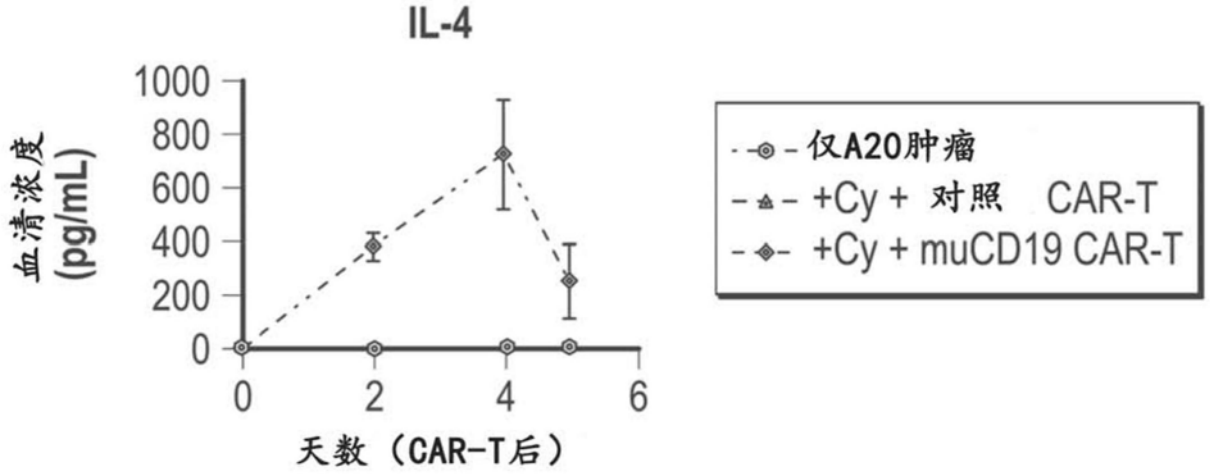


图18E

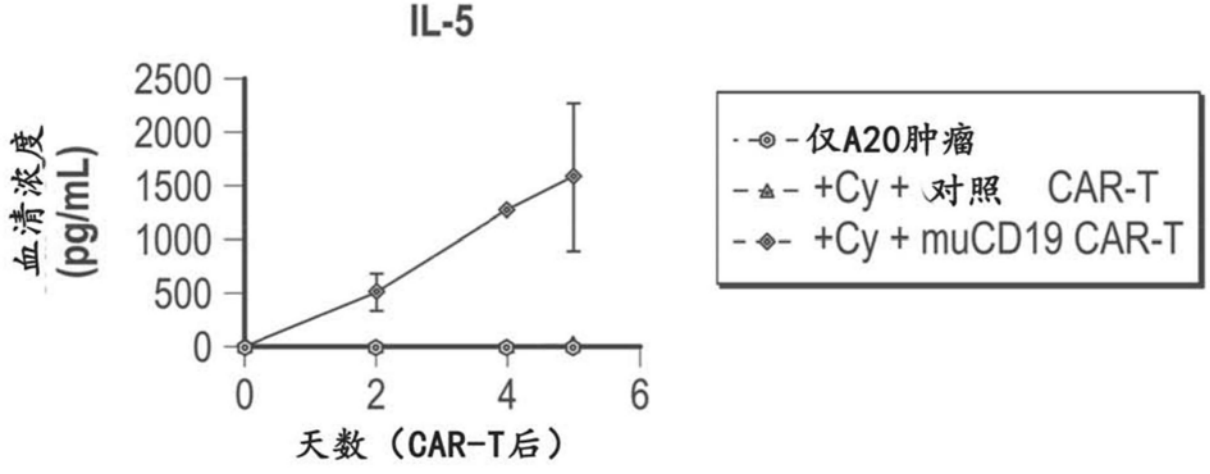


图18F

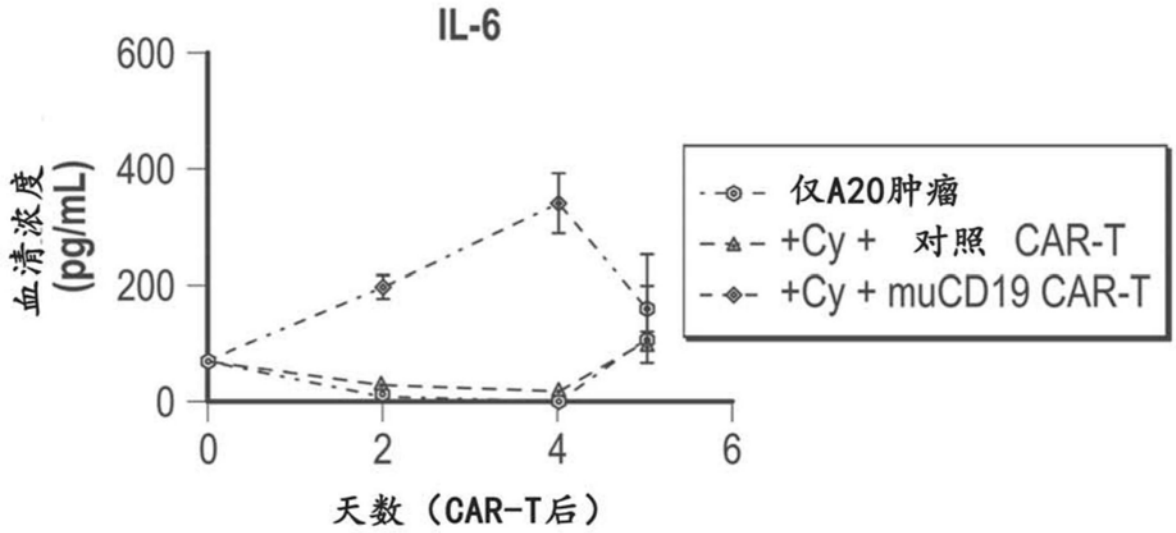

IL-6
600
400
200
0
血清浓度 (pg/mL)
0
2
4
6
天数（CAR-T后）
仅A20肿瘤
+Cy + 对照 CAR-T
+Cy + muCD19 CAR-T

图18G

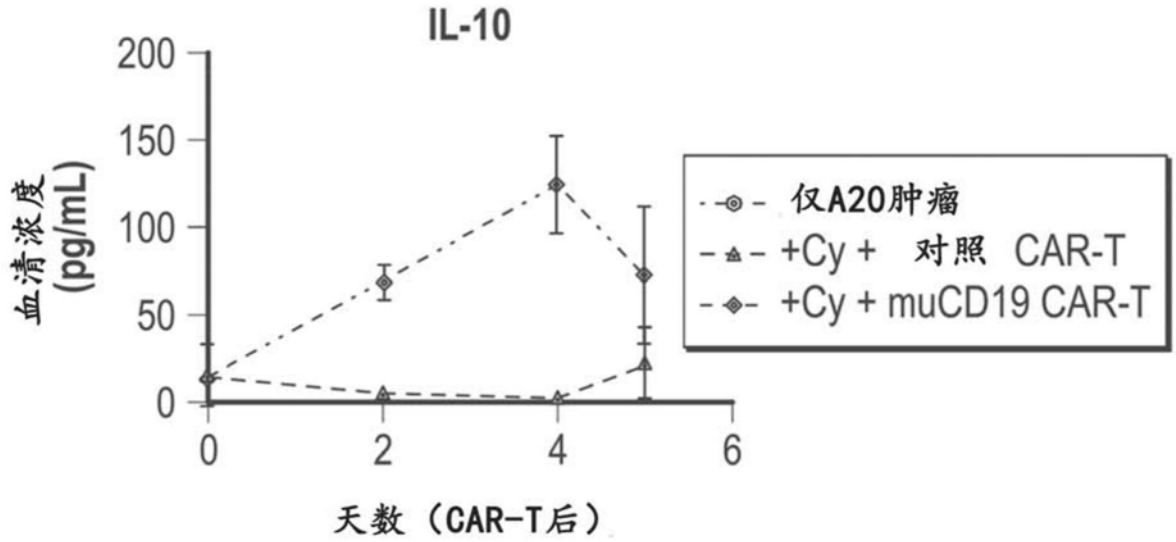

IL-10
200
150
100
50
0
血清浓度 (pg/mL)
0
2
4
6
天数（CAR-T后）
仅A20肿瘤
+Cy + 对照 CAR-T
+Cy + muCD19 CAR-T

图18H

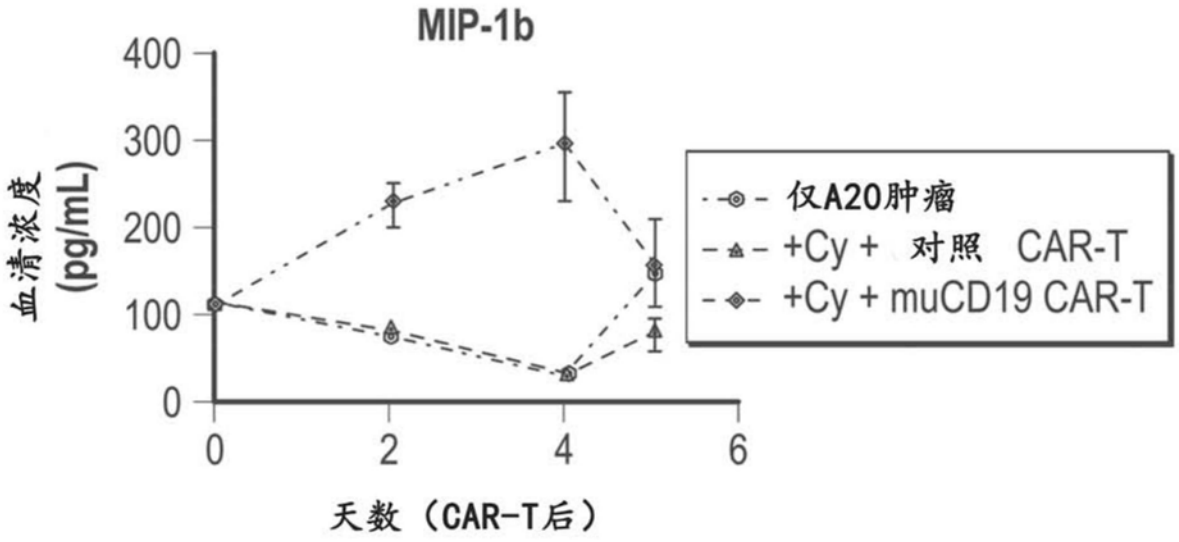

MIP-1b
血清浓度 (pg/mL)
400
300
200
100
0
0
2
4
6
天数（CAR-T后）
仅A20肿瘤
+Cy + 对照 CAR-T
+Cy + muCD19 CAR-T

图18I

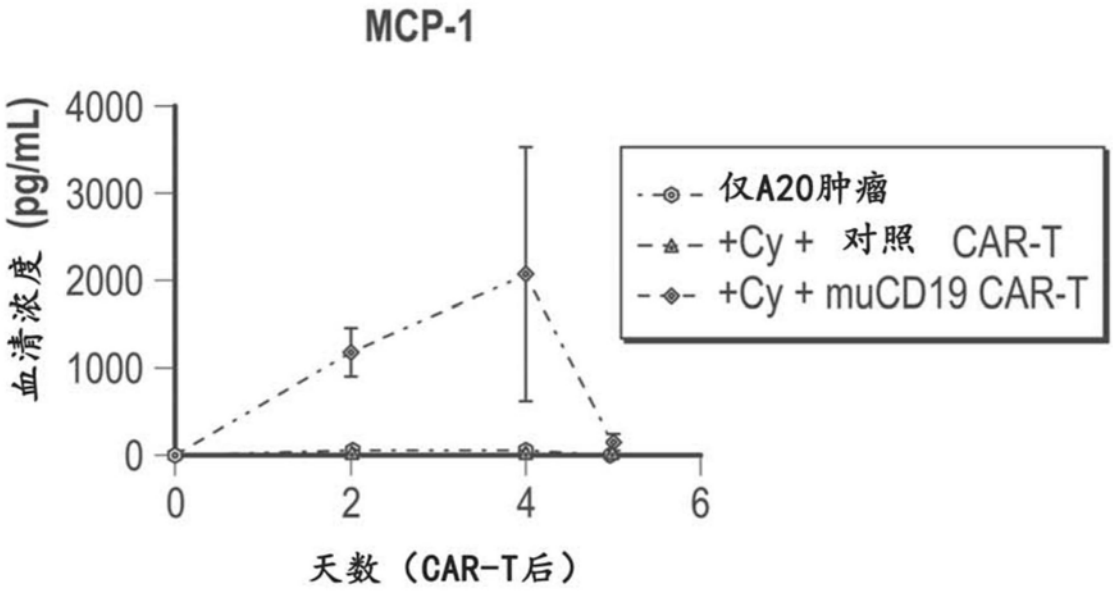

MCP-1
血清浓度 (pg/mL)
4000
3000
2000
1000
0
0
2
4
6
天数（CAR-T后）
仅A20肿瘤
+Cy + 对照 CAR-T
+Cy + muCD19 CAR-T

图18J

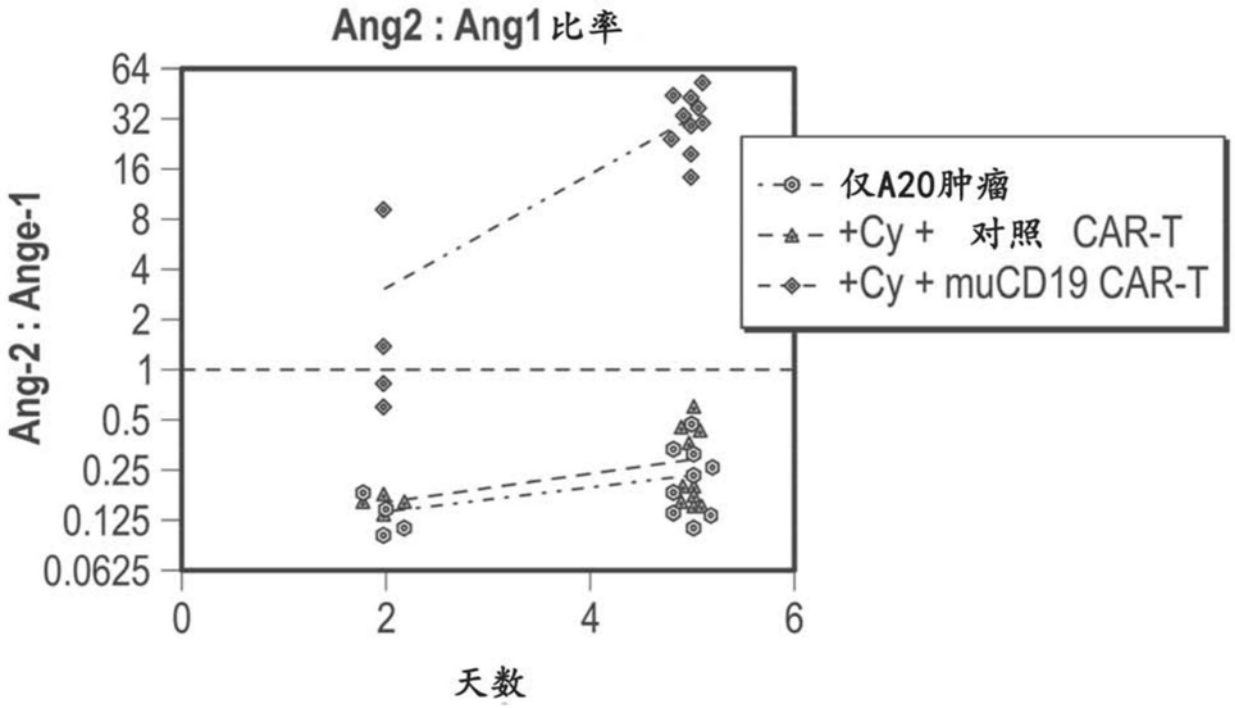

Ang2 : Ang1比率
64
32
16
8
4
2
1
0.5
0.25
0.125
0.0625
Ang-2 : Ange-1
0
2
4
6
天数
仅A20肿瘤
+Cy + 对照 CAR-T
+Cy + muCD19 CAR-T

图18K

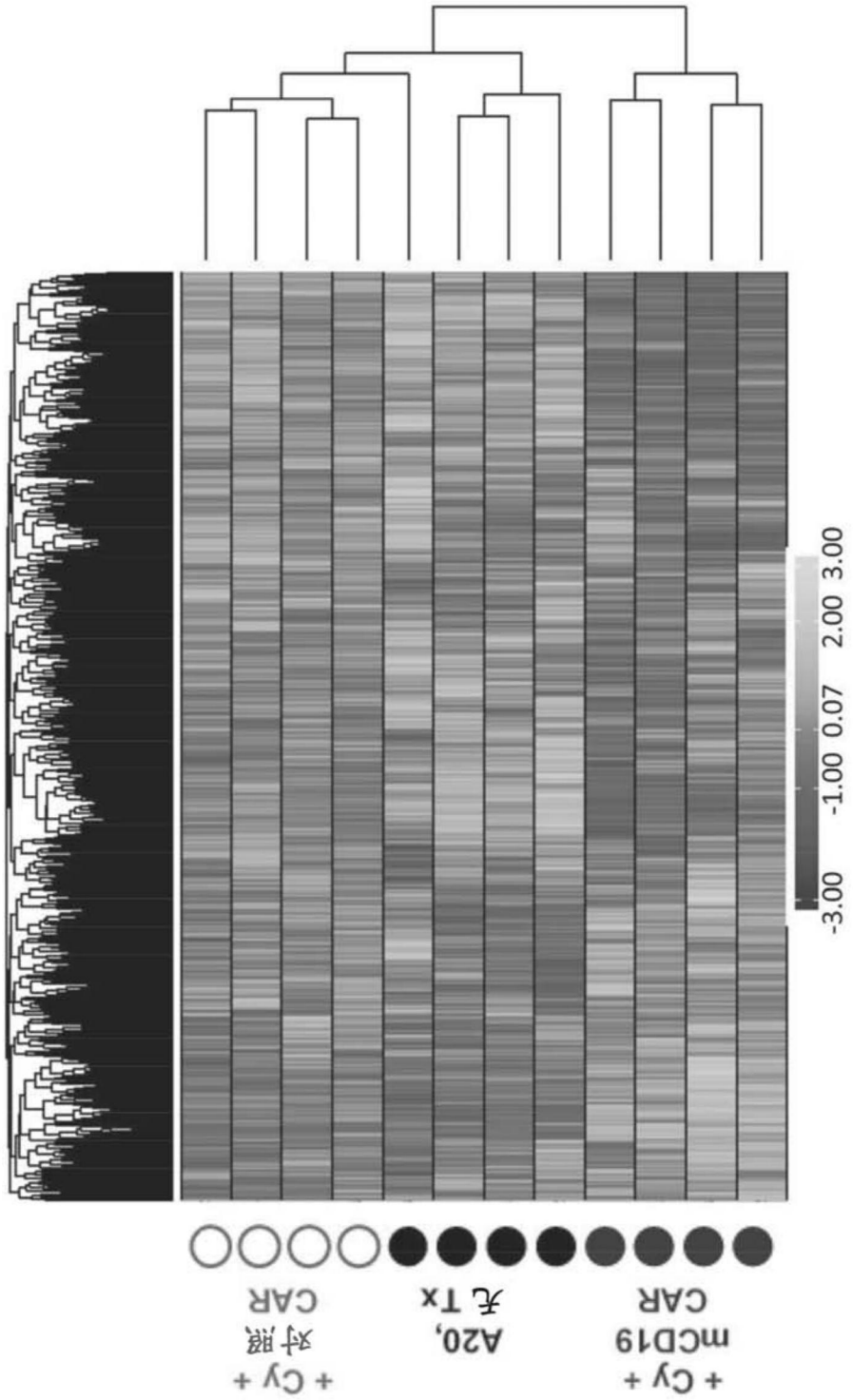


图19A

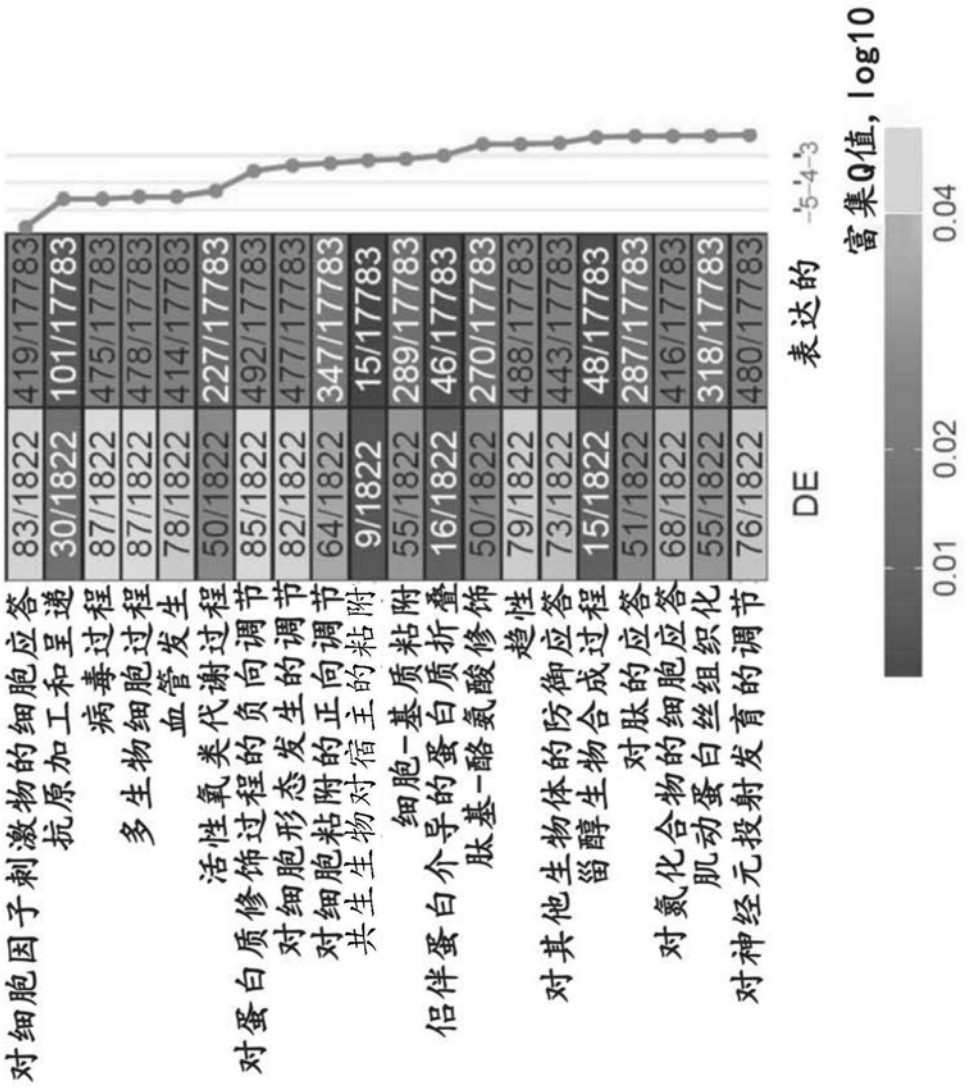

对细胞因子刺激物的细胞应答 83/1822 419/17783
抗原加工和呈递 30/1822 101/17783
病毒过程 87/1822 475/17783
多生物细胞过程 87/1822 478/17783
血管发生 78/1822 414/17783
活性氧代谢过程 50/1822 227/17783
对蛋白质修饰过程的负向调节 85/1822 492/17783
对细胞形态发生的调节 82/1822 477/17783
对细胞粘附的正向调节 64/1822 347/17783
共生生物对宿主的粘附 9/1822 15/17783
细胞-基质粘附 55/1822 289/17783
侣伴蛋白介导的蛋白质折叠 16/1822 46/17783
肽基-酪氨酸修饰 50/1822 270/17783
趋性 79/1822 488/17783
对其他生物体的防御应答 73/1822 443/17783
甾醇生物合成过程 15/1822 48/17783
对肽的应答 51/1822 287/17783
对氮化合物的细胞应答 68/1822 416/17783
肌动蛋白丝组织化 55/1822 318/17783
对神经元投射发育的调节 76/1822 480/17783
DE
表达的
-5 -4 -3
富集Q值, log10
0.01 0.02 0.04

图19B

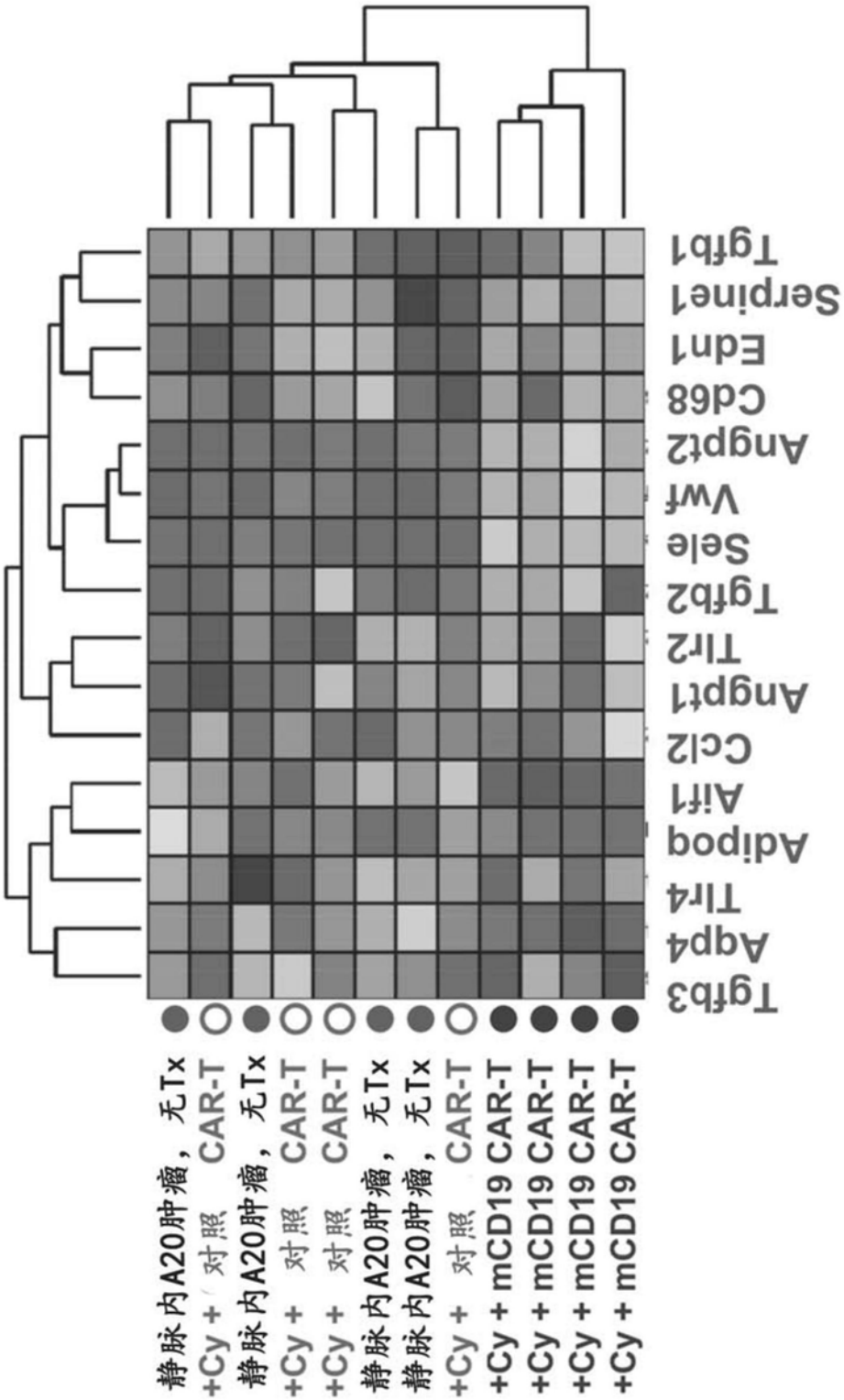

Tgfb3
Aqp4
Tlr4
Adipoq
Aif1
Ccl2
Angpt1
Tlr2
Tgfb2
Sele
Vwf
Angpt2
Cd68
Edn1
Serpine1
Tgfb1
静脉内A20肿瘤，无Tx
+Cy + 对照 CAR-T
静脉内A20肿瘤，无Tx
+Cy + 对照 CAR-T
+Cy + 对照 CAR-T
静脉内A20肿瘤，无Tx
静脉内A20肿瘤，无Tx
+Cy + 对照 CAR-T
+Cy + mCD19 CAR-T
+Cy + mCD19 CAR-T
+Cy + mCD19 CAR-T
+Cy + mCD19 CAR-T

图19C

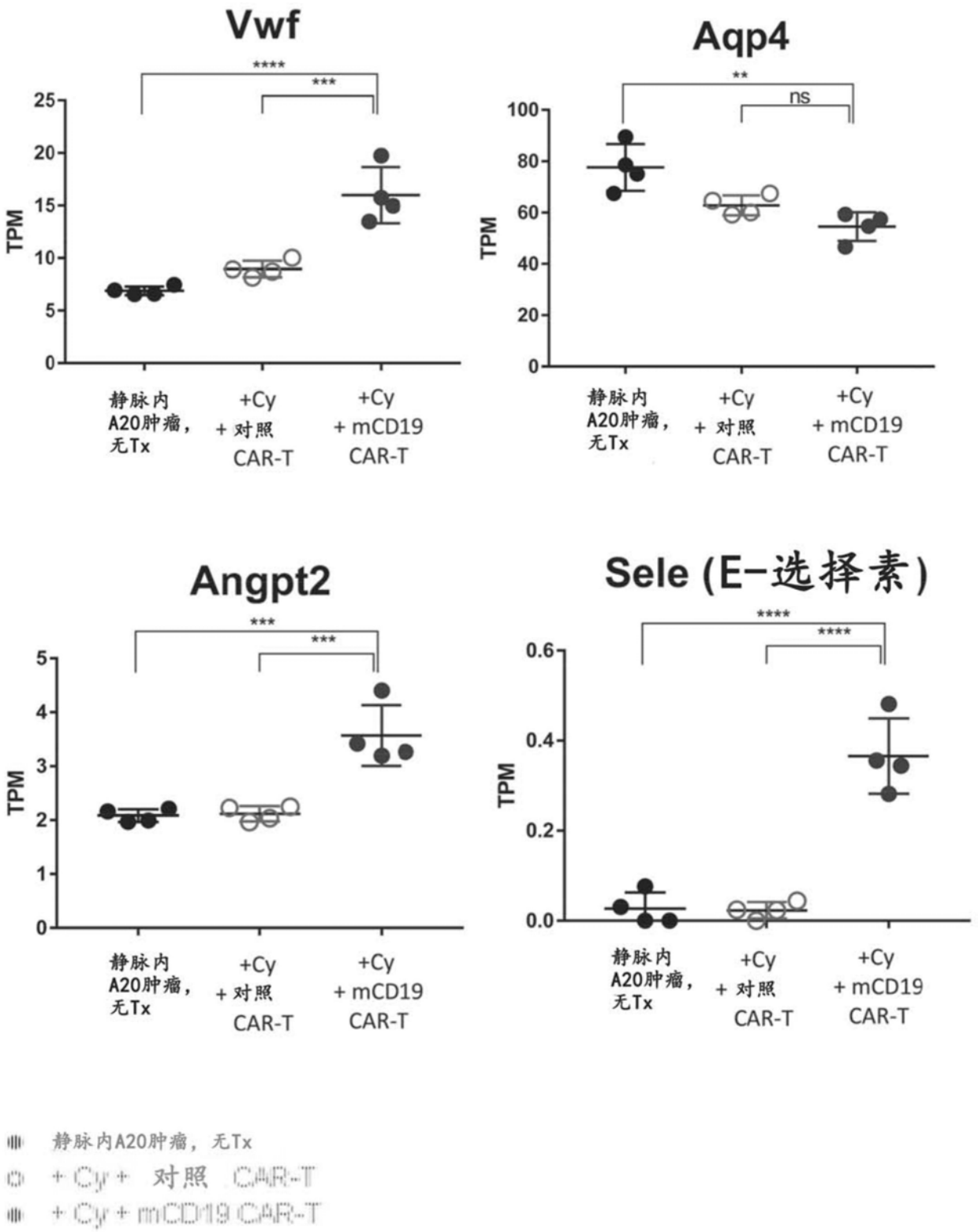

Vwf
****
***
TPM
25
20
15
10
5
0
静脉内A20肿瘤，无Tx
+Cy + 对照 CAR-T
+Cy + mCD19 CAR-T
Aqp4
**
ns
TPM
100
80
60
40
20
0
静脉内A20肿瘤，无Tx
+Cy + 对照 CAR-T
+Cy + mCD19 CAR-T
Angpt2
***
***
TPM
5
4
3
2
1
0
静脉内A20肿瘤，无Tx
+Cy + 对照 CAR-T
+Cy + mCD19 CAR-T
Sele (E-选择素)
****
****
TPM
0.6
0.4
0.2
0.0
静脉内A20肿瘤，无Tx
+Cy + 对照 CAR-T
+Cy + mCD19 CAR-T
静脉内A20肿瘤，无Tx
+Cy + 对照 CAR-T
+Cy + mCD19 CAR-T

图19D

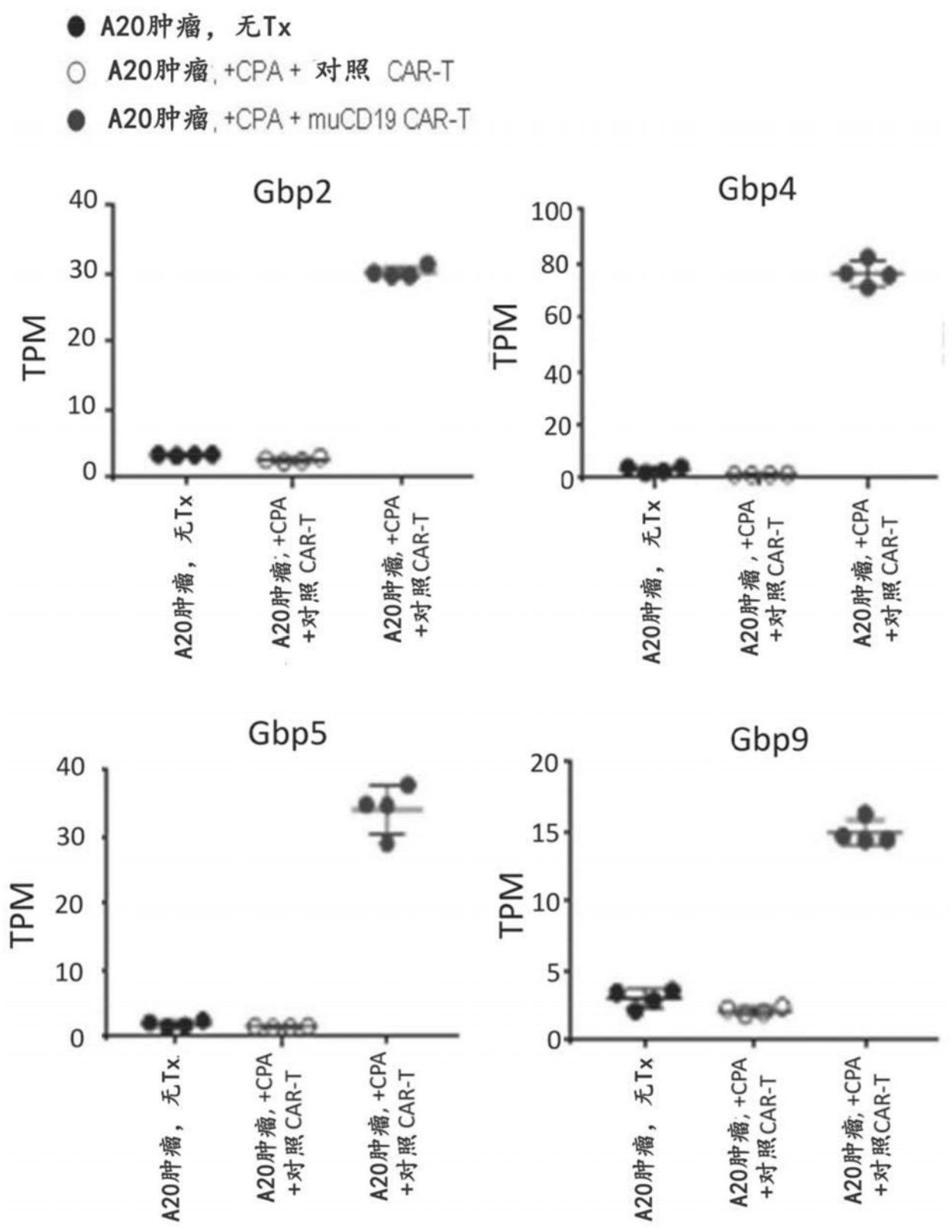

A20肿瘤，无Tx
A20肿瘤，+CPA + 对照 CAR-T
A20肿瘤，+CPA + muCD19 CAR-T
Gbp2
Gbp4
Gbp5
Gbp9
TPM
A20肿瘤，无Tx
A20肿瘤，+CPA +对照 CAR-T
A20肿瘤，+CPA +对照 CAR-T

图19E

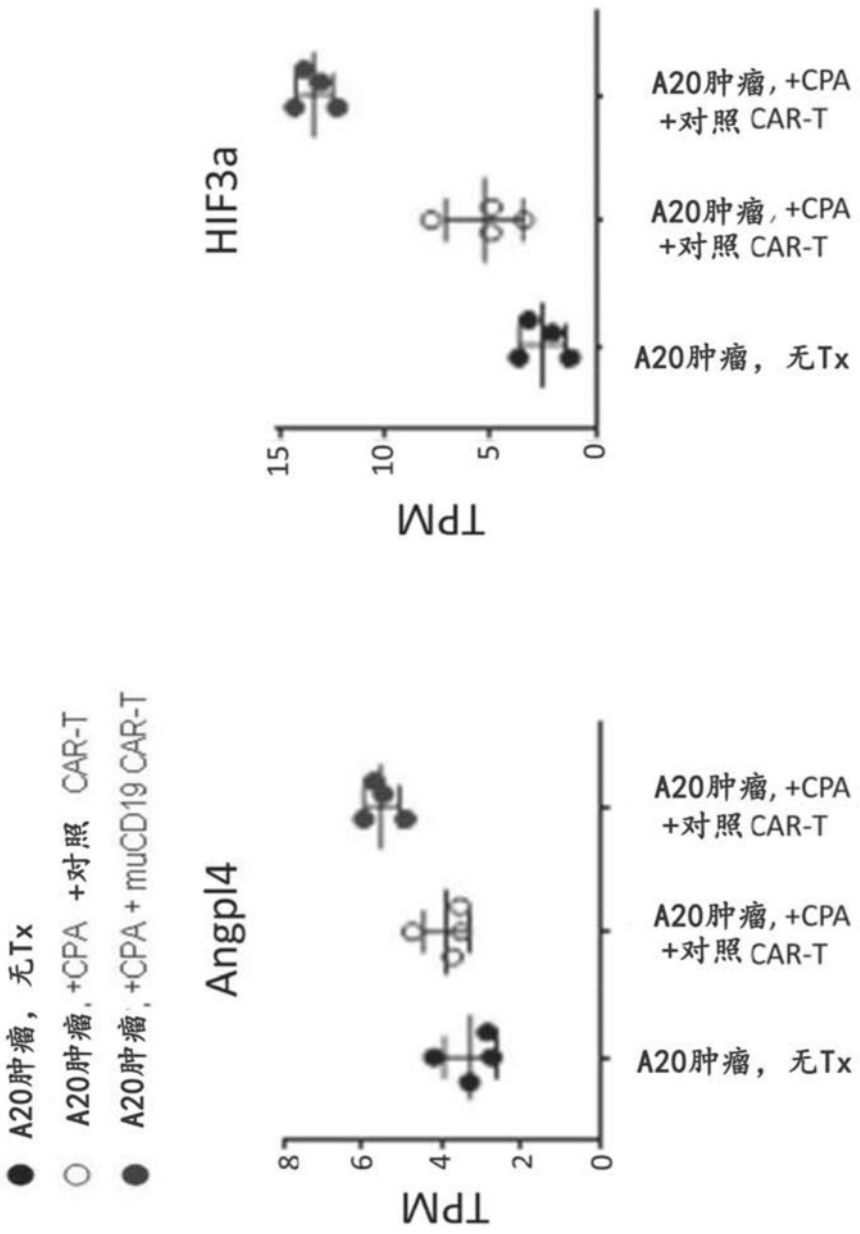

HIF3a
TPM
15
10
5
0
A20肿瘤，无Tx
A20肿瘤，+CPA
+对照 CAR-T
A20肿瘤，+CPA
+对照 CAR-T
Angpl4
TPM
8
6
4
2
0
A20肿瘤，+CPA
+对照 CAR-T
A20肿瘤，+CPA
+对照 CAR-T
A20肿瘤，无Tx
A20肿瘤，无Tx
A20肿瘤，+CPA +对照 CAR-T
A20肿瘤，+CPA + muCD19 CAR-T

图19F

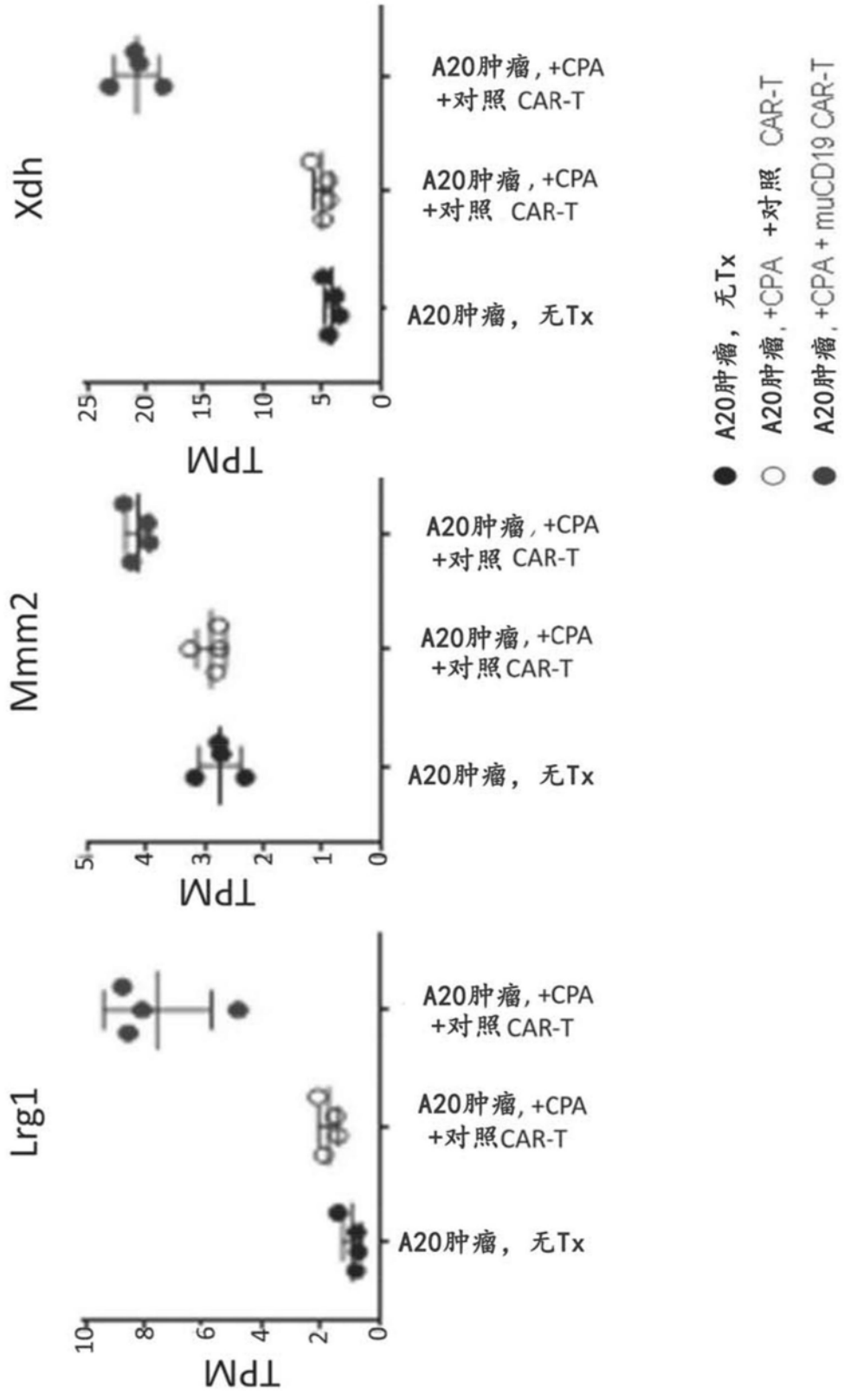

Xdh
Mmm2
Lrg1
TPM
A20肿瘤，+CPA
+对照 CAR-T
A20肿瘤，+CPA
+对照 CAR-T
A20肿瘤，无Tx
A20肿瘤，无Tx
A20肿瘤，+CPA
+对照 CAR-T
A20肿瘤，+CPA
+对照CAR-T
A20肿瘤，无Tx
A20肿瘤，+CPA
+对照 CAR-T
A20肿瘤，+CPA
+对照CAR-T
A20肿瘤，无Tx
A20肿瘤，无Tx
A20肿瘤，+CPA +对照 CAR-T
A20肿瘤，+CPA + muCD19 CAR-T

图19G

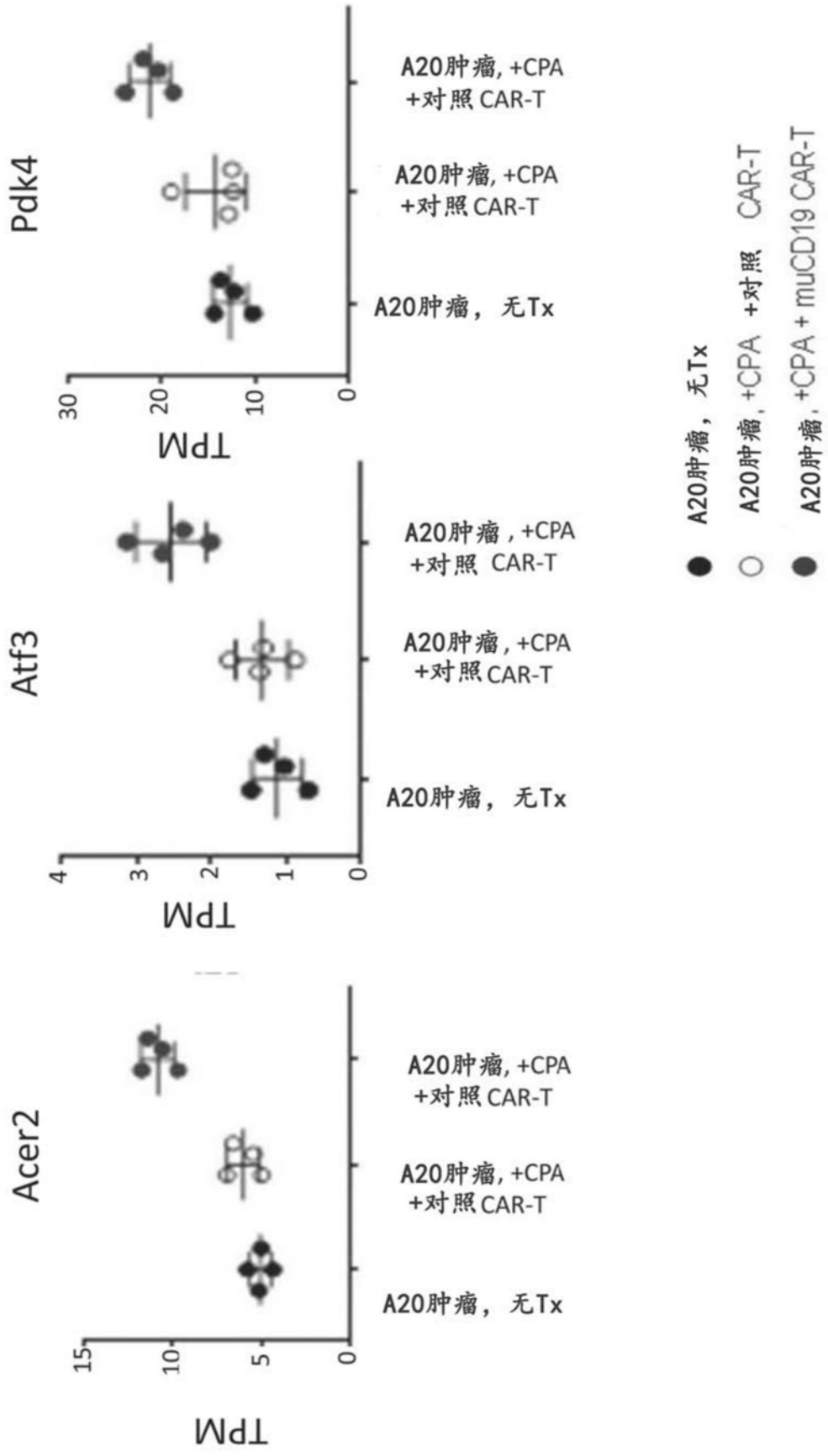

Pdk4
TPM
30
20
10
0
A20肿瘤, +CPA
+对照 CAR-T
A20肿瘤, +CPA
+对照 CAR-T
A20肿瘤， 无Tx
Atf3
TPM
4
3
2
1
0
A20肿瘤，+CPA
+对照 CAR-T
A20肿瘤，+CPA
+对照 CAR-T
A20肿瘤， 无Tx
Acer2
TPM
15
10
5
0
A20肿瘤, +CPA
+对照 CAR-T
A20肿瘤, +CPA
+对照 CAR-T
A20肿瘤， 无Tx
A20肿瘤， 无Tx
A20肿瘤，+CPA +对照 CAR-T
A20肿瘤，+CPA + muCD19 CAR-T

图19H

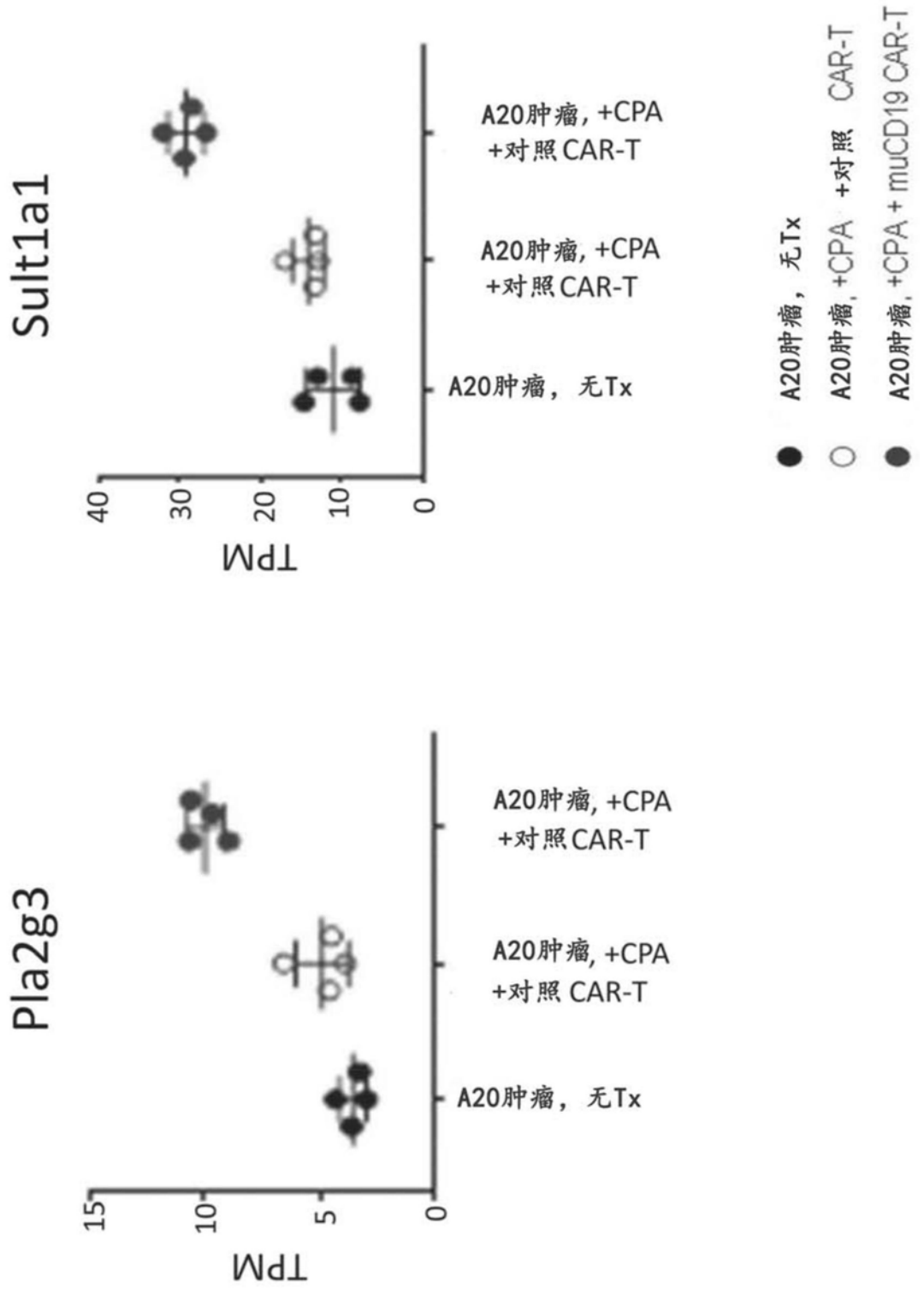

Sult1a1
TPM
40
30
20
10
0
A20肿瘤，无Tx
A20肿瘤，+CPA +对照CAR-T
A20肿瘤，+CPA +对照CAR-T
A20肿瘤，无Tx
A20肿瘤，+CPA +对照 CAR-T
A20肿瘤，+CPA + muCD19 CAR-T
Pla2g3
TPM
15
10
5
0
A20肿瘤，无Tx
A20肿瘤，+CPA +对照 CAR-T
A20肿瘤，+CPA +对照CAR-T

图19I

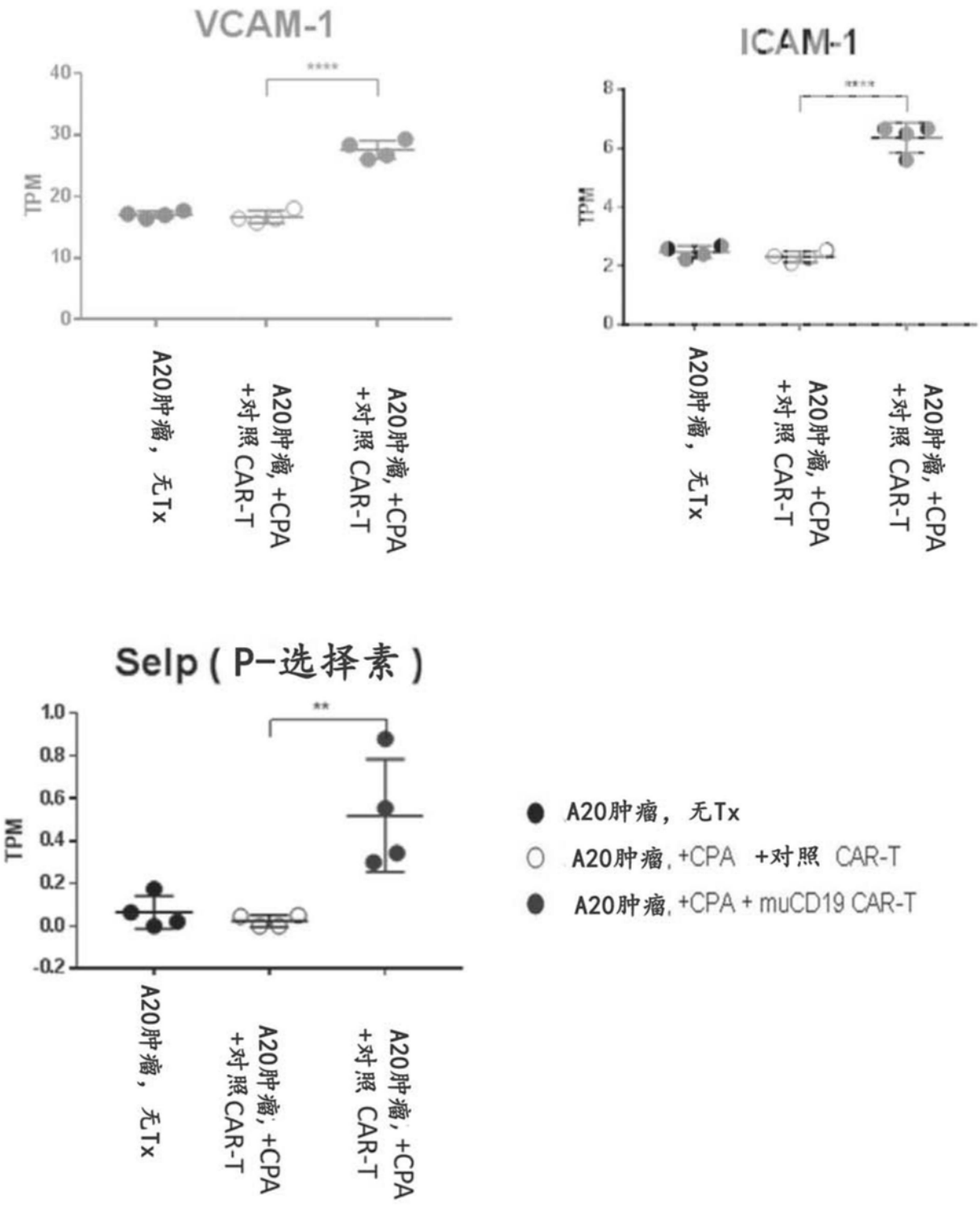

VCAM-1
TPM
40
30
20
10
0
****
A20肿瘤，无Tx
A20肿瘤，+CPA +对照 CAR-T
A20肿瘤，+CPA +对照 CAR-T
ICAM-1
TPM
8
6
4
2
0
****
A20肿瘤，无Tx
A20肿瘤，+CPA +对照 CAR-T
A20肿瘤，+CPA +对照 CAR-T
Selp（P-选择素）
TPM
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-0.2
**
A20肿瘤，无Tx
A20肿瘤，+CPA +对照 CAR-T
A20肿瘤，+CPA +对照 CAR-T
A20肿瘤，无Tx
A20肿瘤，+CPA +对照 CAR-T
A20肿瘤，+CPA + muCD19 CAR-T

图19J

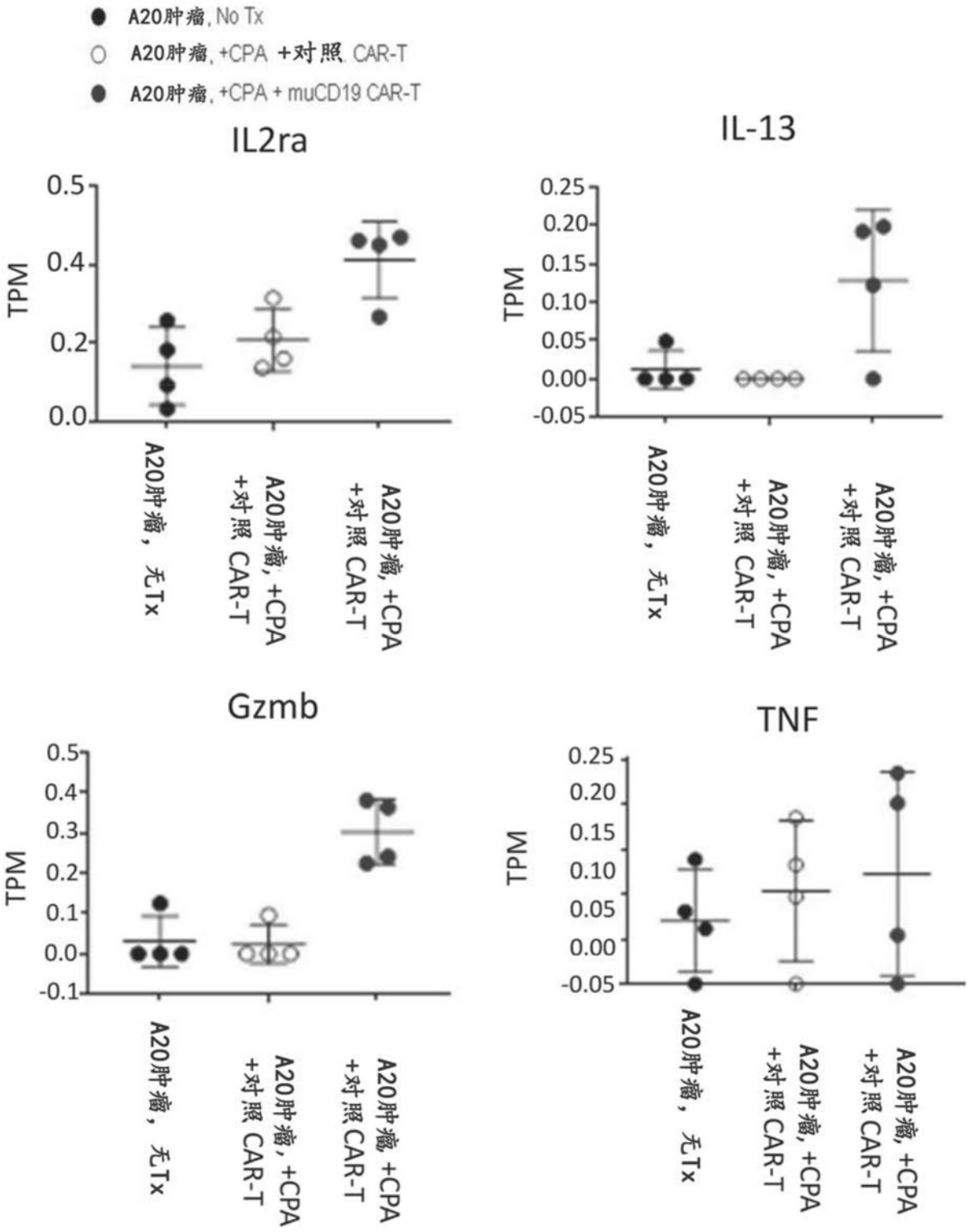

A20肿瘤, No Tx
A20肿瘤, +CPA +对照 CAR-T
A20肿瘤, +CPA + muCD19 CAR-T
IL2ra
IL-13
Gzmb
TNF
TPM
A20肿瘤，无Tx
A20肿瘤, +CPA +对照 CAR-T

图19K

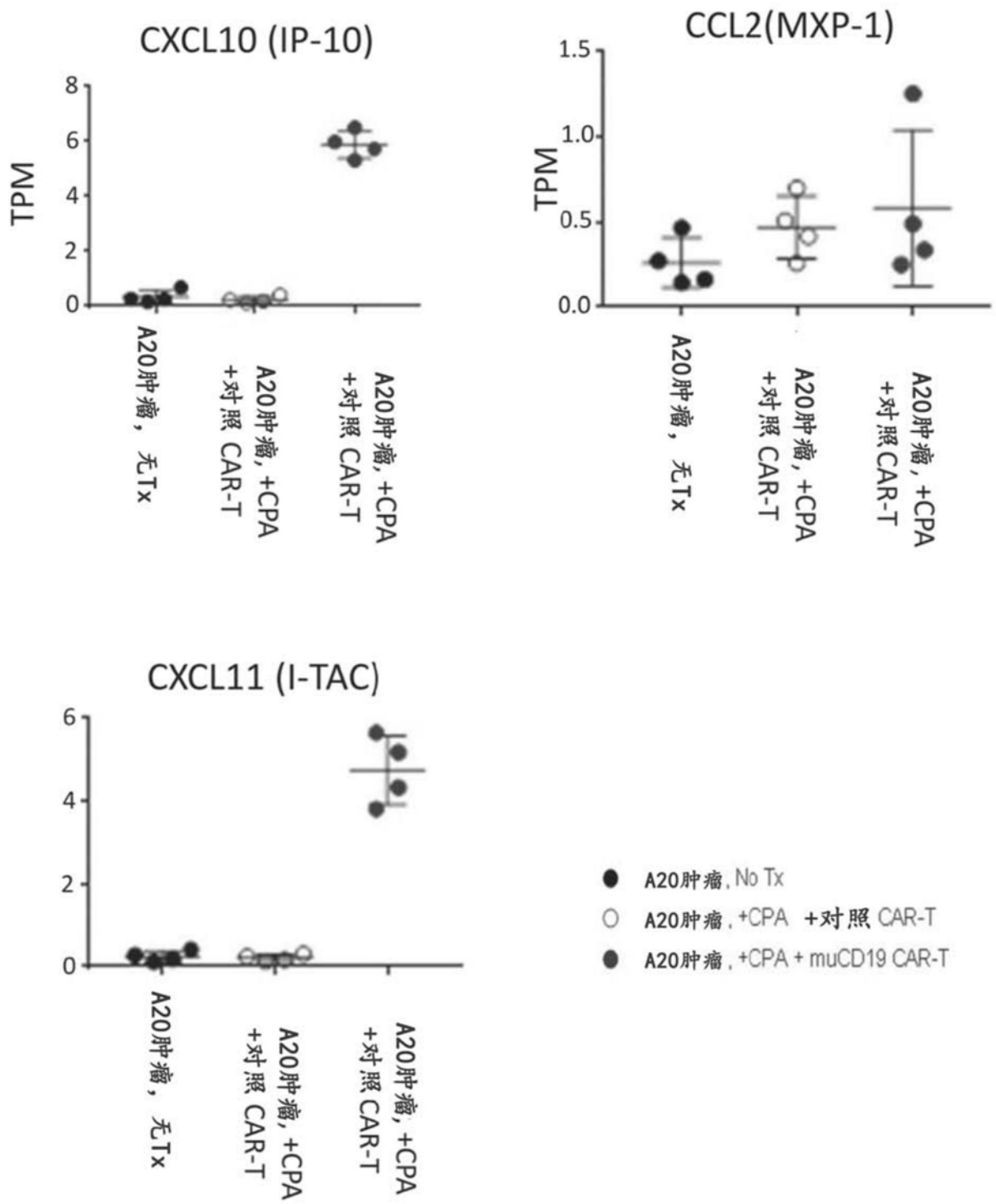

CXCL10 (IP-10)
TPM
8
6
4
2
0
A20肿瘤，无Tx
A20肿瘤，+CPA +对照 CAR-T
A20肿瘤，+CPA +对照 CAR-T
CCL2(MXP-1)
TPM
1.5
1.0
0.5
0.0
A20肿瘤，无Tx
A20肿瘤，+CPA +对照 CAR-T
A20肿瘤，+CPA +对照 CAR-T
CXCL11 (I-TAC)
6
4
2
0
A20肿瘤，无Tx
A20肿瘤，+CPA +对照 CAR-T
A20肿瘤，+CPA +对照 CAR-T
A20肿瘤，No Tx
A20肿瘤，+CPA +对照 CAR-T
A20肿瘤，+CPA + muCD19 CAR-T

图19L

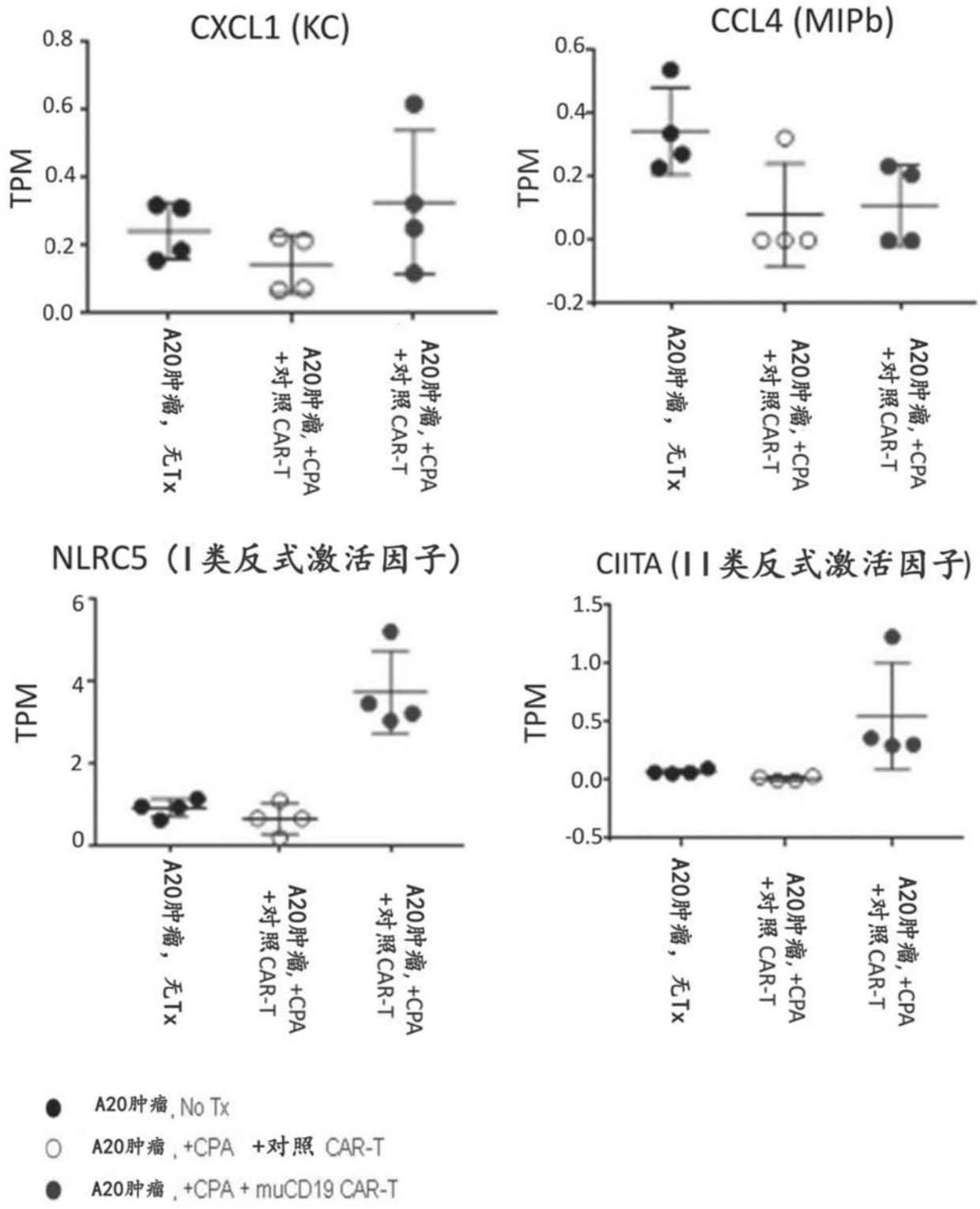

CXCL1 (KC)
TPM
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
A20肿瘤，无Tx
A20肿瘤，+CPA +对照CAR-T
A20肿瘤，+CPA +对照CAR-T
CCL4 (MIPb)
TPM
0.6
0.4
0.2
0.0
-0.2
A20肿瘤，无Tx
A20肿瘤，+CPA +对照CAR-T
A20肿瘤，+CPA +对照CAR-T
NLRC5（I类反式激活因子）
TPM
6
4
2
0
A20肿瘤，无Tx
A20肿瘤，+CPA +对照CAR-T
A20肿瘤，+CPA +对照CAR-T
CIITA (II类反式激活因子)
TPM
1.5
1.0
0.5
0.0
-0.5
A20肿瘤，无Tx
A20肿瘤，+CPA +对照CAR-T
A20肿瘤，+CPA +对照CAR-T
A20肿瘤，No Tx
A20肿瘤，+CPA +对照 CAR-T
A20肿瘤，+CPA + muCD19 CAR-T

图19M

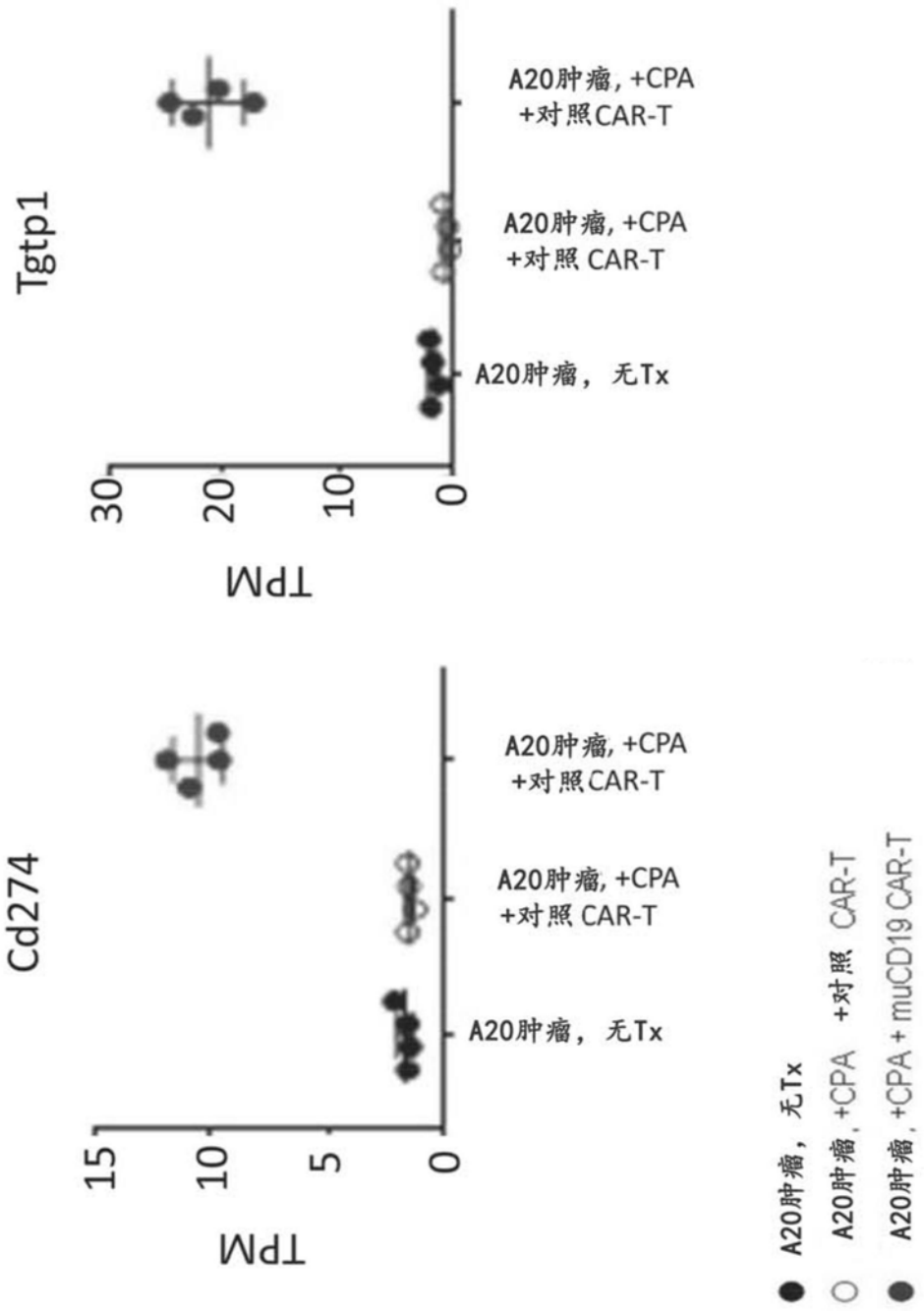

Tgtp1
TPM
30
20
10
0
A20肿瘤, +CPA
+对照CAR-T
A20肿瘤, +CPA
+对照 CAR-T
A20肿瘤， 无Tx
Cd274
TPM
15
10
5
0
A20肿瘤, +CPA
+对照CAR-T
A20肿瘤, +CPA
+对照 CAR-T
A20肿瘤， 无Tx
A20肿瘤， 无Tx
A20肿瘤, +CPA +对照 CAR-T
A20肿瘤, +CPA + muCD19 CAR-T

图19N