



(12) 发明专利



(10) 授权公告号 CN 110290807 B

(45) 授权公告日 2024. 06. 14

(21) 申请号 201780085433.3

C · L · 萨瑟兰

(22) 申请日 2017.12.01

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
专利代理师 封新琴

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 110290807 A

(51) Int.Cl.

(43) 申请公布日 2019.09.27

A61K 39/395 (2006.01)

(30) 优先权数据

A61K 39/44 (2006.01)

62/429,738 2016.12.03 US

A61K 39/00 (2006.01)

62/514,765 2017.06.02 US

62/515,523 2017.06.05 US

(56) 对比文件

CN 104427997 A, 2015.03.18

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2019.08.01

Alfred L.Garfall等.Posteiror

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2017/064364 2017.12.01

reversible encephalopathy syndrome (PRES)
after infusion of anti-Bcma CAR T cells
(CART-BCMA) for multiple myeloma:
Successful treatment with
cyclophosphamide.《Blood》.2016,第128卷(第
22期),摘要.

(87) PCT国际申请的公布数据
W02018/102787 EN 2018.06.07

审查员 刘远

(73) 专利权人 朱诺治疗学股份有限公司
地址 美国华盛顿州

权利要求书2页 说明书143页
序列表24页 附图42页

(72) 发明人 H · 李 T · 艾伯森 M · D · 黑佩尔

(54) 发明名称

确定CAR-T细胞给药的方法

(57) 摘要

本发明提供了确定用重组受体例如T细胞受体 (TCR) 或嵌合抗原受体 (CAR) 工程化的细胞的给药的方法。在一些实施方案中,所述方法包括通过在给予时发生毒性的风险的估计概率和对所述工程化细胞的反应的估计概率来确定给药的治疗范围。

1. 能够减少表达嵌合抗原受体 (CAR) 的基因工程化T细胞的扩增或增殖的药剂在制备用于在调节基因工程化T细胞活性的方法中使用的试剂盒中的用途,所述方法包括:

(a) 选择受试者,其中在来自所述受试者的样品中,炎性标记的水平、量或浓度或所述受试者中肿瘤负荷的体积量度等于或高于阈值水平,其中所述样品是在接受表达CAR的基因工程化T细胞的给予之前从所述受试者获得的,其中所述受试者患有淋巴瘤;

其中所述体积量度是直径乘积之和 (SPD), 且所述阈值大于或等于 50cm^2 ;

其中所述炎性标记是乳酸脱氢酶 (LDH), 且所述阈值大于或等于500单位/升;并且

(b) 向所选受试者给予所述药剂,所述药剂是类固醇。

2. 权利要求1的用途,其中,在给予所述药剂之前,在给予所述基因工程化T细胞后所选受试者具有发生毒性的风险。

3. 权利要求1的用途,其中所述样品是血液样品、血浆样品或血清样品,或者所述样品包含血液样品、血浆样品或血清样品。

4. 权利要求1的用途,其中使用比色测定或免疫测定来评估所述炎性标记。

5. 权利要求4的用途,其中所述免疫测定选自酶联免疫吸附测定 (ELISA)、酶免疫测定 (EIA)、放射免疫测定 (RIA)、表面等离子体共振 (SPR)、蛋白质印迹、侧向流测定、免疫组织化学、蛋白质阵列和免疫PCR (iPCR)。

6. 权利要求1的用途,其中使用所述受试者的计算机断层成像 (CT)、正电子发射断层成像 (PET) 和/或磁共振成像 (MRI) 测量所述体积量度。

7. 权利要求1的用途,其中所述类固醇是皮质类固醇。

8. 权利要求1的用途,其中所述类固醇是地塞米松或甲基泼尼松龙。

9. 权利要求1的用途,其中将所述类固醇被配制为按以下量给予:在1.0mg与40mg之间。

10. 权利要求1所述的用途,其中所述类固醇被配制为按以下量给予:在2.0mg与20mg之间。

11. 权利要求1所述的用途,其中所述类固醇被配制为按以下量给予:在5.0mg与25.0mg之间。

12. 权利要求1的用途,其中在开始给予所述基因工程化T细胞之前1天、2天、3天、4天、6天、8天、12天、16天、20天、24天、28天或更长时间内,在所述受试者中测量所述炎性标记或体积量度。

13. 权利要求1的用途,其中在淋巴细胞清除前,评估所述受试者中所述炎性标记或体积量度。

14. 权利要求1的用途,其中已接受表达CAR的基因工程化T细胞的施用的受试者接受基因工程化T细胞的剂量为 1×10^5 至 5×10^8 个表达CAR的总T细胞,包含端值。

15. 权利要求1的用途,其中已接受表达CAR的基因工程化T细胞的给予的受试者接受基因工程化T细胞的剂量为 1×10^6 至 2.5×10^8 个表达CAR的总T细胞,包含端值。

16. 权利要求1的用途,其中已接受表达CAR的基因工程化T细胞的给予的受试者接受基因工程化T细胞的剂量为 1×10^7 至 2.5×10^8 个表达CAR的总T细胞,包含端值。

17. 权利要求1的用途,其中已接受表达CAR的基因工程化T细胞的给予的受试者接受的基因工程化T细胞的剂量包含至少 1×10^5 个表达CAR的细胞。

18. 权利要求1的用途,其中已接受表达CAR的基因工程化T细胞的给予的受试者接受的

基因工程化T细胞的剂量包含至少 2.5×10^5 个表达CAR的细胞。

19. 权利要求1的用途,其中已接受表达CAR的基因工程化T细胞的给予的受试者接受的基因工程化T细胞的剂量包含至少 1×10^6 个表达CAR的细胞。

20. 权利要求2的用途,其中发生毒性的风险是基于选自以下的毒性:

任何神经毒性或细胞因子释放综合征(CRS);

严重毒性或3级或更高级毒性;

严重CRS或3级或更高级CRS;或者

严重神经毒性、2级或更高级神经毒性或3级或更高级神经毒性。

21. 权利要求2的用途,其中所述发生毒性的风险是基于严重毒性或3级或更高级毒性的风险。

22. 权利要求1的用途,其中所述淋巴瘤选自非霍奇金淋巴瘤(NHL)。

23. 权利要求1的用途,其中所述受试者是人。

24. 权利要求1的用途,其中所述CAR特异性地结合至与淋巴瘤相关和/或由与淋巴瘤相关的细胞表达的抗原。

25. 权利要求24的用途,其中所述抗原选自CD19。

26. 权利要求1的用途,其中所述CAR包含特异性地结合至抗原的细胞外抗原识别结构域和包含ITAM的细胞内信号传导结构域。

27. 权利要求26的用途,其中所述细胞内信号传导结构域包含CD3-zeta (CD3 ζ) 链的细胞内结构域。

28. 权利要求27的用途,其中所述CAR还包含共刺激信号传导区域。

29. 权利要求28的用途,其中所述共刺激信号传导区域包含CD28或4-1BB的信号传导结构域。

30. 权利要求28的用途,其中所述共刺激结构域是4-1BB的结构域。

31. 权利要求30的用途,其中所述基因工程化T细胞是CD4⁺或CD8⁺ T细胞。

32. 权利要求1或2的用途,其中所述基因工程化T细胞是从受试者获得的原代T细胞。

33. 权利要求1的用途,其中所述基因工程化T细胞的细胞对于所述受试者是自体的。

34. 权利要求1的用途,其中所述基因工程化T细胞对于所述受试者是同种异体的。

35. 权利要求22的用途,其中所述非霍奇金淋巴瘤选自弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、MCL和FLG3B。

确定CAR-T细胞给药的方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2016年12月3日提交的标题为“确定细胞疗法中的给药的方法 (METHODS FOR DETERMINING DOSING IN CELL THERAPY)”的美国临时申请号62/429,738、2017年6月2日提交的标题为“确定细胞疗法中的给药的方法 (METHODS FOR DETERMINING DOSING IN CELL THERAPY)”的美国临时申请号62/514,765和2017年6月5日提交的题为“确定细胞疗法中的给药的方法 (METHODS FOR DETERMINING DOSING IN CELL THERAPY)”的美国临时申请号62/515,523的优先权,将上述申请案的内容通过引用以其全文并入。

[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2017年11月29日创建、大小为34千字节的名为735042009240SeqList.txt的文件提供。将在电子格式的序列表中的信息通过引用以其全文并入。

技术领域

[0005] 本公开文本在一些方面涉及给予和/或确定细胞疗法(例如用重组受体(例如T细胞受体(TCR)或嵌合抗原受体(CAR)工程化的细胞)的给药的方法。在一些实施方案中,所述方法包括例如基于在给予细胞疗法或工程化细胞后发生毒性的风险的估计概率以及治疗结果或反应或者所述治疗结果或反应的程度或持久性的估计概率来确定给药的治疗范围和/或窗口,所述治疗结果或反应例如为对其体征或症状的治疗、减少或改善。

背景技术

[0006] 各种途径可以用于免疫疗法,例如,涉及给予T细胞(例如表达基因工程化抗原受体(例如CAR)的那些)的过继细胞疗法。在一些方面,可用的方法可能不完全令人满意。需要用于免疫疗法和过继细胞疗法的另外的策略,例如增强所给予的细胞的持久性、活性和/或增殖和反应的策略以及用于调节T细胞表型的策略。在一些实施方案中提供了满足此类需求的方法、细胞、组合物、制品和系统。

发明内容

[0007] 本文提供了对受试者进行给药或治疗的方法,其在一些方面涉及向受试者给予一定剂量的工程化细胞(例如用嵌合抗原受体(CAR)工程化的那些),和/或评估和/或给予一种或多种另外的药剂至已经给予此类工程化细胞的受试者。在一些实施方案中,所给予的剂量在治疗范围和/或窗口内和/或足以实现任选地在给予后一定时间段内或期间,使受试者的样品或组织或体液中(例如在受试者的血液中)的工程化细胞(例如CAR+细胞)的总体或峰值量或数量在指定的范围内,例如在指定或确定的治疗范围内。在一些方面,治疗范围是基于概率确定或涉及概率,例如估计的概率,例如,反应概率和/或发生毒性的体征或症状(例如严重和/或3级或更高级毒性,例如神经毒性(NT),例如3级或更高级毒性)的概率或风险。

[0008] 在一些实施方案中,给予涉及给予次最佳剂量或减少剂量或低剂量细胞,所述剂量在一些方面不足以在治疗范围和/或窗口内或实现或导致处于治疗范围和/或窗口内,和/或不足以实现任选地在给予后的一定时间段内或期间,使受试者的样品或组织或体液中(例如在受试者的血液中)工程化细胞(例如CAR+细胞)的总体或峰值量或数量在指定范围内,例如在指定或确定的治疗范围内。在一些方面,例如在此类实施方案的各方面,所提供的方法还包括向受试者给予并非工程化细胞的或除了工程化细胞以外的化合物。在一些方面,此类药剂可以是已知或怀疑能够增强或增加工程化细胞(例如CAR+细胞)的扩增、持久性和/或受试者暴露的可能性、程度、快速性或水平的药剂。在一些方面,所述一种或多种药剂增加或促进细胞在体内的扩增,和/或能够导致细胞在受试者中的扩增、峰值水平、AUC或其他量度的水平、程度或快速性(例如CAR+细胞扩增)在治疗范围和/或窗口内。在一些任何此类实施方案中,在一些方面,治疗范围是基于概率确定或涉及概率,例如估计的概率,例如,反应概率和/或发生毒性的体征或症状(例如严重和/或3级或更高级毒性,例如神经毒性(NT),例如3级或更高级毒性)的概率或风险。

[0009] 在一些实施方案中,所述方法涉及例如在向受试者给予细胞疗法或工程化细胞后,任选地随时间监测受试者的样品(例如血液或血液源样品)中的工程化细胞或其他细胞的水平(例如血液中的峰值CAR细胞),例如以评估所述细胞是否在治疗范围和/或窗口内。在一些方面,如果细胞不在治疗范围或窗口内,则所提供的方法包括向受试者给予,例如给予化合物以增强工程化细胞的扩增或暴露,例如增强CAR+细胞在体内的扩增,例如使得峰值CAR+扩增和/或水平和/或暴露和/或AUC在治疗或期望范围内。

[0010] 在一些任何此类实施方案中,将样品中的工程化(例如CAR+)细胞的水平确定为每微升样品的细胞(例如CAR+细胞)的数量;在一些实施方案中,峰值水平是在将细胞或细胞疗法给予至受试者之后,任选地在给予后的指定时间段内,最高的这种测量值。

[0011] 在一些任何此类实施方案中,治疗范围是其中毒性或毒性结果或其体征或症状(例如严重毒性和/或神经毒性(NT)或CRS)的估计概率小于20%、小于15%、小于10%或小于5%的范围;在一些方面,所述概率是基于概率曲线,例如,基于用细胞疗法和/或细胞治疗或给予细胞疗法和/或细胞以表达重组受体的受试者的结果。在一些实施方案中,实现治疗反应、效果、改善或治疗的估计概率为大于20%、25%、30%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多。

[0012] 在一些任何此类实施方案中,毒性是神经毒性和/或是严重毒性和/或是3-5级神经毒性。

[0013] 在一些实施方案中,反应或反应的指示物是骨髓反应或在受试者的骨髓中测量的结果。在一些情况下,骨髓反应的存在或不存在是通过流式细胞术和/或IgH测序确定,和/或指示或是受试者的样品(任选地受试者的器官、组织或体液,例如受试者的淋巴结、骨髓、肿瘤部位、血液或其他样品)中的疾病或病症细胞的减少或消除。

[0014] 在一些任何此类实施方案中,疾病或病症是癌症。在一些方面,癌症选自肉瘤、癌、淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤(NHL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、白血病、CLL、ALL、AML和骨髓瘤。在一些情况下,癌症是胰腺癌、膀胱癌、结直肠癌、乳腺癌、前列腺癌、肾癌、肝细胞癌、肺癌、卵巢癌、宫颈癌、胰腺癌、直肠癌、甲状腺癌、子宫癌、胃癌、食管癌、头颈癌、黑色素瘤、神经内分泌癌、CNS癌、脑肿瘤、骨癌或软组织肉瘤。

[0015] 在一些任何此类实施方案中,嵌合抗原受体 (CAR) 含有特异性地结合至抗原的细胞外抗原识别结构域和包含ITAM的细胞内信号传导结构域。在一些方面,细胞内信号传导结构域含有CD3-zeta (CD3 ζ) 链的细胞内结构域。在一些实施方案中,嵌合抗原受体 (CAR) 还包含共刺激信号传导区域。在一些情况下,共刺激信号传导区域包含CD28或4-1BB的信号传导结构域。在一些情况下,共刺激结构域是CD28的结构域。在一些情况下,共刺激结构域是4-1BB的结构域。

[0016] 在一些任何此类实施方案中,CAR特异性地识别或结合选自以下项的抗原:B细胞表达的抗原、ROR1、B细胞成熟抗原 (BCMA)、tEGFR、Her2、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、EGP-2、EGP-4、EPHa2、ErbB2、3或4、erbB二聚体、EGFR vIII、FBP、FCRL5、FCRH5、GPCR5D、胎儿乙酰胆碱e受体、GD2、GD3、HMW-MAA、IL-22R- α 、IL-13R- α 2、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 (MAGE) -A1、MAGE-A3、MAGE-A6、优先表达的黑色素瘤抗原 (PRAME)、存活蛋白、EGP2、EGP40、TAG72、B7-H6、IL-13受体a2 (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、双重抗原和与通用标签相关的抗原、癌症-睾丸抗原、间皮素、MUC1、MUC16、PSCA、NKG2D配体、NY-ESO-1、MART-1、gp100、癌胚胎抗原、ROR1、TAG72、VEGF-R2、癌胚抗原 (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和病原体特异性抗原。

[0017] 在一些任何此类实施方案中,细胞是T细胞。在一些情况下,T细胞是CD4+或CD8+。

[0018] 还提供了制品和组合物,例如含有细胞的那些,以及例如根据任何实施方案的方法和用途给予的说明书。

[0019] 本文提供了治疗方法,其包括向患有疾病或病症的受试者给予一定剂量的基因工程化细胞 (包含表达嵌合抗原受体 (CAR) 的T细胞) 以便治疗所述疾病或病症,在给予所述剂量的基因工程化细胞后,监测受试者血液中的CAR+T细胞以评估所述细胞是否在治疗范围内,并且如果所述基因工程化细胞不在治疗范围内,则向受试者给予能够在受试者中调节 (任选地增加或减少) CAR+T细胞扩增或增殖的药剂,其中所述治疗范围是:(i) 基于先前用基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3+CAR+T细胞或其CD8+CAR+T细胞子集的范围,所述范围与大于或大于约65%、70%、75%、80%、85%、90%的估计反应概率以及小于或约30%的估计毒性概率相关;或者(ii) 在给予基因工程化细胞之后,血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的峰值CD3+CAR+T细胞;或者(iii) 在给予基因工程化细胞之后,血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR+T细胞。

[0020] 本文提供了治疗方法,其包括在受试者的血液中监测含有表达嵌合抗原受体 (CAR) 的T细胞的基因工程化细胞的存在以评估所述细胞是否在治疗范围内,其中先前已经向所述受试者给予一定剂量的基因工程化细胞以便治疗疾病或病症;并且如果基因工程化细胞不在治疗范围内,则向受试者给予能够在受试者中调节 (任选地增加或减少) CAR+T细胞扩增或增殖的药剂,其中所述治疗范围是:(i) 基于先前用基因工程化细胞治疗的一个或

多个受试者的血液中的峰值CD3+CAR+T细胞或其CD8+CAR+T细胞子集的范围,所述范围与大于或大于约65%、70%、75%、80%、85%、90%的估计反应概率以及小于或约30%、25%、20%、15%、10%、5%的估计毒性概率相关;或者(ii)在给予基因工程化细胞之后,血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的峰值CD3+CAR+T细胞;或者(iii)在给予基因工程化细胞之后,血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR+T细胞。在一些实施方案中,如果受试者血液中CAR+T细胞的峰值数量小于治疗范围中峰值CAR+T细胞的最低数量,则向受试者给予能够增加CAR+T细胞扩增或增殖的药剂。在一些情况下,所述药剂能够进行CAR特异性扩增。

[0021] 在一些实施方案中,所述药剂是对CAR具有特异性的抗独特型抗体或其抗原结合片段、免疫检查点抑制剂、代谢途径的调节剂、腺苷受体拮抗剂、激酶抑制剂、抗TGF β 抗体或抗TGF β R抗体或细胞因子。

[0022] 在一些实施方案中,如果受试者血液中CAR+T细胞的峰值数量大于治疗范围中峰值CAR+T细胞的最高数量,则向受试者给予能够减少CAR+T细胞扩增或增殖的药剂。在一些例子中,所述药剂是类固醇。在一些情况下,所述类固醇是皮质类固醇。在一些实施方案中,所述类固醇是地塞米松(dexamethasone)或甲基泼尼松龙(methylprednisolone)。

[0023] 在一些任何此类实施方案中,将所述类固醇按以下量的地塞米松或其等效物给予:在或在约1.0mg与约40mg之间、在或在约1.0mg与约20mg之间、在或在约2.0mg与约20mg之间、在或在约5.0mg与约25.0mg之间、在或在约10mg与约20mg之间,每个都包含端值。

[0024] 在一些任何此类实施方案中,在开始给予基因工程化细胞后至少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天或21天的时间监测受试者的血液中的CAR+T细胞。在一些实施方案中,在开始给予所述基因工程化细胞后在或在约11天至22天、12天至18天或14天至16天之间的时间监测所述受试者的血液中的CAR+T细胞,所述时间的每个都包含端值。

[0025] 在一些实施方案中,在开始给予基因工程化细胞后大于或大于约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天或21天的时间给予所述药剂。在一些实施方案中,将所述药剂在开始给予所述基因工程化细胞后在或在约11天至22天、12天至18天或14天至16天之间的时间给予,所述时间的每个都包含端值。

[0026] 提供了调节工程化细胞活性的方法,所述方法包括选择受试者,在所述受试者中,来自受试者的样品中的肿瘤负荷的体积量度或炎性标记的水平、量或浓度等于或高于阈值水平,其中所述样品不含有表达嵌合抗原受体(CAR)的基因工程化T细胞和/或是在接受表达CAR的基因工程化T细胞的给予之前从受试者获得;并且向所选受试者给予能够减少表达CAR的基因工程化T细胞的扩增或增殖的药剂。

[0027] 提供了调节工程化细胞活性的方法,所述方法包括向受试者给予能够在受试者中减少表达嵌合抗原受体(CAR)的基因工程化T细胞的扩增或增殖的药剂,其中所述受试者是其中在来自所述受试者的样品中肿瘤负荷的体积量度或炎性标记的水平、量或浓度等于或高于阈值水平的受试者。

[0028] 在一些实施方案中,将所述药剂在开始给予一定剂量的基因工程化细胞之前或同时给予,所述基因工程化细胞包含表达嵌合抗原受体的T细胞。在一些情况下,所述方法还包括给予一定剂量的基因工程化细胞。

[0029] 在一些实施方案中,受试者患有疾病或病症,并且基因工程化细胞用于治疗所述疾病或病症。

[0030] 在一些实施方案中,在给予药剂之前,所选受试者具有在给予基因工程化细胞后发生毒性的风险。在一些实施方案中,所述药剂的给予足以在受试者中、或在大多数通过所述方法如此治疗的所选受试者中、或在大于75%、80%、85%、90%、95%的通过所述方法如此治疗的所选受试者中,实现在治疗范围内的峰值CAR+T细胞。

[0031] 在一些方面,治疗范围是基于:先前用基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3+CAR+T细胞或其CD8+CAR+T细胞子集的范围,所述范围与大于或大于约65%、70%、75%、80%、85%、90%的估计反应概率以及小于或约30%、25%、20%、15%、10%、5%的估计毒性概率相关;或者在给予基因工程化细胞之后,血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的峰值CD3+CAR+T细胞;或者在给予基因工程化细胞之后,血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR+T细胞。

[0032] 在一些实施方案中,测量肿瘤负荷的体积量度,并且所述体积量度是直径乘积之和 (SPD)、最长肿瘤直径 (LD)、最长肿瘤直径之和 (SLD)、肿瘤体积、坏死体积、坏死-肿瘤比率 (NTR)、瘤周水肿 (PTE)、以及水肿-肿瘤比率 (ETR)。在一些情况下,所述体积量度是直径乘积之和 (SPD)。在一些实施方案中,使用计算机断层成像 (CT)、正电子发射断层成像 (PET) 和/或磁共振成像 (MRI) 测量受试者的体积量度。

[0033] 在一些实施方案中,测量来自受试者的样品中的炎性标记,并且所述炎性标记是C反应蛋白 (CRP)、红细胞沉降率 (ESR)、白蛋白、铁蛋白、 $\beta 2$ 微球蛋白 ($\beta 2$ -M)、乳酸脱氢酶 (LDH)、细胞因子或趋化因子。在一些情况下,炎性标记是LDH。在一些例子中,炎性标记是细胞因子或趋化因子,所述细胞因子或趋化因子是IL-7、IL15、MIP-1 α 或TNF- α 。在一些实施方案中,细胞因子或趋化因子与巨噬细胞或单核细胞激活相关。在一些实施方案中,所述样品是或含有血液样品、血浆样品或血清样品。在一些情况下,使用比色测定或免疫测定来评估炎性标记。在一些情况下,使用免疫测定来评估炎性标记,并且所述免疫测定选自酶联免疫吸附测定 (ELISA)、酶免疫测定 (EIA)、放射免疫测定 (RIA)、表面等离子体共振 (SPR)、蛋白质印迹、侧向流测定、免疫组织化学、蛋白质阵列或免疫PCR (iPCR)。

[0034] 在一些实施方案中,所述阈值是如下值:在高于体积量度或炎性标记的平均值的25%内、20%内、15%内、10%内或5%内,和/或在高于多个对照受试者中体积量度或炎性标记的平均值的标准偏差内;高于在来自多个对照受试者的至少一个受试者中测量的体积量度或炎性标记的最高值,任选地在高于这个最高倍数变化的50%内、25%内、20%内、15%内、10%内或5%内;和/或高于如在来自多个对照受试者的多于75%、80%、85%、90%、95%或98%的受试者中所测量的体积量度或炎性标记的最高值。

[0035] 在一些实施方案中,所述多个对照受试者是在接受一定剂量的基因工程化细胞之前的受试者组,其中所述组的每个对照受试者在血液中展现比所述治疗范围内的最高峰值CAR+T细胞高的峰值CAR+T细胞;所述组的每个对照受试者在接受一定剂量的工程化细胞用于治疗相同疾病或病症后,继续发生毒性,任选地神经毒性或细胞因子释放综合征 (CRS)、2级或3级或更高级神经毒性或者3级或更高级CRS;所述组的每个对照受试者在给予所述剂量的基因工程化细胞之后,均未发生反应,任选地完全反应 (CR) 或部分反应 (PR);和/或所述组的每个对照受试者在给予所述剂量的基因工程化细胞之后,均未发生任选地持续或持

续约或大于或约3个月或者持续或持续约或大于或约6个月持久反应。

[0036] 在一些实施方案中,体积量度是SPD,阈值为或为约 $30/\text{cm}^2$,为或为约 $40/\text{cm}^2$,为或为约 $50/\text{cm}^2$,为或为约 $60/\text{cm}^2$,或者为或为约 $70/\text{cm}^2$ 。

[0037] 在一些实施方案中,炎性标记是LDH,并且阈值为或为约300单位/升,为或为约400单位/升,为或为约500单位/升或者为或为约600单位/升。

[0038] 在一些任何此类实施方案中,所述药剂是类固醇。在一些情况中,所述类固醇是皮质类固醇。在一些例子中,所述类固醇是地塞米松或甲基泼尼松龙。在一些任何此类实施方案中,将所述类固醇按以下量的地塞米松或其等效物给予:在或在约1.0mg与约40mg之间、在或在约1.0mg与约20mg之间、在或在约2.0mg与约20mg之间、在或在约5.0mg与约25.0mg之间、在或在约10mg与约20mg之间,每个都包含端值。在一些实施方案中,在开始给予所述基因工程化细胞之前1天、2天、3天、4天、6天、8天、12天、16天、20天、24天、28天或更长时间内,在所述受试者中测量所述体积量度或炎性标记。

[0039] 提供了向受试者给药的方法,所述方法包括向患有疾病或病症的受试者给予一定剂量的基因工程化细胞(包括表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞),其中所述剂量含有的基因工程化细胞的数量足以在受试者中、或在大多数通过所述方法如此治疗的受试者中、或在大于75%、80%、85%、90%、95%的通过所述方法如此治疗的受试者中,实现在确定的治疗范围内的血液中的峰值CAR+细胞,其中所述治疗范围是:(i)基于先前用所述基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3+CAR+T细胞或其CD8+CAR+T细胞子集的范围,所述范围与大于或大于约65%、70%、75%、80%、85%、90%的估计反应概率以及小于或约30%、25%、20%、15%、10%、5%的估计毒性概率相关;或者(ii)在给予基因工程化细胞之后,血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的峰值CD3+CAR+T细胞;或者(iii)在给予基因工程化细胞之后,血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR+T细胞。

[0040] 在一些任何此类实施方案中,基因工程化细胞的所述剂量含有为或为约 1×10^5 至 5×10^8 个表达CAR的总T细胞、 1×10^6 至 2.5×10^8 个表达CAR的总T细胞、 5×10^6 至 1×10^8 个表达CAR的总T细胞、 1×10^7 至 2.5×10^8 个表达CAR的总T细胞、 5×10^7 至 1×10^8 个表达CAR的总T细胞,每个都包含端值。在一些实施方案中,所述剂量的基因工程化细胞含有至少或至少约 1×10^5 个表达CAR的细胞、至少或至少约 2.5×10^5 个表达CAR的细胞、至少或至少约 5×10^5 个表达CAR的细胞、至少或至少约 1×10^6 个表达CAR的细胞、至少或至少约 2.5×10^6 个表达CAR的细胞、至少或至少约 5×10^6 个表达CAR的细胞、至少或至少约 1×10^7 个表达CAR的细胞、至少或至少约 2.5×10^7 个表达CAR的细胞、至少或至少约 5×10^7 个表达CAR的细胞、至少或至少约 1×10^8 个表达CAR的细胞、至少或至少约 2.5×10^8 个表达CAR的细胞、或者至少或至少约 5×10^8 个表达CAR的细胞。

[0041] 提供了向受试者给药的方法,所述方法包括向患有疾病或病症的受试者给予次最佳剂量的基因工程化细胞(包括用嵌合抗原受体(CAR)工程化的T细胞),其中所述剂量含有的基因工程化细胞的数量不足以在受试者中、或在大多数通过所述方法如此治疗的受试者中、或在大于75%、80%、85%、90%、95%的通过所述方法如此治疗的受试者中,实现在确定的治疗范围内的血液中的峰值CAR+细胞;并且在给予基因工程化细胞之后,给予药剂以增强受试者中CAR+细胞的扩增或增殖,以实现在治疗范围内的血液中的峰值CAR+T细胞,其

中所述治疗范围是：(i) 基于先前用所述基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3+CAR+T细胞或其CD8+CAR+T细胞子集的范围，所述范围与大于或大于约65%、70%、75%、80%、85%、90%的估计反应概率以及小于或约30%、25%、20%、15%、10%、5%的估计毒性概率相关；或者(ii) 在给予基因工程化细胞之后，血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的峰值CD3+CAR+T细胞；或者(iii) 在给予基因工程化细胞之后，血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR+T细胞。

[0042] 在一些实施方案中，在给予所述剂量的基因工程化细胞后，所述方法包括监测受试者血液中的CAR+T细胞。在一些实施方案中，在给予所述药剂后，所述方法实现了：与涉及给予相同剂量的基因工程化细胞但不给予所述药剂的方法相比，在受试者中在确定的治疗范围内的血液中峰值CAR+细胞的频率增加；在受试者中、或在大多数通过所述方法如此治疗的受试者中、或在大于75%、80%、85%、90%、95%的通过所述方法如此治疗的受试者中，在确定的治疗范围内的血液中的峰值CAR+细胞。

[0043] 在一些实施方案中，基因工程化细胞的剂量是小于或小于约 1×10^7 个表达CAR的细胞、小于或小于约 5×10^6 个表达CAR的细胞、小于或小于约 2.5×10^6 个表达CAR的细胞、小于或小于约 1×10^6 个表达CAR的细胞、小于或小于约 5×10^5 个表达CAR的细胞、小于或小于约 2.5×10^5 个表达CAR的细胞、小于或小于约 1×10^5 个表达CAR的细胞。

[0044] 在一些实施方案中，所述药剂能够增加CAR+T细胞的扩增，任选地CAR特异性扩增。在一些情况下，所述药剂是对CAR具有特异性的抗独特型抗体或其抗原结合片段、免疫检查点抑制剂、代谢途径的调节剂、腺苷受体拮抗剂、激酶抑制剂、抗TGF β 抗体或抗TGF β R抗体或细胞因子。

[0045] 在一些任何此类实施方案中，在所治疗的多个受试者中，与不包括给予所述药剂的方法相比，所述方法实现了增加的实现持久反应的受试者的百分比，所述持久反应任选地是完全反应(CR)或客观反应(OR)或部分反应(PR)，任选地可持续等于或大于3个月或者等于或大于6个月。在一些例子中，所述增加为大于或大于约1.2倍、1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍或更多。在一些实施方案中，至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%或至少50%的根据所述方法治疗的受试者实现可持续等于或大于3个月或者等于或大于6个月的完全反应(CR)；和/或至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%或至少70%的根据所述方法治疗的受试者实现可持续等于或大于3个月或者等于或大于6个月的客观反应(OR)。

[0046] 在一些实施方案中，大于或大于约50%、大于或大于约60%、大于或大于约70%或者大于或大于约80%的根据所述方法治疗的受试者不展现3级或更高级的细胞因子释放综合征(CRS)和/或不展现2级或更高级或者3级或更高级的神经毒性；或者大于或大于约40%、大于或大于约50%、或者大于或大于约55%的根据所述方法治疗的受试者不展现任何神经毒性或CRS。

[0047] 在一些任何此类实施方案中，将峰值CAR+T细胞确定为受试者血液中的CAR+T细胞数量/微升。在一些实施方案中，治疗范围是其中估计毒性概率小于20%、小于15%、小于10%或小于5%并且实现反应的估计概率大于65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多的范围。

[0048] 在一些实施方案中，毒性概率是基于选自以下项的毒性：任何神经毒性或细胞因

子释放综合征 (CRS) ; 严重毒性或3级或更高级毒性; 严重CRS或3级或更高级CRS; 或严重神经毒性、2级或更高级神经毒性、或3级或更高级神经毒性。在一些实施方案中, 毒性概率是基于严重毒性或3级或更高级毒性的概率。在一些情况下, 严重毒性是3-5级神经毒性。

[0049] 在一些实施方案中, 所述反应概率是基于作为完全反应 (CR)、客观反应 (OR) 或部分反应 (PR) 的反应, 任选地其中所述反应是持久的, 任选地可持续等于或至少3个月或者等于或至少6个月。在一些实施方案中, 所述反应是骨髓反应, 如基于对所述受试者骨髓中恶性免疫球蛋白重链基因座 (IGH) 和/或指标克隆 (index clone) 的存在的评估所确定的。在一些情况下, 恶性IGH和/或指标克隆是通过流式细胞术或IgH测序来评估。

[0050] 提供了一种评估持久反应的可能性的方法, 所述方法包括在来自受试者的生物样品中检测一种或多种炎性标记的峰值水平和/或基因工程化细胞 (包括表达嵌合抗原受体 (CAR) 的T细胞) 的峰值水平, 其中先前已经向所述受试者给予一定剂量的基因工程化细胞以便治疗疾病或病症; 以及单独地比较峰值水平与阈值, 从而确定受试者将实现对给予基因工程化细胞的持久反应的可能性。

[0051] 在一些实施方案中, 如果一种或多种炎性标记的峰值水平低于阈值, 则受试者可能实现持久反应, 并且如果一种或多种炎症的峰值水平高于阈值, 则受试者不可能实现持久反应; 或者, 如果基因工程化细胞的峰值水平在下限阈值与上限阈值之间的治疗范围内, 则受试者可能实现持久反应, 并且如果基因工程化细胞的峰值水平低于下限阈值或高于上限阈值, 则受试者不可能实现持久反应。

[0052] 在一些实施方案中, 如果确定受试者不可能实现持久反应, 则还包括选择受试者以使用除了基因工程化细胞之外的治疗剂或者替代治疗性治疗来治疗。在一些方面, 如果确定受试者不可能实现持久反应, 则还包括给予除了基因工程化细胞之外的治疗剂或替代治疗性治疗。

[0053] 提供治疗方法, 其包括选择已经接受给予基因工程化细胞 (包括表达嵌合抗原受体 (CAR) 的T细胞) 的受试者, 其中来自受试者的样品中的一种或多种炎性标记的峰值水平高于阈值; 和/或来自受试者的样品中的包括嵌合抗原受体 (CAR) 的T细胞的峰值水平低于下限阈值或高于上限阈值; 以及向受试者给予除了基因工程化细胞之外的治疗剂或替代治疗性治疗。

[0054] 在一些实施方案中, 所述反应是完全反应 (CR)、客观反应 (OR) 或部分反应 (PR)。在一些情况下, 所述反应可持续等于或大于3个月、4个月、5个月或6个月。

[0055] 在一些实施方案中, 在开始给予基因工程化细胞后至少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天或21天的时间评估峰值水平和/或从受试者获得样品。在一些实施方案中, 在开始给予所述基因工程化细胞后在或在约11天至22天、12天至18天或14天至16天之间的时间评估所述峰值水平和/或从所述受试者获得所述样品, 所述时间的每个都包含端值。

[0056] 在一些实施方案中, 所述峰值水平是一种或多种炎性标记的峰值水平, 并且所述炎性标记选自C反应蛋白 (CRP)、IL-2、IL-6、IL-10、IL-15、TNF- α 、MIP-1 α 、MIP-1 β 、MCP-1、CXCL10或CCL13。在一些实施方案中, 评估一种或多种炎性标记的峰值水平, 并且所述阈值在25%内、20%内、15%内、10%内或5%内和/或在所述炎性标记的峰值水平的中值或平均值的标准偏差内, 如在已经接受所述基因工程化细胞的给予的对照受试者组中所确定的,

其中任选地在给予所述基因工程化细胞后等于或大于3个月或6个月,所述组的每个受试者未实现持久反应,任选CR和/或PR。在一些情况下,在给予基因工程化细胞之后,任选地在给予基因工程化细胞之后等于或大于3个月或6个月,对照受试者展现稳定疾病(SD)或进行性疾病(PD)。

[0057] 在一些实施方案中,所述峰值水平是CAR+T细胞或其CD8+T细胞子集的峰值水平。在一些实施方案中,下限阈值和上限阈值分别是先前用基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3+CAR+T细胞或其CD8+CAR+T细胞子集的治疗范围的下限和上限,所述范围与大于或大于约65%、70%、75%、80%、85%、90%的估计反应概率以及小于或约30%、25%、20%、15%、10%、5%的估计毒性概率相关。

[0058] 在一些实施方案中,治疗范围是其中估计毒性概率小于20%、小于15%、小于10%或小于5%并且实现反应的估计概率大于65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多的范围。在一些情况下,毒性概率是基于选自以下项的毒性:任何神经毒性或细胞因子释放综合征(CRS);严重毒性或3级或更高级毒性;严重CRS或3级或更高级CRS;或严重神经毒性、2级或更高级神经毒性、或3级或更高级神经毒性。在一些实施方案中,所述反应概率是基于作为完全反应(CR)、客观反应(OR)或部分反应(PR)的反应,任选地其中所述反应是持久的,任选地可持续等于或至少3个月或者等于或至少6个月。

[0059] 在一些实施方案中,将峰值CAR+T细胞确定为受试者血液中的CAR+T细胞数量/微升。在一些实施方案中,上限阈值在或在约300个细胞/微升与1000个细胞/微升之间或400个细胞/微升与600个细胞/微升之间,或者为约300个细胞/微升、400个细胞/微升、500个细胞/微升、600个细胞/微升、700个细胞/微升、800个细胞/微升、900个细胞/微升或1000个细胞/微升;或者下限阈值为小于或小于约10个细胞/微升、9个细胞/微升、8个细胞/微升、7个细胞/微升、6个细胞/微升、5个细胞/微升、4个细胞/微升、3个细胞/微升、2个细胞/微升或1个细胞/微升。

[0060] 在一些实施方案中,所述样品是血液样品或血浆样品。在一些实施方案中,所述方法是离体进行的。

[0061] 在一些实施方案中,CAR+T细胞的峰值水平低于下限阈值,并且治疗剂是能够减少CAR+T细胞扩增或增殖的药剂。在一些情况下,所述药剂是类固醇。在一些情况下,所述类固醇是皮质类固醇。在一些例子中,所述类固醇是地塞米松或甲基泼尼松龙。在一些实施方案中,将所述类固醇按以下量的地塞米松或其等效物给予:在或在约1.0mg与约40mg之间、在或在约1.0mg与约20mg之间、在或在约2.0mg与约20mg之间、在或在约5.0mg与约25.0mg之间、在或在约10mg与约20mg之间,每个都包含端值。

[0062] 在一些实施方案中,CAR+T细胞的峰值水平高于上限阈值,并且治疗剂是能够增加CAR+T细胞的扩增(任选地CAR特异性扩增)的药剂。

[0063] 在一些实施方案中,所述药剂是对CAR具有特异性的抗独特型抗体或其抗原结合片段、免疫检查点抑制剂、代谢途径的调节剂、腺苷受体拮抗剂、激酶抑制剂、抗TGF β 抗体或抗TGF β R抗体或细胞因子。

[0064] 在一些任何此类实施方案中,疾病或病症是癌症。在一些情况下,癌症是B细胞恶性肿瘤。在一些例子中,癌症选自肉瘤、癌、淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤(NHL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、白血病、CLL、ALL、AML和骨髓瘤。在一些情况中,癌症是胰腺癌、膀胱癌、结

直肠癌、乳腺癌、前列腺癌、肾癌、肝细胞癌、肺癌、卵巢癌、宫颈癌、胰腺癌、直肠癌、甲状腺癌、子宫癌、胃癌、食管癌、头颈癌、黑色素瘤、神经内分泌癌、CNS癌、脑肿瘤、骨癌或软组织肉瘤。

[0065] 在一些实施方案中,受试者是人。

[0066] 在一些实施方案中,CAR特异性地结合至与疾病或病症相关的抗原和/或在与疾病或病症相关的细胞中表达的抗原。在一些例子中,所述抗原选自5T4、8H9、avb6整合素、B7-H6、B细胞成熟抗原(BCMA)、CA9、癌症-睾丸抗原、碳酸酐酶9(CAIX)、CCL-1、CD19、CD20、CD22、CEA、乙型肝炎表面抗原、CD23、CD24、CD30、CD33、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD123、CD138、CD171、癌胚抗原(CEA)、CE7、细胞周期蛋白、细胞周期蛋白A2、c-Met、双重抗原、EGFR、上皮糖蛋白2(EPG-2)、上皮糖蛋白40(EPG-40)、EPHa2、肝配蛋白B2、erb-B2、erb-B3、erb-B4、erbB二聚体、EGFR vIII、雌激素受体、胎儿AchR、叶酸受体 α 、叶酸结合蛋白(FBP)、FCRL5、FCRH5、胎儿乙酰胆碱受体、G250/CAIX、GD2、GD3、gp100、Her2/neu(受体酪氨酸激酶erbB2)、HMW-MAA、IL-22R- α 、IL-13受体 α 2(IL-13Ra2)、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(MAGE)-A1、MAGE-A3、MAGE-A6、MART-1、间皮素、鼠CMV、粘蛋白1(MUC1)、MUC16、NCAM、NKG2D、NKG2D配体、NY-ESO-1、O-乙酰化GD2(OGD2)、癌胚胎抗原、优先表达的黑色素瘤抗原(PRAME)、PSCA、孕酮受体、存活蛋白、ROR1、TAG72、tEGFR、VEGF受体、VEGF-R2、Wilms肿瘤1(WT-1)、病原体特异性抗原。

[0067] 在一些实施方案中,嵌合抗原受体(CAR)含有特异性地结合至抗原的细胞外抗原识别结构域和含有ITAM的细胞内信号传导结构域。在一些情况下,细胞内信号传导结构域含有CD3-zeta(CD3 ζ)链的细胞内结构域。在一些实施方案中,所述嵌合抗原受体(CAR)还含有共刺激信号传导区域。在一些方面,共刺激信号传导区域含有CD28或4-1BB的信号传导结构域。在一些实施方案中,共刺激结构域是4-1BB的结构域。

[0068] 在一些实施方案中,所述细胞是T细胞。在一些情况下,T细胞是CD4⁺或CD8⁺。在一些例子中,T细胞是从受试者获得的原代T细胞。在一些任何此类实施方案中,基因工程化细胞的细胞对于受试者是自体的。在一些实施方案中,细胞对受试者而言是同种异体的。

[0069] 还提供了试剂盒,其含有包含基因工程化细胞(包括表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞)的组合物以及根据或基于评估峰值CAR+T细胞是否在治疗范围内的结果向受试者给予一定剂量的所述细胞的说明书,其中所述治疗范围是:(i)基于先前用基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3+CAR+T细胞或其CD8+CAR+T细胞子集的范围,所述范围与大于或大于约65%的估计反应概率以及小于或约30%的估计毒性概率相关;或者(ii)在给予基因工程化细胞之后,血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的峰值CD3+CAR+T细胞;或者(iii)在给予基因工程化细胞之后,血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR+T细胞。在一些实施方案中,所述说明书详细描述,如果基因工程化细胞不在治疗范围内,则向受试者给予能够在受试者中调节(任选地增加或减少)CAR+T细胞扩增或增殖的药剂。在一些实施方案中,所述试剂盒还含有所述药剂。

[0070] 本发明提供了试剂盒,其含有能够在受试者中调节(任选地增加或减少)基因工程化细胞(包括CAR+T细胞)的扩增或增殖的药剂,以及将所述药剂给予至受试者的说明书,已经基于评估峰值CAR+T细胞是否在治疗范围内的结果向所述受试者给予所述基因工程化细

胞,其中所述治疗范围是(i)基于先前用基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3+CAR+T细胞或其CD8+CAR+T细胞子集的范围,所述范围与大于或大于约65%的估计反应概率以及小于或约30%的估计毒性概率相关,或者(ii)在给予基因工程化细胞之后,血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的峰值CD3+CAR+T细胞;或者(iii)在给予基因工程化细胞之后,血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR+T细胞。在一些实施方案中,所述说明书详细描述,如果受试者血液中CAR+T细胞的峰值数量小于治疗范围内峰值CAR+T细胞的最低数量,则向受试者给予能够增加CAR+T细胞的扩增或增殖的药剂。在一些实施方案中,所述药剂能够进行CAR特异性扩增。

[0071] 在一些实施方案中,所述药剂是对CAR具有特异性的抗独特型抗体或其抗原结合片段、免疫检查点抑制剂、代谢途径的调节剂、腺苷受体拮抗剂、激酶抑制剂、抗TGF β 抗体或抗TGF β R抗体或细胞因子。在一些实施方案中,如果受试者血液中CAR+T细胞的峰值数量大于治疗范围中峰值CAR+T细胞的最高数量,则向受试者给予能够减少CAR+T细胞扩增或增殖的药剂。

[0072] 提供了试剂盒,其含有能够在受试者中减少包含CAR+T细胞的基因工程化细胞的扩增或增殖的药剂,以及用于以下的说明书:评估所述受试者的来自所述受试者的样品中肿瘤负荷的体积量度或炎性标记的水平、量或浓度,并且如果所述水平、量或浓度等于或高于阈值水平,则向所述受试者给予所述药剂,其中所述样品不含有表达嵌合抗原受体(CAR)的基因工程化T细胞和/或是在接受表达CAR的基因工程化T细胞的给予之前从所述受试者获得。在一些实施方案中,体积量度是直径乘积之和(SPD)、最长肿瘤直径(LD)、最长肿瘤直径之和(SLD)、肿瘤体积、坏死体积、坏死-肿瘤比率(NTR)、瘤周水肿(PTE)和水肿-肿瘤比率(ETR)。在一些情况下,所述体积量度是直径乘积之和(SPD)。

[0073] 在一些实施方案中,炎性标记是C反应蛋白(CRP)、红细胞沉降率(ESR)、白蛋白、铁蛋白、 β 2微球蛋白(β 2-M)、乳酸脱氢酶(LDH)、细胞因子或趋化因子。在一些例子中,所述炎性标记是LDH。

[0074] 在一些实施方案中,所述药剂是类固醇。在一些情况下,所述类固醇是皮质类固醇。在一些例子中,所述类固醇是地塞米松或甲基泼尼松龙。在一些实施方案中,将所述类固醇配制为用于按以下量的地塞米松或其等效物给予:在或在约1.0mg与约40mg之间、在或在约1.0mg与约20mg之间、在或在约2.0mg与约20mg之间、在或在约5.0mg与约25.0mg之间、在或在约10mg与约20mg之间,每个都包含端值。

[0075] 在一些实施方案中,CAR特异性地结合至与疾病或病症相关的抗原和/或在与疾病或病症相关的细胞中表达的抗原。在一些实施方案中,基因工程化细胞包括T细胞,任选地CD4+或CD8+T细胞。

[0076] 还提供了含有本文所提供的任何试剂盒的制品。

附图说明

[0077] 图1显示基于血液中CD4+/截短受体+或CD8+/截短受体+CAR-T细胞数量构建的反应的估计概率曲线和发生3-5级神经毒性的估计概率。

[0078] 图2A显示对于依据最佳总体反应分组的受试者,在输注后的某些时间点测量的外周血中CD3⁺/CAR⁺T细胞的数量。

[0079] 图2B-2D显示对于依据在3个月时的持续反应分组、实现反应的受试者,在输注后的某些时间点测量的外周血中的CD3⁺/CAR⁺T细胞、CD4⁺/CAR⁺T和CD8⁺/CAR⁺T细胞水平。

[0080] 图3显示经历过实验室异常和在≥20%受试者中发生的治疗紧急不良事件 (TEAE) 的受试者的百分比。*:一次多器官衰竭的5级AE,与研究治疗无关,并且是由于淋巴瘤进展所致;†:一次弥漫性肺泡损伤的5级AE,研究者评估为与氟达拉滨、环磷酰胺和CAR⁺T细胞疗法有关,在第23天发生于一名受试者中,所述受试者拒绝针对进行性呼吸衰竭进行机械通气,同时患嗜中性粒细胞减少症,使用生长因子以及广谱抗生素和抗真菌药。

[0081] 图4是描绘所观察到的至CRS和神经毒性发作的时间的Kaplan meier曲线。

[0082] 图5A和图5B描绘了经治疗受试者的亚组之间的反应率。

[0083] 图6A和图6B显示受试者的完整和核心群组的反应 (CR/PR、CR或PR) 持续时间和总体存活。

[0084] 图7A显示在不同剂量水平下,在治疗后的不同时间点,外周血中CAR⁺T细胞的药代动力学。

[0085] 图7B显示在反应者与无反应者之间,在治疗后的不同时间点,外周血中CAR⁺T细胞的药代动力学。

[0086] 图7C显示在发生或未发生任何神经毒性的受试者中,在治疗后的不同时间点,外周血中CAR⁺T细胞的药代动力学。

[0087] 图8显示在给予CAR⁺T细胞之前,在受试者血清中测量的分析物水平,以及与神经毒性发生的关联。

[0088] 图9显示标绘无进展时间(月)的图,并指示在用含有表达CAR-T的CD4⁺和CD8⁺T细胞的抗CD19细胞疗法治的NHL受试者的完整群组 and 核心群组内的单独受试者中随时间观察的最佳总体反应和反应持久性以及单独临床结果。^a:患者在第1个月实现BOR,除非另有说明;^b:在2名患者中观察到因淋巴瘤所致的CNS受累的完全消退;^c:一名患者在疾病进展时在活组织检查后再次扩增。

[0089] 图10A描绘表达CAR的CD3⁺细胞/μL血液的中值(±四分位数)数,通过流式细胞术使用对截短受体具有特异性的抗体来评估(CD3,圆形;N=87);整合CAR转基因/μg基因组DNA的中值(±四分位数)数,在来自87名已经给予表达抗CD19 CAR的细胞的受试者的血液样品中通过定量聚合酶链式反应(qPCR)使用对编码CAR的载体中存在的土拨鼠肝炎病毒转录后调节元件(WPRE)具有特异性的引物来评估(qPCR,正方形;N=85)。将流式细胞术中CAR⁺细胞检测的截止值设为CAR⁺门中≥25个事件,并且qPCR的检测限为≥12.5个CAR转基因拷贝/μg基因组DNA。

[0090] 图10B描绘在第11±3天,在来自已经给予表达抗CD19 CAR的细胞的67名受试者的血液和骨髓样品中,表达CAR的CD4⁺和CD8⁺细胞的相对数量/μL。线条代表统一线,不是回归线。

[0091] 图11A和11B描绘在患有从头或从惰性淋巴瘤转化的弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL,NOS;N=27)、经转化滤泡型淋巴瘤(tFL;N=10)、从边缘区淋巴瘤或慢性淋巴细胞白血病转化的DLBCL(tMZL/tCLL;N=4)或套细胞淋巴瘤(MCL;N=5)的受试者亚组中,CD4⁺和CD8⁺CAR⁺细胞的在第0天与第28天之间的中值(±四分位数)曲线下面积(AUC₀₋₂₈;图11A)和最大血清浓度(C_{max};CAR⁺细胞/μL血液;图11B),所述受试者已经在DL1接受表达CAR的T细

胞。

[0092] 图12A和12B描绘在已经于DL1或DL2接受CAR+细胞的受试者中,CD3+、CD4+和CD8+ CAR+细胞的在第0天与第28天之间的中值(±四分位数)曲线下面积(AUC_{0-28} ;图12A)和最大血清浓度(C_{max} ;CAR+细胞/ μL 血液;图12B)。

[0093] 图13A-13D描绘与未发生CRS的受试者(无CRS)相比,在发生细胞因子释放综合征的受试者(任何CRS)中(CD4+:图13A;CD8+:图13B),或与未发生NT的受试者(无NT)相比,在发生神经毒性的受试者(任何NT)中(CD4+:图13C;CD8+:图13D),随时间的表达CAR的CD4+和CD8+CAR+细胞/ μL 血液的中值(±四分位数)数。

[0094] 图14描绘在依据具有CR、PR或PD的最佳总体反应(BOR)的受试者分组的受试者中,峰值CD3+CAR+细胞/ μL ($CD3+C_{max}$)的数量。

[0095] 图15A描绘在来自展现高CAR+细胞扩增($CD3+C_{max}>500$)的受试者和展现低CAR+细胞扩增($CD3+C_{max}<500$)的受试者的血清样品中的淋巴细胞清除前血液分析物水平。

[0096] 图15B描绘在来自展现高CAR+细胞扩增($CD3+C_{max}>500$)的受试者和展现低CAR+细胞扩增($CD3+C_{max}<500$)的受试者的血清样品中的峰值血液分析物水平。

[0097] 图16描绘标绘图,其描绘对于给予CAR+细胞的DL1或DL2的单独受试者,针对CD3+CAR+细胞的 AUC_{0-28} (细胞*天/ μL)的淋巴细胞清除前SPD(cm^2)。

[0098] 图17A和17B描绘与未发生CRS的受试者(CRS 0级)相比,在发生细胞因子释放综合征的受试者(CRS 1-4级)中(图17A),或与未发生NT的受试者(NT 1-4级)相比,在发生神经毒性的受试者(NT 0级)中(图17B),血清样品中的淋巴细胞清除前血液分析物水平。单位为:铁蛋白和D-二聚体($\mu\text{g/L}$);CRP(mg/L)和细胞因子(pg/mL)。

[0099] 图18描绘与未发生CRS的受试者(无CRS)相比,在发生细胞因子释放综合征的受试者(任何CRS)中,或与未发生NT的受试者(无NT)相比,在发生神经毒性的受试者(任何NT)中,对淋巴细胞清除前患者参数的评估:指示肿瘤负荷的尺寸乘积之和(SPD; cm^2)和乳酸脱氢酶(LDH; U/L)水平。

[0100] 图19A是标绘图,其描绘在已发生神经毒性的个体(1-4级NT)或未发生NT的受试者(0级NT)中(左图),以及在已发生CRS的个体(1-4级CRS)或未发生CRS的受试者(0级CRS)中(右图),针对淋巴细胞清除前LDH(U/L)水平的淋巴细胞清除前SPD(cm^2)。虚线表示与较高的CRS或NT率相关的SPD(50cm^2 或更高)或NT(500或更高)的水平。图19B描绘基于SPD(50cm^2 或更高)或NT(500或更高)的水平,发生CRS或NT的优势比估计值,置信区间(CI)为95%。

[0101] 图20描绘对于在3个月时具有持久反应的受试者与在3个月时没有反应的受试者,淋巴细胞清除前肿瘤负荷参数(SPD)和血液分析物水平。单位为:铁蛋白和D-二聚体($\mu\text{g/L}$);CRP和SAA-1(mg/L)和细胞因子(pg/mL)。

[0102] 图21A和21B描绘与未发生CRS的受试者(无CRS)相比,在发生细胞因子释放综合征的受试者(任何CRS)中(图21A),或与未发生NT的受试者(无NT)相比,在发生神经毒性的受试者(任何NT)中(图21B),血清样品中的峰值血液分析物水平。单位为:CRP(mg/L),SAA-1(mg/L)和细胞因子(pg/mL)。

[0103] 图22A描绘与具有稳定疾病(SD)或进行性疾病(PD)的受试者($N=17$)的水平相比,来自具有完全反应(CR)或部分反应(PR)的最佳总体反应(BOR)的受试者($N=57$)的血清样品中的峰值血液分析物水平。图22B描绘与具有3个月反应CR/PR的受试者($N=35$)相比,来

自具有SD/PD的3个月反应的受试者(N=31)的血清样品中的峰值血液分析物水平。单位为:CRP(mg/L),SAA-1(mg/L)和细胞因子(pg/mL)。

[0104] 图23A-23C描绘基于表达CAR的CD3+(图23A)、CD4+(图23B)或CD8+(图23C)细胞的最大血清浓度(C_{max} ;细胞/ μ L血液),反应、毒性和持久反应结果的估计概率曲线。总体反应率(ORR;包括具有完全反应(CR)和部分反应(PR)的受试者)、3个月反应(M3反应;包括给予后第3个月的CR和PR)、任何NT、任何CRS、3-4级NT、3-5级NT或2-5级CRS的估计概率曲线。

具体实施方式

[0105] I. 确定治疗剂量范围的方法

[0106] 本文所提供的实施方案包括涉及和关于将细胞疗法(例如包括工程化细胞的那些)给予至患有或被怀疑患有疾病或病症(例如由所述疗法的细胞特异性识别的那些)的受试者的方法、用途、组合物和制品。在一些方面,所提供的实施方案涉及向受试者给药,例如,向受试者给予特定剂量的细胞疗法,例如给予在或怀疑在治疗剂量范围和/或窗口内的剂量,所述治疗剂量范围和/或窗口通常是在受试者的样品、体液、组织、器官或位置中实现或可能实现工程化细胞的所需水平的范围和/或窗口。

[0107] 过继细胞疗法(包括涉及给予表达对所关注疾病或障碍具有特异性的嵌合受体的细胞的那些(所述嵌合受体例如嵌合抗原受体(CAR)和/或其他重组抗原受体),以及其他过继免疫细胞疗法和过继T细胞疗法)可在癌症和其他疾病和障碍的治疗中有效。在某些情况下,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,对疗法的最佳反应可取决于所给予的细胞的以下能力:识别并结合至靶标(例如靶抗原),运输、定位至并成功进入受试者、肿瘤和其环境内的适当部位,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)),持续(包括长期)存在,分化、转变或参与重编程为某些表型状态(如效应子、长期记忆、较低分化和效应子状态),在清除和再暴露于靶配体或抗原后提供有效且稳健的回忆反应,并避免或减少消耗、无反应性、终末分化和/或分化为抑制状态。

[0108] 在一些方面,过继细胞疗法的治疗效果可受到被给予此类细胞的受试者体内毒性发生的限制,在一些情况下,在所给予细胞的某些剂量或暴露下,所述毒性可能是严重的。在一些情况下,虽然较高剂量的此类细胞可以增加治疗效果(例如,通过增加对细胞的暴露,例如通过促进扩增和/或持久性),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。而且,在一些情况下,具有较高疾病负荷的受试者也可能具有更高的发生毒性或更严重毒性的风险。某些可以用于向受试者给予细胞疗法的方法可能并不总是完全令人满意。增加细胞的剂量或促进所给予细胞在受试者中的扩增或增殖可能与较高反应率相关,但也可能与毒性发生的增加有关。

[0109] 所提供的方法提供在确定细胞疗法的剂量方面优于可用途径的优点。所提供的方法允许向受试者给予在或怀疑在治疗剂量范围和/或窗口内的剂量,所述治疗剂量范围和/或窗口通常是实现或可能实现工程化细胞在受试者中的所需水平的范围和/或窗口。所提供的方法允许细胞的给药,其可以实现或可以关联于治疗结果(例如有利的结果或反应和/或持久反应或结果)的高或指定所需程度的可能性,并且还可以关联于在向受试者给予细胞疗法后发生毒性结果或毒性的风险的相对低或最小化或所需程度的可能性。所提供的方

法还通过以下方式提供优于可用途径的优点:如果确定受试者不可能实现反应和/或持久反应,则允许调节、修改和/或改变细胞疗法,从而在不显著增加毒性风险的情况下优化反应。在一些实施方案中,可以使用药代动力学参数、患者属性、肿瘤负荷和/或生物标记(例如炎症标记)的表达来确定反应的可能性和/或调节、修改或改变疗法的任何需要,以在不显著增加毒性风险的情况下实现更强的反应或更持久反应。

[0110] 在一些实施方案中,治疗剂量范围和/或窗口实现或可能实现工程化细胞(例如CAR T细胞)的所需水平,所述所需水平在一些方面是峰值水平,峰值水平通常是指在治疗后或在治疗后的一定时间段内,在相关样品、体液、组织、器官或其他位置中观察或测量的细胞的最大数量、浓度或百分比。在一些方面,所述水平可以在给定时间或在一定时间段内,细胞的数量、浓度或百分比(例如每重量或体积或面积或总细胞数量的细胞数量)或受试者或组织或器官或体液或位置对细胞的暴露。在一些方面,所述水平是在治疗或给予细胞或其开始后的给定时间段期间,关于相关细胞在组织或样品或体液或器官或其他位置中的数量或百分比或其他读出的标绘图的曲线下面积(AUC)。

[0111] 在一些例子中,所述水平表示为血液中的CAR+细胞浓度(例如,细胞/ μ l)、一定时间段内的CAR+细胞/体积(例如,CAR+细胞/微升)曲线的AUC、治疗后血液中的最大或峰值CAR+细胞/体积(例如,CAR+细胞/微升)、或在治疗或其开始后第1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或21天或第1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12周或更晚时血液中的CAR+细胞/微升。在一些实施方案中,所需水平在确定的治疗范围内,或者是在确定的治疗范围内的水平。

[0112] 在一些实施方案中,治疗范围是与治疗结果(例如有利的结果或反应和/或持久反应或结果)的高或指定所需程度的可能性相关、并且还向受试者给予细胞疗法(例如工程化细胞)后发生毒性结果或毒性的风险的相对低或最小化或所需程度的可能性相关的治疗范围和/或窗口。在一些方面,毒性或毒性结果是细胞因子释放综合征(CRS)或神经毒性(NT)。在一些方面,毒性或毒性结果是任何CRS或1级或更高级CRS,或者任何神经毒性或1级或更高级神经毒性。在一些方面,毒性或毒性结果是严重CRS或3级或更高级CRS,或者严重神经毒性或3级或更高级神经毒性。在一些情况下,毒性风险与疾病负荷、细胞剂量、细胞扩增和细胞的药代动力学(PK)(例如细胞暴露或峰值细胞浓度)相关。然而,在使反应最大化的同时,在一些情况下,需要较高或较大细胞剂量、细胞暴露或细胞峰值浓度。然而,在一些方面,本文发现,持久反应(例如在开始治疗一段时间后持续的反应)的概率可随着较高或较大细胞剂量、细胞暴露或细胞峰值浓度而增加,直至某一剂量、暴露或浓度;然后可减小。本文发现,根据从用CAR+T细胞治疗的受试者群体发生的毒性(例如CRS或神经毒性、严重CRS或严重神经毒性)和反应(例如骨髓反应)和/或持久反应的概率曲线,在曲线之间存在治疗范围和/或窗口,例如最宽范围,在所述范围内可以确定一个剂量以使反应或持久反应的估计概率最大化并使毒性的估计风险最小化。在一些实施方案中,此类概率曲线可以用于选择或确定给予至受试者的细胞剂量的方法中。在一些实施方案中,此类概率曲线可以用于修改细胞剂量和/或调节细胞的扩增和/或活性的方法中,例如通过给予影响细胞扩增、活性和/或功能的药剂和/或干预。

[0113] 在一些实施方案中,所提供的方法包括向受试者给予一定剂量的用嵌合抗原受体(CAR)工程化的细胞,其中所述剂量足以实现在确定的治疗范围内的峰值CAR+细胞/ μ l和/

或在确定的治疗范围内的暴露(例如,AUC),其中所述治疗范围是基于反应结果(例如骨髓反应)和/或持久反应(例如,在3个月时的反应)的估计概率以及毒性结果(例如3-5级神经毒性)的估计概率来确定。

[0114] 在一些实施方案中,估计概率是从基于来自受试者群体(例如至少10、25、50、100、150、300、400、500个或更多个受试者)的效果或结果产生的概率曲线确定的。在一些实施方案中,所述受试者群体是患病受试者,例如患有疾病或病症(例如肿瘤或癌症)的受试者。在一些实施方案中,受试者群体是或包括如下受试者:可能是或是候选者,或者其正在或已经接受用于治疗疾病或病症的基因工程化细胞(例如,CAR-T细胞)的治疗。在一些实施方案中,受试者患有肉瘤、癌或淋巴瘤,任选地非霍奇金淋巴瘤(NHL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、白血病、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、急性淋巴母细胞白血病(ALL)、急性髓样白血病(AML)和骨髓瘤。在一些实施方案中,受试者患有CLL。在一些实施方案中,第一概率曲线是针对毒性结果(例如,CRS或神经毒性,例如3-5级神经毒性)的风险产生,并且第二概率曲线是针对反应结果(例如骨髓反应)产生。在一些实施方案中,第一概率曲线是针对毒性结果(例如,CRS或神经毒性,例如3-5级神经毒性)的风险产生,并且第二概率曲线是针对持久反应结果产生。在一些实施方案中,概率曲线被转换或提供为S形曲线(Sigmoidal curve)。

[0115] 在一些实施方案中,毒性(例如CRS或神经毒性,例如3-5级CRS或神经毒性)的估计概率和/或反应(例如骨髓反应)或持久反应(例如,3个月时的反应)的估计概率与生物样品中(例如在血液中)的峰值CAR+细胞浓度(细胞/ μ l)相关。在一些实施方案中,CAR+细胞是或包含T细胞,例如是或包含CD3+T细胞。在一些实施方案中,T细胞是CD4+或CD8+T细胞。在一些实施方案中,所给予的组合物包含CD4+和CD8+CAR+T细胞,并且针对CD4+细胞和针对CD8+细胞和/或针对CD3+细胞单独产生概率曲线。

[0116] 在一些实施方案中,所提供的方法包括向受试者给药的方法,其包括向受试者给予一定剂量的用重组受体(例如抗原受体,例如嵌合抗原受体(CAR))工程化的细胞,其中所述剂量足以实现在确定的治疗范围内的峰值CAR+细胞/ μ l,其中所述治疗范围是基于反应结果(例如骨髓反应)和/或持久反应(例如,在3个月时的反应)的估计概率和毒性结果(例如CRS或神经毒性,例如3-5级神经毒性)的估计概率来确定。在一些实施方案中,在毒性概率曲线上,引起毒性的估计概率小于35%、小于30%、小于25%、小于20%、小于15%、小于10%或小于5%。在一些实施方案中,实现反应的估计概率为大于65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高。在一些实施方案中,实现持久反应(例如在3个月的反应)的估计概率为大于65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高。在一些实施方案中,毒性是CRS,例如任何CRS,例如1级或更高级CRS,或者神经毒性,例如任何神经毒性,例如1级或更高级神经毒性。在一些实施方案中,严重的毒性是严重CRS或3级或更高级CRS,或者严重神经毒性或3级或更高级神经毒性。在一些情况下,反应是骨髓反应。在一些实施方案中,使用IgH深度测序评估反应。在一些实施方案中,毒性结果是严重神经毒性或3级或更高级神经毒性,例如3-5级神经毒性。

[0117] 还提供了一种给药方法,其通过向患有疾病或病症(例如肿瘤或癌症)的受试者给予一定剂量的细胞,并且在输注后监测受试者的峰值CAR+细胞/ μ l,例如在用细胞疗法输注后的一个或多个不同时间点监测,例如在或约或大于3天、7天、14天、28天、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、1年、2年或更长时间监测;或随时间监测AUC,例如在给予后的至多一个

或多个时间点监测,例如,在用细胞疗法输注后至多或至多约或大于3天、7天、14天、28天、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、1年、2年或更长时间监测。在一些实施方案中,所述方法可以包括确定或评估峰值CAR+细胞/ μ l在治疗范围内的概率,例如从毒性概率曲线和/或反应概率曲线和/或持久反应概率曲线来确定。在一些实施方案中,如果峰值CAR+细胞/ μ l或AUC不在治疗范围内,则所述方法还涉及给予化合物或药剂以增强或加强体内的CAR+细胞扩增而使得峰值CAR+扩增在治疗范围内(例如通过所提供的方法来确定);和/或以减少、抑制、预防和/或延迟CAR+T细胞活性和/或扩增。

[0118] 还提供了通过向受试者给予次最佳剂量的细胞来向患有疾病或病症(例如肿瘤或癌症)的受试者给药的方法,其中所述剂量不足以实现在确定的治疗范围内的峰值CAR+细胞/ μ l。在一些实施方案中,所述方法还涉及给予化合物或药剂以增强或加强体内的CAR+细胞扩增,使得峰值CAR+扩增在治疗范围内,例如通过所提供的方法来确定。

[0119] 在一些实施方案中,所述方法还涉及基于峰值CD3+、CD4+和/或CD8+CAR+T细胞浓度(细胞/ μ l)和/或AUC(例如,峰值CD8+CAR+T细胞浓度)的反应和毒性概率曲线向受试者给予第二剂量的细胞。在一些实施方案中,所述方法还涉及基于峰值CD3+、CD4+和/或CD8+CAR+T细胞浓度(细胞/ μ l)和/或AUC(例如,峰值CD8+CAR+T细胞浓度)的反应和毒性概率曲线向受试者给予肿瘤微环境(TME)靶向剂。在一些方面,所述方法允许选择实现更持久反应和/或缓解的剂量范围。还提供了涉及评估、确定或监测受试者中所给予细胞的药代动力学参数的方法,所述药代动力学参数例如给予的最大(峰值)血浆浓度(C_{max})和曲线下面积(即通过标绘时间与治疗剂CAR+T细胞的血浆浓度产生的曲线下面积;AUC)。在一些实施方案中,此类评估可以用于确定所给予的细胞是否在治疗范围或窗口内。在一些实施方案中,此类评估可以用作指示物以调节、修改和/或改变疗法,例如通过给予能够调节所给予CAR+T细胞的扩增、增殖和/或活性的药剂,给予额外的和/或经修改的剂量,和/或给予替代疗法。在一些实施方案中,还因此提供了给予治疗剂的方法。在一些实施方案中,此类评估可以用于监测治疗进展和/或评估经调节治疗的效果。在一些实施方案中,此类测量值可以用于评估反应或持久反应的可能性。

[0120] 还提供了涉及评估、确定或监测其他参数的方法,所述其他参数例如患者属性、肿瘤负荷和/或生物标记(例如炎症性标记)的表达。在一些实施方案中,可以使用在给予细胞疗法或其开始之前获得的来自受试者的样品进行所述评估。在一些实施方案中,可以使用在给予细胞疗法或其开始后获得的来自受试者的样品进行所述评估。在一些实施方案中,此类评估可以用于确定所给予细胞是否可能在治疗范围或窗口内,或者可能与在治疗范围或窗口内相关联或有关。在一些实施方案中,此类评估可以用作指示物以调节、修改和/或改变疗法,例如通过给予能够调节所给予CAR+T细胞的扩增、增殖和/或活性的药剂,给予额外的和/或经修改的剂量,和/或给予替代疗法。在一些实施方案中,还因此提供了给予治疗剂的方法。在一些实施方案中,此类评估可以用于监测治疗进展和/或评估经调节治疗的效果。在一些实施方案中,此类测量值可以用于评估反应或持久反应的可能性。

[0121] II. 毒性和反应概率曲线

[0122] 在一些实施方案中,产生来自所描述的受试者群体的概率曲线并且所述概率曲线与毒性结果(例如CRS或神经毒性,例如3-5级神经毒性)的风险或反应(例如骨髓反应)和/或反应持久性(例如,第3个月的反应)相关联。在一些实施方案中,将关于如上所述的毒性

结果和反应结果的信息与关于受试者中的峰值细胞水平和/或浓度或暴露(例如,AUC)收集的数据组合和/或相关联。在一些实施方案中,从受试者群组收集关于毒性结果和反应结果的信息,将每条信息与细胞水平数据(例如,CAR+T细胞的峰值数量或浓度)相关联,并独立进行评估。例如,在一些实施方案中,收集毒性结果数据并用CAR+细胞数量评估以构建毒性概率曲线。在一些情况下,收集反应结果数据(包括持久反应结果的数据),并用CAR+细胞数量评估,以构建反应概率曲线和/或持久反应概率曲线。

[0123] 在一些实施方案中,所得的毒性和反应和/或持久反应概率曲线可以联合评估,例如平行评估或大致同时或基本上同时评估,以给出受试者的给药决定或适应性治疗的信息。

[0124] 在一些实施方案中,使用毒性结果和反应结果基于血液中CAR+T细胞的数量、浓度和/或暴露来构建反应的估计概率曲线和发生毒性的估计概率。在一些情况下,实现反应的估计概率为大于65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高。在一些情况下,实现持久反应(例如3个月或6个月的持久反应)的估计概率为大于65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高。在一些情况下,在毒性概率曲线上,引起或导致毒性的估计概率小于35%、小于30%、小于25%、小于20%、小于15%、小于10%或小于5%。

[0125] 在一些实施方案中,所述方法涉及给予足够数量或剂量的细胞以在受试者中实现在确定的目标治疗范围或窗口内的峰值CAR+细胞浓度。在一些实施方案中,所述方法涉及给予足够数量或剂量的细胞以在大多数通过所述方法如此治疗的受试者(或者大于或大于约50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%或95%或更多,例如大于75%通过所述方法如此治疗的受试者)中实现在确定的目标治疗范围或窗口内的峰值CAR+细胞浓度。在所提供的方法中,评估与毒性(毒性结果)相关的一种或多种治疗结果或事件以及与治疗剂的功效(反应结果,包括持久反应结果)相关的一种或多种治疗结果或事件,并且根据所提供的方法做出给药决定。在一些实施方案中,将关于毒性结果和反应结果的信息组合和/或与所收集的关于受试者中的峰值细胞水平、浓度和/或暴露的数据相关联。在一些实施方案中,从受试者群组收集关于毒性结果和反应结果的信息,将每条信息与细胞水平数据相关联,并独立评估。例如,在一些实施方案中,收集并评估毒性结果数据以构建毒性概率曲线,并收集和评估反应结果数据以构建反应概率曲线。在一些实施方案中,收集并评估持久反应结果数据(例如,在3、6、9或12个月的持久反应)以构建持久反应概率曲线。

[0126] 在一些实施方案中,可以联合评估毒性和反应概率曲线,例如平行评估或大致同时或基本同时评估,以给出受试者的给药决定或适应性治疗的信息。

[0127] 在一些实施方案中,在存在毒性结果和反应结果的时间监测毒性结果和反应结果。可能存在这种结果的特定时间将取决于特定治疗剂并且是熟练技术人员(例如医生或临床医生)已知的,或者是这样的熟练技术人员所熟练掌握的。在一些实施方案中,评估毒性结果或反应结果的时间是在或大约在受试者中可检测到毒性症状或功效的时间段内,或者在受试者中无法检测到与无反应或毒性相关的不良结果的时间。在一些实施方案中,所述时间段接近或基本接近受试者中的毒性结果和/或反应结果达到峰值的时间。在一些实施方案中,所述时间段包括评估反应持久性(例如在首次给予细胞后3、6、9或12个月的持久反应)所需的时间。

[0128] 在一些实施方案中,可以在受试者中在以下时间评估毒性结果或反应结果:在或

大约在开始将第一剂量的治疗剂给予至受试者后120天内、在或大约在开始第一剂量后90天内、在或大约在开始第一剂量的治疗剂后60天内、或在或大约在开始将第一剂量给予至受试者后30天内。在一些实施方案中,可以在受试者中在以下时间评估毒性结果或反应:在或大约在开始将第一剂量给予至受试者后6天、12天、16天、20天、24天、28天、32天、36天、40天、44天、48天、52天、56天、60天、64天、68天、72天、76天、80天、84天、88天、92天、96天或100天内。

[0129] 在一些实施方案中,毒性结果或反应结果存在或可以在仅给予单一剂量治疗剂的这种时间段进行评估或监测。在过继细胞疗法的背景下,给定“剂量”的给予包括以单一组合物和/或单次不间断给药的方式(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,并且还包括在不超过3天的指定时间段内以在多个单独组合物或输注中提供的分割剂量的方式给予给定量或数量的细胞。因此,在一些情况下,第一剂量是指定细胞数量的单次或连续给予,在单一时间点给予或开始。然而,在一些情况下,第一剂量是在不超过三天的时段期间以多次注射或输注来给予,例如每天一次达三天或两天,或通过在一天时段期间多次输注来给予。

[0130] 术语“分割剂量”是指分割的剂量,使其在超过一天的时间内给予。这种类型的给药包括在本方法中并且被认为是单一剂量。

[0131] 如本文所用,“第一剂量”用于描述给定剂量的时机,所述剂量在一些情况下可以是唯一的剂量,或者可以在其之后给予一次或多次重复或额外剂量。所述术语不一定意味着受试者之前从未接受过治疗剂的剂量,甚至受试者之前尚未接受过相同或基本相同的治疗剂的剂量。

[0132] 在一些实施方案中,毒性结果或反应结果存在和/或可以在以下时间段进行评估或监测:在给予治疗剂的第一周期之后、在给予治疗剂的第二周期之后、在给予治疗剂的第三周期之后、或在给予治疗剂的第四周期之后。在一些实施方案中,给予周期可以是在连续给予期间重复的给药方案的重复时间表。在一些实施方案中,给予时间表可以是每天、每隔一天或每周一次,持续一周、两周、三周或四周(例如28天)。

[0133] 在一些实施方案中,毒性结果和反应结果可以通过监测与毒性结果相关的一种或多种症状或事件以及与反应结果相关的一种或多种症状或事件来评估。在一些实施方案中,所述疾病或病症是肿瘤或癌症。

[0134] A. 毒性结果

[0135] 在一些实施方案中,可以评估或监测受试者对给予治疗剂(例如CAR T细胞)的毒性结果。在一些实施方案中,毒性结果是毒性事件或与毒性事件的存在有关,所述毒性事件例如细胞因子释放综合征(CRS)、严重CRS(sCRS)、巨噬细胞激活综合征、肿瘤溶解综合征、在或在约38摄氏度发热三天或更多天且C反应蛋白(CRP)的血浆水平为至少或至少约20mg/dL、神经毒性和/或严重神经毒性。在一些实施方案中,毒性结果是体征或症状,特定地多种体征和症状和/或其量或程度,其存在或不存在可指定受试者中毒性的特定程度、严重性或水平。熟练技术人员熟练地掌握指定或确定与治疗剂(例如CAR-T细胞)的不期望毒性结果相关的特定体征、症状和/或其量或程度。

[0136] 在一些实施方案中,毒性结果是与毒性事件相关的指示物。在一些实施方案中,毒性结果是一种或多种生物标记的存在或不存在,或者一定水平的一种或多种生物标记的存

在或不存在。在一些实施方案中,生物标记是存在于血清或其他体液或组织中的分子,其指示细胞因子释放综合征(CRS)、严重CRS或CRS相关结果。在一些实施方案中,生物标记是存在于血清或其他体液或组织中的分子,其指示神经毒性或严重神经毒性。

[0137] 在一些实施方案中,如果毒性事件(如CRS相关结果),例如如果CRS的指示物或毒性的其他生化指示物的血清水平是基线或治疗前水平(如在即将给予第一剂量治疗剂之前所述指示物的血清水平)的大于或大于约10倍、大于或大于约15倍、大于或大于约20倍、大于或大于约25倍、大于或大于约50倍、大于或大于约75倍、大于或大于约100倍、大于或大于约125倍、大于或大于约150倍、大于或大于约200倍、或者大于或大于约250倍,则受试者展现毒性或毒性结果。

[0138] 在一些方面,毒性结果是细胞因子释放综合征(CRS)或严重CRS(sCRS)或与细胞因子释放综合征(CRS)或严重CRS(sCRS)相关或指示细胞因子释放综合征(CRS)或严重CRS(sCRS)。在一些情况下,在过继T细胞疗法和向受试者给予其他生物制品后可发生CRS,例如sCRS。参见Davila等人,Sci Transl Med 6,224ra25(2014);Brentjens等人,Sci.Transl.Med.5,177ra38(2013);Grupp等人,N.Engl.J.Med.368,1509-1518(2013);和Kochenderfer等人,Blood 119,2709-2720(2012);Xu等人,Cancer Letters 343(2014) 172-78。

[0139] 通常,CRS由例如通过T细胞、B细胞、NK细胞、单核细胞和/或巨噬细胞介导的过度的全身免疫应答引起。这种细胞可释放大量炎症介质如细胞因子和趋化因子。细胞因子可引发急性炎症应答和/或诱导内皮器官损伤,所述内皮器官损伤可能导致微血管渗漏、心力衰竭或死亡。严重危及生命的CRS可导致肺浸润和肺损伤、肾衰竭或弥散性血管内凝血。其他严重危及生命的毒性可包括心脏毒性、呼吸窘迫、神经毒性和/或肝衰竭。

[0140] 在给予表达CAR的细胞的情况下,CRS通常在输注表达CAR的细胞后6-20天发生。参见Xu等人,Cancer Letters 343(2014) 172-78。在一些情况下,CRS在CAR T细胞输注后少于6天或超过20天发生。CRS的发生率和时间可能与输注时的基线细胞因子水平或肿瘤负荷有关。通常,CRS包括干扰素(IFN)- γ 、肿瘤坏死因子(TNF)- α 和/或白细胞介素(IL)-2的血清水平升高。可在CRS中快速诱导的其他细胞因子是IL-1 β 、IL-6、IL-8和IL-10。

[0141] 与CRS相关的示例性体征或症状包括发热、僵直、寒战、低血压、呼吸困难、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、脑病、天冬氨酸转氨酶(AST)/丙氨酸转氨酶(ALT)升高、肾衰竭、心脏病、缺氧、神经紊乱和死亡。神经系统并发症包括谵妄、癫痫样活动、意识模糊、找词困难、失语和/或变得迟钝。其他CRS相关体征或结果包括疲劳、恶心、头痛、癫痫发作、心动过速、肌痛、皮疹、急性血管渗漏综合征、肝功能损害和肾衰竭。在一些方面,CRS与一种或多种因子(如血清铁蛋白、d-二聚体、氨基转移酶、乳酸脱氢酶和甘油三酯)的增加相关,或与低纤维蛋白原血或肝脾肿大相关。

[0142] 在一些实施方案中,与CRS相关的体征或症状包括以下中的一种或多种:持续性发热,例如,在指定温度(例如,高于或高于约38摄氏度)下发热两天或更多天(例如三天或更多天,例如,四天或更多天或至少连续三天);在高于或高于约38摄氏度下发热;细胞因子(例如IFN γ 或IL-6)升高;和/或毒性的至少一种临床体征,例如低血压(例如,如通过至少一种静脉内血管用加压器来测量);缺氧(例如,血浆氧(PO_2)水平低于或低于约90%);和/或一种或多种神经障碍(包括精神状态变化,迟钝和癫痫发作)。

[0143] 示例性CRS相关结果包括一种或多种因子的增加的或高血清水平,所述一种或多种因子包括细胞因子和趋化因子以及与CRS相关的其他因子。示例性结果进一步包括一种或多种此类因子的合成或分泌的增加。这种合成或分泌可以通过T细胞或与T细胞相互作用的细胞(如先天免疫细胞或B细胞)。

[0144] 在一些实施方案中,在CAR治疗之前、期间或之后监测一种或多种炎性标记,例如细胞因子或趋化因子。在一些方面,一种或多种细胞因子或趋化因子包括IFN- γ 、TNF- α 、IL-2、IL-1 β 、IL-6、IL-7、IL-8、IL-10、IL-12、sIL-2R α 、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)或巨噬细胞炎性蛋白(MIP)。在一些实施方案中,监测IFN- γ 、TNF- α 和IL-6。

[0145] 在一些实施方案中,一种或多种生物标记的存在指示毒性事件(例如CRS或神经毒性)的等级、严重性或程度。在一些实施方案中,毒性结果是毒性事件的特定等级、严重性或程度,例如CRS或神经毒性的特定等级、严重性或程度。在一些实施方案中,大约某种等级、严重性或程度的毒性事件的存在可能是剂量限制性毒性。在一些实施方案中,毒性事件的不存在或低于某一等级、严重性或程度的毒性事件的存在可能指示剂量限制性毒性的不存在。

[0146] 已经研发CRS标准,其似乎与CRS的发作相关,以预测哪些患者更可能具有发生sCRS的风险(参见Davilla等人Science translational medicine.2014;6(224):224ra25)。因素包括发热、缺氧、低血压、神经系统变化、炎性细胞因子的血清水平升高,所述炎性细胞因子的治疗诱导的升高可能与治疗前的肿瘤负荷和sCRS症状二者密切相关。关于CRS的诊断和管理的其他指南是已知的(参见例如, Lee等人, Blood.2014;124(2):188-95)。在一些实施方案中,反映CRS等级的标准是下表1中详述的那些。

[0147]

表1: CRS的示例性分级标准	
等级	症状描述
1 轻度	不危及生命,只需要对症治疗如退热药和止吐药(如发热、恶心、疲劳、头痛、肌痛、不适)
2 中等	需要并响应中等干预: <ul style="list-style-type: none">• 氧气需求<40%, 或• 低血压对流体或低剂量的单一血管加压药有反应, 或• 2级器官毒性(通过CTCAE v4.0)
3	需要并响应积极干预:

[0148]

表1: CRS的示例性分级标准	
等级	症状描述
严重	<ul style="list-style-type: none">• 氧气需求$\geq 40\%$, 或• 需要高剂量单一血管加压药的低血压 (例如, 去甲肾上腺素$\geq 20\text{ }\mu\text{g/kg/min}$、多巴胺$\geq 10\text{ }\mu\text{g/kg/min}$、去氧肾上腺素$\geq 200\text{ }\mu\text{g/kg/min}$或肾上腺素$\geq 10\text{ }\mu\text{g/kg/min}$), 或• 需要多种血管加压药的低血压 (例如, 加压素+上述药剂之一, 或相当于$\geq 20\text{ }\mu\text{g/kg/min}$去甲肾上腺素的组合血管加压药), 或• 3级器官毒性或4级转氨酶升高 (通过CTCAE v4.0)
4 危及生命	危及生命: <ul style="list-style-type: none">• 需要呼吸机支持, 或• 4级器官毒性 (不包括转氨酶升高)
5 致命	死亡

[0149] 在一些实施方案中,毒性结果是严重CRS。在一些实施方案中,毒性结果是严重CRS的不存在 (例如中度或轻度CRS)。在一些实施方案中,严重CRS包括3级或更高级CRS,如表1中所示。在一些实施方案中,严重CRS包括2级或更高级CRS,例如2级、3级、4级或5级CRS。

[0150] 在一些实施方案中,毒性结果 (例如,CRS相关结果) 的水平 (例如CRS指示物的血清水平) 是通过ELISA测量。在一些实施方案中,可以测量发热和/或C反应蛋白 (CRP) 的水平。在一些实施方案中,患有发热且CRP $\geq 15\text{mg/dL}$ 的受试者可以被认为具有发生严重CRS的高风险。在一些实施方案中,CRS相关血清因子或CRS相关结果包括炎性细胞因子和/或趋化因子的水平和/或浓度的增加,所述炎性细胞因子和/或趋化因子包括F1t-3L、分形趋化因子 (fracktalkine)、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、IL-2、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-10、IL-12、干扰素 γ (IFN- γ)、巨噬细胞炎性蛋白 (MIP) -1、MIP-1、sIL-2R α 或肿瘤坏死因子 α (TNF α)。在一些实施方案中,所述因子或结果包括C反应蛋白 (CRP)。除了作为CRS的早期且易于测量的风险因子外,CRP也是细胞扩增的标记。在一些实施方案中,测量具有高水平CRP (如 $\geq 15\text{mg/dL}$) 的受试者患有CRS。在一些实施方案中,测量具有高水平CRP的受试者不具有CRS。在一些实施方案中,CRS的量度包括CRP的量度和指示CRS的另一因子。

[0151] 在一些方面,毒性结果是神经毒性或与神经毒性相关。在一些实施方案中,与神经毒性的临床风险相关的体征或症状包括意识错乱、谵妄、表现性失语、迟钝、肌阵挛、嗜睡、精神状态改变、惊厥、癫痫样活动、癫痫发作 (任选地如通过脑电图 (EEG) 确认)、 β 淀粉样蛋

白 (Aβ) 水平升高、谷氨酸水平升高和氧自由基水平升高。在一些实施方案中,基于严重程度对神经毒性进行分级(例如,使用1-5级量表(参见例如Guido Cavaletti&Paola Marmioli Nature Reviews Neurology 6,657-666(December 2010);美国国家癌症研究所一常见毒性标准第4.03版(NCI-CTCAE v4.03))。在一些实施方案中,如本文所用,如果在给药后受试者显示出如下限制自理(例如洗澡、穿衣和脱衣、进食、如厕、服药)的症状,则认为受试者响应于或继发于细胞疗法或其一剂细胞的给予而产生“严重神经毒性”:1) 外周运动神经病的症状,包括外周运动神经的炎症或退化;2) 外周感觉神经病的症状,包括外周感觉神经的炎症或退化、感觉迟钝(如感官知觉失真),导致异常和不愉快的感觉、神经痛(如沿着神经或一组神经的剧烈疼痛感),和/或感觉异常如感觉神经元的功能性紊乱,导致在没有刺激的情况下刺痛、麻木、压迫、冷和温的异常皮肤感觉。在一些实施方案中,严重神经毒性包括3级或更高级神经毒性,如表2中所示。在一些实施方案中,严重神经毒性包括2级或更高级神经毒性,例如2级、3级、4级或5级神经毒性。

[0152]

表2: 神经毒性的示例性分级标准	
等级	症状描述
1 无症状或轻度	轻度或无症状的症状
2 中等	存在限制工具性日常生活活动 (ADL) (如准备饭菜、购买杂货或衣服、使用电话、理财) 的症状
3 严重	存在限制自理ADL (如洗澡、穿衣和脱衣、自己进食、如厕、服药) 的症状

[0153]

表2: 神经毒性的示例性分级标准	
等级	症状描述
4 危及生命	危及生命的症状, 需要紧急干预
5 致命	死亡

[0154] 在一些实施方案中,毒性结果是剂量限制性毒性。在一些实施方案中,毒性结果是剂量限制性毒性的不存在。在一些实施方案中,剂量限制性毒性 (DLT) 定义为任何3级或更高级的毒性,如通过任何已知或公布的评估特定毒性的指南例如上述任何指南并且包括国家癌症研究所 (National Cancer Institute,NCI) 的不良事件通用术语标准 (Common Terminology Criteria for Adverse Events,CTCAE) 4.0版所评估的。

[0155] B. 反应结果

[0156] 在一些实施方案中,可以监测或评估受试者对给予治疗剂的反应结果。在一些实施方案中,反应结果是无反应。在一些实施方案中,反应结果是部分反应。在一些实施方案中,反应结果是完全反应 (CR)。在一些实施方案中,通过监测受试者的疾病负荷来评估反应

结果。在一些实施方案中,可以评估无反应、部分反应或临床或完全反应的存在。

[0157] 在一些实施方案中,部分反应 (PR) 或完全反应 (CR) 是治疗剂减少或防止受试者中的疾病或病症的扩展或负荷的反应。例如,当疾病或病症是肿瘤时,如果与用治疗剂 (例如 CAR T 细胞) 治疗之前相比,肿瘤大小、体积、转移、骨髓中原始细胞 (blast) 的百分比或可分子检测的癌症有所减少,和/或预后或存活或与肿瘤负荷相关的其他症状有所改善,则存在或呈现减少的疾病负荷。

[0158] 在一些实施方案中,尽管受试者已经对另一种疗法产生抗性,但给药有效地治疗了受试者。在一些实施方案中,至少35%、至少40%或至少50%的根据所述方法治疗的受试者实现完全反应 (CR); 和/或至少50%、至少60%或至少70%的根据所述方法治疗的受试者实现客观反应率 (ORR)。在一些实施方案中,至少或约至少50%的根据所述方法治疗的受试者、至少或约至少60%的受试者、至少或约至少70%的受试者、至少或约至少80%的受试者或至少或约至少90%的受试者实现CR和/或实现客观反应 (OR)。在一些实施方案中,有效治疗的所评估标准包括总体反应率或客观反应率 (ORR)、完全反应 (CR)、反应持续时间 (DOR)、无进展存活期 (PFS) 和/或总存活期 (OS)。

[0159] 在一些实施方案中,至少40%或至少50%的根据本文所提供的方法治疗的受试者实现完全缓解 (CR), 展现大于或大约3个月、6个月或12个月或大于13个月或约14个月的无进展存活期 (PFS) 和/或总存活期 (OS); 平均而言,根据所述方法治疗的受试者展现大于或大于约6个月、12个月或18个月的中值PFS或OS; 和/或所述受试者在治疗后展现至少或至少约6、12、18个月或更长时间的PFS或OS。

[0160] 在一些方面,受试者 (例如患有NHL的受试者) 的反应率是基于卢加诺标准 (Lugano criteria)。(Cheson等人, (2014) JCO 32(27):3059-3067; Johnson等人, (2015) Radiology 2:323-338; Cheson, B.D. (2015) Chin Clin Oncol 4(1):5)。在一些方面,反应评估利用临床、血液学和/或分子方法中的任何一种。在一些方面,使用卢加诺标准评估的反应涉及视情况使用正电子发射断层成像 (PET) - 计算机断层成像 (CT) 和/或CT。PET-CT评价还可包括使用氟脱氧葡萄糖 (FDG) 用于嗜FDG淋巴瘤。在一些方面,如果将使用PET-CT来评估嗜FDG组织学中的反应,则可以使用5分量表。在一些方面,5分量表包含以下标准:1,没有高于背景的摄取;2,摄取 \leq 纵隔;3,摄取 $>$ 纵隔但 \leq 肝脏;4,摄取适度 $>$ 肝脏;5,摄取显著高于肝脏和/或新病灶;X,新的摄取区域不可能与淋巴瘤有关。

[0161] 在一些方面,如使用卢加诺标准描述的完全反应涉及在不同可测量部位处的完全代谢反应和完全放射学反应。在一些方面,这些部位包括淋巴结和淋巴外部位,其中当使用PET-CT时,在5分量表上CR被描述为得分为1、2或3,其具有或不具有残余质量。在一些方面,在脾或骨髓内具有高生理摄取或激活的Waldeyer环或结节外部位中 (例如,对于化学疗法或骨髓集落刺激因子), 摄取可能大于正常纵隔和/或肝脏。在这种情况下,如果初始侵犯部位的吸收不大于周围正常组织,即使组织具有高生理吸收,也可以推断完全代谢反应。在一些方面,使用CT在淋巴结中评估反应,其中CR被描述为没有患病的淋巴外部位,并且靶淋巴结/淋巴结肿块的最长横径 (LDi) 必须恢复至 ≤ 1.5 cm。其他评估部位包括骨髓,其中基于PET-CT的评估应表明在骨髓中缺乏嗜FDG疾病的证据,并且基于CT的评估应表明正常形态,如果不确定则应是IHC阴性。其他部位可能包括器官增大的评估,其应恢复正常。在一些方面,评估未测量的病灶和新病灶,其在CR的情况下应不存在 (Cheson等人, (2014) JCO

32(27):3059-3067;Johnson等人,(2015)Radiology 2:323-338;Cheson,B.D.(2015)Chin Clin Oncol 4(1):5)。

[0162] 在一些方面,如使用卢加诺标准描述的部分反应(PR)涉及在不同可测量部位的部分代谢和/或放射学反应。在一些方面,这些部位包括淋巴结和淋巴外部位,其中在使用PET-CT时,与基线和任何大小的一种或多种残余质量相比,将PR描述为4分或5分,具有降低的摄取。在中间时期,此类发现可以指示反应中的疾病。在治疗结束时,此类发现可以指示残留疾病。在一些方面,使用CT在淋巴结中评估反应,其中将PR描述为多达6个靶标可测量结节和结节外部位的尺寸乘积之和(SPD)减小 $\geq 50\%$ 。如果病灶太小而无法在CT上测量,则将 $5\text{mm} \times 5\text{mm}$ 指定为默认值;如果病灶不再可见,则所述值为 $0\text{mm} \times 0\text{mm}$;对于 $>5\text{mm} \times 5\text{mm}$ 但小于正常的结节,使用实际测量值进行计算。其他评估部位包括骨髓,其中基于PET-CT的评估应指示残留摄取,所述残留摄取高于正常骨髓中的摄取,但与基线相比有所降低(弥漫性摄取与来自所允许的化疗的反应性变化相容)。在一些方面,如果在结节反应的情况下在骨髓中存在持续的局灶性变化,则应考虑用MRI或活组织检查或间隔扫描进一步评价。在一些方面,其他部位可以包括对器官肥大的评估,其中脾脏的超过正常的长度必须已经复原 $> 50\%$ 。在一些方面,评估未测量的病灶和新病灶,其在PR的情况下应不存在/正常、复原但不增加。也可以使用基于PET-CT和/或CT的评估来测量无反应/稳定疾病(SD)或进行性疾病(PD)。(Cheson等人,(2014)JCO 32(27):3059-3067;Johnson等人,(2015)Radiology 2:323-338;Cheson,B.D.(2015)Chin Clin Oncol 4(1):5)。

[0163] 在一些方面,无进展生存期(PFS)被描述为治疗疾病(如癌症)期间和之后受试者伴随疾病生存但疾病不恶化的时间长度。在一些方面,客观反应(OR)被描述为可测量的反应。在一些方面,客观反应率(ORR)被描述为实现CR或PR的患者的比例。在一些方面,总生存期(OS)被描述为从诊断或开始治疗疾病(如癌症)的日期到被诊断患有所述疾病的受试者仍然存活时的时间长度。在一些方面,无事件生存期(EFS)被描述为癌症治疗结束后受试者保持没有所述治疗旨在预防或延迟的某些并发症或事件的时间长度。这些事件可包括癌症的复发或某些症状的发作,如已经扩散到骨骼的癌症引起的骨痛,或死亡。

[0164] 在一些实施方案中,反应持续时间(DOR)的量度包括从记录到肿瘤反应至疾病进展的时间。在一些实施方案中,用于评估反应的参数可以包括持久反应,例如,在治疗开始一段时间后持续存在的反应和/或对治疗的长效积极反应。在一些实施方案中,持久反应是由在治疗开始后约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、18或24个月的反应率来指示。在一些实施方案中,反应可持续超过3个月或超过6个月。在一些实施方案中,持久反应是在给予治疗后第3个月测量的反应,例如3个月的反应。在一些实施方案中,持久反应是在给予治疗后第6个月测量的反应,例如6个月的反应。

[0165] 在一些方面,使用RECIST标准确定客观肿瘤反应;在一些方面,在实体瘤中确定。(Eisenhauer等人,European Journal of Cancer 45(2009)228-247.) 在一些方面,使用RECIST标准确定靶病灶的客观肿瘤反应。在一些方面,使用RECIST标准确定的完全反应被描述为所有靶病灶的消失,并且任何病理性淋巴结(无论是靶标还是非靶标)必须在短轴上减少至 $< 10\text{mm}$ 。在其他方面,使用RECIST标准确定的部分反应被描述为以基线总和直径为参考,靶病灶的直径总和减少至少 30% 。在其他方面,进行性疾病(PD)被描述为以研究中的最小总和作为参考(这包括基线总和,如果这是研究中最小的),靶病灶直径总和增加至少

20%。除了相对增加20%之外,总和还必须证明至少5mm的绝对增加(在一些方面,一个或多个新病灶的外观也被认为是进展)。在其他方面,稳定疾病(SD)被描述为既没有足够的收缩以符合PR,也没有足够的增加以符合PD,在研究时将最小总直径作为参考。

[0166] 在一些实施方案中,疾病或病症是肿瘤,并且疾病负荷的减少是肿瘤尺寸的减小。在一些实施方案中,疾病负荷的减少是由一种或多种因素的减少来指示,所述因素例如受试者或其体液或器官或组织中的疾病细胞的负担或数量、肿瘤的质量或体积、或转移的程度或范围。在一些实施方案中,可以针对形态学疾病和/或微小残留疾病的程度评估或监测疾病负荷(例如肿瘤负荷)。

[0167] 在一些实施方案中,检测、评估或测量受试者中疾病或病症的负荷。可以在一些方面通过检测受试者中或受试者的器官、组织或体液(如血液或血清)中的疾病或疾病相关细胞例如肿瘤细胞的总数来检测疾病负荷。在一些实施方案中,通过测量实体瘤的质量和/或转移的数量或成数来评估疾病负荷,例如肿瘤负荷。在一些方面,评估受试者的存活、特定时间段内的存活、存活程度、无事件或无症状存活的存在或持续时间或无复发存活。在一些实施方案中,评估疾病或病症的任何症状。在一些实施方案中,指定疾病或病症负荷的量度。

[0168] 在一些实施方案中,疾病负荷可以包括受试者或受试者的器官、组织或体液(例如肿瘤或其他位置(例如,其可指示转移)的器官或组织)中疾病细胞的总数。例如,可以在某些血液恶性肿瘤环境中在血液或骨髓中检测和/或定量肿瘤细胞。在一些实施方案中,疾病负荷可包括肿瘤的质量、转移的数量或程度和/或骨髓中存在的原始细胞的百分比。

[0169] 在一些实施方案中,受试者患有白血病。疾病负荷的程度可以通过评估血液或骨髓中的残留白血病来确定。

[0170] 在一些方面,受试者(例如患有慢性淋巴细胞白血病(CLL)受试者)的反应率是基于国际慢性淋巴细胞白血病研讨会(IWCLL)反应标准(Hallek等人,Blood 2008年6月15日;111(12):5446-5456)。在一些方面,这些标准描述如下:完全缓解(CR),其在一些方面要求不存在通过免疫表型分析的外周血克隆淋巴细胞、不存在淋巴结病、不存在肝肿大或脾肿大、不存在全身症状和令人满意的血细胞计数;完全缓解伴随不完全骨髓恢复(CRi),其在一些方面被描述为上述CR但没有正常的血细胞计数;部分缓解(PR),其在一些方面被描述为淋巴细胞计数下降 $\geq 50\%$ 、淋巴结病减少 $\geq 50\%$ 或肝或脾减少 $\geq 50\%$ 以及外周血细胞计数改善;进展性疾病(PD),其在一些方面被描述为淋巴细胞计数增加 $\geq 50\%$ 至 $\geq 5 \times 10^9/L$ 、淋巴结病增加 $\geq 50\%$ 、肝或脾尺寸增加 $\geq 50\%$ 、Richter转化或由于CLL导致新的血细胞减少;和稳定疾病,其在一些方面被描述为不符合CR、CRi、PR或PD的标准。

[0171] 在一些实施方案中,如果在给予所述剂细胞的1个月内受试者中的淋巴结的尺寸小于或小于约20mm、小于或小于约10mm、或小于或小于约10mm,则受试者展现出CR或OR。

[0172] 在一些实施方案中,在受试者的骨髓中(或在大于50%、60%、70%、80%、90%或更多的根据所述方法治疗的受试者的骨髓中)未检测到CLL的指标克隆。在一些实施方案中,通过IgH深度测序评估CLL的指标克隆。在一些实施方案中,在给予细胞之后或给予细胞之后1、2、3、4、5、6、12、18或24个月或者至少1、2、3、4、5、6、12、18或24个月或约1、2、3、4、5、6、12、18或24个月的时间未检测到指标克隆。

[0173] 在一些实施方案中,如果与用治疗剂治疗前骨髓中的原始细胞的百分比相比,骨

髓中原始细胞的百分比有所减少,则存在反应结果。在一些实施方案中,如果与治疗前骨髓中原始细胞的数量或百分比相比,骨髓中原始细胞的数量或百分比降低或减少至少或至少约20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多,则存在疾病负荷的减少。

[0174] 在一些实施方案中,如果受试者不展现形态学疾病(非形态学疾病)或者不展现显著的形态学疾病,则受试者展现反应。在一些实施方案中,如果例如通过光学显微镜检测到在骨髓中存在大于或等于5%的原始细胞,则受试者展现出形态学疾病。在一些实施方案中,如果骨髓中存在少于5%原始细胞,则受试者展现出完全或临床缓解。

[0175] 在一些实施方案中,如果受试者在治疗前展现形态学疾病并且在治疗后展现具有或不具有可分子检测(例如,如通过流式细胞术或定量PCR检测)的分子疾病(例如,最小残留疾病(MRD))的完全缓解(例如,骨髓中的原始细胞少于5%),则受试者展现减小或降低的疾病负荷。在一些实施方案中,如果受试者在治疗前展现分子疾病并且在治疗后不展现分子疾病,则受试者展现减小或降低的疾病负荷。

[0176] 在一些实施方案中,受试者可展现出完全缓解,但存在一小部分形态学上(通过光学显微镜技术)不可检测的残留白血病细胞。如果受试者展现在骨髓中小于5%原始细胞并且展现可分子检测的癌症,则称受试者展现最小残留疾病(MRD)。在一些实施方案中,可以使用允许灵敏检测少量细胞的各种分子技术中的任何一种来评估可分子检测的癌症。在一些方面,此类技术包括PCR测定,其可确定由染色体易位产生的独特Ig/T细胞受体基因重排或融合转录物。在一些实施方案中,流式细胞术可用于基于白血病特异性免疫表型鉴定癌细胞。在一些实施方案中,癌症的分子检测可以检测到100,000个正常细胞中的1个白血病或原始细胞或10,000个正常细胞中的1个白血病或原始细胞。在一些实施方案中,如果如通过PCR或流式细胞术检测到100,000个细胞中的至少或大于1个白血病细胞,则受试者展现出可分子检测的MRD。

[0177] 在一些实施方案中,受试者的疾病负荷是分子不可检测的或MRD⁻,使得在一些情况下使用PCR或流式细胞术技术不能检测到受试者中的白血病细胞。

[0178] 在一些实施方案中,反应结果是CR的不存在或完全反应的存在,其中受试者实现或展现最小残留疾病或可分子检测的疾病状态。在一些实施方案中,反应结果是具有可分子检测的疾病的CR的存在或不具有可分子检测的疾病的CR的存在。在一些实施方案中,使用如本文所述的方法(例如通过流式细胞术或qPCR方法评估骨髓中的原始细胞或分子疾病的方法)评估受试者的疾病负荷。

[0179] 在本文所提供的方法的一些实施方案中,反应是由完全缓解或完全反应(CR)和/或客观反应(OR)来确定;和/或受试者在使用所述剂量的细胞的1个月内展现CR、OR、大小小于或小于约20mm的淋巴结;和/或任选地在给予细胞剂量后为或为约、或者至少或至少约1、2、3、4、5、6、12、18或24个月的时间,任选地如通过IgH深度测序所评估,在受试者的骨髓中(或在超过50%的根据所述方法治疗的受试者的骨髓中)未检测到疾病或病症(例如CLL或NHL)的指标克隆。

[0180] C. 确定工程化细胞的药代动力学(PK),例如峰值细胞水平

[0181] 在一些实施方案中,所述方法包括评估T细胞(例如,出于基于T细胞的疗法给予的T细胞)的暴露、数量、浓度、持久性和增殖。在一些实施方案中,在本文所提供的方法中,细胞(例如,出于免疫疗法(例如T细胞疗法)给予的细胞)的暴露、或延长的扩增和/或持久性,

和/或所述细胞的细胞表型或功能活性的变化可以通过在体外或离体评估T细胞的特征来测量。在一些实施方案中,可以在给予本文所提供的细胞疗法之前或之后使用此类测定来确定或确认用于免疫疗法(例如T细胞疗法)的T细胞的功能。

[0182] 在一些方面,暴露、数量、浓度、持久性和增殖与药代动力学参数有关。在一些情况下,药代动力学可以通过测量诸如以下等参数来评估:最大(峰值)血浆浓度(C_{\max})、峰值时间(即出现最大血浆浓度(C_{\max})的时间; T_{\max})、最小血浆浓度(即治疗剂(例如,CAR+T细胞)的剂量之间的最小血浆浓度; C_{\min})、给予后的消除半衰期($T_{1/2}$)和曲线下面积(即通过标绘时间与治疗剂CAR+T细胞的血浆浓度产生的曲线下面积;AUC)。给予后血浆中特定治疗剂(例如CAR+T细胞)的浓度可以使用本领域已知的任何适合于评估治疗剂(例如CAR+T细胞)在血液样品中的浓度的方法或本文所述的任何方法来测量。例如,可以使用基于核酸的方法(例如定量PCR(qPCR))或基于流式细胞术的方法或其他测定,例如免疫测定、ELISA或基于色谱/质谱的测定。

[0183] 在一些实施方案中,确定所给予细胞(例如CAR⁺T细胞组合物)的药代动力学(PK)以评估所给予细胞的可用性,例如生物利用度。在一些实施方案中,所给予细胞的确定的药代动力学参数包括最大(峰值)血浆浓度(C_{\max}),例如CD3⁺CAR⁺细胞、CD4⁺CAR⁺细胞和/或CD8⁺CAR⁺T细胞的 C_{\max} ;实现 C_{\max} 的时间点(T_{\max}),例如CD3⁺CAR⁺细胞、CD4⁺CAR⁺细胞和/或CD8⁺CAR⁺T细胞的 T_{\max} 和/或曲线下面积(AUC),例如CD3⁺CAR⁺细胞、CD4⁺CAR⁺细胞和/或CD8⁺CAR⁺T细胞的AUC₀₋₂₈。在一些实施方案中,药代动力学参数是峰值CD3⁺CAR⁺T细胞浓度(C_{\max} CD3⁺CAR⁺T细胞)或CD8⁺CAR⁺T细胞浓度(C_{\max} CD8⁺CAR⁺T细胞)。在一些实施方案中,药代动力学参数是CD3⁺CAR⁺T细胞的AUC₀₋₂₈(AUC₀₋₂₈CD3⁺CAR⁺T细胞),或CD8⁺CAR⁺T细胞的AUC₀₋₂₈(AUC₀₋₂₈CD8⁺CAR⁺T细胞)。

[0184] 在一些实施方案中,“暴露”可以指在给予治疗剂后的某一时间段期间,治疗剂(例如,CAR+T细胞)在血浆(血液或血清)中的身体暴露。在一些实施方案中,暴露可以陈述为在给予一定剂量的治疗剂(例如CAR+T细胞)后的治疗剂浓度-时间曲线下面积(AUC),如通过药代动力学分析所确定。在一些情况下,对于细胞疗法中给予的细胞,AUC是以细胞*天/ μ L或以其相应单位来表示。在一些实施方案中,AUC被测量为患者群体(例如样品患者群体)中的平均AUC,例如一个或多个患者的平均AUC。在一些实施方案中,全身暴露是指在某一时间段内的曲线下面积(AUC),例如,第0天到第1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、21、28天或更长时间,或第1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15周或更长时间,或第1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、18、24、48个月或更长时间。在一些实施方案中,AUC被测量为给予治疗剂(例如CAR+T细胞)后第0天到第28天的AUC(AUC₀₋₂₈),包括所有测量数据和从所测量的药代动力学(PK)参数外推的数据,例如来自患者群体(例如样品患者群体)的平均AUC。在一些实施方案中,为了确定随时间的暴露,例如某一时间段的AUC,例如AUC₀₋₂₈,使用随时间的多次测量或参数(例如,细胞浓度)评估(例如,每1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、21或28天或更长时间进行的测量)产生治疗剂浓度-时间曲线。

[0185] 在一些实施方案中,检测在给予T细胞后且在给予所述疗法之前、期间和/或之后,受试者中表达重组受体的细胞(例如,出于基于T细胞的疗法给予的表达CAR的细胞)的存在和/或数量。在一些方面,使用基于核酸的方法(例如定量PCR(qPCR))来评估受试者的血液或血清或器官或组织样品(例如,疾病部位例如肿瘤样品)中表达重组受体的细胞(例如,出

于基于T细胞的疗法给予的表达CAR的细胞)的量。在一些方面,持久性被定量为每微克的DNA中编码受体(例如,CAR)的DNA或质粒的拷贝,或者定量为每微升的样品(例如,血液或血清)中表达受体的(例如,表达CAR的)细胞的数量,或者每微升的样品中外周血单核细胞(PBMC)或白细胞或T细胞的总数量。在一些实施方案中,用于qPCR或其他基于核酸的方法的引物或探针对结合、识别和/或扩增编码重组受体的核酸和/或质粒和/或载体中的其他组分或元件具有特异性,所述其他组分或元件包括调节元件(例如启动子、转录和/或转录后调节元件)或反应元件,或标记(例如替代标记)。在一些实施方案中,所述引物可以对调节元件(例如土拨鼠肝炎病毒转录后调节元件(WPRE))具有特异性。

[0186] 在一些实施方案中,在给予T细胞(例如,表达CAR的T细胞)之后,在或至少在4、14、15、27或28天,在受试者中检测细胞。在一些方面,在给予T细胞(例如,表达CAR的T细胞)后,在或至少在2、4或6周,或3、6或12、18或24或30或36个月,或1、2、3、4、5年或更长时间,检测所述细胞。

[0187] 在一些实施方案中,在开始给予基因工程化细胞后至少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天或21天的时间评估峰值水平和/或AUC和/或从受试者获得样品。在一些实施方案中,在开始给予所述基因工程化细胞后在或在约11天至22天、12天至18天或14天至16天之间的时间评估所述峰值水平和/或AUC和/或从所述受试者获得所述样品,所述时间的每个都包含端值。

[0188] 指示扩增和/或持久性的细胞(例如T细胞疗法给予的T细胞)的暴露(例如数量或浓度)可以根据暴露至受试者的细胞的最大数量或浓度、可检测细胞或高于某一数量或百分比的细胞的持续时间、细胞的数量或浓度随时间的曲线下面积(AUC)和/或其组合及其指示物来陈述。此类结果可以使用已知方法来评估,例如使用qPCR来检测与特定样品(例如血液、血清、血浆或组织,例如肿瘤样品)中核酸或DNA的总量相比,编码重组受体的核酸的拷贝数;和/或使用流式细胞术测定,通常使用对受体具有特异性的抗体来检测表达受体的细胞。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或浓度,所述功能细胞例如为能够结合至和/或中和和/或诱导针对疾病或病症的细胞或表达由受体识别的抗原的细胞的应答(例如细胞毒性应答)的细胞。

[0189] 在一些方面,增加的受试者对细胞的暴露包括增加的细胞扩增。在一些实施方案中,在给予T细胞(例如,表达CAR的T细胞)后,表达受体的细胞(例如,表达CAR的细胞)在受试者中扩增。

[0190] 在一些实施方案中,在给予T细胞(例如,表达CAR的T细胞)后至少20天、21天、22天、23天、24天、25天、26天、27天、28天、29天、30天、31天、32天、33天、34天、35天、36天、37天、38天、39天、40天、41天、42天、43天、44天、45天、46天、47天、48天、49天、50天、51天、52天、53天、54天、55天、56天、57天、58天、59天或60天或更长时间,在给予T细胞(例如,表达CAR的T细胞)后至少或至少约2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、11周、12周、13周、14周、15周、16周、17周、18周、19周、20周、21周、22周、23周或24周或更长时间中,表达受体的细胞在受试者的血清、血浆、血液或组织(例如肿瘤样品)中是可检测的,例如通过指定方法(例如基于qPCR或流式细胞术的检测方法)检测。

[0191] 在一些方面,在受试者或其体液、血浆、血清、组织或隔室中,例如在其血液(例如外周血)或疾病部位(例如肿瘤)中,至少约 1×10^2 、至少约 1×10^3 、至少约 1×10^4 、至少约 $1 \times$

10^5 、或至少约 1×10^6 、或至少约 5×10^6 、或至少约 1×10^7 、或至少约 5×10^7 、或至少约 1×10^8 个表达重组受体(例如表达CAR)的细胞,和/或每微升至少10、25、50、100、200、300、400或500或1000个表达受体的细胞(例如每微升至少10个细胞)是可检测或存在的。在一些实施方案中,在给予T细胞(例如,表达CAR的T细胞)后至少约20天、至少约40天、或至少约60天,或至少约3、4、5、6、7、8、9、10、11或12个月,或至少2或3年中,细胞的所述数量或浓度在受试者中是可检测的。此类细胞数量可以如通过基于流式细胞术或基于定量PCR的方法来检测,并使用已知方法外推至总细胞数量。参见,例如,Brentjens等人,Sci Transl Med.2013 5(177);Park等人,Molecular Therapy 15(4):825-833(2007);Savoldo等人,JCI 121(5):1822-1826(2011);Davila等人,(2013) PLoS ONE 8(4):e61338;Davila等人,Oncoimmunology 1(9):1577-1583(2012);Lamers,Blood 2011 117:72-82;Jensen等人,Biol Blood Marrow Transplant 2010年9月;16(9):1245-1256;Brentjens等人,Blood 2011 118(18):4817-4828。

[0192] 在一些方面,如通过免疫组织化学、PCR和/或流式细胞术所测量,在给予细胞(例如,表达CAR的T细胞)后在约1周、约2周、约3周、约4周、约5周或至少约6周,或至少约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12个月或至少2或3年,例如在外周血或骨髓或其他隔室中,每100个细胞中编码重组受体的核酸的拷贝数(例如载体拷贝数)是至少0.01、至少0.1、至少1或至少10。在一些实施方案中,在给予T细胞(例如,表达CAR的T细胞)后约1周、约2周、约3周或至少约4周,或在这种给予后至少2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12个月或至少2或3年的时间,每微克基因组DNA中表达受体(例如,CAR)的载体的拷贝数是至少100、至少1000、至少5000、或至少10,000、或至少15,000或至少20,000。

[0193] 在一些方面,在给予细胞后(例如在开始给予T细胞后)至少约3个月、至少约6个月、至少约12个月、至少约1年、至少约2年、至少约3年、或超过3年的时间,细胞表达的受体(例如CAR)可通过定量PCR(qPCR)或通过流式细胞术在受试者、血浆、血清、血液、组织和/或其疾病部位(例如肿瘤部位)中检测。在一些实施方案中,测量在给予T细胞(例如,表达CAR的T细胞)后,受试者的体液、血浆、血清、血液、组织、器官和/或疾病部位(例如肿瘤部位)中表达受体(例如CAR)的细胞随时间的浓度的曲线下面积(AUC)。

[0194] 还提供了评估反应或持久反应的可能性的方法。在一些实施方案中,所述方法涉及在来自受试者的生物样品中检测一种或多种炎性标记的峰值水平和/或基因工程化细胞(包含表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞)的峰值水平,其中先前已经向所述受试者给予一定剂量的基因工程化细胞以便治疗疾病或病症。在一些实施方案中,所述方法涉及单独地比较峰值水平与阈值,从而确定受试者将实现对基因工程化细胞给予的持久反应的可能性。

[0195] 在一些实施方案中,如果一种或多种炎性标记的峰值水平低于阈值,则受试者可能实现反应或持久反应,并且如果一种或多种炎性标记的峰值水平高于阈值,则受试者不可能实现持久反应。在一些实施方案中,如果基因工程化细胞的峰值水平在下限阈值与上限阈值之间的治疗范围内,则受试者可能实现持久反应,并且如果基因工程化细胞的峰值水平低于下限阈值或高于上限阈值,则受试者不可能实现持久反应。

[0196] III. 治疗方法

[0197] 在一些实施方案中,提供了治疗方法。在一些实施方案中,所述方法包括给予免疫疗法和/或细胞疗法。在一些实施方案中,所述方法涉及给予基因工程化细胞,例如经工程

化以表达重组受体(例如嵌合抗原受体(CAR))的细胞。在一些实施方案中,所述方法包括向受试者给予一定剂量的细胞(例如CAR+表达细胞),使得所述细胞在目标治疗范围或窗口内。在一些实施方案中,可以通过监测参数(例如,药代动力学参数,例如峰值细胞浓度(C_{max}))来确定或评估受试者中的细胞是否在目标治疗范围或窗口内。在一些方面,所提供的方法还包括基于对参数的评估确定受试者的剂量的方法或向受试者给药的方法,所述参数例如药代动力学参数,例如峰值细胞浓度(C_{max})、患者属性和/或生物标记。

[0198] 在一些实施方案中,将一定剂量的表达重组受体的细胞给予至受试者以治疗或预防疾病、病症和障碍,包括癌症。在一些实施方案中,将细胞、群体和组合物给予至受试者或患者,所述受试者或患者患有要例如通过过继细胞疗法(例如过继T细胞疗法)治疗的特定疾病或病症。在一些实施方案中,将细胞和组合物(例如在孵育和/或其他处理步骤后的工程化组合物和生产结束时(end-of-production)的组合物)给予至受试者,例如患有疾病或病症或具有疾病或病症的风险的受试者。在一些方面,所述方法由此治疗疾病或病症(例如,改善其一种或多种症状),例如通过减轻表达由工程化T细胞识别的抗原的癌症中的肿瘤负荷来治疗。

[0199] 用于过继细胞疗法的细胞的给予方法是已知的,并且可以与所提供的方法和组合物一起使用。例如,过继T细胞治疗方法描述于例如Gruenberg等人的美国专利申请公开号2003/0170238;Rosenberg的美国专利号4,690,915;Rosenberg(2011)Nat Rev Clin Oncol.8(10):577-85。参见例如Themeli等人(2013)Nat Biotechnol.31(10):928-933;Tsukahara等人(2013)Biochem Biophys Res Commun 438(1):84-9;Davila等人(2013)PLoS ONE 8(4):e61338。

[0200] 所治疗的疾病或病症可以是任何疾病或病症,其中抗原的表达与疾病状况或障碍的病因学相关和/或参与其中,例如导致、加剧这种疾病、病症或障碍或以其他方式参与其中。示例性疾病和病症可以包括与恶性肿瘤或细胞转化(例如癌症)、自身免疫性疾病或炎性疾病或例如由细菌、病毒或其他病原体引起的感染性疾病相关的疾病或病症。上文描述了示例性抗原,其包括与可以治疗的各种疾病和病症相关的抗原。在具体实施方案中,所述嵌合抗原受体或转基因TCR与和所述疾病或病症相关的抗原特异性结合。

[0201] 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和寄生虫病;以及自身免疫和炎性疾病。在一些实施方案中,疾病或病症是肿瘤、癌症、恶性肿瘤、肿瘤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)、急性成淋巴细胞性白血病(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、黑色素瘤、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。在一些实施方案中,受试者患有急性性淋巴瘤母细胞白血病(ALL)。在一些实施方案中,受试者患有非霍奇金淋巴瘤。

[0202] 在一些实施方案中,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(Epstein-Barr virus,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。

[0203] 在一些实施方案中,与疾病或障碍相关的抗原选自 $\alpha v\beta 6$ 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、CC基序趋化因子配体1(CCL-1)、CD19、CD20、CD22、CD23、CD24、CD30、CD33、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD123、CD138、CD171、表皮生长因子蛋白(EGFR)、截短的表皮生长因子蛋白(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)、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-22Ra)、IL-13受体 $\alpha 2$ (IL-13Ra2)、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、含有富含亮氨酸的重复序列的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、间皮素、c-Met、鼠类巨细胞病毒(CMV)、粘蛋白1(MUC1)、MUC16、天然杀伤组2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、优先表达抗原黑色素瘤(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)、受体酪氨酸激酶像孤儿受体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)、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。在一些实施方案中,受体靶向的抗原包括与B细胞恶性肿瘤相关的抗原,如许多已知B细胞标记中的任何一种。在一些实施方案中,抗原是或包括CD20、CD19、CD22、ROR1、CD45、CD21、CD5、CD33、Ig κ 、Ig λ 、CD79a、CD79b或CD30。

[0204] 在一些实施方案中,与疾病或障碍相关的抗原选自孤儿酪氨酸激酶受体ROR1、tEGFR、Her2、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、EGP-2、EGP-4、EPha2、ErbB2、3或4、FBP、胎儿乙酰胆碱受体、GD2、GD3、HMW-MAA、IL-22R- α 、IL-13R- $\alpha 2$ 、kdr、 κ 轻链、路易斯Y、L1细胞粘附分子、MAGE-A1、间皮素、MUC1、MUC16、PSCA、NKG2D配体、NY-ESO-1、MART-1、gp100、癌胚胎抗原、ROR1、TAG72、VEGF-R2、癌胚抗原(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、CS-1、c-Met、GD-2和MAGE A3、CE7、Wilms肿瘤1(WT-1)、细胞周期蛋白(如细胞周期蛋白A1(CCNA1))和/或生物素化分子,和/或由HIV、HCV、HBV表达的分子或其他病原体。

[0205] 在一些实施方案中,细胞疗法(例如,过继T细胞疗法)通过自体转移进行,其中从接受细胞疗法的受试者或从来源于这种受试者的样品中分离和/或以其他方式制备细胞。因此,在一些方面,所述细胞来源于需要治疗的受试者(例如,患者),并且在分离和加工后

将所述细胞给予同一受试者。

[0206] 在一些实施方案中,细胞疗法(例如,过继T细胞疗法)通过同种异体转移进行,其中从将要接受或最终接受细胞疗法的受试者以外的受试者(例如,第一受试者)分离和/或以其他方式制备细胞。在这样的实施方案中,然后将所述细胞给予至相同物种的不同受试者,例如第二受试者。在一些实施方案中,所述第一和第二受试者在遗传上是相同的。在一些实施方案中,所述第一和第二受试者在遗传上是相似的。在一些实施方案中,所述第二受试者与所述第一受试者表达相同的HLA类别或超类型。

[0207] 所述细胞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、结膜下注射(subconjunctival injection)、结膜下注射(subconjunctival injection)、眼球筋膜囊下(sub-Tenon)注射、球后注射、球周注射或后近巩膜(posterior juxtасcleral)递送。在一些实施方案中,它们通过肠胃外、肺内和鼻内给予以及(如果需要用于局部治疗的话)病灶内给予。肠胃外输注包括肌内、静脉内、动脉内、腹膜内或皮下给予。在一些实施方案中,给定剂量通过细胞的单次推注给药来给予。在一些实施方案中,给定剂量通过细胞的多次推注给药例如在不超过3天的时间段内来给予,或通过细胞的连续输注给药。

[0208] 为了预防或治疗疾病,适当的剂量可取决于待治疗的疾病类型、细胞或重组受体的类型、疾病的严重程度和病程、细胞是否针对预防或治疗目的而被给予、先前的治疗、受试者的临床病史和对细胞的应答以及主治医师的决断。在一些实施方案中,所述组合物和细胞适合一次或在一系列治疗中给予受试者。

[0209] 在一些实施方案中,所述细胞作为组合治疗的一部分给予,如与另一种治疗性干预如抗体或工程化细胞或受体或药剂(如细胞毒性剂或治疗剂)同时给予或以任何顺序依次给予。在一些实施方案中,所述细胞与一种或多种另外的治疗剂共同给予或与另一种治疗性干预联合给予(同时或以任何顺序依次给予)。在一些情境下,将所述细胞与另一种疗法在时间上足够接近地共同给予,使得所述细胞群增强一种或多种另外的治疗剂的效果,或反之亦然。在一些实施方案中,所述细胞在一种或多种另外的治疗剂之前给予。在一些实施方案中,所述细胞在一种或多种另外的治疗剂之后给予。在一些实施方案中,一种或多种另外的药剂包括细胞因子(例如IL-2)以例如增强持久性。在一些实施方案中,所述方法包括给予化学治疗剂。

[0210] 在一些实施方案中,所述方法包括在给予之前给予化学治疗剂例如调节化学治疗剂,例如以便减轻肿瘤负荷。

[0211] 在一些方面,使用免疫清除(例如,淋巴细胞清除)疗法的预处理受试者可以改善过继细胞疗法(ACT)的效果。

[0212] 因此,在一些实施方案中,所述方法包括在开始细胞疗法之前向受试者给予预处理剂,例如淋巴细胞清除剂或化学治疗剂,例如环磷酰胺、氟达拉滨或其组合。例如,可以在开始细胞疗法之前至少2天(例如至少3、4、5、6或7天),向受试者给予预处理剂。在一些实施方案中,在开始细胞疗法之前不超过7天(例如不超过6、5、4、3或2天),向受试者给予预处理剂。

[0213] 在一些实施方案中,将所述受试者用在或在约20mg/kg与100mg/kg之间、如在或在

约40mg/kg与80mg/kg之间的剂量的环磷酰胺进行预处理。在一些方面,将所述受试者用60mg/kg或约60mg/kg的环磷酰胺进行预处理。在一些实施方案中,可以将环磷酰胺以单一剂量给予或者可以按多个剂量给予,如每天给药、每隔一天给药或每三天给药。在一些实施方案中,环磷酰胺每天给予一次,持续一天或两天。

[0214] 在一些实施方案中,当淋巴细胞清除剂包含氟达拉滨时,向所述受试者给予剂量在或在约1mg/m²与100mg/m²之间、如在或在约10mg/m²与75mg/m²之间、15mg/m²与50mg/m²之间、20mg/m²与30mg/m²之间、或24mg/m²与26mg/m²之间的氟达拉滨。在一些情况下,向所述受试者给予25mg/m²的氟达拉滨。在一些实施方案中,氟达拉滨可以按单一剂量给予或者可以按多个剂量给予,如每天给药、每隔一天给药或每三天给药。在一些实施方案中,每天给予氟达拉滨,如持续1-5天,例如持续3至5天。

[0215] 在一些实施方案中,淋巴细胞清除剂包含药剂的组合,如环磷酰胺和氟达拉滨的组合。因此,药剂的组合可包括任何剂量或给药时间表(如上述那些剂量或给药时间表)下的环磷酰胺以及任何剂量或给药时间表(如上述那些剂量或给药时间表)下的氟达拉滨。例如,在一些方面,在第一剂量或后续剂量之前,向受试者给予60mg/kg(约2g/m²)的环磷酰胺和3至5次剂量的25mg/m²氟达拉滨。

[0216] 在一些实施方案中,在给予细胞后,例如通过许多已知方法中的任一种测量工程化细胞群的生物学活性。待评估的参数包括工程化或天然T细胞或其他免疫细胞与抗原的特异性结合,其在体内例如通过成像进行评估,或离体例如通过ELISA或流式细胞术进行评估。在某些实施方案中,工程化细胞破坏靶细胞的能力可以使用本领域已知的任何合适的方法来测量,所述方法例如描述于例如以下文献中的细胞毒性测定:Kochenderfer等人,J.Immunotherapy,32(7):689-702(2009),和Herman等人J.Immunological Methods,285(1):25-40(2004)。在一些实施方案中,通过测定一种或多种细胞因子(例如CD107a、IFN γ 、IL-2和TNF)的表达和/或分泌来测量细胞的生物学活性。在一些方面,通过评估临床结果(如肿瘤负荷或负担的减少)来测量生物活性。

[0217] 在一些实施方案中,将工程化细胞以任何数量的方式进一步修饰,从而增加其治疗或预防功效。例如,可以将所述群体表达的工程化CAR或TCR直接或通过接头间接缀合至靶向部分。将化合物(例如,CAR或TCR)与靶向部分缀合的实践在本领域是已知的。参见例如,Wadwa等人,J.Drug Targeting 3:111(1995)和美国专利5,087,616。

[0218] A. 给药

[0219] 在一些实施方案中,向受试者给予实现或可能实现CAR+T细胞的治疗范围和/或窗口的剂量。在一些实施方案中,所述方法涉及给予一定剂量的细胞,其量会或可能会在血液中实现在一范围内的峰值CAR+细胞数量,其中所述峰值CAR+细胞数量具有小于引起毒性的某一估计概率的概率。在一些实施方案中,所述方法涉及给予一定剂量的细胞,其量会或可能会在血液中实现在一范围内的峰值CAR+细胞数量,其中所述峰值CAR+细胞数量具有超过引起反应或持久反应的某一估计概率的概率。在一些情况下,所述细胞的量是有效治疗疾病或病症的量,例如治疗有效量或预防有效量。在一些情况下,实现反应的估计概率为大于65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高。在一些情况下,在毒性概率曲线上,引起毒性的估计概率小于35%、小于30%、小于25%、小于20%、小于15%、小于10%或小于5%。在一些实施方案中,细胞剂量既高于实现反应的所需估计概率,又低于引起毒性的所需估计

概率。

[0220] 在一些实施方案中,所给予细胞的量或剂量是基于对参数的评估,例如药代动力学参数,以及反应和/或毒性的估计概率,例如,如第II部分中所述。

[0221] 在一些实施方案中,所述方法涉及给予足够数量或剂量的细胞以在受试者中实现在确定的目标治疗范围或窗口内的峰值CAR+细胞浓度。在一些实施方案中,所述方法涉及给予足够数量或剂量的细胞以在大多数通过所述方法如此治疗的受试者(或者大于或大于约50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%或95%或更多,例如大于75%通过所述方法如此治疗的受试者)中实现在确定的目标治疗范围或窗口内的峰值CAR+细胞浓度。

[0222] 在一些实施方案中,治疗窗口或范围是如上文(例如第II部分中)所述来确定。在一些实施方案中,治疗范围是基于先前用基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3+CAR+T细胞或其CD8+CAR+T细胞子集的范围,所述范围与大于或大于约65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高的估计反应概率和小于或约30%、25%、20%、15%、10%、5%或更低的估计毒性概率相关。

[0223] 在一些实施方案中,治疗窗口或范围是基于细胞(例如CD3+、CD4+或CD8+T细胞)的数量和/或浓度的特定范围确定的。在一些实施方案中,血液中可以实现治疗窗口的示例性峰值CD3+CAR+T细胞浓度是或包括在约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、20、30、40、50个CD3+CAR+T细胞/微升血液与约200、300、400、500、600、700或750个CD3+CAR+T细胞/微升血液之间。在一些实施方案中,血液中可以实现治疗窗口的示例性峰值CD8+CAR+T细胞浓度是或包括在大约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、20、30、40、50个CD8+CAR+T细胞/微升血液与约200、300、400、500、600、700或750个CD8+CAR+T细胞/微升血液之间。

[0224] 在一些实施方案中,目标治疗范围或窗口是在给予后血液中的或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的峰值CD3+CAR+T细胞浓度。在一些实施方案中,目标治疗范围或窗口是在给予后血液中的或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR+T细胞浓度。

[0225] 在一些实施方案中,提供了向受试者给药的方法,其涉及向患有疾病或病症的受试者给予一定剂量的包含表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞的基因工程化细胞,其中所述剂量包含的基因工程化细胞数量足以在受试者中、或在大多数通过所述方法如此治疗的受试者中、或在超过75%的通过所述方法如此治疗的受试者中实现血液中的在确定的治疗范围内的峰值CAR+细胞,其中所述治疗范围是:(i) 基于先前用基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3+CAR+T细胞或其CD8+CAR+T细胞子集的范围,所述范围与大于或大于约65%的估计反应概率和小于或约30%的估计毒性概率相关;或者(ii) 在给予基因工程化细胞之后,血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的峰值CD3+CAR+T细胞;或者(iii) 在给予基因工程化细胞之后,血液中的在或在约2个细胞/微升与约200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR+T细胞。

[0226] 在一些实施方案中,提供了向受试者给药的方法,其涉及(a) 向患有疾病或病症的受试者给予次最佳剂量的包含用嵌合抗原受体(CAR)工程化的T细胞的基因工程化细胞,其中所述剂量包含的基因工程化细胞数量不足以在受试者中、或在大多数通过所述方法如此治疗的受试者中、或在超过75%的通过所述方法如此治疗的受试者中实现在确定的治疗范围内的血液中的峰值CAR+细胞;以及(b) 在给予基因工程化细胞后,给予药剂以增强受试者

中的CAR+细胞扩增或增殖,以实现在治疗范围内的血液中的峰值CAR+T细胞,其中所述治疗范围是:(i) 基于先前用基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3+CAR+T细胞或其CD8+CAR+T细胞子集的范围,所述范围与大于或大于约65%的估计反应概率和小于或约30%的估计毒性概率相关;或者(ii) 在给予基因工程化细胞之后,血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的峰值CD3+CAR+T细胞;或者(iii) 在给予基因工程化细胞之后,血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR+T细胞。在一些实施方案中,向受试者给予可以实现目标治疗范围或窗口的剂量。在一些实施方案中,所述剂量为小于或小于约 1×10^7 个表达CAR的细胞、小于或小于约 5×10^6 个表达CAR的细胞、小于或小于约 2.5×10^6 个表达CAR的细胞、小于或小于约 1×10^6 个表达CAR的细胞、小于或小于约 5×10^5 个表达CAR的细胞、小于或小于约 2.5×10^5 个表达CAR的细胞、小于或小于约 1×10^5 个表达CAR的细胞。

[0227] 在过继细胞疗法的背景下,给定“剂量”的给予包括以单一组合物和/或单次不间断给药的方式(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,并且还包括在不超过3天的指定时间段内以在多个单独组合物或输注中提供的分割剂量的方式给予给定量或数量的细胞。因此,在一些情况下,剂量是指定数量的细胞的单次或连续给药,在单个时间点给予或开始。然而,在一些情况下,剂量在不超过三天的时间段内以多次注射或输注的方式给予,如每天一次持续三天或两天或者通过在一天的时间内多次输注。

[0228] 因此,在一些方面,所述剂量的细胞以单一药物组合物给予。在一些实施方案中,所述剂量的细胞以共同含有第一剂量的细胞的多种组合物给予。

[0229] 术语“分割剂量”是指分割的剂量,使其在超过一天的时间内给予。这种类型的给药包括在本方法中并且被认为是单一剂量。

[0230] 因此,在一些方面,所述剂量可作为分割剂量给予。例如,在一些实施方案中,剂量可以在2天或3天内给予受试者。用于分割给药的示例性方法包括在第一天给予25%的剂量并在第二天给予剩余的75%的剂量。在其他实施方案中,可以在第一天给予33%的第一剂量,并且在第二天给予剩余的67%。在一些方面,在第一天给予10%的剂量,在第二天给予30%的剂量,并且在第三天给予60%的剂量。在一些实施方案中,分割剂量不超过3天。

[0231] 在一些实施方案中,所述剂量的细胞可以通过给予多个组合物或溶液(例如第一和第二,任选地更多)来给予,各自含有所述剂量的一些细胞。在一些方面,任选地在一定时间段内,分开地或独立地给予多个组合物,每个组合物含有不同细胞群和/或细胞亚型。例如,细胞群或细胞亚型可以分别包括CD8⁺和CD4⁺T细胞,和/或分别包含富集CD8⁺和CD4⁺的群体,例如CD4⁺和/或CD8⁺T细胞,其各自单独地包括基因工程化以表达重组受体的细胞。在一些实施方案中,所述剂量的给予包括给予第一组合物,其包含一定剂量的CD8⁺T细胞或一定剂量的CD4⁺T细胞,以及给予第二组合物,其包含另一剂量的CD4⁺T细胞和CD8⁺T细胞。

[0232] 在一些实施方案中,组合物或剂量的给予(例如多个细胞组合物的给予)涉及分开给予所述细胞组合物。在一些方面,分开给予是同时或以任何顺序依次进行。在一些实施方案中,所述剂量包括第一组合物和第二组合物,并且所述第一组合物和第二组合物的给予相隔0至12小时,相隔0至6小时或相隔0至2小时。在一些实施方案中,第一组合物的给予的启动和第二组合物的给予的启动相隔不超过2小时、不超过1小时或不超过30分钟,相隔不超过15分钟、不超过10分钟或不超过5分钟。在一些实施方案中,第一组合物的给予的启动

和/或完成以及第二组合物的给予的完成和/或启动相隔不超过2小时、不超过1小时或不超过30分钟,相隔不超过15分钟、不超过10分钟或不超过5分钟。

[0233] 在一些组合物中,第一组合物(例如所述剂量的第一组合物)包含CD4+T细胞。在一些组合物中,第一组合物(例如所述剂量的第一组合物)包含CD8+T细胞。在一些实施方案中,第一组合物是在第二组合物之前给予。

[0234] 在一些实施方案中,细胞的剂量或组合物包括表达重组受体的CD4+细胞与表达重组受体的CD8+细胞和/或CD4+细胞与CD8+细胞的定义的或目标比率,所述比率任选地为约1:1,或者在大约1:3与大约3:1之间,例如大约1:1。在一些方面,具有目标或所需比率的不同细胞群(例如CD4+:CD8+比率或CAR+CD4+:CAR+CD8+比率,例如1:1)的组合物或剂量的给予涉及给予含有一个所述群体的细胞组合物,和随后给予包含另一所述群体的单独细胞组合物,其中所述给予是以或大约以目标或所需比率来进行。

[0235] 在一些实施方案中,可以向受试者给予一个或多个连续或后续剂量的细胞。在一些实施方案中,在开始给予第一剂量的细胞后大于或大于约7天、14天、21天、28天或35天给予连续或后续剂量的细胞。细胞的连续或后续剂量可以大于、大致等于或小于第一剂量。在一些实施方案中,可以重复T细胞疗法的给予(如第一和/或第二细胞剂量的给予)。

[0236] 在一些实施方案中,根据所提供的方法将一剂细胞给予受试者。在一些实施方案中,剂量的大小或时间安排根据受试者的特定疾病或病症确定。熟练技术人员可以熟练地根据经验确定用于特定疾病的剂量的大小或时间安排。剂量可以根据疾病或障碍和/或患者和/或其他治疗特有的属性而变化。

[0237] 在一些方面,使用第一剂量与使用连续剂量之间的时间为约9至约35天、约14至约28天或15至27天。在一些实施方案中,给予连续剂量是在使用第一剂量后大于约14天且小于约28天的时间点。在一些方面,第一剂量与连续剂量之间的时间为约21天。在一些实施方案中,在给予连续剂量后给予另外一个或多个剂量(例如连续剂量)。在一些方面,在给予先前剂量后至少约14天且小于约28天给予另外一个或多个连续剂量。在一些实施方案中,在先前剂量后少于约14天(例如在先前剂量后4、5、6、7、8、9、10、11、12或13天)给予另外的剂量。在一些实施方案中,在先前剂量后小于约14天不给予剂量,和/或在先前剂量后超过约28天不给予剂量。

[0238] 在一些实施方案中,细胞(例如重组受体表达细胞)的剂量包含两个剂量(例如,双倍剂量),包含T细胞的第一剂量和T细胞的连续剂量,其中第一剂量和第二剂量中的一个或两个包含给予T细胞的分割剂量。

[0239] 在某些实施方案中,向所述受试者给予约10万至约1000亿个细胞和/或每公斤受试者体重所述细胞量的范围的细胞或单独细胞亚型群体,如例如10万至约500亿个细胞(例如,约500万个细胞、约2500万个细胞、约5亿个细胞、约10亿个细胞、约50亿个细胞、约200亿个细胞、约300亿个细胞、约400亿个细胞或由任两个前述值定义的范围)、100万至约500亿个细胞(例如,约500万个细胞、约2500万个细胞、约5亿个细胞、约10亿个细胞、约50亿个细胞、约200亿个细胞、约300亿个细胞、约400亿个细胞或由任两个前述值定义的范围),如约1000万至约1000亿个细胞(例如,约2000万个细胞、约3000万个细胞、约4000万个细胞、约6000万个细胞、约7000万个细胞、约8000万个细胞、约9000万个细胞、约100亿个细胞、约250亿个细胞、约500亿个细胞、约750亿个细胞、约900亿个细胞或由任两个前述值定义的范围)。

围),并且在一些情况下,约1亿个细胞至约500亿个细胞(例如,约1.2亿个细胞、约2.5亿个细胞、约3.5亿个细胞、约4.5亿个细胞、约6.5亿个细胞、约8亿个细胞、约9亿个细胞、约30亿个细胞、约300亿个细胞、约450亿个细胞)或这些范围之间的任何值和/或每公斤受试者体重。剂量可以根据疾病或障碍和/或患者和/或其他治疗特有的属性而变化。在一些实施方案中,这些值是指重组受体表达细胞的数量;在其他实施方案中,它们是指给予的T细胞或PBMC或总细胞的数量。

[0240] 在一些实施方案中,细胞疗法包括给予包含许多细胞的剂量,所述剂量为至少或至少约 0.1×10^6 个细胞/kg受试者体重、 0.2×10^6 个细胞/kg、 0.3×10^6 个细胞/kg、 0.4×10^6 个细胞/kg、 0.5×10^6 个细胞/kg、 1×10^6 个细胞/kg、 2.0×10^6 个细胞/kg、 3×10^6 个细胞/kg或 5×10^6 个细胞/kg或至少约 0.1×10^6 个细胞/kg、 0.2×10^6 个细胞/kg、 0.3×10^6 个细胞/kg、 0.4×10^6 个细胞/kg、 0.5×10^6 个细胞/kg、 1×10^6 个细胞/kg、 2.0×10^6 个细胞/kg、 3×10^6 个细胞/kg或 5×10^6 个细胞/kg,或者为 0.1×10^6 个细胞/kg、 0.2×10^6 个细胞/kg、 0.3×10^6 个细胞/kg、 0.4×10^6 个细胞/kg、 0.5×10^6 个细胞/kg、 1×10^6 个细胞/kg、 2.0×10^6 个细胞/kg、 3×10^6 个细胞/kg或 5×10^6 个细胞/kg或约 0.1×10^6 个细胞/kg、 0.2×10^6 个细胞/kg、 0.3×10^6 个细胞/kg、 0.4×10^6 个细胞/kg、 0.5×10^6 个细胞/kg、 1×10^6 个细胞/kg、 2.0×10^6 个细胞/kg、 3×10^6 个细胞/kg或 5×10^6 个细胞/kg。

[0241] 在一些实施方案中,细胞疗法包括给予包含许多细胞的剂量,所述剂量在或在约 0.1×10^6 个细胞/kg受试者体重和 1.0×10^7 个细胞/kg之间、在或在约 0.5×10^6 个细胞/kg和 5×10^6 个细胞/kg之间、在或在约 0.5×10^6 个细胞/kg和 3×10^6 个细胞/kg之间、在或在约 0.5×10^6 个细胞/kg和 2×10^6 个细胞/kg之间、在或在约 0.5×10^6 个细胞/kg和 1×10^6 个细胞/kg之间、在或在约 1.0×10^6 个细胞/kg受试者体重和 5×10^6 个细胞/kg之间、在或在约 1.0×10^6 个细胞/kg和 3×10^6 个细胞/kg之间、在或在约 1.0×10^6 个细胞/kg和 2×10^6 个细胞/kg之间、在或在约 2.0×10^6 个细胞/kg受试者体重和 5×10^6 个细胞/kg之间、在或在约 2.0×10^6 个细胞/kg和 3×10^6 个细胞/kg之间或者在或在约 3.0×10^6 个细胞/kg受试者体重和 5×10^6 个细胞/kg之间,每个都包含端值。

[0242] 在一些实施方案中,细胞剂量包含在 2×10^5 或约 2×10^5 个细胞/kg和 2×10^6 或约 2×10^6 个细胞/kg之间,如在 4×10^5 或约 4×10^5 个细胞/kg和 1×10^6 或约 1×10^6 个细胞/kg之间或在 6×10^5 或约 6×10^5 个细胞/kg和 8×10^5 或约 8×10^5 个细胞/kg之间。在一些实施方案中,细胞剂量包含不超过 2×10^5 个细胞(例如表达抗原的细胞,如表达CAR的细胞)/公斤受试者体重(细胞/kg),如不超过或不超过约 3×10^5 个细胞/kg、不超过或不超过约 4×10^5 个细胞/kg、不超过或不超过约 5×10^5 个细胞/kg、不超过或不超过约 6×10^5 个细胞/kg、不超过或不超过约 7×10^5 个细胞/kg、不超过或不超过约 8×10^5 个细胞/kg、不超过或不超过约 9×10^5 个细胞/kg、不超过或不超过约 1×10^6 个细胞/kg或者不超过或不超过约 2×10^6 个细胞/kg。在一些实施方案中,细胞剂量包含至少 2×10^5 个细胞或至少约 2×10^5 个细胞或 2×10^5 个细胞或约 2×10^5 个细胞(例如表达抗原的细胞,如表达CAR的细胞)/公斤受试者体重(细胞/kg),如至少 3×10^5 个细胞/kg或至少约 3×10^5 个细胞/kg或 3×10^5 个细胞/kg或约 3×10^5 个细胞/kg、至少 4×10^5 个细胞/kg或至少约 4×10^5 个细胞/kg或 4×10^5 个细胞/kg或约 4×10^5 个细胞/kg、至少 5×10^5 个细胞/kg或至少约 5×10^5 个细胞/kg或 5×10^5 个细胞/kg或约 5×10^5 个细胞/kg、至少 6×10^5 个细胞/kg或至少约 6×10^5 个细胞/kg或 6×10^5 个细胞/kg或约 6×10^5

个细胞/kg、至少 7×10^5 个细胞/kg或至少约 7×10^5 个细胞/kg或 7×10^5 个细胞/kg或约 7×10^5 个细胞/kg、至少 8×10^5 个细胞/kg或至少约 8×10^5 个细胞/kg或 8×10^5 个细胞/kg或约 8×10^5 个细胞/kg、至少 9×10^5 个细胞/kg或至少约 9×10^5 个细胞/kg或 9×10^5 个细胞/kg或约 9×10^5 个细胞/kg、至少 1×10^6 个细胞/kg或至少约 1×10^6 个细胞/kg或 1×10^6 个细胞/kg或约 1×10^6 个细胞/kg或者至少 2×10^6 个细胞/kg或至少约 2×10^6 个细胞/kg或 2×10^6 个细胞/kg或约 2×10^6 个细胞/kg。

[0243] 在一些实施方案中,细胞以所需剂量给予,所述所需剂量在一些方面包括所需剂量或数量的细胞或一种或多种细胞类型和/或所需比率的细胞类型。因此,在一些实施方案中,细胞剂量基于细胞总数(或每kg体重的细胞数量)和所需的单独群体或亚型的比率,如CD4⁺与CD8⁺的比率。在一些实施方案中,细胞剂量基于所需的单独群体中的细胞或单独细胞类型的总数(或每kg体重的细胞数量)。在一些实施方案中,剂量基于这种特征的组合,如所需的总细胞数量、所需比率和所需的单独群体中的细胞总数。

[0244] 在一些实施方案中,以所需剂量的总细胞(如期望剂量的T细胞)的耐受差异或在所述耐受差异之内给予细胞的群体或亚型如CD8⁺和CD4⁺T细胞。在一些方面,所需剂量是所需细胞数量或被给予所述细胞的受试者的每单位体重的所需细胞数量(例如,细胞/kg)。在一些方面,所需剂量等于或高于最小细胞数量或每单位体重的最小细胞数量。在一些方面,在以所需剂量给予的总细胞中,单独群体或亚型以等于或接近所需输出比率(如CD4⁺与CD8⁺比率)存在,例如在这种比率的一定耐受差异或误差内。

[0245] 在一些实施方案中,细胞以所需剂量的一种或多种单独细胞群体或亚型的耐受差异或在所述耐受差异之内给予,如所需剂量的CD4⁺细胞和/或所需剂量的CD8⁺细胞。在一些方面,所需剂量是所需的亚型或群体的细胞数量或所需的被给予所述细胞的受试者的每单位体重的此类细胞数量(例如,细胞/kg)。在一些方面,所需剂量等于或高于最小的群体或亚型的细胞数量或每单位体重的最小的群体或亚型的细胞数量。

[0246] 因此,在一些实施方案中,剂量基于所需的总细胞的固定剂量和所需比率,和/或基于所需的一种或多种单独亚型或亚群(例如,各自)的固定剂量。因此,在一些实施方案中,剂量基于所需的T细胞的固定或最小剂量和所需的CD4⁺与CD8⁺细胞的比率,和/或基于所需的CD4⁺和/或CD8⁺细胞的固定或最小剂量。

[0247] 在一些实施方案中,细胞在多种细胞群或亚型(如CD4⁺和CD8⁺细胞或亚型)的所需输出比率的耐受范围下或耐受范围内给予。在一些方面,所需比率可以是特定比率或可以是一系列比率。例如,在一些实施方案中,所需比率(例如,CD4⁺与CD8⁺细胞的比率)在1:5或约1:5和5:1或约5:1之间(或大于约1:5且小于约5:1),或在1:3或约1:3和3:1或约3:1之间(或大于约1:3且小于约3:1),如在2:1或约2:1和1:5或约1:5之间(或大于约1:5且小于约2:1,如5:1、4.5:1、4:1、3.5:1、3:1、2.5:1、2:1、1.9:1、1.8:1、1.7:1、1.6:1、1.5:1、1.4:1、1.3:1、1.2:1、1.1:1、1:1、1:1.1、1:1.2、1:1.3、1:1.4、1:1.5、1:1.6、1:1.7、1:1.8、1:1.9、1:2、1:2.5、1:3、1:3.5、1:4、1:4.5或1:5或者约5:1、4.5:1、4:1、3.5:1、3:1、2.5:1、2:1、1.9:1、1.8:1、1.7:1、1.6:1、1.5:1、1.4:1、1.3:1、1.2:1、1.1:1、1:1、1:1.1、1:1.2、1:1.3、1:1.4、1:1.5、1:1.6、1:1.7、1:1.8、1:1.9、1:2、1:2.5、1:3、1:3.5、1:4、1:4.5或1:5)。在一些方面,耐受差异在所需比率的约1%、约2%、约3%、约4%、约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%,包括这些范围之间的任何值。

[0248] 在具体实施方案中,细胞的数量和/或浓度是指表达重组受体(例如,CAR)的细胞的数量。在其他实施方案中,细胞的数量和/或浓度是指给予的所有细胞、T细胞或外周血单核细胞(PBMC)的数量或浓度。

[0249] 例如,在一些实施方案中,如果受试者是人,那么剂量包括少于约 5×10^8 个总重组受体(例如CAR)表达细胞、T细胞或外周血单核细胞(PBMC),例如,在约 1×10^6 到 5×10^8 个此类细胞的范围内,例如 2×10^6 、 5×10^6 、 1×10^7 、 5×10^7 、 1×10^8 或 5×10^8 个总此类细胞,或任两个前述值之间的范围。

[0250] 在一些实施方案中,基因工程化细胞的剂量包含从或从约 1×10^5 至 5×10^8 个表达CAR的总T细胞、 1×10^5 至 2.5×10^8 个表达CAR的总T细胞、 1×10^5 至 1×10^8 个表达CAR的总T细胞、 1×10^5 至 5×10^7 个表达CAR的总T细胞、 1×10^5 至 2.5×10^7 个表达CAR的总T细胞、 1×10^5 至 1×10^7 个表达CAR的总T细胞、 1×10^5 至 5×10^6 个表达CAR的总T细胞、 1×10^5 至 2.5×10^6 个表达CAR的总T细胞、 1×10^5 至 1×10^6 个表达CAR的总T细胞、 1×10^6 至 5×10^8 个表达CAR的总T细胞、 1×10^6 至 2.5×10^8 个表达CAR的总T细胞、 1×10^6 至 1×10^8 个表达CAR的总T细胞、 1×10^6 至 5×10^7 个表达CAR的总T细胞、 1×10^6 至 2.5×10^7 个表达CAR的总T细胞、 1×10^6 至 1×10^7 个表达CAR的总T细胞、 1×10^6 至 5×10^6 个表达CAR的总T细胞、 1×10^6 至 2.5×10^6 个表达CAR的总T细胞、 2.5×10^6 至 5×10^8 个表达CAR的总T细胞、 2.5×10^6 至 2.5×10^8 个表达CAR的总T细胞、 2.5×10^6 至 1×10^8 个表达CAR的总T细胞、 2.5×10^6 至 5×10^7 个表达CAR的总T细胞、 2.5×10^6 至 2.5×10^7 个表达CAR的总T细胞、 2.5×10^6 至 1×10^7 个表达CAR的总T细胞、 2.5×10^6 至 5×10^6 个表达CAR的总T细胞、 5×10^6 至 5×10^8 个表达CAR的总T细胞、 5×10^6 至 2.5×10^8 个表达CAR的总T细胞、 5×10^6 至 1×10^8 个表达CAR的总T细胞、 5×10^6 至 5×10^7 个表达CAR的总T细胞、 5×10^6 至 2.5×10^7 个表达CAR的总T细胞、 5×10^6 至 1×10^7 个表达CAR的总T细胞、 1×10^7 至 5×10^8 个表达CAR的总T细胞、 1×10^7 至 2.5×10^8 个表达CAR的总T细胞、 1×10^7 至 1×10^8 个表达CAR的总T细胞、 1×10^7 至 5×10^7 个表达CAR的总T细胞、 1×10^7 至 2.5×10^7 个表达CAR的总T细胞、 2.5×10^7 至 5×10^8 个表达CAR的总T细胞、 2.5×10^7 至 2.5×10^8 个表达CAR的总T细胞、 2.5×10^7 至 1×10^8 个表达CAR的总T细胞、 2.5×10^7 至 5×10^7 个表达CAR的总T细胞、 5×10^7 至 5×10^8 个表达CAR的总T细胞、 5×10^7 至 2.5×10^8 个表达CAR的总T细胞、 5×10^7 至 1×10^8 个表达CAR的总T细胞、 1×10^8 至 5×10^8 个表达CAR的总T细胞、 1×10^8 至 2.5×10^8 个表达CAR的总T细胞、或 2.5×10^8 至 5×10^8 个表达CAR的总T细胞。

[0251] 在一些实施方案中,基因工程化细胞的剂量包含至少或至少约 1×10^5 个表达CAR的细胞、至少或至少约 2.5×10^5 个表达CAR的细胞、至少或至少约 5×10^5 个表达CAR的细胞、至少或至少约 1×10^6 个表达CAR的细胞、至少或至少约 2.5×10^6 个表达CAR的细胞、至少或至少约 5×10^6 个表达CAR的细胞、至少或至少约 1×10^7 个表达CAR的细胞、至少或至少约 2.5×10^7 个表达CAR的细胞、至少或至少约 5×10^7 个表达CAR的细胞、至少或至少约 1×10^8 个表达CAR的细胞、至少或至少约 2.5×10^8 个表达CAR的细胞、或者至少或至少约 5×10^8 个表达CAR的细胞。

[0252] 在一些实施方案中,细胞疗法包含给予一定剂量,所述剂量包含以下细胞数量:为或为约 1×10^5 至 5×10^8 个总重组受体表达细胞、总T细胞或总外周血单核细胞(PBMC)、为或为约 5×10^5 至 1×10^7 个总重组受体表达细胞、总T细胞或总外周血单核细胞(PBMC)、或者为或为约 1×10^6 至 1×10^7 个总重组受体表达细胞、总T细胞或总外周血单核细胞(PBMC),每个

都包含端值。在一些实施方案中,细胞疗法包括给予一定剂量的细胞,所述剂量包含以下细胞数量:至少或至少约 1×10^5 个总重组受体表达细胞、总T细胞或总外周血单核细胞(PBMC),如至少或至少约 1×10^6 、至少或至少约 1×10^7 、至少或至少约 1×10^8 个此类细胞。在一些实施方案中,所述数量是关于CD3+或CD8+的总数,在一些情况下也是关于重组受体表达(例如CAR+)细胞。在一些实施方案中,细胞疗法包含给予一定剂量,所述剂量包含以下细胞数量:为或为约 1×10^5 至 5×10^8 个CD3+或CD8+总T细胞或CD3+或CD8+重组受体表达细胞、为或为约 5×10^5 至 1×10^7 个CD3+或CD8+总T细胞或CD3+或CD8+重组受体表达细胞、或者为或为约 1×10^6 至 1×10^7 个CD3+或CD8+总T细胞或CD3+或CD8+重组受体表达细胞,每个都包含端值。在一些实施方案中,细胞疗法包含给予一定剂量,所述剂量包含以下细胞数量:为或为约 1×10^5 至 5×10^8 个总CD3+/CAR+或CD8+/CAR+细胞、为或为约 5×10^5 至 1×10^7 个总CD3+/CAR+或CD8+/CAR+细胞、或者为或为约 1×10^6 至 1×10^7 个总CD3+/CAR+或CD8+/CAR+细胞,每个都包含端值。

[0253] 在一些实施方案中,剂量的T细胞包括CD4+T细胞、CD8+T细胞或CD4+和CD8+T细胞。

[0254] 在一些实施方案中,例如,如果受试者是人,那么所述剂量的CD8+T细胞(包括在剂量中包括CD4+和CD8+T细胞)包括在约 1×10^6 与 5×10^8 个之间的总重组受体(例如CAR)表达CD8+细胞,例如,在约 5×10^6 至 1×10^8 个此类细胞的范围内,例如 1×10^7 、 2.5×10^7 、 5×10^7 、 7.5×10^7 、 1×10^8 或 5×10^8 个总此类细胞,或在任两个前述值之间的范围。在一些实施方案中,给予患者多个剂量,并且每个剂量或总剂量可以在任何前述值内。在一些实施方案中,细胞剂量包括给予为或为约 1×10^7 至 0.75×10^8 个表达重组受体的总CD8+T细胞、 1×10^7 至 2.5×10^7 个表达重组受体的总CD8+T细胞、为或为约 1×10^7 至 0.75×10^8 个表达重组受体的总CD8+T细胞,每个都包含端值。在一些实施方案中,细胞的剂量包含给予或给予约 1×10^7 、 2.5×10^7 、 5×10^7 、 7.5×10^7 、 1×10^8 或 5×10^8 个总重组受体表达CD8+T细胞。

[0255] 在一些实施方案中,细胞(例如,表达重组受体的T细胞)的剂量作为单一剂量给予受试者,或者在两周、一个月、三个月、六个月、1年或更长的时间段内仅给予一次。

[0256] 在一些方面,剂量的大小基于一个或多个标准来确定,如受试者对先前治疗(例如化学疗法)的反应、受试者的疾病负荷(如肿瘤负担、体积、尺寸或程度)、转移的程度或类型、分期和/或受试者发生毒性结果(例如,CRS、巨噬细胞激活综合征、肿瘤溶解综合征、神经毒性和/或针对所给予的细胞和/或重组受体的宿主免疫应答)的可能性或发生率。

[0257] IV. 监测、评估和调节疗法的方法

[0258] 在一些实施方案中,提供了治疗方法。在一些实施方案中,所述方法包括给予免疫疗法和/或细胞疗法。在一些实施方案中,所述方法涉及给予基因工程化细胞,例如经工程化以表达重组受体(例如嵌合抗原受体(CAR))的细胞。在一些实施方案中,所述方法包括向受试者给予一定剂量的细胞(例如CAR+表达细胞),使得所述细胞在目标治疗范围或窗口内。在一些实施方案中,所述方法还涉及监测参数(例如药代动力学参数,例如峰值细胞浓度(C_{max})),以确定受试者中的细胞是否在治疗范围或窗口内。在一些实施方案中,如果细胞不在治疗范围或窗口内,则可以例如通过给予额外剂量、改变后续或额外剂量和/或通过给予可以调节CAR+T细胞扩增、增殖和/或活性的药剂来修改治疗。在一些方面,提供的方法还包括基于对参数(例如药代动力学参数,如峰值细胞浓度(C_{max})、患者属性和/或生物标记)的评估确定受试者剂量的方法、或向受试者给药的方法。

[0259] 在一些方面,提供了用表达重组受体的细胞调节疗法(例如细胞疗法,例如T细胞疗法)的方法。在一些实施方案中,通过向接受细胞疗法的受试者给予能够调节CAR+T细胞扩增、增殖、扩增、存活、活性和/或功能(例如,增加或减少CAR+T细胞扩增、增殖、存活和/或活性)的药剂来调节细胞疗法。

[0260] 在一些实施方案中,在评估药代动力学参数(例如,峰值CAR+T细胞浓度、暴露(例如,AUC)和/或细胞水平或浓度)后给予所述药剂。在一些实施方案中,在评估其他参数(例如患者属性、因素、特征和/或生物标记的表达)之后给予所述药剂,所述评估与药代动力学参数、反应、持久反应和/或毒性的发生相关和/或相关联。

[0261] 在一些实施方案中,提供了治疗方法,其涉及向患有疾病或病症的受试者给予一定剂量的包含表达重组受体(例如嵌合抗原受体(CAR)的T细胞的基因工程化细胞以便治疗疾病或病症。在一些实施方案中,所述方法涉及在给予所述剂量的基因工程化细胞后,监测受试者血液中的药代动力学参数(例如CAR+T细胞),以评估所述细胞是否在治疗范围或窗口内。在一些实施方案中,所述方法涉及如果基因工程化细胞不在治疗范围内,则向受试者给予能够在受试者中调节(任选地增加或减少)CAR+T细胞扩增、增殖和/或活性的药剂。

[0262] 在一些实施方案中,还提供了治疗方法,其涉及在受试者的血液中监测包含表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞的基因工程化细胞的存在,以评估所述细胞是否在治疗范围内,其中先前已经向受试者给予一定剂量的基因工程化细胞以便治疗疾病或病症。在一些实施方案中,所述方法还涉及如果基因工程化细胞不在治疗范围内,则给予能够在受试者中调节(任选地增加或减少)CAR+T细胞扩增、增殖和/或活性的药剂。

[0263] 在一些方面,如果受试者血液中CAR+T细胞的峰值数量小于治疗范围中峰值CAR+T细胞的最低数量,则向受试者给予能够增加CAR+T细胞扩增或增殖的药剂。在一些方面,如果受试者血液中CAR+T细胞的峰值数量大于治疗范围中峰值CAR+T细胞的最高数量,则向受试者给予能够减少CAR+T细胞扩增或增殖的药剂。

[0264] 在一些实施方案中,还提供了调节工程化细胞活性的方法。在一些实施方案中,所述方法涉及评估来自受试者的样品中的参数(例如肿瘤负荷的体积量度或炎性标记)的水平、量或浓度等于或高于阈值水平。在一些实施方案中,样品不包含表达嵌合抗原受体(CAR)的基因工程化T细胞和/或是从接受表达CAR的基因工程化T细胞的给予之前的受试者获得。在一些实施方案中,选择受试者用于给予能够降低表达CAR的基因工程化T细胞的扩增或增殖的药剂。在一些实施方案中,向受试者给予能够降低表达CAR的基因工程化T细胞的扩增或增殖的药剂。

[0265] 在一些实施方案中,还提供了调节工程化细胞活性的方法,其涉及向受试者给予能够在受试者中降低表达嵌合抗原受体(CAR)的基因工程化T细胞的扩增或增殖的药剂,其中所述受试者是其中来自受试者的样品中的参数(例如肿瘤负荷的体积量度或炎性标记)的水平、量或浓度等于或高于阈值水平的受试者。

[0266] 在一些实施方案中,所提供的方法涉及给予基因工程化细胞,例如经工程化以表达重组受体(例如CAR)的T细胞。在一些实施方案中,在开始给予一定剂量的包含表达嵌合抗原受体的T细胞的基因工程化细胞之前或同时,给予能够调节(例如,增加或减少)CAR+T细胞扩增、增殖和/或活性的药剂。在一些方面,在给予所述药剂之前,所选受试者具有在给予基因工程化细胞之后发生毒性的风险。在一些实施方案中,所述药剂的给予足以在受试

者中实现在治疗范围或窗口内的峰值CAR+T细胞。在一些实施方案中,所述药剂的给予足以在大多数通过所述方法如此治疗的受试者、或者大于或大于约50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%或95%或更多(例如大于75%)通过所述方法如此治疗的受试者的血液中实现在确定的目标治疗范围或窗口内的峰值CAR+T细胞浓度。

[0267] 在一些实施方案中,还提供了向受试者给药的方法。在一些实施方案中,所述方法包括向患有疾病或病症的受试者给予次最佳剂量的包含用嵌合抗原受体(CAR)工程化的T细胞的基因工程化细胞,其中所述剂量包含的基因工程化细胞数量不足以在受试者中、或在大多数通过所述方法如此治疗的受试者中、或在大于75%的通过所述方法如此治疗的受试者中实现在确定的治疗范围内的血液中的峰值CAR+细胞。在一些实施方案中,所述方法涉及给予在受试者中增强CAR+细胞扩增或增殖的药剂,以在给予基因工程化细胞后实现在治疗范围或窗口内的血液中的峰值CAR+T细胞。在一些实施方案中,基因工程化细胞的剂量是小于或小于约 1×10^7 个表达CAR的细胞、小于或小于约 5×10^6 个表达CAR的细胞、小于或小于约 2.5×10^6 个表达CAR的细胞、小于或小于约 1×10^6 个表达CAR的细胞、小于或小于约 5×10^5 个表达CAR的细胞、小于或小于约 2.5×10^5 个表达CAR的细胞、小于或小于约 1×10^5 个表达CAR的细胞。

[0268] 在一些实施方案中,在给予所述药剂后,所述方法实现了:与涉及给予相同剂量的基因工程化细胞但不给予所述药剂的方法相比,在受试者中在确定的治疗范围内的血液中峰值CAR+细胞的频率增加;在受试者中、或在大多数通过所述方法如此治疗的受试者中、或在大于75%的通过所述方法如此治疗的受试者中,在确定的治疗范围内的血液中的峰值CAR+细胞。

[0269] 在一些实施方案中,治疗范围或窗口是如本文(例如,在第II部分或其他地方)中所述来确定。在一些实施方案中,治疗范围是基于先前用基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3+CAR+T细胞或其CD8+CAR+T细胞子集的范围,所述范围与大于或大于约65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高的估计反应概率和小于或约30%、25%、20%、15%、10%、5%或更低的估计毒性概率相关。

[0270] 在一些实施方案中,治疗窗口或范围是基于细胞(例如CD3+、CD4+或CD8+T细胞)的数量和/或浓度的特定范围确定的。在一些实施方案中,血液中可以实现治疗窗口的示例性峰值CD3+CAR+T细胞浓度是或包括在约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、30、40、50个CD3+CAR+T细胞/微升血液与约200、300、400、500、600、700或750个CD3+CAR+T细胞/微升血液之间。在一些实施方案中,血液中可以实现治疗窗口的示例性峰值CD8+CAR+T细胞浓度是或包括在大约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、30、40、50个CD8+CAR+T细胞/微升血液与约200、300、400、500、600、700或750个CD8+CAR+T细胞/微升血液之间。

[0271] 在一些实施方案中,所述方法还涉及在给予所述剂量的基因工程化细胞后监测受试者血液中的CAR+T细胞。

[0272] 在一些实施方案中,在开始给予基因工程化细胞后至少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天或21天的时间,监测受试者血液中的CAR+T细胞。在一些实施方案中,在开始给予所述基因工程化细胞后在或在约11天至22天、12天至18天或14天至16天之间的时间监测所述受试者的血液中的CAR+T细胞,所述时间的每个都包含端值。

[0273] 还提供了评估反应或持久反应的可能性的方法,以及相应地给予治疗剂的方法。在一些实施方案中,所述方法涉及在来自受试者的生物样品中检测一种或多种炎性标记的峰值水平和/或基因工程化细胞(包含表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞)的峰值水平,其中先前已经向所述受试者给予一定剂量的基因工程化细胞以便治疗疾病或病症。在一些实施方案中,所述方法涉及单独地比较峰值水平与阈值,从而确定受试者将实现对基因工程化细胞给予的持久反应的可能性。

[0274] 在一些实施方案中,如果一种或多种炎性标记的峰值水平低于阈值,则受试者可能实现反应或持久反应,并且如果一种或多种炎性标记的峰值水平高于阈值,则受试者不可能实现持久反应。在一些实施方案中,如果基因工程化细胞的峰值水平在下限阈值与上限阈值之间的治疗范围内,则受试者可能实现持久反应,并且如果基因工程化细胞的峰值水平低于下限阈值或高于上限阈值,则受试者不可能实现持久反应。

[0275] 在一些实施方案中,阈值是如下值:在高于体积量度或炎性标记的平均值的25%内、20%内、15%内、10%内或5%内,和/或在高于多个对照受试者的体积量度或炎性标记的平均值的标准偏差内。在一些实施方案中,阈值是如下值:高于在多个对照受试者中的至少一个受试者中测量的体积量度或炎性标记的最高值,任选地在高于这个最高倍数变化的50%内、25%内、20%内、15%内、10%内或5%内。在一些实施方案中,阈值如下值:高于如在多个对照受试者中超过75%、80%、85%、90%或95%或98%的受试者中所测量的体积量度或炎性标记的最高值。在一些实施方案中,所述多个对照受试者是在接受一定剂量的基因工程化细胞之前的受试者组,其中:所述组的每个对照受试者在血液中展现比所述治疗范围内的最高峰值CAR+T细胞高的峰值CAR+T细胞;所述组的每个对照受试者在接受一定剂量的工程化细胞用于治疗相同疾病或病症后,继续发生毒性,任选地神经毒性或细胞因子释放综合征(CRS)、2级或3级或更高级神经毒性或者3级或更高级CRS;所述组的每个对照受试者在给予所述剂量的基因工程化细胞之后,均未发生反应,任选地完全反应(CR)或部分反应(PR);和/或所述组的每个对照受试者在给予所述剂量的基因工程化细胞之后,均未发生任选地持续或持续约或大于或约3个月或者持续或持续约或大于或约6个月持久反应。

[0276] 在一些实施方案中,所述方法还涉及基于对实现反应或持久反应的可能性的评估,给予药剂或替代疗法。在一些实施方案中,如果确定受试者不可能实现反应或持久反应,则选择所述受试者以使用除了所述基因工程化细胞之外的治疗剂或替代治疗性治疗来治疗。在一些实施方案中,如果确定受试者不可能实现反应或持久反应,则向受试者给予除了所述基因工程化细胞之外的治疗剂或替代治疗性治疗。

[0277] 在一些实施方案中,还提供了治疗方法,其涉及选择受试者用于给予治疗剂和/或替代治疗性治疗。在一些实施方案中,所述方法涉及选择已经接受包含表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞的基因工程化细胞的给予的受试者,其中:来自受试者的样品中的一种或多种炎性标记的峰值水平高于阈值;和/或来自受试者的样品中的包含嵌合抗原受体(CAR)的T细胞的峰值水平低于下限阈值或高于上限阈值。

[0278] 在一些实施方案中,所述反应是完全反应(CR)、客观反应(OR)或部分反应(PR)。在一些实施方案中,反应可持续等于或大于3个月、4个月、5个月或6个月。

[0279] 在一些实施方案中,在开始给予基因工程化细胞后至少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天或21天的时间评估峰值水平和/或从受试

者获得样品。在一些实施方案中,在开始给予所述基因工程化细胞后在或在约11天至22天、12天至18天或14天至16天之间的时间评估所述峰值水平和/或从所述受试者获得所述样品,所述时间的每个都包含端值。

[0280] 在一些实施方案中,峰值水平是或包括一种或多种炎性标记的峰值水平,所述炎性标记例如为C反应蛋白(CRP)、IL-2、IL-6、IL-10、IL-15、TNF- α 、MIP-1 α 、MIP-1 β 、MCP-1、CXCL10或CCL13。

[0281] 在一些实施方案中,评估一种或多种炎性标记的峰值水平,并且所述阈值在25%内、20%内、15%内、10%内或5%内和/或在所述炎性标记的峰值水平的中值或平均值的标准偏差内,如在已经接受所述基因工程化细胞的给予的对照受试者组中所确定的,其中任选地在给予所述基因工程化细胞后等于或大于3个月或6个月,所述组的每个受试者未实现持久反应,任选CR和/或PR。在一些实施方案中,在给予基因工程化细胞之后,任选地在给予基因工程化细胞之后等于或大于3个月或6个月,对照受试者展现稳定疾病(SD)或进行性疾病(PD)。在一些实施方案中,峰值水平是CAR+T细胞或其CD8+T细胞子集的峰值水平。

[0282] 在一些实施方案中,下限阈值和上限阈值分别是先前用基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者血液中的峰值CD3+CAR+T细胞或其CD8+CAR+T细胞子集的治疗范围的下限和上限,所述范围与大于或大于约65%的估计反应概率和小于或约30%的估计毒性概率相关。在一些实施方案中,治疗范围是其中估计毒性概率小于20%、小于15%、小于10%或小于5%并且实现反应的估计概率大于65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多的范围。

[0283] 在一些实施方案中,所述反应概率是基于作为完全反应(CR)、客观反应(OR)或部分反应(PR)的反应,任选地其中所述反应是持久的,任选地可持续等于或至少3个月或者等于或至少6个月。

[0284] 在一些实施方案中,将峰值CAR+T细胞确定为受试者血液中的CAR+T细胞数量/微升。在一些实施方案中,上限阈值在或在约300个细胞/微升与1000个细胞/微升之间或400个细胞/微升与600个细胞/微升之间,或者为约300个细胞/微升、400个细胞/微升、500个细胞/微升、600个细胞/微升、700个细胞/微升、800个细胞/微升、900个细胞/微升或1000个细胞/微升;或者下限阈值为小于或小于约10个细胞/微升、9个细胞/微升、8个细胞/微升、7个细胞/微升、6个细胞/微升、5个细胞/微升、4个细胞/微升、3个细胞/微升、2个细胞/微升或1个细胞/微升。

[0285] 在本文所提供的方法的一些实施方案中,在所治疗的多个受试者中,与不包括给予药剂的方法相比,所述方法实现了实现持久反应的受试者百分比的增加,所述持久反应任选地是完全反应(CR)或客观反应(OR)或部分反应(PR),其任选地可持续等于或大于3个月或等于或大于6个月。在一些实施方案中,所述增加大于或大于约1.2倍、1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍或更多。

[0286] 在一些实施方案中,至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%或至少50%的根据所述方法治疗的受试者实现持续等于或大于3个月或等于或大于6个月的完全反应(CR);和/或至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%或至少70%的根据所述方法治疗的受试者实现可持续等于或大于3个月或等于或大于6个月的客观反应(OR)。在一些实施方案中,大于或大于约50%、大于或大于约60%、大于或大于约

70%、或者大于或大于约80%的根据所述方法治疗的受试者不展现3级或更高级细胞因子释放综合征(CRS)和/或不展现2级或更高级或3级或更高级神经毒性;或者大于或大于约40%、大于或大于约50%、或者大于或大于约55%的根据所述方法治疗的受试者不展现任何神经毒性或CRS。

[0287] 在一些实施方案中,在给予疗法(例如细胞疗法)之前评估参数,例如患者和/或疾病或病症的属性、因素、特征和/或生物标记的表达。在一些实施方案中,在给予疗法(例如细胞疗法)之后评估参数,例如患者和/或疾病或病症的属性、因素、特征和/或生物标记的表达。在一些实施方案中,参数包括患者和/或疾病或病症的属性、因素、特征和/或生物标记的表达的水平或测量值,例如,峰值水平,所述参数可在给予疗法(例如,细胞疗法)之后评估。

[0288] 在一些实施方案中,参数是SPD,并且在一些情况下,毒性(例如CRS或NT)的发生与高于阈值的SPD值相关联。在一些实施方案中,体积量度是SPD,并且阈值为或为约 $30/\text{cm}^2$,为或为约 $40/\text{cm}^2$,为或为约 $50/\text{cm}^2$,为或为约 $60/\text{cm}^2$,或者为或为约 $70/\text{cm}^2$ 。在一些实施方案中,体积量度是SPD,阈值为或为约 $30/\text{cm}^2$,为或为约 $40/\text{cm}^2$,为或为约 $50/\text{cm}^2$,为或为约 $60/\text{cm}^2$,或者为或为约 $70/\text{cm}^2$ 。

[0289] 在一些实施方案中,参数是LDH,并且在一些情况下,毒性(例如CRS或NT)的发生与高于阈值的LDH值相关联。在一些实施方案中,炎性标记是LDH,并且阈值为或为约300单位/升,为或为约400单位/升,为或为约500单位/升或者为或为约600单位/升。

[0290] A. 药代动力学参数

[0291] 在一些情况下,所提供的实施方案涉及基于对药代动力学(PK)参数的评估,向受试者给予能够调节CAR+T细胞扩增、增殖和/或活性的药剂。在一些实施方案中,药代动力学参数包括本文(例如,在II.C部分中)所述的那些参数中的任何一种。在一些实施方案中,药代动力学参数包括最大(峰值)血浆浓度(C_{\max})、峰值时间(即,出现最大血浆浓度(C_{\max})的时间; T_{\max})、最小血浆浓度(即治疗剂(例如CAR+T细胞)的剂量之间的最小血浆浓度; C_{\min})、给予后的消除半衰期($T_{1/2}$)和曲线下面积(即通过标绘时间与治疗剂CAR+T细胞的血浆浓度产生的曲线下面积;AUC)。

[0292] 在一些实施方案中,如果所评估的药代动力学参数指示所给予的细胞剂量不在治疗范围和/或窗口内或落在所述治疗范围和/或窗口外,则可以向受试者给予能够调节CAR+T细胞扩增、增殖和/或活性的药剂。在一些实施方案中,所述治疗范围和/或窗口是本文所述的任一种和/或与本文所述的任何药代动力学参数相关。

[0293] 在一些实施方案中,如果药代动力学参数(例如,受试者血液中CAR+T细胞的峰值数量)小于治疗范围内所述药代动力学参数(例如,受试者血液中CAR+T细胞的峰值数量)的最低数量,则向受试者给予增加CAR+T细胞扩增、增殖和/或活性的药剂。

[0294] 在一些实施方案中,如果药代动力学参数(例如,受试者血液中CAR+T细胞的峰值数量)大于治疗范围内所述药代动力学参数(例如,受试者血液中CAR+T细胞的峰值数量)的最高数量,则向受试者给予降低CAR+T细胞扩增、增殖和/或活性的药剂。

[0295] 在一些实施方案中,在评估药代动力学参数(例如,峰值CAR+T细胞浓度、暴露(例如,AUC)和/或细胞水平或浓度)后给予所述药剂。

[0296] 在一些方面,所提供的实施方案涉及评估和/或监测药代动力学参数,例如血液中

CAR+T细胞的数量或浓度。在一些实施方案中,所述方法涉及监测受试者血液中的CAR+T细胞数量和/或浓度,以评估所述细胞是否在治疗范围和/或窗口内。在一些实施方案中,所述方法涉及如果受试者不在治疗范围内,则向受试者给予能够在受试者中调节CAR+T细胞扩增(任选地增加或降低CAR+T细胞扩增)的药剂。

[0297] 在一些实施方案中,所述治疗范围和/或窗口是基于对本文所述参数的评估来确定和/或是基于任何基于所述评估的标准。在一些实施方案中,所述治疗范围和/或窗口是基于先前用基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3+CAR+T细胞或其CD8+CAR+T细胞子集的范围,所述范围与大于或大于约65%的估计反应概率和小于或约30%的估计毒性概率相关;或在给予基因工程化细胞之后,血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的峰值CD3+CAR+T细胞;或在给予基因工程化细胞之后,血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR+T细胞。

[0298] B. 患者属性和生物标记

[0299] 在一些情况下,所提供的实施方案涉及评估参数,例如患者和/或疾病或病症的属性、因素、特征和/或生物标记的表达。在一些实施方案中,所评估的参数与药代动力学参数、反应、持久反应和/或毒性的发生相关和/或相关联。在一些实施方案中,参数包括患者因素或患者属性。在一些实施方案中,参数包括疾病或病症的属性、因素、特征。在一些实施方案中,在治疗之前(例如在给予细胞疗法之前)评估参数。在一些实施方案中,在治疗后(例如在给予一个或多个剂量的细胞疗法之后)评估参数。

[0300] 在一些实施方案中,参数是或包括药代动力学参数,例如,最大(峰值)血浆浓度(C_{\max})、峰值时间(即出现最大血浆浓度(C_{\max})的时间; T_{\max})、最小血浆浓度(即治疗剂(例如CAR+T细胞)的剂量之间的最小血浆浓度; C_{\min})、消除半衰期($T_{1/2}$)和曲线下面积(即通过标绘时间与治疗剂CAR+T细胞的血浆浓度产生的曲线下面积;AUC;例如AUC₀₋₂₈)。

[0301] 在一些实施方案中,参数是或包括指示患者状态和/或患者的疾病或病症的一个或多个因素。在一些实施方案中,参数指示肿瘤负荷。在一些实施方案中,指示肿瘤负荷的因素是一个或多个肿瘤的体积量度。在一些实施方案中,体积量度是一个或多个病灶的量度,例如肿瘤大小、肿瘤直径、肿瘤体积、肿瘤质量、肿瘤负担或体积、肿瘤相关水肿、肿瘤相关坏死和/或转移的数量或范围。在一些实施方案中,肿瘤的体积量度是二维量度。例如,在一些实施方案中,将一个或多个病灶的面积计算为所有可测量肿瘤的最长直径与最长垂直直径的乘积。在一些情况下,肿瘤的体积量度是一维量度。在一些情况下,将可测量病灶的大小评估为最长直径。在一些实施方案中,测量直径乘积之和(SPD)、最长肿瘤直径(LD)、最长肿瘤直径之和(SLD)、坏死、肿瘤体积、坏死体积、坏死-肿瘤比率(NTR)、瘤周水肿(PTE)和水肿-肿瘤比率(ETR)。

[0302] 用于测量和评估肿瘤负荷的示例性方法包括描述于例如以下文献中的那些: Carceller等人, *Pediatr Blood Cancer*. (2016) 63(8):1400-1406和Eisenhauer等人, *Eur J Cancer*. (2009) 45(2):228-247。在一些实施方案中,体积是通过确定所有可测量肿瘤的最大垂直直径的乘积之和而测量的直径乘积之和(SPD)。在一些方面,在一个维度上用最长直径(LD)和/或通过确定所有可测量病灶的最长肿瘤直径之和(SLD)来测量肿瘤或病灶。在一些实施方案中,肿瘤的体积量度是肿瘤坏死的体积定量,例如坏死体积和/或坏死-肿瘤比率(NTR),参见Monsky等人, *Anticancer Res*. (2012) 32(11):4951-4961。在一些方面,肿

瘤的体积量度是肿瘤相关水肿的体积定量,例如瘤周水肿(PTE)和/或水肿-肿瘤比率(ETR)。在一些实施方案中,测量可以使用受试者的成像技术来进行,例如计算机断层成像(CT)、正电子发射断层成像(PET)和/或磁共振成像(MRI)。

[0303] 在一些实施方案中,体积量度是SPD,并且在一些情况下,毒性(例如CRS或NT)的发生与高于阈值的SPD值相关。在一些实施方案中,体积量度是SPD,并且阈值为或为约30/cm²,为或为约40/cm²,为或为约50/cm²,为或为约60/cm²,或者为或为约70/cm²。在一些实施方案中,体积量度是SPD,阈值为或为约30/cm²,为或为约40/cm²,为或为约50/cm²,为或为约60/cm²,或者为或为约70/cm²。

[0304] 在一些实施方案中,肿瘤的体积量度是在筛选期间(例如常规评估或抽血)确定,以确认和/或鉴定受试者中的病症或疾病。

[0305] 在一些方面,参数(例如,肿瘤负荷的测量值)与药代动力学参数相关联和/或相关。在一些实施方案中,参数(包括药代动力学参数)与反应和/或持久反应和/或发生毒性(例如CRS或神经毒性(NT))的风险相关。

[0306] 在一些实施方案中,参数是或包括至少一种或一组生物标记。在一些实施方案中,生物标记的表达和/或存在与药代动力学参数、反应、持久反应和/或毒性的发生相关和/或相关联。在一些实施方案中,将参数与特定参考值进行比较,所述参考值例如与反应和/或持久反应和/或发生毒性(例如CRS或神经毒性(NT))的风险相关的那些。在一些实施方案中,所述方法还涉及基于对患者因素和/或生物标记的评估向受试者给予能够调节CAR+T细胞扩增、增殖和/或活性的药剂。

[0307] 在一些方面,实施方案涉及获得生物样品用于检测参数和/或评估参数的存在和/或检测参数。在一些实施方案中,通常在给予细胞疗法或其第一次给予或剂量,或在开始前述任一项后的4小时至12个月内,例如通常在给予细胞疗法或其第一次给予或剂量后,或在开始前述任一项后,在或在约1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、21天、28天、30天、60或90天或更长时间,2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、11周、12周、13周、14周、15周或更长时间,或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、18、24、48个月或更长时间内,获得生物样品。在一些实施方案中,通常在给予细胞疗法或其第一次给予或剂量,或在开始前述任一项后的4小时至12个月内,例如通常在给予细胞疗法或其第一次给予或剂量后,或在开始前述任一项后,在或在约1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、21天、28天、30天、60或90天或更长时间,2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、11周、12周、13周、14周、15周或更长时间,或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、18、24、48个月或更长时间内,评估或测量参数。在一些实施方案中,评估或测量参数。在一些实施方案中,通常在给予细胞疗法或其第一次给予或剂量,或在开始前述任一项后的4小时至12个月内,例如通常在给予细胞疗法或其第一次给予或剂量后,或在开始前述任一项后,在或在约1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、21天、28天、30天、60或90天或更长时间,2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、11周、12周、13周、14周、15周或更长时间,或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、18、24、48个月或更长时间内,评估参数。

[0308] 在一些方面,参数(例如,患者因素和/或生物标记)与药代动力学参数相关联和/或相关。在一些实施方案中,参数(包括药代动力学参数)与反应和/或持久反应和/或发生

毒性(例如CRS或神经毒性(NT))的风险相关。

[0309] 在一些实施方案中,参数是生物标记。在一些实施方案中,参数是或包括生物标记的表达和/或表达特定生物标记的细胞的数量、浓度和/或百分比。在一些实施方案中,参数包括生物标记或包含多种生物标记的组中的每种生物标记。在一些实施方案中,生物标记是或包含细胞因子和/或其他血清或血液因子,例如本文所述的任何血清或血液因子。在一些实施方案中,生物标记或组中的每种生物标记是细胞因子,在一些情况下,所述细胞因子可以是趋化因子。在一些实施方案中,生物标记或组中的每种生物标记包含可溶性受体。在一些实施方案中,生物标记或组中的每种生物标记包含可溶性血清蛋白。示例性生物标记或生物标记组描述于本文中。

[0310] 在一些实施方案中,参数是或包括血液分析物的水平和/或浓度。在一些实施方案中,参数是或包括炎性标记的水平和/或浓度。在一些实施方案中,血液分析物和/或炎性标记是或包括白细胞介素-7(IL-7)、IL-15、巨噬细胞炎性蛋白(MIP-1 α)的水平和/或浓度。在一些实施方案中,血液分析物和/或炎性标记是或包括IL-6、IL-10、IL-16、干扰素 γ (IFN- γ)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、MIP-1 α 、MIP-1 β 、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)和C-X-C基序趋化因子10(CXCL10)的水平和/或浓度。在一些实施方案中,血液分析物和/或炎性标记是或包括铁蛋白、C反应蛋白(CRP)、D-二聚体(纤维蛋白降解产物)、IL-6、IL-10、IL-15、IL-16、TNF- α 、MIP-1 α 和MIP-1 β 的水平和/或浓度。在一些实施方案中,血液分析物和/或炎性标记是或包括LDH、铁蛋白、CRP、IL-6、IL-8、IL-10、TNF- α 、IFN- α 2、MCP-1和/或MIP-1 β 的水平和/或浓度。在一些实施方案中,血液分析物和/或炎性标记是或包括CRP、血清淀粉样蛋白A1(SAA-1)、IL-2、IL-6、IL-10、IL-15、TNF- α 、MIP-1 α 、MIP-1 β 、MCP-1、CXCL10和C-基序趋化因子配体13(CCL13)的水平和/或浓度。在一些实施方案中,血液分析物和/或炎性标记是或包括LDH、铁蛋白、CRP、D-二聚体、SAA-1、IL-6、IL-10、IL-15、IL-16、TNF- α 、IFN- γ 和/或MIP-1 α 的水平和/或浓度。

[0311] 在一些实施方案中,炎性标记是或包括检测和评估的C反应蛋白(CRP)、红细胞沉降率(ESR)、白蛋白、铁蛋白、 β 2微球蛋白(β 2-M)或乳酸脱氢酶(LDH)的水平或存在。在一些实施方案中,使用免疫测定评估炎性标记。例如,可以使用酶联免疫吸附测定(ELISA)、酶免疫测定(EIA)、放射免疫测定(RIA)、表面等离子体共振(SPR)、蛋白质印迹、侧向流测定、免疫组织化学、蛋白质阵列或免疫PCR(iPCR)来检测炎性标记。在一些实施方案中,使用制品包括检测指示肿瘤负荷的炎性标记。在一些情况下,使用流式细胞术测定或评估炎性标记。在一些情况下,试剂是结合炎性标记的可溶性蛋白质。在一些例子中,试剂是结合C反应蛋白(CRP)、红细胞沉降率(ESR)、白蛋白、铁蛋白、 β 2微球蛋白(β 2-M)或乳酸脱氢酶(LDH)的蛋白质。

[0312] 在一些实施方案中,生物标记(例如炎性标记)是或包括C反应蛋白(CRP)。在一些实施方案中,使用体外酶联免疫吸附测定来评估CRP,以从样品(例如血清、血浆或血液)获得人CRP的定量测量值。在一些例子中,使用人酶联免疫吸附测定(ELISA)检测CRP。在一些实施方案中,生物标记(例如,炎性标记)是或包括红细胞沉降率(ESR)。在一些实施方案中,通过测量红细胞在竖直移液管或导管中从血浆分离后已经下降的距离(以毫米/小时为单位)来评估ESR。在一些实施方案中,生物标记是或包括白蛋白。在一些方面,使用比色测试或体外酶联免疫吸附测定来评估白蛋白。在一些例子中,使用人酶联免疫吸附测定(ELISA)

检测白蛋白。在一些实施方案中,生物标记(例如炎性标记)是或包括铁蛋白或 $\beta 2$ 微球蛋白。在一些实施方案中,铁蛋白或 $\beta 2$ 微球蛋白是使用免疫测定来评估,或使用ELISA来检测。在一些方面,生物标记(例如炎性标记)是或包括乳酸脱氢酶(LDH),并且LDH是使用比色测试或体外酶联免疫吸附测定来评估。

[0313] 在一些实施方案中,参数是LDH,并且在一些情况下,毒性(例如CRS或NT)的发生与高于阈值的LDH值相关联。在一些实施方案中,炎性标记是LDH,并且阈值为或为约300单位/升,为或为约400单位/升,为或为约500单位/升或者为或为约600单位/升。

[0314] 在一些实施方案中,一种或多种生物标记包括两种或更多种生物标记(例如细胞因子,例如炎性细胞因子)和/或患者属性(例如肿瘤负荷和/或炎性标记的表达)。在一些方面,从同一样品同时测量两种或更多种生物标记。在其他方面,两种或更多种生物标记是来自受试者的同一样品或从不同样品测量或依次测量。

[0315] 在一些实施方案中,生物标记或生物标记组的水平、量、浓度或其他参数指示细胞的药代动力学参数,例如,最大(峰值)血浆浓度(C_{\max})、峰值时间(即出现最大血浆浓度(C_{\max})的时间; T_{\max})、最小血浆浓度(即治疗剂(例如CAR+T细胞)的剂量之间的最小血浆浓度; C_{\min})、消除半衰期($T_{1/2}$)和曲线下面积(即通过标绘时间与治疗剂CAR+T细胞的血浆浓度产生的曲线下面积;AUC;例如AUC₀₋₂₈)。在一些实施方案中,生物标记或生物标记组的水平、量、浓度指示发生毒性(例如神经毒性,例如严重神经毒性和/或CRS,例如sCRS)的风险。在一些实施方案中,生物标记或生物标记组的水平、量、浓度指示反应的可能性和/或概率,与所述反应的可能性和/或概率相关联和/或相关,所述反应例如客观反应(OR)、完全反应(CR)或部分反应(PR),或持久反应(例如3个月的反应)。

[0316] 在一些实施方案中,参数是或包括C反应蛋白(CRP)、红细胞沉降率(ESR)、白蛋白、铁蛋白、 $\beta 2$ 微球蛋白($\beta 2$ -M)、乳酸脱氢酶(LDH)的水平、浓度和/或数量,和/或是炎性细胞因子。在一些实施方案中,炎性标记是LDH。在一些实施方案中,LDH的水平、浓度和/或数量是疾病负荷(例如,肿瘤或癌症)的替代,并且可以用于某些受试者的潜在神经毒性风险的评估和/或治疗的风险适应性给药或调节。在一些方面,LDH水平可以单独地和/或与另一种治疗前参数组合地评估,所述治疗前参数例如为疾病负荷的另一种量度或指示物,例如体积肿瘤测量值,例如尺寸乘积之和(SPD)或疾病负荷的其他基于CT或基于MRI的体积测量值,例如本文所述的任一种。在一些方面,对指示疾病负荷的一个或多个参数进行评估,并且在一些情况下所述一个或多个参数可以指示在T细胞疗法后发生神经毒性的风险的存在、不存在或程度。在一些方面,所述一个或多个参数包括LDH和/或体积肿瘤测量值。在一些实施方案中,参数是SPD和/或LDH。

[0317] 在一些实施方案中,参数是患者属性、因素和/或特征。在一些实施方案中,参数是治疗前测量值,例如基线测量值、输注前测量值和/或淋巴细胞清除前测量值。在一些实施方案中,在治疗前,例如在给予细胞疗法或其第一次给予或剂量前,或开始前述任一项之后,评估参数,和/或在细胞疗法之前进行淋巴细胞清除。在一些实施方案中,在淋巴细胞清除前评估参数。

[0318] 在一些实施方案中,治疗前测量值是或包括C反应蛋白(CRP)、D-二聚体(纤维蛋白降解产物)、铁蛋白、IFN- $\alpha 2$ 、IFN- γ 、IL-6、IL-7、IL-8、IL-10、IL-15、IL-16、乳酸脱氢酶(LDH)、巨噬细胞炎性蛋白(MIP-1 α)、MIP-1 β 、MCP-1、SAA-1和/或TNF- α 的水平和/或浓度。

[0319] 在一些实施方案中,一个或多个参数的较高或较低治疗前测量值与CAR+T细胞的较高或较低药代动力学参数(例如 C_{\max} 或AUC)和/或毒性(例如CRS或NT,例如严重CRS或严重NT)的较高或较低比率和/或发生率相关联和/或相关。在一些实施方案中,一个或多个参数的较高或较低治疗前测量值与较高或较低反应(例如,ORR,包括CR和PR)和/或反应的较高或较低持久性(例如,3个月的反应)相关联和/或相关。

[0320] 在一些实施方案中,一个或多个参数的较高治疗前测量值与CAR+T细胞的较高药代动力学参数(例如, C_{\max} 或AUC)和/或毒性(例如,CRS或NT,例如严重CRS或严重NT)的较高比率和/或发生率相关联和/或相关。

[0321] 在一些实施方案中,参数是或包括治疗后测量值(例如,在给予疗法(例如细胞疗法)后的峰值或最大测量值)和/或输注后测量值和/或给予细胞疗法或其第一次给予或剂量后或在开始前述任一项之后的测量值。在一些实施方案中,峰值测量值是或包括在给予细胞疗法和/或其开始后某段时间后一段时间内的峰值或最大值,例如在给予细胞疗法或其第一次使用或剂量后,或在开始前述任一项后,在或在约1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、21天、28天、30天、60或90天或更长时间,2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、11周、12周、13周、14周、15周或更长时间,或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、18、24、48个月或更长时间内的峰值或最大值。

[0322] 在一些实施方案中,参数是或包括炎性标记(包括细胞因子或趋化因子)的峰值水平和/或浓度。在一些实施方案中,一个或多个参数的较低峰值测量值与CAR+T细胞的较高药代动力学参数(例如, C_{\max} 或AUC)和/或毒性(例如,CRS或NT,例如严重CRS或严重NT)的较高比率和/或发生率相关联和/或相关。在一些实施方案中,一个或多个参数的较低治疗前测量值与反应(例如ORR,包括CR和PR)和/或反应的较低持久性(例如3个月的反应)相关联和/或相关。

[0323] 在一些实施方案中,参数是或包括炎性标记(包括细胞因子或趋化因子)的峰值水平和/或浓度。在一些实施方案中,参数是或包括生物标记的峰值水平和/或浓度,所述生物标记包括C-C基序趋化因子配体13(CCL13)、C反应蛋白(CRP)、C-X-C基序趋化因子10(CXCL10)、IL-2、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-10、IL-15、IL-16、干扰素 γ (IFN- γ)、淋巴毒素- α (LT- α)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、巨噬细胞炎性蛋白1 α (MIP-1 α)、MIP-1 β 、血清淀粉样蛋白A1(SAA-1)、转化生长因子 β (TGF- β)和肿瘤坏死因子 α (TNF- α)。在一些实施方案中,一个或多个参数的较高峰值水平和/或浓度与毒性(例如CRS或NT,例如严重CRS或严重NT)的较高比率和/或发生率相关联和/或相关。在一些实施方案中,较低峰值水平和/或浓度与较高反应(例如ORR,包括CR和PR)和/或反应的较高持久性(例如3个月的反应)相关联和/或相关。

[0324] 在一些实施方案中,阈值是如下值:在高于体积量度或炎性标记的平均值的25%内、20%内、15%内、10%内或5%内,和/或在高于多个对照受试者的体积量度或炎性标记的平均值的标准偏差内。在一些实施方案中,阈值是如下值:高于在多个对照受试者中的至少一个受试者中测量的体积量度或炎性标记的最高值,任选地在高于这个最高倍数变化的50%内、25%内、20%内、15%内、10%内或5%内。在一些实施方案中,阈值如下值:高于如在多个对照受试者中超过75%、80%、85%、90%或95%或98%的受试者中所测量的体积量度或炎性标记的最高值。在一些实施方案中,所述多个对照受试者是在接受一定剂量的基

因工程化细胞之前的受试者组,其中:所述组的每个对照受试者在血液中展现比所述治疗范围内的最高峰值CAR+T细胞高的峰值CAR+T细胞;所述组的每个对照受试者在接受一定剂量的工程化细胞用于治疗相同疾病或病症后,继续发生毒性,任选地神经毒性或细胞因子释放综合征(CRS)、2级或3级或更高级神经毒性或者3级或更高级CRS;所述组的每个对照受试者在给予所述剂量的基因工程化细胞之后,均未发生反应,任选地完全反应(CR)或部分反应(PR);和/或所述组的每个对照受试者在给予所述剂量的基因工程化细胞之后,均未发生任选地持续或持续约或大于或约3个月或者持续或持续约或大于或约6个月持久反应。

[0325] C. 测量用试剂

[0326] 在一些实施方案中,使用一种或多种能够检测参数或对所述参数具有特异性的试剂检测参数,例如患者因素、生物标记、炎性标记和/或细胞因子。在一些实施方案中,还提供了试剂盒和制品,用于检测或评估参数和/或用于调节疗法(例如细胞疗法)。

[0327] 在一些实施方案中,还提供了使用所述试剂测定来自受试者的生物样品的说明书,所述受试者是任选地使用细胞疗法的治疗的候选者,所述细胞疗法任选地包括表达重组受体的基因工程化细胞的剂量或组合物。在一些使用制品的实施方案中,检测并评估C-C基序趋化因子配体13(CCL13)、C反应蛋白(CRP)、C-X-C基序趋化因子10(CXCL10)、D-二聚体(纤维蛋白降解产物)、铁蛋白、IFN- α 2、白细胞介素-2(IL-2)、IL-10、IL-15、IL-16、IL-6、IL-7、IL-8、干扰素 γ (IFN- γ)、乳酸脱氢酶(LDH)、巨噬细胞炎性蛋白(MIP-1 α)、MIP-1 β 、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、SAA-1、血清淀粉样蛋白A1(SAA-1)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)的水平或存在。在使用制品的一些实施方案中,检测和评估C反应蛋白(CRP)、红细胞沉降率(ESR)、白蛋白、铁蛋白、 β 2微球蛋白(β 2-M)或乳酸脱氢酶(LDH)的水平或存在。还提供了检测和评估指示肿瘤负荷的一种或多种患者属性、因素和/或生物标记的方法。

[0328] 在一些实施方案中,测量一个或多个参数(例如,生物标记)的值包括使能够直接或间接检测分析物的试剂与生物样品接触并确定所述分析物在所述生物样品中的存在或不存在、水平、量或浓度。在一些实施方案中,检测并评估一种或多种参数,例如生物标记、C-C基序趋化因子配体13(CCL13)、C反应蛋白(CRP)、C-X-C基序趋化因子10(CXCL10)、D-二聚体(纤维蛋白降解产物)、铁蛋白、IFN- α 2、白细胞介素-2(IL-2)、IL-10、IL-15、IL-16、IL-6、IL-7、IL-8、干扰素 γ (IFN- γ)、乳酸脱氢酶(LDH)、巨噬细胞炎性蛋白(MIP-1 α)、MIP-1 β 、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、SAA-1、血清淀粉样蛋白A1(SAA-1)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)。在一些使用制品的实施方案中,C反应蛋白(CRP)、红细胞沉降率(ESR)、白蛋白、铁蛋白、 β 2微球蛋白(β 2-M)或乳酸脱氢酶(LDH)的水平或存在。在一些实施方案中,一种或多种参数(例如生物标记)是或包括LDH。

[0329] 在一些方面,所述试剂是特异性结合至生物标记的结合分子。例如,在一些实施方案中,所述试剂是抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,所述试剂是或包括生物标记的底物或结合配偶体。

[0330] 在一些实施方案中,在样品中检测或确定LDH的存在、不存在或水平、量、浓度和/或其他量度。多种检测或确定LDH的方法是已知的。例如,可以使用通过NAD⁺还原为NADH测量将乳酸盐LDH转化为丙酮酸盐的测定来检测样品中的LDH。在一些实施方案中,使样品在辅酶NAD的存在下与乳酸接触,所述辅酶NAD作为样品中LDH的量度产生NADH,然后NADH在电子转移剂的存在下发生氧化。在一些实施方案中,NADH与探针或染料前体相互作用,所述探针

或染料前体可通过测量可见光范围内的吸收来检测。在一些例子中,心肌黄酶使用NADH将四唑盐(INT)还原为红色甲臢(formazan)产物并测量所述产物。因此,在一些实施方案中,所形成的有色产物的量与样品中的LDH活性成正比。

[0331] 在一些实施方案中,使用免疫测定评估患者属性、因素和/或生物标记。例如,可以使用酶联免疫吸附测定(ELISA)、酶免疫测定(EIA)、放射免疫测定(RIA)、表面等离子体共振(SPR)、蛋白质印迹、侧向流测定、免疫组织化学、蛋白质阵列或免疫PCR(iPCR)来检测患者属性、因素和/或生物标记。在一些实施方案中,使用制品包括检测指示肿瘤负荷的患者属性、因素和/或生物标记。在一些情况下,使用流式细胞术测定或评估患者属性、因素和/或生物标记。在一些情况下,所述试剂是可溶性蛋白质,其结合患者属性、因素和/或生物标记。在一些例子中,试剂是结合C反应蛋白(CRP)、红细胞沉降率(ESR)、白蛋白、铁蛋白、 $\beta 2$ 微球蛋白($\beta 2$ -M)或乳酸脱氢酶(LDH)的蛋白质。

[0332] 在一些实施方案中,使用体外酶联免疫吸附测定来评估C反应蛋白(CRP),以从样品(例如血清、血浆或血液)获得人CRP的定量测量值。在一些例子中,使用人酶联免疫吸附测定(ELISA)检测CRP。在一些实施方案中,通过测量红细胞在竖直移液管或导管中从血浆中分离后已经下降的距离(以毫米/小时为单位)来评估红细胞沉降率(ESR)。在一些方面,使用比色测试或体外酶联免疫吸附测定来评估白蛋白。在一些例子中,使用人酶联免疫吸附测定(ELISA)检测白蛋白。在一些实施方案中,铁蛋白或 $\beta 2$ 微球蛋白是使用免疫测定来评估,或使用ELISA来检测。在一些方面,使用比色测试或体外酶联免疫吸附测定来评估乳酸脱氢酶(LDH)。

[0333] 本文的术语“抗体”是以最广义使用,并包括多克隆和单克隆抗体,包括完整抗体和功能性(抗原结合)抗体片段,包括片段抗原结合(Fab)片段、 $F(ab')_2$ 片段、Fab'片段、Fv片段、重组IgG(rIgG)片段、单链抗体片段(包括单链可变片段(scFv))和单结构域抗体(例如,sdAb、sdFv、纳米抗体)片段。所述术语涵盖免疫球蛋白的基因工程化的和/或以其他方式修饰的形式,如胞内抗体、肽体(peptibody)、嵌合抗体、全人抗体、人源化抗体和异缀合抗体(heteroconjugate antibody)、多特异性(例如,双特异性)抗体、双抗体、三抗体和四抗体、串联二-scFv、串联三-scFv。除非另有说明,否则术语“抗体”应理解为涵盖其功能性抗体片段。所述术语还涵盖完整或全长抗体,包括任何类别或亚类(包括IgG及其亚类、IgM、IgE、IgA和IgD)的抗体。

[0334] 所提供的抗体包括抗体片段。“抗体片段”是指不同于完整抗体的分子,其包含完整抗体的结合完整抗体所结合的抗原的一部分。抗体片段的例子包括但不限于Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、 $F(ab')_2$;双抗体;线性抗体;单链抗体分子(例如scFv);和由抗体片段形成的多特异性抗体。在具体实施方案中,所述抗体是包含可变重链区和/或可变轻链区的单链抗体片段,如scFv。

[0335] 单结构域抗体是包含抗体的全部或部分重链可变结构域或者全部或部分轻链可变结构域的抗体片段。在某些实施方案中,单结构域抗体是人单结构域抗体。

[0336] 抗体片段可以通过各种技术制备,包括但不限于完整抗体的蛋白水解消化以及通过重组宿主细胞产生。在一些实施方案中,所述抗体是重组产生的片段,如包含天然不存在的排列的片段(如具有通过合成接头(例如,肽接头)连接的两个或更多个抗体区或链的那些),和/或可不通过酶消化天然存在的完整抗体产生的片段。在一些方面,所述抗体片段是

scFv。

[0337] “人源化”抗体是这样的抗体,其中所有或基本上所有CDR氨基酸残基源自非人CDR并且所有或基本上所有FR氨基酸残基源自人FR。人源化抗体任选地可以包括源自人抗体的抗体恒定区的至少一部分。非人抗体的“人源化形式”是指所述非人抗体的变体,其经历人源化以通常降低对人的免疫原性,同时保留亲本非人抗体的特异性和亲和力。在一些实施方案中,人源化抗体中的一些FR残基被来自非人抗体(例如,衍生出CDR残基的抗体)的相应残基取代,例如以恢复或改善抗体特异性或亲和力。

[0338] 所提供的抗体包括人抗体。“人抗体”是具有对应于人或人细胞产生的抗体的氨基酸序列的抗体,或利用人抗体库或其他人抗体编码序列(包括人抗体文库)的非人来源。所述术语不包括包含非人抗原结合区的非人抗体的人源化形式,例如其中所有或基本上所有CDR都是非人的那些。

[0339] 人抗体可以通过将免疫原给予至转基因动物来制备,所述转基因动物已被修饰以响应抗原攻击产生完整人抗体或具有人可变区的完整抗体。此类动物通常含有人免疫球蛋白基因座的全部或部分,其替代内源免疫球蛋白基因座,或者其存在于在染色体外或随机整合到动物的染色体中。在此类转基因动物中,通常已经使内源性免疫球蛋白基因座失活。人抗体也可以源自人抗体文库,包括噬菌体展示和无细胞文库,其含有源自人库的抗体编码序列。

[0340] 所提供的抗体包括单克隆抗体,包括单克隆抗体片段。如本文所用的术语“单克隆抗体”是指从基本上同质抗体的群体(即,构成所述群体的单独抗体是相同的,但含有天然存在的突变或在单克隆抗体制剂的产生期间产生的可能变体除外,此类变体通常以少量存在)获得或在所述群体内的抗体。与通常包括针对不同表位的不同抗体的多克隆抗体制剂相反,单克隆抗体制剂的每种单克隆抗体针对抗原上的单个表位。所述术语不应解释为需要通过任何特定方法产生抗体。单克隆抗体可以通过多种技术制备,包括但不限于从杂交瘤产生、重组DNA方法、噬菌体展示和其他抗体展示方法。

[0341] 还提供了抗体免疫缀合物,其包含针对附着于标签的生物标记的抗体,所述标记可以间接或直接产生可检测的信号。这些抗体免疫缀合物可以用于研究或诊断应用。标签优选能够直接或间接地产生可检测信号。例如,所述标签可以是不透射线的或放射性同位素,例如³H、¹⁴C、³²P、³⁵S、¹²³I、¹²⁵I、¹³¹I;荧光(荧光团)或化学发光(发色团)化合物,如荧光素异硫氰酸盐、罗丹明或萤光素;酶,如碱性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶或辣根过氧化物酶;成像剂;或金属离子。在一些实施方案中,所述标记是用于闪烁扫描研究的放射性原子,例如⁹⁹Tc或¹²³I,或用于核磁共振(NMR)成像(也称为磁共振成像,MRI)的旋转标签,例如钆-89、碘-123、碘-131、铟-111、氟-19、碳-13、氮-15、氧-17、钆、锰或铁。钆-89可以与多种金属螯合剂络合并与抗体缀合,例如用于PET成像(WO 2011/056983)。

[0342] 在一些实施方案中,抗体免疫缀合物可以间接检测。例如,针对髓样细胞群免疫缀合物上表达的标记的抗体具有特异性并含有可检测标签的二次抗体可以用于检测抗体免疫缀合物。

[0343] 在一些实施方案中,可以通过多种已知测定来鉴定能够检测本文所提供的患者属性、因素和/或生物标记或对所述患者属性、因素和/或生物标记具有特异性的抗体,或针对所述抗体的物理/化学特性和/或生物学活性对所述抗体进行筛选或表征。在一个方面,例

如通过已知方法测试抗体的抗原结合活性,所述方法例如免疫测定、ELISA、蛋白质印迹和/或流式细胞术测定,包括基于细胞的结合测定。

[0344] D. 样品

[0345] 在某些实施方案中,在两个或更多个时间点获得的一个或多个样品中测量、评估和/或确定一种或多种患者属性、因素和/或生物标记,以确定指示疾病负荷的因素的倍数变化。在特定实施方案中,所述样品是从受试者采集、收集和/或获得的生物样品。在一些实施方案中,受试者患有疾病或病症和/或被怀疑患有疾病或病症。在一些实施方案中,受试者已经接受疗法,将接受疗法或者是接受疗法的候选人。在一些实施方案中,所述疗法是给予细胞疗法。在特定实施方案中,所述疗法是免疫疗法。在某些实施方案中,细胞疗法治疗和/或能够治疗疾病或病症。在一些实施方案中,所述疗法是含有一种或多种工程化细胞的细胞疗法。在一些实施方案中,工程化细胞表达重组受体。在特定实施方案中,重组受体是CAR。在特定实施方案中,样品是从已经给予疗法、将给予疗法或者是给予治疗的候选人的受试者采集、收集和/或获得的。在特定实施方案中,样品是在用疗法(例如细胞疗法)治疗或给予前采集、收集和/或获得的。

[0346] 在一些实施方案中,样品不包含表达嵌合抗原受体(CAR)的基因工程化T细胞和/或是从接受表达CAR的基因工程化T细胞的给予之前的受试者获得。

[0347] 在特定实施方案中,样品是从已经给予疗法、将给予疗法或者是给予治疗的候选人的受试者采集、收集和/或获得的。在特定实施方案中,样品是在用疗法(例如细胞疗法)治疗或给予前采集、收集和/或获得的。根据本文所述的方法、试剂盒和制品,可以评估样品的一种或多种与毒性或毒性风险相关和/或相关联的患者属性、因素和/或生物标记。与发生在接受免疫疗法之前从受试者收集或获得的样品中可检测的毒性和/或反应的风险相关和/或相关联的示例性患者属性、因素和/或生物标记包括C反应蛋白(CRP)、红细胞沉降率(ESR)、白蛋白、铁蛋白、 $\beta 2$ 微球蛋白($\beta 2$ -M)或乳酸脱氢酶(LDH)。在一些实施方案中,与发生在接受免疫疗法之前或之后从受试者收集或获得的样品中可检测的毒性和/或反应的风险相关和/或相关联的患者属性、因素和/或生物标记包括C-C基序趋化因子配体13(CCL13)、C反应蛋白(CRP)、C-X-C基序趋化因子10(CXCL10)、D-二聚体(纤维蛋白降解产物)、铁蛋白、IFN- $\alpha 2$ 、白细胞介素-2(IL-2)、IL-10、IL-15、IL-16、IL-6、IL-7、IL-8、干扰素 γ (IFN- γ)、乳酸脱氢酶(LDH)、巨噬细胞炎性蛋白(MIP-1 α)、MIP-1 β 、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、SAA-1、血清淀粉样蛋白A1(SAA-1)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)。因此,在一些方面,所提供的方法涉及在接受免疫疗法(例如细胞疗法,例如CAR-T细胞)之前鉴定受试者,所述受试者可以实现治疗窗口或范围内的药代动力学参数。在一些实施方案中,所提供的方法涉及在接受免疫疗法或细胞疗法之前或之后鉴定受试者,用于调节免疫疗法或细胞疗法,例如通过向受试者给予能够调节(任选地增加或减少)CAR+T细胞扩增、增殖和/或活性的药剂来调节。如本文其他地方所述,所述方法可以用于确定在给予免疫疗法之后是否应密切监测受试者,所述受试者是门诊疗法的候选者还是应在医院环境中接受所述疗法的治疗,和/或所述受试者是否是接受能够调节CAR+T细胞扩增和/或增殖的药剂和/或预防、治疗或改善毒性风险的干预的候选者。

[0348] 在一些实施方案中,样品是从患有或被怀疑患有病症或疾病的受试者采集、收集和/或获得的。在一些实施方案中,受试者患有或被怀疑患有癌症或增殖性疾病。在特定实

施方案中,受试者患有疾病或病症,或被怀疑患有疾病或病症,所述疾病或病症与抗原相关和/或与表达所述抗原的患病细胞相关。在一些实施方案中,所述疾病或病症(例如癌症或增殖性疾病)与以下抗原相关: α v β 6整合素(avb6整合素)、B细胞成熟抗原(BCMA)、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、CD138、CD171、表皮生长因子蛋白(EGFR)、截短的表皮生长因子蛋白(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、G蛋白偶联受体5D(GPCR5D)、糖蛋白100(gp100)、Her2/neu(受体酪氨酸激酶erbB2)、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-AI)、人白细胞抗原A2(HLA-A2)、IL-22受体 α (IL-22Ra)、IL-13受体 α 2(IL-13Ra2)、激酶插入结构域受体(kdr)、 κ 轻链、L1细胞粘附分子(L1CAM)、L1-CAM的CE7表位、含有富含亮氨酸的重复序列的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、间皮素、c-Met、鼠类巨细胞病毒(CMV)、粘蛋白1(MUC1)、MUC16、天然杀伤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、滋养细胞糖蛋白(TPBG,又称为5T4)、肿瘤相关糖蛋白72(TAG72)、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)和/或病原体特异性抗原。在一些实施方案中,受试者患有疾病或病症,或被怀疑患有疾病或病症,所述疾病或病症与CD19相关和/或与表达CD19的患病细胞相关。

[0349] 在一些实施方案中,样品是从患有或被怀疑患有癌症或增殖性疾病(其为B细胞恶性肿瘤或血液恶性肿瘤)的受试者采集、收集和/或获得的。在一些实施方案中,所述癌症或增殖性疾病是骨髓瘤(例如多发性骨髓瘤(MM))、淋巴瘤或白血病、淋巴瘤母细胞白血病(ALL)、非霍奇金淋巴瘤(NHL)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)和/或急性髓样白血病(AML)。在一些实施方案中,癌症或增殖性疾病是ALL。在一些实施方案中,受试者患有或被怀疑患有ALL。在一些实施方案中,ALL是成人ALL。在特定实施方案中,ALL是儿科ALL。

[0350] 在特定实施方案中,在给予疗法之前,从受试者获得、收集或采集两个或更多个样品。在某些实施方案中,样品是生物样品。在某些实施方案中,样品是血液样品、血浆样品或血清样品。在某些实施方案中,样品是组织样品。在一些实施方案中,样品是活组织检查。在一些实施方案中,样品是在筛选期间(例如常规评估或抽血)从受试者获得,以确认和/或鉴定受试者的病症或疾病。

[0351] E. 用于调节细胞扩增和活性的药剂

[0352] 在一些方面,提供了基于对参数的评估和/或确定来调节所给予细胞(例如CAR+T细胞)的扩增、增殖和/或活性的方法,所述参数例如药代动力学参数和/或其他参数,例如

患者属性和/或生物标记的表达。在一些实施方案中,所述方法涉及根据对参数的确定,给予调节(例如增加或减少)所给予细胞(例如CAR+T细胞)的扩增、增殖和/或活性的药剂。在一些实施方案中,如果基于对参数的评估,基因工程化细胞不在治疗范围内,则给予药剂,所述参数例如药代动力学参数,例如最大或峰值CAR+细胞浓度。在一些实施方案中,所述药剂是增加、扩大或加强CAR+T细胞的增殖和/或扩增的药剂。在一些实施方案中,所述药剂是降低、减少和/或减弱CAR+T细胞的增殖和/或扩增的药剂。

[0353] 在一些实施方案中,所述药剂可以与疗法(例如用于过继细胞疗法的细胞)依次、间歇或同时或在相同组合物中给予。在一些实施方案中,所述药剂是在给予细胞(例如,表达重组受体(例如,CAR)的细胞)之前、同时、间歇地、期间、在过程中或之后给予。在一些实施方案中,此类药剂包括调节所给予细胞(例如免疫细胞,例如T细胞)的细胞扩增和/或活性的药剂。在一些实施方案中,此类药剂包括减少或降低所述细胞的扩增和/或增殖、所给予细胞(例如免疫细胞,例如T细胞)的扩增和/或活性的药剂。

[0354] 在一些实施方案中,在开始给予基因工程化细胞后大于或大于约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天或21天的时间给予所述药剂。在一些实施方案中,将所述药剂在开始给予所述基因工程化细胞后在或在约11天至22天、12天至18天或14天至16天之间的时间给予,所述时间的每个都包含端值。

[0355] 在一些实施方案中,所述药剂是在如本文所述的时间并根据所提供的方法和/或与所提供的制品或组合物一起给予。在一些实施方案中,所述药剂是在开始免疫疗法和/或细胞疗法后3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天或10天内(例如少于或不超过3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天或10天)的时间给予。在一些实施方案中,所述药剂是在开始给予免疫疗法和/或细胞疗法后,在或在约1天、2天或3天内给予。

[0356] 在一些情况下,所述药剂或疗法或干预是单独给予,或作为组合物或配制品(例如药物组合物或配制品)的一部分给予,如本文所述。因此,单独的或作为药物组合物的部分的药剂可以静脉内或口服给予,或通过任何其他可接受的已知给予途径或如本文所述来给予。

[0357] 1. 用于扩大或增强细胞扩增的药剂

[0358] 在一些实施方案中,所述方法包括涉及与能够扩大、加强或增强所给予细胞(例如重组受体表达细胞)的扩增、增殖、存活和/或功效的药物或药剂组合给予(例如同时或依次给予)的方法。在一些实施方案中,给予这种药剂以实现在治疗范围内的峰值CAR+T细胞扩增。在一些实施方案中,所给予细胞的剂量是次最佳的,并且所述药剂的组合给予加强或扩大了扩增以实现在治疗范围内的血液中的峰值CAR+T细胞。在一些实施方案中,所述方法包括给予一定剂量的细胞并监测血液中的峰值CAR+T细胞以确保维持或实现治疗范围,并且如果没有维持或实现所述治疗范围,则给予药剂或化合物以加强或扩大治疗剂量。在一些实施方案中,例如在低药代动力学参数(如低最大CAR+T细胞浓度(C_{max}))下,细胞的低或有限扩增可限制肿瘤抑制作用。

[0359] 在一些实施方案中,所述药剂是在给予细胞(例如表达重组受体(例如CAR)的细胞)之前、期间、在过程中或之后给予。在一些实施方案中,此类药剂包括由于特异性调节转基因(例如编码重组受体的转基因)而特异性扩大、加强或增强工程化细胞的扩增、增殖、存活和/或功效的药剂。在一些实施方案中,此类药剂包括调节所给予细胞(例如免疫细胞,例

如T细胞)的细胞扩增和/或活性的药剂。

[0360] 在一些实施方案中,所给予的细胞(例如工程化以表达重组受体的细胞)被修饰以扩大、加强或增强所给予细胞的扩增、增殖、存活和/或功效。在一些实施方案中,所给予的细胞(例如,工程化以表达重组受体的细胞)被修饰,使得可以例如通过给予药剂来调节和/或控制工程化细胞的扩增、增殖、存活和/或功效。在一些实施方案中,所述药剂使抑制因子的作用最小化,所述抑制因子在体内抑制工程化细胞的增殖、扩增和/或存活。

[0361] 在一些实施方案中,另外的药剂是小分子、肽、多肽、抗体或其抗原结合片段、抗体模拟物、适体或核酸分子(例如siRNA)、脂质、多糖或其任一组合。在一些实施方案中,另外的药剂是特定因子、分子、受体、功能和/或酶的抑制剂或激活剂。在一些实施方案中,另外的药剂是特定因子、分子、受体、功能和/或酶的激动剂或拮抗剂。在一些实施方案中,另外的药剂是一种或多种因子和/或代谢物的类似物或衍生物。在一些实施方案中,另外的药剂是蛋白质或多肽。在一些实施方案中,所述另外的药剂是细胞,例如工程化细胞,例如另外的剂量的所给予的相同工程化细胞和/或不同的工程化细胞。

[0362] 在一些实施方案中,所述药剂能够进行转基因特异性扩增。在一些实施方案中,用于转基因特异性扩增的示例性方法或药剂包括内源性抗原暴露、疫苗接种、抗独特型抗体或其抗原结合片段和/或可调节的重组受体。例如,在一些实施方案中,用于转基因特异性扩增的方法包括疫苗接种方法。在一些实施方案中,所述药剂是肽疫苗或基于细胞的疫苗,例如,工程化以表达由重组受体识别的特定抗原的细胞(参见,例如,WO 2016/069647、WO 2011/066048、US 2016/0304624、美国专利号9,476,028以及Hailemichael和Overwijk, *Int J Biochem Cell Biol.* (2014) 53:46-50)。在一些实施方案中,用于转基因特异性扩增的方法包括给予抗独特型抗体。抗独特型抗体(包括其抗原结合片段)特异性地识别、特异性地靶向和/或特异性地结合至抗体或其抗原结合片段(例如重组受体(如嵌合抗原受体(CAR))的抗原结合结构域)的独特位。独特位是抗体可变部分内的任何单一抗原决定簇或表位。在一些实施方案中,抗独特型抗体或其抗原结合片段是激动剂和/或展现刺激细胞表达特定抗体的特异性活性,所述特定抗体包括含有所述抗体或其抗原结合片段的缀合物或重组受体(参见,例如,美国专利公开号US 2016/0096902;US 2016/0068601;US 2014/0322183;US 2015/0175711;US 2015/283178;美国专利号9,102,760;Jena等人 *PloS one* (2013) 8(3): e57838;Long等人, *Nature Medicine* (2015) 21(6): 581-590;Lee等人, *The Lancet* (2015) 385(9967): 517-528;Zhao等人, *PloS One* (2014) 9(5): e96697;Leung等人, *MAbs.* (2015) 7(1): 66-76)。

[0363] 在一些实施方案中,所述方法包括调节工程化细胞的扩增,例如,通过抑制所给予细胞(例如工程化免疫细胞)的增殖、扩增和/或激活的负调节物。在受试者体内的特定环境中,所给予的表达重组受体的细胞可能遇到压抑或抑制细胞生长、增殖、扩增和/或存活的环境,例如免疫抑制环境。例如,免疫抑制环境可以含有免疫抑制性细胞因子、调节性调节剂和共抑制受体。在一些实施方案中,另外的药剂可以用于调节所给予细胞的扩增,例如克服抑制环境。

[0364] 在一些实施方案中,另外的药剂包括免疫调节剂、免疫检查点抑制剂、代谢途径调节剂、腺苷途径或腺苷受体拮抗剂或激动剂以及信号传导途径的调节剂(例如激酶抑制剂)。

[0365] 在一些实施方案中,另外的药剂是免疫调节剂,例如免疫检查点抑制剂。在一些实例中,另外的药剂增加、增强或扩大所给予细胞的扩增和/或增殖,从而通过阻断免疫检查点蛋白(即免疫检查点抑制剂)来增加、增强或扩大免疫应答。在一些实施方案中,另外的药剂是增强工程化细胞(例如重组受体表达细胞)的活性的药剂,是抑制免疫抑制分子或免疫检查点分子的分子。免疫抑制分子的例子包括PD-1、PD-L1、CTLA4、TEVI3、CEACAM(例如,CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4和TGF β R。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂可以是针对免疫检查点蛋白的抗体,例如针对细胞毒性T淋巴细胞抗原4(CTLA4或CD152)、程序性细胞死亡蛋白1(PD-1)或程序性细胞死亡蛋白1配体1(PD-L1)的抗体(参见,例如,Pardoll, Nat Rev Cancer. 2012年3月22日;12(4): 252-264)。

[0366] 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。此类抑制剂可包括小分子抑制剂或可包括抗体或其抗原结合片段,其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。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、 γ δ 和记忆CD8 $^{+}$ ($\alpha\beta$) 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,TGFR β)。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。

[0367] 示例性免疫检查点抑制剂包括曲美目单抗(Tremelimumab)(CTLA-4阻断抗体,也称为替西木单抗(ticilimumab)、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(nivolumab)(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(ipilimumab)(抗CTLA-4抗体,也称为Yervoy $^{\circledR}$ 、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 $^{\circledR}$)、巴利昔单抗(Basiliximab)、伊匹单抗(Ipilimumab)、纳武单抗、派姆单抗(pembrolizumab)、MPDL3280A、匹利珠单抗(Pidilizumab)(CT-011)、MK-3475、BMS-936559、MPDL3280A(阿替珠单抗(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、乌鲁库单抗(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福图珠单抗

(afutuzumab) (可从Roche®获得); 培非司亭 (pegfilgrastim) (Neulasta®); 来那度胺 (lenalidomide) (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, 可从IRX Therapeutics获得)。

[0368] 在一些实施方案中, 所述药剂包括减少调节性T细胞 (Treg) 群体的分子。减少Treg细胞数量 (例如, 清除) 的方法是本领域已知的, 并且包括例如CD25清除、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细胞上被上调, 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, 表达CAR的细胞) 之前减少受试者中Treg细胞的数量, 可以减少肿瘤微环境中不需要的免疫细胞 (例如, Treg) 的数量, 并降低受试者的复发风险。在一些实施方案中, 所述药剂包括靶向GITR和/或调节GITR功能的分子, 例如清除调节性T细胞 (Treg) 的GITR激动剂和/或GITR抗体。在一些实施方案中, 所述药剂包括环磷酰胺。在一些实施方案中, GZR结合分子和/或调节GITR功能的分子 (例如GITR激动剂和/或清除Treg的GITR抗体) 是在工程化细胞 (例如表达CAR的细胞) 之前给予。例如, 在一些实施方案中, GITR激动剂可以在细胞的单采术之前给予。在一些实施方案中, 环磷酰胺是在给予 (例如, 输注或再输注) 工程化细胞 (例如, 表达CAR的细胞) 之前或在细胞的单采术之前给予至受试者。在一些实施方案中, 环磷酰胺和抗GITR抗体是在给予 (例如, 输注或再输注) 工程化细胞 (例如, 表达CAR的细胞) 之前或在细胞的单采术之前给予至受试者。

[0369] 在一些实施方案中, 所述药剂是GITR激动剂。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W0 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W0 2011/028683、PCT公开号W0 2013/039954、PCT公开号W0 2005/007190、PCT公开号W0 2007/133822、PCT公开号W0 2005/055808、PCT公开号W0 99/40196、PCT公开号W0 2001/03720、PCT公开号W0 99/20758、PCT公开号W0 2006/083289、PCT公开号W0 2005/115451、美国专利号7, 618, 632和PCT公开号W0 2011/051726中描述的抗GITR抗体。示例性抗GITR抗体是TRX518。

[0370] 在一些实施方案中, 所述药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, 免疫调节剂与赛拉隆蛋白 (cereblon) (CRBN) 结合。在一些实施方案中, 免疫调节剂与CRBN E3泛素连接酶复合物结合。在一些实施方案中, 免疫调节剂与CRBN和CRBN E3泛素连接酶复合物结合。在一些实施方案中, 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, 免疫调节剂诱导IKZF1 (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, 免疫调节剂通过CRL4^{CRBN} E3泛素连接酶诱导酪蛋白激酶1A1 (CK1 α) 的泛素化。在一些实施方案中, CK1 α 的泛素化导致CK1 α 降解。

[0371] 在一些实施方案中, 所述药剂是Ikaros (IKZF1) 转录因子的抑制剂。在一些实施方

案中,所述药剂增强Ikaros的泛素化。在一些实施方案中,所述药剂增强Ikaros的降解。在一些实施方案中,所述药剂下调Ikaros的蛋白质或基因表达。在一些实施方案中,所述药剂的给予引起Ikaros蛋白水平降低。

[0372] 在一些实施方案中,所述药剂是Aiolos (IKZF3) 转录因子的抑制剂。在一些实施方案中,所述药剂增强Aiolos的泛素化。在一些实施方案中,所述药剂增强Aiolos的降解。在一些实施方案中,所述药剂下调Aiolos的蛋白质或基因表达。在一些实施方案中,所述药剂的给予引起Aiolos蛋白水平降低。

[0373] 在一些实施方案中,所述药剂是沙利度胺(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1H-异吲哚-1,3(2H)-二酮)或沙利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 COMPOUNDTM; Celgene Corporation)、泊马度胺(也称为ACTIMMUNOMODULATORY COMPOUNDTM或POMALYSTTM(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。

[0374] 在一些实施方案中,所述药剂是苯并环中经氨基取代的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,将其通过引用并入本文。

[0375] 在一些实施方案中,所述药剂是属于异吲哚免疫调剂化合物类别的化合物,披露于美国专利号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)中,将其各自通过引用并入本文。例如,在一些实施方案中,所述药剂是[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))-1,3-二氧代异吲哚啉-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))-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)甲基}-3-吡啶基甲酰胺;N-{(2-(2,6-二氧代(3-哌啶基))-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)甲基}庚酰胺;N-{(2-(2,6-二氧代(3-哌啶基))-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基)甲基}-2-呋喃甲酰胺;{N-(2-(2,6-二氧代(3-哌啶基))-1,3-二氧代异吲哚啉-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))-1,3-二氧代异吲哚啉-4-基]甲基}(苄氨基)甲酰胺。

[0376] 在一些实施方案中,所述药剂是来那度胺,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。在一些实施方案中,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)。

[0377] 在一些实施方案中,所述方法包括使表达重组受体的细胞与抑制抑制性细胞表面受体(例如转化生长因子 β 受体(TGF β R))的药剂接触。在一些实施方案中,所给予的细胞(例如重组受体表达细胞)可以被工程化以抵抗可以抑制其效应子功能的免疫抑制性细胞因子的效应(参见,例如,Foster等人,J Immunother. (2008) 31:500-505;Bollard等人,Molecular Therapy. (2012) 20:S22;Bendle等人,J. Immunol. (2013) 191 (6) :3232-3239)。在一些实施方案中,另外的药剂是抗TGF β 抗体或抗TGF β R抗体(参见,例如,WO 2011/109789)。

[0378] 在一些实施方案中,另外的药剂调节免疫抑制因子(例如腺苷)的代谢、信号传导和/或转运。在一些实施方案中,另外的药剂是细胞外腺苷或腺苷受体的抑制剂,或引起细胞外腺苷水平降低或减小的药剂,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。在一些实施方案中,另外的药剂是腺苷受体拮抗剂,例如A2a、A2b和/或A3受体。在一些实施方案中,拮抗剂是肽或拟肽,其结合腺苷受体,但不会触发G1蛋白依赖性细胞内途径。示例性腺苷受体拮抗剂描述于以下文献中:美国专利号5,565,566;5,545,627;5,981,524;5861405;6066642;6326390;5670501;6117998;6,232,297;5786360;5424297;6,313,131;5,504,090;和6,322,771;以及Jacobson和Gao,Nat Rev Drug Discov. (2006) 5(3):247-264。

[0379] 在一些实施方案中,所述药剂是A2受体(A2R)拮抗剂,例如A2a拮抗剂。示例性的A2R拮抗剂包括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-(间氯苯乙炔基)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;WO 2008/147482;US 8,883,500;US 20140377240;WO 02/055083;US 7,141,575;US 7,405,219;US 8,883,500;US 8,450,329和US 8,987,279。

[0380] 在一些实施方案中,所述方法包括给予具有免疫刺激性的另外的药剂。在一些实施方案中,另外的药剂通常可以促进免疫细胞的增殖、扩增、存活和/或功效。在一些实施方案中,另外的药剂可以特异性地促进所给予细胞,例如重组受体表达细胞。在一些实施方案中,另外的药剂是细胞因子。在一些实施方案中,另外的药剂是配体。

[0381] 在一些实施方案中,另外的药剂是免疫刺激性配体,例如CD40L。在一些实施方案

中,另外的药剂是细胞因子,例如IL-2、IL-3、IL-6、IL-11、IL-7、IL-12、IL-15、IL-21、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、 α 、 β 或 γ 干扰素(IFN)和促红细胞生成素(EPO)。在一些实施方案中,所述药剂是细胞因子。在一些实施方案中,免疫调节剂是细胞因子或者是诱导肿瘤微环境中的细胞因子表达增加的药剂。细胞因子具有与T细胞扩增、分化、存活和体内平衡相关的重要功能。可以给予至接受本文所提供的细胞和/或组合物的受试者的细胞因子包括IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15、IL-18和IL-21中的一种或多种。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至对工程化细胞(例如,表达CAR的细胞)的给予具有次最佳反应的受试者,改善所给予细胞(例如表达CAR的细胞)的能效和/或抗肿瘤活性。

[0382] 在一些实施方案中,所述药剂是缺氧诱导型因子1 α (HIF-1 α)信号传导的抑制剂。HIF-1 α 的示例性抑制剂包括地高辛(digoxin)、吡啶黄素(acriflavine)、瑟土因-7(sirtuin-7)和甘那特匹(ganetespib)。

[0383] 在一些实施方案中,所述药剂包括蛋白酪氨酸磷酸酶抑制剂,例如本文所述的蛋白酪氨酸磷酸酶抑制剂。在一些实施方案中,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,例如,葡萄糖酸铈钠。在一些实施方案中,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。

[0384] 在一些方面,所述方法导致例如受试者的血清、血浆、血液或组织(例如肿瘤样品)中,每微克DNA中编码重组受体(例如CAR)的核酸的拷贝数增加至少2倍、至少4倍、至少10倍或至少20倍。(从原部分移到调节部分的方法)

[0385] 在一些方面,所述方法导致所给予细胞的高体内增殖,例如,如通过流式细胞术所测量。在一些方面,检测细胞的高峰比例。例如,在一些实施方案中,在给予T细胞(例如,表达CAR的T细胞)之后,在受试者的血液或疾病部位或其白细胞级分(例如,PBMC级分或T细胞级分)中的水平或浓度峰值或最大值下,至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%或至少约90%的细胞表达重组受体,例如CAR。

[0386] 在一些实施方案中,所述方法在受试者的血液或血清或其他体液或器官或组织中产生如下最大浓度:至少100、500、1000、1500、2000、5000、10,000或15,000拷贝的编码受体(例如CAR)的核酸/微克DNA,或每个外周血单核细胞(PBMC)总数、单核细胞总数、T细胞总数或受试者的血液或血清或其他体液或器官或组织的微升总数至少0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8或0.9个受体表达细胞(例如,表达CAR的细胞)。在一些实施方案中,表达受体的细胞被检测为受试者血液中总PBMC的至少10%、20%、30%、40%、50%或60%,和/或在T细胞(例如,表达CAR的T细胞)后在这个水平下保持至少1周、2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、11周、12周、24周、36周、48或52周,或在这种给予后保持1年、2年、3年、4或5年或更长时间。

[0387] 2. 用于减少细胞扩增的药剂

[0388] 在一些实施方案中,所提供的方法和制品可以与一种或多种能够调节(例如,增加或减少)CAR+T细胞扩增、增殖和/或活性的药剂或治疗结合使用,或涉及或包括所述药剂或治疗。在一些实施方案中,所述药剂能够降低、减少和/或减弱CAR+T细胞的扩增和/或增殖。在一些实施方案中,高于某一阈值的CAR+T细胞的扩增和/或增殖或某些生物标记(例如炎

性标记)的高表达可能与降低的反应和/或降低的持久反应相关。在一些实施方案中,如果确定受试者中所给予细胞具有极高或过度扩增,或者如果确定受试者表达与极高扩增或过度扩增相关的生物标记,则可以确定受试者不可能实现反应和/或持久反应。在一些实施方案中,极高扩增或过度扩增还与高肿瘤负荷和炎性细胞因子产生有关。在一些实施方案中,可以向此类受试者给予可以降低、减少和/或减弱CAR+T细胞扩增和/或增殖的药剂。

[0389] 在一些情况下,所给予细胞疗法(例如CAR+T细胞疗法)的最佳功效可取决于所给予细胞的以下能力:被激活、扩增、发挥各种效应功能、持续(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。在一些方面,所给予T细胞的过度或极高扩增或增殖可导致消耗、无反应性、外周耐受、终末分化和/或分化为抑制状态。在一些方面,可以降低、减少和/或减弱CAR+T细胞扩增和/或增殖的药剂可以防止或减少这种消耗或分化。

[0390] 在一些实施方案中,给予所述药剂能够降低、减少和/或减弱CAR+T细胞的扩增和/或增殖,例如类固醇,可以导致所给予CAR+T细胞的扩增降低。在一些实施方案中,给予所述药剂可以导致参数变化,例如体积量度(例如SPD)减小,或炎性标记(例如LDH)的表达降低。

[0391] 在一些实施方案中,能够降低、减少和/或减弱CAR+T细胞扩增和/或增殖的药剂是类固醇,是细胞因子受体(如IL-6受体、CD122受体(IL-2R β 受体)或CCR2)的拮抗剂或抑制剂,或者是细胞因子(例如IL-6、MCP-1、IL-10、IFN- γ 、IL-8或IL-18)的抑制剂。在一些实施方案中,所述药剂是细胞因子受体和/或细胞因子(例如TGF- β)的激动剂。在一些实施方案中,所述药剂(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。

[0392] 在一些实施方案中,能够降低、减少和/或减弱CAR+T细胞扩增和/或增殖的药剂是类固醇,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。

[0393] 任何皮质类固醇(例如糖皮质激素)可以用于本文所提供的方法中。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(fluzacort)、氟氯奈德(flucoronide)、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(flunisolid)、氟轻松(flucinolone)(例如丙酮化氟轻松)、醋酸氟轻松(flucinonide)、氟可丁(flucortin)、氟可龙(flucortolone)、氟米龙(flurmetholone)(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、磷酸氢化可的松钠、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., Easton, Pa. (第16版, 1980)。

[0394] 在一些实施方案中,在给予免疫疗法和/或细胞疗法或其第一次给予或剂量之后,或在开始前述任一项之后,给予类固醇。在一些实施方案中,在给予免疫疗法和/或细胞疗法或其第一次给予或剂量之后,或在开始前述任一项之后,在12小时、18小时、24小时、36小时或48小时,1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天或更长时间,或2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周或更长时间内,给予类固醇。在一些实施方案中,在给予免疫疗法和/或细胞疗法或其第一次给予或剂量之后,或在开始前述任一项之后,在12小时、24小时、36小时或48小时,或2天、3天或4天内,给予类固醇。

[0395] 在一些例子中,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,糖皮质激素是地塞米松。

[0396] 在一些实施方案中,所述药剂是皮质类固醇并且是以降低、减少和/或减弱CAR+T细胞扩增和/或增殖的治疗有效量来给予。在一些实施方案中,改善或成功治疗的指示物包括确定药代动力学参数,例如本文所述的任何参数,例如峰值CAR+T细胞浓度和/或AUC。

[0397] 在一些方面,皮质类固醇是以治疗有效剂量提供。治疗有效浓度可以通过在已知的体外或体内(例如动物模型)系统中进行测试,凭经验确定。此外,可以采用动物模型来帮助确定最佳剂量范围。可以凭经验确定的精确剂量可以取决于具体的治疗制剂、方案和给药时间表、给予途径和疾病的严重性。

[0398] 可以将皮质类固醇以有效降低、减少和/或减弱CAR+T细胞扩增和/或增殖的任何量给予。可以将皮质类固醇(例如糖皮质激素)例如以每剂如下量给予至70kg成年人受试者:在或在约0.1与100mg、0.1至80mg、0.1至60mg、0.1至40mg、0.1至30mg、0.1至20mg、0.1至

15mg、0.1至10mg、0.1至5mg、0.2至40mg、0.2至30mg、0.2至20mg、0.2至15mg、0.2至10mg、0.2至5mg、0.4至40mg、0.4至30mg、0.4至20mg、0.4至15mg、0.4至10mg、0.4至5mg、0.4至4mg、1至20mg、1至15mg或1至10mg之间。通常,将皮质类固醇(例如糖皮质激素)以如下量给予至普通成年人受试者:在或在约0.4与20mg/剂之间,例如,为或为约0.4mg、0.5mg、0.6mg、0.7mg、0.75mg、0.8mg、0.9mg、1mg、2mg、3mg、4mg、5mg、6mg、7mg、8mg、9mg、10mg、11mg、12mg、13mg、14mg、15mg、16mg、17mg、18mg、19mg或20mg/剂量。

[0399] 在一些实施方案中,可以将皮质类固醇以例如以下剂量给予至通常体重为约70kg至75kg的普通成年人受试者:为或为约0.001mg/kg(受试者)、0.002mg/kg、0.003mg/kg、0.004mg/kg、0.005mg/kg、0.006mg/kg、0.007mg/kg、0.008mg/kg、0.009mg/kg、0.01mg/kg、0.015mg/kg、0.02mg/kg、0.025mg/kg、0.03mg/kg、0.035mg/kg、0.04mg/kg、0.045mg/kg、0.05mg/kg、0.055mg/kg、0.06mg/kg、0.065mg/kg、0.07mg/kg、0.075mg/kg、0.08mg/kg、0.085mg/kg、0.09mg/kg、0.095mg/kg、0.1mg/kg、0.15mg/kg、0.2mg/kg、0.25mg/kg、0.30mg/kg、0.35mg/kg、0.40mg/kg、0.45mg/kg、0.50mg/kg、0.55mg/kg、0.60mg/kg、0.65mg/kg、0.70mg/kg、0.75mg/kg、0.80mg/kg、0.85mg/kg、0.90mg/kg、0.95mg/kg、1mg/kg、1.05mg/kg、1.1mg/kg、1.15mg/kg、1.20mg/kg、1.25mg/kg、1.3mg/kg、1.35mg/kg或1.4mg/kg。

[0400] 可以将皮质类固醇或糖皮质激素(例如地塞米松)按以下途径给予:口服(片剂、液体或液体浓缩物)(PO)、静脉内(IV)、肌肉内或通过本文所述的任何其他已知途径(例如,关于药物配制品)。在一些方面,将皮质类固醇以推注形式给予,并且在其他方面,可以将其在一定时间段内给予。在一些方面,将皮质类固醇以推注形式给予,并且在其他方面,可以将其在一定时间段内给予,例如,在1分钟、2分钟、3分钟、4分钟、5分钟、6分钟、7分钟、8分钟、9分钟、10分钟、15分钟、20分钟、30分钟、40分钟、50分钟、60分钟、70分钟、80分钟、90分钟、120分钟、180分钟、240分钟、360分钟、480分钟或720分钟或更长时间内,或由任两个前述值定义的范围。

[0401] 在一些方面,可以将糖皮质激素在超过一天的时间段内给予,例如在两天内、在3天内、或在4天内或更多天内。在一些实施方案中,可以将皮质类固醇每天一次、每天两次、或者每天三次或更多次给予。例如,在一些例子中,可以将皮质类固醇(例如地塞米松)每天两次以10mg(或等效量)IV给予,持续三天。

[0402] 在一些实施方案中,将类固醇(例如皮质类固醇)在一定时间段内以多次剂量给予。在一些方面,可以将类固醇(例如皮质类固醇)在超过2天、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天或更长时间、或超过2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周或更长时间的时间段内给予。在一些实施方案中,可以将类固醇(例如皮质类固醇)在约6小时、12小时、18小时、24小时或更长时间,或2天、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天或更长时间,或2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周或更长时间的总持续时间期间,以多次或重复剂量给予。在一些实施方案中,可以将类固醇(例如皮质类固醇)每天一次、每天两次、或每天三次或更多次给予。在一些实施方案中,可以将类固醇(例如皮质类固醇)以至少或至少约每1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、7小时、8小时、9小时、10小时、11小时、12小时、18小时、24小时、36小时、48小时,或每3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天,或每2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9或10周或更长时间给予。在一些方面,可以将类固醇(例如糖皮质激素)在超过一天的时间

段内,例如在两天期间、在3天期间、或在4天或更多天期间,以多次或重复剂量给予。在一些实施方案中,可以将类固醇(例如皮质类固醇或糖皮质激素)给予6小时、12小时、18小时、24小时或2天、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天或10天或更长时间的总持续时间。在一些实施方案中,可以将皮质类固醇每天一次、每天两次、或每天三次或四次或更多次给予。在一些实施方案中,可以将皮质类固醇以至少或至少约每1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、18、24、36、48小时或更长时间给予。

[0403] 在一些实施方案中,可以将类固醇(例如皮质类固醇或糖皮质激素)每天以给定剂量(例如每天特定剂量)给予。在一些实施方案中,示例性每日剂量包括0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.5、2、3、4、5、6、7、8、9或10mg/kg/天,或由任两个前述值和其等效值定义的范围。在一些实施方案中,可以将类固醇(例如皮质类固醇或糖皮质激素)按以下剂量给予:为或为约0.25、0.5、0.75、1、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0、11.0、12.0、13.0、14.0、15.0、16.0、17.0、18.0、19.0、20.0、25.0、50.0或100.0mg/kg/天,或由任两个前述值和其等效值定义的范围。在一些实施方案中,示例性每日剂量包括5、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150或200mg/天,或任两个前述值和其等效值定义的范围。在一些实施方案中,可以将类固醇(例如皮质类固醇或糖皮质激素)以下剂量给予:为或为约5、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150或200mg/天,或任两个前述值和其等效值定义的范围。

[0404] 在一些实施方案中,将皮质类固醇(例如糖皮质激素)的剂量以每次治疗连续降低的剂量给予。因此,在一些此类治疗方案中,皮质类固醇的剂量是逐渐减少的。例如,可以将皮质类固醇以4mg的初始剂量(或等效剂量,例如关于地塞米松)给予,并且在每次连续给予时可以降低剂量,使得下一次给予的剂量为3mg,下一次给予为2mg,并且下一次给予为1mg。

[0405] 通常,所给予的皮质类固醇的剂量取决于特定的皮质类固醇,因为不同皮质类固醇之间存在效力差异。通常应理解,药物的效力不同,剂量可以因此而变化,以获得相同的效果。表4显示各种糖皮质激素和给予途径的在效力方面的等效性。临床给药中的等效效力是熟知的。有关等效类固醇给药(以非时间治疗方式)的信息可以参见1999年3月的British National Formulary (BNF) 37。

表4: 糖皮质激素给予		
糖皮质激素 (途径)		等效效力
[0406]	氢化可的松 (IV或PO)	20
	强的松	5
	泼尼松龙 (IV或PO)	5
	甲基泼尼松龙琥珀酸钠 (IV)	4
	地塞米松 (IV或PO)	0.5-0.75次

[0407] 因此,在一些实施方案中,将类固醇按以下等效剂量量来给予:为或为约1.0mg至20mg地塞米松/天,例如1.0mg至15mg地塞米松/天、1.0mg至10mg地塞米松/天、2.0mg至8mg地塞米松/天或2.0mg至6.0mg地塞米松/天,每个都包含端值。在一些情况下,将类固醇以为或为约4mg、或者为或为约8mg地塞米松/天的等效剂量给予。

[0408] 在一些实施方案中,如果在用托西利珠单抗治疗后持续发热,则给予类固醇。例如,在一些实施方案中,在持续发热的情况下,将地塞米松以多达每6-12小时5-10mg的剂量口服或静脉内给予。在一些实施方案中,将托西利珠单抗与补氧同时给予或在补氧后给予。

[0409] 在一些实施方案中,能够降低、减少和/或减弱CAR+T细胞扩增和/或增殖的药剂是小神经胶质细胞活性的抑制剂。在一些实施方案中,抑制剂的使用调节小神经胶质细胞的活性。在一些实施方案中,抑制剂是抑制小神经胶质细胞中的信号传导通路的活性的拮抗剂。在一些实施方案中,小神经胶质细胞抑制剂影响小神经胶质细胞的体内平衡、存活和/或增殖。在一些实施方案中,抑制剂靶向CSF1R信号传导通路。在一些实施方案中,抑制剂是CSF1R的抑制剂。在一些实施方案中,抑制剂是小分子。在一些情况下,抑制剂是抗体。

[0410] 在一些方面,给予所述抑制剂产生一种或多种选自以下的效应:小神经胶质细胞体内平衡和生存力的改变、小神经胶质细胞增殖的减少或阻断、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、来自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、或受小神经胶质细胞激活影响的对运动神经元的保护。在一些实施方案中,与即将开始给予所述抑制剂之前相比,所述药剂改变CSF1R抑制的血清或血液生物标记的水平,或者降低尿液胶原蛋白1型交联N-端肽(NTX)的水平。在一些实施方案中,给予所述药剂短暂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不是永久性的。在一些实施方案中,给予所述药剂短暂抑制CSF1R的活性,和/或其中对CSF1R活性的抑制不是永久性的。

[0411] 在一些实施方案中,能够降低、减少和/或减弱CAR+T细胞扩增和/或增殖的药剂选自抗炎剂、NADPH氧化酶(NOX2)的抑制剂、钙通道阻滞剂、钠通道阻断剂;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 κ B(NF- κ B)激活,激活CB2受体和/或是CB2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(红细胞系衍生的2)样2或NFE2L2)。

[0412] 在一些实施方案中,能够降低、减少和/或减弱CAR+T细胞扩增和/或增殖的药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,所述细胞因子例如转化生长因子 β (TGF β)、白细胞介素6(IL-6)、白细胞介素10(IL-10)、IL-2、MIP1 β (CCL4)、TNF α 、IL-1、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,能够降低、减少和/或减弱CAR+T细胞扩增和/或增殖的药剂是靶向(例如抑制或是其拮抗剂)细胞因子受体的药剂,所述细胞因子受体例如IL-6受体(IL-6R)、IL-2受体(IL-2R/CD25)、MCP-1(CCL2)受体(CCR2或CCR4)、TGF- β 受体(TGF- β I、II或III)、IFN- γ 受体(IFNGR)、MIP1 β 受体(例如,CCR5)、TNF α 受体(例如,TNFR1)、IL-1受体(IL1-R α /IL-1R β)或IL-10受体(IL-10R)。

[0413] 能够降低、减少和/或减弱CAR+T细胞扩增和/或增殖的所选药剂的量可以通过标准临床技术来确定。示例性的不良事件包括但不限于丙氨酸氨基转移酶的增加、天冬氨酸氨基转移酶的增加、寒战、发热型嗜中性粒细胞减少症、头痛、低血压、左心室功能障碍、脑病、脑积水、癫痫发作和/或震颤。

[0414] 在一些实施方案中,将所述药剂按以下剂量量来给予:为或为约30mg至5000mg,例如50mg至1000mg、50mg至500mg、50mg至200mg、50mg至100mg、100mg至1000mg、100mg至500mg、100mg至200mg、200mg至1000mg、200mg至500mg或500mg至1000mg。

[0415] 在一些实施方案中,将所述药剂按以下剂量来给予:为或为约0.5mg/kg至100mg/kg,例如为或为约1mg/kg至50mg/kg、1mg/kg至25mg/kg、1mg/kg至10mg/kg、1mg/kg至5mg/kg、5mg/kg至100mg/kg、5mg/kg至50mg/kg、5mg/kg至25mg/kg、5mg/kg至10mg/kg、10mg/kg至100mg/kg、10mg/kg至50mg/kg、10mg/kg至25mg/kg、25mg/kg至100mg/kg、25mg/kg至50mg/kg至50mg/kg至100mg/kg。在一些实施方案中,将所述药剂按以下剂量量来给予:为或为约1mg/kg至10mg/kg、2mg/kg至8mg/kg、2mg/kg至6mg/kg、2mg/kg至4mg/kg或6mg/kg至8mg/kg,每个都包含端值。在一些方面,将所述药剂按以下剂量量来给予:至少或至少约或约1mg/kg、2mg/kg、4mg/kg、6mg/kg、8mg/kg、10mg/kg或更多。在一些实施方案中,将所述药剂以4mg/kg或8mg/kg的剂量给予。

[0416] 在一些实施方案中,所述药剂是通过注射来给予,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、结膜下注射(subconjunctival injection)、结膜下注射(subconjunctival injection)、眼球筋膜囊下(sub-Tenon)注射、球后注射、球周注射或后近巩膜(posterior juxtасcleral)递送。在一些实施方案中,它们通过肠胃外、肺内和鼻内给予以及(如果需要用于局部治疗的话)病灶内给予。肠胃外输注包括肌内、静脉内、动脉内、腹膜内或皮下给予。

[0417] 在一些实施方案中,所述药剂的量是约或大约每天两次、每天、每隔一天、每周三次、每周、每隔一周或每个月一次来给予。

[0418] 在一些实施方案中,所述药剂是作为组合物或配制品(例如如下文所述的药物组合物或配制品)的一部分给予。因此,在一些情况下,如下所述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。

[0419] 在一些实施方案中,所述药剂是小分子、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,所述方法涉及给予小神经胶质细胞活性的抑制剂。在一些实施方案中,所述药剂是抑制小神经胶质细胞中信号传导通路的活性的拮抗剂。在一些实施方案中,所述药剂影响小神经胶质细胞的体内平衡、存活和/或增殖。

[0420] 在一些实施方案中,能够降低、减少和/或减弱CAR+T细胞扩增和/或增殖的药剂是抗体或抗原结合片段。在一些实施方案中,所述药剂是托西利珠单抗、司妥昔单抗(siltuximab)、赛利珠单抗(sarilumab)、奥洛珠单抗(olokizumab) (CDP6038)、艾西莫单抗(elsilimomab)、ALD518/BMS-945429、司鲁库单抗(sirukumab) (CNT0 136)、CPSI-2634、ARGX-109、FE301或FM101。

[0421] 在一些实施方案中,所述药剂是IL-6或IL-6受体(IL-6R)的拮抗剂或抑制剂。在一些方面,所述药剂是中和IL-6活性的抗体,例如结合至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,所述药剂是或包含托西利珠单抗(阿特利珠单抗(atlizumab))或赛利珠单抗、抗IL-6R抗体。在一些实施方案中,所述药剂是美国专利号8,562,991中描述的抗IL-6R抗体。在一些情况下,靶向IL-6的药剂是抗IL-6抗体,例如司妥昔单抗、艾西莫单抗、ALD518/BMS-945429、司鲁库单抗(CNT0 136)、CPSI-2634、ARGX-109、FE301、FM101或奥洛珠单抗(CDP6038)。在一些方面,所述药剂可通过抑制配体-受体相互作用来中和IL-6活性。这种通用型途径的可行性已经用针对白细胞介素-1的天然存在受体拮

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, 例如美国专利号5591827中描述的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药剂是小分子、蛋白质或肽或核酸。

[0422] 在一些实施方案中, 所述药剂是托西利珠单抗。在一些实施方案中, 将托西利珠单抗根据所提供的方法作为早期干预来给予, 和/或与所提供的制品或组合物一起给予, 剂量为或为约1mg/kg至12mg/kg, 例如为或为约4mg/kg、8mg/kg或10mg/kg。在一些实施方案中, 将托西利珠单抗通过静脉内输注来给予。在一些实施方案中, 给予托西利珠单抗用于持续10小时的高于39℃的持续发热, 所述发热对于对乙酰氨基酚无反应。在一些实施方案中, 如果在初始剂量48小时后症状复发, 则提供托西利珠单抗的第二次给予。

[0423] 在一些实施方案中, 所述药剂是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, 所述药剂是增加TGF- β 活性的抗体, 例如结合至TGF- β 或其一种受体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药剂是小分子、蛋白质或肽或核酸。

[0424] 在一些实施方案中, 所述药剂是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, 所述药剂是中和MCP-1活性的抗体, 例如结合MCP-1或其一种受体(CCR2或CCR4)的抗体或抗原结合片段。在一些实施方案中, MCP-1拮抗剂或抑制剂是描述于以下文献中的任一种: 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药剂是小分子、蛋白质或肽或核酸。

[0425] 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, IFN- γ 中和抗体是描述于以下文献中的任一种: Dobber等人Cell Immunol. 1995 Feb; 160(2):185-92或Ozmen等人J Immunol. 1993 Apr 1; 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药剂是小分子、蛋白质或肽或核酸。

[0426] 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, IL-10中和抗体是描述于以下文献中的任一种: Dobber等人Cell Immunol. 1995年2月; 160(2):185-92或Hunter等。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药剂是小分子、蛋白质或肽或核酸。

[0427] 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, 例如阿那白滞素(anakinra)(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, 例如结合至IL-1或IL-1R的抗体或抗原结合片段, 例如卡那单抗(canakinumab)(也参见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药剂是小分子、蛋白质或肽或核酸。

[0428] 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, 例如结合至TNF(例如TNF

α)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,所述药剂选自英夫利昔单抗(infliximab)、阿达木单抗(adalimumab)、聚乙二醇化赛妥珠单抗(certolizumab pegol)、戈利木单抗(golimimumab)和依那西普(etanercept)。在一些实施方案中,作为TNF/TNFR的拮抗剂或抑制剂的药剂是小分子、蛋白质或肽或核酸。

[0429] 在一些实施方案中,所述药剂是通过Janus激酶(JAK)和两个信号传导子及转录激活子(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。

[0430] 在一些实施方案中,所述药剂是激酶抑制剂。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,激酶抑制剂是布鲁顿酪氨酸激酶(BTK)抑制剂,例如依鲁替尼(ibrutinib)。在一些实施方案中,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,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,激酶抑制剂是mTOR抑制剂,例如雷帕霉素(rapamycin)、雷帕霉素类似物、OSI-027。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,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、PKC β 抑制剂恩扎妥林(enzastaurin)和苔藓抑素,以及AAK抑制剂阿立塞替(alisertib)。

[0431] 在一些实施方案中,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,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。

[0432] 在一些实施方案中,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,激酶抑制剂是BTK抑制剂,例如依鲁替尼(PCI-32765)。在一些实施方案中,给予依鲁替尼的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个周期。在一些实施方案中,BTK抑制剂是国际申请WO 2015/079417中描述的BTK抑制剂。

[0433] 在一些实施方案中,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)(PI3K δ 抑制剂)。在一些实施方案中,所述药剂是艾代拉利司和利妥昔单抗。

[0434] 在一些实施方案中,所述药剂是雷帕霉素(mTOR)的哺乳动物靶标的抑制剂。在一些实施方案中,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,所述药剂是有丝分裂原激活蛋白激酶(MAPK)的抑制剂,例如威罗菲尼(vemurafenib)、达拉菲尼(dabrafenib)和曲美替尼(trametinib)。

[0435] 在一些实施方案中,可以使用装置(例如使用血液或血浆过滤的吸收性树脂技术)降低细胞因子的水平。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,例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)。

[0436] V. 工程化细胞

[0437] 在一些实施方案中,所提供的方法与细胞疗法的给予相关,例如用于治疗包括各种肿瘤的疾病或病症。在一些实施方案中,根据所提供的方法使用的T细胞疗法包括给予表达重组受体的工程化细胞,所述重组受体被设计用于识别和/或特异性结合至与疾病或病症相关的分子并引起应答,例如在与此类分子结合后针对此类分子的免疫应答。所述受体可包括嵌合受体,例如嵌合抗原受体(CAR),和其他转基因抗原受体,包括转基因T细胞受体(TCR)或嵌合自身抗体受体(CAAR)。

[0438] 在一些实施方案中,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)。还提供了此类细胞群、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种类型的细胞如T细胞或CD8+或CD4+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。还提供了用于向受试者(例如,患者)给予所述细胞和组合物的治疗方法。

[0439] 因此,在一些实施方案中,所述细胞包括经由基因工程引入的一种或多种核酸,从而表达此类核酸的重组或基因工程化产物。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,并且在培养物中扩增至足以用于临床应用的数目。

[0440] A. 重组受体

[0441] 细胞通常表达重组受体如抗原受体(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)。所述受体还包括其他嵌合受体,例如嵌合自身抗体受体(CAAR)。

[0442] 1. 嵌合抗原受体(CAR)

[0443] 在一些实施方案中,重组受体包括嵌合抗原受体(CAR)。在一些实施方案中,CAR对特定抗原(或标记或配体,例如在特定细胞类型的表面上表达的抗原)具有特异性。在一些实施方案中,抗原是多肽。在一些实施方案中,它是碳水化合物或其他分子。在一些实施方案中,与正常或非靶向细胞或组织相比,抗原在疾病或病症的细胞例如肿瘤细胞或致病细胞上选择性表达或过表达。在其他实施方案中,抗原在正常细胞上表达和/或在工程化细胞

上表达。

[0444] 在特定实施方案中,重组受体(如嵌合受体)含有细胞内信号传导区域,所述细胞内信号传导区域包括细胞质信号传导结构域(也可互换地称为细胞内信号传导结构域),例如能够在T细胞中诱导初级激活信号的细胞质(细胞内)区域,例如,T细胞受体(TCR)组分的细胞质信号传导结构域(例如CD3-zeta(CD3 ζ)链的 ζ 链的细胞质信号传导结构域或其功能变体或信号传导部分);和/或所述细胞内信号传导区域包含基于免疫受体酪氨酸的激活基序(ITAM)。

[0445] 在一些实施方案中,嵌合受体还含有特异性地结合至抗原(或配体)的细胞外结合结构域。在一些实施方案中,嵌合受体是CAR,其含有特异性地结合至抗原的细胞外抗原识别结构域。在一些实施方案中,抗原(或配体)是在细胞表面上表达的蛋白质。在一些实施方案中,CAR是TCR样CAR,并且抗原是加工过的肽抗原,如细胞内蛋白的肽抗原,其与TCR一样在主要组织相容性复合物(MHC)分子的背景下在细胞表面上被识别。

[0446] 示例性抗原受体(包括CAR)以及将此类受体工程化并引入细胞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,以及欧洲专利申请号EP 2537416,和/或以下文献中所述的那些:Sadelain等人,Cancer Discov.,3(4):388-398(2013);Davila等人PLoS ONE 8(4):e61338(2013);Turtle等人,Curr.Opin.Immunol.,24(5):633-39(2012);Wu等人,Cancer,18(2):160-75(2012)。在一些方面,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。CAR的例子包括如任何前述出版物中所披露的CAR,例如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,Nature Reviews Clinical Oncology,10,267-276(2013);Wang等人,J.Immunother.35(9):689-701(2012);和Brentjens等人,Sci Transl Med,.5(177)(2013)。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。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)链区域和/或可变轻(VL)链区域,例如scFv抗体片段。

[0447] 在一些实施方案中,受体靶向的抗原是多肽。在一些实施方案中,它是碳水化合物或其他分子。在一些实施方案中,与正常或非靶向细胞或组织相比,抗原在疾病或病症的细胞例如肿瘤细胞或致病细胞上选择性表达或过表达。在其他实施方案中,抗原在正常细胞上表达和/或在工程化细胞上表达。

[0448] 在一些实施方案中,CAR被构建为具有对特定抗原(或标记或配体)的特异性,所述特定抗原例如为在过继疗法靶向的特定细胞类型中表达的抗原(例如癌症标记)和/或旨在诱导衰减应答的抗原(例如在正常或未患病细胞类型上表达的抗原)。因此,CAR通常在其细胞外部分中包括一种或多种抗原结合分子,例如一种或多种抗原结合片段、结构域或部分,或一种或多种抗体可变结构域,和/或抗体分子。在一些实施方案中,所述CAR包括抗体分子的一个或多个抗原结合部分,如源自单克隆抗体(mAb)的可变重链(VH)和可变轻链(VL)的

单链抗体片段(scFv)。

[0449] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合部分作为重组受体(例如抗原受体)的部分在细胞上表达。所述抗原受体包括功能性非TCR抗原受体,如嵌合抗原受体(CAR)。通常,含有针对肽-MHC复合物表现出TCR样特异性的抗体或抗原结合片段的CAR也可以称为TCR样CAR。在一些实施方案中,在一些方面,对TCR样CAR的MHC-肽复合物具有特异性的细胞外抗原结合结构域通过接头和/或一个或多个跨膜结构域与一个或多个细胞内信号传导组分连接。在一些实施方案中,此类分子通常可以通过天然抗原受体(如TCR)模拟或接近信号,并且任选地通过这种受体与共刺激受体组合模拟或接近信号。

[0450] 在一些实施方案中,重组受体(例如嵌合受体,例如CAR)包括与抗原(或配体)结合(例如特异性结合)的配体结合结构域。嵌合受体靶向的抗原包括在通过过继细胞疗法靶向的疾病、病症或细胞类型的情况下表达的抗原。所述疾病和病症包括增殖性、肿瘤性和恶性疾病和障碍,包括癌症和肿瘤,包括血液癌、免疫系统癌症,如淋巴瘤、白血病和/或骨髓瘤,如B型白血病、T型白血病和骨髓性白血病、淋巴瘤和多发性骨髓瘤。

[0451] 在一些实施方案中,抗原(或配体)是多肽。在一些实施方案中,它是碳水化合物或其他分子。在一些实施方案中,如与正常或非靶向细胞或组织相比,抗原(或配体)在疾病或病症的细胞(例如肿瘤或致病细胞)上选择性表达或过表达。

[0452] 在一些实施方案中,CAR含有抗体或抗原结合片段(例如scFv),其特异性识别在细胞表面上表达的抗原,例如完整抗原。

[0453] 在一些实施方案中,受体靶向的抗原是或包括 $\alpha v \beta 6$ 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、CD138、CD171、表皮生长因子蛋白(EGFR)、截短的表皮生长因子蛋白(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)、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-22Ra)、IL-13受体 $\alpha 2$ (IL-13Ra2)、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、含有富含亮氨酸的重复序列的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、间皮素、c-Met、鼠类巨细胞病毒(CMV)、粘蛋白1(MUC1)、MUC16、自然杀伤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,也称作5T4)、肿瘤相关糖蛋白72(TAG72)、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)、病原体特异性抗原或病原体表达的抗原、或与通用标签相关的抗原、和/或生物素化的分子、和/或由HIV、HCV、HBV或其他病原体表达的分子。在

一些实施方案中,受体靶向的抗原包括与B细胞恶性肿瘤相关的抗原,如许多已知B细胞标记中的任何一种。在一些实施方案中,抗原是或包括CD20、CD19、CD22、ROR1、CD45、CD21、CD5、CD33、Ig κ 、Ig λ 、CD79a、CD79b或CD30。

[0454] 在一些实施方案中,受体靶向的抗原是或包括孤儿酪氨酸激酶受体ROR1、tEGFR、Her2、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、EGP-2、EGP-4、EPHa2、ErbB2、3或4、FBP、胎儿乙酰胆碱受体、GD2、GD3、HMW-MAA、IL-22R- α 、IL-13R- α 2、kdr、 κ 轻链、路易斯Y、L1细胞粘附分子、MAGE-A1、间皮素、MUC1、MUC16、PSCA、NKG2D配体、NY-ESO-1、MART-1、gp100、癌胚胎抗原、ROR1、TAG72、VEGF-R2、癌胚抗原(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和MAGE A3、CE7、Wilms肿瘤1(WT-1)、细胞周期蛋白(如细胞周期蛋白A1(CCNA1))和/或生物素化分子、和/或由HIV、HCV、HBV表达的分子或其他病原体。在一些实施方案中,CAR结合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,CAR对病毒抗原(如HIV、HCV、HBV等)、细菌抗原和/或寄生虫抗原具有特异性。

[0455] 在一些实施方案中,CAR含有TCR样抗体,例如抗体或抗原结合片段(例如scFv),其特异性识别作为MHC-肽复合物存在于细胞表面上的细胞内抗原(例如肿瘤相关抗原)。在一些实施方案中,识别MHC-肽复合物的抗体或其抗原结合部分可以作为重组受体的部分(例如抗原受体)在细胞上表达。所述抗原受体包括功能性非TCR抗原受体,如嵌合抗原受体(CAR)。通常,含有针对肽-MHC复合物表现出TCR样特异性的抗体或抗原结合片段的CAR也可以称为TCR样CAR。

[0456] 提及“主要组织相容性复合物”(MHC)是指含有多态性肽结合位点或结合沟的蛋白质,通常是糖蛋白,在一些情况下,所述蛋白质可以与多肽的肽抗原(包括由细胞机构处理的肽抗原)复合。在一些情况下,MHC分子可以在细胞表面上展示或表达,包括作为与肽的复合物,即MHC-肽复合物,用于呈现具有T细胞上的抗原受体(例如TCR或TCR样抗体)可识别的构象的抗原。通常,MHC I类分子是异二聚体,其具有跨越 α 链的膜,在一些情况下具有三个 α 结构域和非共价缔合的 β 2微球蛋白。通常,MHC II类分子由两种跨膜糖蛋白 α 和 β 组成,两者通常都跨越膜。MHC分子可以包括MHC的有效部分,其含有抗原结合位点或用于结合肽的位点以及由适当抗原受体识别所需的序列。在一些实施方案中,MHC I类分子将源自胞质溶胶的肽递送至细胞表面,其中MHC-肽复合物由T细胞(例如通常CD8⁺T细胞,但在一些情况下是CD4⁺T细胞)识别。在一些实施方案中,MHC II类分子将源自囊泡系统的肽递送至细胞表面,其中所述肽通常由CD4⁺T细胞识别。通常,MHC分子由一组连锁基因座编码,其在小鼠中统称为H-2并且在人中统称为人白细胞抗原(HLA)。因此,通常人MHC也可以称为人白细胞抗原(HLA)。

[0457] 术语“MHC-肽复合物”或“肽-MHC复合物”或其变体是指肽抗原与MHC分子的复合物或缔合物,例如通常通过所述肽在MHC分子的结合沟或裂缝中的非共价相互作用来形成。在一些实施方案中,MHC-肽复合物存在或展示于细胞表面上。在一些实施方案中,MHC-肽复合物可由抗原受体(例如TCR、TCR样CAR或其抗原结合部分)特异性地识别。

[0458] 在一些实施方案中,多肽的肽(例如肽抗原或表位)可以与MHC分子缔合,例如用于由抗原受体识别。通常,所述肽源自或基于较长生物分子(例如多肽或蛋白质)的片段。在一些实施方案中,所述肽的长度通常为约8至约24个氨基酸。在一些实施方案中,肽的长度为

或为约9至22个氨基酸,用于在MHC II类复合物中识别。在一些实施方案中,肽的长度为或为约8至13个氨基酸,用于在MHC I类复合物中识别。在一些实施方案中,在识别MHC分子(例如MHC-肽复合物)背景中的肽后,抗原受体(例如TCR或TCR样CAR)产生或触发激活信号至T细胞,诱导T细胞应答,如T细胞增殖、细胞因子产生、细胞毒性T细胞应答或其他应答。

[0459] 在一些实施方案中,TCR样抗体或抗原结合部分是已知的或可通过已知方法产生(参见例如美国公开申请号US 2002/0150914;US 2003/0223994;US 2004/0191260;US 2006/0034850;US 2007/00992530;US 20090226474;US 20090304679;和国际PCT公开号WO 03/068201)。

[0460] 在一些实施方案中,特异性地结合至MHC-肽复合物的抗体或其抗原结合部分可以通过用有效量的含有特定MHC-肽复合物的免疫原对宿主进行免疫来产生。在一些情况下,MHC-肽复合物的肽是能够结合至MHC的抗原的表位,例如肿瘤抗原,例如通用肿瘤抗原、骨髓瘤抗原或下文所述的其他抗原。在一些实施方案中,然后向宿主给予有效量的免疫原以用于引发免疫应答,其中所述免疫原保持其三维形式持续一段足以引发针对所述肽在所述MHC分子的结合沟中的三维呈递的免疫应答的时间。然后测定从宿主收集的血清以确定是否产生了识别MHC分子结合沟中的肽的三维呈现的所需抗体。在一些实施方案中,可以评估所产生的抗体以确认所述抗体可以区分MHC-肽复合物与单独的MHC分子、单独的目标肽以及MHC与无关肽的复合物。然后可以分离所需的抗体。

[0461] 在一些实施方案中,特异性地结合至MHC-肽复合物的抗体或其抗原结合部分可以通过采用抗体文库展示方法(例如噬菌体抗体文库)来产生。在一些实施方案中,可以产生突变体Fab、scFv或其他抗体形式的噬菌体展示文库,例如,其中所述文库的成员在一个或多个CDR的一个或多个残基处发生突变。参见例如美国公开申请号US 20020150914、US 2014/0294841;和Cohen CJ.等人(2003)J Mol.Recogn.16:324-332。

[0462] 本文中的术语“抗体”在最广泛的意义上使用,并且包括多克隆和单克隆抗体,包括完整抗体和功能性(抗原结合)抗体片段,包括片段抗原结合(Fab)片段、F(ab')₂片段、Fab'片段、Fv片段、重组IgG(rIgG)片段、能够特异性结合抗原的可变重链(V_H)区、单链抗体片段(包括单链可变片段(scFv))以及单结构域抗体(例如,sdAb、sdFv、纳米抗体)片段。所述术语涵盖免疫球蛋白的基因工程化的和/或以其他方式修饰的形式,如胞内抗体、肽体(peptibody)、嵌合抗体、全人抗体、人源化抗体和异缀合抗体(heteroconjugate antibody)、多特异性(例如,双特异性)抗体、双抗体、三抗体和四抗体、串联二-scFv、串联三-scFv。除非另有说明,否则术语“抗体”应理解为涵盖其功能性抗体片段。所述术语还涵盖完整或全长抗体,包括任何类别或亚类(包括IgG及其亚类、IgM、IgE、IgA和IgD)的抗体。

[0463] 在一些实施方案中,抗原结合蛋白、抗体及其抗原结合片段特异性地识别全长抗体的抗原。在一些实施方案中,抗体的重链和轻链可以是全长的或者可以是抗原结合部分(Fab、F(ab')₂、Fv或单链Fv片段(scFv))。在其他实施方案中,所述抗体重链恒定区选自例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgD和IgE,特别是选自例如IgG1、IgG2、IgG3和IgG4,更特别是IgG1(例如,人IgG1)。在另一个实施方案中,抗体轻链恒定区选自例如κ或λ,特别是κ。

[0464] 所提供的抗体包括抗体片段。“抗体片段”是指不同于完整抗体的分子,其包含完整抗体的结合完整抗体所结合的抗原的一部分。抗体片段的例子包括但不限于Fv、Fab、

Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂；双抗体；线性抗体；可变重链(V_H)区、单链抗体分子(如scFv)和单一结构域V_H单一抗体；和由抗体片段形成的多特异性抗体。在具体实施方案中，所述抗体是包含可变重链区和/或可变轻链区的单链抗体片段，如scFv。

[0465] 术语“可变区”或“可变结构域”是指抗体重链或轻链的参与抗体与抗原的结合的结构域。天然抗体的重链和轻链的可变结构域(分别为V_H和V_L)通常具有相似的结构，每个结构域包含四个保守的框架区(FR)和三个CDR。(参见例如，Kindt等人Kuby Immunology, 第6版, W.H. Freeman and Co., 第91页(2007))。单个V_H或V_L结构域可以足以赋予抗原结合特异性。此外，可以使用来自结合抗原的抗体的V_H或V_L结构域分离结合所述特定抗原的抗体，以分别筛选互补的V_L或V_H结构域的文库。参见例如，Portolano等人, J. Immunol. 150:880-887 (1993)；Clarkson等人, Nature 352:624-628(1991)。

[0466] 单结构域抗体是包含抗体的全部或部分重链可变结构域或者全部或部分轻链可变结构域的抗体片段。在某些实施方案中，单结构域抗体是人单结构域抗体。在一些实施方案中，CAR包含特异性地结合抗原的抗体重链结构域，所述抗原例如癌症标记或待靶向的细胞或疾病(例如肿瘤细胞或癌细胞)的细胞表面抗原，例如本文所述或已知的任何靶抗原。

[0467] 抗体片段可以通过各种技术制备，包括但不限于完整抗体的蛋白水解消化以及通过重组宿主细胞产生。在一些实施方案中，所述抗体是重组产生的片段，如包含天然不存在的排列的片段(如具有通过合成接头(例如，肽接头)连接的两个或更多个抗体区或链的那些)，和/或可不通过酶消化天然存在的完整抗体产生的片段。在一些实施方案中，抗体片段是scFv。

[0468] “人源化”抗体是这样的抗体，其中所有或基本上所有CDR氨基酸残基源自非人CDR并且所有或基本上所有FR氨基酸残基源自人FR。人源化抗体任选地可以包括源自人抗体的抗体恒定区的至少一部分。非人抗体的“人源化形式”是指所述非人抗体的变体，其经历人源化以通常降低对人的免疫原性，同时保留亲本非人抗体的特异性和亲和力。在一些实施方案中，人源化抗体中的一些FR残基被来自非人抗体(例如，衍生出CDR残基的抗体)的相应残基取代，例如以恢复或改善抗体特异性或亲和力。

[0469] 因此，在一些实施方案中，嵌合抗原受体(包括TCR样CAR)包括含有抗体或抗体片段的细胞外部分。在一些实施方案中，抗体或片段包括scFv。在一些方面，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区域。在一些实施方案中，细胞内信号传导区域包含细胞内信号传导结构域。在一些实施方案中，细胞内信号传导结构域是或包含主要信号传导结构域、能够在T细胞中诱导初级激活信号的信号传导结构域、T细胞受体(TCR)组分的信号传导结构域和/或包含基于免疫受体酪氨酸的激活基序(ITAM)的信号传导结构域。

[0470] 在一些实施方案中，重组受体(例如CAR)(包括重组受体(例如CAR)的抗体部分)还包括免疫球蛋白恒定区的至少一部分，例如铰链区(例如IgG4铰链区)和/或C_H1/C_L和/或Fc区。在一些实施方案中，重组受体(例如CAR，包括其抗体部分)还包括间隔子，所述间隔子可以是或包括免疫球蛋白恒定区的至少一部分或其变体或经修饰形式，例如铰链区(例如，IgG4铰链区)和/或C_H1/C_L和/或Fc区。在一些实施方案中，重组受体还包含间隔子和/或铰链区。在一些实施方案中，恒定区或部分是人IgG如IgG4或IgG1的。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。与不存在间隔子的情

况下相比,间隔子的长度可以提供抗原结合后增强的细胞反应性。示例性间隔子(例如铰链区)包括在国际专利申请公开号W0 2014031687中描述的那些。在一些例子中,间隔子的长度为或为约12个氨基酸或者长度不超过12个氨基酸。示例性间隔子包括具有至少约10至229个氨基酸、约10至200个氨基酸、约10至175个氨基酸、约10至150个氨基酸、约10至125个氨基酸、约10至100个氨基酸、约10至75个氨基酸、约10至50个氨基酸、约10至40个氨基酸、约10至30个氨基酸、约10至20个氨基酸或约10至15个氨基酸(并且包括任何列出的范围的端点之间的任何整数)的那些。在一些实施方案中,间隔子区具有约12个或更少的氨基酸、约119个或更少的氨基酸或约229个或更少的氨基酸。示例性间隔子包括单独的IgG4铰链、与C_H2和C_H3结构域连接的IgG4铰链或与C_H3结构域连接的IgG4铰链。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Clin.Cancer Res.,19:3153(2013);国际专利申请公开号W0 2014031687、美国专利号8,822,647或公开的申请号US 2014/0271635。

[0471] 在一些实施方案中,恒定区或部分是人IgG如IgG4或IgG1的。在一些实施方案中,间隔子具有序列ESKYGPPCPPCP(如SEQ ID NO:1所示),并且由SEQ ID NO:2所示的序列编码。在一些实施方案中,所述间隔子具有SEQ ID NO:3中列出的序列。在一些实施方案中,所述间隔子具有SEQ ID NO:4中列出的序列。在一些实施方案中,恒定区或部分IgD。在一些实施方案中,所述间隔子具有SEQ ID NO:5中列出的序列。在一些实施方案中,间隔子具有展现与SEQ ID NO:1、3、4和5中的任一序列至少或至少约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。在一些实施方案中,间隔子具有SEQ ID NO:26-34所示的序列。在一些实施方案中,间隔子具有展现与SEQ ID NO:26-34中的任一序列至少或至少约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。

[0472] 所述抗原识别结构域通常与一种或多种细胞内信号传导组分(如通过抗原受体复合物(如TCR复合物)(在CAR的情况下)模拟激活和/或经由另一种细胞表面受体模拟信号的信号传导组分)连接。因此,在一些实施方案中,抗原结合组分(例如,抗体)与一个或多个跨膜和细胞内信号传导结构域或区域连接。在一些实施方案中,所述跨膜结构域与细胞外结构域融合。在一个实施方案中,使用天然与所述受体(例如,CAR)中的一个结构域缔合的跨膜结构域。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,以最小化与所述受体复合物的其他成员的相互作用。

[0473] 在一些实施方案中,所述跨膜结构域源自天然或合成来源。当来源是天然的时,在一些方面,所述结构域可以源自任何膜结合蛋白或跨膜蛋白。跨膜区包括源自以下项的那些跨膜区(即,包括以下项的至少一个或多个跨膜区):T细胞受体的 α 、 β 或 ζ 链,CD28,CD3 ϵ ,CD45,CD4,CD5,CD8,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,合成跨膜结构域主要包含疏水性残基,例如亮氨酸和缬氨酸。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,连接是通过接头、间隔子和/或一个或多个跨膜结构域。

[0474] 细胞内信号传导结构域或区域包括模拟或接近以下项的那些:通过天然抗原受体

传导的信号,通过与共刺激受体组合的受体传导的信号,和/或仅通过共刺激受体传导的信号。在一些实施方案中,短的寡肽或多肽接头(例如,长度在2与10个之间氨基酸的接头,例如含有甘氨酸和丝氨酸的接头,例如甘氨酸-丝氨酸双联体)存在于CAR的跨膜结构域与细胞质信号传导结构域或区域之间,并且形成连接。

[0475] 受体例如CAR通常包括至少一种细胞内信号传导组分或多种细胞内信号传导组分。在一些实施方案中,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CD3 ζ 链。因此,在一些方面,所述抗原结合部分与一个或多个细胞信号传导模块连接。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,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,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。

[0476] 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或区域激活免疫细胞(例如,工程化以表达CAR的T细胞)的至少一种正常效应子功能或反应。例如,在一些情况下,CAR诱导T细胞的功能,例如细胞溶解活性或T辅助活性,例如细胞因子或其他因子的分泌。在一些实施方案中,例如,如果抗原受体组分或共刺激分子的细胞内信号传导结构域或区域的截短部分转导效应子功能信号,则使用所述截短部分代替完整的免疫刺激链。在一些实施方案中,一个或多个细胞内信号传导结构域或区域包括T细胞受体(TCR)的细胞质序列,并且在一些方面还包括共受体的那些细胞质序列,所述共受体在自然环境中与此类受体协同作用以在抗原受体接合后启动信号转导,和/或此类分子的任何衍生物或变体,和/或具有相同功能性能的任何合成序列。

[0477] 在天然TCR的情况下,完全激活通常不仅需要通过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。

[0478] 在一些方面,将T细胞激活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(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刺激或共刺激信号的那些(次级细胞质信号传导序列)。在一些方面,CAR包括此类信号传导组分中的一种或两种。

[0479] 在一些方面,所述CAR包括调节所述TCR复合物的初级激活的初级胞质信号传导序列。以刺激方式起作用的初级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的例子包括源自以下项的那些:TCR ζ 、FcR γ 、FcR β 、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD8、CD22、CD79a、CD79b和CD66d。在一些实施方案中,CAR中的一种或多种细胞质信号传导分子含有源自CD3 ζ 的细胞质信号传导结构域或区域或其部分或序列。

[0480] 在一些实施方案中,CAR包括共刺激受体(例如CD28、4-1BB、OX40、DAP10和ICOS)的信号传导结构域或区域和/或跨膜部分。在一些方面,相同CAR同时包括激活和共刺激组分。

[0481] 在一些实施方案中,激活结构域包括于一个CAR内,而共刺激组分是由识别另一种抗原的另一种CAR提供。在一些实施方案中,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,细胞包含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),如识别除了与疾病或病症相关和/或对所述疾病或病症具有特异性的抗原以外的抗原的CAR,其中通过靶向疾病的CAR递送的激活信号由于抑制性CAR与其配体的结合而有所减小或被抑制,例如以减小脱靶效应。

[0482] 在某些实施方案中,细胞内信号传导结构域包含连接至CD3(例如,CD3- ζ)细胞内结构域的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CD3 ζ 细胞内结构域连接的嵌合CD28和CD137(4-1BB, TNFRSF9)共刺激结构域。

[0483] 在一些实施方案中,CAR在细胞质部分中包含一个或多个,例如两个或更多个共刺激结构域和激活结构域,例如主激活结构域。示例性CAR包含CD3- ζ 、CD28和4-1BB的细胞内组分。

[0484] 在一些实施方案中,CAR或其他抗原受体还包括标记,例如细胞表面标记,其可以用于确认细胞表达受体的转导或工程化,所述受体例如细胞表面受体的截短形式,例如截短的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(如可切割的接头序列,例如T2A)的多核苷酸可操作地连接。例如,标记和任选地接头序列可以是如已公开专利申请号WO 2014031687中所披露的任何一种。例如,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。截短的EGFR(例如tEGFR)的示例性多肽包含SEQ ID NO:7或16中所示的氨基酸序列或展现与SEQ ID NO:7或16至少或至少约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。示例性T2A接头序列包含SEQ ID NO:6或17中所示的氨基酸序列或展现与SEQ ID NO:6或17至少或至少约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。

[0485] 在一些实施方案中,标记是并非在T细胞上天然发现或并非在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。

[0486] 在一些实施方案中,所述标记不起任何治疗功能和/或除了用作基因工程化(例如,用于选择成功工程化的细胞)的标记之外不产生任何作用。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。

[0487] 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。

[0488] 在一些实施方案中,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,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,并且所述细胞内结构域含有ITAM。在一些方面,所述细胞内信号传导结构域包括CD3-zeta(CD3 ζ)链的 ζ 链的信号传导结构域。在一些实施方案中,嵌合抗原受体包括连接细胞外结构域与细胞内信号传导结构域的跨膜结构域。在

一些方面,跨膜结构域含有CD28的跨膜部分。在一些实施方案中,嵌合抗原受体含有T细胞共刺激分子的细胞内结构域。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通过间隔子(如本文描述的任何间隔子)连接。在一些实施方案中,受体含有衍生跨膜结构域的分子的细胞外部分,如CD28细胞外部分。在一些实施方案中,嵌合抗原受体含有源自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4-1BB。

[0489] 在一些实施方案中,scFv源自FMC63。FMC63是针对人来源的表达CD19的Nalm-1和Nalm-16细胞产生的小鼠单克隆IgG1抗体(Ling,N.R.等人(1987)。Leucocyte typing III.302)。FMC63抗体包含分别在SEQ ID NO:38和39中所示的CDRH1和H2,以及在SEQ ID NO:40或54中所示的CDRH3、和在SEQ ID NO:35中所示的CDRL1、和在SEQ ID NO:36或55中所示的CDR L2、和在SEQ ID NO:37或56中所示的CDR L3。FMC63抗体包含含有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的重链可变区(V_H)和含有SEQ ID NO:42的氨基酸序列的轻链可变区(V_L)。在一些实施方案中,svFv包含含有SEQ ID NO:35中所示的CDRL1、SEQ ID NO:36或55中所示的CDRL2、和SEQ ID NO:37或56中所示的CDRL3的可变轻链,和/或含有SEQ ID NO:38中所示的CDRH1、SEQ ID NO:39中所示的CDRH2、和SEQ ID NO:40或54中所示的CDRH3的可变重链。在一些实施方案中,scFv包含SEQ ID NO:41中所示的FMC63的可变重链区和SEQ ID NO:42中所示的FMC63的可变轻链区。在一些实施方案中,可变重链和可变轻链通过接头连接。在一些实施方案中,接头如SEQ ID NO:24所示。在一些实施方案中,scFv依次包含VH、接头和VL。在一些实施方案中,scFv依次包含VL、接头和VH。在一些实施方案中,svFc是由SEQ ID NO:25中所示的核苷酸序列或展现与SEQ ID NO:25至少或至少约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的序列编码。在一些实施方案中,scFv包含SEQ ID NO:43中所示的氨基酸序列或展现与SEQ ID NO:43至少或至少约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的序列。

[0490] 在一些实施方案中,scFv源自SJ25C1。SJ25C1是针对人来源的表达CD19的Nalm-1和Nalm-16细胞产生的小鼠单克隆IgG1抗体(Ling,N.R.等人(1987)。Leucocyte typing III.302)。SJ25C1抗体包含SEQ ID NO:47-49分别所示的CDRH1、H2和H3,以及SEQ ID NO:44-46分别所示的CDRL1、L2和L3序列。SJ25C1抗体包含含有SEQ ID NO:50的氨基酸序列的重链可变区(V_H)和含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的轻链可变区(V_L)。在一些实施方案中,svFv包含含有SEQ ID NO:44中所示的CDRL1、SEQ ID NO:45中所示的CDRL2、和SEQ ID NO:46中所示的CDRL3的可变轻链,和/或含有SEQ ID NO:47中所示的CDRH1、SEQ ID NO:48中所示的CDRH2和SEQ ID NO:49中所示的CDRH3的可变重链。在一些实施方案中,scFv包含SEQ ID NO:50中所示的SJ25C1的可变重链区和SEQ ID NO:51中所示的SJ25C1的可变轻链区。在一些实施方案中,可变重链和可变轻链通过接头连接。在一些实施方案中,接头如SEQ ID NO:52所示。在一些实施方案中,scFv依次包含VH、接头和VL。在一些实施方案中,scFv依次包含VL、接头和VH。在一些实施方案中,scFv包含SEQ ID NO:53中所示的氨基酸序列或展现与SEQ ID NO:53至少或至少约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的序列。

[0491] 例如,在一些实施方案中,CAR含有抗体例如抗体片段、跨膜结构域(其是CD28的跨膜部分或其功能变体或含有CD28跨膜部分或其功能变体)以及含有CD28的信号传导部分或其功能变体和CD3 ζ 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,CAR含有抗体例如抗体片段、跨膜结构域(其是CD28的跨膜部分或其功能变体或含有CD28的跨膜部分或其功能变体)以及含有4-1BB的信号传导部分或其功能变体和CD3 ζ 的信号传导部分或其功能变体的细胞内信号传导结构域。在一些此类实施方案中,受体进一步包括含有Ig分子(如人Ig分子,如Ig铰链,例如IgG4铰链)的一部分的间隔子如仅含铰链的间隔子。

[0492] 在一些实施方案中,重组受体(例如CAR)的跨膜结构域是或包括人CD28的跨膜结构域(例如,登录号P01747.1)或其变体,例如包含SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列或展现与SEQ ID NO:8至少或至少约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;在一些实施方案中,重组受体的含有跨膜结构域的部分包含SEQ ID NO:9中所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO:9具有至少或至少约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,或者例如人CD28的27个氨基酸的跨膜结构域。

[0493] 在一些实施方案中,嵌合抗原受体含有T细胞共刺激分子的细胞内结构域。在一些方面,所述T细胞共刺激分子是CD28或4-1BB。

[0494] 在一些实施方案中,重组受体(例如,CAR)的一个或多个细胞内信号传导结构域、区域或组分含有人CD28的细胞内共刺激信号传导结构域或其功能变体或部分,例如在天然CD28蛋白的位置186-187具有LL至GG取代的结构域。例如,在一些实施方案中,细胞内信号传导结构域或区域可以包含SEQ ID NO:10或11中所示的氨基酸序列,或展现与SEQ ID NO:10或11至少或至少约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。在一些实施方案中,细胞内结构域或区域包含4-1BB的细胞内共刺激信号传导结构域或区域(例如,登录号Q07011.1)或其功能变体或部分,例如SEQ ID NO:12中所示的氨基酸序列或展现与SEQ ID NO:12至少或至少约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,或例如人4-1BB的42个氨基酸的细胞质结构域。

[0495] 在一些实施方案中,重组受体(例如,CAR)的细胞内信号传导结构域或区域包含人CD3 ζ 链,任选地 ζ 刺激性信号传导结构域或区域或其功能变体,例如人CD3 ζ 的同种型3的112个AA的细胞质结构域或区域(登录号:P20963.2)或如美国专利号7,446,190或美国专利号8,911,993中所述的CD3 ζ 信号传导结构域或区域。例如,在一些实施方案中,细胞内信号传导结构域或区域包含如SEQ ID NO:13、14或15中所示的氨基酸序列或展现与SEQ ID NO:13、14或15至少或至少约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。

[0496] 在一些方面,间隔子仅含有IgG的铰链区,例如仅IgG4或IgG1的铰链,例如SEQ ID NO:1中所示的仅铰链间隔子。在其他实施方案中,间隔子是或含有Ig铰链,例如,IgG4源铰链,其任选地连接至C_H2和/或C_H3结构域。在一些实施方案中,间隔子是与C_H2和C_H3结构域连接的Ig铰链,例如IgG4铰链,如SEQ ID NO:4中所示。在一些实施方案中,间隔子是仅与C_H3

结构域连接的Ig铰链,例如IgG4铰链,如SEQ ID NO:3中所示。在一些实施方案中,间隔子是或包含富甘氨酸-丝氨酸的序列或其他柔性接头,如已知的柔性接头。

[0497] 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的间隔子,如铰链区和/或重链分子的一个或多个恒定区,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CD3 ζ 信号传导结构域。在一些实施方案中,CAR包括抗体或片段(例如scFv)、间隔子(如任何含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CD3 ζ 衍生的信号传导结构域。

[0498] 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tEGFR序列(例如在编码CAR的序列的下游)。在一些实施方案中,所述序列编码SEQ ID NO:6或17中所示的T2A核糖体跳跃元件,或展现与SEQ ID NO:6或17至少或至少约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。在一些实施方案中,还可以生成表达抗原受体(例如CAR)的T细胞以将截短的EGFR(EGFRt)表达为非免疫原性选择表位(例如通过引入编码被T2A核糖体开关分隔开的CAR和EGFRt的构建体,以表达来自相同构建体的两种蛋白质),然后所述非免疫原性选择表位可用作检测此类细胞的标记(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:7或16中所示的tEGFR序列,或展现与SEQ ID NO:7或16至少或至少约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。

[0499] 由给予受试者的细胞表达的重组受体例如CAR通常识别或特异性地结合至分子,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/或特异于被治疗的疾病或病症或其细胞。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,在一些实施方案中细胞表达所述CAR,其特异性地结合至由疾病或病症的细胞或组织表达的或与疾病或病症相关的抗原。

[0500] 2. T细胞受体 (TCR)

[0501] 在一些实施方案中,提供了工程化细胞,例如T细胞,其表达识别靶多肽(例如肿瘤、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。

[0502] 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TCR α 和TCR β)或可变 γ 和 δ 链(也分别称为TCR α 和TCR β)的分子或其抗原结合部分,并且其能够特异性结合至与MHC分子结合的肽。在一些实施方案中,所述TCR呈 $\alpha\beta$ 形式。通常,以 $\alpha\beta$ 和 $\gamma\delta$ 形式存在的TCR一般在结构上相似,但是表达它们的T细胞可以具有不同的解剖位置或功能。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。

[0503] 除非另有说明,否则术语“TCR”应理解为涵盖完整的TCR以及其抗原结合部分或其抗原结合片段。在一些实施方案中,所述TCR是完整或全长TCR,包括呈 $\alpha\beta$ 形式或 $\gamma\delta$ 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的可变链含有参与肽、MHC和/或MHC-肽复合物的识别的互补决定区。

[0504] 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,与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,或者是在给定TCR可变区的用于所述肽-MHC复合物的加工肽部分的抗原识别和/或用于与其相互作用的三个CDR中最重要的CDR。在一些情境下,所述 α 链的CDR1可以与某些抗原肽的N-末端部分相互作用。在一些情境下,所述 β 链的CDR1可以与所述肽的C-末端部分相互作用。在一些情境下,CDR2对与所述MHC-肽复合物的MHC部分的相互作用或识别具有最强的作用或者是主要的负责CDR。在一些实施方案中,所述 β -链的可变区可以含有另外的高变区(CDR4或HVR4),其通常参与超抗原结合而非抗原识别(Kotb (1995) *Clinical Microbiology Reviews*, 8:411-426)。

[0505] 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页:33, 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复合物的不变蛋白质缔合。

[0506] 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链的细胞外部分(例如, α 链或 β 链)可以含有与细胞膜相邻的两个免疫球蛋白样结构域,例如可变结构域(例如, $V\alpha$ 或 $V\beta$; 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 链恒定域或 $C\alpha$, 通常基于Kabat编号的位置117至259, 或 β 链恒定结构域或 $C\beta$, 通常基于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,其中可变结构域各自含有CDR。TCR的恒定结构域可含有短连接序列,其中半胱氨酸残基形成二硫键,由此连接TCR的两条链。在一些实施方案中,TCR可在每条 α 和 β 链中具有另外的半胱氨酸残基,使得TCR在恒定结构域中含有两个二硫键。

[0507] 在一些实施方案中,所述TCR链含有跨膜结构域。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链含有胞质尾。在一些情况下,结构允许TCR与其他分子(如CD3和其亚基)缔合。例如,含有恒定结构域与跨膜区的TCR可以将所述蛋白质锚定在细胞膜中并与所述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, CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 和CD3 ζ 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。

[0508] 在一些实施方案中,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,TCR是含有两条单独链(α 和 β 链或 γ 和 δ 链)的异二聚体,所述链是通过例如一个或多个二硫键连接。

[0509] 在一些实施方案中,TCR可以从一个或多个已知的TCR序列(如 $V\alpha$, β 链的序列)产生,所述一个或多个已知的TCR序列的基本上全长的编码序列是易于获得的。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,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。

[0510] 在一些实施方案中,TCR是从生物来源获得,如来自细胞(如来自T细胞,例如细胞毒性T细胞)、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,T细胞可以从体内分离的细胞获得。在一些实施方案中,TCR是胸腺选择的TCR。在一些实施方案中,TCR是新表位限制性TCR。在一些实施方案中,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,TCR或其抗原结合部分可以根据对TCR序列的了解以合成方式产生。

[0511] 在一些实施方案中,TCR是从通过针对靶多肽抗原或其靶T细胞表位筛选候选TCR文库而鉴定或选择的TCR产生的。TCR文库可以通过扩增来自T细胞的 $V\alpha$ 和 $V\beta$ 库来产生,所述T细胞是从受试者分离,包括存在于PBMC、脾或其他淋巴器官中的细胞。在一些情况下,T细胞可以从肿瘤浸润性淋巴细胞(TIL)扩增。在一些实施方案中,可以从CD4⁺或CD8⁺细胞产生TCR文库。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 $V\alpha$ 和 $V\beta$ 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 $V\alpha$ 和 $V\beta$ 文库组装,其中扩增的产物被克隆或组装以通过接头分开。取决于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,所述TCR经受定向进化,如通过诱变例如所述 α 或 β 链。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,可以选择抗原特异性T细胞,如通过筛选以评估针对所述肽的CTL活性。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。

[0512] 在一些实施方案中,基因工程化的抗原受体包括从天然存在的T细胞克隆的重组T细胞受体(TCR)和/或TCR。在一些实施方案中,从患者鉴定、分离靶抗原(例如,癌抗原)的高亲和力T细胞克隆,并将其引入细胞中。在一些实施方案中,已经在用人免疫系统基因(例如,人白细胞抗原系统或HLA)工程化的转基因小鼠中产生针对靶抗原的TCR克隆。参见,例如,肿瘤抗原(参见,例如,Parkhurst等人(2009) Clin Cancer Res.15:169-180和Cohen等人(2005) J Immunol.175:5799-5808。在一些实施方案中,使用噬菌体展示来分离针对靶抗原的TCR(参见,例如,Varela-Rohena等人(2008) Nat Med.14:1390-1395和Li(2005) Nat Biotechnol.23:349-354。

[0513] 在一些实施方案中,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具有较高的对特定MHC-肽复合物的亲和

力的TCR。在一些实施方案中,定向进化是通过展示方法实现的,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,展示途径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。

[0514] 在一些实施方案中,用于产生或生成目标TCR的靶多肽的肽是已知的或可以由熟练技术人员容易地鉴定。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标靶多肽(如下文所述的靶多肽)中HLA限制性基序的存在来确定。在一些实施方案中,使用本领域技术人员已知的计算机预测模型鉴定肽。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)Bioinformatics17(12):1236-1237)和SYFPEITHI(参见Schuler等人(2007)Immunoinformatics Methods in Molecular Biology,409(1):75-93 2007)。在一些实施方案中,MHC限制性表位是HLA-A0201,其在所有高加索人的约39%-46%中表达,并因此代表用于制备TCR或其他MHC-肽结合分子的MHC抗原的合适选择。

[0515] 使用计算机预测模型的HLA-A0201结合基序以及蛋白酶体和免疫蛋白酶体的切割位点是本领域技术人员已知的。用于预测MHC I类结合位点的此类模型包括但不限于ProPred1(更详细地描述于Singh和Raghava,ProPred:prediction of HLA-DR binding sites.BIOINFORMATICS 17(12):1236-1237 2001)和SYFPEITHI(参见Schuler等人SYFPEITHI,Database for Searching and T-Cell Epitope Prediction.,Immunoinformatics Methods in Molecular Biology,第409(1)卷:75-93 2007)。

[0516] 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质或其突变形式(其中一种或多种特性(如结合特征)已经被改变)。在一些实施方案中,TCR可以来源于各种动物物种之一,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呈在细胞的表面上表达的细胞结合形式。

[0517] 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。

[0518] 在一些实施方案中,TCR含有对应于跨膜序列的序列。在一些实施方案中,所述TCR确实含有对应于胞质序列的序列。在一些实施方案中,所述TCR能够与CD3形成TCR复合物。在一些实施方案中,任何TCR(包括dTCR或scTCR)可以与在T细胞的表面上产生活性TCR的信号传导结构域连接。在一些实施方案中,所述TCR在细胞的表面上表达。

[0519] 在一些实施方案中,dTCR含有第一多肽(其中对应于TCR α 链可变区序列的序列与对应于TCR α 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TCR β 链可变区序列的序列与对应于TCR β 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 $\alpha\beta$ TCR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。在一些实施方案中,所述TCR含有跨膜序列以锚定至膜。

[0520] 在一些实施方案中,dTCR含有TCR α 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TCR β 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TCR α 链与TCR β 链连接在一起。

[0521] 在一些实施方案中,TCR是scTCR。通常,可以使用本领域技术人员已知的方法产生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、WO 99/60120、WO 99/18129、WO 03/020763、WO 2011/044186; 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TCR β 可变结构域共价连接的TCR α 可变结构域(参见例如,国际公开的PCT号WO 99/18129)。

[0522] 在一些实施方案中,scTCR含有由对应于TCR α 链可变区的氨基酸序列构成的第一区段、由对应于TCR β 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TCR β 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。

[0523] 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)。

[0524] 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TCR β 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)。

[0525] 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,接头序列可例如具有式-P-AA-P-,其中P是脯氨酸并且AA代表氨基酸序列,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,但是不能太长以阻断或减少所述scTCR与所述靶配体的结合。在一些实施方案中,所述接头可以含有为或为约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。在一些实施方案中,所述接头具有式-PGGG-(SGGGG)₅-P-,其中P是脯氨酸,G是甘氨酸,并且S是丝氨酸(SEQ ID NO:22)。在一

些实施方案中,所述接头具有序列GSADDAKKDAKKDGKS (SEQ ID NO:23)

[0526] 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。

[0527] 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,用形成天然链间二硫键的一个或多个天然半胱氨酸取代另一残基,如取代丝氨酸或丙氨酸。在一些实施方案中,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引入的二硫键。TCR的示例性非天然二硫键描述于已公开的国际PCT号WO 2006/000830中。

[0528] 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,所述平衡结合常数是在或在约 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,靶抗原是MHC-肽复合物或配体。

[0529] 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。

[0530] 在一些实施方案中,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 λ G10、 λ GT11、 λ ZapII(Stratagene)、 λ EMBL4和 λ NM1149。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。

[0531] 在一些实施方案中,可以使用标准重组DNA技术来制备所述重组表达载体。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。还考虑了熟练技术人员已知的其他启动子。

[0532] 在一些实施方案中,在获得T细胞克隆后,将TCR α 和 β 链分离并克隆到基因表达载体中。在一些实施方案中,TCR α 和 β 基因通过小核糖核酸病毒2A核糖体跳跃肽连接,使得两条链共表达。在一些实施方案中,TCR的遗传转移是通过逆转录病毒或慢病毒载体或通过转座子完成(参见例如Baum等人(2006)Molecular Therapy:The Journal of the American Society of Gene Therapy.13:1050-1063;Frecha等人(2010)Molecular Therapy:The Journal of the American Society of Gene Therapy.18:1748-1757;和Hackett等人

(2010)Molecular Therapy:The Journal of the American Society of Gene Therapy.18:674-683。

[0533] 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 链克隆到同一载体中。在一些实施方案中,将所述 α 和 β 链克隆到不同的载体中。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。

[0534] 3.嵌合自身抗体受体(CAAR)

[0535] 在一些实施方案中,重组受体是嵌合自身抗体受体(CAAR)。在一些实施方案中,CAAR对自身抗体具有特异性。在一些实施方案中,表达CAAR的细胞(例如工程化以表达CAAR的T细胞)可以用于特异性地结合至并杀伤表达自身抗体的细胞,而不是表达正常抗体的细胞。在一些实施方案中,表达CAAR的细胞可以用于治疗与自身抗原的表达相关的自身免疫性疾病,例如自身免疫性疾病。在一些实施方案中,表达CAAR的细胞可以靶向最终产生自身抗体并在其细胞表面上展示所述自身抗体的B细胞,将这些B细胞标记为治疗干预的疾病特异性靶标。在一些实施方案中,CAAR表达细胞可以用于通过使用抗原特异性嵌合自身抗体受体靶向引起疾病的B细胞,有效靶向和杀伤自身免疫性疾病中的致病性B细胞。在一些实施方案中,重组受体是CAAR,例如美国专利申请公开号US 2017/0051035中所述的任何一种。

[0536] 在一些实施方案中,CAAR包含自身抗体结合结构域、跨膜结构域和细胞内信号传导区域。在一些实施方案中,细胞内信号传导区域包含细胞内信号传导结构域。在一些实施方案中,细胞内信号传导结构域是或包含主要信号传导结构域、能够在T细胞中诱导初级激活信号的信号传导结构域、T细胞受体(TCR)组分的信号传导结构域和/或包含基于免疫受体酪氨酸的激活基序(ITAM)的信号传导结构域。在一些实施方案中,细胞内信号传导区域包含次级或共刺激信号传导区域(次级细胞内信号传导区域)。

[0537] 在一些实施方案中,自身抗体结合结构域包含自身抗原或其片段。自身抗原的选择可以取决于所靶向的自身抗体的类型。例如,所述自身抗原的选择可能是由于其识别与特定疾病状态(例如自身免疫性疾病,例如自身抗体介导的自身免疫性疾病)相关的靶细胞(例如B细胞)上的自身抗体。在一些实施方案中,自身免疫性疾病包括寻常型天疱疮(PV)。示例性自身抗原包括桥粒芯糖蛋白1(Dsg1)和Dsg3。

[0538] 4.多靶向

[0539] 在一些实施方案中,细胞和方法包括多靶向策略,例如在细胞上表达两种或更多种基因工程化受体,每种受体识别相同或不同的抗原,并且通常各自包括不同的细胞内信号传导组分。此类多靶向策略描述于例如以下文献中:国际专利申请公开号WO 2014055668 A1(描述激活和共刺激CAR的组合,例如,靶向单独存在于靶(例如正常细胞)上,但仅一起存在于待治疗疾病或病症的细胞上的两种不同抗原)和Fedorov等人,Sci.Transl.Medicine,5(215)(2013)(描述表达激活和抑制性CAR的细胞,例如其中激活CAR结合至同时在正常或非患病细胞和待治疗疾病或病症的细胞上表达的一种抗原,并且抑制性CAR结合至仅在正常细胞或不希望治疗的细胞上表达的另一种抗原的那些细胞)。

[0540] 例如,在一些实施方案中,所述细胞包括表达第一基因工程化抗原受体(例如,CAR或TCR)的受体,其通常在特异性结合至由第一受体识别的抗原(例如第一抗原)后,能够诱

导激活或刺激信号至所述细胞。在一些实施方案中,细胞还包括第二基因工程化抗原受体(例如,CAR或TCR),例如嵌合共刺激受体,所述受体通常在特异性结合至由第二受体识别的第二抗原后,能够将共刺激信号诱导至免疫细胞。在一些实施方案中,第一抗原与第二抗原是相同的。在一些实施方案中,第一抗原与第二抗原是不同的。

[0541] 在一些实施方案中,第一和/或第二基因工程化抗原受体(例如CAR或TCR)能够诱导激活信号至所述细胞。在一些实施方案中,受体包括含有ITAM或ITAM样基序的细胞内信号传导组分。在一些实施方案中,由第一受体诱导的激活涉及信号转导或细胞中蛋白质表达的变化,导致启动免疫应答(例如ITAM磷酸化)和/或启动ITAM介导的信号转导级联、形成免疫突触和/或所结合受体(例如CD4或CD8等)附近的分子的聚簇、激活一种或多种转录因子(例如NF- κ B和/或AP-1)、和/或诱导因子(例如细胞因子)的基因表达、增殖和/或存活。

[0542] 在一些实施方案中,第一和/或第二受体包括共刺激受体的细胞内信号传导结构域或区域,所述共刺激受体例如CD28、CD137(4-1BB)、OX40和/或ICOS。在一些实施方案中,第一和第二受体包括不同的共刺激受体的细胞内信号传导结构域。在一个实施方案中,第一受体含有CD28共刺激信号传导区域,并且第二受体含有4-1BB共刺激信号传导区域,或反之亦然。

[0543] 在一些实施方案中,第一和/或第二受体包括含有ITAM或ITAM样基序的细胞内信号传导结构域和共刺激受体的细胞内信号传导结构域。

[0544] 在一些实施方案中,第一受体含有包含ITAM或ITAM样基序的细胞内信号传导结构域,并且第二受体含有共刺激受体的细胞内信号传导结构域。与在相同细胞中诱导的激活信号组合的共刺激信号是导致免疫应答的共刺激信号,所述免疫应答例如为稳健且持续的免疫应答,例如增加的基因表达,细胞因子和其他因子的分泌,以及T细胞介导的效应子功能(如细胞杀伤)。

[0545] 在一些实施方案中,单独的第一受体的连接和单独的第二受体的连接都不会诱导稳健的免疫应答。在一些方面,如果仅连接一个受体,则细胞变得耐受抗原或对抗原无应答,或被抑制,和/或不被诱导增殖或分泌因子或实现效应子功能。然而,在一些此类实施方案中,在连接多个受体时,如在遇到表达第一和第二抗原的细胞时,实现所需应答,如完全免疫激活或刺激,例如通过一种或多种细胞因子的分泌、增殖、持久性和/或执行免疫效应子功能(如靶细胞的细胞毒性杀伤)所指示的。

[0546] 在一些实施方案中,两种受体分别将激活和抑制信号诱导至细胞,使得一种受体与其抗原的结合激活细胞或诱导应答,但是第二抑制性受体与其抗原的结合诱导了抑制或减弱所述应答的信号。例子是激活CAR与抑制性CAR或iCAR的组合。例如,可以使用这种策略,其中激活CAR结合在疾病或病症中表达但也在正常细胞上表达的抗原,并且抑制性受体结合至在正常细胞上表达但不在疾病或病症的细胞上表达的单独特异性抗原。

[0547] 在一些实施方案中,多靶向策略用于以下情况:其中与特定疾病或病症相关的抗原在未患病细胞上表达和/或在工程化细胞本身上表达,所述表达为瞬时表达(例如,在与基因工程化相关的刺激后)或永久表达。在此类情况下,通过需要连接两个分开的和单独特异性抗原受体,可以改善特异性、选择性和/或功效。

[0548] 在一些实施方案中,多种抗原(例如第一和第二抗原)在所靶向的细胞、组织或疾病或病症上(例如在癌细胞上)表达。在一些方面,细胞、组织、疾病或病症是多发性骨髓瘤

或多发性骨髓瘤细胞。在一些实施方案中,多种抗原中的一种或多种通常也在不需要用细胞疗法靶向的细胞(例如正常或未患病细胞或组织,和/或工程化细胞本身)上表达。在此类实施方案中,通过需要连接多个受体以实现细胞的应答,实现特异性和/或功效。

[0549] B用于基因工程的载体和方法

[0550] 用于引入基因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受体的核酸的那些,包括通过病毒(如逆转录病毒或慢病毒)、转导、转座子和电穿孔来进行。

[0551] 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,并且在培养物中扩增至足以用于临床应用的数目。

[0552] 在一些实施方案中,使用重组感染性病毒粒子(如例如源自猿猴病毒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)将重组核酸转移到T细胞中(参见,例如,Koste等人Gene Therapy doi:10.1038/gt.2014.25(2014);Carlens等人Exp Hematol.,28(10):1137-46(2000);Alonso-Camino等人Mol Ther Nucl Acids,2,e93(2013);Park等人,Trends Biotechnol.,11月29日(11):550-557(2011))。

[0553] 在一些实施方案中,所述逆转录病毒载体具有长末端重复序列(LTR),例如源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源自鼠逆转录病毒。在一些实施方案中,所述逆转录病毒包括源自于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种物种的宿主细胞。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。已经描述了多种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,BioTechniques,7:980-990(1989);Miller,A.D.Human Gene Therapy,1:5-14(1990);Scarpa等人Virology,180:849-852(1991);Burns等人Proc.Natl.Acad.Sci.USA,90:8033-8037(1993);以及Boris-Lawrie和Temin,Cur.Opin.Genet.Develop.,3:102-109(1993))。

[0554] 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,J.Immunother.,35(9):689-701(2012);Cooper等人Blood.101:1637-1644(2003);Verhoeyen等人,Methods Mol Biol.,506:97-114(2009);和Cavalieri等人,Blood.,102(2):497-505(2003)。

[0555] 在一些实施方案中,通过电穿孔将重组核酸转移到T细胞中(参见,例如,Chicaybam等人,PLoS ONE 8(3):e60298(2013)和Van Tedeloo等人Gene Therapy 7(16):1431-1437(2000))。在一些实施方案中,通过转座将重组核酸转移到T细胞中(参见,例如,Manuri等人Hum Gene Ther 21(4):427-437(2010);Sharma等人Molec Ther Nucl Acids 2,e74(2013);和Huang等人Methods Mol Biol 506:115-126(2009))。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,如在Current Protocols in Molecular Biology,John Wiley&Sons,New York.N.Y.中所述)、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));以及磷酸锶DNA共

沉淀(Brash等人,Mol.Cell Biol.,7:2031-2034(1987))。

[0556] 用于转移编码重组产物的核酸的其他途径和载体是描述于例如以下文献中的那些:国际专利申请公开号W0 2014055668和美国专利号7,446,190。

[0557] 在一些实施方案中,细胞例如T细胞可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)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。然后可以使基因修饰的细胞群摆脱初始刺激物(例如CD3/CD28刺激物),并随后用第二种类型的刺激物例如经由从头引入的受体进行刺激。所述第二种类型的刺激物可包括肽/MHC分子形式的抗原刺激物、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(例如通过识别受体内的恒定区)的任何配体(如抗体)。参见,例如,Cheadle等人,Methods Mol Biol.907:645-66(2012);或Barrett等人,Chimeric Antigen Receptor Therapy for Cancer Annual Review of Medicine,第65卷:333-347(2014)。

[0558] 在一些情况下,可以使用不需要激活细胞(例如T细胞)的载体。在一些这样的情况下,可以在激活之前选择和/或转导细胞。因此,可以在培养细胞之前或之后将细胞工程化,并且在一些情况下在培养的同时或至少一部分期间将细胞工程化。

[0559] 在一些方面,进一步工程化所述细胞以促进细胞因子或其他因子的表达。另外的用于引入的核酸(例如基因)包括如通过促进所转移细胞的活力和/或功能改善疗法功效的那些;提供用于选择和/或评价细胞的遗传标记如以在体内评估存活或定位的基因;例如通过使细胞对体内阴性选择易感来提高安全性的基因,如以下文献中所述:Lupton S.D.等人,Mol.and Cell Biol.,11:6(1991);和Riddell等人,Human Gene Therapy 3:319-338(1992);还参见Lupton等人的PCT/US 91/08442和PCT/US 94/05601的公开案,所述公开案描述了使用源自融合显性的阳性选择标记与阴性选择标记的双功能可选融合基因。参见例如,Riddell等人,美国专利号6,040,177,第14-17栏。

[0560] 在一些实施方案中,单一启动子可以指导RNA的表达,所述RNA在单个开放阅读框(ORF)中含有两个或三个基因(例如,编码参与调节代谢途径的分子和编码重组受体),所述基因由编码自切割肽(例如2A序列)或蛋白酶识别位点(例如弗林蛋白酶(furin))的序列彼此分开。因此,所述ORF编码单个多肽,其在翻译期间(在2A的情况下)或翻译后被加工成单个蛋白质。在一些情况下,肽(如T2A)可引起核糖体跳过2A元件C末端处肽键的合成(核糖体跳跃),导致2A序列末端与相邻下游肽之间分开(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。可以用于本文公开的方法和核酸中的2A序列的例子包括但不限于来自口蹄疫病毒的2A序列(F2A,例如SEQ ID NO:21)、来自马鼻A病毒的2A序列(E2A,例如SEQ ID NO:20)、来自明脉扁刺蛾 β 四体病毒(Thosea asigna virus)的2A序列(T2A,例如SEQ ID NO:6或17)和来自猪捷申病毒(porcine teschovirus)-1的2A序列(P2A,例如SEQ ID NO:18或19),如美国专利公开号20070116690中所述。

[0561] C.用于基因工程的细胞和细胞的制备

[0562] 表达受体的细胞和通过所提供的方法给予的细胞是工程化细胞。基因工程通常包括将编码重组或工程化组分的核酸例如通过逆转录病毒转导、转染或转化而引入含有细胞的组合物中。

[0563] 在一些实施方案中,核酸是异源的,即通常不存在于细胞或从细胞获得的样品中,如从另一种生物或细胞获得的核酸,例如,所述核酸通常不在被工程化的细胞和/或这种细胞所来源的生物中发现。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各种结构域的核酸的嵌合组合的核酸。

[0564] 细胞通常是真核细胞,例如哺乳动物细胞,并且通常是人细胞。在一些实施方案中,所述细胞源自血液、骨髓、淋巴或淋巴器官,是免疫系统的细胞,如先天免疫或适应性免疫的细胞,例如骨髓或淋巴细胞,包括淋巴细胞,通常为T细胞和/或NK细胞。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)。细胞通常是原代细胞如直接从受试者分离和/或从受试者分离并冷冻的那些原代细胞。在一些实施方案中,细胞包括T细胞或其他细胞类型的一个或多个亚组,如整个T细胞群、CD4+细胞、CD8+细胞及其亚群,如由以下各项所定义的那些亚群:功能、激活状态、成熟度、分化的可能性、扩增、再循环、定位和/或持久能力、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特征和/或分化程度。关于待治疗的受试者,细胞可以是同种异体的和/或自体的。所述方法包括现成的方法。在一些方面,如对于现有技术,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。

[0565] 在T细胞和/或CD4+和/或CD8+T细胞的亚型和亚群中,有幼稚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})或终末分化效应记忆T细胞)、肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)、未成熟T细胞、成熟T细胞、辅助T细胞、细胞毒性T细胞、粘膜相关不变T(MAIT)细胞、天然存在和适应性调节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、滤泡辅助细胞T细胞)、 α/β T细胞和 δ/γ T细胞。

[0566] 在一些实施方案中,所述细胞是天然杀伤(NK)细胞。在一些实施方案中,所述细胞是单核细胞或粒细胞,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。

[0567] 在一些实施方案中,所述细胞包括经由基因工程引入的一种或多种核酸,从而表达此类核酸的重组或基因工程化产物。在一些实施方案中,核酸是异源的,即通常不存在于细胞或从细胞获得的样品中,如从另一种生物或细胞获得的核酸,例如,所述核酸通常不在被工程化的细胞和/或这种细胞所来源的生物中发现。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各种结构域的核酸的嵌合组合的核酸。

[0568] 在一些实施方案中,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来源于受试者的生物样品)分离。在一些实施方案中,分离出细胞的受试者是患有疾病或病症或需要细胞疗法或将其给予细胞疗法的受试者。在一些实施方案中,所述受试者是需要特定治疗性干预(如过继细胞疗法,其中细胞被分离、加工和/或工程化)的人。

[0569] 因此,在一些实施方案中,细胞是原代细胞,例如原代人细胞。样品包括直接取自受试者的组织、流体和其他样品,以及来自一个或多个加工步骤(如分离、离心、基因工程化

(例如用病毒载体转导)、洗涤和/或孵育)的样品。所述生物样品可以是直接从生物来源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。

[0570] 在一些方面,细胞从其中衍生或分离的样品是血液或血液衍生的样品,或者是或源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)的背景下,样品包括来自自体 and 同种异体来源的样品。

[0571] 在一些实施方案中,细胞源自于细胞系,例如,T细胞系。在一些实施方案中,细胞获得自异种来源,例如获得自小鼠、大鼠、非人灵长类动物和猪。

[0572] 在一些实施方案中,细胞的分离包括一个或多个制备和/或基于非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、尺寸、对特定组分的敏感性和/或抗性)分离细胞。

[0573] 在一些例子中,来自受试者的循环血液的细胞例如通过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。

[0574] 在一些实施方案中,洗涤从受试者收集的血细胞,例如以去除血浆级分并将细胞置于适当的缓冲液或介质中以用于随后的加工步骤。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,所述洗涤溶液缺乏钙和/或镁和/或许多或所有二价阳离子。在一些方面,根据制造商的说明书,通过半自动“流通”离心机(例如,Cobe 2991细胞加工器,Baxter)完成洗涤步骤。在一些方面,根据制造商的说明书,通过切向流过滤(TFF)完成洗涤步骤。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。

[0575] 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。

[0576] 在一些实施方案中,分离方法包括基于细胞中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)的表达或存在来分离不同细胞类型。在一些实施方案中,可以使用任何已知的基于此类标记的用于分离的方法。在一些实施方案中,所述分离是基于亲和力或免疫亲和力的分离。例如,在一些方面,所述分离包括基于所述细胞的一种或多种标记(通常为细胞表面标记)的表达或表达水平来分离细胞和细胞群,例如通过和与此类标记特异性结合的抗体或结合配偶体一起孵育,然后通常是洗涤步骤和从那些未与所述抗体或结合配偶体结合的细胞中分离已结合所述抗体或结合配偶体的细胞。

[0577] 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(其中保留未与所述抗体或结合配偶体结合的细胞)。在一些例子中,保留两种级分以供进一步使用。在一些方面,在没有可用于特异性鉴定异质群体中的细胞

类型的抗体的情况下,阴性选择可能特别有用,使得最好基于由除所需群体之外的细胞表达的标记进行分离。

[0578] 所述分离不需要导致100%富集或去除特定细胞群或表达特定标记的细胞。例如,针对特定类型的细胞(如表达标记的那些)的阳性选择或富集是指增加此类细胞的数量或百分比,但不需要导致不表达所述标记的细胞的完全不存在。同样地,特定类型的细胞(如表达标记的那些)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。

[0579] 在一些例子中,进行多轮分离步骤,其中来自一个步骤的阳性或阴性选择的级分经受另一个分离步骤,如随后的阳性或阴性选择。在一些例子中,单个分离步骤可以同时耗尽表达多种标记的细胞,如通过将细胞与多种抗体或结合配偶体(每种抗体或结合配偶体对被靶向用于阴性选择的标记具特异性)一起孵育。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,可以同时阳性选择多种细胞类型。

[0580] 例如,在一些方面,T细胞的特定亚群,如对一种或多种表面标记呈阳性或高水平表达的细胞(例如CD28⁺、CD62L⁺、CCR7⁺、CD27⁺、CD127⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD45RA⁺和/或CD45RO⁺T细胞)通过阳性或阴性选择技术来分离。

[0581] 例如,可以使用抗CD3/抗CD28缀合的磁珠(例如,DYNABEADS® M-450 CD3/CD28 T Cell Expander)阳性选择CD3⁺、CD28⁺T细胞。

[0582] 在一些实施方案中,通过阳性选择针对特定细胞群富集或者通过阴性选择针对特定细胞群耗尽来进行分离。在一些实施方案中,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阳性或阴性选择,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或以相对较高水平(标记^高) (标记⁺)的一种或多种表面标记特异性结合。

[0583] 在一些实施方案中,通过阴性选择非T细胞(如B细胞、单核细胞或其他白细胞,如CD14)上表达的标记,将T细胞与PBMC样品分离。在一些方面,CD4⁺或CD8⁺选择步骤用于分离CD4⁺辅助细胞和CD8⁺细胞毒性T细胞。此类CD4⁺和CD8⁺群体可以通过针对在一种或多种幼稚T细胞、记忆T细胞和/或效应T细胞子群体上表达或表达至相对较高程度的标记进行阳性或阴性选择来进一步分选为子群体。

[0584] 在一些实施方案中,如通过基于与相应子群体相关的表面抗原进行阳性或阴性选择,将CD8⁺细胞针对幼稚、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。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Blood.1:72-82(2012);Wang等人J Immunother.35(9):689-701(2012)。在一些实施方案中,组合富含TCM的CD8⁺T细胞与CD4⁺T细胞进一步增强功效。

[0585] 在实施方案中,记忆T细胞存在于CD8⁺外周血淋巴细胞的CD62L⁺和CD62L⁻两个子集中。可以例如使用抗CD8和抗CD62L抗体将PBMC针对CD62L⁻CD8⁺和/或CD62L⁺CD8⁺级分进行富集或耗尽。

[0586] 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,它是基于对表达或高度表达CD45RA和/或颗粒酶B的细胞的阴性选择。在一些方面,通过表达CD4、CD14、CD45RA的细胞的耗尽和表

达CD62L的细胞的阳性选择或富集来进行富含TCM细胞的CD8+群体的分离。在一个方面,中枢记忆T (TCM) 细胞的富集从基于CD4表达所选择的阴性细胞级分开始进行,所述阴性细胞级分基于CD14和CD45RA的表达进行阴性选择且基于CD62L进行阳性选择。在一些方面这种选择是同时进行的,而在其他方面以任何顺序依次进行。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。

[0587] 在特定例子中,PBMC样品或其他白细胞样品进行CD4+细胞的选择,其中保留了阴性和阳性级分。然后所述阴性级分基于CD14和CD45RA或CD19的表达进行阴性选择,并基于中枢记忆T细胞(如CD62L或CCR7)的标记特征进行阳性选择,其中以任何顺序进行所述阳性和阴性选择。

[0588] 通过鉴定具有细胞表面抗原的细胞群,将CD4+T辅助细胞分类为幼稚、中枢记忆和效应细胞。CD4+淋巴细胞可通过标准方法获得。在一些实施方案中,幼稚CD4+T淋巴细胞是CD45RO⁻、CD45RA⁺、CD62L⁺、CD4+T细胞。在一些实施方案中,中枢记忆CD4+细胞是CD62L⁺和CD45RO⁺。在一些实施方案中,效应CD4+细胞是CD62L⁻和CD45RO⁻。

[0589] 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与固体支持物或基质(如磁珠或顺磁珠)结合,以允许细胞分离以用于阳性和/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)。

[0590] 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。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)的一个细胞、多个细胞或细胞群上存在的分子(例如,表面标记)特异性结合。

[0591] 在一些实施方案中,所述磁性颗粒或珠包含与特异性结合成员(如抗体或其他结合配偶体)结合的磁响应材料。有许多在磁分离方法中使用的熟知的磁响应材料。合适的磁性颗粒包括在Molday,美国专利号4,452,773和在欧洲专利说明书EP 452342 B(将其通过引用特此并入)中描述的那些。胶体大小的颗粒,如在Owen美国专利号4,795,698以及Liberti等人,美国专利号5,200,084中描述的那些是其他例子。

[0592] 所述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性颗粒或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。

[0593] 在一些方面,将所述样品置于磁场中,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,保留被磁铁吸引的细胞;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,在同一选择步骤期间进行阳性和阴性选择的组合,其中保留阳性和阴性级分并进一步加工或经受另外的分

离步骤。

[0594] 在某些实施方案中,所述磁响应颗粒被包被在一抗或其他结合伴侣、二抗、凝集素、酶或链霉亲和素中。在某些实施方案中,所述磁性颗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,用一抗或结合配偶体标记所述细胞而不是珠,并且然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,将链霉亲和素包被的磁性颗粒与生物素化的一抗或二抗结合使用。

[0595] 在一些实施方案中,所述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,从所述细胞中去除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,可磁化颗粒是可生物降解的。

[0596] 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以这样的模式操作,其中在施加外部磁场之后依次洗脱非靶标和靶标种类。也就是说,附着于磁化颗粒的细胞保持在适当的位置,而未附着的种类被洗脱。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,所述非靶细胞被标记并从异质细胞群中耗尽。

[0597] 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/或制备步骤中的一种或多种。在一些方面,所述系统用于在封闭或无菌环境中进行这些步骤中的每一个,例如以最小化错误、用户操作和/或污染。在一个例子中,所述系统是如国际专利申请公开号W0 2009/072003或US 20110003380 A1中所述的系统。

[0598] 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,其允许用户对加工、分离、工程化和配制步骤的各个方面进行编程、控制、评估其结果和/或调整。

[0599] 在一些方面,使用CliniMACS系统(Miltenyi Biotec)进行所述分离和/或其他步骤,例如以用于在封闭和无菌系统中在临床规模水平上自动分离细胞。部件可以包括集成微计算机、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,并与夹管阀一起确保缓冲液通过所述系统的受控流动和细胞的连续悬浮。

[0600] 在一些方面,所述CliniMACS系统使用抗体偶联的可磁化颗粒,其在无菌,无热原的溶液中提供。在一些实施方案中,在用磁性颗粒标记细胞后,洗涤所述细胞以去除过量的颗粒。然后将细胞制备袋连接到管组,所述管组又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,所述系统自动将细胞样品施加到分离柱。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,用于与本文描述的方法一起使用的细胞群在去除磁场后从柱中洗脱,并且收集在细胞收集袋内。

[0601] 在某些实施方案中,使用CliniMACS Prodigy系统(Miltenyi Biotec)进行分离和/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养殖室,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J Immunother. 35 (9) :651-660 (2012), Terakura等人Blood. 1:72-82 (2012), 和Wang等人J Immunother. 35 (9) :689-701 (2012)。

[0602] 在一些实施方案中,通过流式细胞术收集和富集(或耗尽)本文描述的细胞群,其中针对多种细胞表面标记染色的细胞在流体流中载携。在一些实施方案中,通过制备规模(FACS)分类收集和富集(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Lab Chip 10, 1567-1573 (2010); 和Godin等人J Biophoton. 1 (5) :355-376 (2008))。在两种情况下,细胞可以用多种标记来标记,允许以高纯度分离明确定义的T细胞子集。

[0603] 在一些实施方案中,用一种或多种可检测标记来标记抗体或结合配偶体,以促进分离供阳性和/或阴性选择。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特异性的抗体或其他结合配偶体的结合来分离细胞在流体流中载携,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。

[0604] 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)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,例如在洗涤步骤之后将所述细胞悬浮在冷冻溶液中以去除血浆和血小板。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%。然后通常将细胞以1°/分钟的速率冷冻至-80°C并储存在液氮储罐的气相中。

[0605] 在一些实施方案中,在基因工程化之前或与其相连地孵育和/或培养细胞。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。这些条件包括针对以下而设计的那些条件:用于诱导群体中细胞的增殖、扩增、激活和/或

存活的条件,用于模拟抗原暴露和/或用于引发细胞进行基因工程化,如以引入重组抗原受体。

[0606] 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))。

[0607] 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细胞中开启或启动TCR/CD3细胞内信号传导级联。此类药剂可包括抗体如对于TCR具有特异性的抗体,例如抗CD3。在一些实施方案中,刺激条件包括一种或多种药剂例如配体,其能够刺激共刺激受体,例如抗CD28。在一些实施方案中,这种药剂和/或配体可结合至固体支持物如珠和/或一种或多种细胞因子。任选地,扩增方法可进一步包括向培养基中加入抗CD3和/或抗CD28抗体(例如,以至少约0.5ng/ml的浓度)的步骤。在一些实施方案中,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。

[0608] 在一些方面,根据多种技术进行孵育,例如以下文献中所述的那些:授予Riddell等人的美国专利号6,040,177、Klebanoff等人J Immunother.35(9):651-660(2012), Terakura等人Blood.1:72-82(2012),和/或Wang等人J Immunother.35(9):689-701(2012)。

[0609] 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T细胞群之前将饲养细胞加入到培养基中。

[0610] 在一些实施方案中,所述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,并且通常在或约在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6000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。

[0611] 在实施方案中,通过用抗原刺激幼稚或抗原特异性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。

[0612] VI. 组合物和配制品

[0613] 在一些实施方案中,所述细胞疗法是作为组合物或配制品来提供,例如药物组合物或配制品。这种组合物可以根据所提供的方法如在预防或治疗疾病、病症和障碍或检测、诊断和预后方法中使用。

[0614] 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。

[0615] “药学上可接受的载体”是指药物配制品中除了活性成分以外的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。

[0616] 在一些实施方案中,用药学上可接受的载体配制T细胞疗法(如工程化T细胞(例如CAR T细胞))。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Remington's Pharmaceutical Sciences第16版,Osol,A.编辑(1980)。药学上可接受的载体在所用的剂量和浓度下通常对接受者无毒,并且包括但不限于:缓冲剂,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、海藻糖或山梨糖醇;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)。

[0617] 在一些方面,缓冲剂被包括在所述组合物中。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Remington:The Science and Practice of Pharmacy,Lippincott Williams&Wilkins;21st ed.(2005年5月1日)中。

[0618] 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预防或治疗的特定适应症、疾病或病症的多于一种活性成分,包括其中活性与细胞互补和/或各自的活性不会互相造成不良影响的一种或多种活性成分。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,药物组合物还包括其他药物活性药剂或药物,例如化学治疗剂,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、长春新碱等。

[0619] 在一些实施方案中,药物组合物包含有效治疗或预防疾病或病症的量(例如治疗有效量或预防有效量)的细胞。在一些实施方案中,通过定期评估所治疗的受试者来监测治疗或预防功效。对于数天或更长时间的重复给予,取决于病症,重复所述治疗直至出现所需疾病症状的抑制。然而,其他剂量方案可能是有用的并且可以被确定。所需剂量可以通过单次推注给予所述组合物、通过多次推注给予所述组合物或通过连续输注给予所述组合物来递送。

[0620] 可以使用标准给予技术、配制品和/或装置来给予所述细胞。提供了用于储存和给予所述组合物的配制品和装置(如注射器和小瓶)。关于细胞,给药可以是自体的或异源的。例如,免疫应答细胞或祖细胞可以获得自一名受试者,并且给予至同一受试者或不同的相容受试者。外周血衍生的免疫应答细胞或其后代(例如,体内、离体或体外衍生的)可以经由局部注射给予,包括导管给药、全身注射、局部注射、静脉内注射或肠胃外给药。在给予治疗性组合物(例如,含有遗传修饰的免疫应答细胞的药物组合物)时,通常将其配制成单位剂

量可注射形式(溶液、悬浮液、乳液)。

[0621] 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,肠胃外给予药剂或细胞群。如本文所用术语“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,使用通过静脉内、腹膜内或皮下注射的外周全身递送向受试者给予药剂或细胞群。

[0622] 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,其在一些方面可以缓冲至选择的pH。液体制剂一般比凝胶、其他粘性组合物和固体组合物制备起来更容易。另外地,液体组合物稍微更方便给予,特别是通过注射。在另一方面,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,其可以是溶剂或分散介质,其含有例如水、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。

[0623] 无菌可注射溶液可以通过将细胞掺入溶剂中来制备,例如与合适的载体、稀释剂或赋形剂(如无菌水、生理盐水、葡萄糖、右旋糖等)混合。所述组合物也可以是冻干的。所述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、颜料等,这取决于给予途径和所需的制剂。在一些方面,可以参考标准文本来制备合适的制剂。

[0624] 可以添加各种增强所述组合物的稳定性和无菌性的添加剂,包括抗微生物防腐剂、抗氧化剂、螯合剂和缓冲剂。防止微生物的作用可以通过不同的抗细菌和抗真菌剂(例如,对羟基苯甲酸酯、三氯叔丁醇、苯酚、抗坏血酸等)来确保。通过使用延迟吸收的药剂(例如单硬脂酸铝和明胶)可以实现可注射药物形式的延长吸收。

[0625] 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。

[0626] 对于疾病的预防或治疗,适当的剂量可取决于待治疗的疾病类型、一种或多种药剂的类型、细胞或重组受体的类型、疾病的严重程度和病程、给予药剂或细胞用于预防性目的的还是治疗性目的、先前疗法、受试者的临床病史和对药剂或细胞的反应、以及主治医师的决断。在一些实施方案中,所述组合物适合一次或在一系列治疗中给予受试者。

[0627] VII. 试剂盒和制品

[0628] 还提供了制品或试剂盒,其含有:所提供的基因工程化细胞,和一种或多种用于调节工程化细胞的扩增、增殖和/或活性的药剂,和/或另外的治疗剂和/或包含所述另外的治疗剂的组合物,任选地用于评估和/或测量一个或多个参数(例如药代动力学参数和/或患者属性和/或生物标记的表达)的试剂,以及任选地使用说明书(例如,根据所提供的方法进行给予和/或评估的说明书)。制品可以包含容器以及在容器上或与容器关联的标签或包装说明书。合适的容器包括例如瓶子、小瓶、注射器、试管、IV溶液袋等。所述容器可以由多种材料形成,例如玻璃或塑料。在一些实施方案中,容器具有无菌入口。示例性容器包括静脉内溶液袋、小瓶,包括具有可被注射用针刺穿的塞子的那些。

[0629] 本文所提供的制品含有包装材料。用于包装所提供材料的包装材料是本领域技术人员所熟知的。参见,例如,美国专利号5,323,907、5,052,558和5,033,252,其各自以其整体并入本文。包装材料的例子包括但不限于泡罩包装、瓶子、管子、吸入器、泵、袋子、小瓶、容器、注射器、一次性实验室用品(例如移液管尖端和/或塑料板)或瓶子。所述制品或试剂

盒可以包括装置,以便于分配材料或便于以高通量或大规模方式使用,例如以便于在机器人设备中使用。通常,包装不与其中所含的组合物反应。

[0630] 所述制品或试剂盒可还包括包装说明书,其指示所述组合物可以用于治疗特定病症,例如本文所述的病症(例如,多发性骨髓瘤)。可替代地或另外,所述制品或试剂盒可还包括另一个或相同的包含药学上可接受的缓冲液的容器。它可进一步包括其他材料,如其他缓冲液、稀释剂、过滤器、针和/或注射器。

[0631] 在一些实施方案中,所述制品或试剂盒包括一个或多个容器,通常是多个容器、包装材料以及一个或多个容器和/或包装上的或与所述容器或包装关联的标签或包装说明书,通常包括使用说明书,例如,用于核酸组装和/或将组装的核酸分子或核酸分子集引入细胞中(例如转染或转导所提供的方法中使用的细胞,例如T细胞、T细胞系和/或T细胞组合物)的说明书。

[0632] 在一些实施方案中,容器容纳组合物,所述组合物本身或与另一组合物组合含有一种或多种能够调节工程化细胞的扩增、增殖和/或活性的药剂,例如本文所述的任何一种。所述制品或试剂盒可包括一个或多个其中含有组合物的容器,其中所述组合物包括一种或多种能够调节工程化细胞的扩增、增殖和/或活性的药剂,例如本文所述的任何一种;其中所述组合物任选地包括另一治疗剂,并且所述制品或试剂盒还包含标签或包装说明书上的用于以有效量治疗受试者的说明书。

[0633] 在一些实施方案中,制品和/或试剂盒进一步包含用于淋巴细胞清除疗法的药剂,并且任选地进一步包含用于给予淋巴细胞清除疗法的说明书。在一些实施方案中,说明书可以作为伴随用于给予的组合物的标签或包装说明书而包含在内。

[0634] 在一些实施方案中,所述制品和/或试剂盒还包括一种或多种用于测定生物样品(例如来自受试者的生物样品,所述受试者是给药的候选者或已经给予所述疗法)的试剂,以及任选地使用所述试剂或测定(例如,评估一种或多种参数,例如药代动力学参数和/或患者属性和/或生物标记的表达)的说明书,以及任选地使用说明书(例如,给予和/或评估的说明书)。在一些实施方案中,生物样品是或获得自血液、血浆或血清样品。

[0635] 在一些实施方案中,可以在给予细胞疗法之前或在给予细胞疗法之后使用所述试剂。例如,在一些实施方案中,所述制品和/或试剂盒还含有用于测量与某些药代动力学参数、反应结果和/或毒性相关的特定患者属性和/或炎症标记的水平的试剂,以及测量说明书。在一些实施方案中,所述试剂包括用于进行体外测定以测量参数的组分,所述体外测定例如免疫测定、基于适体的测定、组织学或细胞学测定或mRNA表达水平测定。在一些实施方案中,体外测定选自酶联免疫吸附测定(ELISA)、免疫印迹、免疫沉淀、放射免疫测定(RIA)、免疫染色、流式细胞术测定、表面等离子体共振(SPR)、化学发光测定、侧向流免疫测定、抑制测定和亲和力测定。在一些方面,所述试剂是特异性地结合生物标记(例如分析物)的结合试剂。在一些情况下,结合试剂是抗体或其抗原结合片段、适体或核酸探针。在一些实施方案中,所述制品含有本文所述的用于评估参数的任何试剂。

[0636] 在一些实施方案中,所述制品和/或试剂盒包含能够检测一种或多种参数(例如药代动力学参数和/或患者属性和/或生物标记的表达)的一种或多种试剂,例如,给予和/或评估的说明书,以及使用所述试剂测定来自作为治疗候选者的受试者的生物样品的说明书,其中所述一个或多个参数选自CAR+细胞(例如CD3+、CD4+和/或CD8+CAR+细胞)的最大

(峰值) 血浆浓度 (C_{\max})、峰值时间 (即出现最大血浆浓度 (C_{\max}) 的时间; T_{\max})、最小血浆浓度 (即治疗剂 (例如 CAR+T 细胞) 的剂量之间的最小血浆浓度; C_{\min})、消除半衰期 ($T_{1/2}$) 和曲线下面积 (即通过标绘时间与治疗剂 CAR+T 细胞的血浆浓度产生的曲线下面积; AUC)、肿瘤的体积测量值 (例如, 直径乘积之和 (SPD)、最长肿瘤直径 (LD)、最长肿瘤直径之和 (SLD)、坏死、肿瘤体积、坏死体积、坏死-肿瘤比率 (NTR)、瘤周水肿 (PTE) 和水肿-肿瘤比率 (ETR))、红细胞沉降率 (ESR)、白蛋白、 β 2 微球蛋白 (β 2-M)、C-C 基序趋化因子配体 13 (CCL13)、C 反应蛋白 (CRP)、C-X-C 基序趋化因子 10 (CXCL10)、IL-2、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-10、IL-15、IL-16、干扰素 γ (IFN- γ)、淋巴毒素- α (LT- α)、单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1)、巨噬细胞炎性蛋白 1 α (MIP-1 α)、MIP-1 β 、血清淀粉样蛋白 A1 (SAA-1)、转化生长因子 β (TGF- β) 和肿瘤坏死因子 α (TNF- α)。在一些实施方案中, 还包括用于测定与分析物和/或参数的阈值水平相比而言受试者中参数的存在或不存在、水平、数量或浓度的说明书。

[0637] VIII. 定义

[0638] 除非另外定义, 否则本文使用的所有领域术语、符号和其他技术和科学术语或命名旨在具有与所要求保护的主体所属领域的普通技术人员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被解释为表示与本领域通常理解的实质性差异。

[0639] 如本文所用, “受试者” 是哺乳动物, 如人或其他动物, 并且通常是人。在一些实施方案中, 向其给予免疫调节多肽、工程化细胞或组合物的受试者 (例如患者) 是哺乳动物, 通常是灵长类动物, 如人。在一些实施方案中, 所述灵长类动物是猴或猿。所述受试者可以是雄性或雌性, 并且可以处于任何合适的年龄, 包括婴儿、幼年、青春期、成年和老年受试者。在一些实施方案中, 所述受试者是非灵长类哺乳动物, 如啮齿动物。

[0640] 如本文所用, “治疗 (treatment)” (及其语法变体如 “治疗” (“treat” 或 “treating”)) 是指疾病或病症或障碍、或者与之相关的症状、不良效果或结果或表型的完全或部分改善或减轻。理想的治疗效果包括但不限于预防疾病的发生或复发、症状的缓解、疾病的任何直接或间接病理后果的减少、预防转移、降低疾病进展的速度、改善或缓解疾病状态以及缓解或改善预后。所述术语并不暗示完全治愈疾病或完全消除任何症状或对所有症状或结果的影响。

[0641] 如本文所用, “延迟疾病的发展” 意指推迟、阻碍、减慢、延缓、稳定、抑制和/或延期疾病 (如癌症) 的发展。此延迟可以具有不同的时间长度, 这取决于病史和/或所治疗的个体。对于本领域技术人员显而易见的是, 足够或显著的延迟实际上可以涵盖预防, 因为个体不会患上疾病。例如, 可能延迟晚期癌症, 如转移的发展。

[0642] 如本文所用, “预防” 包括提供关于受试者的疾病的发生或复发的预防, 所述受试者可能易患所述疾病但尚未被诊断患有所述疾病。在一些实施方案中, 所提供的细胞和组合物用于延迟疾病的发展或延缓疾病的进展。

[0643] 如本文所用, “抑制” 功能或活性是当与除了感兴趣的条件或参数以外的原本相同的条件相比时, 或者与另一种条件相比时, 减少功能或活性。例如, 与不存在所述细胞的情况下的肿瘤生长速率相比, 抑制肿瘤生长的细胞降低了肿瘤的生长速率。

[0644] 在给药的情况下, 药剂 (例如药物配制品、细胞或组合物) 的 “有效量” 是指在必要的剂量/量下和必要的时间段内有效实现所需结果 (例如治疗或预防结果) 的量。

[0645] 药剂(例如药物配制品或工程化细胞)的“治疗有效量”是指在必要的剂量下和必要的时间段内有效实现所需治疗结果(如针对治疗疾病、病症或障碍)和/或治疗的药代动力学或药效动力学作用的量。所述治疗有效量可以根据诸如疾病状态、受试者的年龄、性别和体重以及给予的免疫调节多肽或工程化细胞等因素而变化。在一些实施方案中,所提供的方法涉及给予有效量(例如治疗有效量)的免疫调节多肽、工程化细胞或组合物。

[0646] “预防有效量”是指在必要的剂量下和必要的时间段内有效实现所需预防结果的量。通常但不是必要地,因为在疾病之前或疾病的早期阶段在受试者中使用预防剂量,所以预防有效量将小于治疗有效量。

[0647] 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。

[0648] “药学上可接受的载体”是指药物配制品中除了活性成分以外的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。

[0649] 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(例如序列表中所述)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,本领域技术人员可以例如使用保守和相同的氨基酸残基作为指导来鉴定相应的残基。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, New York, 1988; Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D.W. 编辑, Academic Press, New York, 1993; Computer Analysis of Sequence Data, Part I, Griffin, A.M. 和 Griffin, H.G. 编辑, Humana Press, New Jersey, 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, New York, 1991; Carrillo 等人(1988) SIAM J Applied Math 48:1073)。

[0650] 如本文所用的术语“载体”是指能传播其所连接的另一核酸分子的核酸分子。所述术语包括作为自我复制核酸结构的载体以及掺入已引入其的宿主细胞基因组中的载体。某些载体能够指导它们可操作地连接的核酸的表达。此类载体在本文中称为“表达载体”。载体包括病毒载体,例如逆转录病毒(例如 γ 逆转录病毒和慢病毒)载体。

[0651] 术语“宿主细胞”、“宿主细胞系”和“宿主细胞培养物”可互换使用,并且是指已引入外源核酸的细胞,包括此类细胞的后代。宿主细胞包括“转化体”和“转化细胞”,其包括原代转化细胞和源自其的后代,不考虑传代次数。后代的核酸含量可能与亲代细胞不完全相同,但可能含有突变。本文包括如在初始转化细胞中所筛选或选择,具有相同功能或生物活性的突变体后代。

[0652] 如本文所用,细胞或细胞群对特定标记呈“阳性”的陈述是指特定标记(通常为表面标记)在细胞上或细胞中的可检测的存在。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/或所述水平基本上与已知对所述标记呈阳性的细胞的水平相似,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。

[0653] 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(通常为表面标记)在细胞上或细胞中不存在实质上可检测的存在。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。

[0654] 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。

[0655] 如本文所用的,单数形式“一种/个(a/an)”和“所述(the)”包括复数种/个指示物,除非上下文另外明确说明。例如,“一种/个(a或an)”意指“至少一种/个”或“一种/个或多个/个”。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“基本上由方面和变化组成”。

[0656] 贯穿本公开内容,所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,并且不应被解释为对所要求保护的主题的范围的僵硬限制。因此,应当认为范围的描述具体公开了所有可能的子范围以及所述范围内的各个数值。例如,在提供一系列值的情况下,应当理解,在所述范围的上限和下限之间的每个中间值以及在所述范围内的任何其他所述或中间值包含在所要求保护的主题内。这些更小范围的上限和下限可以独立地被包括在更小范围之内,并且也被涵盖在所要求保护的主题之内,服从于在所陈述范围内任何确切排除的限制。在所陈述的范围包括一个或两个限制时,排除了那些被包括的限制的任一个或两者的范围也被包括在所要求保护的主体之内。无论范围的广度如何,这都适用。

[0657] 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通常误差范围。本文对“约”某一值或参数的提及包括(并描述)针对所述值或参数本身的实施方案。例如,涉及“约X”的描述包括“X”的描述。

[0658] 如本文所用的,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。

[0659] 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。

[0660] 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。

[0661] IX. 示例性实施方案

[0662] 本文所提供的实施方案包括:

[0663] 1.一种治疗方法,所述方法包括:

[0664] (a) 向患有疾病或病症的受试者给予一定剂量的基因工程化细胞以便治疗所述疾病或病症,所述基因工程化细胞包含表达嵌合抗原受体 (CAR) 的T细胞;

[0665] (b) 在给予所述剂量的基因工程化细胞后,监测所述受试者的血液中的CAR+T细胞以评估所述细胞是否在治疗范围内,并且

[0666] (c) 如果所述基因工程化细胞不在所述治疗范围内,则向所述受试者给予能够在所述受试者中调节任选地增加或减少CAR+T细胞扩增或增殖的药剂,

[0667] 其中所述治疗范围是:

[0668] (i) 基于先前用所述基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3+CAR+T细胞或其CD8+CAR+T细胞子集的范围,所述范围与大于或大于约65%的估计反应概率和小于或约30%的估计毒性概率相关;或者

[0669] (ii) 在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的峰值CD3+CAR+T细胞;或者

[0670] (iii) 在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR+T细胞。

[0671] 2.一种治疗方法,所述方法包括:

[0672] (a) 在受试者的血液中监测包含表达嵌合抗原受体 (CAR) 的T细胞的基因工程化细胞的存在,以评估所述细胞是否在治疗范围内,其中先前已经向所述受试者给予一定剂量的所述基因工程化细胞以便治疗疾病或病症;并且

[0673] (c) 如果所述基因工程化细胞不在所述治疗范围内,则向所述受试者给予能够在所述受试者中调节任选地增加或减少CAR+T细胞扩增或增殖的药剂,

[0674] 其中所述治疗范围是:

[0675] (i) 基于先前用所述基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3+CAR+T细胞或其CD8+CAR+T细胞子集的范围,所述范围与大于或大于约65%的估计反应概率和小于或约30%的估计毒性概率相关;或者

[0676] (ii) 在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的峰值CD3+CAR+T细胞;或者

[0677] (iii) 在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR+T细胞。

[0678] 3.实施方案1或实施方案2的方法,其中如果所述受试者血液中CAR+T细胞的峰值数量小于所述治疗范围内峰值CAR+T细胞的最低数量,则向所述受试者给予能够增加CAR+T细胞扩增或增殖的药剂。

[0679] 4.实施方案3的方法,其中所述药剂能够进行CAR特异性扩增。

[0680] 5.实施方案4的方法,其中所述药剂是对所述CAR具有特异性的抗独特型抗体或其抗原结合片段、免疫检查点抑制剂、代谢途径调节剂、腺苷受体拮抗剂、激酶抑制剂、抗TGFβ抗体或抗TGFβR抗体或细胞因子。

[0681] 6.实施方案1或实施方案2的方法,其中如果所述受试者血液中CAR+T细胞的峰值数量大于所述治疗范围内峰值CAR+T细胞的最高数量,则向所述受试者给予能够减少CAR+T细胞扩增或增殖的药剂。

- [0682] 7. 实施方案6的方法, 其中所述药剂是类固醇。
- [0683] 8. 实施方案7的方法, 其中所述类固醇是皮质类固醇。
- [0684] 9. 实施方案7或实施方案8的方法, 其中所述类固醇是地塞米松或甲基泼尼松龙。
- [0685] 10. 实施方案7-9中任一项的方法, 其中将所述类固醇按以下量的地塞米松或其等效物给予: 在或在约1.0mg与约40mg之间、在或在约1.0mg与约20mg之间、在或在约2.0mg与约20mg之间、在或在约5.0mg与约25.0mg之间、在或在约10mg与约20mg之间, 每个都包含端值。
- [0686] 11. 实施方案1-10中任一项的方法, 其中在开始给予所述基因工程化细胞后至少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天或21天的时间, 监测所述受试者的血液中的CAR+T细胞。
- [0687] 12. 实施方案1-11中任一项的方法, 其中在开始给予所述基因工程化细胞后在或在约11天至22天、12天至18天或14天至16天之间的时间监测所述受试者的血液中的CAR+T细胞, 所述时间的每个都包含端值。
- [0688] 13. 实施方案1-11中任一项的方法, 其中将所述药剂在开始给予所述基因工程化细胞后大于或大于约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天或21天的时间给予。
- [0689] 14. 实施方案1-13中任一项的方法, 其中在开始给予所述基因工程化细胞后在或在约11天至22天、12天至18天或14天至16天之间的时间给予所述药剂, 所述时间的每个都包含端值。
- [0690] 15. 一种调节工程化细胞活性的方法, 所述方法包括:
- [0691] (a) 选择受试者, 其中在来自所述受试者的样品中, 肿瘤负荷的体积量度或炎性标记的水平、量或浓度等于或高于阈值水平, 其中所述样品不包含表达嵌合抗原受体 (CAR) 的基因工程化T细胞和/或是在接受表达CAR的基因工程化T细胞的给予之前从所述受试者获得; 并且
- [0692] (b) 向所选受试者给予能够减少表达CAR的基因工程化T细胞的扩增或增殖的药剂。
- [0693] 16. 一种调节工程化细胞活性的方法, 所述方法包括向受试者给予能够在受试者中减少表达嵌合抗原受体 (CAR) 的基因工程化T细胞的扩增或增殖的药剂, 其中所述受试者是其中在来自所述受试者的样品中肿瘤负荷的体积量度或炎性标记的水平、量或浓度等于或高于阈值水平的受试者。
- [0694] 17. 实施方案15或实施方案16的方法, 其中将所述药剂在开始给予一定剂量的基因工程化细胞之前或同时给予, 所述基因工程化细胞包含表达嵌合抗原受体的T细胞。
- [0695] 18. 实施方案17的方法, 其中所述方法还包括给予一定剂量的所述基因工程化细胞。
- [0696] 19. 实施方案15-18中任一项的方法, 其中所述受试者患有疾病或病症, 并且所述基因工程化细胞用于治疗所述疾病或病症。
- [0697] 20. 实施方案15-19中任一项的方法, 其中在给予所述药剂之前, 在给予所述基因工程化细胞后所选受试者具有发生毒性的风险。
- [0698] 21. 实施方案14-20中任一项的方法, 其中所述药剂的给予足以在所述受试者中、

或在大多数通过所述方法如此治疗的所选受试者中、或在大于75%的通过所述方法如此治疗的所选受试者中实现在治疗范围内的峰值CAR+T细胞。

[0699] 22. 实施方案21的方法, 其中所述治疗范围是:

[0700] (i) 基于先前用所述基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3+CAR+T细胞或其CD8+CAR+T细胞子集的范围, 所述范围与大于或大于约65%的估计反应概率和小于或约30%的估计毒性概率相关; 或者

[0701] (ii) 在给予所述基因工程化细胞之后, 血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的峰值CD3+CAR+T细胞; 或者

[0702] (iii) 在给予所述基因工程化细胞之后, 血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR+T细胞。

[0703] 23. 实施方案15-22中任一项的方法, 其中测量肿瘤负荷的体积量度, 并且所述体积量度是直径乘积之和 (SPD)、最长肿瘤直径 (LD)、最长肿瘤直径之和 (SLD)、肿瘤体积、坏死体积、坏死-肿瘤比率 (NTR)、瘤周水肿 (PTE)、以及水肿-肿瘤比率 (ETR)。

[0704] 24. 实施方案15-23中任一项的方法, 其中所述体积量度是直径乘积之和 (SPD)。

[0705] 25. 实施方案15-24中任一项的方法, 其中使用所述受试者的计算机断层成像 (CT)、正电子发射断层成像 (PET) 和/或磁共振成像 (MRI) 测量所述体积量度。

[0706] 26. 实施方案15-22中任一项的方法, 其中测量来自所述受试者的样品中的炎性标记, 并且所述炎性标记是C反应蛋白 (CRP)、红细胞沉降率 (ESR)、白蛋白、铁蛋白、 $\beta 2$ 微球蛋白 ($\beta 2$ -M)、乳酸脱氢酶 (LDH)、细胞因子或趋化因子。

[0707] 27. 实施方案15-22和26中任一项的方法, 其中所述炎性标记是LDH。

[0708] 28. 实施方案15-22和26中任一项的方法, 其中所述炎性标记是细胞因子或趋化因子, 所述细胞因子或趋化因子是IL-7、IL15、MIP-1 α 或TNF- α 。

[0709] 29. 实施方案15-22、26和28中任一项的方法, 其中所述细胞因子或趋化因子与巨噬细胞或单核细胞激活相关。

[0710] 30. 实施方案15-22和26-29中任一项的方法, 其中所述样品是或包含血液样品、血浆样品或血清样品。

[0711] 31. 实施方案15-22和26-30中任一项的方法, 其中使用比色测定或免疫测定来评估所述炎性标记。

[0712] 32. 实施方案31的方法, 其中使用免疫测定来评估所述炎性标记, 并且所述免疫测定选自酶联免疫吸附测定 (ELISA)、酶免疫测定 (EIA)、放射免疫测定 (RIA)、表面等离子体共振 (SPR)、蛋白质印迹、侧向流测定、免疫组织化学、蛋白质阵列或免疫PCR (iPCR)。

[0713] 33. 实施方案15-32中任一项的方法, 其中所述阈值是如下值:

[0714] i) 在高于所述体积量度或炎性标记的平均值的25%、20%内、15%内、10%内或5%内和/或在高于多个对照受试者的所述体积量度或所述炎性标记的平均值的标准偏差内;

[0715] ii) 高于所述体积量度或炎性标记的最高值, 任选地在高于这个最高倍数变化的50%内、25%内、20%内、15%内、10%内或5%内, 这是在选自多个对照受试者的至少一个受试者中测量的; 和/或

[0716] iii) 高于所述体积量度或炎性标记的最高值, 如在来自多个对照受试者的超过

75%、80%、85%、90%或95%或98%的受试者中所测量的。

[0717] 34. 实施方案33的方法, 其中所述多个对照受试者是在接受一定剂量的所述基因工程化细胞之前的受试者组, 其中:

[0718] 所述组的每个所述对照受试者在血液中展现比所述治疗范围内的最高峰值CAR+T细胞高的峰值CAR+T细胞;

[0719] 在接受一定剂量的用于治疗相同疾病或病症的所述工程化细胞后, 所述组的每个所述对照受试者继续发生毒性, 任选地神经毒性或细胞因子释放综合征 (CRS), 2级或3级或更高级神经毒性或者3级或更高级CRS;

[0720] 在给予所述剂量的基因工程化细胞后, 所述组的每个所述对照受试者均未发生反应, 任选地完全反应 (CR) 或部分反应 (PR); 和/或

[0721] 在给予所述剂量的基因工程化细胞后, 所述组的每个所述对照受试者均未发生任选地持续或持续约或大于或约3个月或者持续或持续约或大于或约6个月的持久反应。

[0722] 35. 实施方案15-34中任一项的方法, 其中所述体积量度是SPD, 并且所述阈值为或为约30/cm², 为或为约40/cm², 为或为约50/cm², 为或为约60/cm², 或者为或为约70/cm²。

[0723] 36. 实施方案15-35中任一项的方法, 其中所述炎性标记是LDH, 并且所述阈值为或为约300单位/升, 为或为约400单位/升, 为或为约500单位/升或者为或为约600单位/升。

[0724] 37. 实施方案15-36中任一项的方法, 其中所述药剂是类固醇。

[0725] 38. 实施方案37的方法, 其中所述类固醇是皮质类固醇。

[0726] 39. 实施方案37或实施方案38的方法, 其中所述类固醇是地塞米松或甲基泼尼松龙。

[0727] 40. 实施方案37-39中任一项的方法, 其中将所述类固醇按以下量的地塞米松或其等效物给予: 在或在约1.0mg与约40mg之间、在或在约1.0mg与约20mg之间、在或在约2.0mg与约20mg之间、在或在约5.0mg与约25.0mg之间、在或在约10mg与约20mg之间, 每个都包含端值。

[0728] 41. 实施方案15-40中任一项的方法, 其中在开始给予所述基因工程化细胞之前1天、2天、3天、4天、6天、8天、12天、16天、20天、24天、28天或更长时间内, 在所述受试者中测量所述体积量度或炎性标记。

[0729] 42. 一种向受试者给药的方法, 所述方法包括向患有疾病或病症的受试者给予一定剂量的包含表达嵌合抗原受体 (CAR) 的T细胞的基因工程化细胞, 其中所述剂量包含的所述基因工程化细胞的数量足以在所述受试者中、或在大多数通过所述方法如此治疗的受试者中、或在超过75%的通过所述方法如此治疗的所述受试者中, 实现在确定的治疗范围内的血液中的峰值CAR+细胞, 其中所述治疗范围是:

[0730] (i) 基于先前用所述基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3+CAR+T细胞或其CD8+CAR+T细胞子集的范围, 所述范围与大于或大于约65%的估计反应概率和小于或约30%的估计毒性概率相关; 或者

[0731] (ii) 在给予所述基因工程化细胞之后, 血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的峰值CD3+CAR+T细胞; 或者

[0732] (iii) 在给予所述基因工程化细胞之后, 血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR+T细胞。

[0733] 43. 实施方案1-42中任一项的方法,其中基因工程化细胞的所述剂量包含为或为约 1×10^5 至 5×10^8 个表达CAR的总T细胞、 1×10^6 至 2.5×10^8 个表达CAR的总T细胞、 5×10^6 至 1×10^8 个表达CAR的总T细胞、 1×10^7 至 2.5×10^8 个表达CAR的总T细胞、 5×10^7 至 1×10^8 个表达CAR的总T细胞,每个都包含端值。

[0734] 44. 实施方案1-43中任一项的方法,其中基因工程化细胞的所述剂量包含至少或至少约 1×10^5 个表达CAR的细胞、至少或至少约 2.5×10^5 个表达CAR的细胞、至少或至少约 5×10^5 个表达CAR的细胞、至少或至少约 1×10^6 个表达CAR的细胞、至少或至少约 2.5×10^6 个表达CAR的细胞、至少或至少约 5×10^6 个表达CAR的细胞、至少或至少约 1×10^7 个表达CAR的细胞、至少或至少约 2.5×10^7 个表达CAR的细胞、至少或至少约 5×10^7 个表达CAR的细胞、至少或至少约 1×10^8 个表达CAR的细胞、至少或至少约 2.5×10^8 个表达CAR的细胞、或者至少或至少约 5×10^8 个表达CAR的细胞。

[0735] 45. 一种向受试者给药的方法,所述方法包括:

[0736] (a) 向患有疾病或病症的受试者给予次最佳剂量的包含用嵌合抗原受体(CAR)工程化的T细胞的基因工程化细胞,其中所述剂量包含的所述基因工程化细胞的数量不足以在所述受试者中、或在大多数通过所述方法如此治疗的受试者中、或在超过75%的通过所述方法如此治疗的所述受试者中,实现在确定的治疗范围内的血液中的峰值CAR+细胞;和

[0737] (b) 在给予所述基因工程化细胞后,给予药剂以增强所述受试者中CAR+细胞的扩增或增殖,以实现在所述治疗范围内的血液中的峰值CAR+T细胞,

[0738] 其中所述治疗范围是:

[0739] (i) 基于先前用所述基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3+CAR+T细胞或其CD8+CAR+T细胞子集的范围,所述范围与大于或大于约65%的估计反应概率和小于或约30%的估计毒性概率相关;或者

[0740] (ii) 在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的峰值CD3+CAR+T细胞;或者

[0741] (iii) 在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR+T细胞。

[0742] 46. 实施方案45的方法,其中,在给予所述剂量的基因工程化细胞后,所述方法包括监测所述受试者的血液中的所述CAR+T细胞。

[0743] 47. 实施方案45或实施方案46的方法,其中,在给予所述药剂后,所述方法实现:

[0744] 与涉及给予相同剂量的基因工程化细胞但不给予所述药剂的方法相比,在所述受试者中在确定的治疗范围内的血液中峰值CAR+细胞的频率增加;或者

[0745] 在所述受试者中、或在大多数通过所述方法如此治疗的受试者中、或在超过75%的通过所述方法如此治疗的所述受试者中,在确定的治疗范围内的血液中的峰值CAR+细胞。

[0746] 48. 实施方案45-48中任一项的方法,其中基因工程化细胞的所述剂量小于或小于约 1×10^7 个表达CAR的细胞、小于或小于约 5×10^6 个表达CAR的细胞、小于或小于约 2.5×10^6 个表达CAR的细胞、小于或小于约 1×10^6 个表达CAR的细胞、小于或小于约 5×10^5 个表达CAR的细胞、小于或小于约 2.5×10^5 个表达CAR的细胞、小于或小于约 1×10^5 个表达CAR的细胞。

[0747] 49. 实施方案45-48中任一项的方法,其中所述药剂能够增加所述CAR+T细胞的扩

增,任选地CAR特异性扩增。

[0748] 50.实施方案49的方法,其中所述药剂是对所述CAR具有特异性的抗独特型抗体或其抗原结合片段、免疫检查点抑制剂、代谢途径调节剂、腺苷受体拮抗剂、激酶抑制剂、抗TGF β 抗体或抗TGF β R抗体或细胞因子。

[0749] 51.实施方案1-50中任一项的方法,其中,在所治疗的多个受试者中,与不包括给予所述药剂的方法相比,所述方法实现了增加的实现持久反应的受试者的百分比,所述持久反应任选地是完全反应(CR)或客观反应(OR)或部分反应(PR),任选地可持续等于或大于3个月或者等于或大于6个月。

[0750] 52.实施方案1-51中任一项的方法,其中所述增加为大于或大于约1.2倍、1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍或更多。

[0751] 53.实施方案1-52中任一项的方法,其中:

[0752] 至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%或至少50%的根据所述方法治疗的受试者实现完全反应(CR),所述完全反应可持续等于或大于3个月或等于或大于6个月;和/或

[0753] 至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%或至少70%的根据所述方法治疗的所述受试者实现客观反应(OR),所述客观反应可持续等于或大于3个月或等于或大于6个月。

[0754] 54.实施方案1-53中任一项的方法,其中:

[0755] 大于或大于约50%、大于或大于约60%、大于或大于约70%、或者大于或大于约80%的根据所述方法治疗的所述受试者不展现3级或更高级细胞因子释放综合征(CRS)和/或不展现2级或更高级或3级或更高级神经毒性;或者

[0756] 大于或大于约40%、大于或大于约50%、或者大于或大于约55%的根据所述方法治疗的所述受试者不展现任何神经毒性或CRS。

[0757] 55.实施方案1-54中任一项的方法,其中将峰值CAR+T细胞确定为所述受试者血液中的CAR+T细胞数量/微升。

[0758] 56.实施方案1-55中任一项的方法,其中所述治疗范围是其中估计毒性概率小于20%、小于15%、小于10%或小于5%并且实现反应的估计概率大于65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多的范围。

[0759] 57.实施方案1-56中任一项的方法,其中所述毒性概率是基于选自以下的毒性:

[0760] 任何神经毒性或细胞因子释放综合征(CRS);

[0761] 严重毒性或3级或更高级毒性;

[0762] 严重CRS或3级或更高级CRS;或者

[0763] 严重神经毒性、2级或更高级神经毒性或3级或更高级神经毒性。

[0764] 58.实施方案1-57中任一项的方法,其中所述毒性概率是基于严重毒性或3级或更高级毒性的概率。

[0765] 59.实施方案57或实施方案58的方法,其中所述严重毒性是3-5级神经毒性。

[0766] 60.实施方案1-59中任一项的方法,其中所述反应概率是基于作为完全反应(CR)、客观反应(OR)或部分反应(PR)的反应,任选地其中所述反应是持久的,任选地可持续等于或至少3个月或者等于或至少6个月。

[0767] 61. 实施方案1-60中任一项的方法,其中所述反应是骨髓反应,如基于对所述受试者骨髓中恶性免疫球蛋白重链基因座(IGH)和/或指标克隆的存在的评估所确定的。

[0768] 62. 实施方案61的方法,其中所述恶性IGH和/或指标克隆是通过流式细胞术或IgH测序来评估。

[0769] 63. 一种评估持久反应的可能性的方法,所述方法包括:

[0770] (a) 在来自受试者的生物样品中检测一种或多种炎性标记的峰值水平和/或包含表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞的基因工程化细胞的峰值水平,其中先前已经向所述受试者给予一定剂量的所述基因工程化细胞以便治疗疾病或病症;并且

[0771] (b) 单独地比较所述峰值水平与阈值,从而确定受试者将实现对给予所述基因工程化细胞的持久反应的可能性。

[0772] 64. 实施方案63的方法,其中:

[0773] 如果所述一种或多种炎性标记的峰值水平低于阈值,则所述受试者可能实现持久反应,并且如果所述一种或多种炎性标记的峰值水平高于阈值,则所述受试者不可能实现持久反应;或者

[0774] 如果所述基因工程化细胞的峰值水平在下限阈值与上限阈值之间的治疗范围内,则所述受试者可能实现持久反应,并且如果所述基因工程化细胞的峰值水平低于所述下限阈值或高于所述上限阈值,则所述受试者不可能实现持久反应。

[0775] 65. 实施方案63或实施方案64的方法,如果确定所述受试者不可能实现持久反应,则还包括选择受试者以使用除了所述基因工程化细胞之外的治疗剂或替代治疗性治疗来治疗。

[0776] 66. 实施方案63-65中任一项的方法,如果确定所述受试者不可能实现持久反应,则所述方法还包括给予除了所述基因工程化细胞之外的治疗剂或替代治疗性治疗。

[0777] 67. 一种治疗方法,其包括:

[0778] (a) 选择已经接受基因工程化细胞的给予的受试者,所述基因工程化细胞包含表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞,其中:

[0779] 来自所述受试者的样品中的一种或多种炎性标记的峰值水平高于阈值;和/或

[0780] 来自所述受试者的样品中的包含嵌合抗原受体(CAR)的T细胞的峰值水平低于下限阈值或高于上限阈值;并且

[0781] (b) 向所述受试者给予除了所述基因工程化细胞之外的治疗剂或替代治疗性治疗。

[0782] 68. 实施方案63-66中任一项的方法,其中所述反应是完全反应(CR)、客观反应(OR)或部分反应(PR)。

[0783] 69. 实施方案63-66和68中任一项的方法,其中所述反应可持续等于或大于3个月、4个月、5个月或6个月。

[0784] 70. 实施方案63-69中任一项的方法,其中在开始给予所述基因工程化细胞后至少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天或21天的时间评估所述峰值水平和/或从所述受试者获得所述样品。

[0785] 71. 实施方案63-70中任一项的方法,其中在开始给予所述基因工程化细胞后在或在约11天至22天、12天至18天或14天至16天之间的时间评估所述峰值水平和/或从所述受

试者获得所述样品,所述时间的每个都包含端值。

[0786] 72. 实施方案63-71中任一项的方法,其中所述峰值水平是一种或多种炎性标记的峰值水平,并且所述炎性标记选自C反应蛋白(CRP)、IL-2、IL-6、IL-10、IL-15、TNF- α 、MIP-1 α 、MIP-1 β 、MCP-1、CXCL10或CCL13。

[0787] 73. 实施方案64-72中任一项的方法,其中评估一种或多种炎性标记的峰值水平,并且所述阈值在25%内、20%内、15%内、10%内或5%内和/或在所述炎性标记的峰值水平的中值或平均值的标准偏差内,如在已经接受所述基因工程化细胞的给予的对照受试者组中所确定的,其中任选地在给予所述基因工程化细胞后等于或大于3个月或6个月,所述组的每个受试者未实现持久反应,任选CR和/或PR。

[0788] 74. 实施方案73的方法,其中在给予所述基因工程化细胞后,任选地在给予所述基因工程化细胞后等于或大于3个月或6个月,所述对照受试者展现出稳定疾病(SD)或进行性疾病(PD)。

[0789] 75. 实施方案63-71中任一项的方法,其中所述峰值水平是CAR+T细胞或其CD8+T细胞子集的峰值水平。

[0790] 76. 实施方案64-71和75中任一项的方法,所述下限阈值和上限阈值分别是在先前用所述基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中峰值CD3+CAR+T细胞或其CD8+CAR+T细胞子集的治疗范围的下限和上限,所述治疗范围与大于或大于约65%的估计反应概率和小于或约30%的估计毒性概率相关。

[0791] 77. 实施方案64-71、75和76中任一项的方法,其中所述治疗范围是其中估计毒性概率小于20%、小于15%、小于10%或小于5%并且实现反应的估计概率大于65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多的范围。

[0792] 78. 实施方案76或实施方案77的方法,其中所述毒性概率是基于选自以下的毒性:

[0793] 任何神经毒性或细胞因子释放综合征(CRS);

[0794] 严重毒性或3级或更高级毒性;

[0795] 严重CRS或3级或更高级CRS;或者

[0796] 严重神经毒性、2级或更高级神经毒性或3级或更高级神经毒性。

[0797] 79. 实施方案76-78中任一项的方法,其中所述反应概率是基于作为完全反应(CR)、客观反应(OR)或部分反应(PR)的反应,任选地其中所述反应是持久的,任选地可持续等于或至少3个月或者等于或至少6个月。

[0798] 80. 实施方案64-71和75-79中任一项的方法,其中将峰值CAR+T细胞确定为所述受试者血液中的CAR+T细胞数量/微升。

[0799] 81. 实施方案64-71和75-80中任一项的方法,其中:

[0800] 所述上限阈值在或在约300个细胞/微升与1000个细胞/微升之间、或400个细胞/微升与600个细胞/微升之间、或为约300个细胞/微升、400个细胞/微升、500个细胞/微升、600个细胞/微升、700个细胞/微升、800个细胞/微升、900个细胞/微升、或1000个细胞/微升;或者

[0801] 所述下限阈值小于或小于约10个细胞/微升、9个细胞/微升、8个细胞/微升、7个细胞/微升、6个细胞/微升、5个细胞/微升、4个细胞/微升、3个细胞/微升、2个细胞/微升或1个细胞/微升。

- [0802] 82. 实施方案63-81中任一项的方法,其中所述样品是血液样品或血浆样品。
- [0803] 83. 实施方案63-82中任一项的方法,其中所述方法是离体进行的。
- [0804] 84. 实施方案65-83中任一项的方法,CAR+T细胞的所述峰值水平低于下限阈值,并且所述治疗剂是能够减少CAR+T细胞扩增或增殖的药剂。
- [0805] 85. 实施方案84的方法,其中所述药剂是类固醇。
- [0806] 86. 实施方案85的方法,其中所述类固醇是皮质类固醇。
- [0807] 87. 实施方案85或实施方案86的方法,其中所述类固醇是地塞米松或甲基泼尼松龙。
- [0808] 88. 实施方案85-87中任一项的方法,其中将所述类固醇按以下量的地塞米松或其等效物给予:在或在约1.0mg与约40mg之间、在或在约1.0mg与约20mg之间、在或在约2.0mg与约20mg之间、在或在约5.0mg与约25.0mg之间、在或在约10mg与约20mg之间,每个都包含端值。
- [0809] 89. 实施方案85-88中任一项的方法,CAR+T细胞的所述峰值水平高于所述上限阈值,并且所述治疗剂是能够增加所述CAR+T细胞的扩增、任选地CAR特异性扩增的药剂。
- [0810] 90. 实施方案89的方法,其中所述药剂是对所述CAR具有特异性的抗独特型抗体或其抗原结合片段、免疫检查点抑制剂、代谢途径调节剂、腺苷受体拮抗剂、激酶抑制剂、抗TGF β 抗体或抗TGF β R抗体或细胞因子。
- [0811] 91. 实施方案1-90中任一项的方法,其中所述疾病或病症是癌症。
- [0812] 92. 实施方案91的方法,其中所述癌症是B细胞恶性肿瘤。
- [0813] 93. 实施方案92的方法,其中所述癌症选自肉瘤、癌、淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤(NHL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、白血病、CLL、ALL、AML和骨髓瘤。
- [0814] 94. 实施方案93的方法,其中所述癌症是胰腺癌、膀胱癌、结直肠癌、乳腺癌、前列腺癌、肾癌、肝细胞癌、肺癌、卵巢癌、宫颈癌、胰腺癌、直肠癌、甲状腺癌、子宫癌、胃癌、食管癌、头颈癌、黑色素瘤、神经内分泌癌、CNS癌、脑肿瘤、骨癌或软组织肉瘤。
- [0815] 95. 实施方案1-94中任一项的方法,其中所述受试者是人。
- [0816] 96. 实施方案1-95中任一项的方法,其中所述CAR特异性地结合至与疾病或病症相关和/或在与所述疾病或病症相关的细胞中表达的抗原。
- [0817] 97. 实施方案96的方法,其中所述抗原选自5T4、8H9、avb6整合素、B7-H6、B细胞成熟抗原(BCMA)、CA9、癌症-睾丸抗原、碳酸酐酶9(CAIX)、CCL-1、CD19、CD20、CD22、CEA、乙型肝炎表面抗原、CD23、CD24、CD30、CD33、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD123、CD138、CD171、癌胚抗原(CEA)、CE7、细胞周期蛋白、细胞周期蛋白A2、c-Met、双重抗原、EGFR、上皮糖蛋白2(EPG-2)、上皮糖蛋白40(EPG-40)、EPHa2、肝配蛋白B2、erb-B2、erb-B3、erb-B4、erbB二聚体、EGFR vIII、雌激素受体、胎儿AchR、叶酸受体 α 、叶酸结合蛋白(FBP)、FCRL5、FCRH5、胎儿乙酰胆碱受体、G250/CAIX、GD2、GD3、gp100、Her2/neu(受体酪氨酸激酶erbB2)、HMW-MAA、IL-22R- α 、IL-13受体 α 2(IL-13Ra2)、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(MAGE)-A1、MAGE-A3、MAGE-A6、MART-1、间皮素、鼠CMV、粘蛋白1(MUC1)、MUC16、NCAM、NKG2D、NKG2D配体、NY-ESO-1、O-乙酰化GD2(OGD2)、癌胚胎抗原、优先表达的黑色素瘤抗原(PRAME)、PSCA、孕酮受体、存活蛋白、ROR1、TAG72、tEGFR、VEGF受体、VEGF-R2、Wilms肿瘤1(WT-1)、病原体特异性抗原。

[0818] 98. 实施方案1-97中任一项的方法, 其中所述嵌合抗原受体 (CAR) 包含特异性地结合至所述抗原的细胞外抗原识别结构域和包含ITAM的细胞内信号传导结构域。

[0819] 99. 实施方案98的方法, 其中所述细胞内信号传导结构域包含CD3-zeta (CD3 ζ) 链的细胞内结构域。

[0820] 100. 实施方案98或实施方案99的方法, 其中所述嵌合抗原受体 (CAR) 还包含共刺激信号传导区域。

[0821] 101. 实施方案100的方法, 其中所述共刺激信号传导区域包含CD28或4-1BB的信号传导结构域。

[0822] 102. 实施方案15或实施方案16的方法, 其中所述共刺激结构域是4-1BB的结构域。

[0823] 103. 实施方案1-102中任一项的方法, 其中所述细胞是T细胞。

[0824] 104. 实施方案103的方法, 其中所述T细胞是CD4⁺或CD8⁺。

[0825] 105. 实施方案1-104中任一项的方法, 其中所述T细胞是从受试者获得的原代T细胞。

[0826] 106. 实施方案1-105中任一项的方法, 其中所述基因工程化细胞的细胞对于所述受试者是自体的。

[0827] 107. 实施方案1-106中任一项的方法, 其中所述细胞对于所述受试者是同种异体的。

[0828] 108. 一种试剂盒, 其包含: 组合物, 所述组合物包含基因工程化细胞, 所述基因工程化细胞包含表达嵌合抗原受体 (CAR) 的T细胞; 以及根据或基于评估峰值CAR+T细胞是否在治疗范围内的结果向受试者给予一定剂量的所述细胞的说明书, 其中所述治疗范围是:

[0829] (i) 基于先前用所述基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3+CAR+T细胞或其CD8+CAR+T细胞子集的范围, 所述范围与大于或大于约65%的估计反应概率和小于或约30%的估计毒性概率相关; 或者

[0830] (ii) 在给予所述基因工程化细胞之后, 血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的峰值CD3+CAR+T细胞; 或者

[0831] (iii) 在给予所述基因工程化细胞之后, 血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR+T细胞。

[0832] 109. 实施方案108的试剂盒, 其中所述说明书详细说明, 如果所述基因工程化细胞不在所述治疗范围内, 则向所述受试者给予能够在所述受试者中调节、任选地增加或减少CAR+T细胞扩增或增殖的药剂。

[0833] 110. 实施方案109的试剂盒, 其中所述试剂盒还包含所述药剂。

[0834] 111. 一种试剂盒, 其包含: 能够在受试者中调节、任选地增加或减少包含CAR+T细胞的基因工程化细胞的扩增或增殖的药剂, 以及将所述药剂给予至受试者的说明书, 已经基于评估峰值CAR+T细胞是否在治疗范围内的结果向所述受试者给予所述基因工程化细胞, 其中所述治疗范围是:

[0835] (i) 基于先前用所述基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3+CAR+T细胞或其CD8+CAR+T细胞子集的范围, 所述范围与大于或大于约65%的估计反应概率和小于或约30%的估计毒性概率相关; 或者

[0836] (ii) 在给予所述基因工程化细胞之后, 血液中的在或在约10个细胞/微升与500个

细胞/微升之间的峰值CD3+CAR+T细胞;或者

[0837] (iii) 在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR+T细胞。

[0838] 112. 实施方案109-111中任一项的试剂盒,其中所述说明书详细说明,如果所述受试者的血液中的CAR+T细胞的峰值数量小于所述治疗范围内峰值CAR+T细胞的最低数量,则向所述受试者给予能够增加CAR+T细胞扩增或增殖的药剂。

[0839] 113. 实施方案112的试剂盒,其中所述药剂能够进行CAR特异性扩增。

[0840] 114. 实施方案112或实施方案113的试剂盒,其中所述药剂是对所述CAR具有特异性的抗独特型抗体或其抗原结合片段、免疫检查点抑制剂、代谢途径调节剂、腺苷受体拮抗剂、激酶抑制剂、抗TGF β 抗体或抗TGF β R抗体或细胞因子。

[0841] 115. 实施方案109-111中任一项的试剂盒,其中如果所述受试者的血液中的CAR+T细胞的峰值数量大于所述治疗范围内峰值CAR+T细胞的最高数量,则向所述受试者给予能够减少CAR+T细胞扩增或增殖的药剂。

[0842] 116. 一种试剂盒,其包含能够在受试者中减少包含CAR+T细胞的基因工程化细胞的扩增或增殖的药剂,以及用于以下的说明书:评估所述受试者的来自所述受试者的样品中肿瘤负荷的体积量度或炎性标记的水平、量或浓度,并且如果所述水平、量或浓度等于或高于阈值水平,则向所述受试者给予所述药剂,其中所述样品不包含表达嵌合抗原受体(CAR)的基因工程化T细胞和/或是在接受表达CAR的基因工程化T细胞的给予之前从所述受试者获得。

[0843] 117. 实施方案116的试剂盒,其中所述体积量度是直径乘积之和(SPD)、最长肿瘤直径(LD)、最长肿瘤直径之和(SLD)、肿瘤体积、坏死体积、坏死-肿瘤比率(NTR)、瘤周水肿(PTE)和水肿-肿瘤比率(ETR)。

[0844] 118. 实施方案116或实施方案117的试剂盒,其中所述体积量度是直径乘积之和(SPD)。

[0845] 119. 实施方案116的试剂盒,其中所述炎性标记是C反应蛋白(CRP)、红细胞沉降率(ESR)、白蛋白、铁蛋白、 β 2微球蛋白(β 2-M)、乳酸脱氢酶(LDH)、细胞因子或趋化因子。

[0846] 120. 实施方案119的试剂盒,其中所述炎性标记是LDH。

[0847] 121. 实施方案115-120中任一项的试剂盒,其中所述药剂是类固醇。

[0848] 122. 实施方案121的试剂盒,其中所述类固醇是皮质类固醇。

[0849] 123. 实施方案121或实施方案122的试剂盒,其中所述类固醇是地塞米松或甲基泼尼松龙。

[0850] 124. 实施方案121-124中任一项的试剂盒,其中将所述类固醇配制为用于按以下量的地塞米松或其等效物给予:在或在约1.0mg与约40mg之间、在或在约1.0mg与约20mg之间、在或在约2.0mg与约20mg之间、在或在约5.0mg与约25.0mg之间、在或在约10mg与约20mg之间,每个都包含端值。

[0851] 125. 实施方案108-124中任一项的试剂盒,其中所述CAR特异性地结合至与疾病或病症相关和/或在与所述疾病或病症相关的细胞中表达的抗原。

[0852] 126. 实施方案108-125中任一项的试剂盒,其中所述基因工程化细胞包含T细胞,任选CD4+或CD8+T细胞。

- [0853] 127.一种制品,其包含实施方案108-126中任一项的试剂盒。
- [0854] 128.一种向受试者给药的方法,其包括向所述受试者给予一定剂量的用嵌合抗原受体 (CAR) 工程化的细胞,其中所述剂量足以实现在确定的治疗范围内的血液中的峰值CAR+细胞,其中所述治疗范围是基于估计反应概率和估计的严重毒性或3级或更高级毒性的概率来确定。
- [0855] 129.一种向受试者给药的方法,其包括向患有疾病或病症的受试者给予次最佳剂量的细胞,其中所述剂量不足以实现在确定的治疗范围内的峰值CAR细胞,其中所述方法还包括给予化合物以增强体内CAR+细胞扩增,使得所述峰值CAR+扩增在所述治疗范围内。
- [0856] 130.实施方案129的方法,其中所述治疗范围是基于估计反应概率和估计的严重毒性或3级或更高级毒性的概率来确定。
- [0857] 131.一种向受试者给药的方法,其包括:
- [0858] 向患有疾病或病症的受试者给予一定剂量的细胞以便治疗所述疾病或病症;
- [0859] 监测血液中的峰值CAR细胞以评估所述细胞是否在治疗范围内,并且
- [0860] 如果所述受试者不在治疗范围内,则给予化合物以增强体内CAR+细胞扩增,使得所述峰值CAR+扩增在所述治疗范围内。
- [0861] 132.实施方案128-131中任一项的方法,其中将峰值CAR细胞确定为CAR+细胞数量/微升。
- [0862] 133.实施方案128-132中任一项的方法,其中所述治疗范围是其中在毒性概率曲线上估计的引起毒性的概率小于20%、小于15%、小于10%或小于5%并且实现反应的估计概率大于65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多的范围。
- [0863] 134.实施方案128-133中任一项的方法,其中所述严重毒性为3-5级神经毒性。
- [0864] 135.实施方案128-134中任一项的方法,其中所述反应是骨髓反应。
- [0865] 136.实施方案135的方法,其中所述骨髓反应是通过流式细胞术或IgH测序。
- [0866] 137.实施方案128-136中任一项的方法,其中所述疾病或病症是癌症。
- [0867] 138.实施方案137的方法,其中所述癌症选自肉瘤、癌、淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤(NHL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、白血病、CLL、ALL、AML和骨髓瘤。
- [0868] 139.实施方案137的方法,其中所述癌症是胰腺癌、膀胱癌、结直肠癌、乳腺癌、前列腺癌、肾癌、肝细胞癌、肺癌、卵巢癌、宫颈癌、胰腺癌、直肠癌、甲状腺癌、子宫癌、胃癌、食管癌、头颈癌、黑色素瘤、神经内分泌癌、CNS癌、脑肿瘤、骨癌或软组织肉瘤。
- [0869] 140.实施方案128-139中任一项的方法,其中所述嵌合抗原受体 (CAR) 包含特异性地结合至所述抗原的细胞外抗原识别结构域和包含ITAM的细胞内信号传导结构域。
- [0870] 141.实施方案140的方法,其中所述细胞内信号传导结构域包含CD3-zeta (CD3ζ) 链的细胞内结构域。
- [0871] 142.实施方案140或实施方案141的方法,其中所述嵌合抗原受体 (CAR) 还包含共刺激信号传导区域。
- [0872] 143.实施方案142的方法,其中所述共刺激信号传导区域包含CD28或4-1BB的信号传导结构域。
- [0873] 144.实施方案142或实施方案143的方法,其中所述共刺激结构域是CD28的结构域。

[0874] 145. 实施方案128-144中任一项的方法,其中所述CAR特异性地识别或结合选自以下的抗原: ROR1、B细胞成熟抗原 (BCMA)、tEGFR、Her2、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、EGP-2、EGP-4、EPHa2、ErbB2、3或4、erbB二聚体、EGFR vIII、FBP、FCRL5、FCRH5、胎儿乙酰胆碱受体、GD2、GD3、HMW-MAA、IL-22R- α 、IL-13R- α 2、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 (MAGE) -A1、MAGE-A3、MAGE-A6、优先表达的黑色素瘤抗原 (PRAME)、存活蛋白、EGP2、EGP40、TAG72、B7-H6、IL-13受体 α 2 (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、和与通用标签相关的抗原、癌症-睾丸抗原、间皮素、MUC1、MUC16、PSCA、NKG2D配体、NY-ESO-1、MART-1、gp100、癌胚抗原、ROR1、TAG72、VEGF-R2、癌胚抗原 (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和病原体特异性抗原。

[0875] 146. 实施方案128-145中任一项的方法,其中所述细胞是T细胞。

[0876] 147. 实施方案146的方法,其中所述T细胞是CD4⁺或CD8⁺。

[0877] X. 实施例

[0878] 以下实施例被包括在内仅用于说明目的,并不旨在限制本发明的范围。

[0879] 实施例1: 高风险CLL患者中基于峰值CAR T细胞扩增和反应的骨髓反应和神经毒性的概率

[0880] 向患有复发或难治性 (R/R) CD19⁺慢性淋巴细胞白血病 (CLL) 的二十四 (24) 名成年受试者给予表达对CD19具有特异性的嵌合抗原受体 (CAR) 的自体T细胞,并如下所述进行评价。

[0881] CAR包括对CD19具有特异性的scFv (呈V_L-接头-V_H取向), 以及源自FMC63的可变区、IgG铰链区、跨膜区和源自人41BB和CD3 ζ 的细胞内信号传导结构域。所述构建体进一步编码截短的EGFR (EGFRt), 其用作CAR表达的替代标记;通过T2A跳跃序列将EGFRt编码区与CAR序列分隔开。在给予细胞之前,患者接受白细胞分离术;通过基于免疫亲和力的富集方法选择CD4⁺和CD8⁺群体,用含有CAR构建体的病毒载体转导,并在培养物中扩增十五 (15) 天。

[0882] 在CAR+T细胞输注前至少四十八 (48) 小时 (至最长九十六 (96)) 小时开始,受试者接受淋巴细胞清除化学疗法,其用 (a) 含或不含依托泊苷的环磷酰胺 (Cy, 60mg/kg) (2/13受试者) 或 (b) 环磷酰胺 (Cy, 60mg/kg) 与氟达拉滨组合 (flu, 每天25mg/m²持续3-5天) (cy/flu, 11/13受试者)。

[0883] 用于给予的细胞通常是以约1:1的CAR+CD4⁺T细胞与CAR+CD8⁺T细胞的比率来配制。成功地生产了针对所有受试者的治疗性组合物。对于1/13受试者,生产了少于目标剂量 (2×10^6 /kg CAR⁺) 的细胞。

[0884] 以三种不同剂量水平之一 (每公斤 (kg) 受试者体重 2×10^5 (N=4)、 2×10^6 (N=8) 或 2×10^7 (N=1) 个CAR+T细胞) 向所述受试者输注具有大约1:1比例的CD8⁺CAR+T细胞与CD4⁺CAR-T细胞的组合物。淋巴细胞清除疗法和T细胞输注在门诊基础上给予。

[0885] 细胞因子释放综合征 (CRS) 的发生率和等级是根据以下文献来确定: Lee等人, Blood. 2014;124 (2):188-95。在治疗后,评估和监测受试者的神经毒性 (神经系统并发症,

包括以下症状:意识错乱、失语症、癫痫发作、惊厥、嗜睡和/或精神状态改变),使用1-5级量表基于严重性进行评级(参见,例如,Guido Cavaletti&Paola Marmioli Nature Reviews Neurology 6,657-666(2010年12月))。3级(严重症状)、4级(危及生命的症状)或5级(死亡)指示严重神经毒性。

[0886] 基于血液中CD4+/EGFRt+或CD8+/EGFRt+CAR-T细胞的数量构建反应的估计概率曲线和发生3-5级神经毒性的估计概率(图1)。通常,随着CAR-T细胞数量的增加,反应概率增加,然后到达平台期,同时发生3-5级神经毒性的概率增加。

[0887] 实施例2:向受试者给予表达抗CD19 CAR的细胞

[0888] 向患有复发或难治性(R/R)非霍奇金淋巴瘤(NHL)的二十八名受试者给予表达抗CD19嵌合抗原受体(CAR)的自体T细胞。受试者的人口统计学和基线特征列于表3中。CAR含有源自鼠类抗体的抗CD19scFv、源自免疫球蛋白的间隔子、源自CD28的跨膜结构域、源自4-1BB的共刺激区域和CD3- ζ 细胞内信号传导结构域。为了产生表达CAR的自体T细胞,通过基于免疫亲和力的富集从来自单独受试者的白细胞分离术样品分离T细胞,用编码抗CD19 CAR的病毒载体激活并转导,然后进行扩增(目标比率为CD4+与CD8+CAR+T细胞的约1:1比率)。

[0889]

表3.人口统计学和基线特征	
特征	N = 28
中值年龄，岁（范围）	63 (37-79)
≥ 70岁，n (%)	6 (21)
男/女，n (%)	19/9 (68/32)
B-NHL亚型，n (%)	
DLBCL，NOS	15 (54)
转化DLBCL	10 (36)
滤泡型，3B级	1 (4)
MCL	2 (7)
疾病状态，n (%)	
难治性*	24 (86)
化疗难治性†	23 (82)
基线ECOG得分，n (%)	
0	14 (50)
1	10 (36)
2	4 (14)
先前治疗线	

[0890]

中值（范围）	4 (1-8)
≥ 5，n (%)	7 (25)
先前造血干细胞移植，n (%)	
任何HSCT	16 (57)
同种异体	4 (14)
自体	13 (46)

[0891] *到最后一次治疗<CR

[0892] †到最后一次含化疗方案的SD或PD或在自体SCT后<12个月复发

[0893] 在给予表达CAR的T细胞之前,将受试者每天用30mg/m²的氟达拉滨治疗3天,并且用每日300mg/m²的环磷酰胺治疗3天。在静脉内给予之前将冷冻保存的细胞组合物解冻。通过给予以约1:1的目标比率给予的经配制CD4+CAR+细胞群和经配制CD8+CAR+群体,将治疗性T细胞剂量作为定义的细胞组合物来给予。然后在d=0时,通过静脉内输注用5x 10⁷ (DL1) 或1x 10⁸ (DL2) 个表达CAR的T细胞的单一剂量或双剂量时间表治疗受试者(每个单一剂量分别通过表达CAR的CD4+T细胞和表达CAR的CD8+T细胞的单独输注来给予)。

[0894] 在用CAR-T细胞疗法的各种剂量时间表治疗的受试者中评估各种治疗紧急不良事件的存在或不存在(表4和表5)。如表5中所示,未观察到严重细胞因子释放综合征(sCRS)(3-5级);在36%(10/28)的受试者中观察到细胞因子释放综合征(CRS)。在14%(4/28)的受试者中观察到3-4级神经毒性,并且18%(5/28)的受试者展现任何等级的神经毒性。对于早发性2级CRS或神经毒性,一名受试者用托西利珠单抗治疗,并且四名患者接受地塞米松。6名受试者接受预防性抗癫痫药。

[0895]

表4. 治疗紧急不良事件				
	DL1-S N = 22	DL1-D N = 3	DL2-S N = 3	总计 N = 28
任何TEAE	21 (96)	3 (100)	3 (100)	27 (96)
任何3-5级* TEAE	16 (73)	3 (100)	0	19 (68)

[0896]

任何相关TEAE	14 (64)	2 (67)	1 (33)	17 (61)
任何相关的3-5级* TEAE	4 (18)	1 (33)	0	5 (18)
在≥ 15%的患者中报告的所有等级的TEAE 首选项, n (%)				
疲劳	7 (32)	2 (67)	2 (67)	11 (39)
细胞因子释放综合征	8 (36)	2 (67)	0	10 (36)
食欲下降	6 (27)	1 (33)	1 (33)	8 (29)
便秘	5 (23)	1 (33)	1 (33)	7 (25)
呕吐	5 (23)	1 (33)	1 (33)	7 (25)
腹泻	5 (23)	1 (33)	0	6 (21)
头晕	6 (27)	0	0	6 (21)
头痛	4 (18)	1 (33)	0	5 (18)
高血压	4 (18)	1 (33)	0	5 (18)
恶心	3 (14)	1 (33)	1 (33)	5 (18)
外周性水肿	5 (23)	0	0	5 (18)
实验室异常				
贫血	16 (73)	1 (33)	1 (33)	18 (64)
嗜中性粒细胞减少症	22 (100)	3 (100)	2 (67)	27 (96)
血小板减少症	13 (59)	3 (100)	2 (67)	18 (64)

[0897] *1例5级呼吸衰竭,评估为可能与CAR-T细胞疗法相关,出现于有进展并开始后续治疗的MCL患者中

[0898]

表5. 特别关注的治疗紧急不良事件				
首选项, n (%)	DL1-S N= 22	DL1-D N= 3	DL2-S N= 3	总计 N= 28
细胞因子释放综合征 (CRS), 任何	8 (36)	2 (67)	0	10 (36)

	3-4级	0	0	0	0
[0899]	神经毒性, 任何*	4 (18)	1 (33)	0	5 (18)
	3-4级	3 (14)	1 (33)	0	4 (14)

[0900] *包括:脑病、意识错乱状态、意识水平低下、嗜睡或癫痫发作

[0901] 针对在单一剂量DL1的最后一次CAR+T细胞输注后在正在进行的研究中在直至特定时间点的时间段内观察到的最佳总体反应评估所述组中的受试者。总体反应的结果显示在表6中。在弥漫性大B细胞淋巴瘤 (DLBCL) 群组中用单一剂量DL1治疗的20名受试者中,观察到总体反应率 (ORR) 为80% (16/20), 并且60% (12/20) 的受试者显示完全缓解 (CR) 的证据。20% (4/20) 的受试者显示部分反应 (PR) 的证据, 并且20% (4/20) 的受试者显示进行性疾病 (PD) 的证据。在CAR+T细胞给予之前已经是化疗难治 (在最后一次含化疗方案后展现稳定或进展性疾病, 或在自体SCT后不到12个月复发) 的受试者中, 总体反应率为83% (10例ORR, 7例CR、3例PR、2例PD, n=12)。在曾是难治性 (在最后一次治疗后展现不完全缓解, 但未被视为化疗难治) 的受试者中, 总体反应率为77% (13例ORR, 9例CR、4例PR、4例PD, n=17)。

表6.总体反应				
		DLBCL群组, DL1单一剂量时间表		
		全部 (n = 20)	难治性* (n = 17)	化疗难治性† (n = 12)
[0902]	ORR, n (%) [95% CI]	16 (80) [56, 94]	13 (77) [50, 93]	10 (83) [52, 98]
	CR, n (%) [95% CI]	12 (60) [36, 81]	9 (53) [28, 77]	7 (58) [28, 85]
	PR	4 (20)	4 (24)	3 (25)
	PD	4 (20)	4 (24)	2 (17)

[0903] *到最后一次治疗<CR

[0904] †到最后一次含化疗方案的SD或PD或在自体SCT后<12个月复发

[0905] 在评估时已经用两剂量DL1治疗的三名DLBCL受试者中, 两名 (2) 展现部分反应 (PR) 并且一名 (1) 展现进行性疾病 (PD)。在评估时已经用单一剂量DL2治疗的2名DLBCL受试者中, 观察到两名受试者均实现CR。在评估时用单一剂量DL1治疗的总共两名受试者的MCL群组中, 观察到1例PR和1例PD。治疗两名具有双重命中的受试者、三名具有三重命中的受试者和四名患有双表达子DLBCL的受试者, 并且均实现反应 (7例CR、2例PR)。

[0906] 在治疗后的某些时间点, 通过将细胞与转基因特异性试剂一起孵育, 确定外周血中的CAR⁺T细胞数量。对于依据最佳总体反应分组的用单一剂量DL1治疗的受试者, 在输注后的某些时间点测量的外周血中的CD3⁺/CAR⁺T细胞数量显示于图2A中。在反应者 (CR/PR) 中

观察到高于PD的峰值CD3⁺/CAR⁺T细胞。图2B-2D显示在依据在3个月时的持续反应(CR/PR)或PD分组的实现反应的受试者中的CD3⁺/CAR⁺T细胞、CD4⁺/CAR⁺T和CD8⁺/CAR⁺T细胞水平(细胞/ μ L血液;平均值 \pm SEM)。

[0907] 确定反应者(CR/PR)和PD的C_{max}(CAR⁺细胞/ μ L血液)和曲线下面积(AUC),并显示于表7中。结果与以下结论一致:随时间和在峰值扩增时,持久反应与血液中的较高CD3⁺/CAR⁺T细胞水平相关。

表7.与PD相比,具有CR/PR的患者的C _{max} 和AUC ₀₋₂₈ 较高						
	CD3		CD4		CD8	
	CR/PR (n = 16)	PD (n = 4)	CR/PR (n = 16)	PD (n = 4)	CR/PR (n = 16)	PD (n = 4)
C _{max} (CAR ⁺ 细胞/ μ L血液)						
[0908] 平均值 (SD)	612 (1919)	2 (1)	220 (754)	1 (0.6)	426 (1314)	0.5 (0.5)
中 值 (Min, Max)	33 (1, 7726)	1 (1, 3)	8 (1, 3040)	1 (0, 2)	4 (0, 5238)	0.3 (0, 1)
Q1, Q3	7, 123	0.7, 2	2, 46	0.6, 2	0.8, 104	0.1, 0.9
AUC ₀₋₂₈						
平均值 (SD)	5883 (18821)	16 (13)	2369 (8388)	10 (7)	3873 (11963)	6 (6)
[0909] 中 值 (Min, Max)	196 (11, 75773)	14 (4, 31)	47 (7, 33740)	9 (3, 17)	23 (1, 47834)	4 (1, 14)
Q1, Q3	52, 781	5, 26	16, 261	4, 16	4, 761	1, 10

[0910] AUC₀₋₂₈ = 在第0天与第28天之间,所指示CAR⁺细胞群的数量/微升

[0911] 实施例3:向患有复发和难治性非霍奇金淋巴瘤(NHL)的受试者给予表达抗CD19 CAR的细胞

[0912] A. 受试者和治疗

[0913] 将含有表达对CD19具有特异性的嵌合抗原受体(CAR)的自体T细胞的治疗性CAR⁺T细胞组合物给予至患有B细胞恶性肿瘤的受试者。结果描述于本实施例中,用于在正在进行的通过中通过特定时间点评价五十五(55)名成年人受试者的群组(完整群组),这些受试者患有复发或难治性(R/R)侵袭性非霍奇金淋巴瘤(NHL),包括从头或从惰性淋巴瘤转化

(NOS)的弥漫性大B细胞淋巴瘤 (DLBCL)、原发性纵隔大B细胞淋巴瘤 (PMBCL) 和2线治疗失败后的3b级滤泡性淋巴瘤 (FLG3B)。所治疗的受试者包括东部肿瘤协作组 (ECOG) 得分在0与2之间的那些 (中值随访期为3.2个月)。55名受试者不包括患有套细胞淋巴瘤 (MCL) 的受试者。没有基于先前的同种异体干细胞移植 (SCT) 而排除受试者,并且对于单采术不需要最小绝对淋巴细胞计数 (ALC)。

[0914] 单独评估55名受试者的核心子集 (所述子集不包括那些具有较差表现状态 (ECOG 2)、从边缘区淋巴瘤 (MZL) 转化的DLBCL和/或慢性淋巴细胞白血病 (CLL,Richter's) 的受试者的子集 (核心子集)) 在这个时间点的结果。

[0915] 完整和核心群组的人口统计学和基线特征示于表8中。

[0916]

表8.人口统计学和基线特征		
特征	完整 N=55	核心 N=44
中值年龄, 岁 (范围)	61 (29-82)	61 (29-82)
≥ 65岁, n (%)	22 (40)	17 (39)

[0917]

男/女, n (%)	38/17 (69/31)	28/16 (64/36)
自诊断起的月数, 中值 (范围)	17 (3-259)	20 (8-259)
B-NHL亚型, n (%)		
DLBCL, NOS	40 (73)	35 (80)
转化DLBCL	14 (26)	8 (18)
滤泡型, 3B级	1 (2)	1 (2)
分子亚型, n (%)		
双重/三重命中	15 (27)	12 (27)
双表达子	6 (11)	4 (9)
患者特征, n (%)		
化疗难治性 [†]	42 (76)	34 (77)
ECOG 0-1	48 (87)	44 (100)
ECOG 2	7 (13)	0
先前治疗线, 中值 (范围)	3 (1-11)	3 (1-8)
<5线治疗	44 (80)	37 (84)
任何HSCT	27 (49)	22 (50)
同种异体	4 (7)	3 (7)
自体	24 (44)	20 (45)

[0918] *到最后一次含化疗方案的SD或PD或在自体SCT后<12个月复发

[0919] 所给予的治疗性T细胞组合物是通过包括从来自待治疗的单独受试者的白细胞分离术样品对CD4+和CD8+细胞进行基于免疫亲和力的富集的过程产生的。用编码抗CD19 CAR的病毒载体激活并转导所分离的CD4+和CD8+T细胞, 然后对工程化细胞群进行扩增和冷冻保存。CAR含有源自鼠类抗体的抗CD19scFv、源自免疫球蛋白的间隔子、源自CD28的跨膜结构域、源自4-1BB的共刺激区域和CD3-ζ细胞内信号传导结构域。

[0920] 在静脉内给予之前将冷冻保存的细胞组合物解冻。通过给予以约1:1的目标比率给予的经配制CD4+CAR+细胞群和经配制CD8+CAR+群体, 将治疗性T细胞剂量作为定义的细胞组合物来给予。向受试者给予表达CAR的T细胞的单一剂量或双剂量 (每个单一剂量分别通过表达CAR的CD4+T细胞和表达CAR的CD8+T细胞的单独输注来给予), 如下: 含有 5×10^7 个表达CAR的总T细胞的剂量水平1 (DL1) 的单一剂量 (n=30); DL1的双剂量, 其中每个剂量相

隔约十四 (14) 天给予 ($n=6$, 包括一名由于给药错误而无意中通过二剂量时间表接受两次 DL2 剂量的受试者); 或含有 1×10^8 个 (DL2) 表达 CAR 的总 T 细胞的剂量水平 2 (DL2) 的单一剂量 ($n=18$)。在 CAR+T 细胞输注前三 (3) 天开始, 受试者接受采用氟拉滨 (flu, $30\text{mg}/\text{m}^2$) 和环磷酰胺 (Cy, $300\text{mg}/\text{m}^2$) 的淋巴细胞清除化学疗法。

[0921] B. 安全性

[0922] 评估 CAR-T 细胞疗法的治疗紧急不良事件 (TEAE) 的存在或不存在。图 3 描绘观察到已经历实验室异常和在 $\geq 20\%$ 的受试者中发生的 TEAE 的受试者的百分比。除了图 3 中所示的 TEAE 之外, 还在 $\geq 5\%$ 的患者中观察到以下 3-4 级事件项: 白细胞计数下降 (13.6%)、脑病 (12%)、高血压 (7%)。所观察到的毒性程度在剂量水平 1 与 2 之间一致。

[0923] 还评估并监测受试者的神经毒性 (神经系统并发症, 包括以下症状: 意识错乱、失语症、脑病、肌阵挛癫痫、惊厥、嗜睡和/或精神状态改变), 根据国家癌症研究所一常见毒性标准 (CTCAE) 量表 4.03 版 (NCI-CTCAE v4.03), 按 1-5 量表评级。常见毒性标准 (CTCAE) 量表 4.03 版 (NCI-CTCAE v4.03)。参见美国卫生和公共服务部的不良事件通用术语 (CTCAE) 第 4 版, 公开于: 2009 年 5 月 28 日 (v4.03: 2010 年 6 月 14 日); 和 Guido Cavaletti & Paola Marmioli Nature Reviews Neurology 6, 657-666 (2010 年 12 月)。还确定并监测细胞因子释放综合征 (CRS), 并基于严重性进行评级。

[0924] 在 84% 的完整群组受试者中, 未观察到严重 (3 级或更高级) 细胞因子释放综合征 (CRS) 和严重神经毒性。此外, 据观察, 完整群组受试者中的 60% 未发生任何等级的 CRS 或神经毒性。在剂量水平之间没有观察到 CRS、神经毒性 (NT)、sCRS 或严重神经毒性 (sNT) 的发生率的差异。表 9 汇总了在接受至少一个剂量的 CAR-T 细胞后 28 天, 患者中细胞因子释放综合征 (CRS) 和神经毒性不良事件的发生率。如表 9 中所示, 在接受单剂量 DL2 或双剂量 DL1 的任何受试者中均未观察到 sCRS (3-4 级)。在完整群组受试者中的 16% (9/55) 和核心子集受试者中的 18% (8/44) 中观察到严重神经毒性或严重 CRS (3-4 级)。11% ($n=6$) 的受试者接受托西利珠单抗, 24% ($n=13$) 的受试者接受地塞米松。在完整群组内的 ECOG2 受试者中, 所观察到的 CRS 和神经毒性的比率分别为 71% 和 29%。

[0925]

表9.对CRS和神经毒性不良事件的存在或不存在的评估					
	完整				核心
	所有剂量水平	DL1S	DL2S	DL1D [†]	
安全性, N	55	30	19	6	44
sCRS或sNT, n(%)	9 (16)	6 (20)	2 (11)	1 (17)	8 (18)
CRS或NT, n (%)	22 (40)	12 (40)	7 (37)	3 (50)	15 (34)
CRS					
1-2级, n (%)	18 (33)	10 (33)	5 (26)	3 (50)	12 (27)
3-4级, n (%)	1 (2)	1 (3)	0	0	1 (2)
神经毒性					
1-2级, n (%)	3 (6)	1 (3)	2 (11)	0	2 (5)
3-4级, n (%)	9 (16)	6 (20)	2 (11)	1 (17)	8 (18)

[0926] [†]Inclu[†]包括一名由于给药错误而按DL2 2-剂量时间表治疗的患者

[0927] 图4显示描绘所观察到的至CRS和/或神经毒性发作的时间的Kaplan meier曲线。如图所示,所观察到的到CRS发作和神经毒性发作的中值时间分别为5天和11天,其中在开始给予细胞疗法后不到72小时,仅11%的患者经历CRS发作。到CRS和神经毒性消退至1级或更佳的中值时间分别为5天和7天。到CRS和神经毒性完全消退的中值时间分别为5天和11天。结果与以下结论一致:受试者中任何CRS或神经毒性的早期发作率都较低。

[0928] C. 对治疗的反应

[0929] 在给予CAR+T细胞后1、3、6、7、12、18和24个月监测受试者的反应,包括通过评估肿瘤负荷来监测。反应率列于表10中。在受试者群组中观察到高持久反应率,所述群组包括过度预处理或具有较差预后和/或具有复发或难治性疾病的受试者。对于核心(n=44)群组中所有剂量的受试者,所观察到的总体反应率(ORR)为86%,并且所观察到的完全反应(CR)率为59%。对于核心群组,在三个月时,总体反应率(ORR)为66%;在核心群组中三个月的CR率为50%。在核心群组中,3个月的ORR在剂量水平1下为58%(11/19),在剂量水平2下为78%;剂量水平1的3个月CR率为42%(8/19),并且剂量水平2为56%(5/9),与所提出的对治疗结果的剂量反应效应一致。另外,所述结果符合剂量与反应持久性之间的关系。

[0930]

表10.反应					
	完整				核心
	所有剂量水平	DL1S	DL2S	DL1D ^c	所有剂量水平
最佳总体反应, N ^a	54	30	18	6	44
ORR, % (95% CI)	76 (62, 87)	80 (61, 92)	72 (47, 90)	67 (23, 96)	86 (73, 95)
CR, % (95% CI)	52 (38, 66)	53 (34, 72)	50 (26, 74)	50 (12, 88)	59 (43, 74)
≥ 3个月 f/u, nb	41	24	11	6	32
3 个月 ORR, % (95% CI)	51 (35, 67)	46 (26, 67)	64 (31, 89)	50 (12, 88)	66 (47, 81)
3 个月 CR, % (95% CI)	39 (24, 56)	33 (16, 55)	46 (17, 77)	50 (12, 88)	50 (32, 68)

[0931] DL1S:DL1 1-剂量时间表;DL2S:DL2 1-剂量时间表;DL1D:DL1 2-剂量时间表;

[0932] ^a包括具有PD、死亡或28天重分期扫描(restaging scan)事件的患者。

[0933] 不包括在数据快照前<28天治疗的患者。

[0934] ^b分母是在数据快照日期之前(在第3个月进行功效评估或者先前的PD或死亡评估),在≥3个月前接受CAR T细胞疗法的患者数量。

[0935] ^c包括一名由于给药错误而按DL2 2-剂量时间表治疗的患者

[0936] 完整和核心群组中各个亚组的受试者之间的总体反应率分别显示于图5A和5B中。在风险较低的DLBCL亚组中,反应率总体上较高。在具有双重/三重命中分子亚型的患者中,在3个月时观察到大于50%的ORR,所述患者患有原发性难治性或化疗难治性DLBCL或从未实现过CR。在2名患者中观察到淋巴瘤的CNS受累的完全消退。

[0937] 在评价的特定时间点之前六个月或更长时间治疗的受试者中,十(10)名患者在三个月时已经处于反应中,9名(90%)在六个月时仍有反应。在评价时间点,核心子集中97%已经反应的受试者存活并且处于随访中,中值随访时间为3.2个月。

[0938] 对于受试者的完整和核心群组,反应持续时间和总体存活的结果(按最佳总体反应(无反应者、CR/PR、CR和/或PR)分组)分别显示于图6A和6B中。如图所示,在反应者中观察到延长的存活,且在具有CR的受试者中观察到反应持久性增加。虽然5/6的具有较差表现状态(ECOG 2)的受试者已经期满,但所有在三个月时处于反应中的患者在评价时都保持存活。

[0939] C.对血液中的CAR+T细胞的评估

[0940] 进行药代动力学分析以评估在治疗后不同时间点外周血中的CAR⁺T细胞数量。如图7A中所示,在两个所给予剂量水平下,在整个评估过程中检测表达CAR的CD4⁺和CD8⁺细胞,如通过在对数标度上标绘的细胞数量/ μ L血液(中值 \pm 四分位数)所测量。

[0941] 如与较低剂量水平相比,在给予较高剂量水平的受试者中观察到中值曲线下面积(AUC)(随时间血液中的CD8⁺CAR⁺细胞数量)增加,没有观察到毒性增加。在反应者(CR/PR)中观察到高于非反应者(PD)的峰值CD8⁺/CAR⁺T细胞暴露;即使在疾病已经进展的受试者中,也观察到在评估期间(包括至3个月和6个月时)细胞的持久性(图7B)。结果与以下结论一致:即使在具有较差反应的受试者中,治疗也导致工程化细胞的暴露和持久性延长。在一些实施方案中,使用组合途径,例如在工程化细胞持续存在于受试者中的时间(例如,如通过外周血中的细胞水平所测量),例如在复发或疾病进展后,例如可给予免疫检查点调节剂或其他免疫调节剂。在一些方面,在给予其他药剂或治疗之后,已经持续延长时间的细胞再次扩增或被激活和/或展现抗肿瘤功能。通常在发生神经毒性的受试者的血液中随时间观察到较高的中值CD4⁺和CD8⁺CAR⁺T细胞数量(图7C)。

[0942] D.血液分析物和神经毒性

[0943] 在给予CAR+T细胞之前,在受试者的血液中测量各种治疗前血液分析物,包括细胞因子。使用统计学分析评估与发生神经毒性的风险的潜在相关性。图8显示在CAR+T细胞疗法后未发生神经毒性的受试者与发生神经毒性的受试者中,以单位(LDH,U/L;铁蛋白,ng/mL;CRP,mg/L;细胞因子,pg/mL)表示的所评估分析物的中值水平。观察到某些血液分析物(包括LDH、铁蛋白、CRP、IL-6、IL-8、IL-10、TNF- α 、IFN- α 2、MCP-1和MIP-1 β)的水平与发生神经毒性的风险水平相关(Wilcoxon p值<0.05,不进行多重数调节)。具体而言,所述结果与以下结论一致:LDH(其在一些实施方案中是疾病负荷的替代物)的治疗前水平可用于潜在神经毒性风险评估和/或对某些受试者的治疗的风险适应性给药或调整。此外,在给予CAR-T细胞组合物之前测量的肿瘤负荷与发生神经毒性的风险相关(Spearman p值<0.05)。在一些方面,LDH水平可以单独评估和/或与另一种治疗前参数组合评估,所述另一种治疗前参数例如为疾病负荷的另一种量度或指示物,例如肿瘤体积测量值,例如尺寸乘积之和(SPD)或疾病负荷的其他基于CT或基于MRI的体积测量值。在一些方面,对指示疾病负荷的一个或多个参数进行评估,并且在一些情况下所述一个或多个参数可以指示在T细胞疗法后发生神经毒性的风险的存在、不存在或程度。在一些方面,所述一个或多个参数包括LDH和/或体积肿瘤测量值。

[0944] 图9显示标绘完整和核心群组内单独受试者的无进展时间(月)的图。每个条形代表单个患者。阴影指示最佳总体反应(在每种情况下,除非另有指示,否则是在1个月时实现);纹理指示剂量(实心=剂量水平1(DL1),单一剂量;交叉阴影线,剂量水平2(DL2),单一剂量;竖直阴影线=剂量水平1(DL1),双剂量)。水平箭头指示正在进行的反应。某些单独

受试者最初(例如,在1个月时)被评估为展现稳定疾病(SD)或部分反应(PR),并且随后观察到已经实现PR(例如,SD转化为PR)或CR。在此类情况下,如图所示,单独患者条形的阴影指示最佳总体反应,并且沿着每个单独受试者条形的点(与阴影同样对应于所实现的反应)指示在受试者中观察到每例SD、PR和/或CR发生的时间。在两名患者中观察到淋巴瘤的CNS受累的完全消退。观察到一名受试者中的CAR+细胞在复发后在活组织检查后扩增。

[0945] 实施例4:向患有套细胞淋巴瘤(MCL)的受试者给予表达抗CD19 CAR的细胞

[0946] 将含有表达对CD19具有特异性的嵌合抗原受体(CAR)的自体T细胞的治疗性CAR+T细胞组合物(如实施例1中所述来产生)给予至四(4)名患有套细胞淋巴瘤(MCL)且1线治疗已经失败的人受试者。在静脉内给予之前将冷冻保存的细胞组合物解冻。将治疗性T细胞组合物作为定义的组合物细胞产物来给予,其具有源自相同受试者的CAR+工程化T细胞的经配制CD4+和CD8+群体,以约1:1的目标比率来给予。以含有 5×10^7 个表达CAR的T细胞的剂量水平1(DL1)的单一剂量向受试者给予表达CAR的T细胞的剂量(作为表达CAR的CD4+和CD8+T细胞的分割剂量)。在CAR+T细胞输注前三(3)天开始,受试者接受采用氟拉滨(flu, 30mg/m²)和环磷酰胺(Cy, 300mg/m²)的淋巴细胞清除化学疗法。

[0947] 如实施例1中所述监测受试者的反应和毒性。在任何受试者中均未观察到CRS或神经毒性。在所治疗的4名受试者中,两(2)名受试者实现PR(非持久),且两(2)名受试者患有进行性疾病。

[0948] 实施例5:在给予表达抗CD19 CAR的细胞后,在患有复发和难治性非霍奇金淋巴瘤(NHL)的受试者中对药代动力学、药效学和血液分析的进一步评估

[0949] 在上文实施例3中所述临床研究中的后续时间点,在患者中评估药代动力学和药效学参数以及血液分析物。

[0950] A. 受试者、反应和安全性

[0951] 在这个实施例中呈现的这个时间点的分析是基于对完整的DLBCL群组(评估88名(34名来自核心群组)的反应并评估91名的安全性)中总计91名受试者的评估,已经向所述受试者给予表达抗CD19 CAR的细胞。如表11中所示。客观反应率(ORR)为74%,包括52%的显示完全反应(CR)的受试者。任何等级的细胞因子释放综合征(CRS)的发生率为35%,其中严重CRS为1%;并且任何等级的神经毒性(NT)的发生率为19%,其中严重NT为1%。

表11.给予CAR+细胞后的反应和安全性

	完整	核心		
	所有剂量水平	所有剂量水平 ^a	DL1S	DL2S
最佳总体反应 (BOR), n ^b	88	65	34	27
ORR, % (95% CI)	74 (63,83)	80(68, 89)	77 (59,89)	82 (62, 94)
CR, % (95% CI)	52 (41,63)	55(43, 68)	47 (30, 65)	63 (42, 81)
安全性, n ^c	91	67	34	29
任何CRS, % (95% CI)	35 (25, 46)	36 (24, 48)	41 (25, 59)	24 (10, 44)
sCRS (3-4级), % (95% CI)	1 (0, 6)	1 (0, 8)	38 (0, 15)	0
任何NTx, % (95% CI)	19 (11,28)	21 (12, 33)	24 (11, 41)	17 (6, 36)
sNTx (3-4级), % (95% CI)	12 (6, 21)	15 (7, 26)	21 (9, 38)	7 (1, 23)

[0952] a四名按DL1D (剂量水平1,双剂量时间表) 治疗的患者具有相似结果。

[0954] b包括具有PD、死亡或28天重分期扫描的事件的患者。一名患者未能进行重分期扫描。

[0955] c包括所有在数据快照日期前28天已经接受至少一个剂量的表达CAR的合规细胞产物或死亡的受试者。

[0956] B. 药代动力学评估

[0957] 在DLBCL群组中具有可评估PK的86名受试者中,在给予前 (治疗前或淋巴细胞清除化疗法 (LDC) 前) 的时间点和治疗后的各个时间点 (以给予当天为第1天) 的外周血和骨髓中的CAR⁺T细胞数量,其是通过流式细胞术 (使用对用作替代标记的截短受体具有特异性的抗体) 以及定量聚合酶链式反应 (qPCR) (使用对存在于编码嵌合抗原受体 (CAR) 的载体中的土拨鼠肝炎病毒转录后调节元件 (WPPE) 具有特异性的引物) 来评估。评估标绘在第0天与第28天之间所指示CAR+细胞群的每微升数量的曲线下面积 (AUC₀₋₂₈), 以及CAR+细胞的最大或峰值血液浓度 (C_{max}; CAR⁺细胞/μL血液)。通过流式细胞术,通过用CD19染色在外周血中评估B细胞发育不良。使用多重细胞因子测定来测量细胞因子。对于安全性分析,汇集来自所有接受不同剂量水平的受试者的数据。对于反应分析,将数据按剂量水平分层。统计学分析是双侧的,不进行多重数调节。

[0958] 图10A显示如通过qPCR或qPCR所评估,在各个所指示时间点检测到的每微升血液中的CAR⁺T细胞数量。图10B显示在第11+3天每微升血液与每微升骨髓中的CAR+细胞。如图10A中所示,通过基于流式细胞术的测定和基于qPCR的测定二者观察来自受试者的样品中表达CAR的细胞的水平。如图10B中所示,评估具有PK结果的所有受试者 (对于流式细胞术和

qPCR, 分别为 $n=87$ 和 85), 显示血液和骨髓中可检测数量的表达CAR的细胞。结果与以下观察结果一致: CAR+T细胞被相似地输送至骨髓和血液。

[0959] 在以下不同的患者亚组中比较表达CAR的CD4+和CD8+细胞随时间的水平(如通过 AUC_{0-28} 和 C_{max} 所评估): 从头或从滤泡性淋巴瘤转化的弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL, NOS; $N=27$)、转化的滤泡性淋巴瘤(tFL; $N=10$)、从边缘区淋巴瘤或慢性淋巴细胞白血病转化的DLBCL(tMZL/tCLL; $N=4$)、或套细胞淋巴瘤(MCL; $N=5$), 所述患者已经以DL1接受表达CAR的T细胞。如图11A和11B中所示, AUC_{0-28} 和 C_{max} 在不同疾病亚组中的受试者之间变化, 其中表达CAR的CD4+和CD8+细胞的扩增在非核心子集中趋于较低。

[0960] C. 依据剂量水平的药代动力学评估

[0961] 还在核心群组(患有DLBCL、NOS或高级B细胞淋巴瘤的受试者(双重/三重命中); $N=65$)中比较已经接受剂量水平1(DL1)的受试者与已经接受剂量水平2(DL2)的受试者的表达CAR的CD3+、CD4+和CD8+细胞的 AUC_{0-28} 和 C_{max} 。如图12A和12B以及表12中所示, 与接受DL1的受试者相比, 在接受DL2的受试者中观察到表达CAR的CD3+、CD4+和CD8+细胞的中值 AUC_{0-28} 较高。类似地, 在完整DLBCL群组中观察到, 在接受DL2的受试者中有较高的扩增趋势。如与接受DL1的受试者相比, 在接受DL2的受试者中也观察到3个月时有较高的反应持久性(DOR), 而毒性没有增加。在接受DL1与DL2的受试者之间, 到CD4+和CD8+CAR+细胞的 C_{max} 的中值时间(T_{max})是相似的。

[0962] 在DL2与DL1中观察到CAR+T细胞暴露增加, 这对应于DL2受试者中有增加的反应持久性, 而没有增加的毒性。

表12.核心群组中依据剂量水平分组的受试者的药代动力学

	DL1S (n = 32)	DL2S (n = 27)	总数, DL1S和DL2S (n = 59)
CD3⁺			
C_{max}, 中值 (细胞/μL)	48.2	96.2	65.8
Q1, Q3	15.6, 151.3	30.2, 219.5	19.0, 204.2
Min, max	0.1, 7726.3	1.1, 1280.9	0.1, 7726.3
T_{max}, 中值 (天)	14.5	15.0	15.0
Q1, Q3	11, 15	11, 15	11, 15
Min, max	9, 24	8, 31	8, 31
AUC₀₋₂₈, 中值 (细胞*天/μL)	477.7	823.1	542.4
Q1, Q3	165.9, 999.3	155.8, 3628.3	155.8, 3381.9
Min, max	1.8, 142816.7	16.5, 16087.8	1.8, 142816.7
CD4⁺			
C_{max}, 中值 (细胞/μL)	7.0	14.9	7.7
Q1, Q3	2.6, 46.0	2.0, 46.8	2.5, 46.8
Min, max	0.1, 3039.9	0.2, 169.4	0.1, 3039.9
T_{max}, 中值 (天)	14.0	15.0	15.0
Q1, Q3	11, 15	11, 15	11, 15
Min, max	8, 24	8, 31	8, 31
AUC₀₋₂₈, 中值 (细胞*天/μL)	71.1	166.1	91.5
Q1, Q3	26.4, 274.7	18.1, 679.0	23.9, 368.8
Min, max	1.2, 68990.3	2.9, 4266.8	1.2, 68990.3
CD8⁺			
C_{max}, 中值 (细胞/μL)	26.1	62.8	43.6
Q1, Q3	3.7, 111.2	26.2, 171.7	9.1, 151.6

[0963]

[0964]	Min, max	0.0, 5237.6	0.7,1261.8	0.0, 5237.6
	T _{max} , 中值 (天)	15.0	15.0	15.0
	Q1, Q3	11, 16	11, 17	11, 16
	Min, max	4, 28	8, 31	4, 31
	AUC ₀₋₂₈ , 中值 (细胞*天/ μ L)	347.2	606.6	412.2
	Q1, Q3	52.1,871.4	155.7,2463.4	72.1,1852.5
	Min, max	0.3, 81865.9	4.7, 15570.0	0.3, 81865.9

[0965] D.持久性

[0966] 分别基于可检测的表达CAR的CD3⁺、CD4⁺或CD8⁺细胞水平和在血液中检测到的CD19⁺B细胞水平,在已经给予CAR+T细胞的患有DLBCL的可评价受试者中于不同时间点评估表达CAR的细胞和CD19+B细胞发育不良 (CD19+B细胞数量低或不存在) 的持久性。结果列于表13中。在进展时评价的受试者 (n=37) 中,在进展时观察到中值为0.17个CD4+CAR+表达细胞/ μ L (范围,0-65.5个细胞/ μ L),并在进展时观察到中值为0.15个CD8+CAR+细胞/ μ L (范围,0-131.8个细胞/ μ L)。在复发 (在实现CR/PR后进展) 时评价的受试者 (n=12) 中,观察到中值0.17个表达CAR的CD4+细胞/ μ L (范围,0-35.1个细胞/ μ L) 和中值0.20个细胞/ μ L (范围,0-131.8个细胞/ μ L)。在复发时观察到表达CAR的CD8+细胞。在12个月时在75%的患有DLBCL的可评价受试者中观察到表达CAR的细胞的长期持久性。还在12个月时在75%的受试者中以及在不论何种复发状态的受试者中观察到B细胞发育不良的长期持久性。所述结果与以下结论一致:表达抗CD19 CAR的细胞在大多数受试者中展现长期持久性,并且表明即使在复发患者中也有持续进行低水平疾病控制的潜力。

[0967] 在复发的受试者中,91.7% (11/12) 在复发时在血液中具有可检测的表达CAR的细胞。这个结果与以下结论一致:在一些实施方案中,组合疗法或其他干预可以用于扩大和/或加强表达CAR的细胞 (例如可被消耗的那些)。

[0968]	表13.CAR+细胞长期持久性和CD19发育不良						
		第3个	第6个	第9个	第12个	在进展	在复发
		月	月	月	月	时	时

[0969]

可评价的患者中的CAR T持久性, n	50	30	18	12	37	12
CD3 ⁺ , %	100	80.0	77.8	75.0	91.9	91.7
CD4 ⁺ , %	88.0	63.3	50.0	41.7	83.8	83.3
CD8 ⁺ , %	90.0	70.0	55.6	50.0	83.8	75.0
CD19 ⁺ B细胞发育不良 (<1个细胞/ μ L), %	96.0	93.3	77.8	75.0	97.3	100

[0970] E. 药代动力学评估和毒性

[0971] 还比较了具有任何等级(在这个评估中,1-4级中的任一级;没有观察到5级CRS或NT)细胞因子释放综合征(CRS)或神经毒性(NT)的受试者与未被评估为展现任何等级的CRS或NT的受试者的表达CAR的CD4⁺和CD8⁺细胞的AUC₀₋₂₈和C_{max}。无CRS(0级)的中值CD4⁺CAR⁺AUC₀₋₂₈(Q1,Q3)为59(18,210),并且任何CRS(1-4级)为267(91,1510)(p=0.001);无CRS(0级)的中值CD8⁺CAR⁺AUC₀₋₂₈(Q1,Q3)为310(36,900),并且任何CRS(1-4级)为605(174,5619)(p=0.021);无NT(0级)的中值CD4⁺CAR⁺AUC₀₋₂₈(Q1,Q3)为71(23,244),并且任何NT(1-4级)为1269(184,3057)(p=0.003);无NT(等级0)的中值CD8⁺CAR⁺AUC₀₋₂₈(Q1,Q3)为304(43,799),并且任何NT(1-4级)为2463(607,7691)(p=0.004)。如上所述并且如图13A-13D中所示,随时间较高的表达CAR的CD4⁺和CD8⁺细胞水平与CRS和NT相关。

[0972] F. 药代动力学评估和反应

[0973] 在具有CR、PR或PD的最佳总体反应(BOR)的受试者中随时间评估峰值CD3⁺CAR⁺细胞/ μ L(CD3+C_{max})的数量。如图14中所示,在具有较高扩增的受试者中观察到朝向更佳BOR的趋势,且受试者之间具有可变性。

[0974] G. 依据血液分析物和患者参数的药代动力学评估

[0975] 如与展现CAR+CD3+血液C_{max}<500的受试者(N=7)中相比,在展现CAR+CD3+血液C_{max}>500的受试者(N=55)中评估在CAR+T细胞治疗前(淋巴细胞清除化学疗法前)的血浆细胞因子水平,包括白细胞介素-7(IL-7)、IL-15、巨噬细胞炎性蛋白(MIP-1 α)的水平。如图15A中所示,观察到升高的在CAR+T细胞治疗前的细胞因子血浆水平与CAR+CD3+C_{max}>500相关。

[0976] 如与展现CAR+CD3+血液C_{max}<500的受试者(N=9)相比,还在展现CAR+CD3+血液C_{max}>500的受试者(N=68)中评估各种血浆细胞因子(IL-6、IL-10、IL-16、干扰素 γ (IFN- γ)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、MIP-1 α 、MIP-1 β 、单核细胞趋化蛋白-1(MCP)和C-X-C基序趋化因子10(CXCL10))的峰值水平。如图15B中所示,观察到较高峰值细胞因子水平与CAR+CD3+C_{max}>500相关(WilcoxonP值<0.05;不进行多重数调节)。

[0977] 评估在CAR+T细胞治疗前(淋巴细胞清除化学疗法(LDC)前)体积肿瘤测量值尺寸乘积之和(SPD)(作为肿瘤负荷的指示物)与CD3⁺CAR⁺T细胞的AUC₀₋₂₈(代表随时间的CAR+T暴露)之间的关系。如图16中所示,在基线SPD与CD3⁺AUC₀₋₂₈之间观察到正相关性,且Spearman相关系数为0.32且p=0.019。

[0978] H. 治疗前患者参数和反应及毒性结果

[0979] 比较具有任何等级(此处为1-4级)细胞因子释放综合征(CRS)或神经毒性(NT)的

受试者与不任何CRS或NT(0级)的受试者的CAR+T细胞治疗前(LDC前)分析物水平,包括细胞因子和炎性标记(如铁蛋白、C反应蛋白(CRP)、D-二聚体(纤维蛋白降解产物)、IL-6、IL-10、IL-15、IL-16、TNF- α 、MIP-1 α 和MIP-1 β)水平。在这个群组中,在具有1-4级CRS的受试者中,除了一个CRS事件之外的所有CRS事件都被确定为1级或2级。如图17A(CRS)和图17B(NT)中所示,基于单变量分析,观察到较高峰值血浆细胞因子水平和炎性标记水平与CRS和NT相关(除了CRS的铁蛋白($p=0.14$)和CRS的CRP($p=0.09$)外,所有分析物的Wilcoxon P值 <0.05)。

[0980] 在未观察到发生CRS或神经毒性的受试者与观察到已发生CRS或NT的受试者之间比较治疗前(LDC前)患者参数,例如乳酸脱氢酶(LDH)水平和作为肿瘤负荷指示物的体积肿瘤测量值,例如尺寸乘积之和(SPD)。如图18中所示,使用单变量统计学分析,具有CRS或NT的受试者展现较高水平的治疗前患者参数,例如SPD和LDH水平;观察到此类水平与CRS或NT相关。所观察到的与CRS和NT相关的其他患者参数包括自诊断以来的较短时间(对于CRS和NT分别为 $p=0.05$ 和 $p=0.09$)。所观察到的与CRS或NT无关的患者参数包括年龄(分别为 $p=0.19$ 和 $p=0.54$)和先前治疗次数(分别为 $p=0.67$ 和 $p=0.59$)和患者体重(分别为 $p=0.35$ 和 $p=0.44$)。

[0981] 图19A显示单独患者中的治疗前SPD和LDH水平(点;单独点的阴影指示单独的患者是否展现任何等级的神经毒性(左侧图)或者是否展现任何等级的CRS(右侧图))。在图19A中,y轴和x轴上的虚线分别描绘 $SPD \geq 50\text{cm}^2$ 和 $LDH \geq 500$ 。如图19A中所示,观察到约 50cm^2 或更高的SPD和/或约500或更高的LDH与NT和CRS的风险相关。在高于或低于图19A中虚线所指示SPD和LDH水平的受试者中发生CRS或NT的计算优势比估计值(置信区间(CI)为95%)描绘于图19B中。超过1的优势比指示发生CRS或NT的概率或可能性增加。如图所示,观察到 50cm^2 或更高的SPD和500或更高的LDH与增加的发生CRS或NT的风险有关。观察到 50cm^2 或更高的SPD和500或更高的LDH与约8倍增加的发生任何等级CRS和NT的风险相关。

[0982] 使用单变量统计学分析比较具有和不具有3个月时的持久反应的受试者的各种治疗前(LDC前)患者参数,包括与肿瘤负荷相关的标记(SPD)、炎性细胞因子和其他血液分析物,包括LDH、铁蛋白、CRP、D-二聚体、SAA-1、IL-6、IL-10、IL-15、IL-16、TNF- α 、IFN- γ 和MIP-1 α 。如图20中所示,观察到肿瘤负荷的某些标记、炎症的标记或炎性细胞因子在展现持久反应的受试者中较低(除了SPD($p=0.1274$)之外,所有参数的 p 值 <0.05)。

[0983] I. 峰值血液分析物、反应和毒性

[0984] 比较具有1-4级细胞因子释放综合征(CRS)或神经毒性(NT)的受试者与未观察到具有任何CRS或NT的受试者的血液分析物的峰值治疗后血浆水平,所述血液分析物包括细胞因子和炎性标记,如CRP、血清淀粉样蛋白A1(SAA-1)、IL-2、IL-6、IL-10、IL-15、TNF- α 、MIP-1 α 、MIP-1 β 、MCP-1、CXCL10和C-C基序趋化因子配体13(CCL13)。如图21A(CRS)和图21B(NT)中所示,观察到较高峰值血浆细胞因子水平和炎性标记水平与CRS和NT相关(无CRS与任何CRS以及无NT与任何NT的Wilcoxon P值 <0.001 ,IL-15除外(分别为 $P=0.05$ 和 0.006))。

[0985] 与具有稳定疾病(SD)或进行性疾病(PD)的受试者($N=17$)的水平相比,对于具有完全反应(CR)或部分反应(PR)的最佳总体反应(BOR)的受试者($N=57$);或者与在3个月展现CR/PR的受试者($N=35$)相比,对于具有3个月的SD或PD(SD/PD)的受试者($N=31$),评估血液分析物的峰值血浆水平,所述血液分析物包括细胞因子和炎性标记,如CRP、SAA-1、IL-5、

IL-6、IL-7、IL-8、IL-15、淋巴毒素- α (LT- α)、TNF- α 、IFN- γ 、MIP-1 α 、MIP-1 β 、MCP-1、CXCL10和转化生长因子 β (TGF- β)。如图22A (最佳总体反应 (BOR)) 和图22B (第3个月的反应) 中所示,观察到较低峰值血浆细胞因子水平和炎症标记水平与较佳的BOR和第3个月的反应相关 (Wilcoxon P值<0.05,不进行多重数调节)。

[0986] 实施例6:基于峰值CAR T细胞数量的反应、持久反应和毒性的概率

[0987] 在给予表达抗CD19 CAR的细胞后,在来自上文实施例3-5中所述临床研究的核心DLBCL群体中的可评估受试者中,基于CAR+表达细胞的峰值数计算反应、持久反应和毒性的概率。受试者包括在实施例5中的时间点分析的那些。

[0988] 基于表达CAR的CD3+、CD4+或CD8+细胞的最大血液浓度 (C_{\max} ; 细胞/ μ L血液), 得到反应 (总体反应率, ORR; 包括具有完全反应 (CR) 和部分反应 (PR) 的受试者)、3个月反应 (M3反应; 包括给予后第3个月的CR和PR)、任何NT、任何CRS、3-4级NT、3-5级NT或2-5级CRS的估计概率曲线。对于概率曲线,使用线性逻辑回归模型拟合,但CD3+的第3个月的CR/PR和CD8+的第3个月的CR/PR (其中使用二次模型拟合) 除外。

[0989] 如图23A (CD3+)、图23B (CD8+) 和图23C (CD4+) 中所示,观察到较高CD3+、CD8+和CD4+扩增与CRS、NT和反应 (ORR) 的增加比率相关。观察到较高CD3+和CD8+扩增在高 C_{\max} 下导致持久反应 (3个月时的CR/PR) 的概率降低。

[0990] 所示结果与以下结论一致:某些治疗前患者特征 (包括高肿瘤负荷和高炎症生物标记水平) 与增加的CRS和神经毒性以及增加的CAR T细胞扩增相关。较低持久反应与CAR+细胞数量或扩增的极高水平相关,这与以下观察结果一致:某些高CAR扩增程度可能导致高度扩增的CAR+细胞的消耗。

[0991] 在本文所提供的一些实施方案中,CAR+T细胞暴露或峰值CAR+T细胞水平的治疗范围或窗口是通过所给予的方法或组合物或剂量来靶向和/或实现的,其确实或被设计为使毒性风险最小化和/或使反应可能性和/或反应持久性最大化或最优化。在一些实施方案中,可以向扩增或暴露低于某一水平的受试者给予一种或多种额外的干预,例如以加强CAR-T功能;在一些实施方案中,可例如基于一个或多个所观察参数,向展现高水平暴露或扩增 (例如与毒性风险和/或降低的反应持久性的可能性相关的那些) 的受试者给予一种或多种干预,例如早期或预防措施,例如用于减少或限制CAR+T细胞扩增和/或降低毒性或改善反应持久性的目的的那些措施。

[0992] 在这项研究中,在这个时间点,相对于DL1,在DL2中观察到增加的CAR+T细胞暴露和较高的中值扩增,对应于DL2受试者中有增加的反应持久性 (DOR),而没有增加的毒性。所述结果与以下结论一致:增加的CAR+细胞扩增在一定范围内与持久反应相关,但是极高扩增程度可能与较高毒性风险和/或较低反应持久性相关。在一些实施方案中,某些患者特异性因素 (如基线患者因素,如体内平衡和炎症细胞因子水平以及指示肿瘤负荷的参数) 可能与较高扩增程度和增加的毒性风险有关。

[0993] 本发明并不旨在限于具体公开的实施方案的范围,所提供的实施例例如是为了说明本发明的各个方面。根据本文的描述和传授,对组合物和方法的各种修改将变得清楚。可以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。

[0994] 序列

[0995]

SEQ ID NO.	序列	描述
1	ESKYGPPCPPCP	间隔子 (IgG4 铰链) (aa) 智人
2	GAATCTAAGTACGGACCGCCCTGCCCCCTTGCCCT	间隔子 (IgG4 铰链) (nt) 智人
3	ESKYGPPCPPCPGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHY TQKSLSLGLGK	铰链-CH3 间隔子 智人
4	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSQEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVQLHQLDNLNGKEYKCKVSNK GLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHN HYTQKSLSLGLGK	铰链-CH2-CH3 间隔子 智人
5	RWPESPKAQASSVPTAQPAEGSLAKATTAPATTRNTGRGGEKKKEKEKEEQE ERETKTPECPSTQPLGVYLLTPAVQDLWLRDKATFTCFVVGSDLKDAHLTWEV AGKVPTGGVEEGLLERHSNGSQSQHSRLTLPRSLWNAGTSVTCTLNHPSLPPQR LMALREPAAQAPVKLSLNLLASSDPPEAASWLLCEVSGFSPPNILLMWLEDQRE VNTSGFAPARPPPQPGSTTFWAWSVLRVPAPPSPQPATYTCVVSHEDSRTLLNA SRSLEVSIVTDH	IgD-铰链-Fc 智人
6	LEGGGEGRGSLTCDVEENPGPR	T2A 人工
7	MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPKVCNGIGIGEFKDSLSINATNIKHFKNCTSI	tEGFR

[0996]

	SGDLHILPVAFRGDSFTHTPPLDPQELDILKTVKEITGFLLIQAWPENRTDLHA FENLEIIRGRKQHGQFSLAVVSLNITSLGLRSLKEISDGDVVISGNKNLCYAN TINWKKLFGTSGQKTKIISNRGENSCKATGQVCHALCSPEGCWGPEPRDCVSCR NVSRGRECVDKCNLLEGEPRFVENSECIQCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIQ CAHYIDGPHCVKTCPAGVMGENNTLVWKYADAGHVCHLCHPNCTYGCTGPGLEG CPTNGPKIPSIATGMVGALLLLLVVALGIGLFM	人工
8	FWVLVVVGVLACYSLLVTVAFIIFWV	CD28 (登录号 P10747的氨基酸 153-179) 智人
9	IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLEPGPSKP FWVLVVVGVLACYSLLVTVAFIIFWV	CD28 (登录号 P10747的氨基酸 114-179) 智人
10	RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS	CD28 (P10747的 氨基酸180-220) 智人
11	RSKRSRGGHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS	CD28 (LL到GG) 智人
12	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL	4-1BB (Q07011.1 的 氨基酸214-255) 智人
13	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNP QEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGHGGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR	CD3ζ 智人

[0997]

14	RVKFSRSAEPPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNP QEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR	CD3ζ 智人
15	RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNP QEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR	CD3ζ 智人
16	RKVCNGIGIGIEFKDSLSINATNIKHFKNCTSIGDLHILPVAFRGDSFTHTPPL DPQELDILKTVKEITGFLLIQAWPENRTDLHAFENLEIIRGRTKQHGGFSLAVV SLNITSLGLRSLKEISDGDVVISGKNLCYANTINWKKLFGTSGQTKIISNRG ENSKATGQVCHALCSPEGCWGPEPRDCVSCRNVSRGRECVDKCNLLEGEPREF VENSECIQCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIQCAHYIDGPHCVKTCPAGVMGEN NTLVWKYADAGHVCHLCHPNCTYGCTGPGLEGCP TNGPKIPSIATGMVGALLLL LVVALGIGLFM	tEGFR 人工
17	EGRGSLLTCGDVEENPGP	T2A人工
18	GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP	P2A
19	ATNFSLLKQAGDVEENPGP	P2A
20	QCTNYALLKLAGDVESNPGP	E2A
21	VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP	F2A
22	PGGG- (SGGGG) ₅ -P-, 其中P是脯氨酸, G是甘氨酸并且S是丝氨酸	接头
23	GSADDAKKDAAKKD GKS	接头
24	GSTSGSGKPGSGEGSTKG	接头
25	gacatccagatgaccagaccacctccagcctgagcgccagcctggcgaccgg gtgaccatcagctgccggggccagccaggacatcagcaagtacctgaactggtat cagcagaagcccgacggcaccgtcaagctgctgatctaccacaccagccggctg cacagcggcgctgccagccggttagcggcagcggtccggcaccgactacagc ctgaccatctccaacctggaacaggaagatatcgccacctacttttgccagcag ggcaacacactgccctacacctttggcgggcgaacaaagctggaaatcacccggc agcacctccggcagcggcaagcctggcagcggcgagggcagcaccaagggcgag gtgaagctgcaggaaagcgccctggcctggtggccccagccagagcctgagc gtgacctgcaccgtgagcggcgctgagcctgcccactacggcgtgagctggatc cggcagccccccaggaagggcctggaatggctggcgctgatctggggcagcgag	编码scFv的序列

[0998]

	accacctaactacaacagcgccctgaagagccggctgaccatcatcaaggacaac agcaagagccaggtgttctctgaagatgaacagcctgcagaccgacgacaccgcc atctactactgcgccaagcactactactacggcggcagctacgccatggactac tggggccagggcaccagc gtgaccgtgagcagc	
26	X ₁ PPX ₂ P X ₁ 是甘氨酸、半胱氨酸或精氨酸 X ₂ 是半胱氨酸或苏氨酸	铰链
27	Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro	铰链
28	Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro	铰链
29	ELKTP LGDTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTP PPCPRCP	铰链
30	Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro	铰链
31	Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro	铰链
32	Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro	铰链
33	Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro	铰链
34	Glu Val Val Val Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro	铰链
35	RASQDISKYLN	FMC63 CDR L1
36	SRLHSGV	FMC63 CDR L2
37	GNTLPYTFG	FMC63 CDR L3
38	DYGVS	FMC63 CDR H1
39	VIWGSETTYNSALKS	FMC63 CDR H2
40	YAMDYWG	FMC63 CDR H3
41	EVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVWGS ETTYNSALKSRLTIKDNKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCAKHYYYGGSYAMD YWGQGTSVTVSS	FMC63 VH
42	DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRL HSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEIT	FMC63 VL
43	DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRL HSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEITG	FMC63 scFv

[0999]

	STSGSGKPGSGEGSTKGEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWI RQPPRKGLEWLGVIWGSETTYNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTA IYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSVTVSS	
44	KASQNVGTNVA	SJ25C1 CDR L1
45	SATYRNS	SJ25C1 CDR L2
46	QQYNRYPYT	SJ25C1 CDR L3
47	SYWMN	SJ25C1 CDR H1
48	QIYPGDGDTNYNGKFKG	SJ25C1 CDR H2
49	KTISSVDFYFDY	SJ25C1 CDR H3
50	EVKLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQIYPG DGDNTYNGKFKGQATLTADKSSSTAYMQLSGLTSEDSAVYFCARKTISSVDFY FDYWGQGTTVTVSS	SJ25C1 VH
51	DIELTQSPKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNVAWYQQKPGQSPKPLIYSATYR NSGVPDRFTGSGSGTDFTLTITNVQSKDLADYFCQQYNRYPYTSGGGTKLEIKR	SJ25C1 VL
52	GGGGSGGGSGGGGS	接头
53	EVKLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQIYPG DGDNTYNGKFKGQATLTADKSSSTAYMQLSGLTSEDSAVYFCARKTISSVDFY FDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIELTQSPKFMSTSVGDRVSVTCKA SQNVGTNVAWYQQKPGQSPKPLIYSATYRNSGVPDRFTGSGSGTDFTLTITNVQ SKDLADYFCQQYNRYPYTSGGGTKLEIKR	SJ25C1 scFv
54	HYYYGGSYAMDY	FMC63 CDR H3
55	HTSRLHS	FMC63 CDR L2
56	QQGNTLPYT	FMC63 CDR L3

- [0001] 序列表
- [0002] <110> 朱诺治疗有限公司(JUNO THERAPEUTICS, INC.)
- [0003] LI, He
- [0004] ALBERTSON, Tina
- [0005] HEIPEL, Mark
- [0006] SUTHERLAND, Claire
- [0007] <120> 确定细胞疗法中的给药的方法
- [0008] <130> 735042009240
- [0009] <140> 尚未分配
- [0010] <141> 同时随同提交
- [0011] <150> 62/515,523
- [0012] <151> 2017-06-05
- [0013] <150> 62/514,765
- [0014] <151> 2017-06-02
- [0015] <150> 62/429,738
- [0016] <151> 2016-12-03
- [0017] <160> 56
- [0018] <170> FastSEQ for Windows Version 4.0
- [0019] <210> 1
- [0020] <211> 12
- [0021] <212> PRT
- [0022] <213> 智人(Homo sapiens)
- [0023] <220>
- [0024] <223> 间隔子(IgG4铰链)
- [0025] <400> 1
- [0026] Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro
- [0027] 1 5 10
- [0028] <210> 2
- [0029] <211> 36
- [0030] <212> DNA
- [0031] <213> 智人(Homo sapiens)
- [0032] <220>
- [0033] <223> 间隔子(IgG4铰链)
- [0034] <400> 2
- [0035] gaatctaagt acggaccgcc ctgccccct tgcct 36
- [0036] <210> 3
- [0037] <211> 119
- [0038] <212> PRT

[0039]	<213> 智人(Homo sapiens)																			
[0040]	<220>																			
[0041]	<223> 铰链-CH3间隔子																			
[0042]	<400> 3																			
[0043]	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Gly	Gln	Pro	Arg				
[0044]	1				5						10					15				
[0045]	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys				
[0046]					20					25					30					
[0047]	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp				
[0048]					35					40				45						
[0049]	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys				
[0050]					50				55					60						
[0051]	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser				
[0052]	65					70					75					80				
[0053]	Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser				
[0054]					85					90					95					
[0055]	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser				
[0056]					100					105					110					
[0057]	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys													
[0058]					115															
[0059]	<210> 4																			
[0060]	<211> 229																			
[0061]	<212> PRT																			
[0062]	<213> 智人(Homo sapiens)																			
[0063]	<220>																			
[0064]	<223> 铰链-CH2-CH3间隔子																			
[0065]	<400> 4																			
[0066]	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe				
[0067]	1				5						10					15				
[0068]	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr				
[0069]					20					25					30					
[0070]	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val				
[0071]					35					40				45						
[0072]	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val				
[0073]					50				55					60						
[0074]	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser				
[0075]	65					70					75					80				
[0076]	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu				
[0077]					85					90					95					

[0078]	Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
[0079]	100 105 110
[0080]	Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
[0081]	115 120 125
[0082]	Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
[0083]	130 135 140
[0084]	Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
[0085]	145 150 155 160
[0086]	Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
[0087]	165 170 175
[0088]	Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
[0089]	180 185 190
[0090]	Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
[0091]	195 200 205
[0092]	Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
[0093]	210 215 220
[0094]	Leu Ser Leu Gly Lys
[0095]	225
[0096]	<210> 5
[0097]	<211> 282
[0098]	<212> PRT
[0099]	<213> 智人(Homo sapiens)
[0100]	<220>
[0101]	<223> IgD-铰链-Fc
[0102]	<400> 5
[0103]	Arg Trp Pro Glu Ser Pro Lys Ala Gln Ala Ser Ser Val Pro Thr Ala
[0104]	1 5 10 15
[0105]	Gln Pro Gln Ala Glu Gly Ser Leu Ala Lys Ala Thr Thr Ala Pro Ala
[0106]	20 25 30
[0107]	Thr Thr Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys Glu Lys
[0108]	35 40 45
[0109]	Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu Cys Pro
[0110]	50 55 60
[0111]	Ser His Thr Gln Pro Leu Gly Val Tyr Leu Leu Thr Pro Ala Val Gln
[0112]	65 70 75 80
[0113]	Asp Leu Trp Leu Arg Asp Lys Ala Thr Phe Thr Cys Phe Val Val Gly
[0114]	85 90 95
[0115]	Ser Asp Leu Lys Asp Ala His Leu Thr Trp Glu Val Ala Gly Lys Val
[0116]	100 105 110

[0117]	Pro Thr Gly Gly Val Glu Glu Gly Leu Leu Glu Arg His Ser Asn Gly
[0118]	115 120 125
[0119]	Ser Gln Ser Gln His Ser Arg Leu Thr Leu Pro Arg Ser Leu Trp Asn
[0120]	130 135 140
[0121]	Ala Gly Thr Ser Val Thr Cys Thr Leu Asn His Pro Ser Leu Pro Pro
[0122]	145 150 155 160
[0123]	Gln Arg Leu Met Ala Leu Arg Glu Pro Ala Ala Gln Ala Pro Val Lys
[0124]	165 170 175
[0125]	Leu Ser Leu Asn Leu Leu Ala Ser Ser Asp Pro Pro Glu Ala Ala Ser
[0126]	180 185 190
[0127]	Trp Leu Leu Cys Glu Val Ser Gly Phe Ser Pro Pro Asn Ile Leu Leu
[0128]	195 200 205
[0129]	Met Trp Leu Glu Asp Gln Arg Glu Val Asn Thr Ser Gly Phe Ala Pro
[0130]	210 215 220
[0131]	Ala Arg Pro Pro Pro Gln Pro Gly Ser Thr Thr Phe Trp Ala Trp Ser
[0132]	225 230 235 240
[0133]	Val Leu Arg Val Pro Ala Pro Pro Ser Pro Gln Pro Ala Thr Tyr Thr
[0134]	245 250 255
[0135]	Cys Val Val Ser His Glu Asp Ser Arg Thr Leu Leu Asn Ala Ser Arg
[0136]	260 265 270
[0137]	Ser Leu Glu Val Ser Tyr Val Thr Asp His
[0138]	275 280
[0139]	<210> 6
[0140]	<211> 24
[0141]	<212> PRT
[0142]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0143]	<220>
[0144]	<223> T2A
[0145]	<400> 6
[0146]	Leu Glu Gly Gly Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp
[0147]	1 5 10 15
[0148]	Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Arg
[0149]	20
[0150]	<210> 7
[0151]	<211> 357
[0152]	<212> PRT
[0153]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0154]	<220>
[0155]	<223> tEGFR

[0156]	<400> 7															
[0157]	Met	Leu	Leu	Leu	Val	Thr	Ser	Leu	Leu	Leu	Cys	Glu	Leu	Pro	His	Pro
[0158]	1				5					10					15	
[0159]	Ala	Phe	Leu	Leu	Ile	Pro	Arg	Lys	Val	Cys	Asn	Gly	Ile	Gly	Ile	Gly
[0160]					20					25					30	
[0161]	Glu	Phe	Lys	Asp	Ser	Leu	Ser	Ile	Asn	Ala	Thr	Asn	Ile	Lys	His	Phe
[0162]					35					40					45	
[0163]	Lys	Asn	Cys	Thr	Ser	Ile	Ser	Gly	Asp	Leu	His	Ile	Leu	Pro	Val	Ala
[0164]					50					55					60	
[0165]	Phe	Arg	Gly	Asp	Ser	Phe	Thr	His	Thr	Pro	Pro	Leu	Asp	Pro	Gln	Glu
[0166]	65									70					75	
[0167]	Leu	Asp	Ile	Leu	Lys	Thr	Val	Lys	Glu	Ile	Thr	Gly	Phe	Leu	Leu	Ile
[0168]					85					90					95	
[0169]	Gln	Ala	Trp	Pro	Glu	Asn	Arg	Thr	Asp	Leu	His	Ala	Phe	Glu	Asn	Leu
[0170]					100					105					110	
[0171]	Glu	Ile	Ile	Arg	Gly	Arg	Thr	Lys	Gln	His	Gly	Gln	Phe	Ser	Leu	Ala
[0172]					115					120					125	
[0173]	Val	Val	Ser	Leu	Asn	Ile	Thr	Ser	Leu	Gly	Leu	Arg	Ser	Leu	Lys	Glu
[0174]					130					135					140	
[0175]	Ile	Ser	Asp	Gly	Asp	Val	Ile	Ile	Ser	Gly	Asn	Lys	Asn	Leu	Cys	Tyr
[0176]	145									150					155	
[0177]	Ala	Asn	Thr	Ile	Asn	Trp	Lys	Lys	Leu	Phe	Gly	Thr	Ser	Gly	Gln	Lys
[0178]					165					170					175	
[0179]	Thr	Lys	Ile	Ile	Ser	Asn	Arg	Gly	Glu	Asn	Ser	Cys	Lys	Ala	Thr	Gly
[0180]					180					185					190	
[0181]	Gln	Val	Cys	His	Ala	Leu	Cys	Ser	Pro	Glu	Gly	Cys	Trp	Gly	Pro	Glu
[0182]					195					200					205	
[0183]	Pro	Arg	Asp	Cys	Val	Ser	Cys	Arg	Asn	Val	Ser	Arg	Gly	Arg	Glu	Cys
[0184]					210					215					220	
[0185]	Val	Asp	Lys	Cys	Asn	Leu	Leu	Glu	Gly	Glu	Pro	Arg	Glu	Phe	Val	Glu
[0186]	225									230					235	
[0187]	Asn	Ser	Glu	Cys	Ile	Gln	Cys	His	Pro	Glu	Cys	Leu	Pro	Gln	Ala	Met
[0188]					245					250					255	
[0189]	Asn	Ile	Thr	Cys	Thr	Gly	Arg	Gly	Pro	Asp	Asn	Cys	Ile	Gln	Cys	Ala
[0190]					260					265					270	
[0191]	His	Tyr	Ile	Asp	Gly	Pro	His	Cys	Val	Lys	Thr	Cys	Pro	Ala	Gly	Val
[0192]					275					280					285	
[0193]	Met	Gly	Glu	Asn	Asn	Thr	Leu	Val	Trp	Lys	Tyr	Ala	Asp	Ala	Gly	His
[0194]					290					295					300	

[0195]	Val Cys His Leu Cys His Pro Asn Cys Thr Tyr Gly Cys Thr Gly Pro
[0196]	305 310 315 320
[0197]	Gly Leu Glu Gly Cys Pro Thr Asn Gly Pro Lys Ile Pro Ser Ile Ala
[0198]	325 330 335
[0199]	Thr Gly Met Val Gly Ala Leu Leu Leu Leu Val Val Ala Leu Gly
[0200]	340 345 350
[0201]	Ile Gly Leu Phe Met
[0202]	355
[0203]	<210> 8
[0204]	<211> 27
[0205]	<212> PRT
[0206]	<213> 智人(Homo sapiens)
[0207]	<220>
[0208]	<223> CD28
[0209]	<300>
[0210]	<308> UniProt P10747
[0211]	<309> 1989-07-01
[0212]	<400> 8
[0213]	Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu
[0214]	1 5 10 15
[0215]	Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val
[0216]	20 25
[0217]	<210> 9
[0218]	<211> 66
[0219]	<212> PRT
[0220]	<213> 智人(Homo sapiens)
[0221]	<220>
[0222]	<223> CD28
[0223]	<300>
[0224]	<308> UniProt P10747
[0225]	<309> 1989-07-01
[0226]	<400> 9
[0227]	Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn
[0228]	1 5 10 15
[0229]	Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu
[0230]	20 25 30
[0231]	Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly
[0232]	35 40 45
[0233]	Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe

[0234]	50	55	60
[0235]	Trp Val		
[0236]	65		
[0237]	<210> 10		
[0238]	<211> 41		
[0239]	<212> PRT		
[0240]	<213> 智人 (Homo sapiens)		
[0241]	<220>		
[0242]	<223> CD28		
[0243]	<300>		
[0244]	<308> UniProt P10747		
[0245]	<309> 1989-07-01		
[0246]	<400> 10		
[0247]	Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr		
[0248]	1 5 10 15		
[0249]	Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro		
[0250]	20 25 30		
[0251]	Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser		
[0252]	35 40		
[0253]	<210> 11		
[0254]	<211> 41		
[0255]	<212> PRT		
[0256]	<213> 智人 (Homo sapiens)		
[0257]	<220>		
[0258]	<223> CD28		
[0259]	<400> 11		
[0260]	Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr		
[0261]	1 5 10 15		
[0262]	Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro		
[0263]	20 25 30		
[0264]	Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser		
[0265]	35 40		
[0266]	<210> 12		
[0267]	<211> 42		
[0268]	<212> PRT		
[0269]	<213> 智人 (Homo sapiens)		
[0270]	<220>		
[0271]	<223> 4-1BB		
[0272]	<300>		

[0273]	<308>	UniProt Q07011.1
[0274]	<309>	1995-02-01
[0275]	<400>	12
[0276]	Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met	
[0277]	1 5 10 15	
[0278]	Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe	
[0279]	20 25 30	
[0280]	Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu	
[0281]	35 40	
[0282]	<210>	13
[0283]	<211>	112
[0284]	<212>	PRT
[0285]	<213>	智人 (Homo sapiens)
[0286]	<220>	
[0287]	<223>	CD3ζ
[0288]	<400>	13
[0289]	Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly	
[0290]	1 5 10 15	
[0291]	Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr	
[0292]	20 25 30	
[0293]	Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys	
[0294]	35 40 45	
[0295]	Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys	
[0296]	50 55 60	
[0297]	Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg	
[0298]	65 70 75 80	
[0299]	Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala	
[0300]	85 90 95	
[0301]	Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg	
[0302]	100 105 110	
[0303]	<210>	14
[0304]	<211>	112
[0305]	<212>	PRT
[0306]	<213>	智人 (Homo sapiens)
[0307]	<220>	
[0308]	<223>	CD3ζ
[0309]	<400>	14
[0310]	Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Glu Pro Pro Ala Tyr Gln Gln Gly	
[0311]	1 5 10 15	

[0312]	Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
[0313]	20 25 30
[0314]	Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
[0315]	35 40 45
[0316]	Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
[0317]	50 55 60
[0318]	Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
[0319]	65 70 75 80
[0320]	Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
[0321]	85 90 95
[0322]	Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
[0323]	100 105 110
[0324]	<210> 15
[0325]	<211> 112
[0326]	<212> PRT
[0327]	<213> 智人(Homo sapiens)
[0328]	<220>
[0329]	<223> CD3ζ
[0330]	<400> 15
[0331]	Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly
[0332]	1 5 10 15
[0333]	Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
[0334]	20 25 30
[0335]	Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
[0336]	35 40 45
[0337]	Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
[0338]	50 55 60
[0339]	Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
[0340]	65 70 75 80
[0341]	Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
[0342]	85 90 95
[0343]	Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
[0344]	100 105 110
[0345]	<210> 16
[0346]	<211> 335
[0347]	<212> PRT
[0348]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0349]	<220>
[0350]	<223> tEGFR

[0351]	<400> 16
[0352]	Arg Lys Val Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Ser Leu
[0353]	1 5 10 15
[0354]	Ser Ile Asn Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr Ser Ile
[0355]	20 25 30
[0356]	Ser Gly Asp Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp Ser Phe
[0357]	35 40 45
[0358]	Thr His Thr Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu Leu Asp Ile Leu Lys Thr
[0359]	50 55 60
[0360]	Val Lys Glu Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro Glu Asn
[0361]	65 70 75 80
[0362]	Arg Thr Asp Leu His Ala Phe Glu Asn Leu Glu Ile Ile Arg Gly Arg
[0363]	85 90 95
[0364]	Thr Lys Gln His Gly Gln Phe Ser Leu Ala Val Val Ser Leu Asn Ile
[0365]	100 105 110
[0366]	Thr Ser Leu Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu Ile Ser Asp Gly Asp Val
[0367]	115 120 125
[0368]	Ile Ile Ser Gly Asn Lys Asn Leu Cys Tyr Ala Asn Thr Ile Asn Trp
[0369]	130 135 140
[0370]	Lys Lys Leu Phe Gly Thr Ser Gly Gln Lys Thr Lys Ile Ile Ser Asn
[0371]	145 150 155 160
[0372]	Arg Gly Glu Asn Ser Cys Lys Ala Thr Gly Gln Val Cys His Ala Leu
[0373]	165 170 175
[0374]	Cys Ser Pro Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu Pro Arg Asp Cys Val Ser
[0375]	180 185 190
[0376]	Cys Arg Asn Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys Val Asp Lys Cys Asn Leu
[0377]	195 200 205
[0378]	Leu Glu Gly Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys Ile Gln
[0379]	210 215 220
[0380]	Cys His Pro Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys Thr Gly
[0381]	225 230 235 240
[0382]	Arg Gly Pro Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly Pro
[0383]	245 250 255
[0384]	His Cys Val Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val Met Gly Glu Asn Asn Thr
[0385]	260 265 270
[0386]	Leu Val Trp Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His Val Cys His Leu Cys His
[0387]	275 280 285
[0388]	Pro Asn Cys Thr Tyr Gly Cys Thr Gly Pro Gly Leu Glu Gly Cys Pro
[0389]	290 295 300

[0390]	Thr Asn Gly Pro Lys Ile Pro Ser Ile Ala Thr Gly Met Val Gly Ala
[0391]	305 310 315 320
[0392]	Leu Leu Leu Leu Leu Val Val Ala Leu Gly Ile Gly Leu Phe Met
[0393]	325 330 335
[0394]	<210> 17
[0395]	<211> 18
[0396]	<212> PRT
[0397]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0398]	<220>
[0399]	<223> T2A
[0400]	<400> 17
[0401]	Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro
[0402]	1 5 10 15
[0403]	Gly Pro
[0404]	<210> 18
[0405]	<211> 22
[0406]	<212> PRT
[0407]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0408]	<220>
[0409]	<223> P2A
[0410]	<400> 18
[0411]	Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val
[0412]	1 5 10 15
[0413]	Glu Glu Asn Pro Gly Pro
[0414]	20
[0415]	<210> 19
[0416]	<211> 19
[0417]	<212> PRT
[0418]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0419]	<220>
[0420]	<223> P2A
[0421]	<400> 19
[0422]	Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn
[0423]	1 5 10 15
[0424]	Pro Gly Pro
[0425]	<210> 20
[0426]	<211> 20
[0427]	<212> PRT
[0428]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0429]	<220>
[0430]	<223> E2A
[0431]	<400> 20
[0432]	Gln Cys Thr Asn Tyr Ala Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser
[0433]	1 5 10 15
[0434]	Asn Pro Gly Pro
[0435]	20
[0436]	<210> 21
[0437]	<211> 22
[0438]	<212> PRT
[0439]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0440]	<220>
[0441]	<223> F2A
[0442]	<400> 21
[0443]	Val Lys Gln Thr Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val
[0444]	1 5 10 15
[0445]	Glu Ser Asn Pro Gly Pro
[0446]	20
[0447]	<210> 22
[0448]	<211> 10
[0449]	<212> PRT
[0450]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0451]	<220>
[0452]	<223> 接头
[0453]	<220>
[0454]	<221> REPEAT
[0455]	<222> (5) ... (9)
[0456]	<223> SGGGG重复5次
[0457]	<400> 22
[0458]	Pro Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Pro
[0459]	1 5 10
[0460]	<210> 23
[0461]	<211> 17
[0462]	<212> PRT
[0463]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0464]	<220>
[0465]	<223> 接头
[0466]	<400> 23
[0467]	Gly Ser Ala Asp Asp Ala Lys Lys Asp Ala Ala Lys Lys Asp Gly Lys

[0468]	1	5	10	15
[0469]	Ser			
[0470]	<210> 24			
[0471]	<211> 18			
[0472]	<212> PRT			
[0473]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
[0474]	<220>			
[0475]	<223> 接头			
[0476]	<400> 24			
[0477]	Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr			
[0478]	1	5	10	15
[0479]	Lys Gly			
[0480]	<210> 25			
[0481]	<211> 735			
[0482]	<212> DNA			
[0483]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
[0484]	<220>			
[0485]	<223> scFv			
[0486]	<400> 25			
[0487]	gacatccaga tgaccagac cacctccagc ctgagcgcca gcctgggcga ccgggtgacc 60			
[0488]	atcagctgcc gggccagcca ggacatcagc aagtacctga actggtatca gcagaagccc 120			
[0489]	gacggcaccg tcaagctgct gatctaccac accagccggc tgcacagcgg cgtgcccagc 180			
[0490]	cggtttagcg gcagcggctc cggcaccgac tacagcctga ccatctccaa cctggaacag 240			
[0491]	gaagatatcg ccacctactt ttgccagcag ggcaacacac tgccctacac ctttggcggc 300			
[0492]	ggaacaaagc tggaatcac cggcagcacc tccggcagcg gcaagcctgg cagcggcgag 360			
[0493]	ggcagcacca agggcgaggt gaagctgcag gaaagcggcc ctggcctggg gggccccagc 420			
[0494]	cagagcctga gcgtagcctg caccgtgagc ggcgtgagcc tgcccacta cggcgtgagc 480			
[0495]	tggatccggc agccccccag gaagggcctg gaatggctgg gcgtgatctg gggcagcgag 540			
[0496]	accacctact acaacagcgc cctgaagagc cggctgacca tcatcaagga caacagcaag 600			
[0497]	agccaggtgt tcctgaagat gaacagcctg cagaccgacg acaccgccat ctactactgc 660			
[0498]	gccaagcact actactacgg cggcagctac gccatggact actggggcca gggcaccagc 720			
[0499]	gtgaccgtga gcagc 735			
[0500]	<210> 26			
[0501]	<211> 5			
[0502]	<212> PRT			
[0503]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
[0504]	<220>			
[0505]	<223> 铰链			
[0506]	<220>			

[0507]	<221>	变体
[0508]	<222>	(1) ... (1)
[0509]	<223>	Xaa1是甘氨酸、半胱氨酸或精氨酸
[0510]	<220>	
[0511]	<221>	变体
[0512]	<222>	(4) ... (4)
[0513]	<223>	Xaa4是半胱氨酸或苏氨酸
[0514]	<400>	26
[0515]	Xaa Pro Pro Xaa Pro	
[0516]	1	5
[0517]	<210>	27
[0518]	<211>	15
[0519]	<212>	PRT
[0520]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0521]	<220>	
[0522]	<223>	铰链
[0523]	<400>	27
[0524]	Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro	
[0525]	1	5 10 15
[0526]	<210>	28
[0527]	<211>	12
[0528]	<212>	PRT
[0529]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0530]	<220>	
[0531]	<223>	铰链
[0532]	<400>	28
[0533]	Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro	
[0534]	1	5 10
[0535]	<210>	29
[0536]	<211>	61
[0537]	<212>	PRT
[0538]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0539]	<220>	
[0540]	<223>	铰链
[0541]	<400>	29
[0542]	Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr His Thr Cys Pro Arg Cys Pro	
[0543]	1	5 10 15
[0544]	Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Glu	
[0545]	20	25 30

[0546]	Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Glu Pro
[0547]	35 40 45
[0548]	Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro
[0549]	50 55 60
[0550]	<210> 30
[0551]	<211> 12
[0552]	<212> PRT
[0553]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0554]	<220>
[0555]	<223> 铰链
[0556]	<400> 30
[0557]	Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro
[0558]	1 5 10
[0559]	<210> 31
[0560]	<211> 12
[0561]	<212> PRT
[0562]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0563]	<220>
[0564]	<223> 铰链
[0565]	<400> 31
[0566]	Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro
[0567]	1 5 10
[0568]	<210> 32
[0569]	<211> 9
[0570]	<212> PRT
[0571]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0572]	<220>
[0573]	<223> 铰链
[0574]	<400> 32
[0575]	Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro
[0576]	1 5
[0577]	<210> 33
[0578]	<211> 10
[0579]	<212> PRT
[0580]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0581]	<220>
[0582]	<223> 铰链
[0583]	<400> 33
[0584]	Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro

[0585]	1	5	10
[0586]	<210>	34	
[0587]	<211>	14	
[0588]	<212>	PRT	
[0589]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[0590]	<220>		
[0591]	<223>	铰链	
[0592]	<400>	34	
[0593]	Glu Val Val Val Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro		
[0594]	1	5	10
[0595]	<210>	35	
[0596]	<211>	11	
[0597]	<212>	PRT	
[0598]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[0599]	<220>		
[0600]	<223>	FMC63 CDR L1	
[0601]	<400>	35	
[0602]	Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn		
[0603]	1	5	10
[0604]	<210>	36	
[0605]	<211>	7	
[0606]	<212>	PRT	
[0607]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[0608]	<220>		
[0609]	<223>	FMC63 CDR L2	
[0610]	<400>	36	
[0611]	Ser Arg Leu His Ser Gly Val		
[0612]	1	5	
[0613]	<210>	37	
[0614]	<211>	9	
[0615]	<212>	PRT	
[0616]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[0617]	<220>		
[0618]	<223>	FMC63 CDR L3	
[0619]	<400>	37	
[0620]	Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Phe Gly		
[0621]	1	5	
[0622]	<210>	38	
[0623]	<211>	5	

[0624] <212> PRT
 [0625] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 [0626] <220>
 [0627] <223> FMC63 CDR H1
 [0628] <400> 38
 [0629] Asp Tyr Gly Val Ser
 [0630] 1 5
 [0631] <210> 39
 [0632] <211> 16
 [0633] <212> PRT
 [0634] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 [0635] <220>
 [0636] <223> FMC63 CDR H2
 [0637] <400> 39
 [0638] Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser
 [0639] 1 5 10 15
 [0640] <210> 40
 [0641] <211> 7
 [0642] <212> PRT
 [0643] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 [0644] <220>
 [0645] <223> FMC63 CDR H3
 [0646] <400> 40
 [0647] Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly
 [0648] 1 5
 [0649] <210> 41
 [0650] <211> 120
 [0651] <212> PRT
 [0652] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 [0653] <220>
 [0654] <223> FMC63 VH
 [0655] <400> 41
 [0656] Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
 [0657] 1 5 10 15
 [0658] Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr
 [0659] 20 25 30
 [0660] Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu
 [0661] 35 40 45
 [0662] Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys

[0663]	50	55	60
[0664]	Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu		
[0665]	65	70	75 80
[0666]	Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala		
[0667]	85	90	95
[0668]	Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln		
[0669]	100	105	110
[0670]	Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser		
[0671]	115	120	
[0672]	<210> 42		
[0673]	<211> 107		
[0674]	<212> PRT		
[0675]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0676]	<220>		
[0677]	<223> FMC63 VL		
[0678]	<400> 42		
[0679]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly		
[0680]	1	5	10 15
[0681]	Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr		
[0682]	20	25	30
[0683]	Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile		
[0684]	35	40	45
[0685]	Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
[0686]	50	55	60
[0687]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln		
[0688]	65	70	75 80
[0689]	Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr		
[0690]	85	90	95
[0691]	Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr		
[0692]	100	105	
[0693]	<210> 43		
[0694]	<211> 245		
[0695]	<212> PRT		
[0696]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0697]	<220>		
[0698]	<223> FMC63 scFv		
[0699]	<400> 43		
[0700]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly		
[0701]	1	5	10 15

[0702]	Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
[0703]	20 25 30
[0704]	Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
[0705]	35 40 45
[0706]	Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[0707]	50 55 60
[0708]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
[0709]	65 70 75 80
[0710]	Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr
[0711]	85 90 95
[0712]	Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Ser Thr Ser Gly
[0713]	100 105 110
[0714]	Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr Lys Gly Glu Val Lys
[0715]	115 120 125
[0716]	Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser
[0717]	130 135 140
[0718]	Val Thr Cys Thr Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser
[0719]	145 150 155 160
[0720]	Trp Ile Arg Gln Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile
[0721]	165 170 175
[0722]	Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu
[0723]	180 185 190
[0724]	Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn
[0725]	195 200 205
[0726]	Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr
[0727]	210 215 220
[0728]	Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser
[0729]	225 230 235 240
[0730]	Val Thr Val Ser Ser
[0731]	245
[0732]	<210> 44
[0733]	<211> 11
[0734]	<212> PRT
[0735]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0736]	<220>
[0737]	<223> SJ25C1 CDR L1
[0738]	<400> 44
[0739]	Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala
[0740]	1 5 10

[0741]	<210>	45
[0742]	<211>	7
[0743]	<212>	PRT
[0744]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0745]	<220>	
[0746]	<223>	SJ25C1 CDR L2
[0747]	<400>	45
[0748]		Ser Ala Thr Tyr Arg Asn Ser
[0749]	1	5
[0750]	<210>	46
[0751]	<211>	9
[0752]	<212>	PRT
[0753]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0754]	<220>	
[0755]	<223>	SJ25C1 CDR L3
[0756]	<400>	46
[0757]		Gln Gln Tyr Asn Arg Tyr Pro Tyr Thr
[0758]	1	5
[0759]	<210>	47
[0760]	<211>	5
[0761]	<212>	PRT
[0762]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0763]	<220>	
[0764]	<223>	SJ25C1 CDR H1
[0765]	<400>	47
[0766]		Ser Tyr Trp Met Asn
[0767]	1	5
[0768]	<210>	48
[0769]	<211>	17
[0770]	<212>	PRT
[0771]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0772]	<220>	
[0773]	<223>	SJ25C1 CDR H2
[0774]	<400>	48
[0775]		Gln Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe Lys
[0776]	1	5 10 15
[0777]		Gly
[0778]	<210>	49
[0779]	<211>	13

[0780]	<212>	PRT
[0781]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0782]	<220>	
[0783]	<223>	SJ25C1 CDR H3
[0784]	<400>	49
[0785]	Lys Thr Ile Ser Ser Val Val Asp Phe Tyr Phe Asp Tyr	
[0786]	1	5 10
[0787]	<210>	50
[0788]	<211>	122
[0789]	<212>	PRT
[0790]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0791]	<220>	
[0792]	<223>	SJ25C1 VH
[0793]	<400>	50
[0794]	Glu Val Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ser	
[0795]	1	5 10 15
[0796]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Ser Tyr	
[0797]	20	25 30
[0798]	Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile	
[0799]	35	40 45
[0800]	Gly Gln Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe	
[0801]	50	55 60
[0802]	Lys Gly Gln Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr	
[0803]	65	70 75 80
[0804]	Met Gln Leu Ser Gly Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys	
[0805]	85	90 95
[0806]	Ala Arg Lys Thr Ile Ser Ser Val Val Asp Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp	
[0807]	100	105 110
[0808]	Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser	
[0809]	115	120
[0810]	<210>	51
[0811]	<211>	108
[0812]	<212>	PRT
[0813]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0814]	<220>	
[0815]	<223>	SJ25C1 VL
[0816]	<400>	51
[0817]	Asp Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly	
[0818]	1	5 10 15

[0819]	Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn
[0820]	20 25 30
[0821]	Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Pro Leu Ile
[0822]	35 40 45
[0823]	Tyr Ser Ala Thr Tyr Arg Asn Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
[0824]	50 55 60
[0825]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Asn Val Gln Ser
[0826]	65 70 75 80
[0827]	Lys Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Arg Tyr Pro Tyr
[0828]	85 90 95
[0829]	Thr Ser Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
[0830]	100 105
[0831]	<210> 52
[0832]	<211> 15
[0833]	<212> PRT
[0834]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0835]	<220>
[0836]	<223> 接头
[0837]	<400> 52
[0838]	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[0839]	1 5 10 15
[0840]	<210> 53
[0841]	<211> 245
[0842]	<212> PRT
[0843]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0844]	<220>
[0845]	<223> SJ25C1 scFv
[0846]	<400> 53
[0847]	Glu Val Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ser
[0848]	1 5 10 15
[0849]	Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Ser Tyr
[0850]	20 25 30
[0851]	Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
[0852]	35 40 45
[0853]	Gly Gln Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe
[0854]	50 55 60
[0855]	Lys Gly Gln Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
[0856]	65 70 75 80
[0857]	Met Gln Leu Ser Gly Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys

[0858]		85		90		95
[0859]	Ala Arg Lys Thr Ile Ser Ser Val Val Asp Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp					
[0860]		100		105		110
[0861]	Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly					
[0862]		115		120		125
[0863]	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Glu Leu Thr Gln Ser					
[0864]		130		135		140
[0865]	Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Ser Val Thr Cys					
[0866]	145		150		155	160
[0867]	Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys					
[0868]		165		170		175
[0869]	Pro Gly Gln Ser Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Ser Ala Thr Tyr Arg Asn					
[0870]		180		185		190
[0871]	Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe					
[0872]		195		200		205
[0873]	Thr Leu Thr Ile Thr Asn Val Gln Ser Lys Asp Leu Ala Asp Tyr Phe					
[0874]		210		215		220
[0875]	Cys Gln Gln Tyr Asn Arg Tyr Pro Tyr Thr Ser Gly Gly Gly Thr Lys					
[0876]	225		230		235	240
[0877]	Leu Glu Ile Lys Arg					
[0878]		245				
[0879]	<210> 54					
[0880]	<211> 12					
[0881]	<212> PRT					
[0882]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)					
[0883]	<220>					
[0884]	<223> FMC63 CDR H3					
[0885]	<400> 54					
[0886]	His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr					
[0887]	1	5		10		
[0888]	<210> 55					
[0889]	<211> 7					
[0890]	<212> PRT					
[0891]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)					
[0892]	<220>					
[0893]	<223> FMC63 CDR L2					
[0894]	<400> 55					
[0895]	His Thr Ser Arg Leu His Ser					
[0896]	1	5				

[0897]	<210>	56
[0898]	<211>	9
[0899]	<212>	PRT
[0900]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0901]	<220>	
[0902]	<223>	FMC63 CDR L3
[0903]	<400>	56
[0904]	Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr	
[0905]	1	5

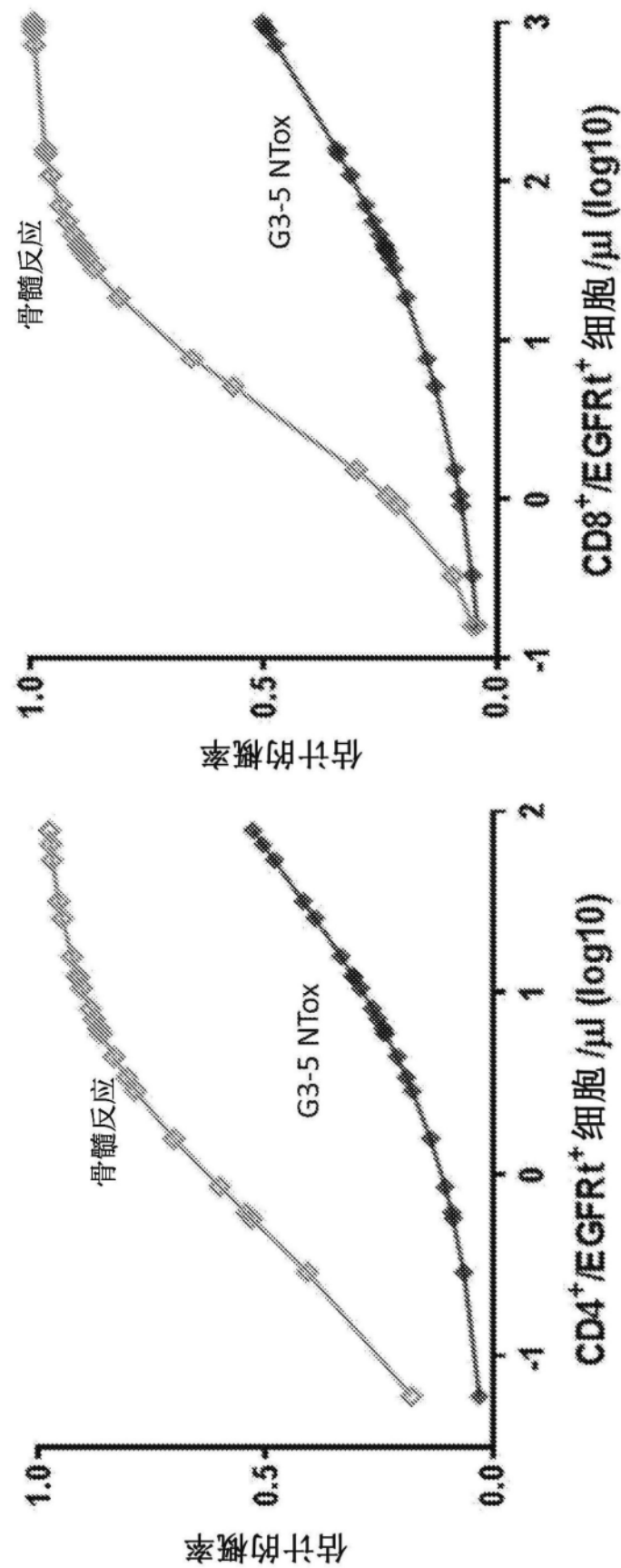


图1

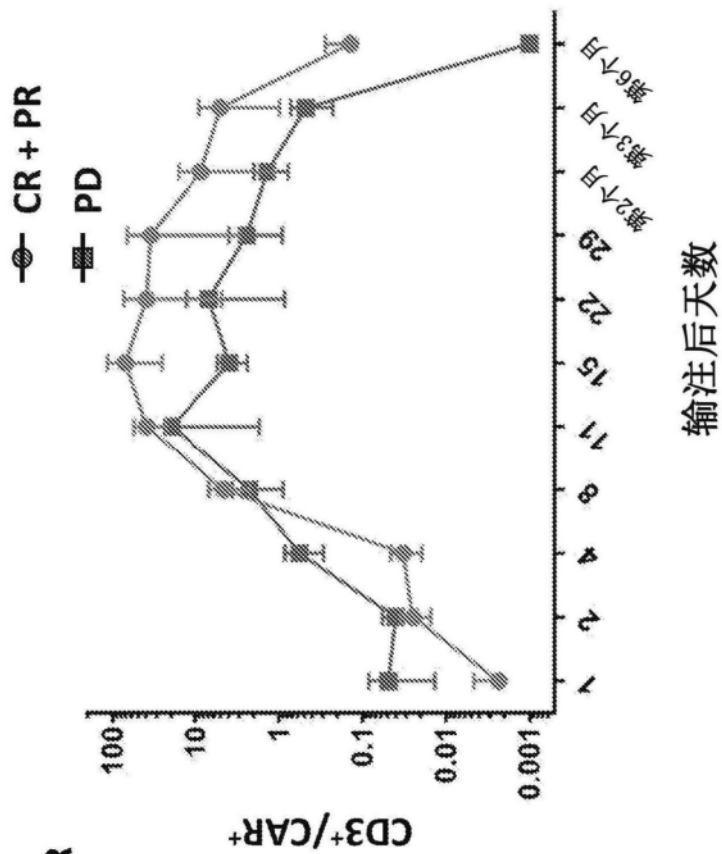


图2B

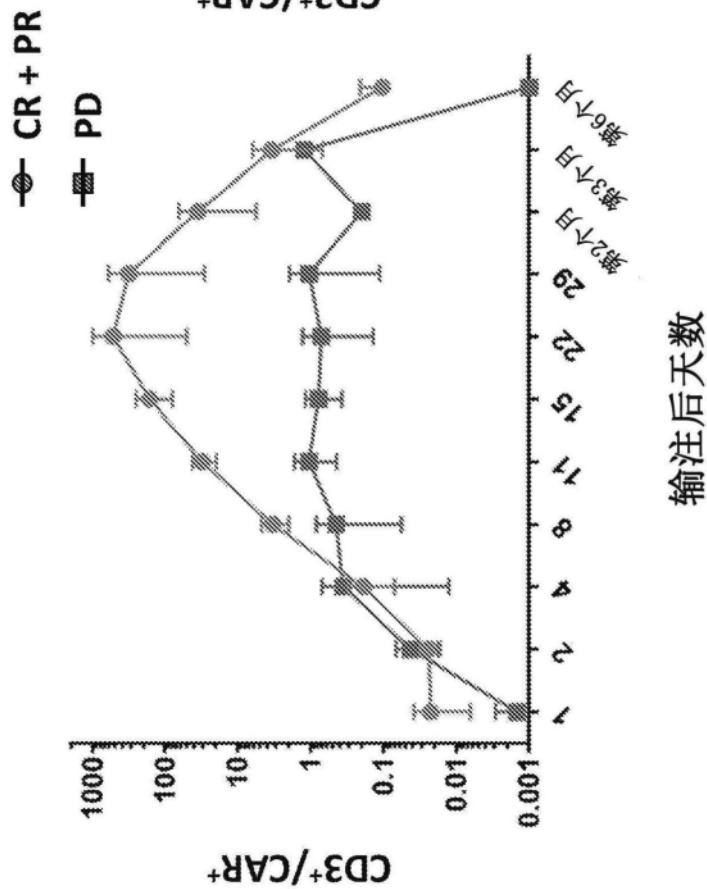


图2A

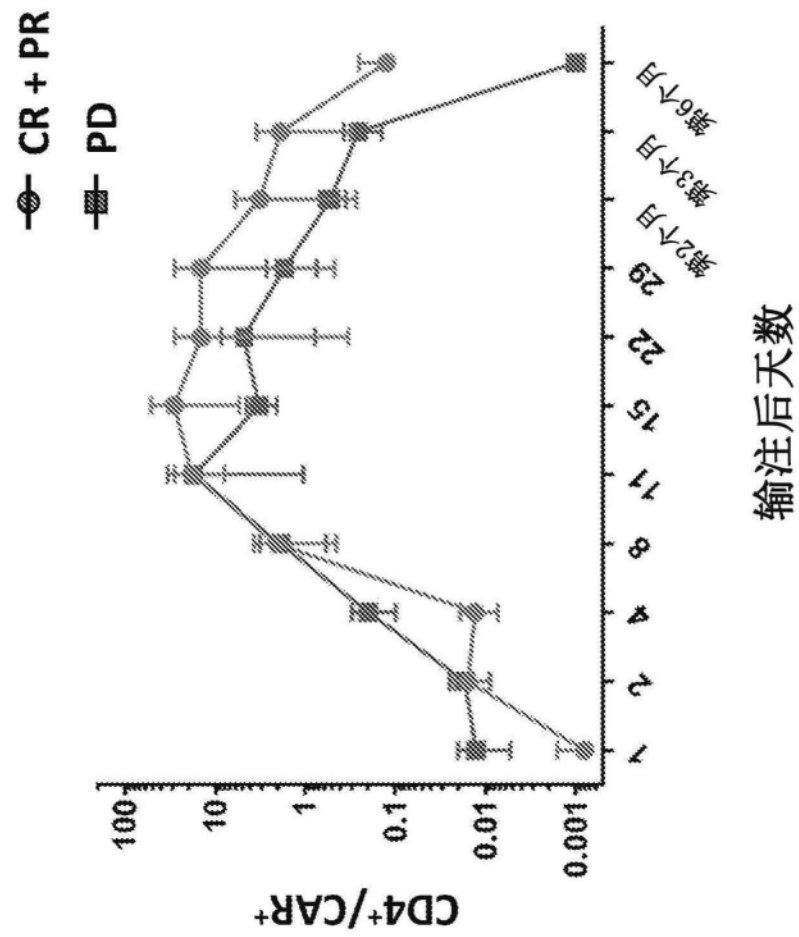


图2C

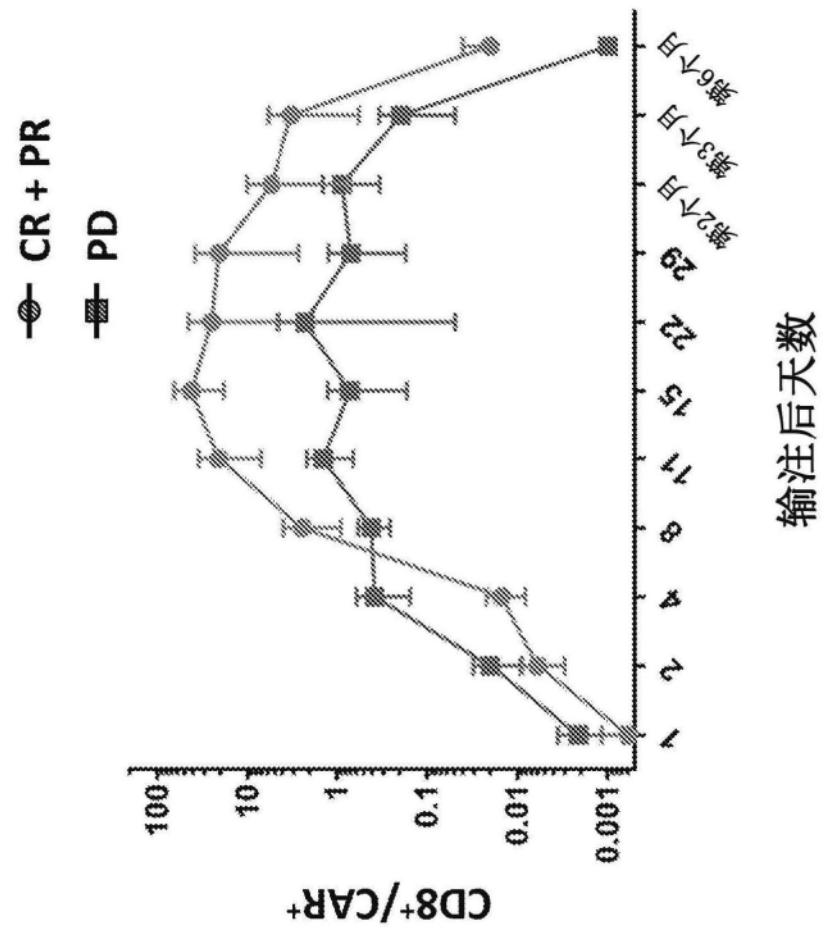


图2D

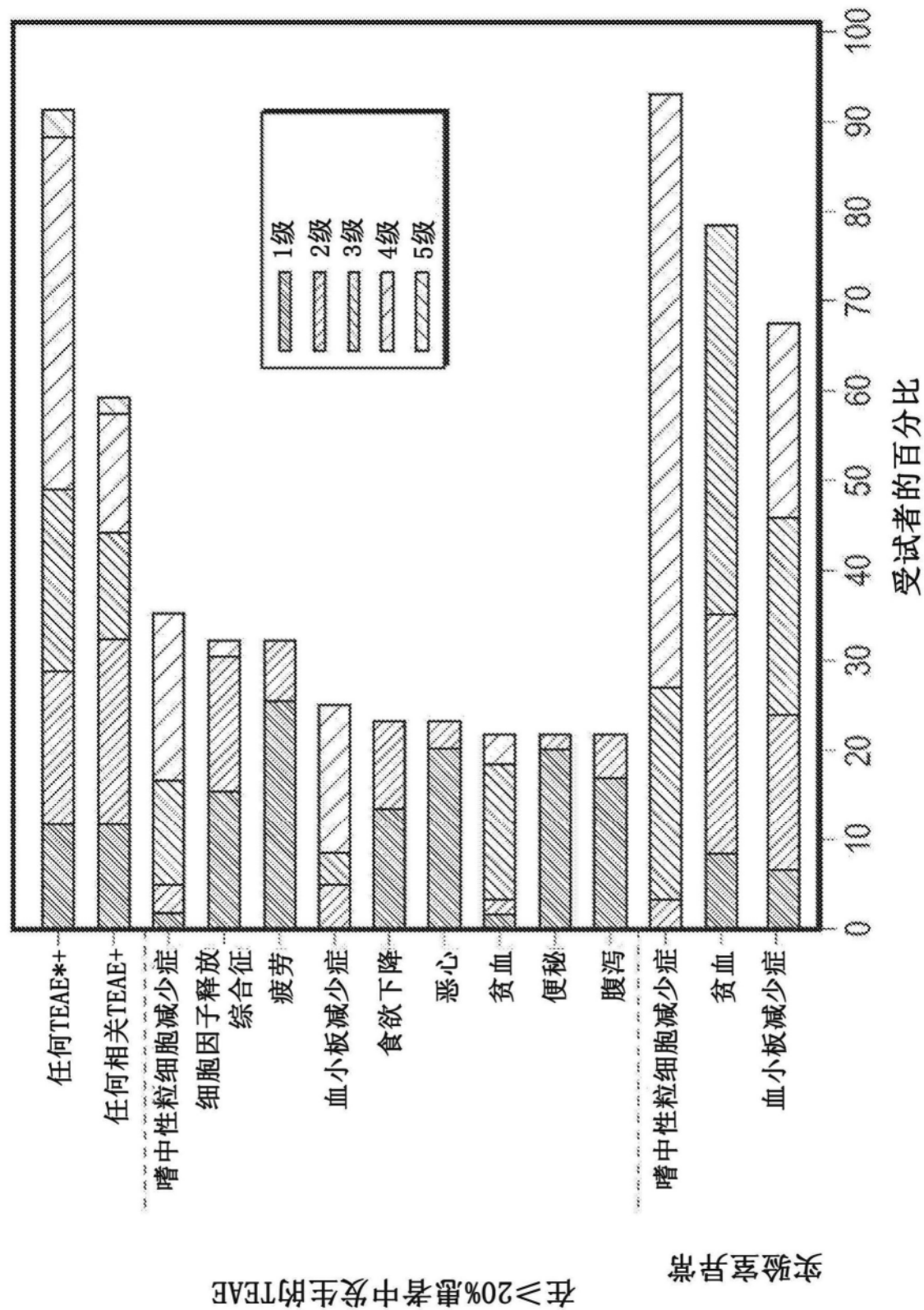


图3

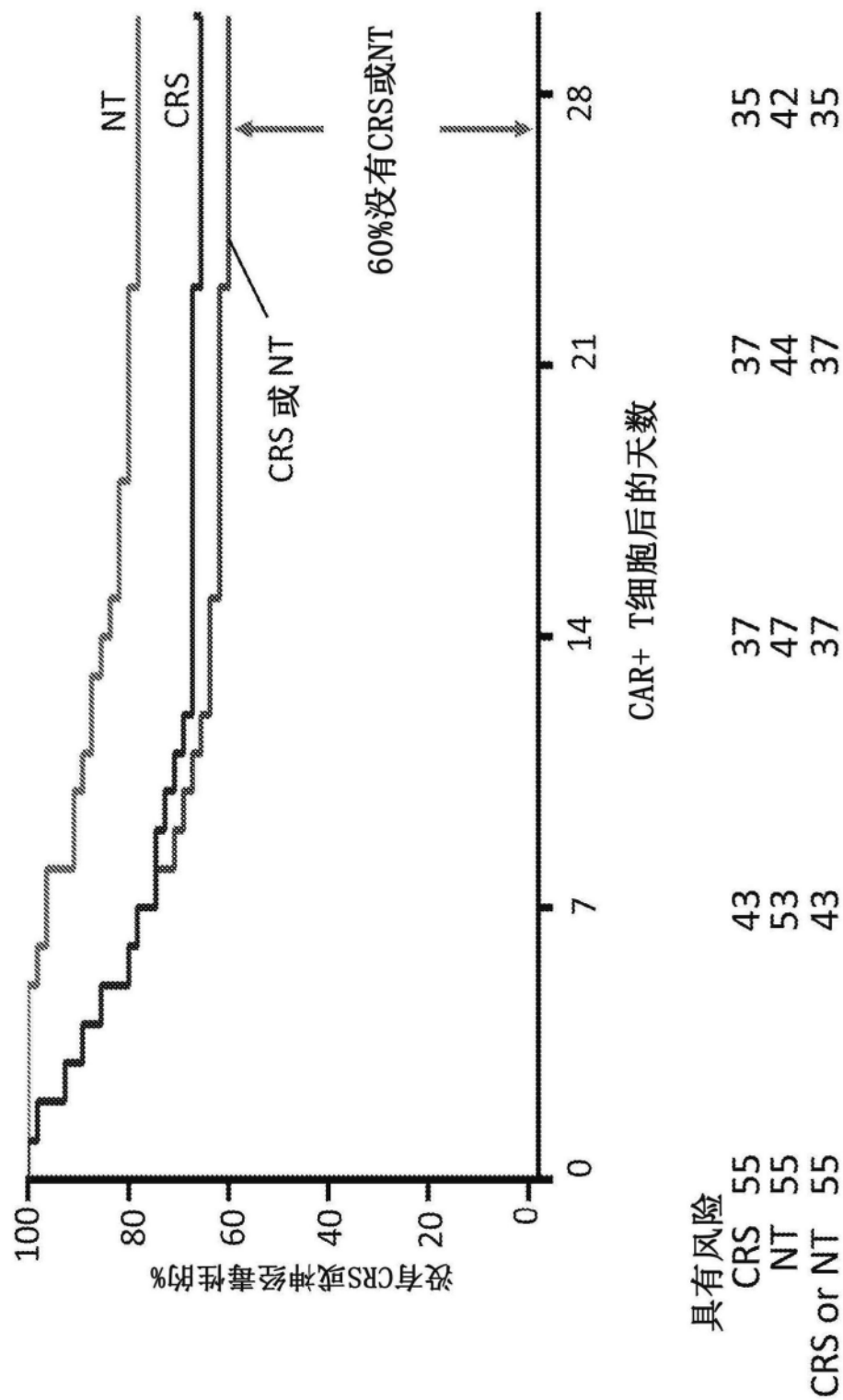


图4

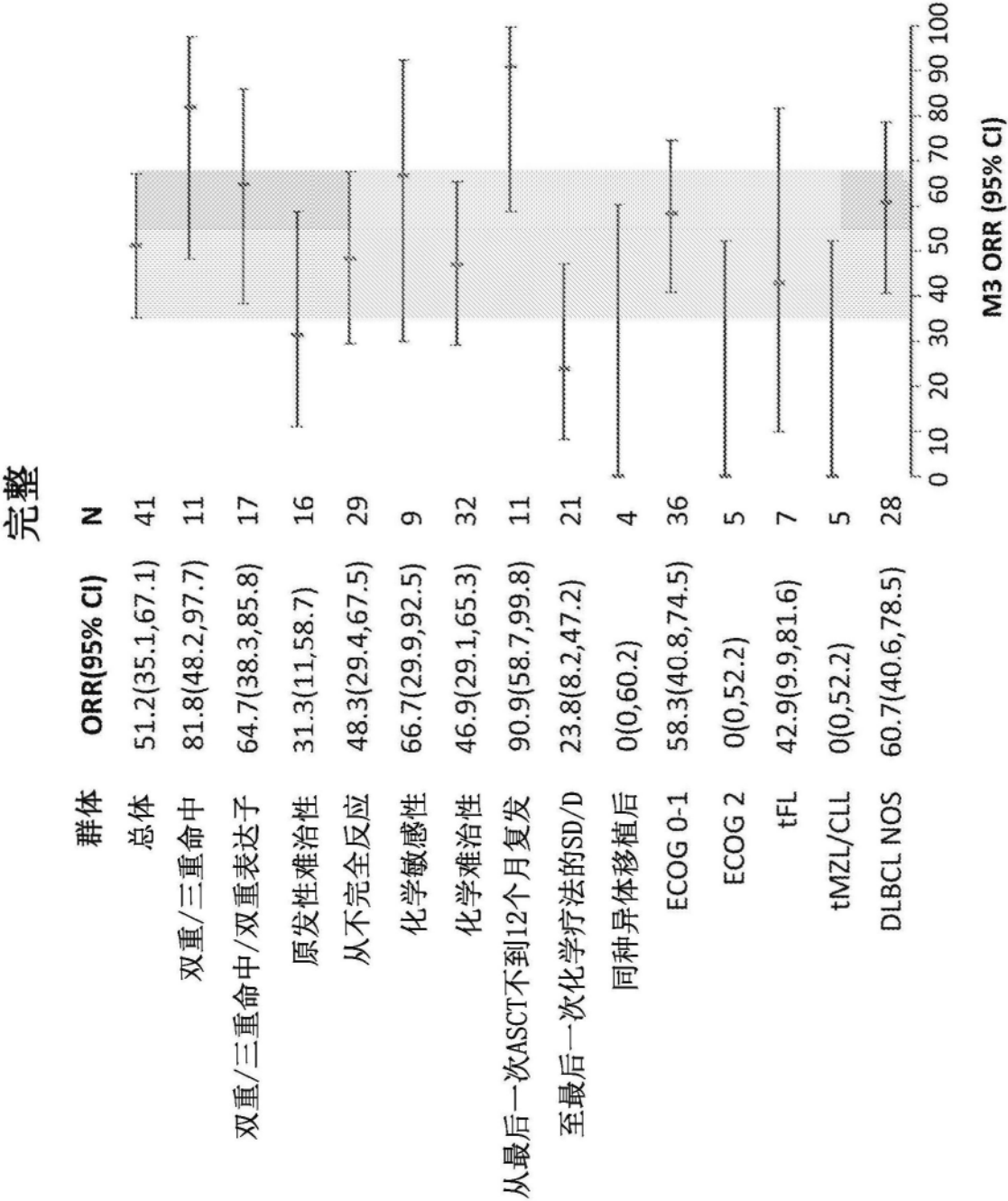


图5A

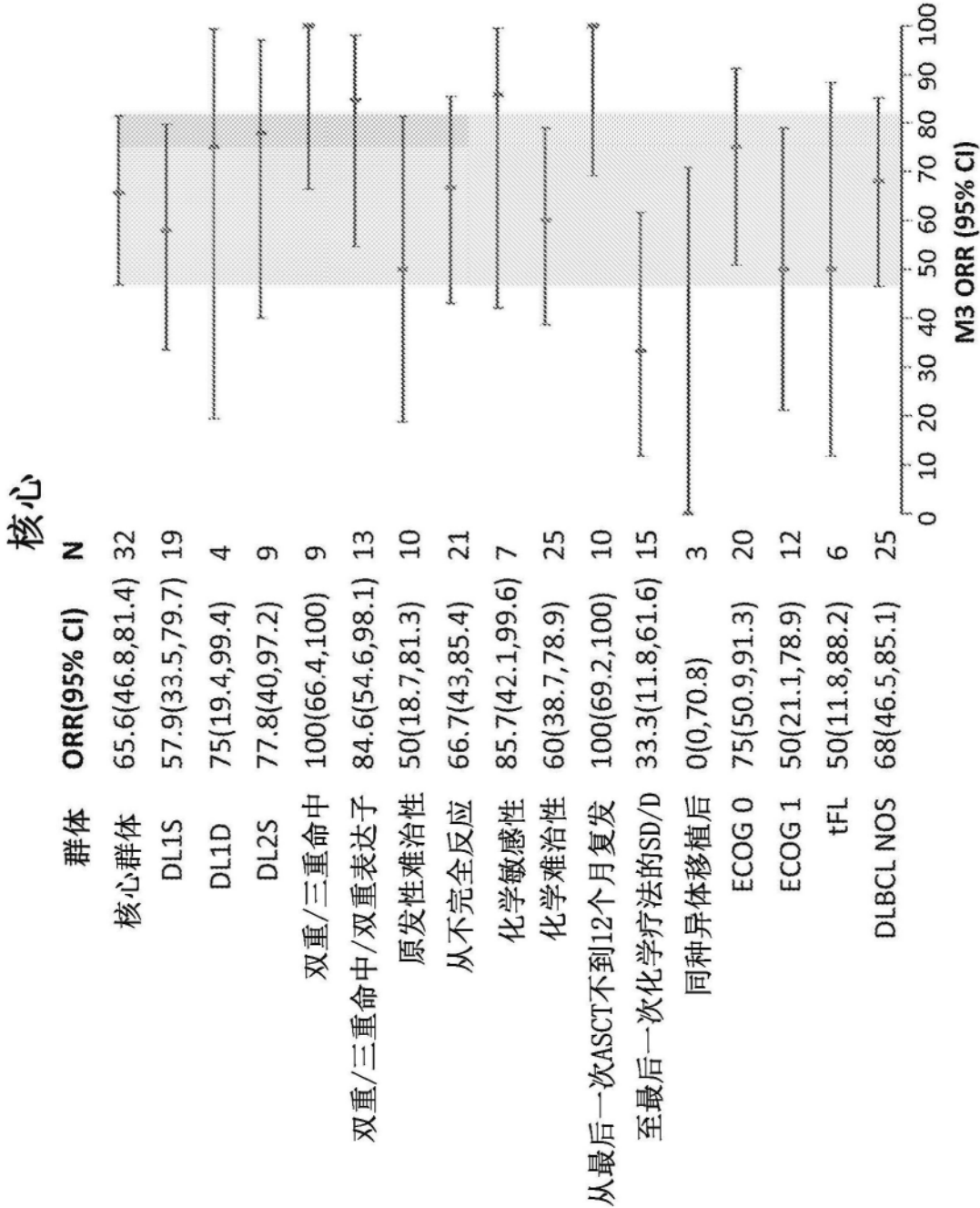


图5B

完整

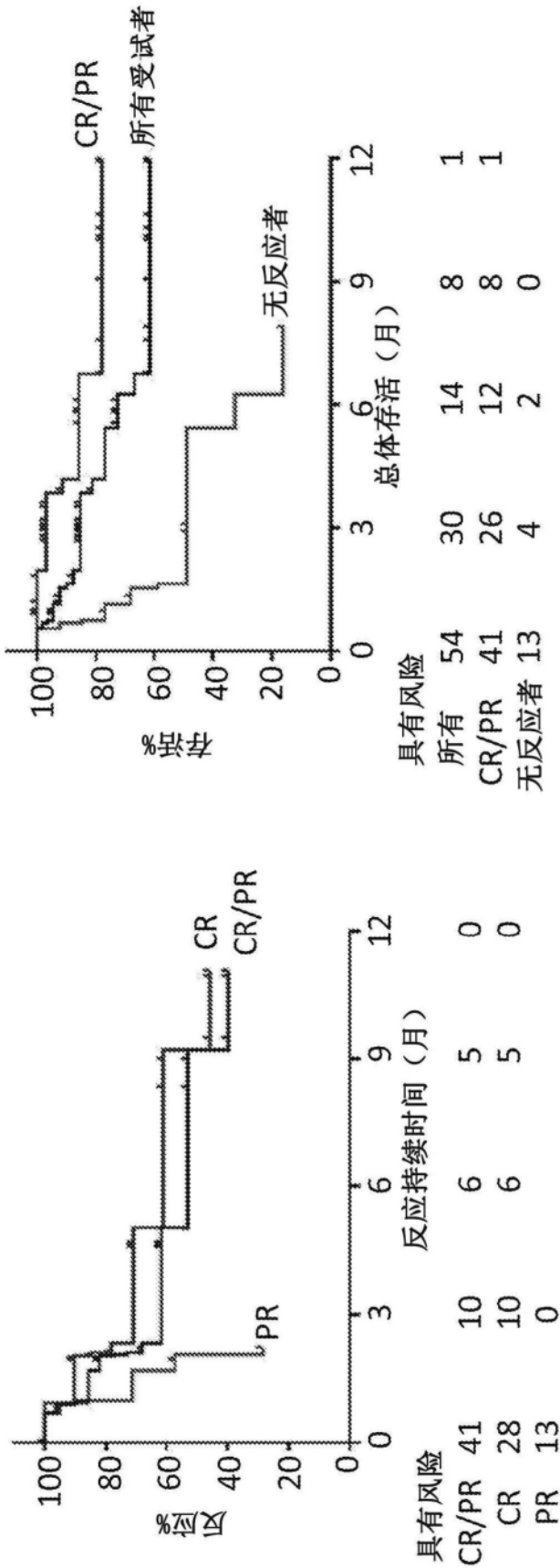


图6A

核心

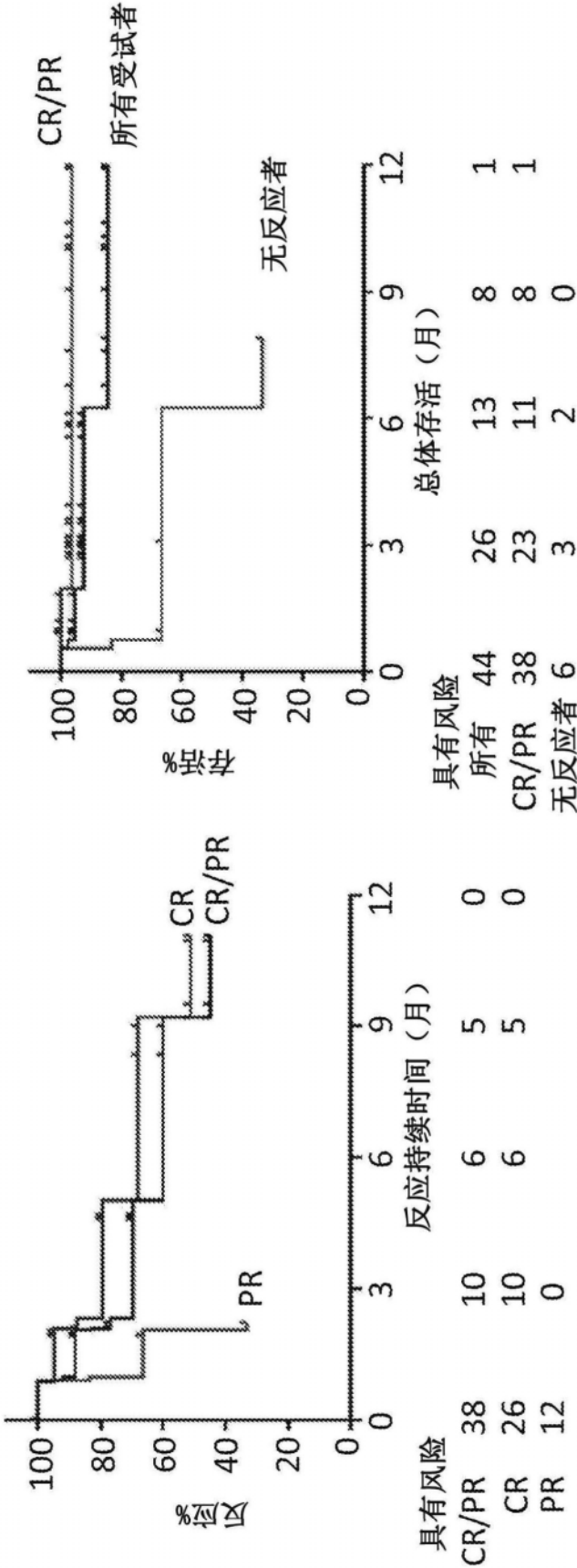
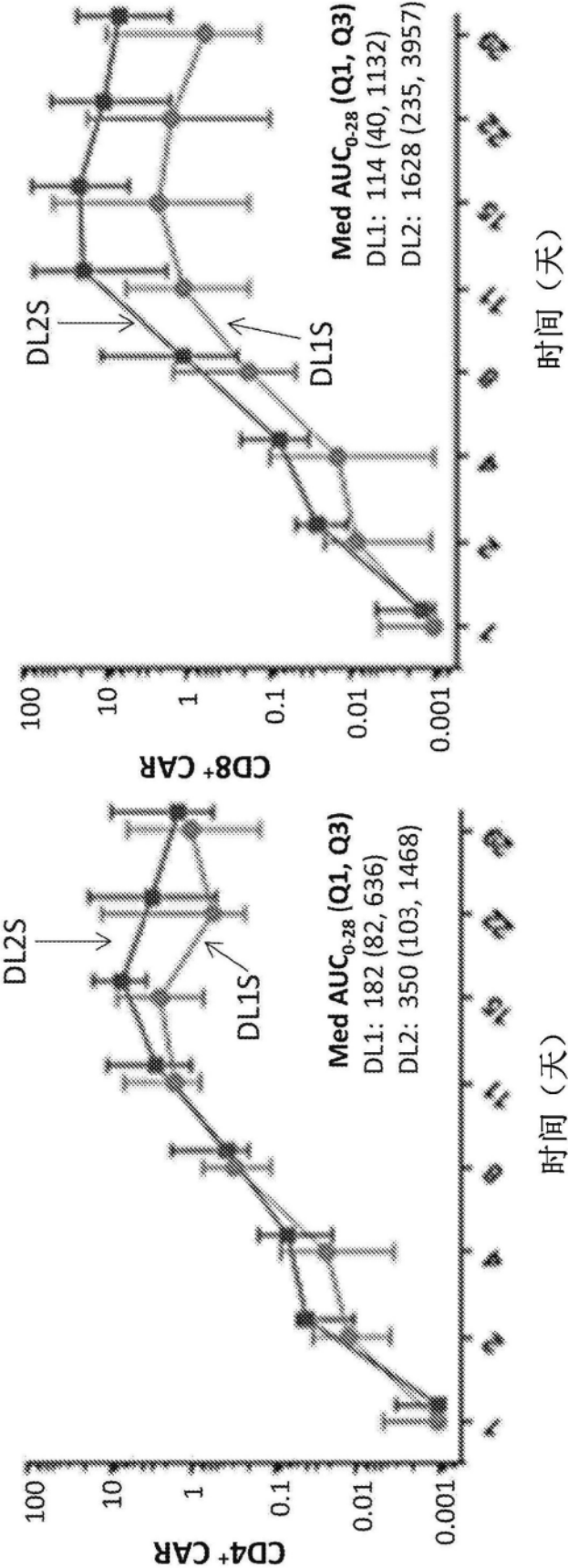


图6B

剂量水平



剂量水平
DL1S (n=29) DL2S (n=18)

图7A

第3个月的反应

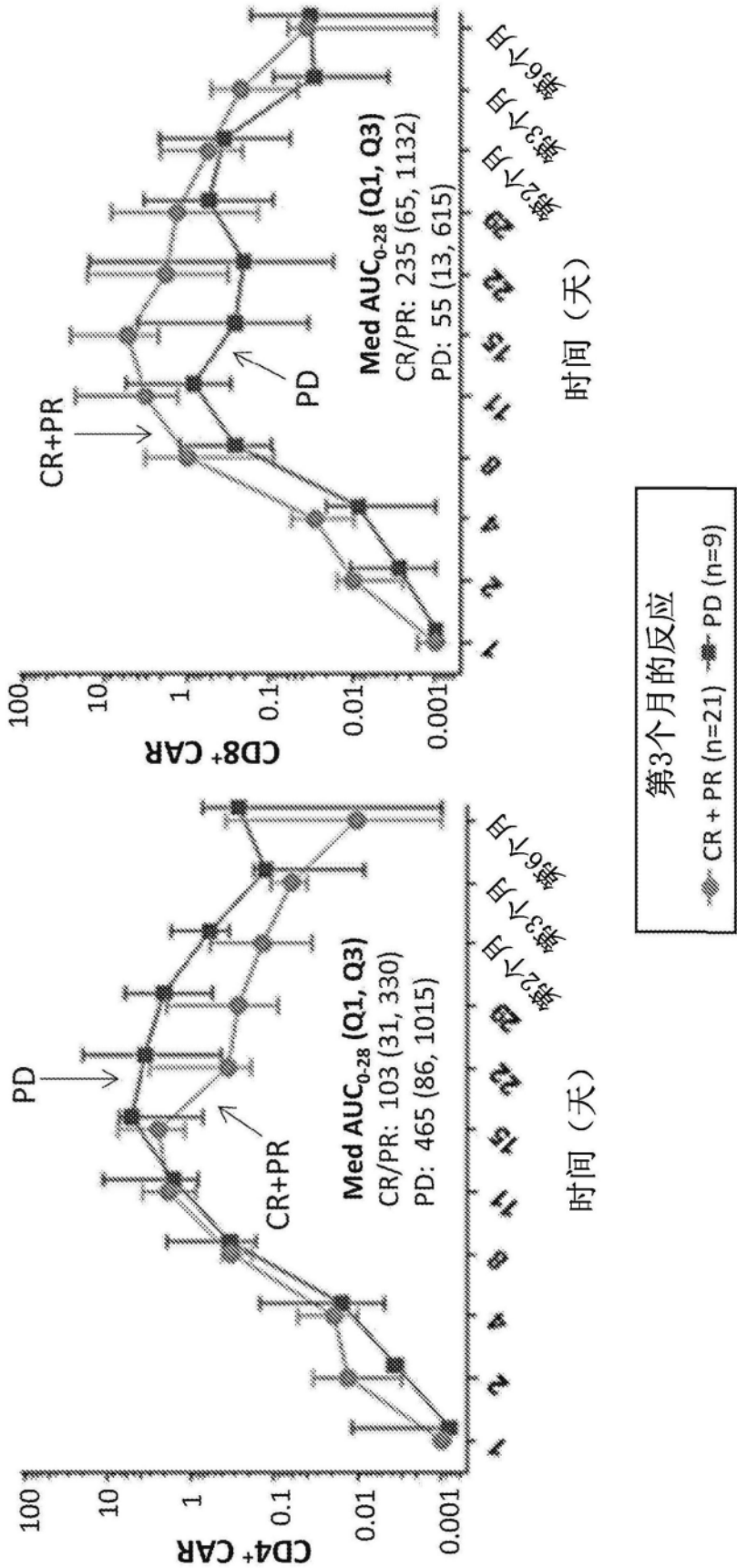


图7B

神经毒性

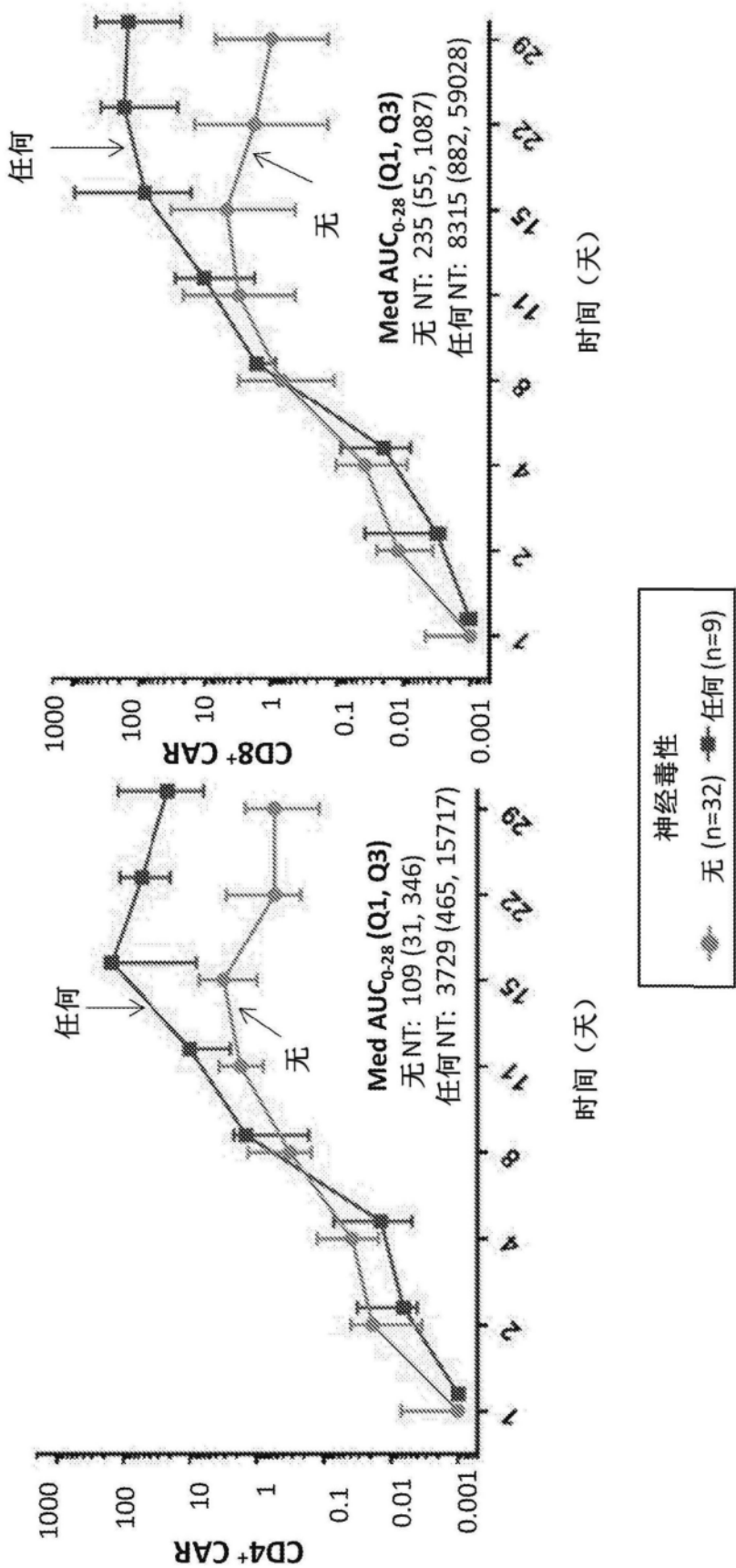
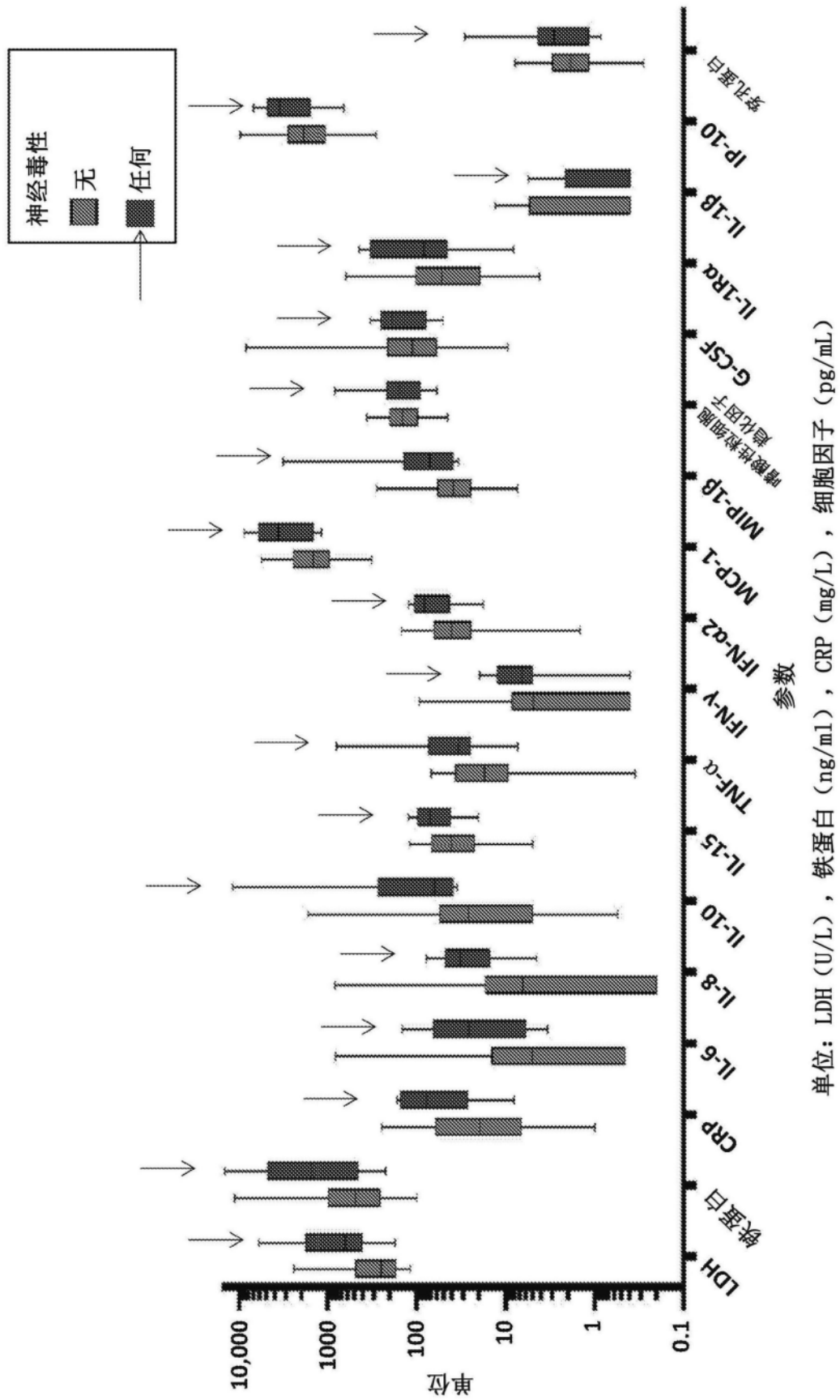


图7C



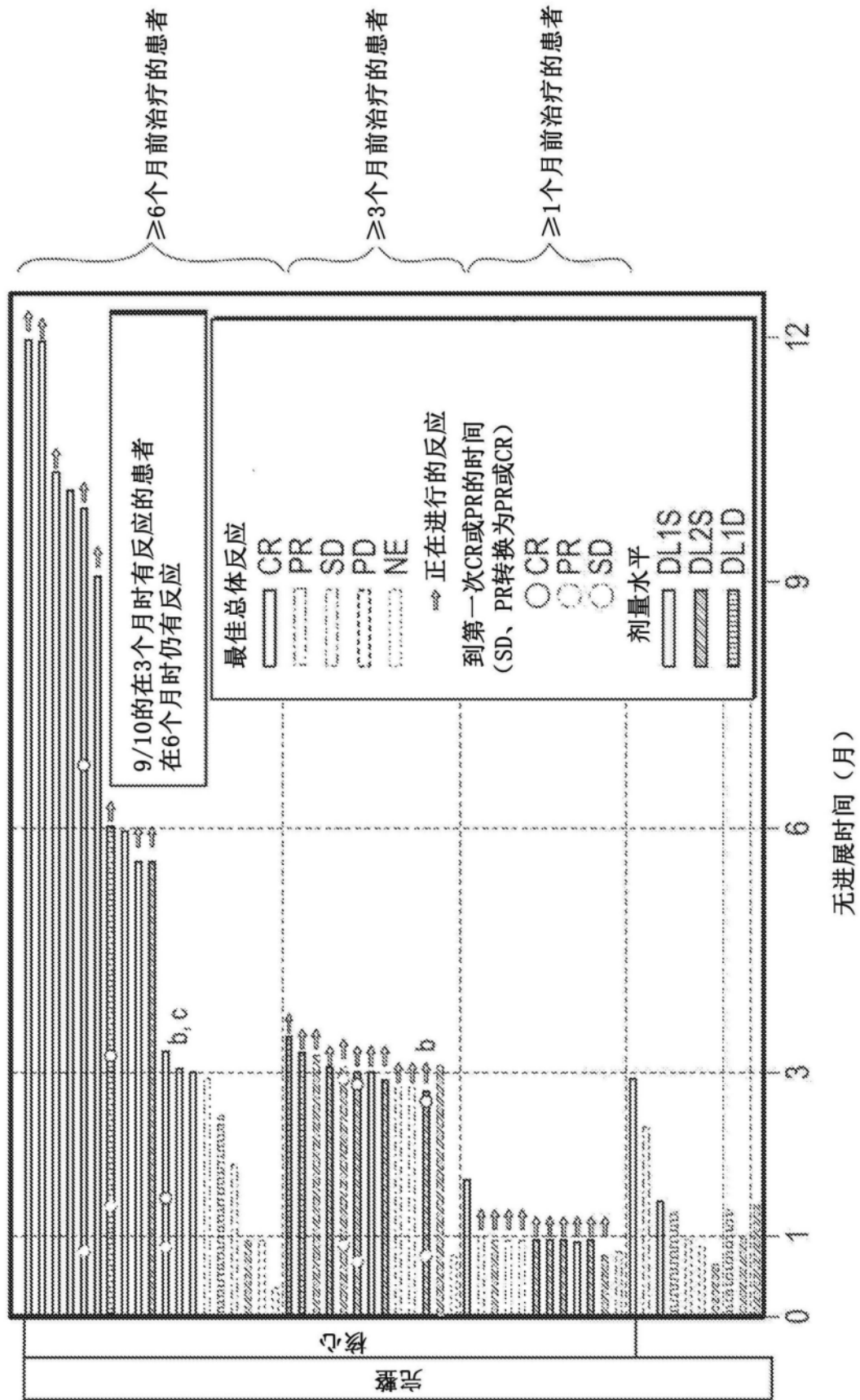


图9

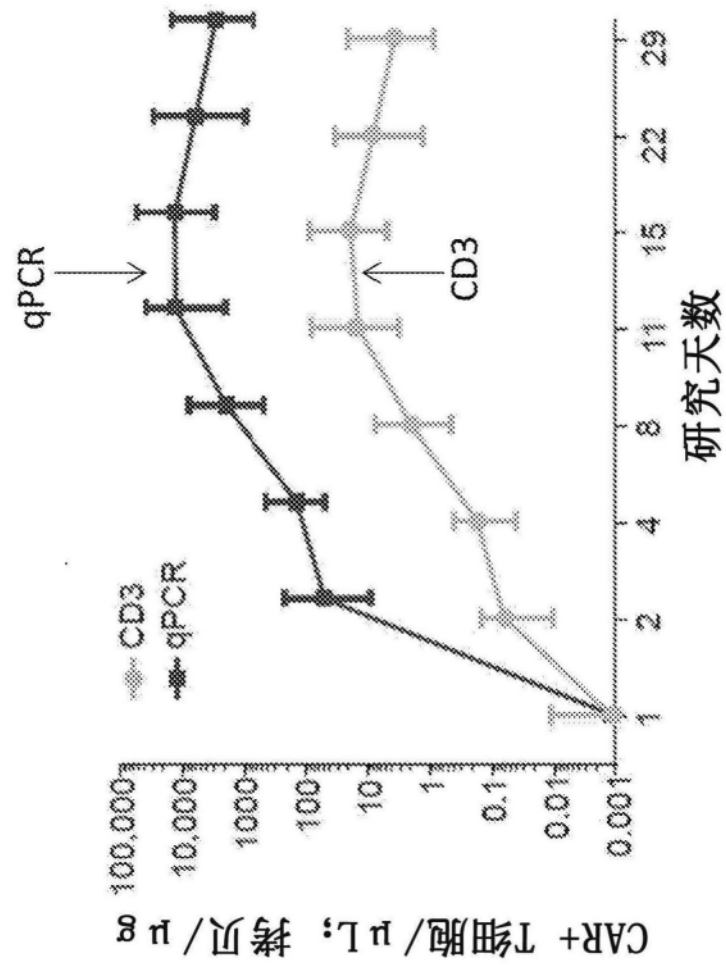


图10A

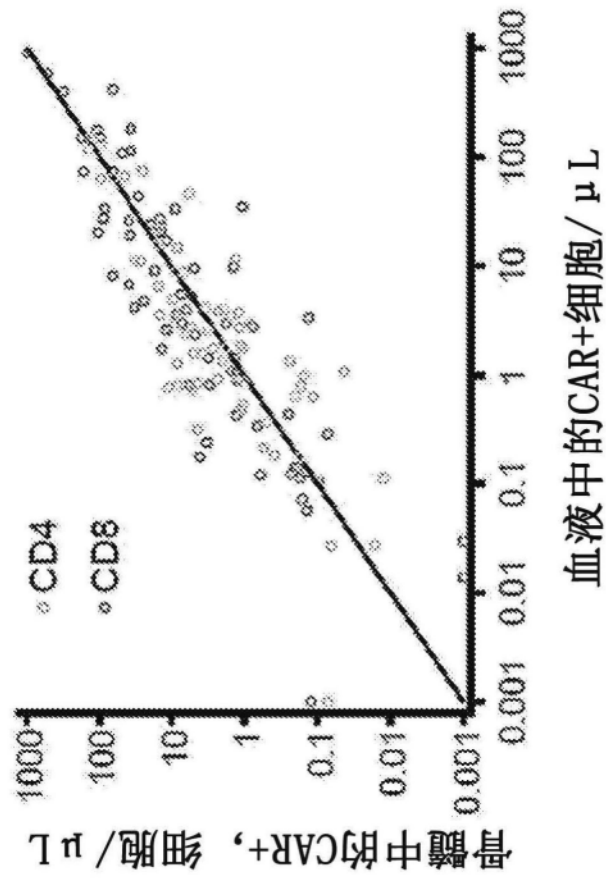


图10B

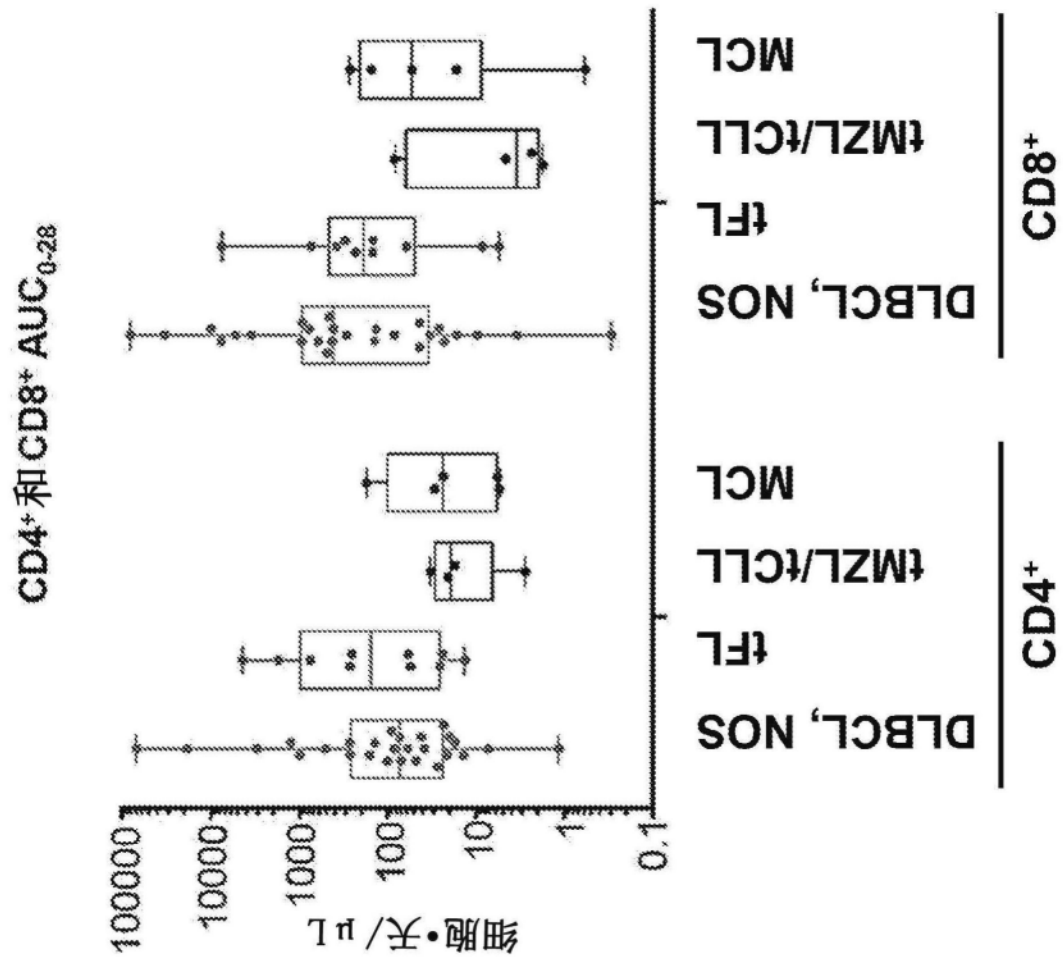


图11A

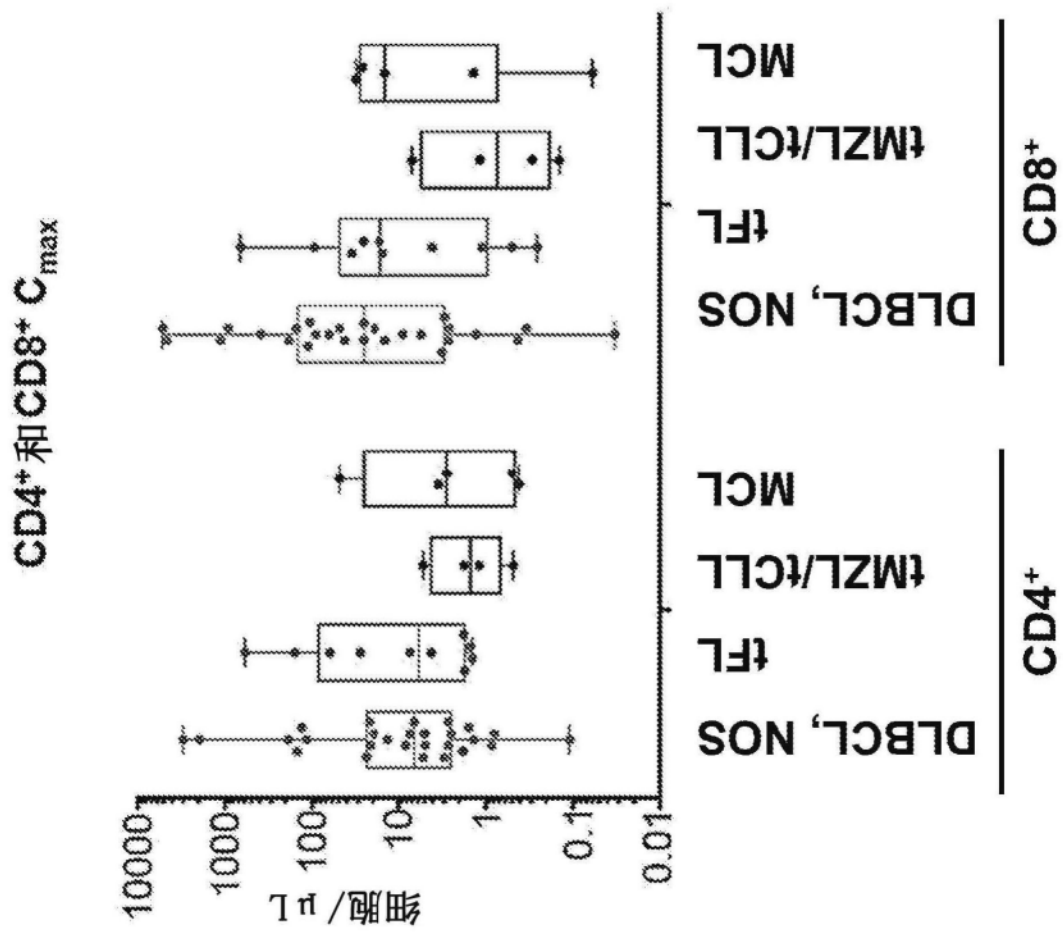


图11B

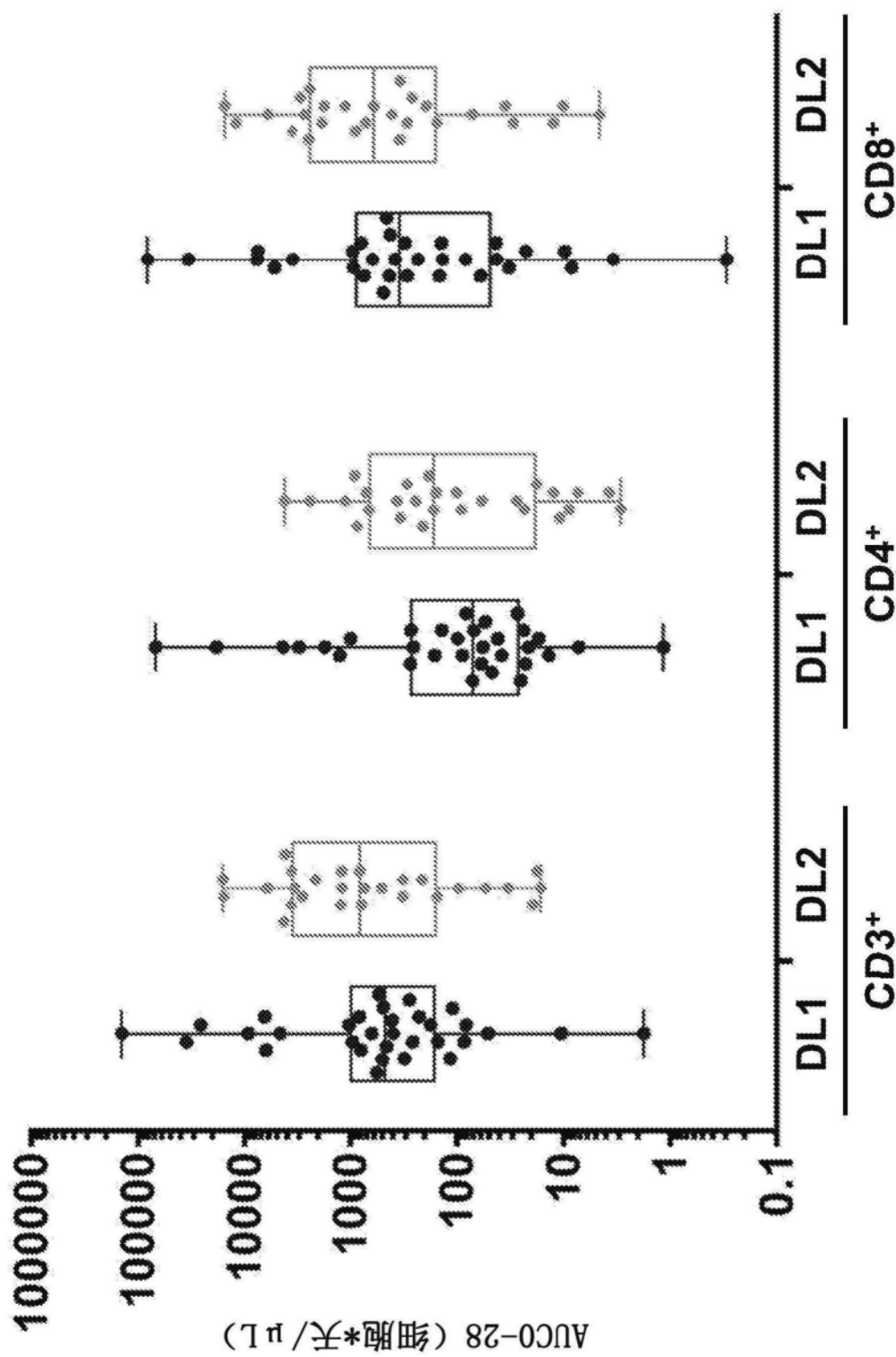


图12A

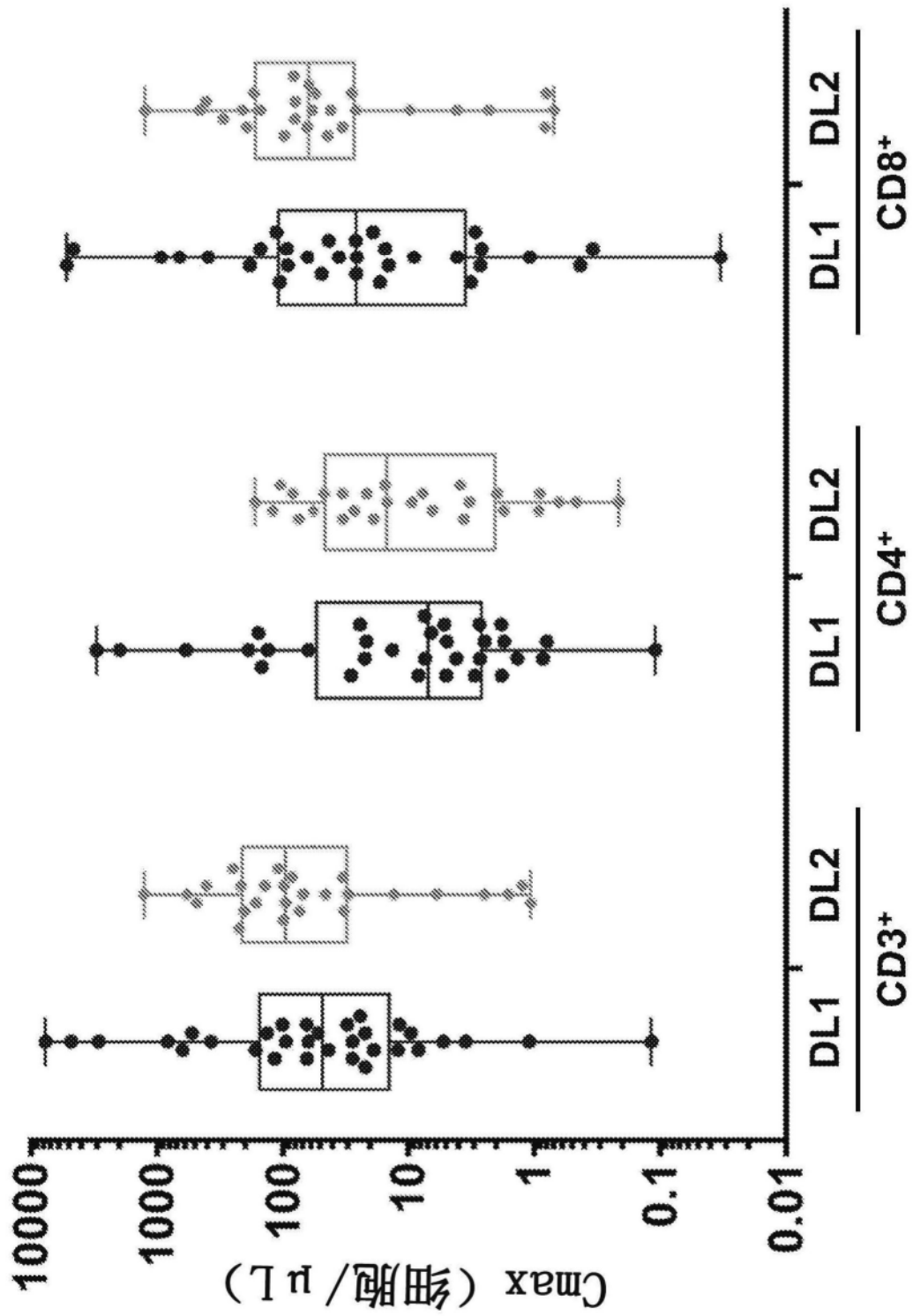


图12B

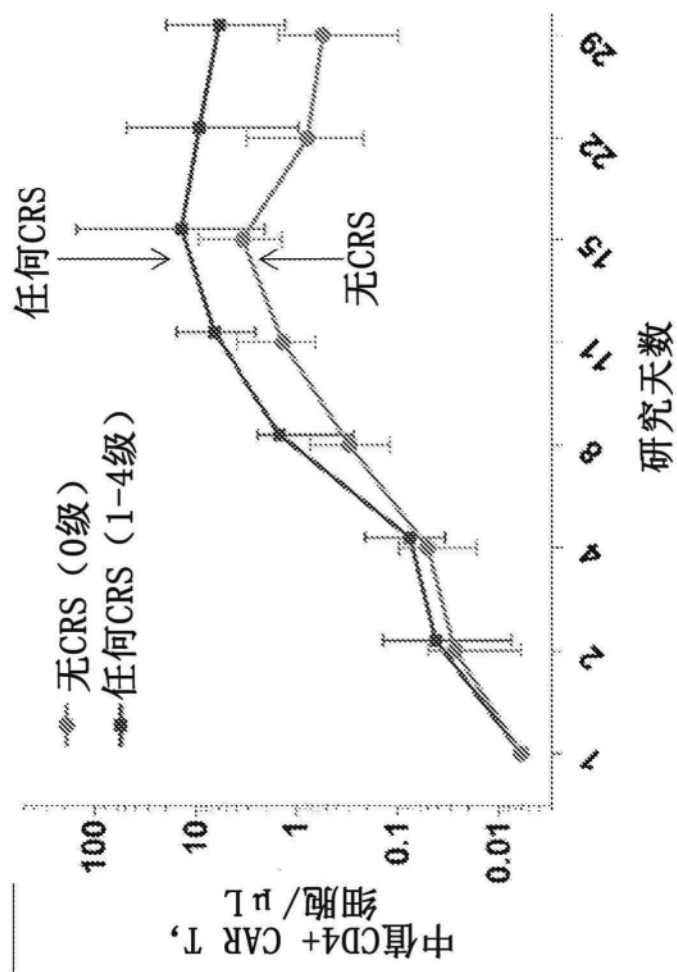


图13A

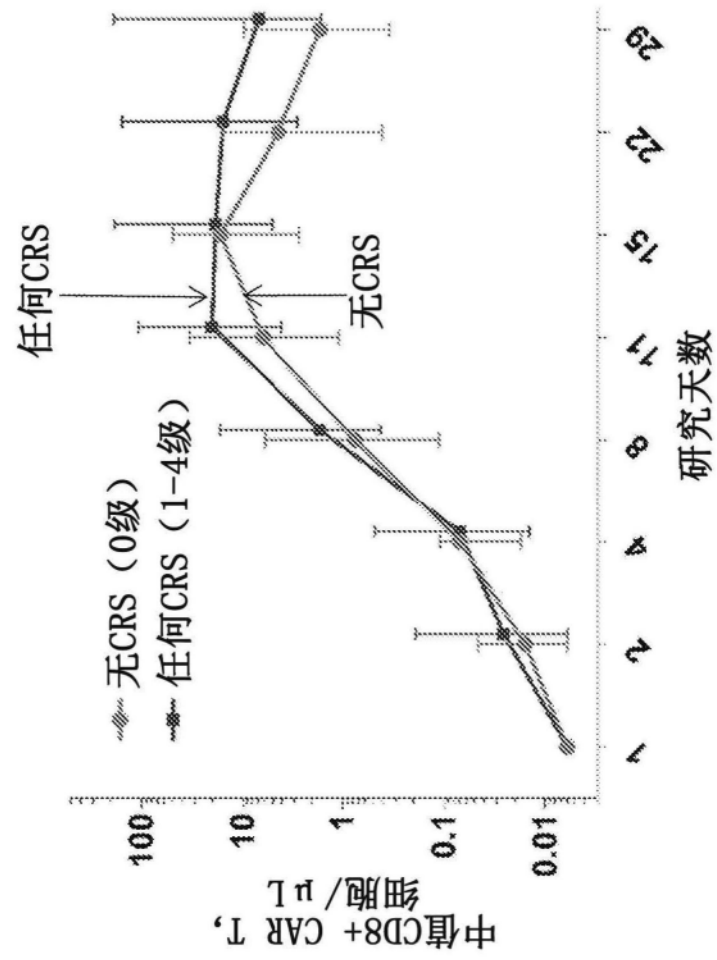


图13B

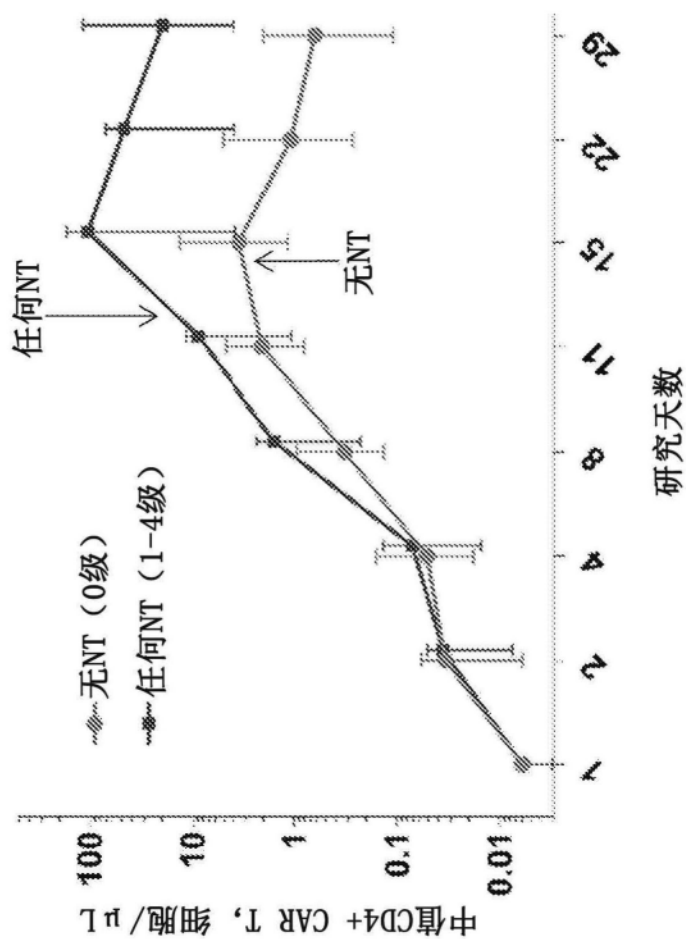


图13C

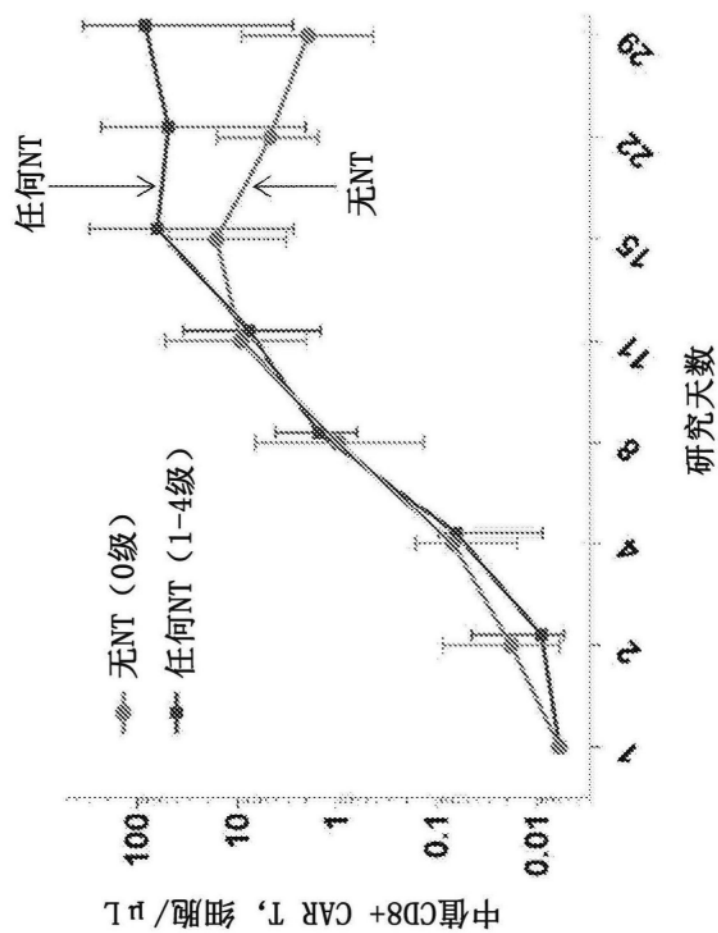


图13D

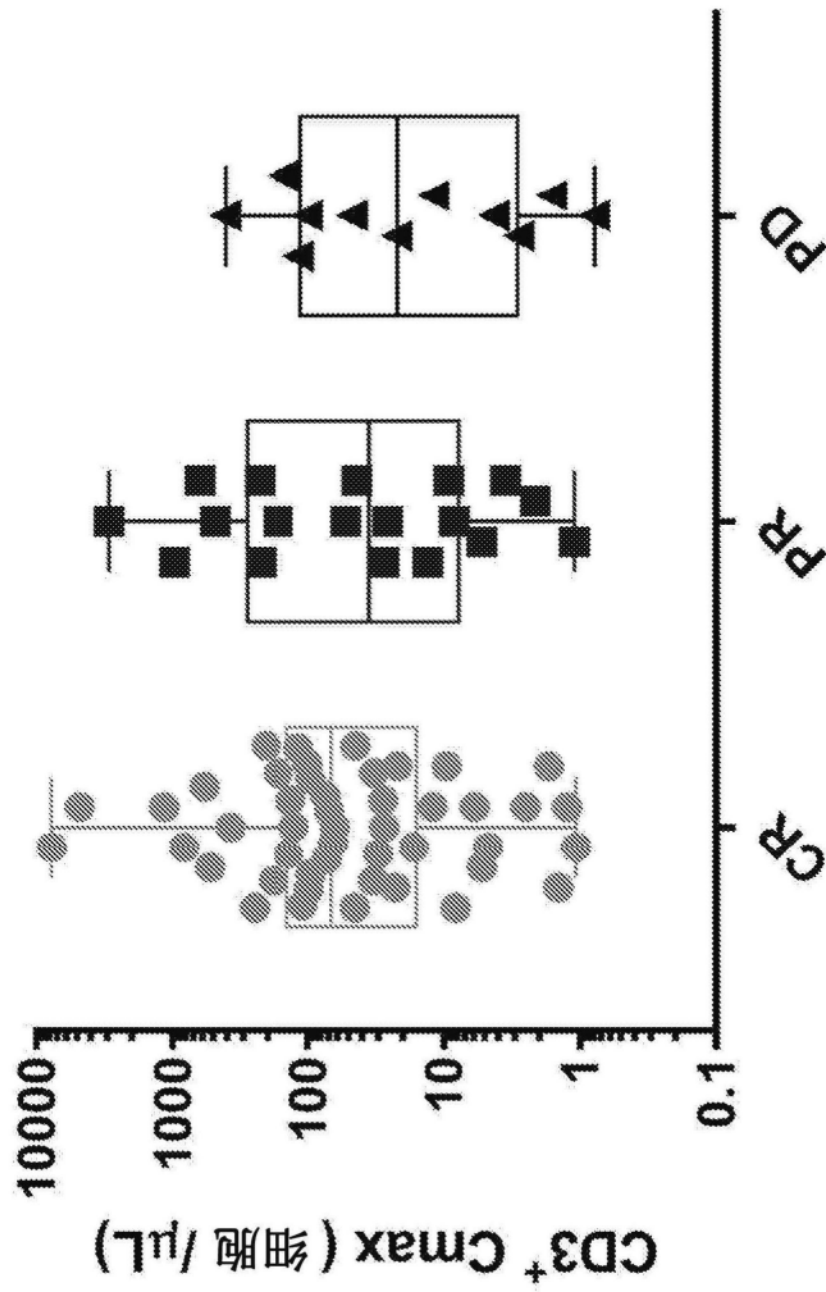


图14

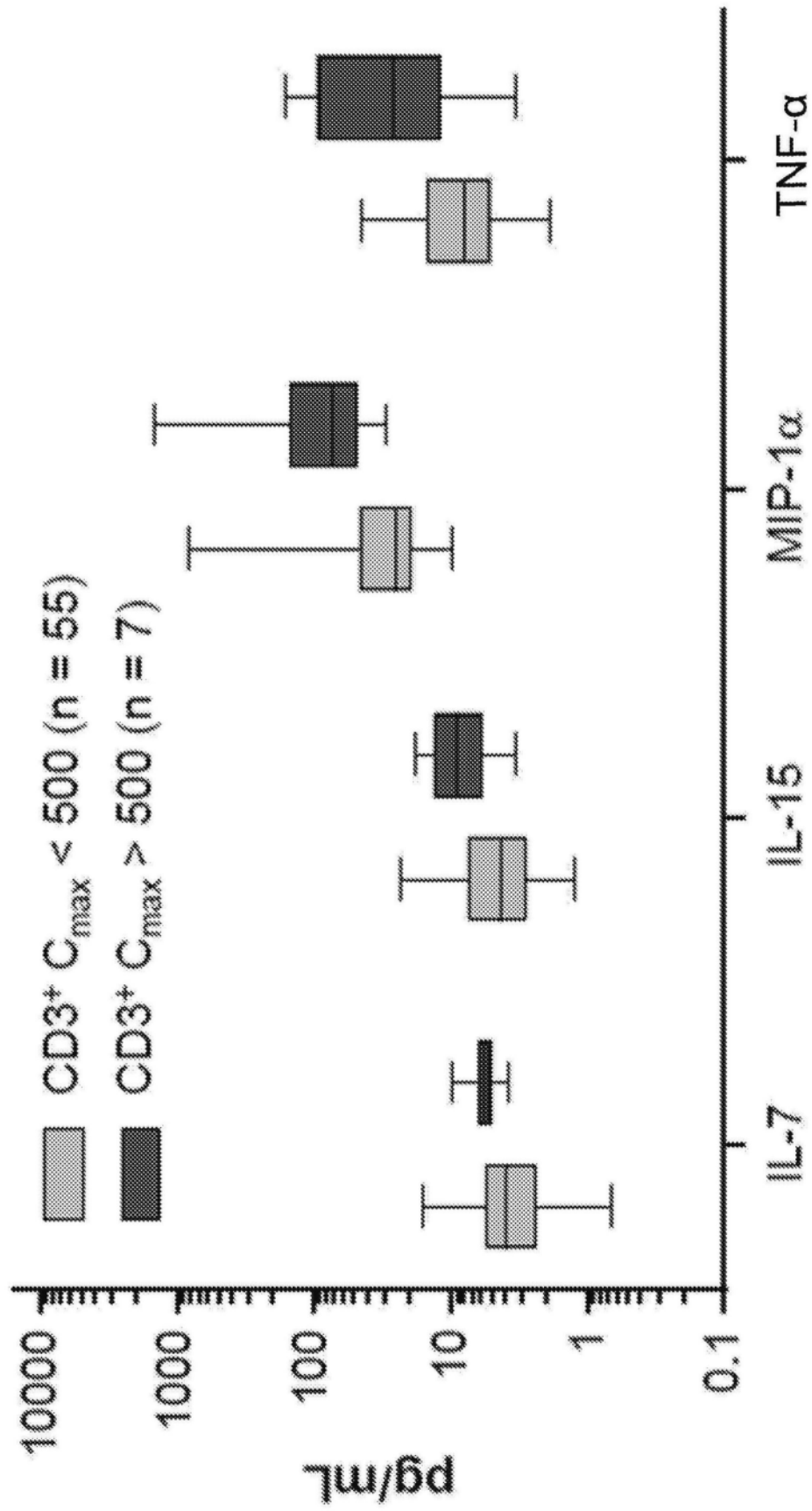


图15A

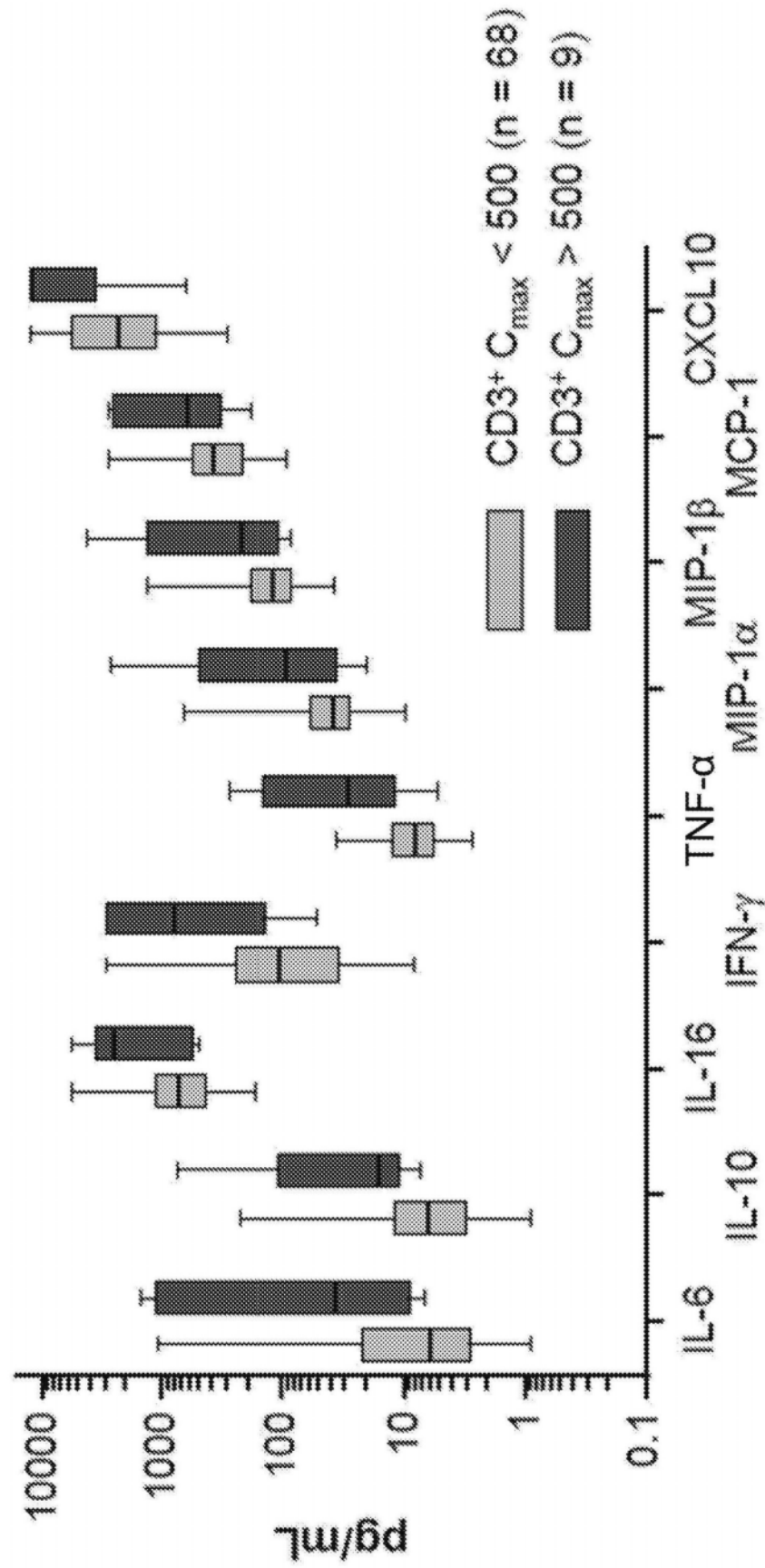


图15B

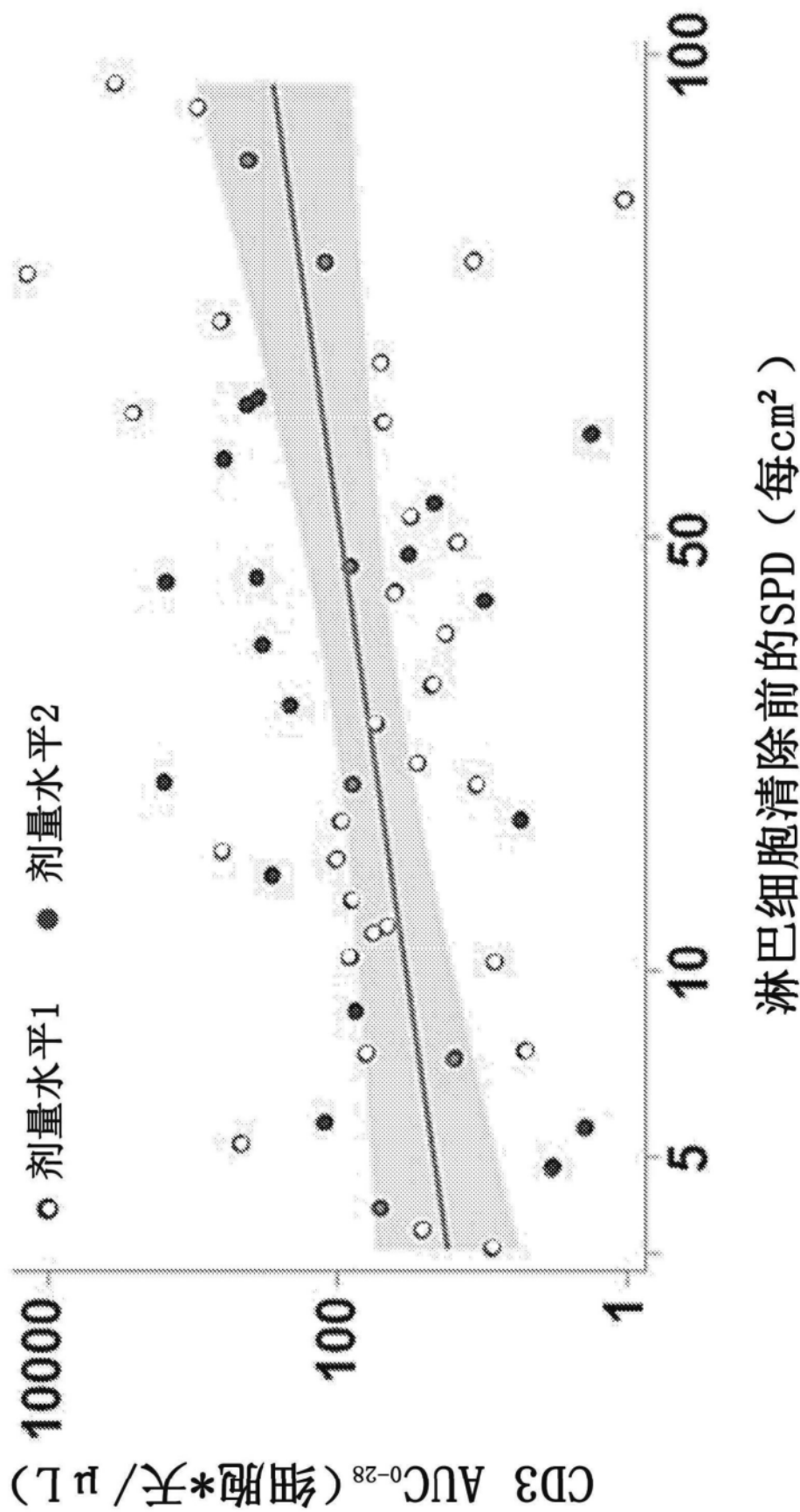


图16

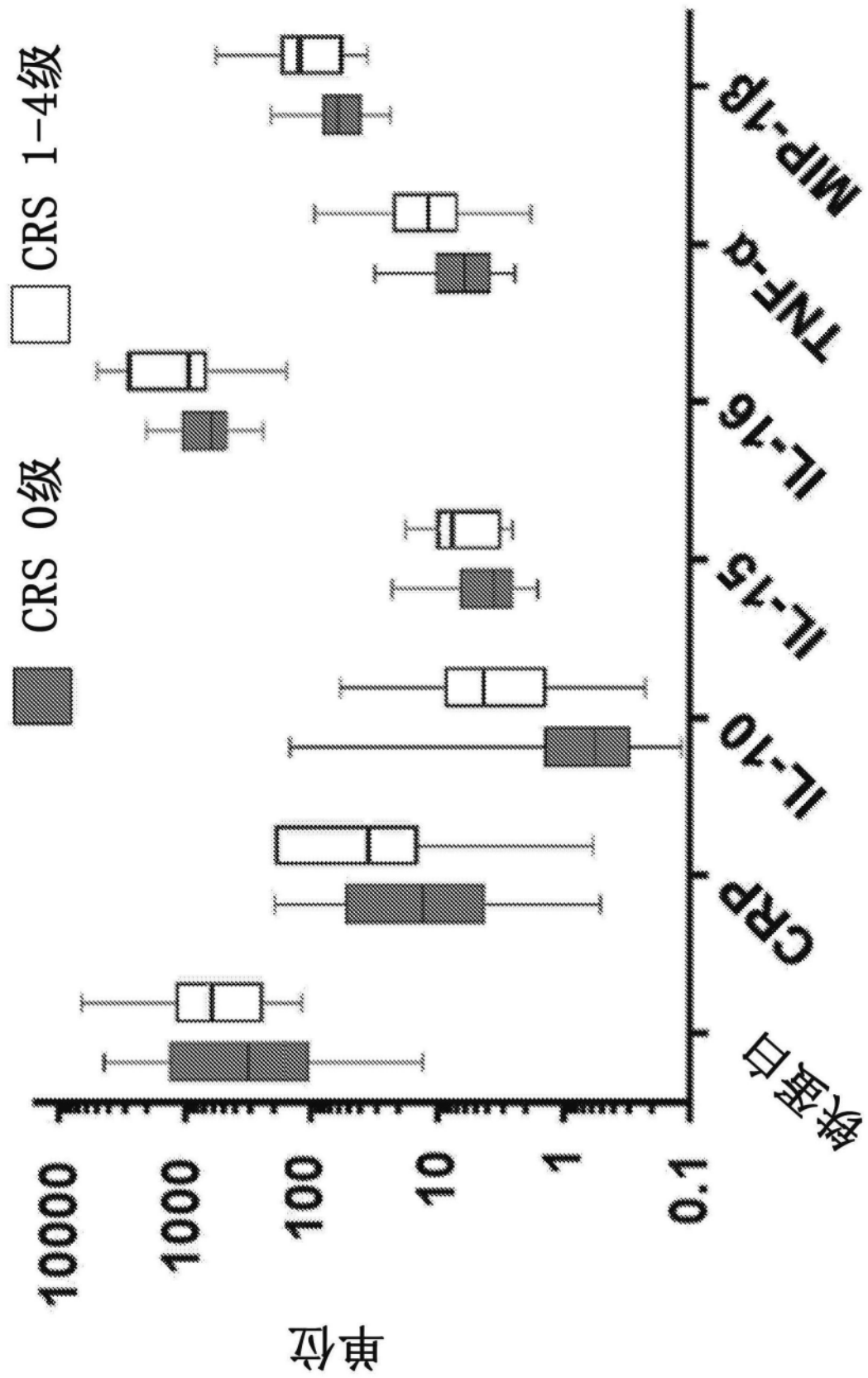


图17A

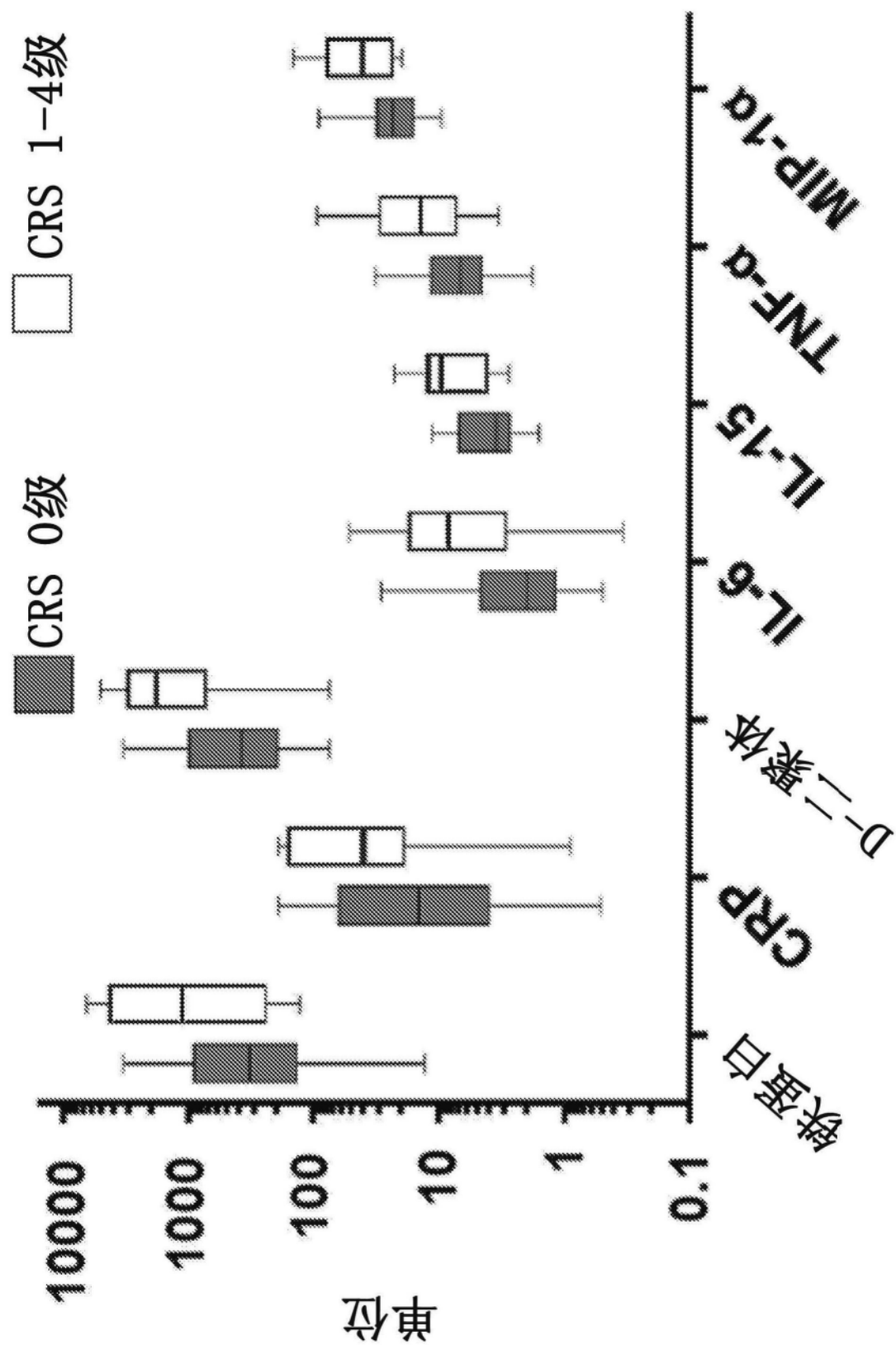


图17B

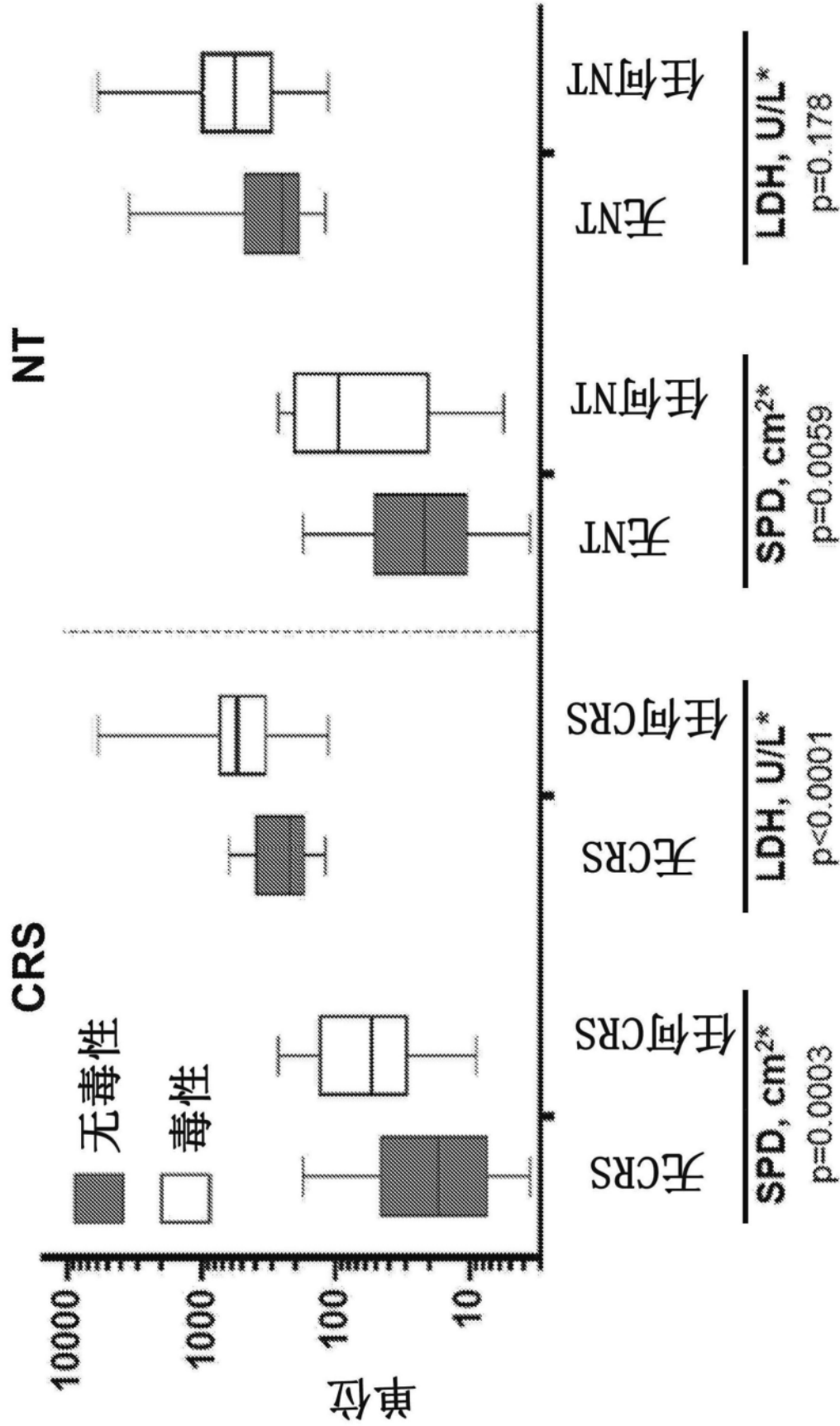


图18

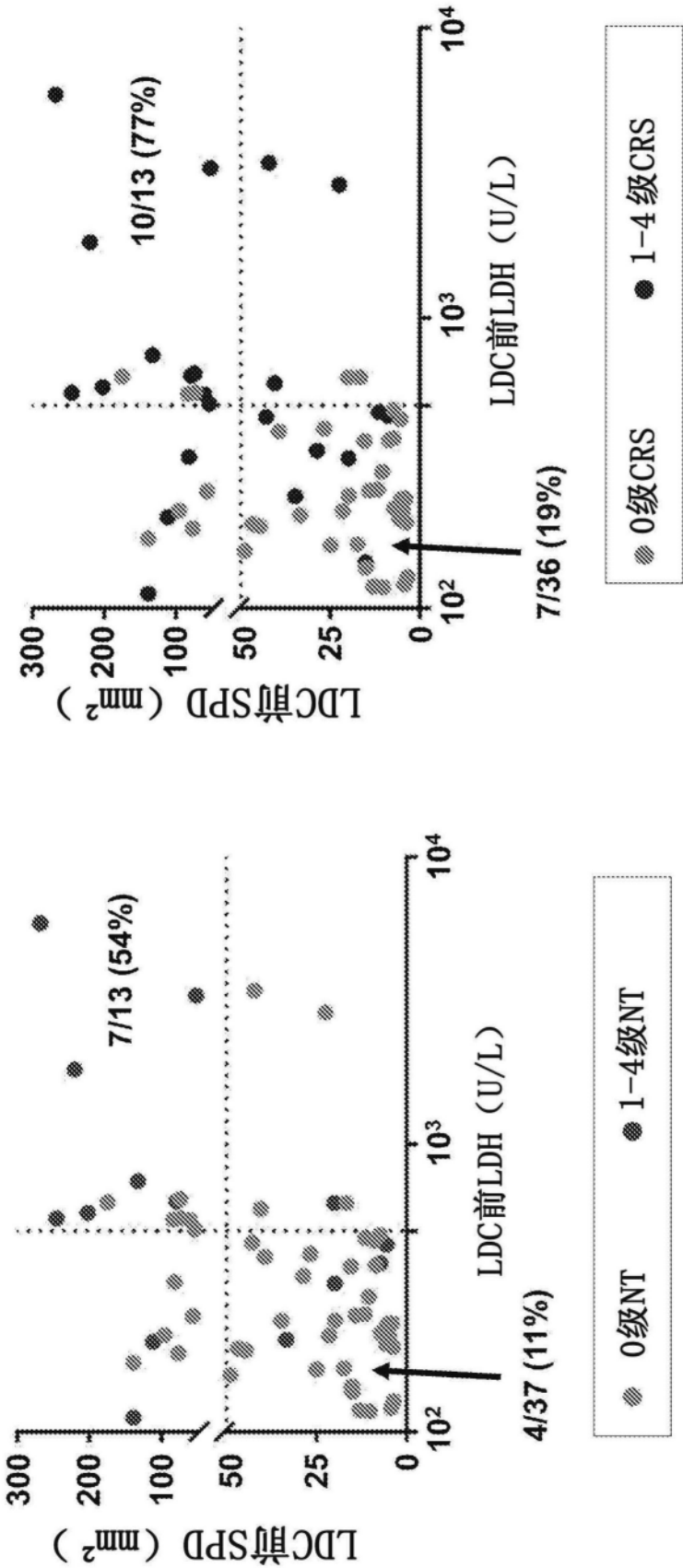


图19A

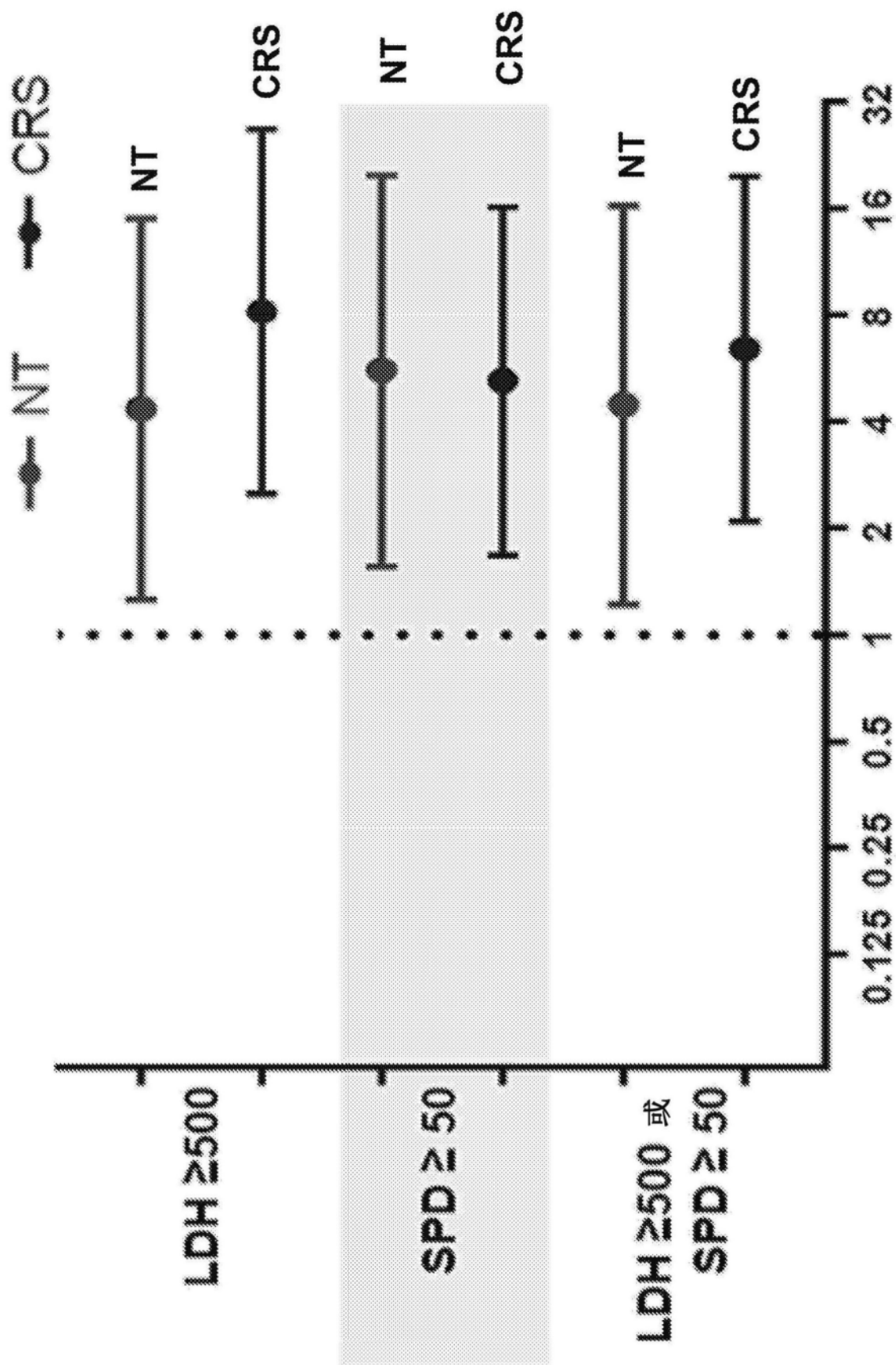


图19B

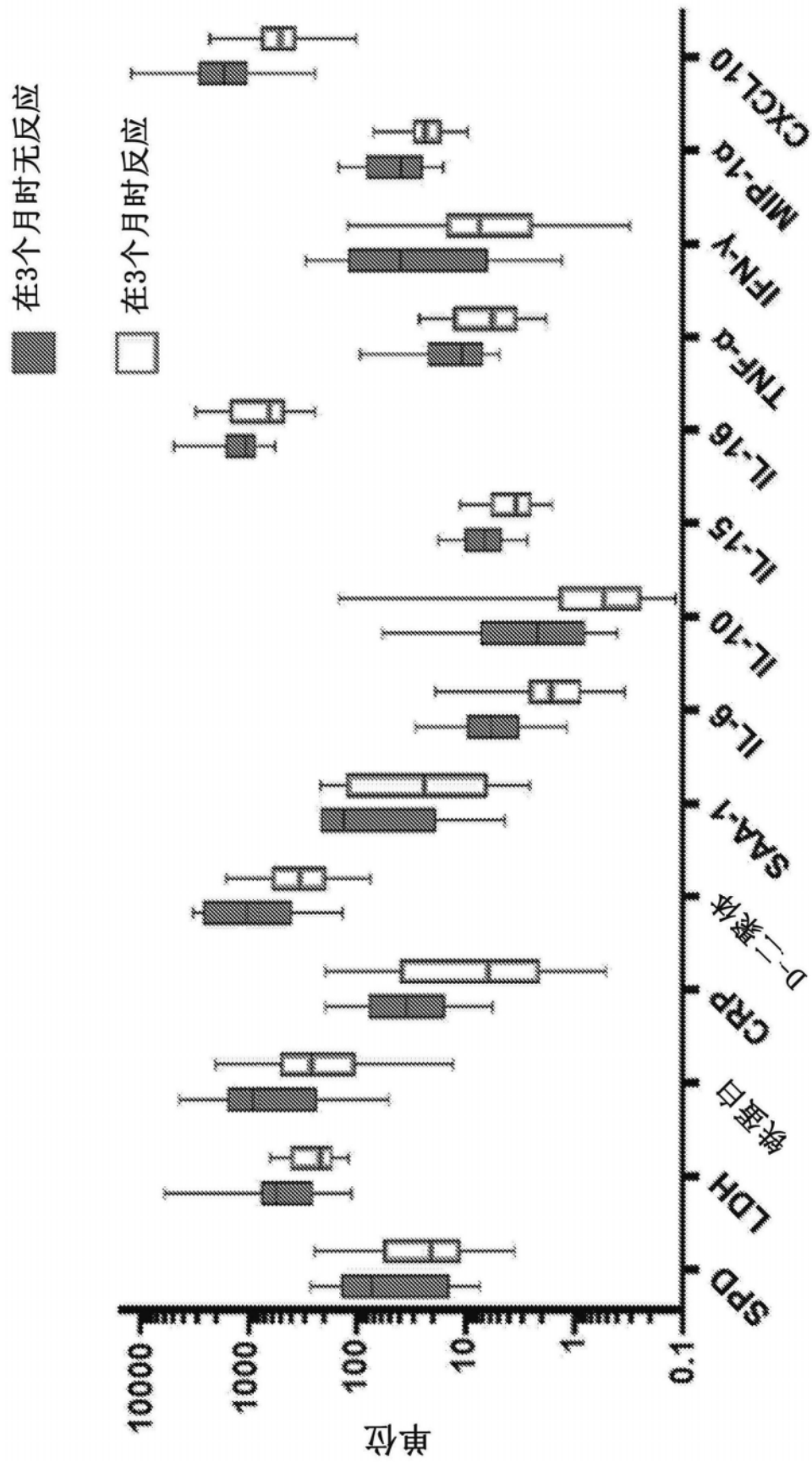


图20

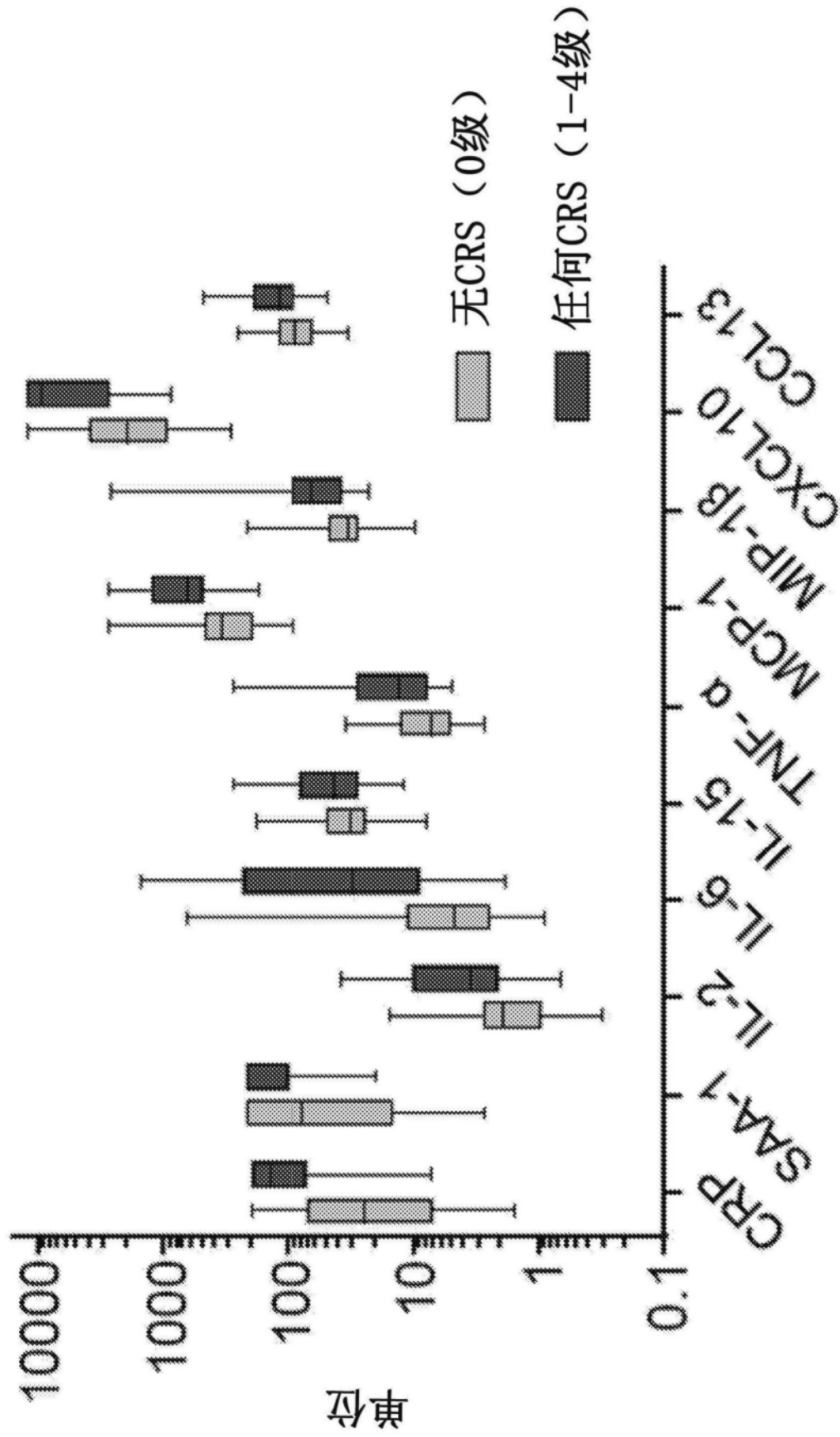


图21A

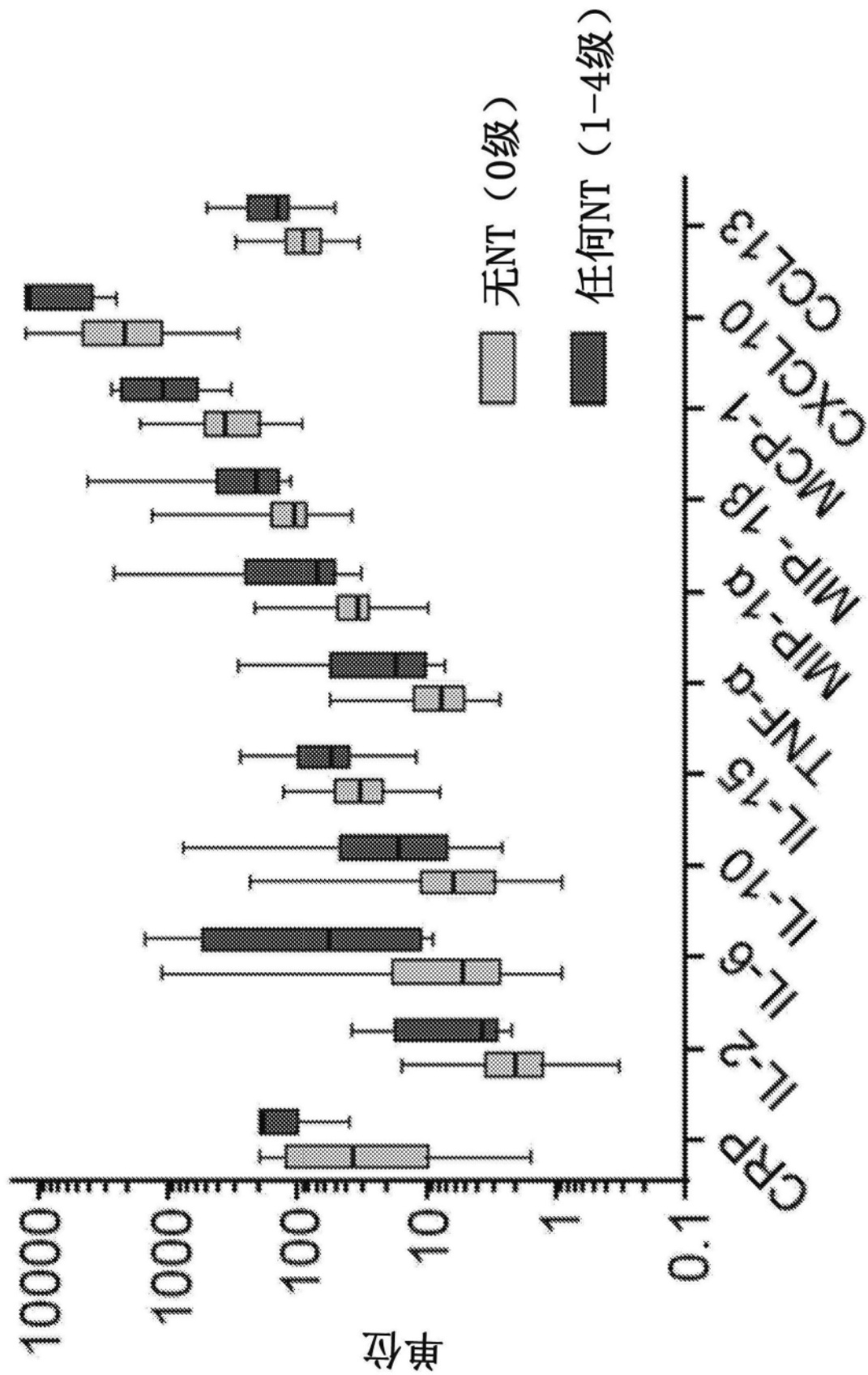


图21B

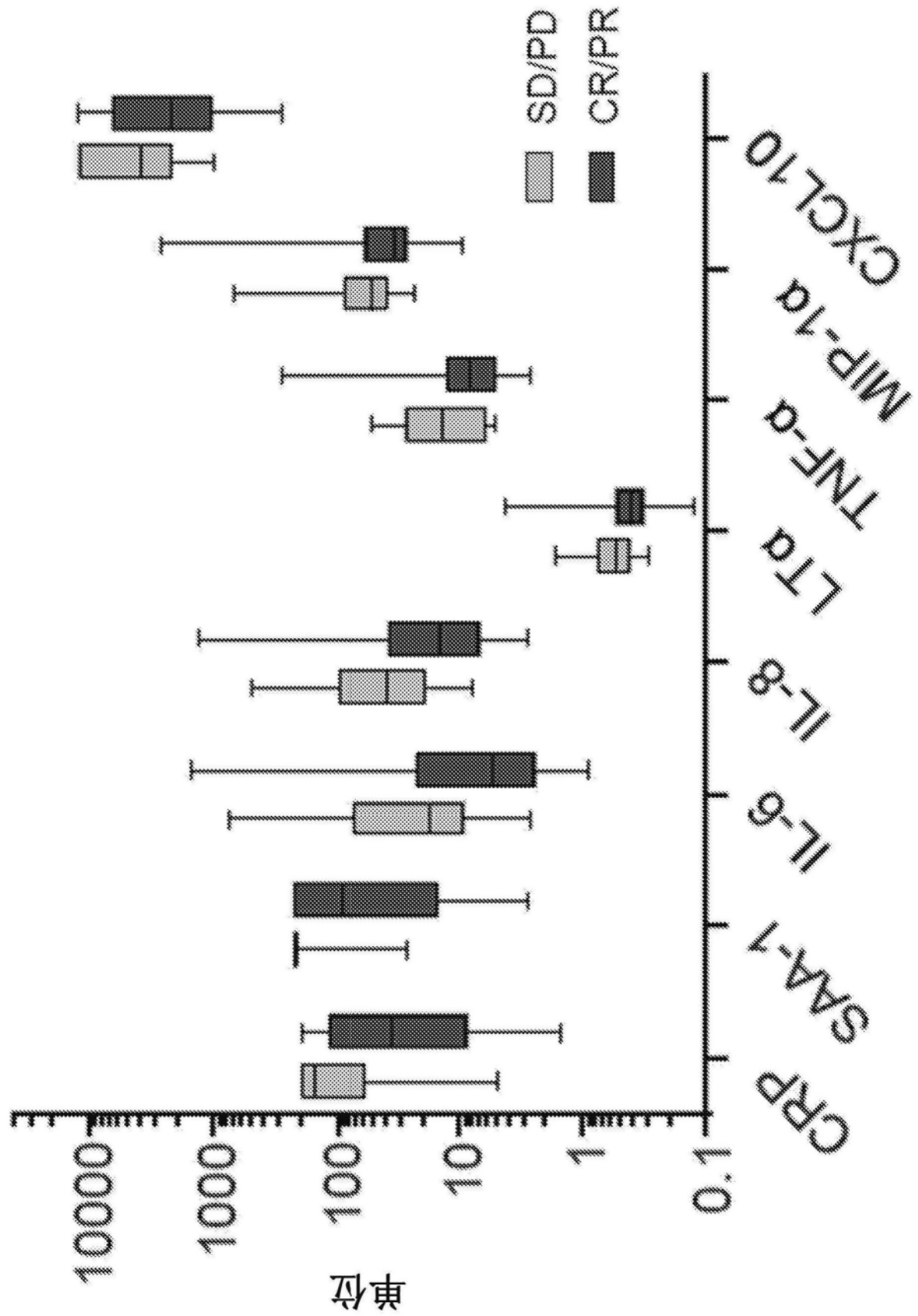


图22A

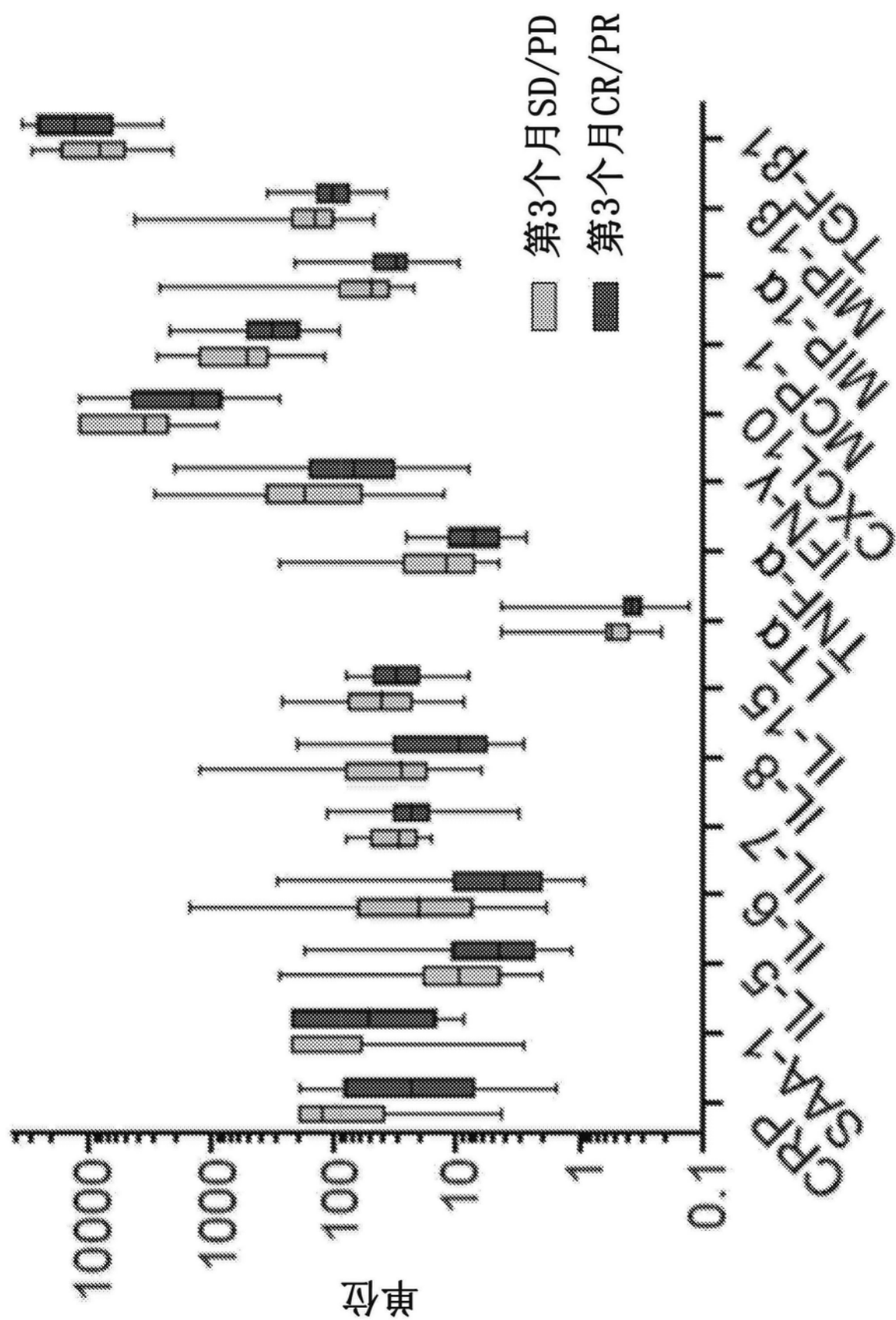


图22B

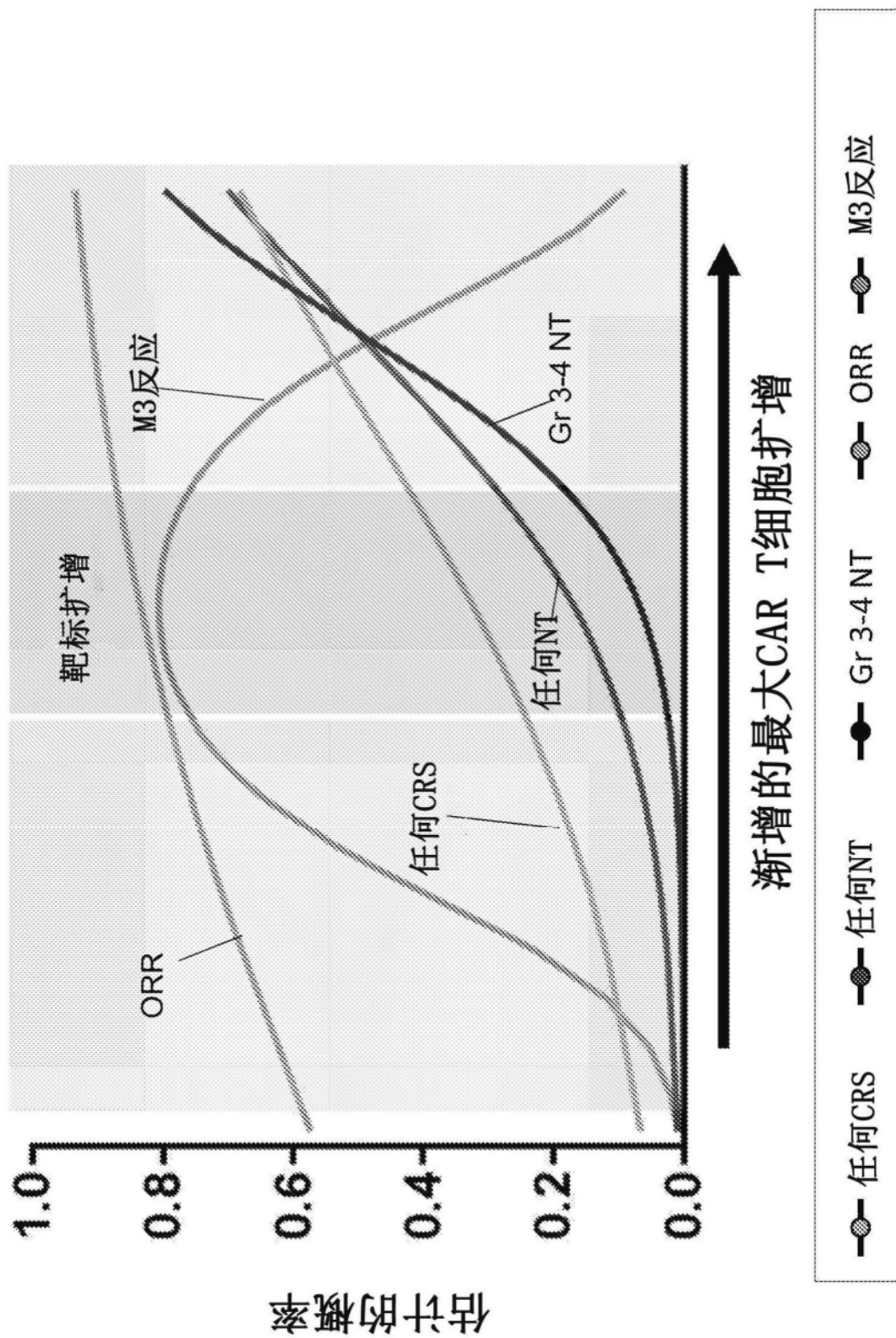


图23A

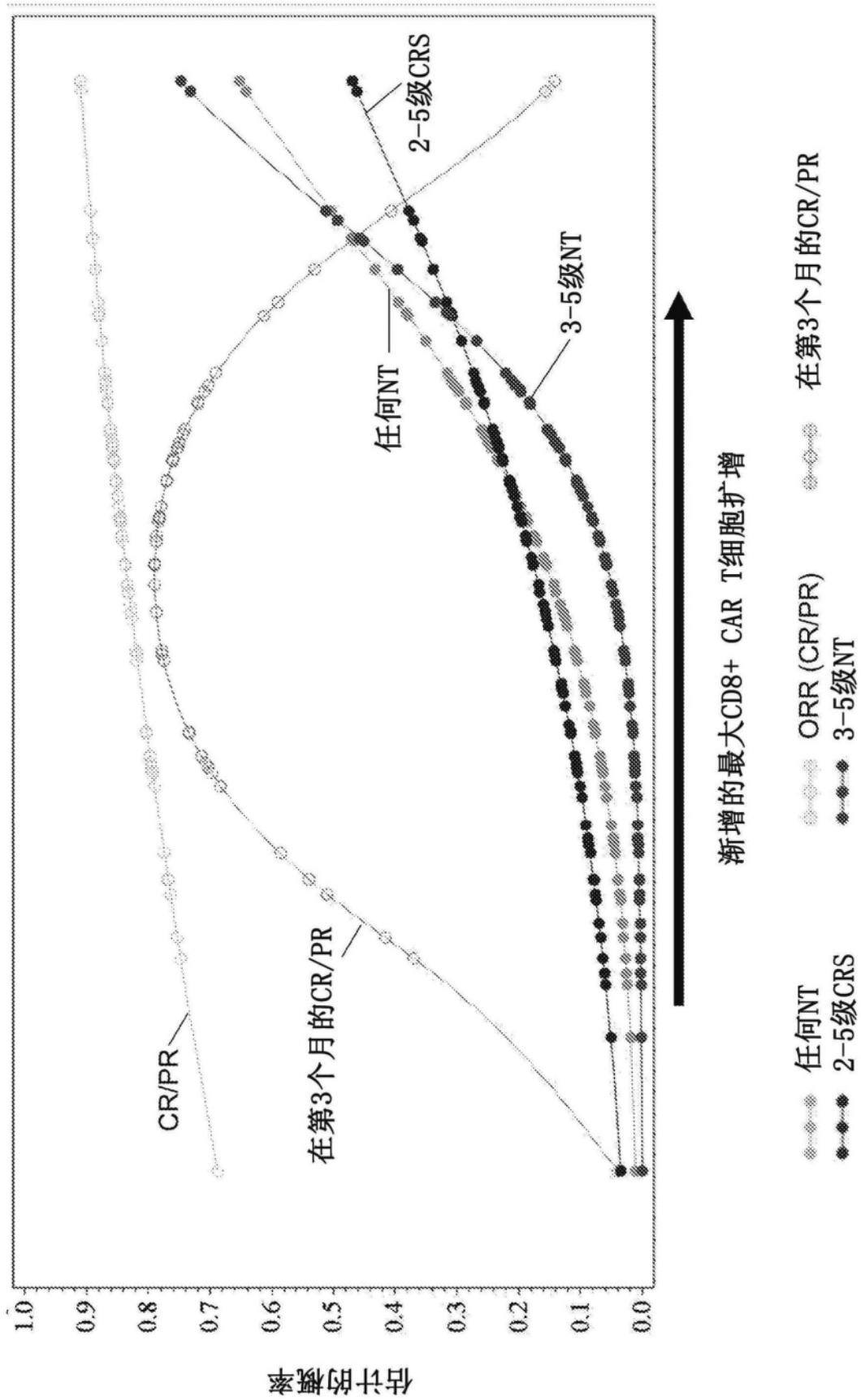


图23B

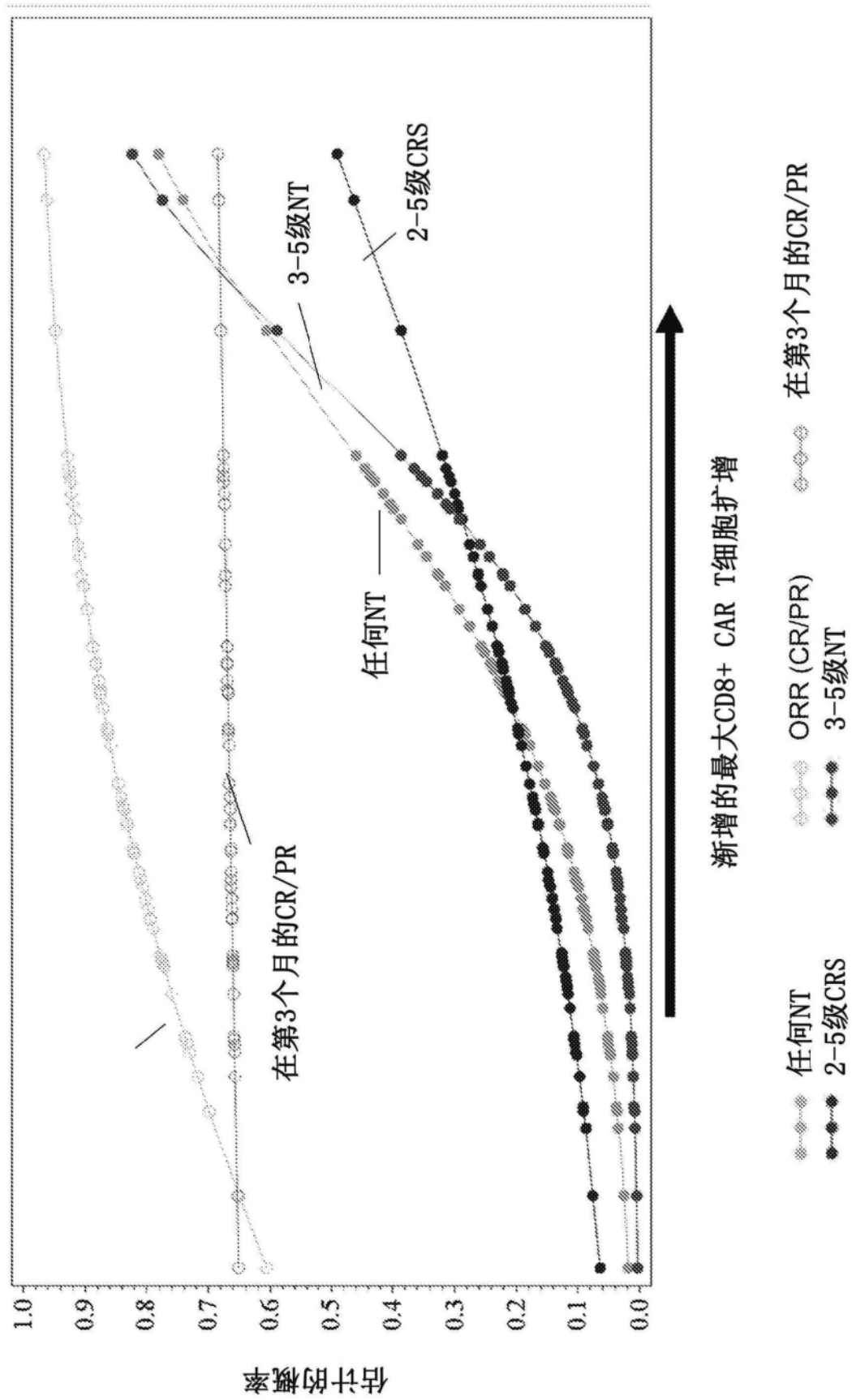


图23C