



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107921065 A

(43)申请公布日 2018.04.17

(21)申请号 201680049106.8

(22)申请日 2016.06.21

(30)优先权数据

62/185,558 2015.06.26 US

62/191,304 2015.07.10 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2018.02.24

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2016/038530 2016.06.21

(87)PCT国际申请的公布数据

W02016/209816 EN 2016.12.29

(71)申请人 纪念斯隆-凯特林癌症中心

地址 美国纽约州

申请人 康奈尔大学

(72)发明人 理查德·约翰·奥莱利

苏珊·伊丽莎白·普罗科普

E·道布罗维纳 冈瑟·科伊内

艾莎·纳斯林·哈桑

西拉德·基斯

(74)专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262

代理人 郑霞

(51)Int.Cl.

A61K 35/17(2006.01)

A61K 39/00(2006.01)

A61P 31/12(2006.01)

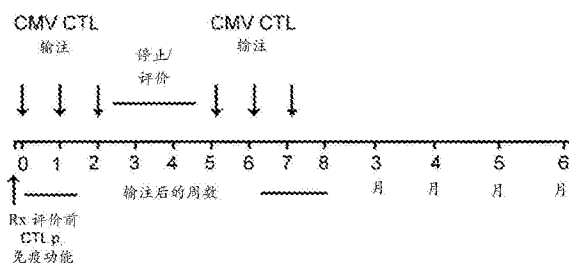
权利要求书4页 说明书24页 附图5页

(54)发明名称

通过T细胞疗法治疗CMV视网膜炎的方法

(57)摘要

本文公开了治疗对其有需要的人类患者中CMV(巨细胞病毒)视网膜炎的方法,包括向所述人类患者施用包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群,其中所述人类患者感染了HIV或者已经是实体器官移植的受体。



1. 治疗对其有需要的人类患者中的CMV(巨细胞病毒)视网膜炎的方法,包括向所述人类患者施用包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群;其中所述人类患者感染了HIV。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中,所述人类患者患有AIDS。

3. 治疗对其有需要的人类患者中的CMV视网膜炎的方法,包括向所述人类患者施用包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群;其中所述人类患者已经是来自移植供体的实体器官移植的受体。

4. 根据权利要求3所述的方法,其中,所述实体器官移植是肾移植、肝移植、心脏移植、肠移植、胰腺移植、肺移植、小肠移植或它们的组合。

5. 根据权利要求3所述的方法,其中,所述实体器官移植是肾移植。

6. 根据权利要求4或5所述的方法,其中,所述同种异体T细胞群来源于所述移植供体之外的供体。

7. 根据权利要求1-6中任一项所述的方法,其中,所述同种异体T细胞群受限于与至少一些,任选地全部感染CMV的细胞共有的HLA等位基因。

8. 根据权利要求1-7中任一项所述的方法,还包括在所述施用步骤之前,通过高分辨率分型确定所述人类患者的至少一种HLA等位基因的步骤。

9. 根据权利要求1-8中任一项所述的方法,其中,所述同种异体T细胞群与所述至少一些,任选地全部感染CMV的细胞共有8个HLA等位基因中的至少2个。

10. 根据权利要求9所述的方法,其中,所述8个HLA等位基因是两个HLA-A等位基因、两个HLA-B等位基因、两个HLA-C等位基因和两个HLA-DR等位基因。

11. 根据权利要求1-10中任一项所述的方法,其中,所述CMV-特异性T细胞识别CMVpp65。

12. 根据权利要求1-10中任一项所述的方法,其中,所述CMV-特异性T细胞识别CMV IE1。

13. 根据权利要求1-12中任一项所述的方法,还包括在所述施用步骤之前,体外产生所述同种异体T细胞群的步骤。

14. 根据权利要求13所述的方法,其中,所述体外产生所述同种异体T细胞群的步骤包括使同种异体T细胞对一种或多种CMV抗原敏化。

15. 根据权利要求13所述的方法,其中,所述体外产生所述同种异体T细胞群的步骤包括使用树突状细胞、细胞因子-激活的单核细胞、周围血单核细胞或EBV-BLCL(EBV-转化的B淋巴细胞系)细胞使同种异体T细胞敏化。

16. 根据权利要求15所述的方法,其中,所述使用树突状细胞、细胞因子-激活的单核细胞或周围血单核细胞使同种异体T细胞敏化的步骤包括使所述树突状细胞、所述细胞因子-激活的单核细胞、所述周围血单核细胞或所述EBV-BLCL细胞负载有来源于一种或多种CMV抗原的至少一种免疫原性肽。

17. 根据权利要求15所述的方法,其中,所述使用树突状细胞、细胞因子-激活的单核细胞或周围血单核细胞使同种异体T细胞敏化的步骤包括使所述树突状细胞、所述细胞因子-激活的单核细胞、所述周围血单核细胞或所述EBV-BLCL细胞负载有来源于一种或多种CMV抗原的一组重叠肽。

18. 根据权利要求13所述的方法,其中,所述体外产生所述同种异体T细胞群的步骤包

括使用人工抗原递呈细胞(AAPCs)使同种异体T细胞敏化。

19. 根据权利要求18所述的方法,其中,所述使用AAPCs使同种异体T细胞敏化的步骤包括使所述AAPCs负载有来源于一种或多种CMV抗原的至少一种免疫原性肽。

20. 根据权利要求18所述的方法,其中,所述使用AAPCs使同种异体T细胞敏化的步骤包括使所述AAPCs负载有来源于一种或多种CMV抗原的一组重叠肽。

21. 根据权利要求18所述的方法,其中,所述使用AAPCs使同种异体T细胞敏化的步骤包括工程化改造所述AAPCs以在所述AAPCs中表达至少一种免疫原性CMV肽或蛋白。

22. 根据权利要求17或20所述的方法,其中,所述重叠肽的组是一组重叠十五肽。

23. 根据权利要求14-22中任一项所述的方法,还包括在敏化后冷冻保存所述同种异体T细胞。

24. 根据权利要求1-23中任一项所述的方法,还包括,在所述施用步骤之前,使冷冻保存的CMV-抗原敏化的同种异体T细胞融化,并体外扩增所述同种异体T细胞以产生所述同种异体T细胞群的步骤。

25. 根据权利要求1-24中任一项所述的方法,还包括,在所述施用步骤之前,使冷冻保存形式的所述同种异体T细胞群融化的步骤。

26. 根据权利要求1-22中任一项所述的方法,其中,所述同种异体T细胞群来源于T细胞系。

27. 根据权利要求26所述的方法,还包括,在所述施用步骤之前,从多种冷冻保存的T细胞系的库中选择所述T细胞系的步骤。

28. 根据权利要求26或27所述的方法,还包括,在所述施用步骤之前,使冷冻保存形式的所述T细胞系融化的步骤。

29. 根据权利要求26-28中任一项所述的方法,还包括,在所述施用步骤之前,体外扩增所述T细胞系的步骤。

30. 根据权利要求1-29中任一项所述的方法,其中,所述施用是通过输注所述同种异体T细胞群进行的。

31. 根据权利要求30所述的方法,其中,所述输注是静脉推注。

32. 根据权利要求1-31中任一项所述的方法,其中,所述施用包括向所述人类患者每周每剂量每千克施用至少约 $1 \times 10^5$ 个T细胞的所述同种异体T细胞群。

33. 根据权利要求1-31中任一项所述的方法,其中,所述施用包括向所述人类患者每周每剂量每千克施用约 $1 \times 10^6$ 至约 $2 \times 10^6$ 个T细胞的所述同种异体T细胞群。

34. 根据权利要求1-31中任一项所述的方法,其中,所述施用包括向所述人类患者每周每剂量每千克施用约 $1 \times 10^6$ 个T细胞的所述同种异体T细胞群。

35. 根据权利要求1-31中任一项所述的方法,其中,所述施用包括向所述人类患者每周每剂量每千克施用约 $2 \times 10^6$ 个T细胞的所述同种异体T细胞群。

36. 根据权利要求1-35中任一项所述的方法,其中,所述施用包括向所述人类患者施用至少2剂量的所述同种异体T细胞群。

37. 根据权利要求36所述的方法,其中,所述施用包括向所述人类患者施用2、3、4、5或6剂量的所述同种异体T细胞群。

38. 根据权利要求1-35中任一项所述的方法,其中,所述施用包括施用第一轮每周1

剂量的所述同种异体T细胞群,连续施用3周,然后是在其间不施用所述同种异体T细胞群剂量的洗脱期,接着是第二轮的所述每周1剂量的所述同种异体T细胞群,连续施用3周。

39. 根据权利要求1-35中任一项所述的方法,其中,所述施用包括施用2、3、4、5或6轮每周1剂量的所述同种异体T细胞群,连续施用3周,每轮之间间隔在其间不施用所述同种异体T细胞群剂量的洗脱期。

40. 根据权利要求38或39所述的方法,其中,所述洗脱期为约3周。

41. 根据权利要求1-40中任一项所述的方法,还包括,在向所述人类患者施用所述同种异体T细胞群之后,向所述人类患者施用包含CMV-特异性T细胞的第二同种异体T细胞群;其中所述第二同种异体T细胞群受限于与至少一些,任选地全部所述感染CMV的细胞共有的不同HLA等位基因。

42. 根据权利要求41所述的方法,其中,所述施用包括施用第一轮的每周1剂量的所述同种异体T细胞群,连续施用3周,然后是在其间不施用所述同种异体T细胞群剂量的洗脱期,接着是第二轮的每周1剂量的第二同种异体T细胞群,连续施用3周。

43. 根据权利要求42所述的方法,其中,所述洗脱期为约3周。

44. 根据权利要求41-43中任一项所述的方法,其中,在施用所述同种异体T细胞群之后和施用所述第二同种异体T细胞群之前,所述人类患者无应答、不完全应答或应答不佳。

45. 根据权利要求1-44中任一项所述的方法,其中,所述人类患者在治疗CMV视网膜炎的先前治疗中失败。

46. 根据权利要求45所述的方法,其中,所述CMV视网膜炎耐受先前治疗。

47. 根据权利要求45所述的方法,其中,由于不耐受所述先前治疗,所述人类患者已经中断了所述先前治疗。

48. 根据权利要求45-47中任一项所述的方法,其中,所述先前治疗是利用至少一种抗病毒剂的治疗。

49. 根据权利要求48所述的方法,其中,所述至少一种抗病毒剂选自更昔洛韦、膦甲酸、缙更昔洛韦、西多福韦、来氟米特及其组合。

50. 根据权利要求1-49中任一项所述的方法,还包括同时使用抗病毒化合物来治疗所述人类患者以治疗所述CMV视网膜炎。

51. 根据权利要求50所述的方法,其中,所述抗病毒化合物选自更昔洛韦、膦甲酸、缙更昔洛韦、西多福韦、来氟米特及其组合。

52. 根据权利要求1-51中任一项所述的方法,其中,所述同种异体T细胞群尚未用编码CMV-特异性T细胞受体的基因离体转导。

53. 根据权利要求1-52中任一项所述的方法,其中,至少一些,任选地全部所述同种异体T细胞群中的细胞是雷帕霉素-敏感的。

54. 根据权利要求1-53中任一项所述的方法,其中,所述同种异体T细胞群不与PD-1拮抗剂组合施用。

55. 根据权利要求1-54中任一项所述的方法,其中,所述人类患者不是造血干细胞移植的受体。

56. 根据权利要求1-55中任一项所述的方法,其中,所述人类患者具有活动性的、非潜伏的CMV感染。

57. 根据权利要求1-56中任一项所述的方法,其中,所述人类患者中的CMV在其基因组中具有至少一种赋予对一种或多种抗病毒剂的耐受性的突变。

58. 根据权利要求57所述的方法,其中,所述一种或多种抗病毒剂选自更昔洛韦、膦甲酸、缙更昔洛韦、西多福韦、来氟米特及其组合。

59. 根据权利要求57所述的方法,其中,所述突变位于UL97基因中。

60. 根据权利要求57所述的方法,其中,所述突变位于UL54基因中。

61. 根据权利要求57所述的方法,其中,第一突变位于UL97基因中,第二突变位于UL54基因中。

62. 根据权利要求1-60中任一项所述的方法,还包括在所述施用步骤之前,对所述人类患者的CMV基因分型的步骤。

## 通过T细胞疗法治疗CMV视网膜炎的方法

[0001] 相关申请的引用

[0002] 本发明申请主张2015年6月26日提交的美国临时专利申请第62/185,558号和2015年7月10日提交的62/191,304的权益,以上专利以其全部内容作为参考并入本文。

[0003] 政府权利声明

[0004] 本发明是在国立卫生研究院提供的5P01CA023766和5R21CA162002的政府支持下完整的。政府对本发明具有一定的权利。

### 1. 技术领域

[0005] 本文公开了治疗对其有需要的人类患者中CMV(巨细胞病毒)视网膜炎的方法,其包括向所述人类患者施用包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群,其中所述人类患者感染了HIV或者已是实体器官移植的受体。

[0006] 2. 发明背景

[0007] CMV引起的视网膜炎:流行病学、临床特征和发病率

[0008] 人CMV(HCMV)是含有编码>200个蛋白的dsDNA基因组的β疱疹病毒(Chee等人,1990,Curr Top Microbiol Immunol 154:125-169)。在50%-90%的健康个体中,HCMV感染通常出现无症状的终身感染,但是当在免疫受损患者中再次激活时,可以导致严重的临床并发症(Ljungman,2002,J Infect Dis:186Suppl 1:S99-S109;Fishman,2007,N Engl J Med 357:2601-2614)。重度免疫受损患者中最严重的HCMV-相关疾病之一是导致进行性视力丧失和失明的HCMV视网膜炎(Conboy等人,1987,J Pediatr 111:343-348;Jabs等人,1989,Ophthalmology 96:1092-1099;Jacobson and Mills,1988,Ann Intern Med 108:585-594;Egbert等人,1980,Ann Intern Med 93:664-670;Pollard等人,1980,Ann Intern Med 93:655-664)。

[0009] 在高效的抗逆转录病毒疗法(HAART)出现之前,在美国的AIDS患者中HCMV视网膜炎的发病率估计为30%(Hoover等人,1996,Arch Ophthalmol 114:821-827),而在后HAART时代,其降低至<10%(Sugar等人,2012.Am J Ophthalmol 153:1016-1024e5;Palella等人,1998,N Engl J Med 338:853-860;Jacobson等人,2000,Clin Infect Dis 30:231-233)。在具有有症状的HCMV感染的儿童中,已报道了5%-30%的发病率(Fowler等人,1992,N Engl J Med 326:663-667)。在重度医源性免疫受损的成年骨髓移植(BMT)受体中,一项研究已报道在14年的随访期间,在5721人中出现了10例HCMV视网膜炎病例(Crippa等人,2001,Clin Infect Dis 32:214-219)。在实体器官移植(SOT)受体中,对一些研究的综述已报道了在12,653位患者中总计有14例病例(Egli等人,2008,Transpl Infect Dis 10:27-43)。可以通过延长的静止期以及之后的进展期来延长CMV视网膜炎的临床过程。在HAART之前的HIV患者中,CMV视网膜炎与高速的视力缺陷(高达98/100只眼/年(EYs))和失明(高达49/100EYs)有关(Ho1brook等人,2003,Arch Ophthalmol 121:99-107)。在现代,使用抗逆转录病毒试剂的治疗可以导致血液中HIV RNA循环(HIV载量)的抑制,借此提供以CD4+ T细胞增加所表示的免疫重建。除了由于现代抗逆转录病毒疗法所造成的CMV视网膜炎发病率

的显著降低和改善的结局之外,CMV视网膜炎和由于CMV视网膜炎所造成的视力丧失继续发生(Jabs等人,2013,Ophthalmology 120:1262-1270;Jabs等人,2010,Ophthalmology 117:2152-2161e1-2),最近报道的发病率为0.9/100人/年(Jabs等人,2015,Ophthalmology pii:S0161-6420(15)00175-X,2015年4月16日在线发表)。

[0010] 通过眼科学检查确诊HCMV视网膜炎。典型的HCMV视网膜炎的眼科学发现包括伴有相关出血和少量玻璃体炎症的白色视网膜坏死区域(Lin等人,2002,Retina 22:268-277)。CMV视网膜炎的现行标准治疗包括基于血液中CMV DNA的检测或眼科学评价,以诱导剂量施用2周静脉内抗病毒剂,如更昔洛韦和膦甲酸,然后是几周维持剂量的口服(缬更昔洛韦)或IV疗法。在对这些试剂无应答的患者中,西多福韦可以在清除病毒血症或引起疾病消退中是有效的。及时的治疗方案制定是重要的,并且在这些情况下,约50-60%的患者将在视觉灵敏度方面得到改善或稳定,而40%的患者将具有进行性的视力下降(Eid等人,2008,Transpl Infect Dis 10:13-18)。基于潜在的疾病和免疫抑制水平,在患者组间应答是不同的。一旦有T细胞免疫重建的迹线,则停止治疗。对于发展中的免疫抑制患者,如实体器官移植受体或具有中等至高度病毒载量水平的AIDS患者,当长期施用,当前的抗病毒疗法具有显著的毒性。因此,对无应答的患者或者具有持续发展的免疫抑制的患者,需要其他治疗。

[0011] 实验小鼠模型中的早期研究首次提供了继承性转移病毒特异的CD8T细胞对致死性、多器官CMV感染的保护作用的证据。这些研究使用血液清除性全身放疗(hematoablative total-body irradiation)处理的BALB/c小鼠作为免疫受损宿主,然后静脉内继承性转移CMV-致敏的CD8+ T细胞并足底内感染鼠科CMV(MCMV)(Reddehase等人,1988,J Virol 62:1061-1065;Reddehase等人,1987,J Virol 61:3102-3108)。随后的一些研究限定了参与保护抵抗鼠科CMV的表位特异性以及继承性转移的CD4+ T细胞的叠加作用。

[0012] 在人中,Riddell等人首先证明了预防性施用于具有CMV感染风险的BMT(骨髓移植)受体的来源于移植供体的继承性转移的CMV-特异性CD8 T细胞克隆的效力。(Riddell等人,1992,Science 257:238-241;Walter等人,1995,N Engl J Med 333:1038-1044)。随后证明了供体来源的CMV-特异性T细胞对于CMV病毒血症和疾病治疗的效力(Einsele等人,2002,Blood 99:3916-3922;Feuchtinger等人,2010,Blood 116:4360-4367;Koehne等人,2015,Biol Blood Marrow Transplant pii:S1083-8791(15)00372-9,2015年5月29日在线发表;Peggs等人,2003,Lancet 362:1375-1377)。重要地,这些初期试验表明CMV-特异性T细胞可以有效治疗CNS感染,如脑炎(Einsele等人,2002,Blood 99:3916-3922;Feuchtinger等人,2010,Blood 116:4360-4367),表明这些T细胞可以穿透血脑屏障。类似地,在BMT受体中出现的埃-巴二氏病毒相关的淋巴组织增生性疾病(EBV-LPDs)的治疗中,先前已显示继承性转移的移植供体来源的EBV-特异性T细胞可以导致CNS淋巴瘤完全消退,从而提供了继承性转移的T细胞可以归巢至CNS(中枢神经系统)的证据(Doubrovina等人,2012,Blood 119:2644-2656)。

[0013] 该领域中的进一步发展解决了将限制这种治疗的广泛应用的这种疗法的具体限制,如:缺少供体来源的病毒特异性T细胞的及时利用和不能从血清反应阴性和脐血供体产生细胞。为了克服这种限制,预先产生的第三方供体来源的病毒特异性T细胞可以容易地用

于该类患者中严重病毒感染的治疗。一些小组已证明了第三方供体来源的病毒特异性T细胞对于BMT和SOT(实体器官移植)受体中EBV(埃-巴二氏病毒)、CMV和腺病毒感染治疗的安全性和潜在效力(Haque等人,2007,Blood 110:1123-1131;Leen等人,2013,Blood 121:5113-5123)。

[0014] 作为免疫豁免位点(Immune Privilege Site)的视网膜:病理发生和治疗的含义

[0015] 术语“免疫豁免位点”是20世纪40年代由Peter Medawar爵士创造的(Medawar, 1948,Br J Exp Pathol 29:58-69)。在1977年,Barker和Billingham使用该术语来表示免疫应答的豁免位点(如脑、卵巢、睾丸、妊娠子宫、胎盘、眼睛和仓鼠颊囊)(Barker and Billingham,1977,Adv Immunol 25:1-54)。类似地,病原体-介导的眼部炎症可以对眼有害。由于轻微的炎症可以导致视力受损或甚至失明,因此天然地将眼睛设计为感染通常不导致破坏性免疫应答的免疫豁免位点(Griffith等人,1995,Science,270:1189-1192)。已假设潜在的机制包括当吸引至感染位点时,Fas(CD95)-表达T细胞的Fas配体(FasL)-介导的程序细胞死亡(也称为细胞凋亡)(Griffith等人,1995,Science,270:1189-1192)。在这种情况下,通过由FasL与Fas的连接消除了激活的T细胞,并且不会引起严重的免疫应答。TGF $\beta$ 是眼睛中存在的抑制Th1细胞因子介导的组织破坏的另一种细胞因子(Gabrielian等人,1994,Invest Ophthalmol Vis Sci 35:4253-4259)。因此,最大程度减小了对眼睛的损伤。然而,人眼的CMV感染显示导致了大规模的细胞死亡和巨大的视觉功能障碍(Jabs等人,1989,Ophthalmology 96:1092-1099;Jacobson and Mills,1988,Ann Intern Med 108:585-594)。

[0016] 在解剖学上,通过血-视网膜内屏障和外屏障保护视网膜抵抗入侵的病原体或炎性细胞。血-视网膜内屏障包括微血管内皮细胞,而血-视网膜外屏障包括RPE(视网膜色素上皮细胞)细胞。两种细胞类型形成了功能性紧密连接并且负责选择性输送必需分子并将不希望的病原体或激活的白细胞保持在外。已表明在CMV感染中,在内皮细胞中的原代CMV复制后,血-视网膜内屏障被破坏,从而允许CMV颗粒抵达视网膜胶质细胞。随后,CMV可能向RPE扩散(Rao等人,1998,Trans Am Ophthalmol Soc 96:111-126)。尽管胶质细胞、微血管内皮细胞和RPE细胞是眼中CMV感染的主要目标,但是所有10层视网膜都是坏死病灶的位点(Rao等人,1998,Trans Am Ophthalmol Soc 96:111-126;Pecorella等人,2000,Br J Ophthalmol 84:1275-1281;Palestine等人,1984,Ophthalmology 91:1092-1099)。

[0017] 视网膜的这些解剖学和生理学特征被认为有助于不同于其他器官中CMV感染的CMV视网膜炎的特征;如在没有CMV病毒血症的情况下,在感染或免疫抑制过程的晚期发生视网膜炎,以及尽管CD4+ T细胞计数恢复,但仍然发生的反常感染(Song等人,2002,Retina 22:262-267)。相同的解剖特性还可以潜在地限制全身施用的抗病毒剂的效力。例如,除了感染更昔洛韦耐受性CMV株的情况外,可以用抗巨细胞病毒药物更昔洛韦、膦甲酸或西多福韦成功治疗全身性CMV感染。然而,在一些视网膜炎的情况下,尽管持续进行抗病毒疗法并且证明了分离的病毒株的药物敏感性,但是仍观察到了疾病发展,表明在眼中可能不能实现全身施用药物的足够药物浓度。因此,已完成了用于CMV视网膜炎治疗的更昔洛韦和膦甲酸的玻璃体内施用规程。

[0018] T细胞免疫性和CMV感染

[0019] 适应性免疫系统,具体地CD8+ T细胞在急性病毒感染,包括CMV感染的控制中起重

要作用(Crough and Khanna,2009,Clin Microbiol Rev 22:76-98,目录)。病毒-特异性效应因子CD8+ T细胞通过产生1型细胞因子,如干扰素 $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )和肿瘤坏死因子 $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )以及通过它们的抗原特异性细胞溶解活性来发挥它们的抗病毒活性。在小鼠模型和在人中,CMV-特异性CD8+和CD4+ T细胞的恢复对于骨髓(Quinnan等人,1982,N Engl J Med 307:7-13;Hakki等人,2003,Blood 102:3060-3067;Podlech等人,1998,J Gen Virol 79:2099-2104)和实体器官移植(Kumar等人,2009,Am J Transplant 9:1214-1222;Pipeling等人,2011,J Infect Dis 204:1663-1671)受体中的CMV病毒血症和感染的控制至关重要。

[0020] CMV视网膜炎还发生在细胞免疫受损的患者中,并且在一部分患者中,视网膜炎的出现与血液中CMV的先前或同时再激活以及其他CMV终末器官疾病,如结肠炎或肺炎有关(Eid等人,2008,Transpl Infect Dis 10:13-18)。然而,视网膜炎发生的中值时间为免疫抑制开始后或移植后的6-12个月(Fishman,2007,N Engl J Med 357:2601-2614;Crippa等人,2001,Clin Infect Dis 32:214-219),这是当在实体器官移植受体中良好建立免疫抑制药物治疗的完全作用时较晚的时间。对于HIV患者,决定CMV视网膜炎发展风险的主要临床参数是后HAART HIV病毒载量和CD4+ T辅助细胞计数 $\leq 100/1$ (Lin等人,2002,Retina 22:268-277)。HIV-阳性患者中CMV视网膜炎的发生还晚于受CMV感染影响的其他器官(结肠、肺、肝)中的CMV-相关病况。此外,T细胞应答还可以有助于CMV引起的眼部病理学,如在HAART疗法制定后,在CD4T细胞恢复时,HIV患者中葡萄膜炎的出现所反映的。

[0021] 总的来说,这些发现表明脉络膜视网膜炎的少有且较晚发病反映了深度T细胞缺陷以及完整血-视网膜屏障所产生的抵抗。

[0022] 鼠CMV视网膜炎模型中的早期研究表明CMV-特异性CD8+ T细胞的继承性转移可以保护抵抗免疫受损小鼠中出现的CMV视网膜炎(Bigger等人,1999,Invest Ophthalmol Vis Sci 40:2608-2613;Lu等人,1997,Invest Ophthalmol Vis Sci 38:301-310)。这些研究使用了其中通过眉部途径将感染性病毒直接注射到眼中来人工引起视网膜炎的免疫受损小鼠(胸腺切除和T细胞去除的BALB/c小鼠),并且在病毒注射前2小时,对动物组输注鼠CMV-特异性T细胞或对照T细胞。尽管该模型获得了CMV引起的视网膜炎的表型和病理特征,但是该模型是高度非生理学的,并且出于一些原因,这些结果不能推广至人视网膜炎的治疗。

(1)与其中将CMV直接注射到眼中的小鼠模型相反,完整的视网膜屏障通常难以破坏,并且视网膜的人CMV感染是通过视网膜内皮出现的并且在免疫抑制后数月发生,(2)在鼠科模型中引入感染时转移T细胞,而在出现CMV视网膜炎的人类患者中,CMV-特异性T细胞将在一段时间内是有缺陷的或者至少是无功能的(如上详述),和最后(3)CMV是高度种特异性的。在鼠和人巨细胞病毒分离后的早期研究已观察到MCMV不能在人类组织中传播并且HCMV不在鼠细胞中复制(Weller,1970,J Infect Dis 122:532-539)。进一步探索后,已公认巨细胞病毒是高度种特异性的:每种病毒仅在其自己的细胞中或密切相关的宿主物种中复制。因此,鼠CMV(MCMV)不类似于人CMV。MCMV感染的临床谱也存在显著差异,其中经胎盘感染不会通过MCMV发生,并且甚至在胚胎发育早期,人工引入MCMV不会导致小鼠中CNS感染,而人先天性CMV导致明显的神经学后遗症。已广泛研究和探索了MCMV作为人CMV(HCMV)的代用物用于发展小鼠模型的潜在使用,主要用于抗人CMV的疫苗策略的临床前研究,具体地预防先天性CMV感染。然而,用于测试抗先天性CMV感染的疫苗的MCMV模型的主要局限性在于所述病毒不能通过经胎盘途径感染胎儿,表明MCMV导致了与HCMV不同的疾病谱。尽管对于CMV的种特

异性的精确分子/细胞基础仍是未知的,但是Maul等人已表明在编码MCMV和HCMV病毒的即早1、2和3蛋白的基因中存在具体差异,其对宿主细胞转录抑制剂DAxx以及组蛋白去乙酰化酶具有差异作用,借此影响它们感染宿主的能力(Maul and Negorev,2008,Med Microbiol Immunol 197:241-249)。这些差异还可以影响宿主对病毒的免疫应答,从而使得该模型不太适用于评价人CMV的免疫疗法。

[0023] 为了克服CMV感染的种特异性,研究者已使用了维持在可以允许HCMV在人细胞(然后,所述人细胞可以用于测试对HCMV特异的抗病毒药物或其他治疗干预)中接种和繁殖的SCID/hu小鼠中的人组织分离块;胎儿胸腺/肝(Mocarski等人,1993,Proc Natl Acad Sci U S A 90:104-108;Wang等人,2005,J Virol 79:2115-2123;Brown等人,1995,J Infect Dis 171:1599-1603)或胎儿视网膜组织植入物(Bidanset等人,2001,J Infect Dis 184:192-195)。尽管这些模型在抗病毒药物评价中多少是有用的(Kern,2006,Antiviral Res 71:164-171),但是关于利用SCID/hu植入物模型用于评价HCMV疫苗和免疫疗法的信息仍较少。Khanna及同事在小动物模型中研究了疫苗应答,其中将用表达HCMV表位的复制-缺陷型腺病毒载体免疫的HLA-2转基因小鼠用作克服CMV病毒种特异性的方法(Zhong等人,2008,PLoS One 3:e3256)。这种嵌合疫苗显示了强HCMV-特异性的CD8+和CD4+ T细胞应答以及病毒中和抗体。尽管在异源动物模型中并非是真的“HCMV攻毒”,但是这些实验仍然代表了克服CMV疫苗模型中种特异性问题的创新方法。

[0024] 至此,很明显CMV视网膜炎只发生在具有缺陷型T细胞免疫的患者中。在骨髓移植受体中,已报道移植供体来源或第三方供体来源的CMV特异性T细胞的继承性转移恢复了抗CNS的CMV感染,如脑炎(Koehne等人,2015,Biol Blood Marrow Transplant S1083-8791(15)00372-9,2015年5月29日在线发表;Feuchtinger等人,2010,Blood 116:4360-4367),并且在一些CMV视网膜炎的情况下的T细胞免疫性(Gupta等人,2015,Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina 46:80-82)。由于在它们经历同种异体受体内的免疫排斥之前,第三方供体来源的T细胞在输注后具有有限的存活,因此这种方法可以用于连接骨髓移植受体中的抗CMV T细胞免疫性直至T细胞免疫性恢复。然而,由于来源于BMT受体的数据不能外推至这两个组的患者,因此实体器官移植(SOT)受体一方面和HIV-感染患者之间,另一方面和骨髓移植受体之间在宿主生理学和CMV感染中存在具体差异。首先,在SOT受体中,CMV再激活和原始感染发生在供体细胞内(Hammond等人,2013,Transpl Infect Dis 15:163-170;Harvala等人,2013,J Med Virol 85:893-898),而BMT受体经受宿主CMV再激活。因此,SOT中第三方CMV特异性T细胞的输注将具有使具有CMV感染的移植组织的免疫排斥加速的潜在风险。此外,独立于其他因素,由SOT受体中CMV感染所造成的炎症反应还可以通过提高抗原递呈来引发排斥发作,因此通过该治疗方法潜在地将这些患者置于器官同种异体移植排斥的高风险中。其次,分别由于防止排斥的免疫抑制疗法或者使用或不使用HAART疗法的可变CD4计数恢复,SOT受体和HIV-感染患者具有不确定的免疫缺陷期。相反,在没有GvHD(移植物抗宿主病)的情况下,BMT受体具有有限的免疫缺陷期。这将需要多个正在进行的剂量的CMV特异性T细胞以治疗SOT和HIV-感染患者中的CMV感染,这可以潜在地将SOT受体中同种异体移植排斥的风险和HIV-感染患者中免疫重建葡萄膜炎合并。SOT受体和HIV-感染患者中足够数目的T细胞剂量的缺乏还可以潜在地损害T细胞疗法的效力。

[0025] 因此,尽管需要用于治疗感染HIV或者已是实体器官移植受体的人类患者中CMV视

网膜炎的其他疗法,但是以上提及的这些先前研究具有有限的可应用性。

[0026] 在本文中参考文献的引用不应视为对该参考文献是本发明公开的现有技术的许可。

[0027] 3.发明概述

[0028] 本发明涉及治疗感染HIV的人类患者中CMV(巨细胞病毒)视网膜炎的方法。本发明还涉及治疗已是实体器官移植受体的人类患者中CMV视网膜炎的方法。

[0029] 在一个方面,本文提供了治疗对其有需要的人类患者中CMV视网膜炎的方法,其包括向所述人类患者施用包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群;其中所述人类患者感染了HIV。在多个实施方式中,所述人类患者患有AIDS(获得性免疫缺损综合症)。

[0030] 在另一个方面,本文提供了治疗对其有需要的人类患者中CMV视网膜炎的方法,其包括向所述人类患者施用包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群;其中所述人类患者已是来自移植供体的实体器官移植的受体。

[0031] 在多个实施方式中,施用于所述人类患者的同种异体T细胞群受限于与至少一些,任选地全部感染CMV的细胞(例如,感染的视网膜细胞)共有的HLA等位基因。

[0032] 在某些实施方式中,优选地除受限于与至少一些,任选地全部感染CMV的细胞(例如,感染的视网膜细胞)共有的HLA等位基因外,包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群与至少一些,任选地全部感染CMV的细胞(例如,感染的视网膜细胞)共有8个HLA等位基因(例如,两个HLA-A等位基因,两个HLA-B等位基因,两个HLA-C等位基因和两个HLA-DR等位基因)中的至少2个。

[0033] 在具体的实施方式中,治疗本文所述的CMV视网膜炎的方法还包括在所述施用步骤之前,通过高分辨率分型确定所述人类患者的至少一种HLA等位基因的步骤。

[0034] 在多个实施方式中,治疗CMV视网膜炎的方法还包括在所述施用步骤之前,体外产生同种异体T细胞群的步骤。

[0035] 在某些实施方式中,体外产生同种异体T细胞群的步骤包括使同种异体T细胞对一种或多种CMV抗原敏化(即,刺激)以产生CMV-特异性T细胞。

[0036] 在某些实施方式中,体外产生同种异体T细胞群的步骤包括使用树突状细胞(优选地,所述树突状细胞来源于同种异体T细胞的供体)敏化同种异体T细胞。在具体的实施方式中,使用树突状细胞敏化同种异体T细胞的步骤包括使所述树突状细胞负载有至少一种来源于一种或多种CMV抗原的免疫原性肽。在具体的实施方式中,使用树突状细胞敏化同种异体T细胞的步骤包括使所述树突状细胞负载有来源于一种或多种CMV抗原的一组重叠肽。

[0037] 在某些实施方式中,体外产生同种异体T细胞群的步骤包括使用细胞因子-激活的单核细胞(优选地,所述细胞因子-激活的单核细胞来源于同种异体T细胞的供体)敏化同种异体T细胞。在具体的实施方式中,使用细胞因子-激活的单核细胞敏化同种异体T细胞的步骤包括使所述细胞因子-激活的单核细胞负载有至少一种来源于一种或多种CMV抗原的免疫原性肽。在具体的实施方式中,使用细胞因子-激活的单核细胞敏化同种异体T细胞的步骤包括使所述细胞因子-激活的单核细胞负载有来源于一种或多种CMV抗原的一组重叠肽。

[0038] 在某些实施方式中,体外产生同种异体T细胞群的步骤包括使用周围血单核细胞(优选地,所述周围血单核细胞来源于同种异体T细胞的供体)敏化同种异体T细胞。在具体的实施方式中,使用周围血单核细胞敏化同种异体T细胞的步骤包括使所述周围血单核细

胞负载有至少一种来源于一种或多种CMV抗原的免疫原性肽。在具体的实施方式中,使用周围血单核细胞敏化同种异体T细胞的步骤包括使所述周围血单核细胞负载有来源于一种或多种CMV抗原的一组重叠肽。

[0039] 在某些实施方式中,体外产生同种异体T细胞群的步骤包括使用EBV-转化的B淋巴细胞系(EBV-BLCL)敏化同种异体T细胞。在具体实施方式中,使用EBV-BLCL敏化同种异体T细胞的步骤包括使所述EBV-BLCL细胞负载有至少一种来源于一种或多种CMV抗原的免疫原性肽。在具体的实施方式中,使用EBV-BLCL敏化同种异体T细胞的步骤包括使所述EBV-BLCL细胞负载有来源于一种或多种CMV抗原的一组重叠肽。

[0040] 在某些实施方式中,体外产生同种异体T细胞群的步骤包括使用人工抗原-递呈细胞(AAPCs)敏化同种异体T细胞。在具体的实施方式中,使用AAPCs敏化同种异体T细胞的步骤包括使所述AAPCs负载有至少一种来源于一种或多种CMV抗原的免疫原性肽。在具体的实施方式中,使用AAPCs敏化同种异体T细胞的步骤包括使所述AAPCs负载有来源于一种或多种CMV抗原的一组重叠肽。在具体的实施方式中,使用AAPCs敏化同种异体T细胞的步骤包括工程化改造所述AAPCs以在所述AAPCs中表达至少一种免疫原性CMV肽或蛋白。

[0041] 在具体的实施方式中,所述重叠肽的组是一组重叠十五肽。

[0042] 在具体的实施方式中,治疗本文所述的CMV视网膜炎的方法还包括在敏化后冷冻保存所述同种异体T细胞。

[0043] 在具体的实施方式中,治疗本文所述的CMV视网膜炎的方法还包括在所述施用步骤之前,使冷冻保存的CMV-抗原敏化的同种异体T细胞融化,并体外扩增所述同种异体T细胞以产生同种异体T细胞群的步骤。

[0044] 在某些实施方式中,治疗本文所述的CMV视网膜炎的方法还包括在所述施用步骤之前,融化冷冻保存形式的所述同种异体T细胞群的步骤。

[0045] 在多个实施方式中,所述同种异体T细胞群来源于T细胞系。在某些实施方式中,治疗本文所述的CMV视网膜炎的方法还包括在所述施用步骤之前,从多种冷冻保存的T细胞系(优选地,每个均包含CMV-特异性T细胞)的库中选择T细胞系的步骤。在某些实施方式中,治疗本文所述的CMV视网膜炎的方法还包括在所述施用步骤之前,融化冷冻保存形式的T细胞系的步骤。在具体的实施方式中,治疗本文所述的CMV视网膜炎的方法还包括在所述施用步骤之前,体外扩增所述T细胞系的步骤(例如,在使冷冻保存形式的所述T细胞系融化之后)。

[0046] 在具体实施方式中,根据本文所述的方法施用的CMV-特异性T细胞识别CMVpp65。

[0047] 在具体实施方式中,根据本文所述的方法施用的CMV-特异性T细胞识别CMV IE1。

[0048] 在具体实施方式中,同种异体T细胞群未用编码CMV-特异性T细胞受体的基因离体转导。

[0049] 在具体实施方式中,所述同种异体T细胞群中至少一些,任选地全部细胞是雷帕霉素-敏感的。

[0050] 在具体实施方式中,所述同种异体T细胞群不与PD-1拮抗剂组合施用。

[0051] 在某些实施方式中,所述施用通过所述同种异体T细胞群的输注。在一些实施方式中,所述输注是静脉推注(bolus intravenous infusion)。

[0052] 在某些实施方式中,所述施用包括向人类患者每周每剂量每千克施用至少约 $1 \times 10^5$ 个T细胞的所述同种异体T细胞群。在一些实施方式中,所述施用包括向人类患者每周每

剂量每千克施用约 $1 \times 10^6$ 至约 $2 \times 10^6$ 个T细胞的所述同种异体T细胞群。在具体的实施方式中,所述施用包括向人类患者每周每剂量每千克施用约 $1 \times 10^6$ 个T细胞的所述同种异体T细胞群。在另一种具体的实施方式中,所述施用包括向人类患者每周每剂量每千克施用约 $2 \times 10^6$ 个T细胞的所述同种异体T细胞群。

[0053] 在某些实施方式中,治疗本文所述的CMV视网膜炎的方法包括向人类患者施用至少2剂量的所述同种异体T细胞群。在具体的实施方式中,治疗本文所述的CMV视网膜炎的方法包括向人类患者施用2、3、4、5或6剂量的所述同种异体T细胞群。

[0054] 在某些实施方式中,治疗本文所述的CMV视网膜炎的方法包括施用第一轮每周1剂量的所述同种异体T细胞群,连续施用3周,然后是在其间不施用所述同种异体T细胞群剂量的洗脱期(washout period),接着是第二轮的每周1剂量的所述同种异体T细胞群,连续施用3周。在具体的实施方式中,治疗本文所述的CMV视网膜炎的方法包括施用2、3、4、5或6轮每周1剂量的所述同种异体T细胞群,连续施用3周,每轮之间间隔在其间不施用所述同种异体T细胞群剂量的洗脱期。在具体的实施方式中,所述洗脱期为约3周。

[0055] 在某些实施方式中,治疗CMV视网膜炎的方法还包括在向人类患者施用所述同种异体T细胞群后,向所述人类患者施用包含CMV-特异性T细胞的第二同种异体T细胞群;其中所述第二同种异体T细胞群受限于与感染CMV的细胞中至少一些,任选地全部共有的不同HLA等位基因。在具体的实施方式中,治疗CMV视网膜炎的方法包括施用第一轮每周1剂量的所述同种异体T细胞群,连续施用3周,然后是在其间不施用所述同种异体T细胞群剂量的洗脱期,接着是第二轮的每周1剂量的所述第二同种异体T细胞群,连续施用3周。在其他具体的实施方式中,所述洗脱期为约3周。在某些实施方式中,在施用所述同种异体T细胞群之后和施用所述第二同种异体T细胞群之前,所述人类患者无应答、不完全应答或应答不佳(即,所述人类患者仍可能从继续治疗中显著受益,但是获得最优长期结局的机会降低)。

[0056] 在具体的实施方式中,所述人类患者具有活动性、非潜伏的CMV感染。

[0057] 在具体的实施方式中,所述人类患者中的CMV在其基因组中具有至少一种突变,该突变赋予了对一种或多种抗病毒剂的耐受性。在具体的实施方式中,所述一种或多种抗病毒剂选自更昔洛韦、膦甲酸、缬更昔洛韦、西多福韦、来氟米特及其组合。在具体的实施方式中,所述突变位于UL97基因中。在另一种具体的实施方式中,所述突变位于UL54基因中。在另一种具体的实施方式中,第一突变位于UL97基因中,第二突变位于UL54基因中。

[0058] 在某些实施方式中,所述人类患者已是来自移植供体的实体器官移植的受体。在具体的实施方式中,所述人类患者接受的实体器官移植是肾移植、肝移植、心脏移植、肠移植、胰腺移植、肺移植、小肠移植或它们的组合。在具体的实施方式中,所述人类患者接受的实体器官移植是肾移植。在其中所述人类患者已是来自移植供体的实体器官移植的受体的具体实施方式中,所述同种异体T细胞群来源于所述移植供体之外的供体。

[0059] 在具体的实施方式中,所述人类患者尚不是造血干细胞移植(例如,骨髓移植、外周血干细胞移植或脐血移植)的受体。

[0060] 在具体的实施方式中,所述人类患者在治疗CMV视网膜炎的先前治疗中失败。在一种具体实施方式中,所述CMV视网膜炎耐受先前治疗。在一种具体实施方式中,由于不耐受所述先前治疗,所述人类患者已中断该治疗。在具体的实施方式中,该先前疗法是使用至少一种抗病毒剂的治疗。在一种具体实施方式中,所述至少一种抗病毒剂选自更昔洛韦、膦甲

酸、缬更昔洛韦、西多福韦、来氟米特及其组合。

[0061] 在具体的实施方式中,治疗CMV视网膜炎的方法还包括同时使用抗病毒化合物来治疗所述人类患者以治疗CMV视网膜炎。在一种具体实施方式中,所述抗病毒化合物选自更昔洛韦、膦甲酸、缬更昔洛韦、西多福韦、来氟米特及其组合。

[0062] 在具体的实施方式中,治疗CMV视网膜炎的方法还包括在所述施用步骤之前,对所述人类患者的CMV基因分型的步骤。

#### 4. 附图说明

[0063] 图1示出了使用CMV-特异性T细胞治疗CMV视网膜炎的方案。

[0064] 图2是用第三方供体-来源的CMV-特异性T细胞治疗的患者的总结。

[0065] 图3示出了患者#5的临床时序。CMV病毒滴度以每m1中的国际单位(IU/ml)表示(1IU=0.53CMV拷贝)。

[0066] 图4示出了T细胞疗法前后患者#5的眼科学检查结果和眼底摄影。VA:视觉灵敏度。CF:数手指。OD:右眼。OS:左眼。

[0067] 图5示出了表明CMV-特异性T细胞中的升高与血液中CMV病毒载量的降低有关的代表性实施例(患者#5)。

#### [0068] 5. 发明详述

[0069] 本发明涉及治疗感染HIV的人类患者中CMV(巨细胞病毒)视网膜炎的方法。本发明还涉及治疗已是实体器官移植受体的人类患者中CMV视网膜炎的方法。本发明提供了在治疗人类患者中CMV视网膜炎中有效的低毒或无毒的T细胞疗法,其中所述人类患者感染了HIV或者已是实体器官移植的受体。

[0070] 在一个方面,本文提供了治疗对其有需要的人类患者中CMV视网膜炎的方法,包括向所述人类患者施用包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群;其中所述人类患者感染了HIV。在多个实施方式中,所述人类患者患有AIDS(获得性免疫缺损综合症)。

[0071] 在另一个方面,本文提供了治疗对其有需要的人类患者中CMV视网膜炎的方法,包括向所述人类患者施用包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群;其中所述人类患者已是来自移植供体的实体器官移植的受体。

[0072] 5.1. 受限与与CMV视网膜炎的感染细胞共有的HLA等位基因的同种异体T细胞群

[0073] 根据本发明,将包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群施用于人类患者。在具体的实施方式中,施用于所述人类患者的同种异体T细胞群受限与至少一些,任选地全部感染CMV的细胞(例如,感染的视网膜细胞)共有的HLA等位基因。优选地,所述同种异体T细胞群显示了如通过本领域中已知的方法所测量的抗CMV细胞毒活性(例如,如Trivedi等人,2005,Blood 105:2793-2801;或Hasan等人,2009,J Immunol 183:2837-2850中所述)。

[0074] 当所述人类患者感染了HIV时,所述感染CMV的细胞具有与所述人类患者相同的HLA分型(即,分配)。在具体的实施方式中,当所述人类患者感染了HIV时,施用于所述人类患者的同种异体T细胞群受限与全部感染CMV的细胞共有的HLA等位基因。在一些实施方式中,通过确定所述感染CMV的细胞的HLA分配并选择受限与该类感染CMV的细胞的HLA等位基因的包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群(或者获得所述同种异体T细胞群的T细胞系)来确保这种HLA等位基因限制。在其他实施方式中,当确定所述感染CMV的细胞的HLA分

配是不可能的(或者是可能的但无法实施)时,通过确定所述人类患者的HLA分配(例如,通过使用来自所述人类患者的未感染的细胞或组织)并选择受限于是所述人类患者的HLA等位基因的包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群(或者获得所述同种异体T细胞群的T细胞系)来确保这种HLA等位基因限制。

[0075] 当所述人类患者已是来自移植供体的实体器官移植的受体时,大多数情况下,所述感染CMV的细胞包含患者来源的感染细胞和移植供体来源的感染细胞。在具体的实施方式中,当所述人类患者已是实体器官移植的受体时,施用于所述人类患者的同种异体T细胞群可以受限于是与全部感染CMV的细胞共有的HLA等位基因。在具体的实施方式中,当所述人类患者已是实体器官移植的受体时,施用于所述人类患者的同种异体T细胞群可以受限于是与至少一些感染CMV的细胞共有的HLA等位基因。在一些实施方式中,选择受限于是人类患者和移植供体两者共有的HLA等位基因的包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群(或者获得所述同种异体T细胞群的T细胞系)用于施用(那么,施用于所述人类患者的同种异体T细胞群受限于是全部感染CMV的细胞共有的HLA等位基因)。在具体的实施方式中,当所述人类患者面临器官同种异体移植排斥的高风险并且CMV视网膜炎是无CMV病毒血症的主要问题时,可以选择受限于是所述人类患者的HLA等位基因的包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群(或者获得所述同种异体T细胞群的T细胞系)用于施用(那么,施用于所述人类患者的同种异体T细胞群受限于是至少一些感染CMV的细胞共有的HLA等位基因)。在具体的实施方式中(例如,当确定所述感染CMV的细胞的来源仅为所述人类患者时),选择受限于是所述人类患者的HLA等位基因的包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群(或者获得所述同种异体T细胞群的T细胞系)用于施用。在具体的实施方式中(例如,当确定所述感染CMV的细胞的来源仅为所述移植供体时),选择受限于是所述移植供体的HLA等位基因的包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群(或者获得所述同种异体T细胞群的T细胞系)用于施用。在其中所述患者患有CMV病毒血症的一些实施方式中,可以选择受限于是所述人类患者和所述移植供体两者共有的HLA等位基因的包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群(或者获得所述同种异体T细胞群的T细胞系)用于施用。在某些实施方式中,所述方法还包括在所述施用步骤之前,确定所述感染CMV的细胞、所述人类患者、所述移植供体或者所述人类患者和所述移植供体两者(视情况而定)的HLA分配。

[0076] 可以通过本领域中已知的任何方法,例如,通过分析可变串联重复(VTRs)(它是使用不同人的小DNA序列的唯一DNA特征区分移植受体和供体的方法),或者如果移植供体和受体性别不同,则通过查找染色体Y的存在与否(这是通过细胞遗传学或者通过FISH(荧光原位杂交)完成的)确定所述感染CMV的细胞的来源。

[0077] 在确定HLA分配的一些实施方式中,对至少4个HLA位点(优选地,HLA-A、HLA-B、HLA-C和HLA-DR)分型。在确定HLA分配的一些实施方式中,对4个HLA位点(优选地,HLA-A、HLA-B、HLA-C和HLA-DR)分型。在确定HLA分配的一些实施方式中,对6个HLA位点分型。在确定HLA分配的一些实施方式中,对8个HLA位点分型。

[0078] 在某些实施方式中,优选地除了受限于是与至少一些,任选地全部感染CMV的细胞(例如,感染的视网膜细胞)共有的HLA等位基因之外,所述包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群与至少一些,任选地全部感染CMV的细胞(例如,感染的视网膜细胞)共有至少2个HLA等位基因。优选地,所述同种异体T细胞群显示了如通过本领域中已知的方法所测量的

抗CMV细胞毒活性(例如,如Trivedi等人,2005,Blood105:2793-2801;或Hasan等人,2009,J Immunol 183:2837-2850中所述)。在具体的实施方式中,所述包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群与至少一些,任选地全部感染CMV的细胞共有8个HLA等位基因(例如,两个HLA-A等位基因,两个HLA-B等位基因,两个HLA-C等位基因和两个HLA-DR等位)中的至少2个。

[0079] 当所述人类患者感染了HIV时,所述感染CMV的细胞具有与所述人类患者相同的HLA分型(即,分配)。在具体的实施方式中,当所述人类患者感染了HIV时,施用于所述人类患者的同种异体T细胞群与全部感染CMV的细胞共有至少2个HLA等位基因。在一些实施方式中,通过确定所述感染CMV的细胞的HLA分配和选择与该类感染CMV的细胞共有至少2个(例如,8个中至少2个)HLA等位基因的包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群(或者获得所述同种异体T细胞群的T细胞系)来确保这种共有。在其他实施方式中,当确定所述感染CMV的细胞的HLA分配是不可能的(或者是可能的但无法实施)时,通过确定所述人类患者的HLA分配(例如,通过使用来自所述人类患者的未感染的细胞或组织)和选择与所述人类患者共有至少2个(例如,8个中至少2个)HLA等位基因的包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群(或者获得所述同种异体T细胞群的T细胞系)来确保这种共有。

[0080] 当所述人类患者已是来自移植供体的实体器官移植的受体时,大多数情况下,所述感染CMV的细胞包含患者来源的感染细胞和移植供体来源的感染细胞。在具体的实施方式中,当所述人类患者已是实体器官移植的受体时,施用于所述人类患者的同种异体T细胞群可以与全部感染CMV的细胞共有至少2个(例如,8个中至少2个)HLA等位基因。在具体的实施方式中,当所述人类患者已是实体器官移植的受体时,施用于所述人类患者的同种异体T细胞群可以与至少一些感染CMV的细胞共有至少2个(例如,8个中至少2个)HLA等位基因。在一些实施方式中,选择与所述人类患者和所述移植供体共有至少2个(例如,8个中至少2个)HLA等位基因的包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群(或者获得所述同种异体T细胞群的T细胞系)用于施用(那么,施用于所述人类患者的同种异体T细胞群与全部感染CMV的细胞共有至少2个(例如,8个中至少2个)HLA等位基因)。在具体的实施方式中,当所述人类患者面临器官同种异体移植排斥的高风险并且CMV视网膜炎是无CMV病毒血症的主要问题时,可以选择与所述人类患者共有至少2个(例如,8个中至少2个)HLA等位基因的包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群(或者获得所述同种异体T细胞群的T细胞系)用于施用(那么,施用于所述人类患者的同种异体T细胞群与至少一些感染CMV的细胞共有至少2个(例如,8个中至少2个)HLA等位基因)。在具体的实施方式中(例如,当确定所述感染CMV的细胞的来源仅为所述人类患者时),选择与所述人类患者共有至少2个(例如,8个中至少2个)HLA等位基因的包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群(或者获得所述同种异体T细胞群的T细胞系)用于施用。在具体的实施方式中(例如,当确定所述感染CMV的细胞的来源仅为所述移植供体时),选择与所述移植供体共有至少2个(例如,8个中至少2个)HLA等位基因的包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群(或者获得所述同种异体T细胞群的T细胞系)用于施用。在一些实施方式中,当所述患者患有CMV-相关病毒血症时,可以选择与所述人类患者和所述移植供体两者共有至少2个(例如,8个中至少2个)HLA等位基因的包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群(或者获得所述同种异体T细胞群的T细胞系)用于施用。在某些实施方式中,所述方法还包括在所述施用步骤之前,确定所述感染CMV的细胞、所述人类患者、所述移植供体或者所述人类患者和所述移植供体两者(视情况而定)的HLA分配。

[0081] 可以通过本领域中已知的任何方法确定(即,分型)HLA分配(即,HLA位点类型)。用于确定HLA分配的非限制性示例性方法可见于ASHI Laboratory Manual,4.2版(2003), American Society for Histocompatibility and Immunogenetics;ASHI Laboratory Manual,Supplements 1(2006)and 2(2007),American Society for Histocompatibility and Immunogenetics;Hurley,“DNA-based typing of HLA for transplantation.”, Leffell等人主编,1997,Handbook of Human Immunology,Boca Raton:CRC Press;Dunn, 2011,Int J Immunogenet 38:463-473;Erlich,2012,Tissue Antigens,80:1-11; Bontadini,2012,Methods,56:471-476;和Lange等人,2014,BMC Genomics 15:63。

[0082] 一般地,对于HLA分型,高分辨率分型是优选的。可以通过本领域中已知任何的方法实施高分辨率分型,例如,如ASHI Laboratory Manual,4.2版(2003),American Society for Histocompatibility and Immunogenetics;ASHI Laboratory Manual,Supplements 1(2006)and 2(2007),American Society for Histocompatibility and Immunogenetics;Flomenberg等人,Blood,104:1923-1930;Kögler等人,2005,Bone Marrow Transplant,36:1033-1041;Lee等人,2007,Blood 110:4576-4583;Erlich,2012, Tissue Antigens,80:1-11;Lank等人,2012,BMC Genomics 13:378;或Gabriel等人,2014, Tissue Antigens,83:65-75中所述。在具体的实施方式中,治疗本文所述的CMV视网膜炎的方法还包括在所述施用步骤之前,通过高分辨率分型确定感染CMV的细胞的至少一种HLA等位基因的步骤。在具体的实施方式中,治疗本文所述的CMV视网膜炎的方法还包括在所述施用步骤之前,通过高分辨率分型确定所述人类患者的至少一种HLA等位基因的步骤。在具体的实施方式中,当所述人类患者已是来自移植供体的实体器官移植的受体时,治疗本文所述的CMV视网膜炎的方法还包括在所述施用步骤之前,通过高分辨率分型确定移植供体的至少一种HLA等位基因的步骤。在具体的实施方式中,当所述人类患者已是来自移植供体的实体器官移植的受体时,治疗本文所述的CMV视网膜炎的方法还包括在所述施用步骤之前,通过高分辨率分型确定所述人类患者的至少一种HLA等位基因和所述移植供体的至少一种HLA等位基因的步骤。

[0083] 可以通过本领域中已知的任何方法确定限制所述同种异体T细胞群的HLA等位基因,例如,如Trivedi等人,2005,Blood 105:2793-2801;Barker等人,2010,Blood 116: 5045-5049;Hasan等人,2009,J Immunol,183:2837-2850;或Dobrovina等人,2012,Blood 120:1633-1646中所述。

[0084] 优选地,通过高分辨率分型限定限制所述同种异体T细胞群并且与至少一些,任选地全部感染CMV的细胞共有的HLA等位基因。优选地,通过高分辨率分型限定所述同种异体T细胞群和至少一些,任选地全部感染CMV的细胞之间所共有的HLA等位基因。最优选地,通过高分辨率分型限定限制所述同种异体T细胞群并且与至少一些,任选地全部感染CMV的细胞共有的HLA等位基因以及所述同种异体T细胞群和至少一些,任选地全部感染CMV的细胞之间所共有的HLA等位基因两者。

[0085] 5.2. 获得或产生包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群

[0086] 可以通过本领域中已知的方法产生施用于人类患者的包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群,并且其可以选自通过本领域中已知的方法产生的预先存在的冷冻保存的T细胞系(每个T细胞系包含CMV-特异性T细胞)的库(集合),并且在施用前融化并优选地扩

增。优选地,所述库中每个T细胞系的唯一标识符与限制各个T细胞系的HLA等位基因、各个T细胞系的HLA分配和/或通过本领域中已知的方法(例如,如Trivedi等人,2005,Blood 105:2793-2801;或Hasan等人,2009,J Immunol 183:2837-2850所述)所测量的各个T细胞系的抗CMV细胞毒活性的信息有关。优选地,通过如下所述的方法获得或产生所述库中的同种异体T细胞群和T细胞系。

[0087] 在多个实施方式中,治疗CMV视网膜炎的方法还包括在所述施用步骤之前,获得同种异体T细胞群的步骤。优选地,所述包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群来源于CMV血清反应阳性的供体。

[0088] 在具体的实施方式中,获得所述同种异体T细胞群的步骤包括来自血细胞群的CMV-阳性T细胞的荧光激活细胞分选术。在具体的实施方式中,所述血细胞群是分离自得人供体的血液样品的周围血单核细胞(PBMCs)。可以通过本领域中已知的任何方法实施荧光激活细胞分选术,其通常包括在所述分选步骤前,用识别至少一种CMV抗原的抗体对所述血细胞群染色。

[0089] 在具体的实施方式中,获得所述同种异体T细胞群的步骤包括体外产生所述同种异体T细胞群。可以通过本领域中已知的任何方法体外产生所述同种异体T细胞群。产生同种异体T细胞群的非限制性示例性方法可见于Trivedi等人,2005,Blood 105:2793-2801;Hasan等人,2009,J Immunol 183:2837-2850;Koehne等人,2015,Biol Blood Marrow Transplant S1083-8791(15)00372-9,2015年5月29日在线发表;O'Reilly等人,2007,Immunol Res 38:237-250;和O'Reilly等人,2011,Best Practice&Research Clinical Haematology 24:381-391。

[0090] 在某些实施方式中,体外产生同种异体T细胞群的步骤包括使同种异体T细胞对一种或多种CMV抗原敏化(即,刺激)以产生CMV-特异性T细胞。在具体的实施方式中,体外产生所述同种异体T细胞群的步骤包括使同种异体T细胞对通过抗原递呈细胞递呈的一种或多种CMV抗原敏化。用于体外产生所述同种异体T细胞群的同种异体T细胞可以通过本领域中已知的任何方法分离自所述同种异体T细胞的供体,所述方法(例如)如Trivedi等人,2005,Blood 105:2793-2801;Hasan等人,2009,J Immunol 183:2837-2850;或O'Reilly等人,2007,Immunol Res.38:237-250中所述。在具体的实施方式中,从分离自所述同种异体T细胞供体的PBMCs的外周血单核细胞富集所述同种异体T细胞。在其他的具体实施方式中,通过消除贴壁单核细胞,然后消除自然杀伤细胞,从分离自所述同种异体T细胞供体的PBMCs的外周血单核细胞富集T细胞。在多种实施方式中,将所述同种异体T细胞冷冻保存以用于储存。在其中将所述同种异体T细胞冷冻保存的具体实施方式中,在敏化前将所述冷冻保存的同种异体T细胞融化并体外扩增。在其中将所述同种异体T细胞冷冻保存的具体的实施方式中,在敏化前将所述冷冻保存的同种异体T细胞融化,然后敏化,但不体外扩增,然后任选地扩增。在具体的实施方式中,在敏化后将所述同种异体T细胞冷冻保存(敏化产生了CMV-特异性T细胞)。在其中在敏化后将所述同种异体T细胞冷冻保存的具体的实施方式中,将所述冷冻保存的同种异体T细胞融化并体外扩增以产生包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群。在其中在敏化后将所述同种异体T细胞冷冻保存的另一种具体实施方式中,将所述冷冻保存的同种异体T细胞融化,但不体外扩增以产生包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群。在其他多种实施方式中,所述同种异体T细胞不冷冻保存。在其中不冷冻保存所述同

种异体T细胞的具体实施方式中,在敏化前将所述同种异体T细胞体外扩增。在其中不冷冻保存所述同种异体T细胞的具体实施方式中,在敏化前不体外扩增所述同种异体T细胞。在具体的实施方式中,体外产生所述同种异体T细胞群的步骤还包括在敏化后冷冻保存所述同种异体T细胞。

[0091] 在具体的实施方式中,治疗本文所述的CMV视网膜炎的方法还包括在所述施用步骤之前,使冷冻保存的CMV-抗原敏化的同种异体T细胞融化,并体外扩增所述同种异体T细胞以产生同种异体T细胞群的步骤。

[0092] 在某些实施方式中,体外产生同种异体T细胞群的步骤包括使用树突状细胞(优选地,所述树突状细胞来源于同种异体T细胞的供体)敏化同种异体T细胞。在具体的实施方式中,使用树突状细胞敏化同种异体T细胞的步骤包括使所述树突状细胞负载有至少一种来源于一种或多种CMV抗原的免疫原性肽。在具体的实施方式中,使用树突状细胞敏化同种异体T细胞的步骤包括使所述树突状细胞负载有来源于一种或多种CMV抗原的一组重叠肽。

[0093] 在某些实施方式中,体外产生同种异体T细胞群的步骤包括使用细胞因子-激活的单核细胞(优选地,所述细胞因子-激活的单核细胞来源于同种异体T细胞的供体)敏化同种异体T细胞。在具体的实施方式中,使用细胞因子-激活的单核细胞敏化同种异体T细胞的步骤包括使所述细胞因子-激活的单核细胞负载有至少一种来源于一种或多种CMV抗原的免疫原性肽。在具体的实施方式中,使用细胞因子-激活的单核细胞敏化同种异体T细胞的步骤包括使所述细胞因子-激活的单核细胞负载有来源于一种或多种CMV抗原的一组重叠肽。

[0094] 在某些实施方式中,体外产生同种异体T细胞群的步骤包括使用周围血单核细胞(优选地,所述周围血单核细胞来源于同种异体T细胞的供体)敏化同种异体T细胞。在具体的实施方式中,使用周围血单核细胞敏化同种异体T细胞的步骤包括使所述周围血单核细胞负载有至少一种来源于一种或多种CMV抗原的免疫原性肽。在具体的实施方式中,使用周围血单核细胞敏化同种异体T细胞的步骤包括使所述周围血单核细胞负载有来源于一种或多种CMV抗原的一组重叠肽。

[0095] 在某些实施方式中,体外产生所述同种异体T细胞群的步骤包括使用EBV-转化的B淋巴细胞系(EBV-BLCL),例如,EBV株B95.8-转化的B淋巴细胞系(优选地,所述EBV-BLCL来源于所述同种异体T细胞的供体)敏化同种异体T细胞。可以通过本领域中已知的或如先前在Trivedi等人,2005,Blood 105:2793-2801或Hasan等人,2009,J Immunol 183:2837-2850中所述的任何方法产生EBV-BLCL。在具体的实施方式中,使用EBV-BLCL敏化同种异体T细胞的步骤包括使所述EBV-BLCL细胞负载有至少一种来源于一种或多种CMV抗原的免疫原性肽。在具体的实施方式中,使用EBV-BLCL敏化同种异体T细胞的步骤包括使所述EBV-BLCL细胞负载有来源于一种或多种CMV抗原的一组重叠肽。

[0096] 在某些实施方式中,体外产生同种异体T细胞群的步骤包括使用人工抗原-递呈细胞(AAPCs)敏化同种异体T细胞。在具体的实施方式中,使用AAPCs敏化同种异体T细胞的步骤包括使所述AAPCs负载有至少一种来源于一种或多种CMV抗原的免疫原性肽。在具体的实施方式中,使用AAPCs敏化同种异体T细胞的步骤包括使所述AAPCs负载有来源于一种或多种CMV抗原的一组重叠肽。在具体的实施方式中,使用AAPCs敏化同种异体T细胞的步骤包括工程化改造所述AAPCs以在所述AAPCs中表达至少一种免疫原性CMV肽或蛋白。

[0097] 在多个实施方式中,所述肽混合物是覆盖CMV抗原的一组重叠肽。在多个实施方式

中,所述肽混合物是覆盖不止一个CMV抗原的一组重叠肽。在具体的实施方式中,所述重叠肽的组是一组重叠十五肽。

[0098] 在具体的实施方式中,在施用前已将所述同种异体T细胞群冷冻保存以用于储存。在具体的实施方式中,在施用前尚未将所述同种异体T细胞群冷冻保存以用于储存。在某些实施方式中,治疗本文所述的CMV视网膜炎的方法还包括在所述施用步骤之前,融化冷冻保存形式的所述同种异体T细胞群的步骤。

[0099] 在多个实施方式中,所述同种异体T细胞群来源于T细胞系。在具体的实施方式中,在施用前已将所述T细胞系冷冻保存以用于储存。在具体的实施方式中,在施用前尚未将所述T细胞系冷冻保存以用于储存。在一些实施方式中,已将所述T细胞系体外扩增以获得所述同种异体T细胞群。在其他实施方式中,尚未将所述T细胞系体外扩增以获得所述同种异体T细胞群。可以在冷冻保存之前或之后(如果所述T细胞系已冷冻保存)并且在体外扩增之前或之后(如果所述T细胞系已体外扩增),使所述T细胞系对一种或多种CMV抗原敏化(以产生CMV-特异性T细胞,例如,通过如上所述的敏化步骤)。在某些实施方式中,治疗本文所述的CMV视网膜炎的方法还包括在所述施用步骤之前,从多种冷冻保存的T细胞系(优选地,每个均包含CMV-特异性T细胞)的库中选择T细胞系的步骤。优选地,所述库中每个T细胞系的唯一标识符与限制各个T细胞系的HLA等位基因的信息并且还与任选地各个T细胞系的HLA分配的信息有关。在某些实施方式中,治疗本文所述的CMV视网膜炎的方法还包括在所述施用步骤之前,使冷冻保存形式的T细胞系融化的步骤。在具体的实施方式中,治疗本文所述的CMV视网膜炎的方法还包括在所述施用步骤之前,体外扩增所述T细胞系的步骤(例如,在使冷冻保存形式的所述T细胞系融化之后)。可以通过本领域中已知的任何方法产生T细胞系和多种冷冻保存的T细胞系,例如,如Trivedi等人,2005,Blood 105:2793-2801;Hasan等人,2009,J Immunol 183:2837-2850;Koehne等人,2015,Biol Blood Marrow Transplant S1083-8791 (15) 00372-9,2015年5月29日在线发表;O' Reilly等人,2007,Immunol Res 38:237-250;或O' Reilly等人,2011,Best Practice&Research Clinical Haematology 24:381-391中所述的,或者如以上对于体外产生同种异体T细胞群所述的。

[0100] 施用于所述人类患者的包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群包括CD8+ T细胞,并且在具体的实施方式中,还包括CD4+ T细胞。

[0101] 根据本文所述的方法施用的CMV-特异性T细胞识别至少一种CMV抗原。在具体的实施方式中,根据本文所述的方法施用的CMV-特异性T细胞识别CMVpp65。在具体的实施方式中,根据本文所述的方法施用的CMV-特异性T细胞识别CMV IE1。

[0102] 在具体的实施方式中,同种异体T细胞群未用编码CMV-特异性T细胞受体的基因离体转导。

[0103] 在具体的实施方式中,所述同种异体T细胞群中至少一些,任选地全部细胞是雷帕霉素-敏感的。

[0104] 在具体的实施方式中,所述同种异体T细胞群不与PD-1拮抗剂组合施用。

[0105] 5.3. 施用和剂量

[0106] 可以基于人类患者的状况以及医师的认识确定所述同种异体T细胞群的施用途径和要施用给人类患者的量。通常,所述施用是静脉内的。

[0107] 在某些实施方式中,所述施用是通过输注所述同种异体T细胞群进行的。在一些实

施方式中,所述输注是静脉推注。在某些实施方式中,所述施用包括向人类患者每周每剂量每千克施用至少约 $1 \times 10^5$ 个T细胞的所述同种异体T细胞群。在一些实施方式中,所述施用包括向人类患者每周每剂量每千克施用约 $1 \times 10^6$ 至约 $2 \times 10^6$ 个T细胞的所述同种异体T细胞群。在一种具体实施方式中,所述施用包括向人类患者每周每剂量每千克施用约 $1 \times 10^6$ 个T细胞的所述同种异体T细胞群。在另一种具体实施方式中,所述施用包括向人类患者每周每剂量每千克施用约 $2 \times 10^6$ 个T细胞的所述同种异体T细胞群。

[0108] 在某些实施方式中,治疗本文所述的CMV视网膜炎的方法包括向人类患者施用至少2剂量的所述同种异体T细胞群。在具体的实施方式中,治疗本文所述的CMV视网膜炎的方法包括向人类患者施用2、3、4、5或6剂量的所述同种异体T细胞群。

[0109] 在某些实施方式中,治疗本文所述的CMV视网膜炎的方法包括施用第一轮的每周1剂量的所述同种异体T细胞群,连续施用3周,然后是其间不施用所述同种异体T细胞群剂量的洗脱期,接着是第二轮的每周1剂量的所述同种异体T细胞群,连续施用3周。在某些实施方式中,治疗本文所述的CMV视网膜炎的方法包括施用至少两轮的每周1剂量的所述同种异体T细胞群,连续施用3周,每轮之间间隔其间不施用所述同种异体T细胞群剂量的洗脱期。在具体的实施方式中,治疗本文所述的CMV视网膜炎的方法包括施用2、3、4、5或6轮的每周1剂量的所述同种异体T细胞群,连续施用3周,每轮之间间隔其间不施用所述同种异体T细胞群剂量的洗脱期。在具体的实施方式中,所述洗脱期为约3周。优选地,仅当上述的轮未显示出毒性时(例如,无根据NCI CTCAE 4.0分级的3-5级严重不良事件),施用额外的轮。

[0110] 在具体的实施方式中,治疗本文所述的CMV视网膜炎的方法包括施用第一轮的每周1剂量的所述同种异体T细胞群,连续施用3周,然后是其间不施用所述同种异体T细胞群剂量的洗脱期,接着是第二轮的每周1剂量的所述同种异体T细胞群,连续施用3周,其中每个剂量为每千克约 $1 \times 10^6$ 个所述同种异体T细胞群的T细胞,并且所述洗脱期为约3周。

[0111] 在具体的实施方式中,治疗本文所述的CMV视网膜炎的方法包括向人类患者施用每周每剂量每千克约 $1 \times 10^6$ 个所述同种异体T细胞群的T细胞,连续施用3周(即,3剂量)。

[0112] 在某些实施方式中,将本文所述的第一剂量方案实施第一时间段,然是是实施了第二时间段的本文所述的第二且不同的剂量方案,其中所述第一时间段和所述第二时间段任选地被洗脱期(例如,约3周)隔开。优选地,仅当所述第一剂量方案未显示出毒性时(例如,无根据NCI CTCAE 4.0分级的3-5级严重不良事件),实施第二剂量方案。

[0113] 术语“约”应视为允许正常变化。

[0114] 5.4. 使用不同T细胞群的顺序治疗

[0115] 在某些实施方式中,治疗CMV视网膜炎的方法还包括在向人类患者施用所述同种异体T细胞群后,向所述人类患者施用包含CMV-特异性T细胞的第二同种异体T细胞群;其中所述第二同种异体T细胞群受限于与感染CMV的细胞中至少一些,任选地全部共有的不同的HLA等位基因。可以通过如部分4.4中所述的任何途径和任何剂量/施用方案施用所述第二同种异体T细胞群。在具体的实施方式中,治疗CMV视网膜炎的方法包括施用第一轮的每周1剂量的所述同种异体T细胞群,连续施用3周,然后是其间不施用所述同种异体T细胞群剂量的洗脱期,接着是第二轮的每周1剂量的所述第二同种异体T细胞群,连续施用3周。在其他具体的实施方式中,所述洗脱期为约3周。

[0116] 在某些实施方式中,在施用所述同种异体T细胞群之后和施用所述第二同种异体T

细胞群之前,所述人类患者无应答、不完全应答或应答不佳(即,所述人类患者仍可能从继续治疗中显著受益,但是获得最优长期疗效的机会降低)。

[0117] 在具体的实施方式中,顺序施用分别受限于与所述感染CMV的细胞中至少一些,任选地全部共有的不同的HLA等位基因的两个同种异体CMV-特异性T细胞群。在具体的实施方式中,顺序施用分别受限于与所述感染CMV的细胞中至少一些,任选地全部共有的不同的HLA等位基因的三个同种异体CMV-特异性T细胞群。在具体的实施方式中,顺序施用分别受限于与所述感染CMV的细胞中至少一些,任选地全部共有的不同的HLA等位基因的四个同种异体CMV-特异性T细胞群。在具体的实施方式中,顺序施用分别受限于与所述感染CMV的细胞中至少一些,任选地全部共有的不同的HLA等位基因的超过四个同种异体CMV-特异性T细胞群。

#### [0118] 5.5. 组合疗法

[0119] 在多个实施方式中,治疗CMV视网膜炎的方法还包括用抗病毒化合物治疗所述人类患者以治疗CMV视网膜炎。在具体的实施方式中,治疗CMV视网膜炎的方法还包括用抗病毒化合物同时治疗所述人类患者以治疗CMV视网膜炎。在具体的实施方式中,所述抗病毒化合物选自更昔洛韦、膦甲酸、缬更昔洛韦、西多福韦、来氟米特及其组合。

[0120] 施用于人类患者的抗病毒化合物可以通过多种途径施用于人类患者。这些包括,但不限于,玻璃体内、肠胃外、鼻内、气管内、口服、皮内、局部、肌内、腹膜内、透皮、静脉内、输注、肿瘤内、结膜、皮下、肺部和任何其他局部或全身途径。

[0121] 在CMV视网膜炎的治疗中有效的本文所述的抗病毒化合物或其药物组合物的量将取决于患者的疾病或病况的性质,并且可以通过标准临床技术和医师的知识确定。

[0122] 要使用的精确剂量和方案还将取决于施用途径、疾病严重程度以及每位患者的情况和年龄,并且应根据医师的判断来决定。

[0123] 当所述抗病毒化合物包含更昔洛韦时,在具体的实施方式中,所述更昔洛韦可以作为其钠盐施用。在具体的实施方式中,将更昔洛韦静脉内(例如,通过恒定速率的静脉内输注)或者玻璃体内(例如,通过玻璃体内注射)施用于人类患者。在具体的实施方式中,更昔洛韦的静脉内施用(例如,通过恒定速率的静脉内输注)包括以每12小时每剂量每千克约5mg施用更昔洛韦。在另一种具体的实施方式中,更昔洛韦的静脉内施用(例如,通过恒定速率的静脉内输注)包括以每天每剂量每千克约5mg施用更昔洛韦。在另一种具体的实施方式中,更昔洛韦的静脉内施用(例如,通过恒定速率的静脉内输注)包括以每天每剂量每千克约6mg施用更昔洛韦。在另一种具体的实施方式中,更昔洛韦的静脉内施用(例如,通过恒定速率的静脉内输注)包括以每12小时每剂量每千克约2.5mg施用更昔洛韦。在另一种具体的实施方式中,更昔洛韦的静脉内施用(例如,通过恒定速率的静脉内输注)包括以每天每剂量每千克约2.5mg施用更昔洛韦。在另一种具体的实施方式中,更昔洛韦的静脉内施用(例如,通过恒定速率的静脉内输注)包括以每天每剂量每千克约1.25mg施用更昔洛韦。在另一种具体的实施方式中,更昔洛韦的静脉内施用(例如,通过恒定速率的静脉内输注)包括以每剂量每千克约1.25mg并且每周3剂量施用更昔洛韦。在具体的实施方式中,更昔洛韦的静脉内施用(例如,通过恒定速率的静脉内输注)包括每12小时每剂量每千克约5mg施用更昔洛韦约14至21天,然后每天每剂量每千克约5mg并且每周7天施用更昔洛韦。在另一种具体的实施方式中,更昔洛韦的静脉内施用(例如,通过恒定速率的静脉内输注)包括每12小时

每剂量每千克约5mg施用更昔洛韦约14至21天,然后每天每剂量每千克约6mg并且每周5天施用更昔洛韦。在具体的实施方式中,更昔洛韦的玻璃体内施用(例如,通过玻璃体内注射)包括以每剂量约2mg至5mg(例如,以0.1mL的体积)施用更昔洛韦。在另一种具体的实施方式中,更昔洛韦的玻璃体内施用(例如,通过玻璃体内注射)包括以每剂量约2mg(例如,以0.1mL的体积)施用更昔洛韦。在另一种具体的实施方式中,更昔洛韦的玻璃体内施用(例如,通过玻璃体内注射)包括以每剂量约3mg(例如,以0.1mL的体积)施用更昔洛韦。在另一种具体的实施方式中,更昔洛韦的玻璃体内施用(例如,通过玻璃体内注射)包括以每剂量约4mg(例如,以0.1mL的体积)施用更昔洛韦。在另一种具体的实施方式中,更昔洛韦的玻璃体内施用(例如,通过玻璃体内注射)包括以每剂量约5mg(例如,以0.1mL的体积)施用更昔洛韦。可以通过疾病的位置、严重程度和应答以及人类患者对更昔洛韦治疗的耐受性确定更昔洛韦的玻璃体内施用(例如,通过玻璃体内注射)的频率,并且所述频率可以在(例如)每隔一天至每两周一次的范围内。在具体的实施方式中,更昔洛韦的玻璃体内施用(例如,通过玻璃体内注射)包括每两周施用一次更昔洛韦。在另一种具体的实施方式中,更昔洛韦的玻璃体内施用(例如,通过玻璃体内注射)包括每周施用一次更昔洛韦。在另一种具体的实施方式中,更昔洛韦的玻璃体内施用(例如,通过玻璃体内注射)包括每隔一天施用一次更昔洛韦。当人类患者具有CMV视网膜炎的初始表现和/或面临威胁视力(例如,威胁视神经和/或黄斑)的情况下时,在具体的实施方式中,更昔洛韦的玻璃体内施用(例如,通过玻璃体内注射)包括每两周施用一次更昔洛韦。更昔洛韦的玻璃体内施用(例如,通过玻璃体内注射)可以或不结合使用更昔洛韦或其他抗病毒化合物的全身疗法一起实施。更昔洛韦的玻璃体内施用(例如,通过玻璃体内注射)可以或不结合其他抗病毒化合物的玻璃体内施用(例如,通过玻璃体内注射)一起实施。基于施用途径、疾病严重程度以及患者情况和年龄,还可以调节要使用的更昔洛韦的精确剂量以及方案,并且可以根据医师的判断来决定。

[0124] 当所述抗病毒化合物包含缬更昔洛韦时,在具体的实施方式中,所述缬更昔洛韦可以作为缬更昔洛韦盐酸盐施用。在具体的实施方式中,将缬更昔洛韦口服施用于人类患者(例如,以片剂或口服溶液形式)。在具体的实施方式中,缬更昔洛韦的口服施用(例如,以片剂或口服溶液形式)包括以每剂量约900mg,每天两剂量施用缬更昔洛韦。在另一种具体的实施方式中,缬更昔洛韦的口服施用(例如,以片剂或口服溶液形式)包括以每天每剂量约900mg施用缬更昔洛韦。在另一种具体的实施方式中,缬更昔洛韦的口服施用(例如,以片剂或口服溶液形式)包括以每剂量约450mg,每天两剂量施用缬更昔洛韦。在另一种具体的实施方式中,缬更昔洛韦的口服施用(例如,以片剂或口服溶液形式)包括以每天每剂量约450mg施用缬更昔洛韦。在另一种具体的实施方式中,缬更昔洛韦的口服施用(例如,以片剂或口服溶液形式)包括以每剂量约450mg,每隔一天一个剂量施用缬更昔洛韦。在另一种具体的实施方式中,缬更昔洛韦的口服施用(例如,以片剂或口服溶液形式)包括以每剂量约450mg,每周两剂量施用缬更昔洛韦。在具体的实施方式中,缬更昔洛韦的口服施用(例如,以片剂或口服溶液形式)包括以每剂量约900mg,每天两剂量施用缬更昔洛韦21天,然后以每天每剂量约900mg施用。当所述人类患者是接受心脏或肾-胰腺移植的成年患者时,在具体的实施方式中,缬更昔洛韦的口服施用(例如,以片剂或口服溶液形式)包括在移植10天内开始以每天每剂量约900mg施用缬更昔洛韦直至移植后约100天。当所述人类患者是接受

肾移植的成年患者时,在具体的实施方式中,缬更昔洛韦的口服施用(例如,以片剂或口服溶液形式)包括在移植10天内开始以每天每剂量约900mg施用缬更昔洛韦直至移植后约200天。基于施用途径、疾病严重程度以及患者的情况和年龄,还可以调节缬更昔洛韦要使用的精确剂量和方案,并且可以根据医师的判断来决定。

[0125] 当所述抗病毒化合物包含膦甲酸时,在具体的实施方式中,所述膦甲酸可以作为其钠盐施用。在具体的实施方式中,将膦甲酸静脉内(例如,通过受控的静脉内输注)或者玻璃体内(例如,通过玻璃体内注射)施用于人类患者。在一种具体实施方式中,膦甲酸的静脉内施用(例如,通过受控的静脉内输注)包括以每12小时每剂量每千克约90mg施用膦甲酸。在另一种具体实施方式中,膦甲酸的静脉内施用(例如,通过受控的静脉内输注)包括以每8小时每剂量每千克约60mg施用膦甲酸。在另一种具体实施方式中,膦甲酸的静脉内施用(例如,通过受控的静脉内输注)包括以每天每剂量每千克约90mg施用膦甲酸。在另一种具体实施方式中,膦甲酸的静脉内施用(例如,通过受控的静脉内输注)包括以每天每剂量每千克约120mg施用膦甲酸。在一种具体实施方式中,膦甲酸的静脉内施用(例如,通过受控的静脉内输注)包括以每12小时每剂量每千克约90mg或者每8小时每剂量每千克约60mg施用膦甲酸约2至3周,然后以每天每剂量每千克约90mg施用。在另一种具体实施方式中,膦甲酸的静脉内施用(例如,通过受控的静脉内输注)包括以每12小时每剂量每千克约90mg或者每8小时每剂量每千克约60mg施用膦甲酸约2至3周,然后以每天每剂量每千克约120mg施用。在一种具体实施方式中,膦甲酸的玻璃体内施用(例如,通过玻璃体内注射)包括以每剂量约2.4mg(例如,以0.1mL的体积)施用膦甲酸。可以通过疾病的位置、严重程度和应答以及人类患者对膦甲酸治疗的耐受性确定膦甲酸的玻璃体内施用(例如,通过玻璃体内注射)的频率,并且所述频率可以在(例如)每隔一天至每两周一次的范围内。在一种具体实施方式中,膦甲酸的玻璃体内施用(例如,通过玻璃体内注射)包括每两周施用一次膦甲酸。在另一种具体实施方式中,膦甲酸的玻璃体内施用(例如,通过玻璃体内注射)包括每周施用一次膦甲酸。在另一种具体实施方式中,膦甲酸的玻璃体内施用(例如,通过玻璃体内注射)包括每隔一天施用一次膦甲酸。当人类患者具有CMV视网膜炎的初始表现和/或面临威胁视力(例如,威胁视神经和/或黄斑)的情况下时,在具体的实施方式中,膦甲酸的玻璃体内施用(例如,通过玻璃体内注射)包括每两周施用一次膦甲酸。膦甲酸的玻璃体内施用(例如,通过玻璃体内注射)可以或不结合使用膦甲酸或其他抗病毒化合物的全身疗法一起实施。膦甲酸的玻璃体内施用(例如,通过玻璃体内注射)可以或不结合其他抗病毒化合物的玻璃体内施用(例如,通过玻璃体内注射)一起实施。基于施用途径、疾病严重程度以及患者情况和年龄,还可以调节要使用的膦甲酸的精确剂量以及方案,并且可以根据医师的判断来决定。

[0126] 在具体实施方式中,当所述抗病毒化合物包含西多福韦时,将西多福韦静脉内(例如,通过输注)施用于人类患者。在一种具体实施方式中,西多福韦的静脉内施用(例如,通过输注)包括以每周每剂量每千克约5mg施用西多福韦。在另一种具体实施方式中,西多福韦的静脉内施用(例如,通过输注)包括以每剂量每千克约5mg并且每两周1剂量施用西多福韦。在一种具体实施方式中,西多福韦的静脉内施用(例如,通过输注)包括每周每剂量每千克约5mg施用西多福韦约2周,然后每剂量每千克约5mg并且每2周1剂量施用西多福韦。基于施用途径、疾病严重程度以及患者情况和年龄,还可以调节要使用的西多福韦的精确剂量

以及方案,并且可以根据医师的判断来决定。

[0127] 在具体实施方式中,当所述抗病毒化合物包含来氟米特时,将来氟米特口服(例如,以片剂形式)施用于人类患者。在一种具体实施方式中,来氟米特的口服施用(例如,以片剂形式)包括以每天每剂量约100mg施用来氟米特。在另一种具体实施方式中,来氟米特的口服施用(例如,以片剂形式)包括以每天每剂量约20mg施用来氟米特。在另一种具体实施方式中,来氟米特的口服施用(例如,以片剂形式)包括以每天每剂量约10mg施用来氟米特。在一种具体实施方式中,来氟米特的口服施用(例如,以片剂形式)包括以每天每剂量约100mg施用来氟米特3天,然后以每天每剂量约20mg施用。在另一种具体实施方式中,来氟米特的口服施用(例如,以片剂形式)包括以每天每剂量约100mg施用来氟米特3天,然后以每天每剂量约10mg施用。基于施用途径、疾病严重程度以及患者情况和年龄,还可以调节要使用的来氟米特的精确剂量以及方案,并且可以根据医师的判断来决定。

[0128] 在其中用包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群和如本文所述的抗病毒化合物两者治疗人类患者的实施方式中,可以将所述包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群和所述抗病毒化合物同时施用于所述人类患者,例如,在约同时,在同一天或同一周,或者期间每周施用所述同种异体T细胞群的相同的多个周的一段时间,或者按类似的剂量施用计划表,或者按不同但重叠的剂量施用计划表施用。

[0129] 在具体的实施方式中,可以在所述包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群施用之前(例如,之前约1天、2天、3天、4天、5天、6天、1周、2周、3周、4周、1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月或8个月)或者之后(例如,之后约1天、2天、3天、4天、5天、6天、1周、2周、3周、4周、1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月或8个月)施用所述抗病毒化合物。

[0130] 术语“约”应视为允许正常变化。

[0131] 5.6. 患者

[0132] 所述人类患者可以是患有CMV视网膜炎(例如,通过眼科学检查确诊)和感染HIV或已是实体器官移植的受体的任何患者。在具体的实施方式中,所述人类患者具有活动性、非潜伏的CMV感染。

[0133] 在具体的实施方式中,所述人类患者中的CMV在其基因组中具有至少一种突变,该突变赋予了对一种或多种抗病毒剂的耐受性。在具体的实施方式中,所述一种或多种抗病毒剂选自更昔洛韦、膦甲酸、缙更昔洛韦、西多福韦、来氟米特及其组合。在具体实施方式中,所述突变位于UL97(巨细胞病毒病毒磷酸转移酶)基因中。在其他的具体实施方式中,UL97基因中的突变赋予了对更昔洛韦和缙更昔洛韦的耐受性。在另一种具体实施方式中,所述突变位于UL54(巨细胞病毒DNA聚合酶)基因中。在另一种其他的具体实施方式中,UL54基因中的突变赋予了对膦甲酸和西多福韦的耐受性。在另一种其他的具体实施方式中,UL54基因中的突变赋予了对更昔洛韦、缙更昔洛韦、膦甲酸和西多福韦的耐受性。在另一种具体实施方式中,第一突变位于UL97基因中,第二突变位于UL54基因中。在另一种其他的具体实施方式中,所述第一突变位于UL97基因中,第二突变位于UL54基因中,其中所述UL97基因中的第一突变给予了对更昔洛韦和缙更昔洛韦的耐受性,所述UL54基因中的第二突变赋予了对膦甲酸和西多福韦的耐受性。在另一种其他的具体实施方式中,所述第一突变位于UL97基因中,第二突变位于UL54基因中,其中所述UL97基因中的第一突变给予了对更昔洛

韦和缙更昔洛韦的耐受性,所述UL54基因中的第二突变赋予了对更昔洛韦、缙更昔洛韦、膦甲酸和西多福韦的耐受性。

[0134] 在某些实施方式中,治疗CMV视网膜炎的方法还包括在所述施用步骤之前,对所述人类患者的CMV基因分型的步骤。在具体的实施方式中,治疗CMV视网膜炎的方法还包括在施用所述包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群之前,对所述人类患者的CMV基因分型以鉴别赋予对一种或多种抗病毒剂的耐受性的至少一种突变(例如,UL97基因中的突变和/或UL54基因中的突变)。可以通过本领域中已知的任何方法,例如,通过PCR或DNA测序,并且可以使用任何来自所述患者的感染的细胞或组织样品(例如,来自眼或血液的细胞/组织样品)对CMV基因分型。可以使用用于对CMV基因分型的任何可商购的试剂盒或者在任何临床参考实验室中进行基因分型。

[0135] CMV视网膜炎是由人巨细胞病毒所引起的视网膜炎症,其导致视力的进行性丧失和失眠,并且通常发生在免疫力受损的患者中。

[0136] 在具体的实施方式中,所述人类患者完全丧失其视力。在具体的实施方式中,所述人类患者丧失其大于90%、80%、70%、60%、50%、40%、30%、20%或10%的视力。在具体的实施方式中,所述人类患者丧失其约90%、80%、70%、60%、50%、40%、30%、20%或10%的视力。在具体的实施方式中,在施用所述包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群之后,所述人类患者视力改善(例如,改善了约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、150%、200%、250%、300%、400%或500%,或改善了大于10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、150%、200%、250%、300%、400%或500%)。在具体的实施方式中,在施用所述包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群之后,所述人类患者具有稳定的视力。在具体的实施方式中,在施用所述包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群之后,所述人类患者完全消除了视网膜炎症。在具体的实施方式中,在施用所述包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群之后,所述人类患者部分消除了视网膜炎症。

[0137] 在替代性实施方式中,所述人类患者感染了HIV,或者已是来自移植供体的实体器官移植的受体。

[0138] 在某些实施方式中,所述人类患者感染了HIV。在具体的实施方式中,所述人类患者患有AIDS。在具体的实施方式中,所述人类患者是具有中等至较高水平的病毒载量的AIDS患者。在具体的实施方式中,在施用所述包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群之后,所述人类患者不会发展出葡萄膜炎。

[0139] 在某些实施方式中,所述人类患者已是来自移植供体的实体器官移植的受体。在具体的实施方式中,所述人类患者接受的实体器官移植是肾移植、肝移植、心脏移植、肠移植、胰腺移植、肺移植、小肠移植或它们的组合。在具体的实施方式中,所述人类患者接受的实体器官移植是肾移植。在其中所述人类患者已是来自移植供体的实体器官移植的受体的具体实施方式中,所述同种异体T细胞群来源于所述移植供体之外的供体。在具体的实施方式中,在施用所述包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群之后,所述人类患者不会发展出葡萄膜炎。在具体的实施方式中,在施用所述包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群之后,所述人类患者不会发展出器官同种异体移植排斥。

[0140] 在具体的实施方式中,所述人类患者尚不是造血干细胞移植(例如,骨髓移植、外

周血干细胞移植或脐血移植)的受体。

[0141] 在具体的实施方式中,所述人类患者在治疗CMV视网膜炎的先前治疗中失败。如果CMV视网膜炎耐受所述治疗和/或如果人类患者由于对所述治疗不耐受而中断了所述治疗(例如,由于所述治疗的毒性,考虑到患者的年龄或状况),则认为所述人类患者在治疗CMV视网膜炎的治疗中失败。如果在治疗之后,CMV视网膜炎无应答或者不完全应答(小于完全缓解的应答),或者CMV视网膜炎发展或复发,则认为CMV视网膜炎耐受所述疗法。完全缓解是任选地通过眼科学检查确认并且在所述治疗结束后所有疾病临床迹象完全消除持续(例如)至少三周。在具体的实施方式中,该先前治疗是使用至少一种抗病毒剂的治疗。在具体的实施方式中,所述至少一种抗病毒剂选自更昔洛韦、膦甲酸、缙更昔洛韦、西多福韦、来氟米特及其组合。在具体的实施方式中,已全身施用所述至少一种抗病毒剂。在具体的实施方式中,已对眼局部施用所述至少一种抗病毒剂。在具体的实施方式中,该先前治疗是恢复或提高人类患者免疫功能的治疗。

## 6. 实施例

[0142] 通过以下非限制性实施例描述了本文所提供的某些实施方式,所述实施例表明使用根据本发明的包含CMV-特异性T细胞的同种异体T细胞群的治疗在治疗感染HIV或已是实体器官移植的受体的人类患者中的CMV视网膜炎中是有效的。

### [0143] 6.1. 简介

[0144] 尽管令人放心的是静脉内输注供体来源的T细胞可以跨过血脑屏障并进入CNS,但是不能从先前研究中假设T细胞将跨过血-视网膜屏障以用于有效治疗CMV视网膜炎。假设T细胞将进入视网膜,有关使用继承性转移的T细胞治疗视网膜炎的其他问题将是引起免疫重建葡萄膜炎的可能,这是在用HAART治疗的具有CMV视网膜炎的AIDS患者中明确描述的实体,所述AIDS患者一旦免疫功能重建,则出现了葡萄膜炎(Jabs等人,2015,Ophthalmology pii:S0161-6420(15)00175-X,2015年4月16日在线发表)。第三方CMV-特异性T细胞用于视网膜炎治疗的使用产生了输注的T细胞向眼部正确归巢的其他问题,以及引起葡萄膜炎的额外潜在风险。

[0145] 至此,视网膜炎的出现和相应的感染免疫控制之间尚未完美关联。例如,自相矛盾地,在HAART期间,在存在持续高CD4+ T细胞计数的情况下报道了活动性的HCMV视网膜炎。尽管这可以由低循环HCMV-特异性CD8+ T细胞数目解释,但是它仍未清楚显示(Lin等人,2002,Retina 22:268-277)。本文所述的研究和他人近期的观察结果提供了在视网膜炎期间CMV病毒载量不必需与疾病发展相关的证据,这与其他HCMV疾病,如肺炎或结肠炎相反。此外,HIV患者中的一些报道显示在一些情况下,通过抗逆转录病毒(HAART)疗法的免疫活性恢复可能与视网膜炎的出现有关。在这些情况下,假设将是视网膜自始至终潜在地感染了CMV,但是在HAART之后通过免疫细胞的浸润而发炎。

### [0146] 6.2. 方法:

[0147] 在纪念斯隆-凯特琳癌症中心(Memorial Sloan Kettering Cancer Center)的GMP研究室中,在标准SOPs和FDA的符合规程(compliant protocols)下处理所有细胞产品。

[0148] CMVpp65表位特异性T细胞的产生和鉴定已在近期发表的论文中详细描述(Koehne等人,2015,Biol Blood Marrow Transplant pii:S1083-8791(15)00372-9,2015年5月29

日在线发表)。通过用负载有覆盖CMV蛋白pp65序列的合成15-聚肽的混合物的自体同源的细胞因子-激活的单核细胞(CAMS)体外敏化,从CMV-血清反应阳性的健康骨髓移植供体产生CMVpp65特异性T细胞。如前所述产生了自体同源的移植供体-来源的CAMS和埃-巴二氏病毒转化的B淋巴细胞系(EBV-BLCLs)(Trivedi等人,2005,Blood 105:2793-2801;Hasan等人,2009,J Immunol 183:2837-2850)。

[0149] 图1示出了根据治疗方案的临床规程,输注CMV-特异性T细胞。从来自同意第三方使用其T细胞的供体的GMP级T细胞库选择T细胞。选择显示抗CMV细胞毒活性受限于与患者共有的HLA等位基因的与患者匹配至少2个HLA等位基因的T细胞用于输注。初步治疗包括 $1 \times 10^6$ 个T-细胞/kg的3周输注。在此之后是3周的观察期,然后基于应答患者可以接受另一个3周输注循环。如图2所示,患者接受1-3轮CMV-特异性T细胞,所述T细胞正确匹配2个或更多个HLA等位基因并适当限制CMV活性。在输注后,以一定间隔监控来自患者的血液样品的免疫功能以及CMV-特异性T细胞的检测。

[0150] 6.3. 结果:

[0151] 尽管使用抗病毒药物治疗但仍出现进行性视网膜炎的免疫抑制患者面临快速丧失视力的迫切危险。第三方供体来源的CMV-特异性T细胞库为该类患者构建了立即可用的疗法。在IRB(机构审查委员会)批准的规程下,使用包含细胞毒性T细胞(CTLs)的继承性转移的第三方供体来源的CMV-特异性T细胞治疗具有临床记录的CMV视网膜炎的6位患者。这些患者中的4位是BMT受体,1位是肾移植受体,1位是HIV-阳性患者。

[0152] 患者#5(参见图3的临床时序)是接受肾移植并出现CMV视网膜炎的68岁男性。他具有肾移植后眶坏死性肉芽肿病肾病状况史,并且长期进行免疫抑制疗法(泼尼松、他克莫司和麦考酚酯)以用于移植排斥预防。它的眼科学病程还并发有青光眼,需要OD(右眼)分流、OD分流修正/CE/IOL(通过眼内透镜植入物的内障摘出术)、OS(左眼)分流/CE/IOL、二次OS分流手术、OD二极管激光睫状体光凝。由于那些试剂(膦甲酸和更昔洛韦)的肾毒性,该患者不能耐受冲击性全身抗病毒疗法,并因此通过更昔洛韦和膦甲酸的玻璃体内注射以及来氟米特治疗,但是患者无应答。还用缙更昔洛韦治疗患者。另外,由于来氟米特的副作用,他出现了周围神经病。据发现该患者的CMV在UL97中具有突变,赋予它对更昔洛韦和缙更昔洛韦的耐受性。因此,对他进行CMV特异性T细胞疗法。患者接受了2轮CMV特异性T细胞,共计6剂量的T细胞。治疗期间,从他的眼中吸出液体,并且表明从眼中完全清除了病毒(图4,表1)。

[0153] 患者#6是具有HIV感染和CMV视网膜炎的56岁男性。在全身抗病毒剂治疗后,患者每两周,然后每周在眼中注射抗病毒剂,注射2-3个月。患者每周接受两次眼中的抗病毒剂注射,并对这些频繁注射变得不耐受,因此,对他进行CMV特异性T细胞疗法。该患者接受一轮CMV特异性T细胞,共计3剂量的T细胞,并完全清除了视网膜疾病(表1)。

[0154] 表1. 患者#5和患者#6。

[0155]

患者	年龄(岁)	基础医学诊断	T 细胞输注轮数	T 细胞治疗前 VA	最终的 VA	F/u (月)	复发性视网膜炎	葡萄膜炎发作	视网膜脱离
#5	68	肾移植, 使用免疫抑制剂用于移植排斥预防	2	CF OD	3/200 OD	8	无	无	无
#6	56	HIV, 虽有 HAART, 但长期抑制 CD4 计数 < 50; 淋巴瘤 s/p 化疗史	1	20/25 OD	20/20	14	无	输注后 7 个月, OD 黄斑囊样水肿(无视网膜炎, CMV PCR 阴性, 自行消退)	无

[0156] VA: 视觉灵敏度。CF: 数手指 (低于 20/400)。F/u: 随访。mth: 月。s/p: 病后状态。OD: 右眼。

[0157] 6 位治疗患者中的 4 位, 包括 1 位 HIV-阳性患者和 1 位肾移植受体对治疗完全应答, 并通过眼科学检查, 视网膜炎完全消退。这些患者中视力改善或稳定。1 位 BMT 患者对治疗部分应答。他接受 2 轮治疗, 之后持续应答且无恶化。1 位 BMT 患者仅接受 1 剂量的 CMV-特异性 T 细胞并且不能继续, 因此无法评价。

[0158] 在任何治疗患者中未观察到 GvHD。患者 #5 未显示出任何葡萄膜炎的迹象。HIV 患者 (#6) 对治疗完全应答。该患者短暂出现玻璃体炎症, 其消退后无后遗症, 并且 CMV 视网膜炎完全消退。患者 #6 中出现的黄斑囊样水肿明显是由于预先存在的视网膜前膜 (黄斑皱褶) 的恶化造成的, 而不是继发于 T 细胞疗法或者 CMV 视网膜炎激活。

[0159] 输注后, 在不同时间点对来自患者的 CMV-特异性 T 细胞计数。CMV-特异性 T 细胞数目的增加可以在所有应答的患者, 包括部分应答的患者中出现。如图 5 中对于代表性实施例 (患者 #5) 所示, CMV-特异性 T 细胞中的升高与血液中 CMV 病毒载量的降低有关。在 HIV-阳性患者中, 在最后一次剂量的 T 细胞输注后 6 周, 能够检测到功能性 CMV-特异性 T 细胞。

[0160] 7. 作为参考并入

[0161] 在本文中引用了多篇出版物, 以上出版物的公开内容以其全部内容作为参考并入本文。

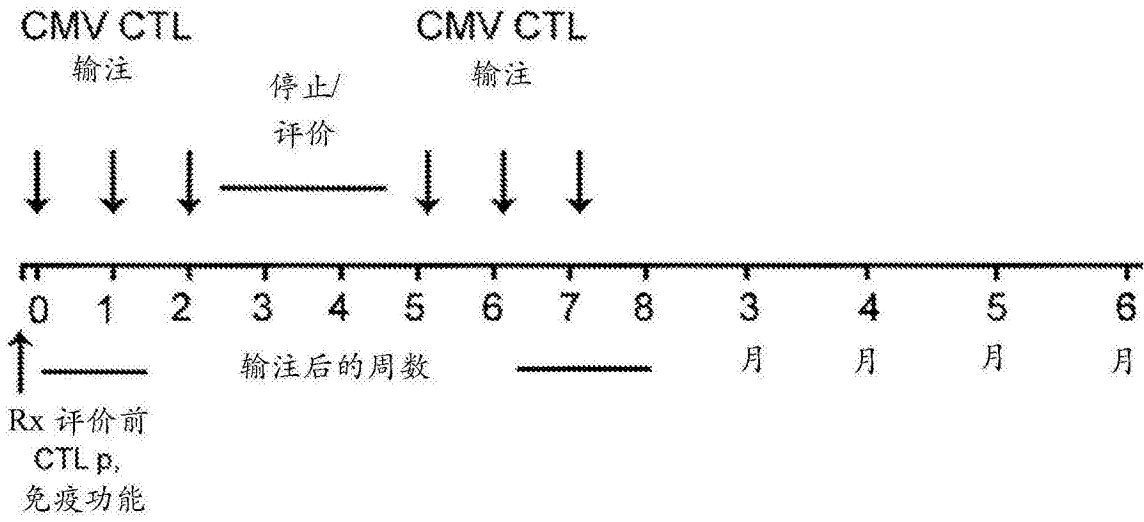


图1

	患者	HLA							CMVCTL 表位	CMVCTL HLA 限制	CTL 剂量	# CTL 轮数	应答
		A	B	C	DR	DQ							
1	患者 CTL 供体	0101 0201 0101 0201	0801 4402 3806 4402	0701 1203 0501 0501	0301 1501 0601 1104	0201 0602 0402 0301		NLPYMATV	A*0201	1x 10 <sup>6</sup> /kg	2	CR	
2	患者 CTL 供体	2902 7401 2902 2902	4501 1503 4403 0602	0210 0901 1801 0301	0901 1101 1501 0201	0202 0319 0602 0602		VCSMENTRAIK	A*2902 C*0602	1x 10 <sup>6</sup> /kg	1	CR	
3	患者 CTL 供体	3001 3302 3001 3001	1302 1515 1302 4101	1402 1604 0602 1700	1303 1502 0404 0701	0301 0601 0402 0202		GHRV VSQPSLLVS	A*0301 DRB1*0701	1x 10 <sup>6</sup> /kg	3	保持稳定的持续视力 PR-改善	
4	患者 CTL 供体	0205 3002 0201 3201	1801 5001 0301 4403	0501 0802 0701 1601	0301 1302 0301 1301	0201 0604 0201 0603		NLPYMATV	A*0201	1x 10 <sup>6</sup> /kg	单一剂量的 的 CTL	不可评价	
5	患者 CTL 供体	0301 3101 0201 0101	0702 4402 0702 0801	0501 0702 0702 0701	0401 1201 0401 0401	0301 0301 0301 0301		TPRVIGCGAM RPERNGFTV (minor)	B*0702	1x 10 <sup>6</sup> /kg	2	CR	
6	患者 CTL 供体	0205 1101 1101 1101	1501 5001 5501 5501	0303 0602 0303 0303	0701 0501 0701 1401	0202 0602 0303 0503		GPSGHAKI SGKLFMHTLG	A*1101 DRB1*0701	1x 10 <sup>6</sup> /kg	1	CR	

图2

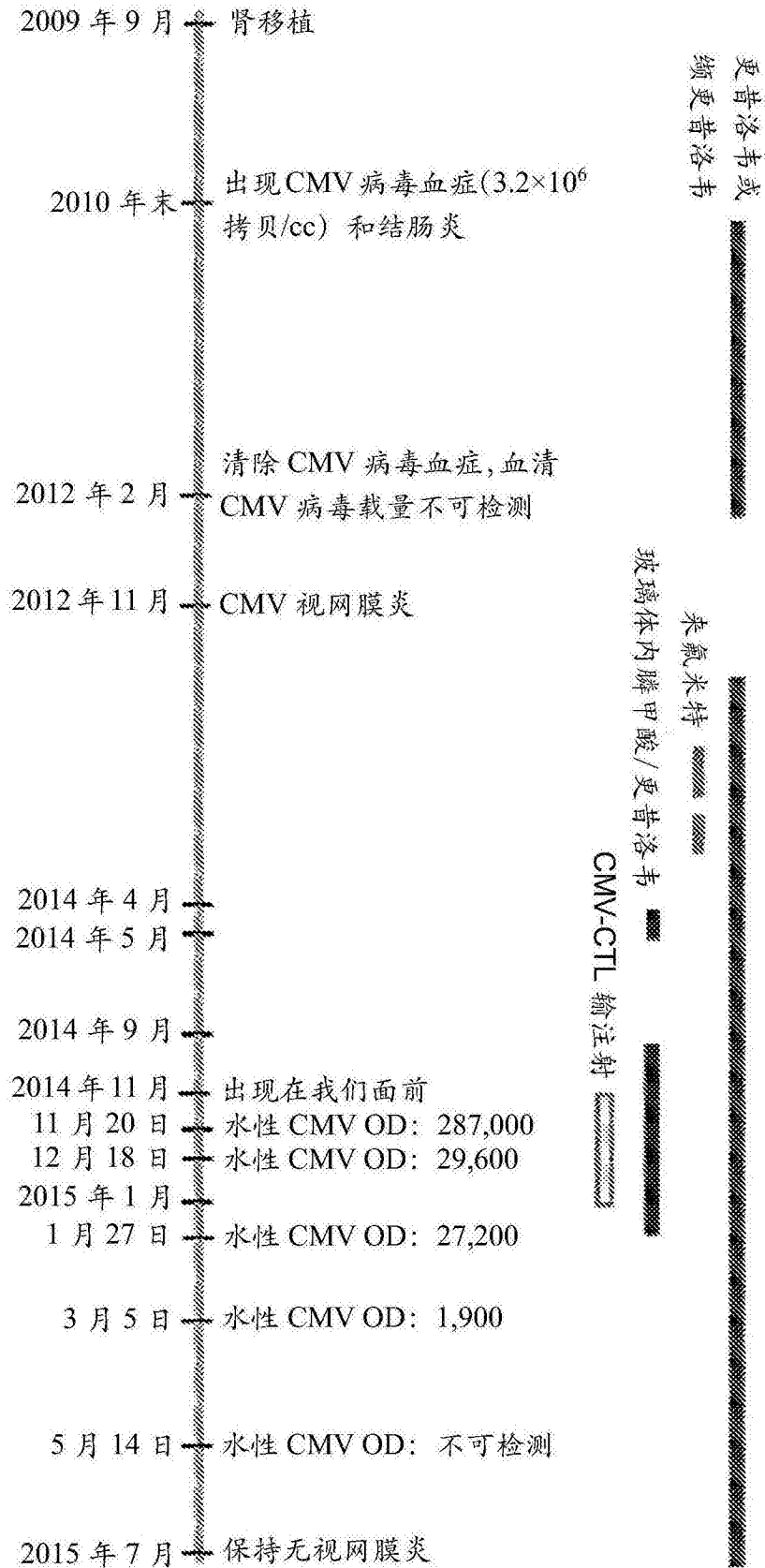


图3

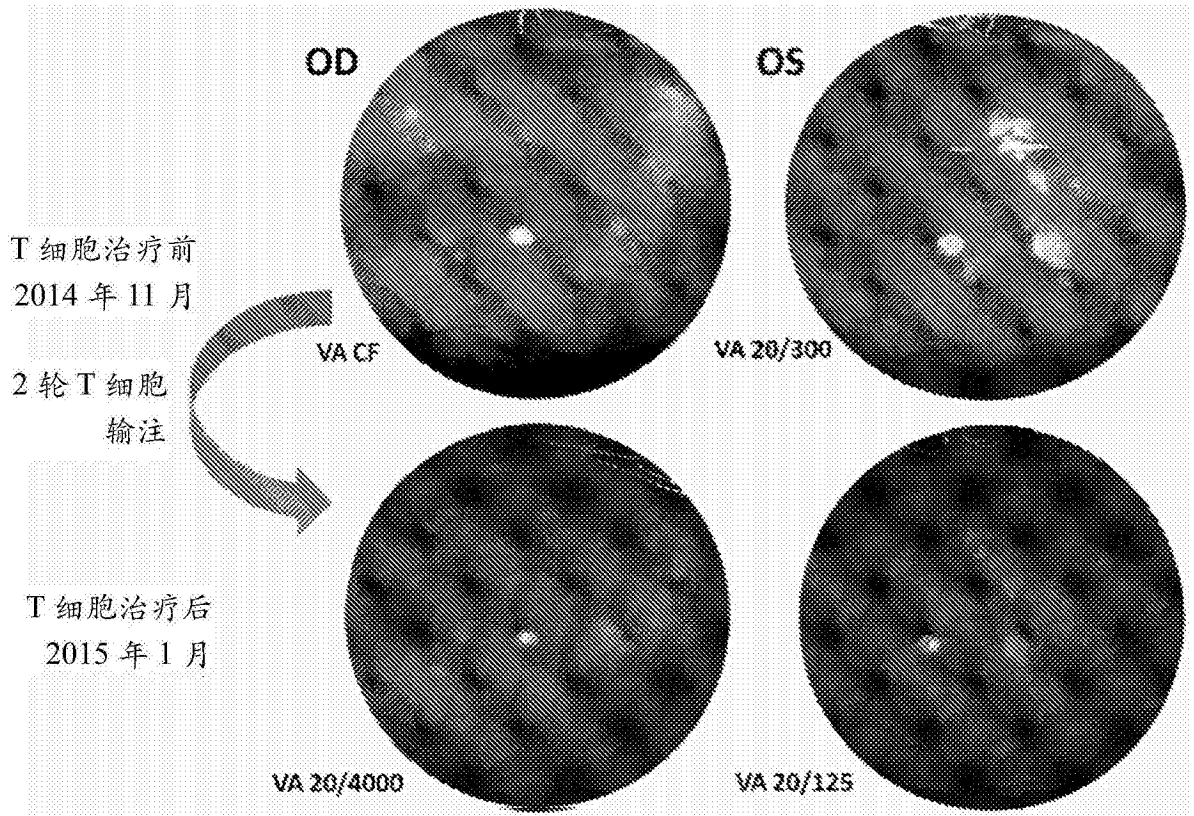


图4

A.

	HLA									
	A		B		C		DR		DQ	
患者	0301	3101	0702	4402	0501	0702	0401	1201	0301	0301
CTL 供体	0201	0101	0702*	0801	0702	0701	0401	0401	0301	0301

\* 针对 HLA B0702 递呈的 CMV 抗原的 CTL 活性

B.

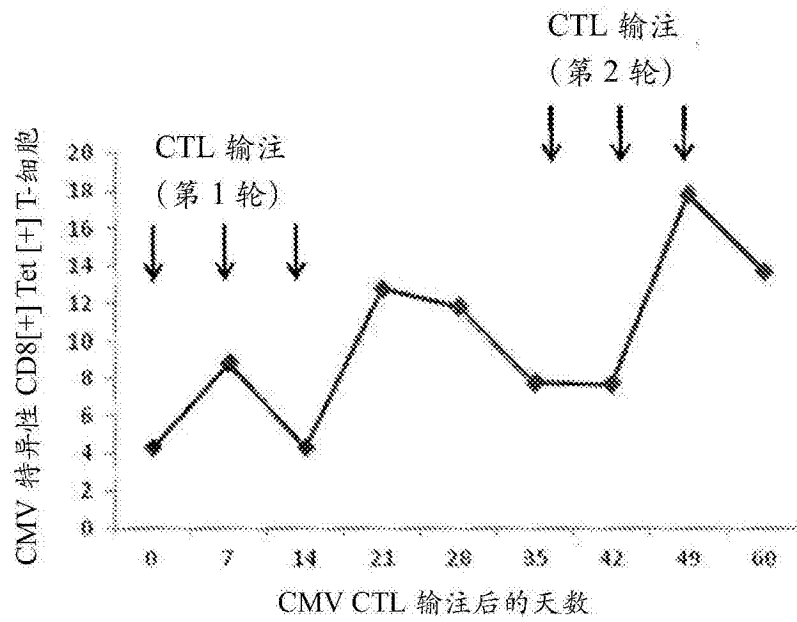


图5