



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I868463 B

(45)公告日：中華民國 114 (2025) 年 01 月 01 日

(21)申請案號：111125144

(22)申請日：中華民國 105 (2016) 年 05 月 30 日

(51)Int. Cl. : A61K31/664 (2006.01)

A61K31/7076(2006.01)

A61K35/17 (2015.01)

A61P35/02 (2006.01)

(30)優先權：2015/05/28 美國

62/167,750

2015/12/02 美國

62/262,143

(71)申請人：美商凱特製藥公司(美國) KITE PHARMA, INC. (US)

美國

美國聯邦健康暨人群服務部(美國) THE UNITED STATES OF AMERICA, AS
REPRESENTED BY THE SECRETARY, DEPARTMENT OF HEALTH AND
HUMAN SERVICES (US)

美國

(72)發明人：巴特 亞卓恩 BOT, ADRIAN (US)；維卓瑞克 傑佛瑞 WIEZOREK, JEFFREY S.
(US)；高 威廉 GO, WILLIAM (US)；簡 拉胡爾 JAIN, RAJUL (US)；葛陳德費
詹姆士 KOCHENDERFER, JAMES N. (US)；羅森柏格 史蒂芬 ROSENBERG,
STEVEN A. (US)

(74)代理人：林志剛

(56)參考文獻：

US 2015/0093822A1

期刊 Lee DW, et al. "T cells expressing CD19 chimeric antigen
receptors for acute lymphoblastic leukaemia in children and young
adults: a phase 1 dose-escalation trial", Lancet , 385, :517-528,
2015.

期刊 Kochenderfer JN, et al. "Chemotherapy-refractory diffuse large
B-cell lymphoma and indolent B-cell malignancies can be
effectively treated with autologous T cells expressing anti-
CD19 chimeric antigen receptor", Journal of Clinical Oncology,
2015 Feb; 33(6): 540-549.

期刊 Jan Joseph Melenhorst, et al. "Cytopenia and leukocyte recovery
shape cytokine fluctuations after myeloablative allogeneic
hematopoietic stem cell transplantation", Haematologica, 97(6):
867-73, 2012 Jun.

審查人員：吳祖漢

申請專利範圍項數：10 項 圖式數：19 共 154 頁

(54)名稱

為T細胞療法而調理患者的方法

(57)摘要

本發明提供在有其需要的患者中增加 T 細胞療法效力之方法。本發明包括在 T 細胞療法前調理患者的方法，其中該調理包含投予環磷醯胺與氟達拉濱(fludarabine)之組合物。

The invention provides methods of increasing the efficacy of a T cell therapy in a patient in need thereof. The invention includes a method of conditioning a patient prior to a T cell therapy, wherein the conditioning involves administering a combination of cyclophosphamide and fludarabine.

【發明摘要】

【中文發明名稱】

為 T 細胞療法而調理患者的方法

【英文發明名稱】

METHODS OF CONDITIONING PATIENTS FOR T CELL THERAPY

【中文】

本發明提供在有其需要的患者中增加 T 細胞療法效力之方法。本發明包括在 T 細胞療法前調理患者的方法，其中該調理包含投予環磷醯胺與氟達拉濱(fludarabine)之組合物。

【英文】

The invention provides methods of increasing the efficacy of a T cell therapy in a patient in need thereof. The invention includes a method of conditioning a patient prior to a T cell therapy, wherein the conditioning involves administering a combination of cyclophosphamide and fludarabine.

【代表圖】

【本案指定代表圖】無

【本代表圖之符號簡單說明】無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：
無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

為 T 細胞療法而調理患者的方法

【英文發明名稱】

METHODS OF CONDITIONING PATIENTS FOR T CELL THERAPY

【技術領域】

[0001] 本發明係關於預先調理需要腫瘤治療(例如 T 細胞療法)之患者的方法。尤其，本發明係關於一種改良 T 細胞療法(包括工程化 CAR T 細胞療法)效力的方法，藉由首先對需要 T 細胞療法之患者投予調理性化療方案，該調理性化療方案包含環磷醯胺與氟達拉濱(fludarabine)。

[政府權利聲明]

[0002] 在執行同美國國家癌症研究院(National Cancer Institute(NCI))，美國衛生與人群服務部(the Department of Health and Human Services)的一個機關，訂立之合作研究發展協議(Cooperative Research and Development Agreement)期間作出了本發明。美國政府擁有本發明中的某些權利。

【先前技術】

[0003] 人類癌症在本質上是由發生基因轉換或非遺

傳性轉換而變成異常癌細胞之正常細胞組成。在這情況下，癌細胞開始表現不同於正常細胞所表現的蛋白質及其他抗原。人體先天免疫系統可將這些異常腫瘤抗原用來特異性靶向與殺死癌細胞。然而，癌細胞使用各種機制來阻止免疫細胞(例如 T 淋巴球與 B 淋巴球)成功靶向癌細胞。

[0004] 人類 T 細胞療法依靠經濃化或經改造的 T 細胞以靶向及殺死患者中癌細胞。已發展出各種技術來濃化能靶向腫瘤抗原之天然 T 細胞或基因改造的 T 細胞濃度以特異性靶向已知癌抗原。已經證明這些療法在腫瘤大小與患者存活期上有適度(儘管大有可為)的效果。然而，已經證明很難預測給定 T 細胞療法在每一個患者中是否有效。

[0005] 環磷醯胺可單獨投予或與其他藥劑(包括卡氮芥(BCNU)與依托泊苷(VP-16))合併投予。就單一藥物療法而論，可藉由靜脈注射(IV)在 40 至 50 mg/kg(1.5 至 1.8 g/m²)下按照 10 至 20 mg/kg/日投予環磷醯胺 2 至 5 日。

[0006] 新近研究已經指出在 T 細胞輸注前用一或多種免疫抑制化療藥預先調理患者可增加經移植之 T 細胞的有效性。Rosenberg et al., *Clin. Cancer. Res.* (2011)。然而，現行方法依靠高劑量毒性且非特異性藥物，該毒性且非特異性藥物導致疼痛及有時會致死之不良事件。所以，仍然需要辨識出用於經改良的 T 細胞療法之有效預先調理方案。

【發明內容】

[0007] 本揭示提供一種調理需要 T 細胞療法之患者的方法，該方法包含對該患者投予劑量在 $200 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至 $2000 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 之間的環磷醯胺及劑量在 $20 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至 $900 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 之間的氟達拉濱。

[0008] 本揭示另外提供一種使需要 T 細胞療法之患者的內源淋巴球減少之方法，該方法包含對該患者投予劑量在 $200 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至 $2000 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 之間的環磷醯胺及劑量在 $20 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至 $900 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 之間的氟達拉濱。

[0009] 本揭示還提供一種使需要 T 細胞療法之患者中的體內恆定性細胞激素之血清量增加的方法，該方法包含對該患者投予劑量在 $200 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至 $2000 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 之間的環磷醯胺及劑量在 $20 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至 $900 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 之間的氟達拉濱。

[0010] 在某些實施方式中，該體內恆定性細胞激素包含介白素 7(IL-7)、介白素 15(IL-15)、介白素 10(IL-10)、介白素 5(IL-5)、 γ 誘導蛋白 10(IP-10)、介白素 8(IL-8)、單核球趨化性蛋白 1(MCP-1)、胎盤生長因子(PLGF)、C-反應蛋白(CRP)、可溶性細胞間黏著分子 1(sICAM-1)、可溶性血管黏著分子 1(sVCAM-1)、或其任何組合。

[0011] 本揭示還提供一種使需要 T 細胞療法之患者中經投予之 T 細胞效應功能(effector function)強化的方法，該方法包含對該患者投予劑量在 $200 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至 $2000 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 之間的環磷醯胺及劑量在 $20 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至

900 mg/m²/日之間的氟達拉濱。

[0012] 本揭示還提供一種使需要 T 細胞療法之患者中抗原呈現細胞活化與/或有效性強化之方法，該方法包含對該患者投予劑量在 200 mg/m²/日至 2000 mg/m²/日之間的環磷醯胺及劑量在 20 mg/m²/日至 900 mg/m²/日之間的氟達拉濱。

[0013] 在某些實施方式中，該 T 細胞療法係選自腫瘤浸潤淋巴球(TIL)免疫療法、自體細胞療法、工程化(engineered)自體細胞療法(eACT)、與同種異體 T 細胞移植法。

[0014] 本揭示還提供一種治療患有淋巴瘤之患者的方法，該方法包含在對該患者投予治療有效量的工程化 CAR T 細胞前，每日對該患者投予約 500 mg/m²/日之環磷醯胺及約 60 mg/m²/日的氟達拉濱投予三日，其中該工程化 CAR T 細胞表現嵌合抗原受體，該嵌合抗原受體結合至 CD19 及另外包含 CD28 共刺激功能域與 CD3 ζ 訊息傳遞區。

[0015] 本揭示還提供一種治療患有淋巴瘤之患者的方法，該方法包含(i)對該患者投予約 200 mg/m²/日的環磷醯胺及約 20 mg/m²/日的氟達拉濱，和(ii)對該患者投予治療有效量的工程化 CAR T 細胞，其中該工程化 CAR T 細胞表現嵌合抗原受體，該嵌合抗原受體結合至 CD19 及另外包含 CD28 共刺激功能域與 CD3 ζ 訊息傳遞區。

[0016] 本揭示還提供一種治療患有淋巴瘤之患者的

方法，該方法包含(i)對該患者投予約 300 mg/m²/日的環磷醯胺及約 30 mg/m²/日的氟達拉濱，和(ii)對該患者投予治療有效量的工程化 CAR T 細胞，其中該工程化 CAR T 細胞表現嵌合抗原受體，該嵌合抗原受體結合至 CD19 及另外包含 CD28 共刺激功能域與 CD3 ζ 訊息傳遞區。

[0017] 本揭示還提供一種治療患有淋巴瘤之患者的方法，該方法包含(i)對該患者投予約 300 mg/m²/日的環磷醯胺及約 60 mg/m²/日的氟達拉濱，和(ii)對該患者投予治療有效量的工程化 CAR T 細胞，其中該工程化 CAR T 細胞表現嵌合抗原受體，該嵌合抗原受體結合至 CD19 及另外包含 CD28 共刺激功能域與 CD3 ζ 訊息傳遞區。

[0018] 本揭示還提供一種治療患有淋巴瘤之患者的方法，該方法包含(i)對該患者投予約 500 mg/m²/日的環磷醯胺及約 60 mg/m²/日的氟達拉濱，和(ii)對該患者投予治療有效量的工程化 CAR T 細胞，其中該工程化 CAR T 細胞表現嵌合抗原受體，該嵌合抗原受體結合至 CD19 及另外包含 CD28 共刺激功能域與 CD3 ζ 訊息傳遞區。

[0019] 本揭示還提供一種治療患有淋巴瘤之患者的方法，該方法包含對該患者投予治療有效量的工程化 CAR T 細胞，其中該患者已經投予約 500 mg/m²/日的環磷醯胺及約 60 mg/m²/日的氟達拉濱所調理，及其中該工程化 CAR T 細胞表現嵌合抗原受體，該嵌合抗原受體結合至 CD19 及另外包含 CD28 共刺激功能域與 CD3 ζ 訊息傳遞區。

[0020] 本揭示還提供一種套組，其包含(i)環磷醯胺、(ii)氟達拉濱、與(iii)在療法前，每日對需要工程化 CAR T 細胞療法的患者投予劑量在 $200 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至 $2000 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 之間的環磷醯胺及劑量在 $20 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至 $900 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 之間的氟達拉濱投予三日的指示說明書。

【圖式簡單說明】

[0021] 圖 1，經 CAR 工程化之 T 細胞示意圖，顯示一種示範性經 CAR 工程化之 T 細胞及其構建的示意圖。在此示範性工程化 CAR T 細胞中，該靶結合功能域包含抗體衍生 scFv 功能域，該共刺激功能域是從 CD28 衍生，及該必需活化功能域是從 CD3 ζ (zeta) 衍生。病毒載體可攜帶 CAR 載體構築體然後合併到 T 細胞基因組中。然後該 CAR 構築體可被 T 細胞表現為跨膜蛋白。

[0022] 圖 2A，對在 B 細胞惡性腫瘤中抗 CD19 CAR+T 細胞的最佳反應，與圖 2B，對在 B 細胞惡性腫瘤中抗 CD19 CAR+T 細胞的患者反應，顯示在用抗 CD-19 CAR+T 細胞治療後的患者疾病反應。患有 B 細胞惡性腫瘤之患者的最佳反應請參見圖 2A，以疾病症狀中的變化百分比表示。虛線條指示完全反應(CR)。陰影條指示部分反應。白色條指示穩定疾病(SD)。黑色條指示進行性疾病(PD)。圖 2B 顯示在 CAR+T 細胞輸注後數月之患者疾病反應。實心黑色條指示部分反應(PR)，與灰色條指示完全反應(CR)。在標記「PD」之條中的斷裂處指示患者經歷進

行性疾病。倒三角表示 T 細胞輸注時間。實心圓指示 B 細胞恢復時間。白色圓指示 CAR+T 細胞從患者血液中廓清之時間。水平箭頭指示患者之反應是持續的。

[0023] 圖 3 提供 1 期臨床試驗之樣品示範圖，其係關於確定用 500 mg/m²/日環磷醯胺、30 mg/m²/日氟達拉濱、與 2×10⁶ 個抗-CD19 CAR+T 細胞/kg 治療患者的安全性、效力、與劑量限制性毒性。

[0024] 圖 4A 至圖 4H，在調理前與後選定細胞激素之血清量，顯示在用 300 mg/m²/日環磷醯胺及 30 mg/m²/日氟達拉濱調理前與後選定細胞激素被分析物之血清量。顯示下列在投予 300 mg/m² 環磷醯胺及 30 mg/m² 氟達拉濱前與後的血清量：介白素 15(IL-15；圖 4A)、單核球趨化性蛋白 1(MCP-1；圖 4B)、 γ 誘導蛋白 10(IP-10；圖 4C)、胎盤生長因子(PLGF；圖 4D)、可溶性細胞間黏著分子 1(sICAM-1；圖 4E)、C-反應蛋白(CRP；圖 4F)、血管內皮生長因子 D(VEGF-D；圖 4G)、與巨噬細胞發炎蛋白 1 β (MIP-1 β ；圖 4H)。投予前血清是在投予 T 細胞療法前的第-12 至-5 日之間採集，及投予後血清是在第 0 日採集(圖 4A 至圖 4H)。

[0025] 圖 5A 至圖 5H，在調理前與後選定細胞激素之血清量，顯示在用 300 mg/m²/日環磷醯胺與 30 mg/m²/日氟達拉濱調理後，在對後續 T 細胞療法有反應或沒有反應的患者中的選定細胞激素被分析物之血清量的倍數變化。顯示有反應者及無反應者的 IL-15(圖 5A)、MCP-1(圖

5B)、IP-10(圖 5C)、PLGF(圖 5D)、sICAM-1(圖 5E)、CRP(圖 5F)、VEGF(圖 5G)、與 MIP-1b(圖 5H)之血清量的倍數變化。水平線指示平均值(圖 5A 至圖 5H)。圖 5A 顯示個別患者 IL-15 變化, 及在各數據點旁邊把各患者之疾病反應性標示為部分反應(PR)、完全反應(CR)、穩定疾病(SD)、或進行性疾病(PD)。

[0026] 圖 6A 至圖 6V, 選定細胞激素之患者血清量分析, 顯示對在第 0 日接受 T 細胞療法前被投予 $300 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 環磷醯胺與 $30 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 氟達拉濱之患者在第-10 日至第 18 日不同時間點測得之選定細胞激素被分析物之血清濃度。顯示顆粒球巨噬細胞集落刺激因子(GM-CSF; 圖 6A)、IL-2(圖 6B)、MCP-1(圖 6C)、IL-6(圖 6D)、IL-10(圖 6E)、MCP-4(圖 6F)、CRP(圖 6G)、干擾素 γ (IFN γ ; 圖 6H)、顆粒酶 A(圖 6I)、IL-15(圖 6J)、IL-5(圖 6K)、顆粒酶 B(圖 6L)、IL-8(圖 6M)、IP-10(圖 6N)、MIP-1b(圖 6O)、PLGF(圖 6P)、IL-16(圖 6Q)、胸腺及活化調節趨化因子(TARC; 圖 6R)、伊紅趨素-3(圖 6S)、sICAM-1(圖 6T)、可溶性血管黏著分子 1(sVCAM-1; 圖 6U)、與(SAA; 圖 6V)的血清濃度。

[0027] 圖 7A 至圖 7I, 在用 $300 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 環磷醯胺與 $30 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 氟達拉濱調理前與後選定細胞激素之血清量, 顯示在投予 $300 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 環磷醯胺與 $30 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 氟達拉濱前與後測得之選定細胞激素被分析物的血清濃度。

投予後血清是在正要 T 細胞輸注前採集。顯示 IL-15(圖 7A)、IL-7(圖 7B)、PLGF(圖 7C)、CRP(圖 7D)、IL-5(圖 7E)、IL-10(圖 7F)、MCP-1(圖 7G)、IP-10(圖 7H)、與 sICAM-1(圖 7I)之血清濃度。每個數據點代表一個患者。水平條顯示平均值(圖 7A 至圖 7I)。將威爾科克森配對組符號等級檢定(Wilcoxon matched-pairs signed rank test)的 P 值應用於在調理前與後被測量之被分析物，及顯示對應的 P 值(圖 7A 至圖 7I)。某些 IL-7 值大於定量的上限(ULOQ；圖 7B)。

[0028] 圖 8A 至圖 8L，利用經 K562 細胞刺激的抗-CD19 CAR+T 細胞之細胞激素體外產生，顯示相較於經 K562 細胞刺激之後的負控制組(K562-NGFR)，CD19 CAR+T 細胞產生的各種細胞激素被分析物(K562-CD19)之體外產生。顯示用於控制組與抗 CD19 CAR+T 細胞，GM-CSF(圖 8A)、IL-2(圖 8B)、IFN γ (圖 8C)、IL-5(圖 8D)、IL-4(圖 8E)、IL-13(圖 8F)、腫瘤壞死因子 α (TNF α ；圖 8G)、IL-6(圖 8H)、顆粒酶 B(圖 8I)、MIP-1 β (圖 8J)、MIP-1 α (圖 8K)、與可溶性 CD137(圖 8L)濃度。據此來標記 T1、T2、與免疫體內恆定性細胞激素(圖 8A 至圖 8F)及促發炎細胞激素與趨化因子(圖 8G 至圖 8L)。將產品 T 細胞與 K562-CD19 或控制組 K562-NGFR 細胞共培養及測量在培養基中的所列舉之被分析物濃度來採集輸注前的數據(圖 8A 至圖 8L)。

[0029] 圖 9A 至圖 9C，在與靶抗原結合後由抗 CD19

CAR+T 細胞誘發活化標記，顯示與負控制組(K562-NGFR)相比，在與靶抗原結合後表現各種細胞激素之抗 CD19 CAR+T 細胞(K562-CD19)百分比。顯示表現 CD107 α (圖 9A)、4-1BB(圖 9B)、與程序性死亡 1(PD-1；圖 9C)的細胞百分比。將產品 T 細胞與 K562-CD19 或控制組 K562-NGFR 細胞共培養及測量在培養基中的選定活化標記濃度來採集輸注前的數據(圖 9A 至圖 9C)。所顯示之 P 值指示將 K562-CD19 試驗細胞與 K562-NGFR 負控制組細胞相比較的成對 T 檢定結果(圖 9A 至圖 9C)。

[0030] 圖 10，產品 T 細胞的亞群組成，說明從製造時間(日數)來看的產品 T 細胞與末梢血液淋巴球(PBL)之各種特性。該數據包括在產品對 PBL 中被檢測到的抗 CD19 CAR+T 細胞百分比；在產品對 PBL 中之 CD8 對 CD4 比值；在抗 CD19 CAR+ CD8+T 細胞族群中初始中央記憶型 T 細胞(T_{cm})、效應記憶型 T 細胞(T_{em})、與效應 T 細胞(T_{eff})的相對出現率；及在抗 CD19 CAR+ CD4+T 細胞族群中初始中央記憶型 T 細胞(T_{cm})、效應記憶型 T 細胞(T_{em})、與效應 T 細胞(T_{eff})之相對出現率(圖 10)。在抗 CD19 CAR+T 細胞上進行輸注前產品 T 細胞及血液中增殖高峰期間的 PBL 之表現型分析(圖 10)。p 值代表在製造時間與 T 細胞亞群組成之間的關聯之等級檢定結果。

[0031] 圖 11A 至圖 11G 顯示在根據本發明調理 NHL 患者後觀察到之細胞激素、趨化因子與其他標記的表現概況。顯示 IL-15(圖 11A)、CRP(C-反應蛋白；圖 11B)、IL-

16(圖 11C)、IL-7(圖 11D)、PLGF(胎盤生長因子；圖 11E)、穿孔素(圖 11F)、及 MCP-1(單核球化學吸引因子(chemoattractant)蛋白-I；圖 11G)的表現。

[0032] 圖 12 描述在用根據本發明的環磷醯胺與氟達拉濱調理後在細胞激素、趨化因子與其他標記中觀察到之變化的量化。

[0033] 圖 13A 至圖 13B 顯示在與客觀反應有關聯的調理性化療後循環 IL-15 與穿孔素之變化倍數。p 值不作倍數調整。在 CAR T 細胞輸注前所測得之標記上執行分析。

[0034] 圖 14 描述細胞激素、趨化因子與效應分子之生物標記分析。將標記用威爾科克森符號等級檢定在各類生物標記內按照從低至高的 p 值來排序。呈現在大多數患者中經修飾且 p 值 <0.05 的標記。在所測得之 41 個標記中只有 7 個在大多數患者中顯出變化且與 p 值 <0.05 相關。在 CAR T 細胞輸注前在所測得之標記上執行分析。

[0035] 圖 15A 至圖 15H 描述免疫體內恆定性、發炎與調節性細胞激素、趨化因子與免疫效應分子之逐次誘發及廓清。顯示出代表性標記。在所測得之 41 個標記中總共有 22 個顯示在至少 50%患者中在 CAR T 細胞治療後比基線值提高至少 2 倍，該 22 個標記是 IL-15、IL-7、IL-2、顆粒酶 B、顆粒酶 A、CRP、IL-6、GM-CSF、IL-5、IFN γ 、IL-10、MCP-1、MCP-4、IP-10、IL-8、TARC、MIP1a、MIP1b、PLGF、VEGF-D、sICAM-1 與 FGF-2。對

免疫體內恆定性細胞激素與趨化因子而言，在第 3 至 4 日觀察到高峰。

[0036] 圖 16A 至圖 16H 描述免疫體內恆定性、發炎與調節性細胞激素、趨化因子與免疫效應分子之逐次誘發及廓清。顯示出代表性標記。在所測得之 41 個標記中總共有 22 個顯示在至少 50% 患者中在 CAR T 細胞治療後比基線值提高至少 2 倍，該 22 個標記是 IL-15、IL-7、IL-2、顆粒酶 B、顆粒酶 A、CRP、IL-6、GM-CSF、IL-5、IFN γ 、IL-10、MCP-1、MCP-4、IP-10、IL-8、TARC、MIP1a、MIP1b、PLGF、VEGF-D、sICAM-1 與 FGF-2。對免疫調節性細胞激素與趨化因子而言，在第 5 至 7 日觀察到高峰。「ULOQ」：定量的上限。

[0037] 圖 17 顯示由根據本發明之抗 CD19 CAR T 細胞誘發的治療相關生物標記與臨床反應之變化。在 CAR T 細胞治療後之標記量對基線值(預先調理)的最大倍數變化。每一條線代表一個個體。使用威爾科克森秩和檢定(Wilcoxon rank-sum test)對經評估之所有 41 個標記比較有反應者組對無反應者組的最大倍數變化值。p 值不經倍數調整，及只顯示 $p < 0.10$ 的生物標記：用於 IL-7 與 sICAM-1 的 p 值 < 0.05 。這關聯也適用於在 IL-7($p = 0.0165$)、IL-15($p = 0.0314$)與 IL-15($p = 0.041$)之絕對量中的變化。

[0038] 圖 18A 至 18G，低劑量調理使細胞激素、趨化因子、促發炎標記提高及調節穿孔素量*，顯示在用環磷醯胺與氟達拉濱調理前與後之被分析物中量的變化。圖

18A 至圖 18F 顯示下列之前量與後量：IL-15(圖 18A)、IP-10(圖 18B)、CRP(圖 18C)、IL-7(圖 18D)、MCP-1(圖 18E)、與穿孔素(圖 18F)。圖 18G 總結了在各種被分析物之血清量中的變化及對應的 p 值。

[0039] 圖 19A 至圖 19D，IL-15、IP-10 與穿孔素之調理相關的調節，顯示對 IL-15(圖 19A)、IP-10(圖 19B)、與穿孔素(圖 19C)而言，在調理後之被分析物量中的變化及對 CAR T 細胞療法的客觀反應之間的關聯。圖 19D 總結了在圖 19A 至圖 19C 每一者中所提供的數據之統計顯著性。

【實施方式】

[0040] 本發明係關於調理需要 T 細胞療法(例如工程化 CAR T 細胞療法，其例如自體細胞療法(eACT™))之患者的方法，該方法包含在投予 T 細胞療法前投予環磷醯胺與氟達拉濱。在 T 細胞療法前用這些劑量之環磷醯胺與氟達拉濱預先調理患者使內源淋巴球數量減少及使存在於患者中的體內恆定性細胞激素與/或促免疫因子之血清量增加，以改良 T 細胞療法效力。一旦對患者投予，這預先調理便為經移植的 T 細胞之增生創造更合宜的微環境。以此處所述之劑量預先調理出人意外地使內源淋巴球數量減少，同時使和環磷醯胺與氟達拉濱治療有關聯的毒性減到最少。本發明係關於使在 T 細胞療法前用於預先調理之環磷醯胺與氟達拉濱劑量減少。投予特異劑量之環磷醯胺與

氟達拉濱誘發對經移植的 T 細胞最合宜之細胞激素有效性，同時提供對接受 T 細胞療法的患者而言較低的總體毒性。

定義

[0041] 為了可以更容易理解本發明，首先對某些術語加以定義。除了此處另外特意提供外，在本申請案中所用的下列術語中每一者應該具有下述意義。額外之定義在本申請案中被明示。

[0042] 本發明所用之術語「與/或」被理解為在有或無另一者情況下，二種具體指定的特徵或成分中每一者的特異揭示。所以，在此處之詞組例如「A 與/或 B」中所用的術語「與/或」旨在包括「A 與 B」、「A 或 B」、「A」(單獨)、與「B」(單獨)。同樣，在詞組例如「A、B、與/或 C」中所用的術語「與/或」旨在包含下列態樣中每一者：A、B、與 C；A、B、或 C；A 或 C；A 或 B；B 或 C；A 與 C；A 與 B；B 與 C；A(單獨)；B(單獨)；與 C(單獨)。

[0043] 請理解，在態樣是用術語「包含」來描述之情況下，另提供其他用術語「是由~組成」與/或「實質上是由~組成」描述的類似態樣。

[0044] 除非另外定義，否則此處所用之一切技術術語與科學術語具有與本揭示有關的技術領域中具有一般技術者所一般理解之相同的意義。例如，the Concise

Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press ; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3rd ed., 1999, Academic Press ; 與 the Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Press 為習知技藝者提供許多本發明所用之術語的通用詞典。

[0045] 單位、字首、與符號以其之 *Système International de Unites (SI)* 接受的形式表示。數值範圍包括限定該範圍之數字在內。此處提供的標題不是可藉由參考整個說明書而得知的本發明各種態樣的局限。所以，下列所定義之術語藉由參考整個說明書被更完整地定義。

[0046] 術語「活化」乃指免疫細胞(例如 T 細胞)之狀態，該免疫細胞被充分刺激以誘發可檢測的細胞增生。活化也可以和被誘發之細胞激素產生與可檢測的效應功能有關聯。此外，術語「經活化的 T 細胞」還指發生細胞分裂之 T 細胞。

[0047] 「投予」乃指使用該領域之習知技藝者熟知的各種方法及遞輸系統中任一者將藥劑物理性導入個體。用於此處所揭示之調合物的示範性給藥途徑包括靜脈內、肌內、皮下、腹膜內、脊柱內、或其他非腸道給藥途徑(例如，利用注射或輸注)。此處所用之詞組「非腸道投予」意指腸內與局部投予以外的給藥模式(通常利用注射)，及包括但不限於：靜脈內、肌內、動脈內、腦脊髓膜內、淋巴管內、病灶內、囊內、眶內、心內、皮內、腹

膜內、經氣管、皮下、表皮下、關節內、囊下、蜘蛛膜下、脊椎內、硬膜外與胸骨內注射及輸注，及體內電穿孔法。在某些實施方式中，利用經腸道途徑(例如口服)投予調合物。其他經腸道途徑包括局部、表皮、或黏膜給藥途徑，例如鼻內、陰道、直腸、舌下、或局部投予。還可以，例如，一次、複數次、與/或長時間投予。

[0048] 此處所用之「不良事件」(AE)係和該醫療的使用有關聯之任何不利的且通常為非計畫或不良之徵象(包括異常實驗結果)、症狀、醫學上的出現率、或疾病。不良事件之定義包括已存在的醫療狀況惡化。惡化指示已存在的醫療狀況之嚴重程度、頻率、與/或持續時間增加，或和更惡化的結果有關聯。

[0049] 術語「抗體」(Ab)包括但不限於特異性結合至抗原之糖蛋白免疫球蛋白。通常，抗體可包含通過二硫鍵互連的至少二個重(H)鏈及二個輕(L)鏈，或其抗原結合部分。每一 H 鏈包含一個重鏈可變區(此處縮寫成 VH)及一個重鏈恆定區。該重鏈恆定區包含三個恆定域 CH1、CH2 與 CH3。每一輕鏈包含一個輕鏈可變區(此處縮寫成 VL)及一個輕鏈恆定區。該輕鏈恆定區包含一個恆定域 CL。VH 區與 VL 區可進一步分成高度可變區(稱為互補決定區(CDR))與保留區(稱為框架區(FR))。每一 VH 與 VL 包含三個 CDR 及四個 FR，按照下列順序從胺基端排到羧基端：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重鏈可變區與輕鏈可變區含有和抗原交互作用的結合功能

域。Ab 之恆定區可媒介免疫球蛋白結合至宿主組織或因子，其包括各種免疫系統之細胞(例如效應細胞)與典型補體系統的第一成分(C1q)。

[0050] 免疫球蛋白可從眾所皆知的同型得到，該同型包括但不限於 IgA、分泌性 IgA、IgG、與 IgM。IgG 亞類也是該技術領域中熟知的且包括但不限於人 IgG1、IgG2、IgG3、與 IgG4。「同型」乃指重鏈恆定區基因編碼的 Ab 類或亞類(例如 IgM 或 IgG1)。術語「抗體」包括，例如，天然 Ab 與非天然 Ab；單株 Ab 與多株 Ab；嵌合 Ab 與擬人化 Ab；人 Ab 或非人 Ab；全合成 Ab；和單鏈 Ab。可利用重組方法將非人 Ab 擬人化以減少其在人體內的免疫原性。在不明確說明時，除非另行指出，否則術語「抗體」還包括上述免疫球蛋白中任一者的抗原結合片段或抗原結合部分，及包括單價與雙價片段或部分，和單鏈 Ab。

[0051] 「抗原結合分子」或「抗體片段」乃指少於全部的抗體之任何部分。抗原結合分子可包括抗原性互補決定區(CDR)。抗體片段實例包括但不限於 Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv 片段、dAb、線性抗體、scFv 抗體、與由抗原結合分子形成的多特異性抗體。

[0052] 「抗原」乃指任何可誘發免疫反應或能被抗體結合的分子。免疫反應可包含抗體產生或特異免疫機能健全之細胞活化，或二者。該領域之習知技藝者會輕易地理解到任何巨分子(包括差不多所有的蛋白質或肽)可具有

抗原的作用。抗原可被內源表現(即被基因體 DNA 表現)，或可被重組表現。抗原可對某些組織(例如癌細胞)具特異性，或可被廣泛地表現。此外，較大分子之片段可具有抗原的作用。在一個實施方式中，抗原是腫瘤抗原。

[0053] 術語「自體的」乃指由一個體衍生之任何物質，該物質後來又被導入同一個體。例如，此處所述之工程化自體細胞療法(eACT™)包含從患者採集淋巴球，然後將該淋巴球工程化以表現(例如)CAR 構築體，及然後投予回同一患者。

[0054] 術語「同種異體的」乃指由一個體衍生之任何物質，該物質後來被導入同種的另一個體，例如同種異體 T 細胞移植法。

[0055] 「癌」乃指許多特徵為身體中異常細胞失控生長之各種疾病。失控的細胞分裂與生長導致侵襲鄰近組織及還可以透過淋巴系統或血流轉移到身體之遠距部分的惡性腫瘤形成。「癌」或「癌組織」可包括腫瘤。可利用本發明之方法治療的癌實例包括但不限於免疫系統癌症，其包括淋巴瘤、白血病、與其他白血球惡性腫瘤。在某些實施方式中，可利用本發明之方法使由下列衍生的腫瘤大小減少：例如骨癌、胰腺癌、皮膚癌、頭或頸癌、皮膚或眼球內惡性黑色素瘤、子宮癌、卵巢癌、直腸癌、肛門部癌、胃癌、睪丸癌、子宮癌、輸卵管癌、子宮內膜癌、子宮頸癌、陰道癌、陰門癌、何杰金(Hodgkin)氏病、非何杰金氏淋巴瘤(NHL)、原發性縱膈腔大 B 細胞淋巴瘤

(PMBC)、瀰漫性大型 B 細胞淋巴瘤(DLBCL)、濾泡性淋巴瘤(FL)、轉化濾泡性淋巴瘤、脾邊緣區淋巴瘤(SMZL)、食道癌、小腸癌、內分泌系統癌、甲狀腺癌、副甲狀腺癌、腎上腺癌、軟組織肉瘤、尿道癌、陰莖癌、慢性或急性白血病、急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病、急性淋巴母細胞白血病(ALL)(包括非 T 細胞 ALL)、慢性淋巴球性白血病(CLL)、兒童實性瘤、淋巴球性淋巴瘤、膀胱癌、腎或輸尿管癌、腎盂癌、中樞神經系統(CNS)癌瘤、原發性 CNS 淋巴瘤、腫瘤血管生成、脊髓軸瘤、腦幹膠質瘤、垂體腺瘤、卡波西氏(Karposi's)肉瘤、表皮樣癌、鱗狀細胞癌、T 細胞淋巴瘤、環境誘發性癌(包括石棉誘發性癌)、其他 B 細胞惡性腫瘤、及以上癌之組合。特定癌症可對化療或放射治療有反應，或該癌症可為難治性癌症。難治性癌症乃指不可進行手術改善之癌症及一開始對化療或放射治療無反應的癌症，或該癌症隨時間而變得沒有反應。

[0056] 此處所用之「抗腫瘤效應」乃指可以下列形式存在的生物效應：腫瘤體積減少、腫瘤細胞數量減少、腫瘤細胞增生減少、轉移數量減少、總存活期或無進行性疾病存活期增加、預期壽命增加、或和腫瘤有關聯的各種身體症狀改善。抗腫瘤效應還可指預防腫瘤出現(例如疫苗)。

[0057] 此處所用之「無進行性疾病存活期」(可縮寫成 PFS)乃指從治療日到進行性疾病日(根據 the revised

IWG Response Criteria for Malignant Lymphoma)或任何原因的死亡日之時間。

[0058] 藉由測量在放射線照片上之惡性病灶或其他方法來評估「進行性疾病」，其不應被報告為不良事件。在沒有徵象與症狀情況下因進行性疾病造成的死亡應被報告為原發腫瘤型(例如 DLBCL)。

[0059] 此處所用之「治療反應時間」(可縮寫成 DOR)乃指從個體的第一客觀反應到經確定之進行性疾病(根據 the revised IWG Response Criteria for Malignant Lymphoma)日或死亡日的時間。

[0060] 此處所用之術語「總存活期」(可縮寫成 OS)是指從治療日到死亡日之時間。

[0061] 此處所用之「細胞激素」乃指一個細胞對接觸特異性抗原作出反應所釋放的非抗體蛋白，其中該細胞激素與第二個細胞交互作用以媒介在該第二個細胞中的反應。細胞激素可被細胞內源性表現及可對個體投予。細胞激素可被免疫細胞(包括巨噬細胞、B細胞、T細胞、與肥胖細胞)釋放以擴展免疫反應。細胞激素可誘發在受贈細胞中的各種反應。細胞激素可包括體內恆定性細胞激素、趨化因子、促發炎細胞激素、效應子、與急性期蛋白。例如，體內恆定性細胞激素(包括介白素(IL)7 與 IL-15)促進免疫細胞存活與增生，及促發炎細胞激素可促進發炎反應。體內恆定性細胞激素實例包括但不限於：IL-2、IL-4、IL-5、IL-7、IL-10、IL-12p40、IL-12p70、IL-15、與

干擾素 (IFN) γ 。促發炎細胞激素實例包括但不限於：IL-1a、IL-1b、IL-6、IL-13、IL-17a、腫瘤壞死因子 (TNF)- α 、TNF- β 、纖維母細胞生長因子 (FGF)2、顆粒球巨噬細胞集落刺激因子 (GM-CSF)、可溶性細胞間黏著分子 1 (sICAM-1)、可溶性血管黏著分子 1 (sVCAM-1)、血管內皮生長因子 (VEGF)、VEGF-C、VEGF-D、與胎盤生長因子 (PLGF)。效應子實例包括但不限於顆粒酶 A、顆粒酶 B、可溶性 Fas 配體 (sFasL)、與穿孔素。急性期蛋白實例包括但不限於 C-反應蛋白 (CRP) 與血清澱粉樣蛋白 A (serum amyloid A (SAA))。

[0062] 「趨化因子」是細胞激素的一型，其媒介細胞趨化性或定向運動。趨化因子實例包括但不限於：IL-8、IL-16、伊紅趨素、伊紅趨素 3、巨噬細胞衍生趨化因子 (MDC 或 CCL22)、單核球趨化性蛋白 1 (MCP-1 或 CCL2)、MCP-4、巨噬細胞發炎蛋白 1 α (MIP-1 α ，MIP-1a)、MIP-1 β (MIP-1b)、 γ 誘導蛋白 10 (IP-10)、與胸腺及活化調節趨化因子 (TARC 或 CCL17)。

[0063] 本發明之被分析物與細胞激素的其他實例包括但不限於：趨化因子 (C-C 模體) 配體 (CCL)1、CCL5、單核球特異性趨化因子 3 (MCP-3 或 CCL7)、單核球化學吸引因子蛋白 2 (MCP-2 或 CCL8)、CCL13、IL-1、IL-3、IL-9、IL-11、IL-12、IL-14、IL-17、IL-20、IL-21、顆粒球集落刺激因子 (G-CSF)、白血病抑制因子 (LIF)、制瘤素

M(OSM)、CD154、淋巴毒素(LT) β 、4-1BB 配體(4-1BBL)、增生誘發配體(APRIL)、CD70、CD153、CD178、糖皮質素誘發性 TNFR 相關配體(GITRL)、腫瘤壞死因子超家族成員 14(TNFSF14)、OX40L、TNF-與 ApoL-相關白血球表現性配體 1(TALL-1)、或 TNF 相關細胞凋亡誘發配體(TRAIL)。

[0064] 此處將術語「血清量」與「血清濃度」替換使用且乃指在個體血清中的被分析物量。使用該領域內已知的任何方法可測量給定被分析物之血清量。例如，使用酵素免疫吸附法(ELISA)可測量細胞激素之血清量。在一個特定實施方式中，使用 EMDmillipore LUMINEX® xMAP®多重測定法可測量細胞激素之血清量。

[0065] 此處所用之「給藥間距」意指對個體投予多重劑量的此處所揭示之調合物中間所經過的時間。所以，給藥間距可被指示為範圍。

[0066] 此處所述之劑量可以「以重量為基礎計的劑量」或「以體表面積(BSA)為基礎計的劑量」表示。以重量為基礎計的劑量是以患者體重為基礎計所計算出之對患者投予的劑量，例如 mg/kg。以 BSA 為基礎計的劑量是以患者之表面積為基礎計所計算出之對患者投予的劑量，例如 mg/m^2 。對人類給藥而言，把以重量為基礎計的劑量乘 37 或把以 BSA 為基礎計的劑量除以 37 可將這二種劑量量測形式轉換。例如，對人類個體投予 60 mg/kg 之劑量相當於對同一個體投予 $2220 \text{ mg}/\text{m}^2$ 之劑量的同一藥物。

[0067] 此處所用之術語「給藥次數」乃指在給定時間內投予此處所揭示之調合物劑量的頻率。給藥次數可被指示為每給定時間內劑量數。例如，可以按照下列來投予環磷醯胺：連續 5 日每日投予一次劑量、連續 4 日每日投予一次劑量、連續 3 日每日投予一次劑量、連續 2 日每日投予一次劑量、或 1 日投予一次劑量。在某些實施方式中，按照連續 3 日每日投予一次劑量或連續 2 日每日投予一次劑量來投予環磷醯胺。可以按照下列來投予氟達拉濱：連續 8 日每日投予一次劑量、連續 7 日每日投予一次劑量、連續 6 日每日投予一次劑量、連續 5 日每日投予一次劑量、連續 4 日每日投予一次劑量、連續 3 日每日投予一次劑量、連續 2 日每日投予一次劑量、或 1 日投予一次劑量。在其他實施方式中，按照連續 5 日每日投予一次劑量或連續 3 日每日投予一次劑量來投予氟達拉濱。

[0068] 藥物或治療劑的「治療有效量」、「治療劑量」、「有效量」、或「治療有效劑量」是當單獨使用與另一種治療劑併用時保護個體免於發病或促進疾病消退(證據是疾病症狀嚴重程度減少、疾病無症狀期之頻率與持續時間增加)、或預防由疾病痛苦造成的病弱或失能之任何量。藉由將熟練醫師熟悉的各種方法用於，例如，在臨床試驗期間之人類個體，預示出在人類中的效力之動物模型系統，或藉由分析在體外測定中的藥劑之活性可評估治療劑促進疾病消退的能力。

[0069] 此處所用之術語「淋巴球」包括自然殺手

(NK)細胞、T 細胞、或 B 細胞。NK 細胞是細胞毒性(胞毒性)淋巴球的一型，其代表先天免疫系統的一種主要成分。NK 細胞排斥腫瘤與受病毒感染之細胞。NK 細胞透過細胞凋亡或程式性細胞死亡方法來運作。NK 細胞被稱為「自然殺手」是因為其不需要活化就能殺死細胞。T 細胞在細胞媒介免疫(不涉及抗體)中起著主要作用。T 細胞的 T 細胞受體(TCR)使得 T 細胞與其他淋巴球型不同。胸腺，一種免疫系統之特化器官，是 T 細胞成熟的主要因素。T 細胞有下列六個型：輔助 T 細胞(例如 CD4+細胞)、細胞毒性 T 細胞(也稱為 TC、細胞毒性 T 淋巴球、CTL、T-殺手細胞、溶細胞性 T 細胞、CD8+T 細胞、或殺手 T 細胞)、記憶 T 細胞((i)幹記憶 T_{SCM} 細胞(類似初始細胞)是 CD45RO-、CCR7+、CD45RA+、CD62L+(L-選擇素)、CD27+、CD28+、與 IL-7R α +，但是也表現大量的 CD95、IL-2R β 、CXCR3、與 LFA-1，及顯出很多有記憶細胞特色的功能屬性)；(ii)中央記憶 T_{CM} 細胞表現 L-選擇素和 CCR7，其分泌 IL-2，但不產生 IFN γ 或 IL-4；與(iii)效應記憶 T_{EM} 細胞不表現 L-選擇素或 CCR7，但產生像 IFN γ 與 IL-4 的效應細胞激素)、調節 T 細胞(Treg、抑制 T 細胞、或 CD4+CD25+調節 T 細胞)、自然殺手 T 細胞(NKT)及 $\gamma \delta$ T 細胞。另一方面，B 細胞在體液免疫(涉及抗體)中起著主要作用。B 細胞產生抗體與抗原及具有抗原呈現細胞(APC)作用和在被抗原交互作用活化後轉變成記憶 B 細胞。對哺乳動物而言，在骨髓中形成未成熟 B

細胞，這是其名稱的由來。

[0070] 術語「基因工程化的」或「工程化的」乃指改造細胞之基因組的方法，其包括但不限於刪除編碼區或非編碼區或其一部分，或插入編碼區或其一部分。在某些實施方式中，經改造的細胞是淋巴球(例如 T 細胞)，其可從患者或供體得到。可將細胞改造以表現外源性構築體，例如嵌合抗原受體(CAR)或 T 細胞受體(TCR)，其被接入細胞之基因組中。

[0071] 「免疫反應」乃指免疫系統之細胞(例如 T 淋巴球、B 淋巴球、自然殺手(NK)細胞、巨噬細胞、嗜酸性白血球、肥胖細胞、樹狀細胞、與嗜中性白血球)及由這些細胞或肝臟中任一者產生的可溶性巨分子(包括 Ab、細胞激素、與補體)的作用，其引起選擇性靶向、結合至、破壞、消滅、與/或消除入侵之病原體的有脊椎體、受病原體感染之細胞或組織、癌細胞或其他異常細胞，或在自體免疫或病理性發炎、正常人類細胞或組織情況下的作用。

[0072] 術語「免疫療法」乃指利用包含誘發、強化、抑制、或改良免疫反應的方法來治療受疾病之苦或有得到或體驗到疾病復發的風險之個體。免疫療法實例包括但不限於 T 細胞療法。T 細胞療法可包括過繼性 T 細胞療法、腫瘤浸潤淋巴球(TIL)免疫療法、自體細胞療法、工程化自體細胞療法(eACT)、與同種異體 T 細胞移植法。然而，該領域之習知技藝者能理解此處所揭示的調理方法會

強化任何 T 細胞移植療法之有效性。T 細胞療法實例之描述請參見：U.S. Patent Publication Nos. 2014/0154228 與 2002/0006409，U.S. Patent No. 5,728,388 與 International Publication No. WO 2008/081035。

[0073] 免疫療法之 T 細胞可以來自該領域中熟知的任何來源。例如，T 細胞可以從造血幹細胞群體在體外分化，或可以從個體得到 T 細胞。可以從下列得到 T 細胞：末梢血液單核球細胞、骨髓、淋巴結組織、臍帶血、胸腺組織、來自感染位置的組織、腹水、胸膜滲出液、脾組織、與腫瘤。此外，T 細胞可以由一或多種該領域中可得到之 T 細胞株衍生。使用習知技藝者熟知的某些技術(例如 FICOLL™分離與/或血球分離法)從個體採集之單位血液也可以得到 T 細胞。另外的單離用於 T 細胞療法之 T 細胞的方法之揭示請參見 U.S. Patent Publication No. 2013/0287748，以引用方式將其全部內容併入本案作為參考。

[0074] 術語「工程化自體細胞療法」(可縮寫成「eACT™」，也稱為過繼性細胞轉移法)是一種藉以採集患者 T 細胞及接著基因改造以辨識及靶向在一或多種特異腫瘤細胞或惡性腫瘤的細胞表面上表現的一或多種抗原之方法。可將 T 細胞工程化以表現，例如，嵌合抗原受體(CAR)或 T 細胞受體(TCR)。將 CAR 陽性(+)T 細胞工程化以表現細胞外單鏈變異片段(scFv)，其對連結至細胞內訊息傳遞部分的特定腫瘤抗原具有特異性，該細胞內訊息傳

遞部分包含一個共刺激功能域與一個活化功能域。該共刺激功能域可以由(例如)CD28 衍生，及該活化功能域可以由(例如)CD3 ζ 衍生(圖 1)。在某些實施方式中，將 CAR 設計成具有二、三、四、或更多個共刺激功能域。可將 CAR scFv 設計成靶向(例如)CD19，該 CD19 是在 B 細胞譜系中的細胞所表現之跨膜蛋白，該 B 細胞譜系包括一切正常 B 細胞與 B 細胞惡性腫瘤(包括但不限於 NHL、CLL、與非 T 細胞 ALL)。CAR+T 細胞療法與構築體實例之描述請參見 U.S. Patent Publication Nos.

2013/0287748 、 2014/0227237 、 2014/0099309 、 與 2014/0050708，以引用方式將其全部內容併入本案作為參考。

[0075] 此處所用之「患者」包括患癌症(例如淋巴瘤或白血病)的人。此處將術語「個體」與「患者」替換使用。

[0076] 術語「肽」、「多肽」、與「蛋白質」被替換使用，及乃指由肽鍵共價鍵聯之胺基酸殘基組成的化合物。蛋白質或肽必須含有至少二種胺基酸，及胺基酸之最大數量不受限制且可包含蛋白質或肽的序列。多肽包括任何肽或蛋白質，其包含藉由肽鍵彼此連接的二或多種胺基酸。此處所用之術語乃指短鏈(通常也稱為肽、寡肽、與寡聚物)及長鏈(通常也稱為蛋白質)。「多肽」包括，例如，生物活性片段、實質同源多肽、寡肽、同質二聚體、異二聚體、多肽變異體、經改造多肽、衍生物、類似物、

融合蛋白等。多肽包括天然肽、重組肽、合成肽、或其組合。

[0077] 此處所用之「刺激」乃指由刺激分子與其配體結合所誘發的原初反應，其中該結合媒介訊息傳遞事件。「刺激分子」是 T 細胞上的分子(例如 T 細胞受體(TCR)/CD3 複合體)，其與存在於抗原呈現細胞上的同源刺激配體特異性結合。「刺激配體」是一種配體，當存在於抗原呈現細胞(例如 APC、樹狀細胞、B 細胞等)上時可與 T 細胞上之刺激分子特異性結合，藉此由 T 細胞媒介原初反應，其包括但不限於活化、免疫反應啟動、增生等。刺激配體包括但不限於具有肽的 MHC Class I 分子、抗 CD3 抗體、超促效劑抗 CD28 抗體、與超促效劑抗 CD2 抗體。

[0078] 此處所用之「共刺激訊息」乃指一個訊息和初始訊息合併(例如 TCR/CD3 接合)而導致 T 細胞反應，例如但不限於關鍵分子的增生與/或上調或下調。

[0079] 此處所用之「共刺激配體」包括抗原呈現細胞上的分子，其與 T 細胞上的同源共刺激分子特異性結合。共刺激配體之結合提供一種媒介 T 細胞反應(包括但不限於增生、活化、分化等)的訊息。共刺激配體誘發一種由刺激分子提供之除初始訊息以外的訊息，例如，由 T 細胞受體(TCR)/CD3 複合體與具有肽之主要組織相容性複合體(MHC)分子結合所提供的訊息。共刺激配體可包括但不限於：CD7、B7-1(CD80)、B7-2(CD86)、程序性死亡

(PD) L1、PD-L2、4-1BB 配體、OX40 配體、可誘發共刺激配體(ICOS-L)、細胞間黏著分子(ICAM)、CD30 配體、CD40、CD70、CD83、人類白血球抗原 G(HLA-G)、MHC class I 鏈相關蛋白質 A(MICA)、MHC class I 鏈相關蛋白質 B (MICB)、疱疹病毒進入媒介(HVEM)、淋巴毒素 β 受體、3/TR6、類免疫球蛋白轉錄本(ILT)3、ILT4、結合 Toll 配體受體的促效劑或抗體、與 B7-H3 特異性結合之配體。共刺激配體包括但不限於與存在於 T 細胞上的共刺激分子特異性結合之抗體，例如但不限於：CD27、CD28、4-1BB、OX40、CD30、CD40、PD-1、ICOS、淋巴球功能相關抗原 1(LFA-1)、CD2、CD7、腫瘤壞死因子超家族成員 14(TNFSF14 或 LIGHT)、自然殺手細胞受體 C(NKG2C)、B7-H3、及與 CD83 特異性結合的配體。

[0080] 「共刺激分子」是一種 T 細胞上的結伴體，其與共刺激配體特異性結合，藉此由 T 細胞媒介共刺激反應(例如但不限於增生)。共刺激分子包括但不限於：CD27、CD28、4-1BB、OX40、CD30、CD40、CD83、PD-1、ICOS、LFA-1、CD2、CD7、TNFSF14(LIGHT)、NKG2C、B7-H3、MHC class I 分子、B-與 T-淋巴球衰減因子(BTLA)、與 Toll 配體受體。

[0081] 此處術語「調理」與「預先調理」被替換使用且指示為需要 T 細胞療法之患者準備好合適的狀態。此處所用之調理包括但不限於：在調理後使內源淋巴球數量減少、除去細胞激素積儲、增加一或多種體內恆定性細胞

激素或促發炎因子的血清量、強化所投予之 T 細胞效應功能、在 T 細胞療法前強化抗原呈現細胞活化與/或有效性、或其任何組合。在一個實施方式中，「調理」包含增加一或多種細胞激素之血清量，該細胞激素例如介白素 7(IL-7)、介白素 15(IL-15)、介白素 10(IL-10)、介白素 5(IL-5)、 γ 誘導蛋白 10(IP-10)、介白素 8(IL-8)、單核球趨化性蛋白 1(MCP-1)、胎盤生長因子(PLGF)、C-反應蛋白(CRP)、可溶性細胞間黏著分子 1(sICAM-1)、可溶性血管黏著分子 1(sVCAM-1)、或其任何組合物。在另一個實施方式中，「調理」包含增加 IL-7、IL-15、IP-10、MCP-1、PLGF、CRP、或其任何組合物之血清量。

[0082] 此處將術語「減少(reducing)」與「減少(decreasing)」替換使用且指示比原本少的任何變化。「減少(reducing)」與「減少(decreasing)」是需要在測量前與後之間作比較的相對詞。「減少(reducing)」與「減少(decreasing)」包括完全耗盡。

[0083] 「治療(treatment)」或「治療(treating)」個體乃指對該個體執行任何型式之干預或程序或投予活性藥劑，目的是反轉、緩和、改善、抑制、減緩、或預防和疾病有關聯之症狀、併發症、或狀態、或生物化學指標徵候的發作、進展、發展、嚴重程度或復發。在一個實施方式中，「治療(treatment)」或「治療(treating)」包括部分緩解。在另一個實施方式中，「治療(treatment)」或「治療(treating)」包括完全緩解。

[0084] 若干中擇一的(例如，或)之使用是指供選擇者中的一者、二者或其任何組合。此處所用之不定冠詞「一(a)」或「一(an)」是指任何詳述或列舉之成分中的「一或多者」。

[0085] 術語「約」或「包含(comprising essentially of)」乃指在該領域中具有一般技術者所測定之特定值或組成的可接受誤差範圍內的值或組成，該值或組成一部分取決於如何測量或測定到該值或組成，即測量系統之限制。例如，「約」或「包含(comprising essentially of)」可意指按照在該領域中的實作之標準偏差在 1 以內或多於 1。或者，「約」或「包含(comprising essentially of)」可意指至多 10%(即 $\pm 10\%$)的範圍。例如，約 3 mg 可包括在 2.7 mg 與 3.3 mg(10%)之間的任何數目。另外，特別地，就生物系統或程序而言，該術語可意指至多一個數量級或至多 5 倍的值。當在申請案與申請專利範圍中提供特定值或組成時，除非另外指出，否則「約」或「包含(comprising essentially of)」之意思應假定為在該特定值或組成的可接受誤差範圍內。

[0086] 此處所述之任何濃度範圍、百分比範圍、比例範圍或整數範圍應理解為包括在所述範圍內之任何整數及，在合適情況下，其分數(例如整數的十分之一與百分之一)之值，除非另外指出。

[0087] 在下列小節中更詳細地描述本發明之各種態樣。

發明之方法

[0088] 本發明係關於調理需要 T 細胞療法之患者的方法，該方法包含對該患者投予環磷醯胺及氟達拉濱。本發明顯示用劑量在約 200 mg/m²/日至約 2000 mg/m²/日之間的環磷醯胺及劑量在約 20 mg/m²/日至約 900 mg/m²/日之間的氟達拉濱調理患者強化後續對該患者投予之 T 細胞療法有效性，同時減少和環磷醯胺與/或氟達拉濱劑之較高量有關聯的不良事件出現率與/或嚴重程度。

[0089] 本發明確定在投予 T 細胞療法前投予環磷醯胺與氟達拉濱使內源淋巴球數量減少。被減少的內源淋巴球可包括但不限於：內源調節 T 細胞、B 細胞、自然殺手細胞、CD4+T 細胞、CD8+T 細胞、或其任何組合物，該內源淋巴球可抑制經過繼性轉移之 T 細胞的抗腫瘤效應。內源淋巴球會與經過繼性轉移之 T 細胞競爭使用抗原與支持細胞激素。用環磷醯胺與氟達拉濱預先治療除去了此一競爭，導致內源性細胞激素量增加。一旦對患者投予經過繼性轉移之 T 細胞，該 T 細胞便暴露於增加的內源體內恆定性細胞激素或促發炎因子量。此外，環磷醯胺與氟達拉濱治療會引起腫瘤細胞死亡，導致在患者血清中的腫瘤抗原增加。這會強化在接受 T 細胞療法前在患者中的抗原呈現細胞活化與/或有效性。在不受任何理論束縛下，用環磷醯胺與氟達拉濱調理透過引入能有利於 T 細胞之體內恆定性增殖、活化與運輸的分子來改良免疫環境。

[0090] 先前研究使用環磷醯胺與氟達拉濱之高劑量來減少內源淋巴球數量。然而，這些嚴酷的調理方案和嚴重且可能致命之不良事件有關聯。出人意外地，我們發現本方法可增加經過繼性轉移的 T 細胞有效性，同時減少不良事件之出現率與嚴重程度。

[0091] 在某些實施方式中，投予環磷醯胺與氟達拉濱使內源淋巴球減少。在某些實施方式中，投予環磷醯胺與氟達拉濱增加體內恆定性細胞激素有效性。在某些實施方式中，投予環磷醯胺與氟達拉濱強化在該調理後所投予之 T 細胞效應功能。在某些實施方式中，投予環磷醯胺與氟達拉濱強化抗原呈現細胞活化與/或有效性。

[0092] 在一個實施方式中，本發明包括一種調理需要 T 細胞療法之患者的方法，該方法包含對該患者投予劑量在約 200 mg/m²/日至約 2000 mg/m²/日之間的環磷醯胺及劑量在約 20 mg/m²/日至約 900 mg/m²/日之間的氟達拉濱。在另一個實施方式中，本發明包括一種調理需要 T 細胞療法之患者的方法，該方法包含對該患者投予劑量在約 200 mg/m²/日至約 2000 mg/m²/日之間(例如 200 mg/m²/日、300 mg/m²/日、或 500 mg/m²/日)的環磷醯胺及劑量在約 20 mg/m²/日至約 900 mg/m²/日之間(例如 20 mg/m²/日、25 mg/m²/日、30 mg/m²/日、或 60 mg/m²/日)的氟達拉濱，其中該患者在投予該環磷醯胺與氟達拉濱後顯出 IL-7、IL-15、IL-10、IL-5、IP-10、IL-8、MCP-1、PLGF、CRP、sICAM-1、sVCAM-1、或其任何組合(例如

IL-15、IP-10 與/或 IL-7)之增加的血清量，或顯出穿孔素與/或 MIP-1b 之減少的血清量。在一個實施方式中，本發明包括一種調理需要 T 細胞療法之患者的方法，該方法包含對該患者投予劑量在約 1110 mg/m²/日至約 2000 mg/m²/日之間的環磷醯胺及劑量在約 20 mg/m²/日至約 900 mg/m²/日之間(例如 20 mg/m²/日、25 mg/m²/日、30 mg/m²/日、或 60 mg/m²/日)的氟達拉濱。在另一個實施方式中，本發明包括一種調理需要 T 細胞療法之患者的方法，該方法包含對該患者投予劑量在約 1110 mg/m²/日至約 2000 mg/m²/日之間的環磷醯胺及劑量在約 20 mg/m²/日至約 900 mg/m²/日之間(例如 20 mg/m²/日、25 mg/m²/日、30 mg/m²/日、或 60 mg/m²/日)的氟達拉濱，其中該患者在投予該環磷醯胺與氟達拉濱後顯出 IL-7、IL-15、IL-10、IL-5、IP-10、IL-8、MCP-1、PLGF、CRP、sICAM-1、sVCAM-1、或其任何組合(例如 IL-15、IP-10 與/或 IL-7)之增加的血清量，或顯出穿孔素與/或 MIP-1b 之減少的血清量。在一個實施方式中，本發明包括一種調理需要 T 細胞療法之患者的方法，該方法包含對該患者投予劑量等於或高於約 30 mg/kg/日且低於 60 mg/kg/日的環磷醯胺及劑量在約 20 mg/m²/日至約 900 mg/m²/日之間(例如 20 mg/m²/日、25 mg/m²/日、30 mg/m²/日、或 60 mg/m²/日)的氟達拉濱。

[0093] 在另一個實施方式中，本發明包括一種使需要 T 細胞療法之患者中的內源淋巴球減少或耗損的方法，

該方法包含對該患者投予劑量在約 200 mg/m²/日至約 2000 mg/m²/日之間的環磷醯胺及劑量在約 20 mg/m²/日至約 900 mg/m²/日之間的氟達拉濱。在另一個實施方式中，本發明包括一種使需要 T 細胞療法之患者中的內源淋巴球減少或耗損的方法，該方法包含對該患者投予劑量在約 200 mg/m²/日至約 2000 mg/m²/日之間(例如 200 mg/m²/日、300 mg/m²/日、或 500 mg/m²/日)的環磷醯胺及劑量在約 20 mg/m²/日至約 900 mg/m²/日之間(例如 20 mg/m²/日、25 mg/m²/日、30 mg/m²/日、或 60 mg/m²/日)的氟達拉濱，其中該患者在投予該環磷醯胺與氟達拉濱後顯出 IL-7、IL-15、IL-10、IL-5、IP-10、IL-8、MCP-1、PLGF、CRP、sICAM-1、sVCAM-1、或其任何組合(例如 IL-15、IP-10 與/或 IL-7)之增加的血清量，或顯出穿孔素與/或 MIP-1b 之減少的血清量。在一個實施方式中，本發明包括一種使需要 T 細胞療法之患者中的內源淋巴球減少或耗損的方法，該方法包含對該患者投予劑量在約 1110 mg/m²/日至約 2000 mg/m²/日之間的環磷醯胺及劑量在約 20 mg/m²/日至約 900 mg/m²/日之間(例如 20 mg/m²/日、25 mg/m²/日、30 mg/m²/日、或 60 mg/m²/日)的氟達拉濱，其中該患者在投予該環磷醯胺與氟達拉濱後顯出 IL-7、IL-15、IL-10、IL-5、IP-10、IL-8、MCP-1、PLGF、CRP、sICAM-1、sVCAM-1、或其任何組合(例如 IL-15、IP-10 與/或 IL-7)之增加的血清量，或顯出穿孔素與/或 MIP-1b 之減少的血清量。在一個實施方式中，本發明包括一種使

需要 T 細胞療法之患者中的內源淋巴球減少或耗損的方法，該方法包含對該患者投予劑量等於或高於約 30 mg/kg/日且低於 60 mg/kg/日的環磷醯胺及劑量在約 20 mg/m²/日至約 900 mg/m²/日之間(例如 20 mg/m²/日、25 mg/m²/日、30 mg/m²/日、或 60 mg/m²/日)的氟達拉濱，其中該患者在投予該環磷醯胺與氟達拉濱後顯出 IL-7、IL-15、IL-10、IL-5、IP-10、IL-8、MCP-1、PLGF、CRP、sICAM-1、sVCAM-1、或其任何組合(例如 IL-15、IP-10 與/或 IL-7)之增加的血清量，或顯出穿孔素與/或 MIP-1b 之減少的血清量。

[0094] 在其他實施方式中，本發明包括一種使需要 T 細胞療法之患者中的體內恆定性細胞激素有效性增加的方法，該方法包含對該患者投予劑量在約 200 mg/m²/日至約 2000 mg/m²/日之間(例如 200 mg/m²/日、300 mg/m²/日、或 500 mg/m²/日)的環磷醯胺及劑量在約 20 mg/m²/日至約 900 mg/m²/日之間(例如 20 mg/m²/日、25 mg/m²/日、30 mg/m²/日、或 60 mg/m²/日)的氟達拉濱。在另一個實施方式中，本發明包括一種使需要 T 細胞療法之患者中的體內恆定性細胞激素有效性增加的方法，該方法包含對該患者投予劑量在約 200 mg/m²/日至約 2000 mg/m²/日之間(例如 200 mg/m²/日、300 mg/m²/日、或 500 mg/m²/日)的環磷醯胺及劑量在約 20 mg/m²/日至約 900 mg/m²/日之間(例如 20 mg/m²/日、25 mg/m²/日、30 mg/m²/日、或 60 mg/m²/日)的氟達拉濱，其中該患者在投予該環磷醯胺與氟達拉濱後

顯出 IL-7、IL-15、IL-10、IL-5、IP-10、IL-8、MCP-1、PLGF、CRP、sICAM-1、sVCAM-1、或其任何組合(例如 IL-15、IP-10 與/或 IL-7)之增加的血清量，或顯出穿孔素與/或 MIP-1b 之減少的血清量。在一個實施方式中，本發明包括一種使需要 T 細胞療法之患者中的體內恆定性細胞激素有效性增加的方法，該方法包含對該患者投予劑量在約 1110 mg/m²/日至約 2000 mg/m²/日之間的環磷醯胺及劑量在約 20 mg/m²/日至約 900 mg/m²/日之間(例如 20 mg/m²/日、25 mg/m²/日、30 mg/m²/日、或 60 mg/m²/日)的氟達拉濱，其中該患者在投予該環磷醯胺與氟達拉濱後顯出 IL-7、IL-15、IL-10、IL-5、IP-10、IL-8、MCP-1、PLGF、CRP、sICAM-1、sVCAM-1、或其任何組合(例如 IL-15、IP-10 與/或 IL-7)之增加的血清量，或顯出穿孔素與/或 MIP-1b 之減少的血清量。在一個實施方式中，本發明包括一種使需要 T 細胞療法之患者中的體內恆定性細胞激素有效性增加的方法，該方法包含對該患者投予劑量等於或高於約 30 mg/kg/日且低於 60 mg/kg/日的環磷醯胺及劑量在約 20 mg/m²/日至約 900 mg/m²/日之間(例如 20 mg/m²/日、25 mg/m²/日、30 mg/m²/日、或 60 mg/m²/日)的氟達拉濱，其中該患者在投予該環磷醯胺與氟達拉濱後顯出 IL-7、IL-15、IL-10、IL-5、IP-10、IL-8、MCP-1、PLGF、CRP、sICAM-1、sVCAM-1、或其任何組合(例如 IL-15、IP-10 與/或 IL-7)之增加的血清量，或顯出穿孔素與/或 MIP-1b 之減少的血清量。

[0095] 在一個特定實施方式中，本發明包括一種使需要 T 細胞療法之患者中經投予之 T 細胞效應功能強化的方法，該方法包含對該患者投予劑量在約 200 mg/m²/日至約 2000 mg/m²/日之間(例如 200 mg/m²/日、300 mg/m²/日、或 500 mg/m²/日)的環磷醯胺及劑量在約 20 mg/m²/日至約 900 mg/m²/日之間(例如 20 mg/m²/日、25 mg/m²/日、30 mg/m²/日、或 60 mg/m²/日)的氟達拉濱。在另一個實施方式中，本發明包括一種使需要 T 細胞療法之患者中經投予之 T 細胞效應功能強化的方法，該方法包含對該患者投予劑量在約 200 mg/m²/日至約 2000 mg/m²/日之間(例如 200 mg/m²/日、300 mg/m²/日、或 500 mg/m²/日)的環磷醯胺及劑量在約 20 mg/m²/日至約 900 mg/m²/日之間(例如 20 mg/m²/日、25 mg/m²/日、30 mg/m²/日、或 60 mg/m²/日)的氟達拉濱，其中該患者在投予該環磷醯胺與氟達拉濱後顯出 IL-7、IL-15、IL-10、IL-5、IP-10、IL-8、MCP-1、PLGF、CRP、sICAM-1、sVCAM-1、或其任何組合(例如 IL-15、IP-10 與/或 IL-7)之增加的血清量，或顯出穿孔素與/或 MIP-1b 之減少的血清量。在一個實施方式中，本發明包括一種使需要 T 細胞療法之患者中經投予之 T 細胞效應功能強化的方法，該方法包含對該患者投予劑量在約 1110 mg/m²/日至約 2000 mg/m²/日之間的環磷醯胺及劑量在約 20 mg/m²/日至約 900 mg/m²/日之間(例如 20 mg/m²/日、25 mg/m²/日、30 mg/m²/日、或 60 mg/m²/日)的氟達拉濱，其中該患者在投予該環磷醯胺與氟達拉濱後顯出

IL-7、IL-15、IL-10、IL-5、IP-10、IL-8、MCP-1、PLGF、CRP、sICAM-1、sVCAM-1、或其任何組合(例如 IL-15、IP-10 與/或 IL-7)之增加的血清量，或顯出穿孔素與/或 MIP-1b 之減少的血清量。在一個實施方式中，本發明包括一種使需要 T 細胞療法之患者中經投予之 T 細胞效應功能強化的方法，該方法包含對該患者投予劑量等於或高於約 30 mg/kg/日且低於 60 mg/kg/日的環磷醯胺及劑量在約 20 mg/m²/日至約 900 mg/m²/日之間(例如 20 mg/m²/日、25 mg/m²/日、30 mg/m²/日、或 60 mg/m²/日)的氟達拉濱，其中該患者在投予該環磷醯胺與氟達拉濱後顯出 IL-7、IL-15、IL-10、IL-5、IP-10、IL-8、MCP-1、PLGF、CRP、sICAM-1、sVCAM-1、或其任何組合(例如 IL-15、IP-10 與/或 IL-7)之增加的血清量，或顯出穿孔素與/或 MIP-1b 之減少的血清量。

[0096] 在某些實施方式中，本發明包括一種使需要 T 細胞療法之患者中抗原呈現細胞活化與/或有效性強化之方法，該方法包含對該患者投予劑量在約 200 mg/m²/日至約 2000 mg/m²/日之間(例如 200 mg/m²/日、300 mg/m²/日、或 500 mg/m²/日)的環磷醯胺及劑量在約 20 mg/m²/日至約 900 mg/m²/日之間(例如 20 mg/m²/日、25 mg/m²/日、30 mg/m²/日、或 60 mg/m²/日)的氟達拉濱。在另一個實施方式中，本發明包括一種使需要 T 細胞療法之患者中抗原呈現細胞活化與/或有效性強化之方法，該方法包含對該患者投予劑量在約 200 mg/m²/日至約 2000 mg/m²/日之間

(例如 200 mg/m²/日、300 mg/m²/日、或 500 mg/m²/日)的環磷醯胺及劑量在約 20 mg/m²/日至約 900 mg/m²/日之間(例如 20 mg/m²/日、25 mg/m²/日、30 mg/m²/日、或 60 mg/m²/日)的氟達拉濱，其中該患者在投予該環磷醯胺與氟達拉濱後顯出 IL-7、IL-15、IL-10、IL-5、IP-10、IL-8、MCP-1、PLGF、CRP、sICAM-1、sVCAM-1、或其任何組合(例如 IL-15、IP-10 與/或 IL-7)之增加的血清量，或顯出穿孔素與/或 MIP-1b 之減少的血清量。在一個實施方式中，本發明包括一種使需要 T 細胞療法之患者中抗原呈現細胞活化與/或有效性強化之方法，該方法包含對該患者投予劑量在約 1110 mg/m²/日至約 2000 mg/m²/日之間的環磷醯胺及劑量在約 20 mg/m²/日至約 900 mg/m²/日之間(例如 20 mg/m²/日、25 mg/m²/日、30 mg/m²/日、或 60 mg/m²/日)的氟達拉濱，其中該患者在投予該環磷醯胺與氟達拉濱後顯出 IL-7、IL-15、IL-10、IL-5、IP-10、IL-8、MCP-1、PLGF、CRP、sICAM-1、sVCAM-1、或其任何組合(例如 IL-15、IP-10 與/或 IL-7)之增加的血清量，或顯出穿孔素與/或 MIP-1b 之減少的血清量。在一個實施方式中，本發明包括一種使需要 T 細胞療法之患者中抗原呈現細胞活化與/或有效性強化之方法，該方法包含對該患者投予劑量等於或高於約 30 mg/kg/日且低於 60 mg/kg/日的環磷醯胺及劑量在約 20 mg/m²/日至約 900 mg/m²/日之間(例如 20 mg/m²/日、25 mg/m²/日、30 mg/m²/日、或 60 mg/m²/日)的氟達拉濱，其中該患者在投予該環磷醯胺

與氟達拉濱後顯出 IL-7、IL-15、IL-10、IL-5、IP-10、IL-8、MCP-1、PLGF、CRP、sICAM-1、sVCAM-1、或其任何組合(例如 IL-15、IP-10 與/或 IL-7)之增加的血清量，或顯出穿孔素與/或 MIP-1b 之減少的血清量。

[0097] 本發明之方法包括在 T 細胞療法前投予環磷醯胺與氟達拉濱。可調整各成分的投予時機使效應達到最大。如此處所述，將投予 T 細胞療法之日指定為第 0 日。在投予 T 細胞療法前的任何時候可投予環磷醯胺與氟達拉濱。在某些實施方式中，在投予 T 細胞療法前至少 7 日、至少 6 日、至少 5 日、至少 4 日、至少 3 日、至少 2 日、或至少 1 日開始投予環磷醯胺與氟達拉濱。在其他實施方式中，在投予 T 細胞療法前至少 8 日、至少 9 日、至少 10 日、至少 11 日、至少 12 日、至少 13 日、或至少 14 日開始投予環磷醯胺與氟達拉濱。在一個實施方式中，在投予 T 細胞療法前 7 日開始投予環磷醯胺與氟達拉濱。在另一個實施方式中，在投予 T 細胞療法前 5 日開始投予環磷醯胺與氟達拉濱。

[0098] 在一個特定實施方式中，在投予 T 細胞療法前約 7 日開始投予環磷醯胺，及在投予 T 細胞療法前約 5 日開始該投予氟達拉濱。在另一個實施方式中，在投予 T 細胞療法前約 5 日開始投予環磷醯胺，及在投予 T 細胞療法前約 5 日開始該投予氟達拉濱。

[0099] 可調整各成分之投予時機使效應達到最大。通常，可每日投予環磷醯胺與氟達拉濱。在某些實施方式

中，每日投予環磷醯胺及氟達拉濱投予約 2 日、約 3 日、約 4 日、約 5 日、約 6 日、或約 7 日。在一個特定實施方式中，每日投予環磷醯胺投予 2 日，及每日投予氟達拉濱劑量投予 5 日。在另一個實施方式中，每日投予環磷醯胺及氟達拉濱投予約 3 日。

[0100] 如此處所述，將對患者投予 T 細胞療法之日指定為第 0 日。在某些實施方式中，在第 0 日前的第 7 日與第 6 日(即第 -7 日與第 -6 日)對患者投予環磷醯胺。在其他實施方式中，在第 -5、-4、與 -3 日對患者投予環磷醯胺。在某些實施方式中，在第 -5、-4、-3、-2、與 -1 日對患者投予氟達拉濱。在其他實施方式中，在第 -5、-4、與 -3 日對患者投予氟達拉濱。

[0101] 可在同日或不同日投予環磷醯胺與氟達拉濱。如果在同日投予環磷醯胺與氟達拉濱，則可在氟達拉濱前或後投予環磷醯胺。在一個實施方式中，在第 -7 與 -6 日對患者投予環磷醯胺，及在第 -5、-4、-3、-2、與 -1 日對患者投予氟達拉濱。在另一個實施方式中，在第 -5、-4、與 -3 日對患者投予環磷醯胺，及在第 -5、-4、與 -3 日對患者投予氟達拉濱。

[0102] 在某些實施方式中，可同時投予或依序投予環磷醯胺及氟達拉濱。在一個實施方式中，在投予氟達拉濱前對患者投予環磷醯胺。在另一個實施方式中，在投予氟達拉濱後對患者投予環磷醯胺。

[0103] 可利用任何途徑(包括靜脈注射(IV))投予環磷

醯胺與氟達拉濱。在某些實施方式中，在下列時間內利用 IV 投予環磷醯胺：約 30 分鐘、約 35 分鐘、約 40 分鐘、約 45 分鐘、約 50 分鐘、約 55 分鐘、約 60 分鐘、約 90 分鐘、約 120 分鐘。在某些實施方式中，在下列時間內利用 IV 投予氟達拉濱：約 10 分鐘、約 15 分鐘、約 20 分鐘、約 25 分鐘、約 30 分鐘、約 35 分鐘、約 40 分鐘、約 45 分鐘、約 50 分鐘、約 55 分鐘、約 60 分鐘、約 90 分鐘、約 120 分鐘。

[0104] 在某些實施方式中，在投予環磷醯胺與氟達拉濱後對患者投予 T 細胞療法。在某些實施方式中，該 T 細胞療法包含過繼性細胞療法。在某些實施方式中，過繼性細胞療法係選自腫瘤浸潤淋巴球(TIL)免疫療法、自體細胞療法、工程化自體細胞療法(eACT)、與同種異體 T 細胞移植法。在一個特定實施方式中，eACT 包含投予工程化抗原特異性嵌合抗原受體(CAR)陽性(+)T 細胞。在另一個實施方式中，eACT 包含投予工程化抗原特異性 T 細胞受體(TCR)陽性(+)T 細胞。在某些實施方式中，工程化 T 細胞治療患者中的腫瘤。

[0105] 在一個特定實施方式中，本發明包括一種調理需要 T 細胞療法之患者的方法，該方法包含對該患者投予劑量約 500 mg/m²/日的環磷醯胺及劑量約 60 mg/m²/日的氟達拉濱，其中在第-5、-4、與-3 日投予環磷醯胺，及其中在第-5、-4、與-3 日投予氟達拉濱。在另一個實施方式中，本發明包括一種調理需要 T 細胞療法之患者的方

法，該方法包含對該患者投予劑量約 $500 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 的環磷醯胺及劑量約 $60 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 的氟達拉濱，其中在第-7 與-6 日投予環磷醯胺，及其中在第-5、-4、-3、-2、與-1 日投予氟達拉濱。在另一個實施方式中，本發明包括一種調理需要 T 細胞療法之患者的方法，該方法包含對該患者投予劑量約 $500 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 的環磷醯胺及劑量約 $30 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 的氟達拉濱，其中在第-7 與-6 日投予環磷醯胺，及其中在第-5、-4、-3、-2、與-1 日投予氟達拉濱。在另一個實施方式中，本發明包括一種調理需要 T 細胞療法之患者的方法，該方法包含對該患者投予劑量約 $300 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 的環磷醯胺及劑量約 $60 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 的氟達拉濱，其中在第-7 與-6 日投予環磷醯胺，及其中在第-5、-4、-3、-2、與-1 日投予氟達拉濱。

[0106] 在此處所述之方法中可包括各種其他干預。例如，眾所周知，環磷醯胺與氟達拉濱在投予後可能引起患者中的不良事件。本發明之範圍包括還可對患者投予組成物以使這些不良事件中的某些事件減少。在某些實施方式中，該方法另外包含對患者投予生理鹽水。可在投予環磷醯胺與/或氟達拉濱前或後，或在投予環磷醯胺與/或氟達拉濱前與後對患者投予生理鹽水。在某些實施方式中，可在投予環磷醯胺與/或氟達拉濱同時投予生理鹽水。在一個特定實施方式中，在每個輸注日在投予環磷醯胺與/或氟達拉濱前，及在投予環磷醯胺與/或氟達拉濱後對患者投予生理鹽水。

[0107] 可利用任何途徑(包括靜脈注射或口服)對患者投予生理鹽水。在某些實施方式中，該方法包含投予約 0.1 L、約 0.2 L、約 0.3 L、約 0.4 L、約 0.5 L、約 0.6 L、約 0.7 L、約 0.8 L、約 0.9 L、約 1 L、約 1.1 L、約 1.2 L、約 1.3 L、約 1.4 L、約 1.5 L、約 1.6 L、約 1.7 L、約 1.8 L、約 1.9 L、或約 2.0 L 生理鹽水。可將生理鹽水的 NaCl 溶解成約 0.1%、約 0.2%、約 0.3%、約 0.4%、約 0.5%、約 0.6%、約 0.7%、約 0.8%、約 0.9%、約 1.0%、約 1.1%、約 1.2%、約 1.3%、約 1.4%、約 1.5%、約 1.6%、約 1.7%、約 1.8%、約 1.9%、或約 2.0%的最終濃度。在一個實施方式中，該方法包含對患者投予 1.0 L 的 0.9% NaCl 生理鹽水。在一個特定實施方式中，該方法包含在每個輸注日在投予環磷醯胺與/或氟達拉濱前，及在投予環磷醯胺與/或氟達拉濱後對患者投予 1.0 L 的 0.9% NaCl 生理鹽水。

[0108] 另外，還可對患者投予佐劑與賦形劑。例如，美司鈉(mesna，2-巰基乙烷磺酸鈉)是一種具有解毒劑作用以抑制在用環磷醯胺治療後可能發生的出血性膀胱炎與血尿之佐劑。環磷醯胺在體內會被轉化為尿毒性代謝產物(例如丙烯醛)。藉由美司鈉的巰基與乙烯基反應將這些代謝產物解毒。美司鈉還使尿液中半胱胺酸增加。在某些實施方式中，該方法另外包含對患者投予美司鈉。可在投予環磷醯胺與/或氟達拉濱前，及在投予環磷醯胺與/或氟達拉濱後，或在投予環磷醯胺與/或氟達拉濱前與後投予

美司鈉。在一個實施方式中，靜脈注射或口服(經口)美司鈉。例如，可將口服美司鈉與口服環磷醯胺一起投予。

[0109] 此外，在此處所述之方法中還可對患者投予外源性細胞激素。如上述，假設減少內源淋巴球數量使內源性分子(例如細胞激素)之生物可用率增加，可有利於經過繼性轉移的 T 細胞之增殖、活化與運輸。所以，可對患者投予各種細胞激素。在一個實施方式中，該方法另外包含投予一或多劑的 IL-2、IL-15、IL-7、IL-10、IL-5、IP-10、IL-8、MCP-1、PLGF、CRP、sICAM-1、sVCAM-1、或其任何組合。在一個特定實施方式中，該方法包含投予一或多劑 IL-2。IL-2 劑量可為至少約 10,000 IU/kg、至少約 50,000 IU/kg、至少約 100,000 IU/kg、至少約 200,000 IU/kg、至少約 400,000 IU/kg、至少約 600,000 IU/kg、至少約 700,000 IU/kg、至少約 800,000 IU/kg、或至少約 1,000,000 IU/kg。

環磷醯胺與氟達拉濱

[0110] 環磷醯胺(ENDOXAN®、CYTOXAN®、PROCYTOX®、NEOSAR®、REVIMMUNE®、CYCLOBLASTIN®)是一種具有強力免疫抑制活性的氮芥衍生物烷化劑。環磷醯胺具有抗腫瘤藥作用，及被用來治療各種癌症，包括淋巴瘤、多發性骨髓瘤、白血病、蕈狀肉芽腫、神經胚細胞瘤、卵巢癌、眼癌、與乳癌、及自體免疫疾病。

[0111] 一旦對患者投予，環磷醯胺便在肝臟內被轉變成丙烯醛與磷醯胺。將烷基加到在咪唑的 7 號氮原子位置之 DNA 的鳥嘌呤鹼基使這些代謝產物在靜止細胞與分裂細胞中一起與 DNA 交聯。所以，DNA 複製被抑制而導致細胞死亡。

[0112] 在本發明中，可根據所欲效果來調整環磷醯胺劑量，例如，以調節內源淋巴球減少與/或控制不良事件之嚴重程度。例如，環磷醯胺劑量可高於約 $300 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 且低於約 $900 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 。在某些實施方式中，環磷醯胺劑量是約 $350 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至約 $2000 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、至少約 $400 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至約 $2000 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、約 $450 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至約 $2000 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、約 $500 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至約 $2000 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、約 $550 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至約 $2000 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、或約 $600 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至約 $2000 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 。在另一個實施方式中，環磷醯胺劑量是約 $350 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至約 $1500 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、約 $350 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至約 $1000 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、約 $400 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至約 $900 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、約 $450 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至約 $800 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、約 $450 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至約 $700 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、約 $500 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至約 $600 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、或約 $300 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至約 $500 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 。在某些實施方式中，環磷醯胺劑量是約 $350 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、約 $400 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、約 $450 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、約 $500 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、約 $550 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、約 $600 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、約 $650 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、約 $700 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、約 $800 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、約 $900 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、或約 $1000 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 。在一個特定實施方式中，環磷醯胺劑量是約 $200 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 。在

一個特定實施方式中，環磷醯胺劑量是約 300 mg/m²/日。在另一個實施方式中，環磷醯胺劑量是約 500 mg/m²/日。在其他實施方式中，環磷醯胺劑量是約 200 mg/m²/日至約 2000 mg/m²/日、約 300 mg/m²/日至約 2000 mg/m²/日、約 400 mg/m²/日至約 2000 mg/m²/日、約 500 mg/m²/日至約 2000 mg/m²/日、約 600 mg/m²/日至約 2000 mg/m²/日、約 700 mg/m²/日至約 2000 mg/m²/日、約 800 mg/m²/日至約 2000 mg/m²/日、約 900 mg/m²/日至約 2000 mg/m²/日、約 1000 mg/m²/日至約 2000 mg/m²/日、約 1100 mg/m²/日至約 2000 mg/m²/日、約 1200 mg/m²/日至約 2000 mg/m²/日、約 1300 mg/m²/日至約 2000 mg/m²/日、約 1400 mg/m²/日至約 2000 mg/m²/日、約 1500 mg/m²/日至約 2000 mg/m²/日、約 1600 mg/m²/日至約 2000 mg/m²/日、約 1700 mg/m²/日至約 2000 mg/m²/日、約 1800 mg/m²/日至約 2000 mg/m²/日、約 1900 mg/m²/日至約 2000 mg/m²/日、約 200 mg/m²/日至約 1900 mg/m²/日、約 400 mg/m²/日至約 1800 mg/m²/日、約 500 mg/m²/日至約 1700 mg/m²/日、約 600 mg/m²/日至約 1600 mg/m²/日、約 700 mg/m²/日至約 1500 mg/m²/日、約 800 mg/m²/日至約 1400 mg/m²/日、約 900 mg/m²/日至約 1300 mg/m²/日、約 1000 mg/m²/日至約 1200 mg/m²/日、約 1100 mg/m²/日至約 1200 mg/m²/日、或約 1110 mg/m²/日至約 1150 mg/m²/日。

[0113] 氟達拉濱鹽酸鹽(FLUDARA®)是一種合成嘧啶核苷，其不同於生理核苷之處在於醣部分是阿拉伯糖而

不是核糖或去氧核糖。氟達拉濱具有嘌呤拮抗劑抗代謝物作用，及被用來治療各種血液惡性腫瘤，包括各種淋巴瘤與白血病。

[0114] 一旦對患者投予，氟達拉濱便被快速脫磷酸化成 2-氟-ara-A，然後在細胞內被去氧胞苷激酶磷酸化成活性三磷酸鹽 2-氟-ara-ATP。然後此代謝產物干擾 DNA 複製(像是抑制 DNA 聚合酶 α 、核糖核苷酸還原酶、與 DNA 引發酶)，從而抑制 DNA 合成。所以，投予氟達拉濱導致分裂細胞中的細胞死亡增加。

[0115] 在本發明中，還可根據所欲效果來調整氟達拉濱劑量。例如，氟達拉濱劑量可高於 30 mg/m²/日且低於 900 mg/m²/日。在某些實施方式中，氟達拉濱劑量可為約 35 mg/m²/日至約 900 mg/m²/日、約 40 mg/m²/日至約 900 mg/m²/日、約 45 mg/m²/日至約 900 mg/m²/日、約 50 mg/m²/日至約 900 mg/m²/日、約 55 mg/m²/日至約 900 mg/m²/日、或約 60 mg/m²/日至約 900 mg/m²/日。在其他實施方式中，氟達拉濱劑量是約 35 mg/m²/日至約 900 mg/m²/日、約 35 mg/m²/日至約 800 mg/m²/日、約 35 mg/m²/日至約 700 mg/m²/日、約 35 mg/m²/日至約 600 mg/m²/日、約 35 mg/m²/日至約 500 mg/m²/日、約 35 mg/m²/日至約 400 mg/m²/日、約 35 mg/m²/日至約 300 mg/m²/日、約 35 mg/m²/日至約 200 mg/m²/日、約 35 mg/m²/日至約 100 mg/m²/日、約 40 mg/m²/日至約 90 mg/m²/日、約 45 mg/m²/日至約 80 mg/m²/日、約 45

mg/m²/日至約 70 mg/m²/日、或約 50 mg/m²/日至約 60 mg/m²/日。在某些實施方式中，氟達拉濱劑量是約 35 mg/m²/日、約 40 mg/m²/日、約 45 mg/m²/日、約 50 mg/m²/日、約 55 mg/m²/日、約 60 mg/m²/日、約 65 mg/m²/日、約 70 mg/m²/日、約 75 mg/m²/日、約 80 mg/m²/日、約 85 mg/m²/日、約 90 mg/m²/日、約 95 mg/m²/日、約 100 mg/m²/日、約 200 mg/m²/日、或約 300 mg/m²/日。在其他實施方式中，氟達拉濱劑量是約 110 mg/m²/日、120 mg/m²/日、130 mg/m²/日、140 mg/m²/日、150 mg/m²/日、160 mg/m²/日、170 mg/m²/日、180 mg/m²/日、或 190 mg/m²/日。在某些實施方式中，氟達拉濱劑量是約 210 mg/m²/日、220 mg/m²/日、230 mg/m²/日、240 mg/m²/日、250 mg/m²/日、260 mg/m²/日、270 mg/m²/日、280 mg/m²/日、或 290 mg/m²/日。在一個特定實施方式中，氟達拉濱劑量是約 20 mg/m²/日。在一個特定實施方式中，氟達拉濱劑量是約 30 mg/m²/日。在另一個實施方式中，氟達拉濱劑量是約 60 mg/m²/日。在另一個實施方式中，氟達拉濱劑量是約 25 mg/m²/日。

[0116] 可將環磷醯胺與氟達拉濱劑量一起或獨立地升高或降低。例如，可增加環磷醯胺劑量，同時減少氟達拉濱劑量，及可減少環磷醯胺劑量，同時增加氟達拉濱劑量。或者，可將環磷醯胺與氟達拉濱劑量一起增加或減少。

[0117] 在某些實施方式中，環磷醯胺劑量是 100

mg/m²/日 (或約 110 mg/m²/日、120 mg/m²/日、130 mg/m²/日、或 140 mg/m²/日)及氟達拉濱劑量是 5 mg/m²/日、10 mg/m²/日、15 mg/m²/日、20 mg/m²/日、25 mg/m²/日、30 mg/m²/日、35 mg/m²/日、40 mg/m²/日、45 mg/m²/日、50 mg/m²/日、55 mg/m²/日、60 mg/m²/日、65 mg/m²/日、70 mg/m²/日、或 75 mg/m²/日。

[0118] 在某些實施方式中，環磷醯胺劑量是 150 mg/m²/日 (或 160 mg/m²/日、170 mg/m²/日、180 mg/m²/日、或 190 mg/m²/日)及氟達拉濱劑量是 5 mg/m²/日、10 mg/m²/日、15 mg/m²/日、20 mg/m²/日、25 mg/m²/日、30 mg/m²/日、35 mg/m²/日、40 mg/m²/日、45 mg/m²/日、50 mg/m²/日、55 mg/m²/日、60 mg/m²/日、65 mg/m²/日、70 mg/m²/日、或 75 mg/m²/日。

[0119] 在某些實施方式中，環磷醯胺劑量是約 200 mg/m²/日 (或 210 mg/m²/日、220 mg/m²/日、230 mg/m²/日、或 240 mg/m²/日)及氟達拉濱劑量是 5 mg/m²/日、10 mg/m²/日、15 mg/m²/日、20 mg/m²/日、25 mg/m²/日、30 mg/m²/日、35 mg/m²/日、40 mg/m²/日、45 mg/m²/日、50 mg/m²/日、55 mg/m²/日、60 mg/m²/日、65 mg/m²/日、70 mg/m²/日、或 75 mg/m²/日。

[0120] 在某些實施方式中，環磷醯胺劑量是 250 mg/m²/日 (或 260 mg/m²/日、270 mg/m²/日、280 mg/m²/日、或 290 mg/m²/日)及氟達拉濱劑量是 5 mg/m²/日、10 mg/m²/日、15 mg/m²/日、20 mg/m²/日、25 mg/m²/日、30

mg/m²/日、35 mg/m²/日、40 mg/m²/日、45 mg/m²/日、50 mg/m²/日、55 mg/m²/日、60 mg/m²/日、65 mg/m²/日、70 mg/m²/日、或 75 mg/m²/日。

[0121] 在某些實施方式中，環磷醯胺劑量是 300 mg/m²/日(或 310 mg/m²/日、320 mg/m²/日、330 mg/m²/日、或 340 mg/m²/日)及氟達拉濱劑量是 5 mg/m²/日、10 mg/m²/日、15 mg/m²/日、20 mg/m²/日、25 mg/m²/日、30 mg/m²/日、35 mg/m²/日、40 mg/m²/日、45 mg/m²/日、50 mg/m²/日、55 mg/m²/日、60 mg/m²/日、65 mg/m²/日、70 mg/m²/日、或 75 mg/m²/日。

[0122] 在某些實施方式中，環磷醯胺劑量是 350 mg/m²/日(或 360 mg/m²/日、370 mg/m²/日、380 mg/m²/日、或 390 mg/m²/日)及氟達拉濱劑量是 5 mg/m²/日、10 mg/m²/日、15 mg/m²/日、20 mg/m²/日、25 mg/m²/日、30 mg/m²/日、35 mg/m²/日、40 mg/m²/日、45 mg/m²/日、50 mg/m²/日、55 mg/m²/日、60 mg/m²/日、65 mg/m²/日、70 mg/m²/日、或 75 mg/m²/日。

[0123] 在某些實施方式中，環磷醯胺劑量是 400 mg/m²/日(或 410 mg/m²/日、420 mg/m²/日、430 mg/m²/日、或 440 mg/m²/日)及氟達拉濱劑量是 5 mg/m²/日、10 mg/m²/日、15 mg/m²/日、20 mg/m²/日、25 mg/m²/日、30 mg/m²/日、35 mg/m²/日、40 mg/m²/日、45 mg/m²/日、50 mg/m²/日、55 mg/m²/日、60 mg/m²/日、65 mg/m²/日、70 mg/m²/日、或 75 mg/m²/日。

[0124] 在某些實施方式中，環磷醯胺劑量是 450 mg/m²/日(或 460 mg/m²/日、470 mg/m²/日、480 mg/m²/日、或 490 mg/m²/日)及氟達拉濱劑量是 5 mg/m²/日、10 mg/m²/日、15 mg/m²/日、20 mg/m²/日、25 mg/m²/日、30 mg/m²/日、35 mg/m²/日、40 mg/m²/日、45 mg/m²/日、50 mg/m²/日、55 mg/m²/日、60 mg/m²/日、65 mg/m²/日、70 mg/m²/日、或 75 mg/m²/日。

[0125] 在某些實施方式中，環磷醯胺劑量是 500 mg/m²/日(或 510 mg/m²/日、520 mg/m²/日、530 mg/m²/日、或 540 mg/m²/日)及氟達拉濱劑量是 5 mg/m²/日、10 mg/m²/日、15 mg/m²/日、20 mg/m²/日、25 mg/m²/日、30 mg/m²/日、35 mg/m²/日、40 mg/m²/日、45 mg/m²/日、50 mg/m²/日、55 mg/m²/日、60 mg/m²/日、65 mg/m²/日、70 mg/m²/日、或 75 mg/m²/日。

[0126] 在某些實施方式中，環磷醯胺劑量是 550 mg/m²/日(或 560 mg/m²/日、570 mg/m²/日、580 mg/m²/日、或 590 mg/m²/日)及氟達拉濱劑量是 5 mg/m²/日、10 mg/m²/日、15 mg/m²/日、20 mg/m²/日、25 mg/m²/日、30 mg/m²/日、35 mg/m²/日、40 mg/m²/日、45 mg/m²/日、50 mg/m²/日、55 mg/m²/日、60 mg/m²/日、65 mg/m²/日、70 mg/m²/日、或 75 mg/m²/日。

[0127] 在某些實施方式中，環磷醯胺劑量是 600 mg/m²/日(或 610 mg/m²/日、620 mg/m²/日、630 mg/m²/日、或 640 mg/m²/日)及氟達拉濱劑量是 5 mg/m²/日、10

mg/m²/日、15 mg/m²/日、20 mg/m²/日、25 mg/m²/日、30 mg/m²/日、35 mg/m²/日、40 mg/m²/日、45 mg/m²/日、50 mg/m²/日、55 mg/m²/日、60 mg/m²/日、65 mg/m²/日、70 mg/m²/日、或 75 mg/m²/日。

[0128] 在某些實施方式中，環磷醯胺劑量是 650 mg/m²/日(或 660 mg/m²/日、670 mg/m²/日、680 mg/m²/日、或 690 mg/m²/日)及氟達拉濱劑量是 5 mg/m²/日、10 mg/m²/日、15 mg/m²/日、20 mg/m²/日、25 mg/m²/日、30 mg/m²/日、35 mg/m²/日、40 mg/m²/日、45 mg/m²/日、50 mg/m²/日、55 mg/m²/日、60 mg/m²/日、65 mg/m²/日、70 mg/m²/日、或 75 mg/m²/日。

[0129] 在某些實施方式中，環磷醯胺劑量是 700 mg/m²/日(或 710 mg/m²/日、720 mg/m²/日、730 mg/m²/日、或 740 mg/m²/日)及氟達拉濱劑量是 5 mg/m²/日、10 mg/m²/日、15 mg/m²/日、20 mg/m²/日、25 mg/m²/日、30 mg/m²/日、35 mg/m²/日、40 mg/m²/日、45 mg/m²/日、50 mg/m²/日、55 mg/m²/日、60 mg/m²/日、65 mg/m²/日、70 mg/m²/日、或 75 mg/m²/日。

[0130] 在某些實施方式中，環磷醯胺劑量是 750 mg/m²/日(或 760 mg/m²/日、770 mg/m²/日、780 mg/m²/日、或 790 mg/m²/日)及氟達拉濱劑量是 5 mg/m²/日、10 mg/m²/日、15 mg/m²/日、20 mg/m²/日、25 mg/m²/日、30 mg/m²/日、35 mg/m²/日、40 mg/m²/日、45 mg/m²/日、50 mg/m²/日、55 mg/m²/日、60 mg/m²/日、65 mg/m²/日、70

mg/m²/日、或 75 mg/m²/日。

[0131] 在某些實施方式中，環磷醯胺劑量是 800 mg/m²/日(或 810 mg/m²/日、820 mg/m²/日、830 mg/m²/日、或 840 mg/m²/日)及氟達拉濱劑量是 5 mg/m²/日、10 mg/m²/日、15 mg/m²/日、20 mg/m²/日、25 mg/m²/日、30 mg/m²/日、35 mg/m²/日、40 mg/m²/日、45 mg/m²/日、50 mg/m²/日、55 mg/m²/日、60 mg/m²/日、65 mg/m²/日、70 mg/m²/日、或 75 mg/m²/日。

[0132] 在某些實施方式中，環磷醯胺劑量是 850 mg/m²/日(或 860 mg/m²/日、870 mg/m²/日、880 mg/m²/日、或 890 mg/m²/日)及氟達拉濱劑量是 5 mg/m²/日、10 mg/m²/日、15 mg/m²/日、20 mg/m²/日、25 mg/m²/日、30 mg/m²/日、35 mg/m²/日、40 mg/m²/日、45 mg/m²/日、50 mg/m²/日、55 mg/m²/日、60 mg/m²/日、65 mg/m²/日、70 mg/m²/日、或 75 mg/m²/日。

[0133] 在某些實施方式中，環磷醯胺劑量是 900 mg/m²/日(或 910 mg/m²/日、920 mg/m²/日、930 mg/m²/日、或 940 mg/m²/日)及氟達拉濱劑量是 5 mg/m²/日、10 mg/m²/日、15 mg/m²/日、20 mg/m²/日、25 mg/m²/日、30 mg/m²/日、35 mg/m²/日、40 mg/m²/日、45 mg/m²/日、50 mg/m²/日、55 mg/m²/日、60 mg/m²/日、65 mg/m²/日、70 mg/m²/日、或 75 mg/m²/日。

[0134] 在某些實施方式中，環磷醯胺劑量是 950 mg/m²/日(或 960 mg/m²/日、970 mg/m²/日、980 mg/m²/

日、或 $990 \text{ mg/m}^2/\text{日}$)及氟達拉濱劑量是 $5 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、 $10 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、 $15 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、 $20 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、 $25 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、 $30 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、 $35 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、 $40 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、 $45 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、 $50 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、 $55 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、 $60 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、 $65 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、 $70 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、或 $75 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 。

[0135] 在某些實施方式中，環磷醯胺劑量是 $1000 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ (或 $1010 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、 $1020 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、 $1030 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、或 $1040 \text{ mg/m}^2/\text{日}$)及氟達拉濱劑量是 $5 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、 $10 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、 $15 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、 $20 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、 $25 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、 $30 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、 $35 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、 $40 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、 $45 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、 $50 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、 $55 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、 $60 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、 $65 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、 $70 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、或 $75 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 。

[0136] 在其他實施方式中，環磷醯胺劑量是在 $100 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至 $650 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 之間，及氟達拉濱劑量是在 $10 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至 $50 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 之間。在其他實施方式中，環磷醯胺劑量是在 $150 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至 $600 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 之間，及氟達拉濱劑量是在 $20 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至 $50 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 之間。在其他實施方式中，環磷醯胺劑量是在 $200 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至 $550 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 之間，及氟達拉濱劑量是在 $20 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至 $40 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 之間。在其他實施方式中，環磷醯胺劑量是在 $250 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至 $550 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 之間，及氟達拉濱劑量是在 $15 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至 $45 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 之間。

[0137] 在某些實施方式中，環磷醯胺劑量是 $1000 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ ，及氟達拉濱劑量是 $60 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 、 $65 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 。

日、70 mg/m²/日、75 mg/m²/日、80 mg/m²/日、85 mg/m²/日、90 mg/m²/日、95 mg/m²/日、100 mg/m²/日、105 mg/m²/日、110 mg/m²/日、115 mg/m²/日、120 mg/m²/日、125 mg/m²/日、130 mg/m²/日、135 mg/m²/日、140 mg/m²/日、145 mg/m²/日、150 mg/m²/日、155 mg/m²/日、160 mg/m²/日、165 mg/m²/日、170 mg/m²/日、175 mg/m²/日、180 mg/m²/日、185 mg/m²/日、190 mg/m²/日、195 mg/m²/日、200 mg/m²/日、205 mg/m²/日、210 mg/m²/日、215 mg/m²/日、220 mg/m²/日、225 mg/m²/日、230 mg/m²/日、235 mg/m²/日、240 mg/m²/日、245 mg/m²/日、或 250 mg/m²/日。

[0138] 在某些實施方式中，環磷醯胺劑量是 200 mg/m²/日及氟達拉濱劑量是 20 mg/m²/日。在某些實施方式中，環磷醯胺劑量是 200 mg/m²/日及氟達拉濱劑量是 30 mg/m²/日。在某些實施方式中，環磷醯胺劑量是 300 mg/m²/日及氟達拉濱劑量是 30 mg/m²/日。在其他實施方式中，環磷醯胺劑量是 300 mg/m²/日及氟達拉濱劑量是 60 mg/m²/日。在其他實施方式中，環磷醯胺劑量是 500 mg/m²/日及氟達拉濱劑量是 30 mg/m²/日。在又其他實施方式中，環磷醯胺劑量是 500 mg/m²/日及氟達拉濱劑量是 60 mg/m²/日。在某些實施方式中，環磷醯胺劑量是約 1110 mg/m²/日及氟達拉濱劑量是 25 mg/m²/日。在某些實施方式中，環磷醯胺劑量是約 2000 mg/m²/日及氟達拉濱劑量是 25 mg/m²/日。在某些實施方式中，環磷醯胺劑量

是 30 mg/m²/日及氟達拉濱劑量是 25 mg/m²/日。

T 細胞療法

[0139] 本發明提供對患者投予環磷醯胺與氟達拉濱來調理患者以強化 T 細胞療法有效性的方法。通常由於調理方案可以透過引入能有利於 T 細胞之體內恆定性增殖、活化與運輸的分子來改良免疫環境，所以各種不同的 T 細胞療法可以從此處所述之調理方法獲益。該領域之習知技藝者會理解可以將該調理方案施加於任何治療患者的方法，該方法包含對該患者投予一或多種 T 細胞。

[0140] 例如，及在沒有限制下，此處所述之調理方案可以強化 T 細胞療法有效性，該 T 細胞療法可為選自由下列所組成的群組之過繼性 T 細胞療法：腫瘤浸潤淋巴球 (TIL) 免疫療法、自體細胞療法、工程化自體細胞療法 (eACT)、同種異體 T 細胞移植法、非 T 細胞移植法、與其任何組合。過繼性 T 細胞療法大體上包括將能識別且結合至腫瘤細胞之自體或同種異體 T 細胞選出、在體外濃化、及對患者投予的任何方法。TIL 免疫療法是一種過繼性 T 細胞法，其中將能浸潤腫瘤組織的淋巴球單離、在體外濃化、及對患者投予。TIL 細胞可為自體的或同種異體的。自體細胞療法是一種過繼性 T 細胞療法，其包含從患者中單離能靶向腫瘤細胞之 T 細胞、在體外將該 T 細胞濃化、及將該 T 細胞投予回同一患者。同種異體 T 細胞移植法可包括在生體外 (ex vivo) 增殖的天然 T 細胞或基因工程

化 T 細胞。如上面詳細說明的，工程化自體細胞療法是一種過繼性 T 細胞療法，其中將患者之淋巴球單離、基因改造以表現腫瘤靶向分子、在體外增殖、及投予回同一患者。非 T 細胞移植法可包括利用非 T 細胞(例如但不限於自然殺手(NK)細胞)的自體或同種異體療法。

[0141] 在一個特定實施方式中，本發明之 T 細胞療法是工程化自體細胞療法(eACT™)。根據此實施方式，該方法可包括在投予環磷醯胺及氟達拉濱前從該患者採集血球。然後將經單離血球(例如 T 細胞)工程化以表現嵌合抗原受體(「工程化 CAR T 細胞」)或 T 細胞受體(「工程化 TCR T 細胞」)。在一個特定實施方式中，在投予環磷醯胺及氟達拉濱後對該患者投予工程化 CAR T 細胞或工程化 TCR T 細胞。在某些實施方式中，工程化 T 細胞治療患者中的腫瘤。

[0142] 在一個實施方式中，可將 T 細胞工程化以表現嵌合抗原受體。該嵌合抗原受體可包含至腫瘤抗原的結合分子。該結合分子可為其抗體或抗原結合分子。例如，該抗原結合分子可選自 scFv、Fab、Fab'、Fv、F(ab')₂、與 dAb、及其任何片段或組合。

[0143] 嵌合抗原受體可另外包含絞鏈區。該絞鏈區可由下列的絞鏈區衍生：IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgD、IgE、IgM、CD28、或 CD8 α 。在一個特定實施方式中，該絞鏈區是由 IgG4 之絞鏈區衍生。

[0144] 嵌合抗原受體還可包含跨膜功能域。跨膜功

能域可為任何跨膜分子(在免疫細胞上的輔受體)之跨膜功能域或免疫球蛋白超家族一員的跨膜功能域。在某些實施方式中，該跨膜功能域係由下列的跨膜功能域衍生：CD28、CD8 α 、CD4、或 CD19。在一個特定實施方式中，該跨膜功能域包含由 CD28 跨膜功能域衍生之功能域。

[0145] 嵌合抗原受體可另外包含一或多種共刺激訊息傳遞區。例如，共刺激訊息傳遞區可為 CD28、OX-40、41BB、CD27、可誘發 T 細胞共刺激因子(ICOS)、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD247、Ig α (CD79a)、或 Fc γ 受體的訊息傳遞區。在一個特定實施方式中，該共刺激訊息傳遞區是 CD28 訊息傳遞區。

[0146] 在一個實施方式中，該嵌合抗原受體另外包含 CD3 ζ 訊息傳遞功能域。

[0147] 可將嵌合抗原受體工程化以靶向特定腫瘤抗原。在某些實施方式中，該腫瘤抗原係選自 CD19、CD20、ROR1、CD22、癌胚抗原、 α -胎兒蛋白、CA-125、5T4、MUC-1、上皮腫瘤抗原、前列腺特異性抗原、黑色素瘤相關抗原、突變 p53、突變 ras、HER2/Neu、葉酸結合蛋白、HIV-1 外套膜糖蛋白 gp120、HIV-1 外套膜糖蛋白 gp41、GD2、CD123、CD33、CD138、CD23、CD30、CD56、c-Met、間皮素(mesothelin)、GD3、HERV-K、IL-11R α 、 κ 鏈、 λ 鏈、CSPG4、ERBB2、EGFRvIII、VEGFR2、HER2-HER3 組合、HER1-HER2 組合、及其任何組合。在一個特定實施方式中，該腫瘤抗原

是 CD19。

[0148] 在另一個實施方式中，該 T 細胞療法包含對患者投予表現 T 細胞受體之工程化 T 細胞(「工程化 TCR T 細胞」)。該 T 細胞受體(TCR)可包含至腫瘤抗原的結合分子。在某些實施方式中，該腫瘤抗原係選自由下列所組成之群組：CD19、CD20、ROR1、CD22、癌胚抗原、 α -胎兒蛋白、CA-125、5T4、MUC-1、上皮腫瘤抗原、前列腺特異性抗原、黑色素瘤相關抗原、突變 p53、突變 ras、HER2/Neu、葉酸結合蛋白、HIV-1 外套膜糖蛋白 gp120、HIV-1 外套膜糖蛋白 gp41、GD2、CD123、CD33、CD138、CD23、CD30、CD56、c-Met、間皮素(mesothelin)、GD3、HERV-K、IL-11R α 、 κ 鏈、 λ 鏈、CSPG4、ERBB2、EGFRvIII、VEGFR2、HER2-HER3 組合、HER1-HER2 組合、及其任何組合。

[0149] 在一個實施方式中，該 TCR 包含至病毒致癌基因的結合分子。在一個特定實施方式中，該病毒致癌基因係選自人類乳突病毒(HPV)、艾司坦-巴爾病毒(EBV)、與人類嗜 T 淋巴球病毒(HTLV)。

[0150] 在又一個實施方式中，該 TCR 包含至睪丸、胎盤、或胎兒腫瘤抗原的結合分子。在一個特定實施方式中，該睪丸、胎盤、或胎兒腫瘤抗原係選自由下列所組成之群組：NY-ESO-1、滑膜肉瘤 X 斷點 2(SSX2)、黑色素瘤抗原(MAGE)、及其任何組合。

[0151] 在另一個實施方式中，該 TCR 包含至譜系特

異性抗原的結合分子。在一個特定實施方式中，該譜系特異性抗原係選自由下列所組成之群組：由 T 細胞識別之黑色素瘤抗原 1(MART-1)、gp100、前列腺特異性抗原(PSA)、前列腺特異性膜抗原(PSMA)、與前列腺幹細胞抗原(PSCA)、及其任何組合。

[0152] 在一個實施方式中，該 T 細胞療法包含對患者投予工程化 CAR T 細胞，該工程化 CAR T 細胞表現嵌合抗原受體，該嵌合抗原受體結合至 CD19 及另外包含 CD28 共刺激功能域與 CD3 ζ 訊息傳遞區。在一個特定實施方式中，該 T 細胞療法包含對患者投予 KTE-C19。

[0153] 本發明所包括的 T 細胞療法包含將 T 細胞轉移至患者。可在治療有效量下投予 T 細胞。例如，治療有效量之 T 細胞(例如，工程化 CAR+T 細胞或工程化 TCR+T 細胞)可為至少約 10^4 個細胞、至少約 10^5 個細胞、至少約 10^6 個細胞、至少約 10^7 個細胞、至少約 10^8 個細胞、至少約 10^9 個細胞、或至少約 10^{10} 個細胞。在另一個實施方式中，治療有效量之 T 細胞(例如，工程化 CAR+T 細胞或工程化 TCR+T 細胞)是約 10^4 個細胞、約 10^5 個細胞、約 10^6 個細胞、約 10^7 個細胞、或約 10^8 個細胞。在一個特定實施方式中，治療有效量之 T 細胞(例如，工程化 CAR+T 細胞或工程化 TCR+T 細胞)是約 1×10^5 個細胞/kg、約 2×10^5 個細胞/kg、約 3×10^5 個細胞/kg、約 4×10^5 個細胞/kg、約 5×10^5 個細胞/kg、約 6×10^5 個細胞/kg、約 7×10^5 個細胞/kg、約 8×10^5 個細胞/kg、約 9×10^5 個細胞

/kg、約 1×10^6 個細胞/kg、約 2×10^6 個細胞/kg、約 3×10^6 個細胞/kg、約 4×10^6 個細胞/kg、約 5×10^6 個細胞/kg、約 6×10^6 個細胞/kg、約 7×10^6 個細胞/kg、約 8×10^6 個細胞/kg、約 9×10^6 個細胞/kg、約 1×10^7 個細胞/kg、約 2×10^7 個細胞/kg、約 3×10^7 個細胞/kg、約 4×10^7 個細胞/kg、約 5×10^7 個細胞/kg、約 6×10^7 個細胞/kg、約 7×10^7 個細胞/kg、約 8×10^7 個細胞/kg、或約 9×10^7 個細胞/kg。在一個特定實施方式中，治療有效量之 T 細胞(例如，工程化 CAR+T 細胞或工程化 TCR+T 細胞)是約 2×10^6 個細胞/kg。

[0154] 在其他實施方式中，治療有效量之 T 細胞(例如，工程化 CAR+T 細胞或工程化 TCR+T 細胞)是從約 1.0×10^5 個細胞/kg 至約 2×10^8 個細胞/kg、從約 2.0×10^5 個細胞/kg 至約 2×10^8 個細胞/kg、從約 3.0×10^5 個細胞/kg 至約 2×10^8 個細胞/kg、從約 4.0×10^5 個細胞/kg 至約 2×10^8 個細胞/kg、從約 5.0×10^5 個細胞/kg 至約 2×10^8 個細胞/kg、從約 6.0×10^5 個細胞/kg 至約 2×10^8 個細胞/kg、從約 7.0×10^5 個細胞/kg 至約 2×10^8 個細胞/kg、從約 8.0×10^5 個細胞/kg 至約 2×10^8 個細胞/kg、從約 9.0×10^5 個細胞/kg 至約 2×10^8 個細胞/kg、從約 0.5×10^6 個細胞/kg 至約 2×10^8 個細胞/kg、從約 2×10^6 個細胞/kg 至約 9×10^7 個細胞/kg、從約 3×10^6 個細胞/kg 至約 9×10^7 個細胞/kg、從約 4×10^6 個細胞/kg 至約 9×10^7 個細胞/kg、從約 5×10^6 個細胞/kg 至約 9×10^7 個細胞/kg、從約 6×10^6 個細胞/kg 至約 9×10^7 個細胞/kg。

/kg、從約 7×10^6 個細胞/kg 至約 9×10^7 個細胞/kg、從約 8×10^6 個細胞/kg 至約 9×10^7 個細胞/kg、從約 9×10^6 個細胞/kg 至約 9×10^7 個細胞/kg、從約 1×10^7 個細胞/kg 至約 9×10^7 個細胞/kg、從約 2×10^7 個細胞/kg 至約 9×10^7 個細胞/kg、從約 3×10^7 個細胞/kg 至約 9×10^7 個細胞/kg、從約 4×10^7 個細胞/kg 至約 9×10^7 個細胞/kg、從約 5×10^7 個細胞/kg 至約 9×10^7 個細胞/kg、從約 6×10^7 個細胞/kg 至約 9×10^7 個細胞/kg、從約 7×10^7 個細胞/kg 至約 9×10^7 個細胞/kg、從約 8×10^7 個細胞/kg 至約 9×10^7 個細胞/kg、從約 2×10^6 個細胞/kg 至約 8×10^7 個細胞/kg、從約 2×10^6 個細胞/kg 至約 7×10^7 個細胞/kg、從約 2×10^6 個細胞/kg 至約 6×10^7 個細胞/kg、從約 2×10^6 個細胞/kg 至約 5×10^7 個細胞/kg、從約 2×10^6 個細胞/kg 至約 4×10^7 個細胞/kg、從約 2×10^6 個細胞/kg 至約 3×10^7 個細胞/kg、從約 2×10^6 個細胞/kg 至約 2×10^7 個細胞/kg、從約 2×10^6 個細胞/kg 至約 1×10^7 個細胞/kg、從約 2×10^6 個細胞/kg 至約 9×10^6 個細胞/kg、從約 2×10^6 個細胞/kg 至約 8×10^6 個細胞/kg、從約 2×10^6 個細胞/kg 至約 7×10^6 個細胞/kg、從約 2×10^6 個細胞/kg 至約 6×10^6 個細胞/kg、從約 2×10^6 個細胞/kg 至約 5×10^6 個細胞/kg、從約 2×10^6 個細胞/kg 至約 4×10^6 個細胞/kg、從約 2×10^6 個細胞/kg 至約 3×10^6 個細胞/kg、從約 3×10^6 個細胞/kg 至約 8×10^7 個細胞/kg、從約 4×10^6 個細胞/kg 至約 7×10^7 個細胞/kg、從約 5×10^6 個細胞/kg 至約 6×10^7 個細胞/kg、從約 6×10^6 個細胞/kg 至約 5×10^7 個細胞

/kg、從約 7×10^6 個細胞/kg 至約 4×10^7 個細胞/kg、從約 8×10^6 個細胞/kg 至約 3×10^7 個細胞/kg、或從約 9×10^6 個細胞/kg 至約 2×10^7 個細胞/kg。在一個實施方式中，治療有效量之工程化 CAR T 細胞是從約 0.8×10^6 個細胞/kg 至約 1.2×10^6 個 T 細胞/kg。在一個特定實施方式中，治療有效量之工程化 CAR T 細胞是 2.0×10^5 個細胞/kg。在一個特定實施方式中，治療有效量之工程化 CAR T 細胞是 1.0×10^6 個細胞/kg。

細胞激素量

[0155] 本發明描述一種調理需要 T 細胞療法之患者的方法，該方法包含對該患者投予環磷醯胺及氟達拉濱。在投予 T 細胞療法前投予環磷醯胺與氟達拉濱使內源性細胞激素量增加，以有利於 T 細胞之體內恆定性增殖、活化與運輸的方式改良免疫環境。一旦對患者投予經過繼性轉移之 T 細胞，該 T 細胞便暴露於增加的內源性細胞激素量。

[0156] 在投予環磷醯胺與氟達拉濱後可在患者血清中將各種細胞激素濃化。在某些實施方式中，該患者在投予環磷醯胺及氟達拉濱與/或 T 細胞療法後顯出增加的細胞激素或促發炎因子血清濃度，該細胞激素或促發炎因子選自：介白素 (IL)15、IL-7、IL-10、IL-5、IL-8、IL-1、IL-1b、IL-2、IL-3、IL-4、IL-6、IL-9、IL-11、IL-12、IL-12p40、IL-12p70、IL-13、IL-14、IL-16、IL-17、IL-

17a、IL-20、IL-21、顆粒球巨噬細胞集落刺激因子(GM-CSF)、顆粒球集落刺激因子(G-CSF)、單核球趨化性蛋白1(MCP-1)、MCP-4、 γ 誘導蛋白10(IP-10)、胎盤生長因子(PLGF)、可溶性細胞間黏著分子1(sICAM-1)、可溶性血管黏著分子1(sVCAM-1)、C-反應蛋白(CRP)、血管內皮生長因子(VEGF)、VEGF-C、VEGF-D、巨噬細胞發炎蛋白1 β (MIP-1 β ，MIP-1b)、白血病抑制因子(LIF)、制瘤素M(OSM)、干擾素(IFN) α 、IFN- β 、IFN- γ 、腫瘤壞死因子(TNF) α 、TNF- β 、CD154、淋巴毒素(LT) β 、4-1BB配體(4-1BBL)、增生誘發配體(APRIL)、CD70、CD153、CD178、糖皮質素誘發性TNFR相關配體(GITRL)、腫瘤壞死因子超家族成員14(TNFSF14)、OX40L、TNF-與ApoL-相關白血球表現性配體1(TALL-1)、TNF相關細胞凋亡誘發配體(TRAIL)、趨化因子(C-C模體)配體(CCL)1、巨噬細胞發炎蛋白1 α (MIP-1a或CCL3)、CCL5、單核球特異性趨化因子3(MCP-3或CCL7)、單核球化學吸引因子(chemoattractant)蛋白2(MCP-2或CCL8)、CCL13、胸腺及活化調節趨化因子(TARC或CCL17)、CCL22、FGF2、伊紅趨素、MDC、granzine A、granzine B、穿孔素、SAA、MCP-4、及其任何組合。在某些實施方式中，該患者在投予環磷醯胺及氟達拉濱後顯出IL-15與/或IP-10之增加的血清量。在某些實施方式中，該患者在投予環磷醯胺及氟達拉濱後顯出穿孔素之減

少的血清量。

[0157] 在某些實施方式中，本發明包括一種使需要 T 細胞療法之患者中的體內恆定性細胞激素有效性增加的方法。在某些實施方式中，該體內恆定性細胞激素是介白素 7(IL-7)、介白素 15(IL-15)、介白素 10(IL-10)、介白素 5(IL-5)、 γ 誘導蛋白 10(IP-10)、介白素 8(IL-8)、單核球趨化性蛋白 1(MCP-1)、胎盤生長因子(PLGF)、C-反應蛋白(CRP)、可溶性細胞間黏著分子 1(sICAM-1)、可溶性血管黏著分子 1(sVCAM-1)、或其任何組合物。

[0158] 在一個實施方式中，該患者中 IL-7 血清量在投予環磷醯胺及氟達拉濱後比在投予前的 IL-7 血清量增加到至少 2 倍、至少 3 倍、至少 4 倍、至少 5 倍、至少 10 倍、至少 15 倍、至少 20 倍、至少 25 倍、至少 30 倍、至少 35 倍、至少 40 倍、至少 45 倍、至少 50 倍、至少 60 倍、至少 70 倍、至少 80 倍、或至少 90 倍。在一個特定實施方式中，IL-7 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前的 IL-7 血清量增加至少約 2 倍。在另一個實施方式中，對該患者投予外源 IL-7 使 IL-7 量增加。在一個特定實施方式中，對該患者投予環磷醯胺、氟達拉濱、與外源 IL-7 使 IL-7 量增加。

[0159] 在一個實施方式中，該患者中 IL-15 血清量在投予環磷醯胺及氟達拉濱後比在投予前的 IL-15 血清量增加到至少 5 倍、至少 10 倍、至少 15 倍、至少 20 倍、至少 25 倍、至少 30 倍、至少 35 倍、至少 40 倍、至少 45

倍、至少 50 倍、至少 60 倍、至少 70 倍、至少 80 倍、或至少 90 倍。在一個特定實施方式中，IL-15 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前之 IL-15 血清量增加至少約 10 倍。在另一個實施方式中，IL-15 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前的 IL-15 血清量增加至少約 20 倍。在另一個實施方式中，IL-15 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前之 IL-15 血清量增加至少約 30 倍。在另一個實施方式中，對該患者投予外源 IL-15 使 IL-15 量增加。在一個特定實施方式中，對該患者投予環磷醯胺、氟達拉濱、與外源 IL-15 使 IL-15 量增加。

[0160] 在一個實施方式中，該患者中 IL-10 血清量在投予環磷醯胺及氟達拉濱後比在投予前的 IL-10 血清量增加到至少 2 倍、至少 3 倍、至少 4 倍、至少 5 倍、至少 6 倍、至少 7 倍、至少 8 倍、至少 9 倍、至少 10 倍、或至少 20 倍。在一個特定實施方式中，IL-10 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前之 IL-10 血清量增加至少約 2 倍。在另一個實施方式中，IL-10 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前的 IL-10 血清量增加至少約 3 倍。在另一個實施方式中，IL-10 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前之 IL-10 血清量增加至少約 5 倍。在另一個實施方式中，IL-10 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前的 IL-10 血清量增加至少約 20 倍。在另一個實施方式中，對該患者投予外源 IL-10 使 IL-10 量增加。在一個特定實施方式中，對該患者投予環磷醯胺、氟達拉濱、與外源 IL-10 使 IL-10 量增加。

[0161] 在一個實施方式中，該患者中 IL-5 血清量在投予環磷醯胺及氟達拉濱後比在投予前的 IL-5 血清量增加到至少 2 倍、至少 3 倍、至少 4 倍、至少 5 倍、至少 6 倍、至少 7 倍、至少 8 倍、至少 9 倍、至少 10 倍、至少 15 倍、至少 20 倍、至少 30 倍、至少 40 倍、至少 50 倍、至少 60 倍、至少 70 倍、至少 80 倍、至少 90 倍、或至少 100 倍。在一個特定實施方式中，IL-5 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前之 IL-5 血清量增加至少約 5 倍。在另一個實施方式中，IL-5 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前的 IL-5 血清量增加至少約 10 倍。在另一個實施方式中，IL-5 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前之 IL-5 血清量增加至少約 30 倍。在另一個實施方式中，IL-5 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前的 IL-5 血清量增加至少約 100 倍。在另一個實施方式中，對該患者投予外源 IL-5 使 IL-5 量增加。在一個特定實施方式中，對該患者投予環磷醯胺、氟達拉濱、與外源 IL-5 使 IL-5 量增加。

[0162] 在一個實施方式中，該患者中 IP-10 血清量在投予環磷醯胺及氟達拉濱後比在投予前的 IP-10 血清量增加到至少 2 倍、至少 3 倍、至少 4 倍、至少 5 倍、至少 6 倍、至少 7 倍、至少 8 倍、至少 9 倍、至少 10 倍、至少 15 倍、至少 20 倍、或至少 30 倍。在一個特定實施方式中，IP-10 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前之 IP-10 血清量增加至少約 2 倍。在另一個實施方式中，IP-10 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前的 IP-10 血清量增加至少約

3 倍。在另一個實施方式中，IP-10 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前之 IP-10 血清量增加至少約 4 倍。在另一個實施方式中，IP-10 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前的 IP-10 血清量增加至少約 7 倍。在另一個實施方式中，對該患者投予外源 IP-10 使 IP-10 量增加。在一個特定實施方式中，對該患者投予環磷醯胺、氟達拉濱、與外源 IP-10 使 IP-10 量增加。

[0163] 在一個實施方式中，該患者中 IL-8 血清量在投予環磷醯胺及氟達拉濱後比在投予前的 IL-8 血清量增加到至少 2 倍、至少 5 倍、至少 10 倍、至少 15 倍、至少 20 倍、至少 25 倍、至少 30 倍、至少 35 倍、至少 40 倍、至少 45 倍、至少 50 倍、至少 60 倍、至少 70 倍、至少 80 倍、至少 90 倍、或至少 100 倍。在一個特定實施方式中，IL-8 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前之 IL-8 血清量增加至少約 2 倍。在另一個實施方式中，IL-8 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前的 IL-8 血清量增加至少約 5 倍。在另一個實施方式中，IL-8 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前之 IL-8 血清量增加至少約 10 倍。在另一個實施方式中，IL-8 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前的 IL-8 血清量增加至少約 20 倍。在另一個實施方式中，IL-8 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前之 IL-8 血清量增加至少約 40 倍。在另一個實施方式中，IL-8 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前的 IL-8 血清量增加至少約 60 倍。在另一個實施方式中，對該患者投予外源 IL-8 使 IL-8 量增加。

在一個特定實施方式中，對該患者投予環磷醯胺、氟達拉濱、與外源 IL-8 使 IL-8 量增加。

[0164] 在一個實施方式中，該患者中 MCP-1 血清量在投予環磷醯胺及氟達拉濱後比在投予前的 MCP-1 血清量增加到至少 1.5 倍、至少 2 倍、至少 3 倍、至少 4 倍、至少 5 倍、至少 6 倍、至少 7 倍、至少 8 倍、至少 9 倍、至少 10 倍、至少 15 倍、或至少 20 倍。在一個特定實施方式中，MCP-1 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前之 MCP-1 血清量增加至少約 2 倍。在另一個實施方式中，MCP-1 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前的 MCP-1 血清量增加至少約 3 倍。在另一個實施方式中，MCP-1 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前之 MCP-1 血清量增加至少約 5 倍。在另一個實施方式中，MCP-1 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前的 MCP-1 血清量增加至少約 7 倍。在另一個實施方式中，對該患者投予外源 MCP-1 使 MCP-1 量增加。在一個特定實施方式中，對該患者投予環磷醯胺、氟達拉濱、與外源 MCP-1 使 MCP-1 量增加。

[0165] 在一個實施方式中，該患者中 PLGF 血清量在投予環磷醯胺及氟達拉濱後比在投予前的 PLGF 血清量增加到至少 1.5 倍、至少 2 倍、至少 3 倍、至少 4 倍、至少 5 倍、至少 10 倍、至少 15 倍、至少 20 倍、至少 25 倍、至少 30 倍、至少 35 倍、至少 40 倍、至少 45 倍、至少 50 倍、至少 60 倍、至少 70 倍、至少 80 倍、至少 90 倍、或至少 100 倍。在一個特定實施方式中，PLGF 量比

在投予環磷醯胺及氟達拉濱前之 PLGF 血清量增加至少約 1.5 倍。在另一個實施方式中，PLGF 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前的 PLGF 血清量增加至少約 2 倍。在另一個實施方式中，PLGF 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前之 PLGF 血清量增加至少約 3 倍。在另一個實施方式中，對該患者投予外源 PLGF 使 PLGF 量增加。在一個特定實施方式中，對該患者投予環磷醯胺、氟達拉濱、與外源 PLGF 使 PLGF 量增加。

[0166]. 在一個實施方式中，該患者中 CRP 血清量在投予環磷醯胺及氟達拉濱後比在投予前的 CRP 血清量增加到至少 1.5 倍、至少 2 倍、至少 3 倍、至少 4 倍、至少 5 倍、至少約 9 倍、至少 10 倍、至少 15 倍、至少 20 倍、至少 25 倍、至少 30 倍、至少 35 倍、至少 40 倍、至少 45 倍、至少 50 倍、至少 60 倍、至少 70 倍、至少 80 倍、至少 90 倍、或至少 100 倍。在一個特定實施方式中，CRP 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前之 CRP 血清量增加至少約 1.5 倍。在另一個實施方式中，CRP 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前的 CRP 血清量增加至少約 2 倍。在另一個實施方式中，CRP 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前之 CRP 血清量增加至少約 5 倍。在另一個實施方式中，CRP 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前之 CRP 血清量增加至少約 9 倍。在另一個實施方式中，CRP 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前之 CRP 血清量增加至少約 10 倍。在另一個實施方式中，CRP 量比在投予環磷醯胺

及氟達拉濱前之 CRP 血清量增加至少約 25 倍。在另一個實施方式中，對該患者投予外源 CRP 使 CRP 量增加。在一個特定實施方式中，對該患者投予環磷醯胺、氟達拉濱、與外源 CRP 使 CRP 量增加。

[0167] 在一個實施方式中，該患者中 sICAM-1 血清量在投予環磷醯胺及氟達拉濱後比在投予前的 sICAM-1 血清量增加到至少 1.5 倍、至少 2 倍、至少 3 倍、至少 4 倍、至少 5 倍、至少 6 倍、至少 7 倍、至少 8 倍、至少 9 倍、至少 10 倍、至少 15 倍、至少 20 倍、至少 25 倍、或至少 30 倍。在一個特定實施方式中，sICAM-1 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前之 sICAM-1 血清量增加至少約 1.5 倍。在另一個實施方式中，sICAM-1 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前的 sICAM-1 血清量增加至少約 2 倍。在另一個實施方式中，sICAM-1 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前之 sICAM-1 血清量增加至少約 3 倍。在另一個實施方式中，sICAM-1 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前之 sICAM-1 血清量增加至少約 4 倍。在另一個實施方式中，對該患者投予外源 sICAM-1 使 sICAM-1 量增加。在一個特定實施方式中，對該患者投予環磷醯胺、氟達拉濱、與外源 sICAM-1 使 sICAM-1 量增加。

[0168] 在一個實施方式中，該患者中 sVCAM-1 血清量在投予環磷醯胺及氟達拉濱後比在投予前的 sVCAM-1 血清量增加到至少 1.5 倍、至少 2 倍、至少 2.5 倍、至少 3 倍、至少 3.5 倍、至少 4 倍、至少 4.5 倍、或至少 5

倍。在一個特定實施方式中，sVCAM-1 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前之 sVCAM-1 血清量增加至少約 1.5 倍。在另一個實施方式中，sVCAM-1 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前的 sVCAM-1 血清量增加至少約 2 倍。在另一個實施方式中，sVCAM-1 量比在投予環磷醯胺及氟達拉濱前之 sVCAM-1 血清量增加至少約 3 倍。在另一個實施方式中，對該患者投予外源 sVCAM-1 使 sVCAM-1 量增加。在一個特定實施方式中，對該患者投予環磷醯胺、氟達拉濱、與外源 sVCAM-1 使 sVCAM-1 量增加。

[0169] 在某些實施方式中，可把在投予環磷醯胺及氟達拉濱後的一或多種細胞激素量用來預測患者對 T 細胞療法將如何反應。例如，在投予環磷醯胺及氟達拉濱後特定細胞激素增加可指出患者較有可能對 T 細胞療法有反應。在另一個實例中，在投予環磷醯胺及氟達拉濱後特定細胞激素量減少或無變化可指出患者較不可能對 T 細胞療法有反應。也可能在投予環磷醯胺及氟達拉濱後一或多種細胞激素增加而一或多種不同的細胞激素減少可指出患者較有可能或較不可能對 T 細胞療法有反應。以該方式，患者的細胞激素剖析可指示對 T 細胞療法之反應性。

[0170] 在某些實施方式中，在投予環磷醯胺及氟達拉濱後 IL-15 量增加多於約 3 倍、多於約 4 倍、多於約 5 倍、多於約 10 倍、多於約 15 倍、或多於約 20 倍指出患者較有可能對 T 細胞療法有反應。在其他實施方式中，在投予環磷醯胺及氟達拉濱後 IP-10 量增加多於約 2 倍、多

於約 3 倍、多於約 4 倍、多於約 5 倍、或多於約 6 倍指出患者較有可能對 T 細胞療法有反應。在又一個實施方式中，在投予環磷醯胺及氟達拉濱後 MIP-1b 量減少指出患者較不可能對 T 細胞療法有反應。

[0171] 在某些實施方式中，在投予環磷醯胺及氟達拉濱前的一或多日及在從投予環磷醯胺及氟達拉濱日至投予環磷醯胺及氟達拉濱後的 21 日期間選出之一或多日測量任何一或多種細胞激素之血清量。

[0172] 本發明之一個實施方式包括一種使需要 T 細胞療法之患者中的體內恆定性細胞激素有效性增加的方法。本發明之另一個實施方式包括一種改良 T 細胞療法的效果之方法，該方法包含對患者投予使選自下列的一或多種體內恆定性細胞激素、促發炎細胞激素或趨化因子量增加之治療：IL-15、IL-7、IL-10、IL-5、IP-10、IL-8、MCP-1、PLGF、CRP、sICAM-1、與 sVCAM-1。該領域之習知技藝者會認識到可利用許多不同方法使體內恆定性細胞激素量增加，該方法包括但不限於：如此處所述之使用環磷醯胺及氟達拉濱、對患者投予一或多種外源性細胞激素、投予誘發一或多種內源性細胞激素的表現或防止其降解之一或多種組成物、投予一或多種能表現一或多種重組細胞激素的轉基因細胞、及具有使患者中內源性細胞激素量增加之效果的任何其他方法。

[0173] 在某些實施方式中，本發明包括一種調理需要 T 細胞療法之患者的方法，該方法包含對患者投予環磷

鹽胺與氟達拉濱及一或多劑的經單離或重組細胞激素。該經單離或重組細胞激素可為任何細胞激素。在一個實施方式中，該細胞激素是體內恆定性細胞激素。在另一個實施方式中，該細胞激素是促發炎細胞激素。在又一個實施方式中，該細胞激素是趨化因子。在一個特定實施方式中，該調理需要 T 細胞療法之患者的方法包含對患者投予環磷鹽胺與氟達拉濱及一或多劑的經單離或重組細胞激素，其中該細胞激素係選自 IL-2、IL-15、IL-7、IL-10、IL-5、IP-10、IL-8、MCP-1、PLGF、CRP、sICAM-1、sVCAM-1、及其任何組合(例如 IL-15、IL-7、IP-10、MCP-1、CRP、與 PLGF)。該一或多劑的經單離或重組細胞激素可在 T 細胞療法前、或在 T 細胞療法後、或其任何組合投予。

[0174] 在一個實施方式中，該調理需要 T 細胞療法之患者的方法包含對患者投予環磷鹽胺與氟達拉濱及一或多劑 IL-2。在某些實施方式中，該 IL-2 劑量是至少約 10,000 IU/kg、至少約 50,000 IU/kg、至少約 100,000 IU/kg、至少約 200,000 IU/kg、至少約 400,000 IU/kg、至少約 600,000 IU/kg、至少約 700,000 IU/kg、至少約 800,000 IU/kg、或至少約 1,000,000 IU/kg。在一個實施方式中，該 IL-2 劑量是至少約 700,000 IU/kg。在一個特定實施方式中，該 IL-2 劑量是約 720,000 IU/kg。在某些實施方式中，每 8 小時對患者投予 IL-2 直到 15 劑或毒性阻礙額外的給藥為止。

癌症治療

[0175] 本發明之方法可被用來治療個體中的癌症、使腫瘤大小減少、殺死腫瘤細胞、防止腫瘤細胞增生、防止腫瘤生長、從患者消除腫瘤、防止腫瘤復發、防止腫瘤轉移、誘發患者中的緩解、或其任何組合。在某些實施方式中，該方法誘發完全反應。在其他實施方式中，該方法誘發部分反應。

[0176] 可治療之癌症包括未血管化的、尚未實質血管化的、或血管化的腫瘤。該癌症還可包括實性瘤或非實性瘤。在某些實施方式中，該癌症可選自由下列衍生之腫瘤：骨癌、胰腺癌、皮膚癌、頭或頸癌、皮膚或眼球內惡性黑色素瘤、子宮癌、卵巢癌、直腸癌、肛門部癌、胃癌、睪丸癌、子宮癌、輸卵管癌、子宮內膜癌、子宮頸癌、陰道癌、陰門癌、何杰金(Hodgkin)氏病、富 T 細胞 B 細胞淋巴瘤(TCRBCL)、原發性縱膈腔大 B 細胞淋巴瘤(PMBCL)、非何杰金氏淋巴瘤、食道癌、小腸癌、內分泌系統癌、甲狀腺癌、副甲狀腺癌、腎上腺癌、軟組織肉瘤、尿道癌、陰莖癌、慢性或急性白血症、急性骨髓性白血症、慢性骨髓性白血症、急性淋巴母細胞白血症、慢性淋巴球性白血症、兒童實性瘤、淋巴球性淋巴瘤、膀胱癌、腎或輸尿管癌、腎盂癌、中樞神經系統(CNS)癌瘤、原發性 CNS 淋巴瘤、腫瘤血管生成、脊髓軸瘤、腦幹膠質瘤、垂體腺瘤、卡波西氏(Karposi's)肉瘤、表皮樣癌、

鱗狀細胞癌、T 細胞淋巴瘤、環境誘發性癌(包括石棉誘發性癌)、及以上癌之組合。

[0177] 在一個實施方式中，該方法可被用來治療腫瘤，其中該腫瘤是淋巴瘤或白血病。淋巴瘤與白血病是特異性侵襲淋巴球之血液癌。血液中的一切白血球起源於一種在骨髓中發現之多潛能造血幹細胞。此幹細胞產生骨髓前驅細胞與淋巴前驅細胞，然後衍生在體內發現的各種白血球。起源於骨髓前驅細胞之白血球包括 T 淋巴球(T 細胞)、B 淋巴球(B 細胞)、自然殺手細胞、與漿細胞。起源於淋巴前驅細胞的白血球包括巨核細胞、肥胖細胞、嗜鹼細胞、嗜中性白血球、嗜酸性白血球、單核球、與巨噬細胞。淋巴瘤與白血病可侵襲患者中的這些細胞種類中一或多者。

[0178] 通常，淋巴瘤可分成至少二個子群：何杰金(Hodgkin)氏淋巴瘤與非何杰金氏淋巴瘤。非何杰金氏淋巴瘤(NHL)是在 B 淋巴球、T 淋巴球或自然殺手細胞中起源之癌症的一個異質群。在美國，B 細胞淋巴瘤相當於被報告病例的 80 至 85%。在 2013 年，估計發生大約 69,740 個新 NHL 病例與超過 19,000 個與此疾病有關之死亡例。非何杰金氏淋巴瘤是最盛行的血液惡性腫瘤且為男性與女性新增癌症病例之第七位及佔所有新增癌症病例的 4%和佔與癌症有關之死亡例的 3%。

[0179] 瀰漫性大型 B 細胞淋巴瘤(DLBCL)是最常見之 NHL 亞類，佔 NHL 病例的約 30%。在美國，每年有約

22,000 個新增 DLBCL 確診病例。該新增 DLBCL 確診病例被分類為侵襲性淋巴瘤，其中大多數患者被傳統化療法治癒(NCCN guidelines NHL 2014)。

[0180] 用於 DLBCL 的一線療法典型上包括利用利妥昔單抗(rituximab)之含蔥環類抗生素的方案，例如 R-CHOP(利妥昔單抗(rituximab)、環磷醯胺、阿黴素(doxorubicin)、長春新鹼(vincristine)、與強體松(prednisone))，該方案具有約 80%之客觀反應率及約 50%的完全反應率(Coiffier 2002)，其中在 R-CHOP 後約 1/3 的患者有初始療法難治之症或復發(Sehn 2005)。在對一線療法有反應後又復發的患者而言，約 40 至 60%之患者可用額外的化療法達到第二次反應。用於自體幹細胞移植(ASCT)合格患者的二線療法照護標準包括利妥昔單抗(rituximab)及組合療法，例如 R-ICE(利妥昔單抗(rituximab)、異環磷醯胺(ifosamide)、卡鉑(carboplatin)、與依托泊苷(etoposide))及 R-DHAP(利妥昔單抗(rituximab)、地塞米松(dexamethasone)、阿糖胞苷(cytarabine)、與順鉑(cisplatin))，各具有約 63%之客觀反應率及約 26%的完全反應率(Gisselbrecht 2010)。對二線療法有反應且被認為足夠適合移植之患者接受利用高劑量化療及 ASCT 的加強療法，該加強療法在經移植的患者中有約一半是治癒的(Gisselbrecht 2010)。ASCT 失敗之患者有很差的預後且沒有治癒方法。

[0181] 原發性縱膈腔大 B 細胞淋巴瘤(PMBCL)具有

與 DLBCL 不同的臨床表現、病理特徵、與分子特徵。PMBCL 被認為起源於胸腺(骨髓)B 細胞及相當於被診斷為 DLBCL 的患者之約 3%。PMBCL 典型上出現在 40 歲的青壯年人口而以女性稍多。基因表現剖析暗示在與何杰金(Hodgkin)氏淋巴瘤重疊之 PMBCL 中被解除管制的途徑。PMBCL 初始療法通常包括利用利妥昔單抗(rituximab)之含蒽環類抗生素的方案，例如輸注劑量調整型依托泊苷(etoposide)、阿黴素(doxorubicin)、環磷醯胺、長春新鹼(vincristine)、強體松(prednisone)與利妥昔單抗(rituximab)、及利用或沒利用相關領域的放射治療。

[0182] 濾泡性淋巴瘤(FL)，一種 B 細胞淋巴瘤，是最常見之 NHL 的惰性(生長緩慢)型，佔所有 NHL 病例的約 20%至 30%。某些 FL 患者會組織轉化(TFL)為更具侵襲性及與差的結果有關聯之 DLBCL。在未來數年內組織轉化風險持續下降情況下，在 15 年內以約 3%的年增率發生組織轉化為 DLBCL。組織轉化之生物機制仍未知。TFL 的初始治療雖然受到先前濾泡性淋巴瘤治療影響，但是通常包括利用利妥昔單抗(rituximab)之含蒽環類抗生素的方案，以消除該疾病之侵襲性成分。

[0183] 用於復發/難治性 PMBCL 與 TFL 之治療方法類似 DLBCL。由於這些疾病的盛行率低，所以不曾對這些患者群體進行大範圍前瞻性隨機研究。患有化療難治之症的患者具有與難治性 DLBCL 類似或更差的預後。

[0184] 總的來說，患有難治性侵襲性 NHL(例如

DLBCL、PMBCL 與 TFL)之個體有較多未滿足的醫藥需求及在這些群體中被批准利用新穎治療作進一步研究。

[0185] 因此，在某些實施方式中，該方法可被用來治療淋巴瘤或白血病，其中該淋巴瘤或白血病是 B 細胞惡性腫瘤。在某些實施方式中，該淋巴瘤或白血病係選自：B 細胞慢性淋巴球性白血病/小細胞淋巴瘤、B 細胞幼淋巴球性(B-cell prolymphocytic)白血病、淋巴漿細胞性淋巴瘤(例如瓦登斯特隆氏巨球蛋白血症(Waldenström macroglobulinemia))、脾邊緣區淋巴瘤、毛樣細胞性白血病、漿細胞瘤(例如漿細胞骨髓瘤(即多發性骨髓瘤)或漿細胞瘤)、結外邊緣區 B 細胞淋巴瘤(例如 MALT 淋巴瘤)、結內邊緣區 B 細胞淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤(FL)、轉化濾泡性淋巴瘤(TFL)、原發性皮膚濾泡中心性淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、瀰漫性大型 B 細胞淋巴瘤(DLBCL)、艾司坦-巴爾病毒陽性 DLBCL、淋巴瘤樣肉芽腫、原發性縱膈腔(胸腺)大 B 細胞淋巴瘤(PMBCL)、血管內大 B 細胞淋巴瘤、ALK+大 B 細胞淋巴瘤、漿母細胞性淋巴瘤、原發性滲出性淋巴瘤、起自 HHV8 相關多中心性 Castleman 氏病的大 B 細胞淋巴瘤、Burkitt 氏淋巴瘤/白血病、T 細胞幼淋巴球性白血病、T 細胞大顆粒淋巴球性白血病、侵襲性 NK 細胞白血病、成人 T 細胞白血病/淋巴瘤、結外 NK/T 細胞淋巴瘤、腸病變相關 T 細胞淋巴瘤、肝脾 T 細胞淋巴瘤、胚母(blastic)NK 細胞淋巴瘤、蕈狀肉芽腫/塞扎萊(Sezary)症候群、原發性皮膚型未分化(anaplastic)大細胞淋巴瘤、

淋巴瘤樣丘疹、周邊型 T 細胞淋巴瘤、血管免疫母細胞性 T 細胞淋巴瘤、未分化(anaplastic)大細胞淋巴瘤、B 淋巴母細胞白血病/淋巴瘤、帶有再發性基因異常之 B 淋巴母細胞白血病/淋巴瘤、T 淋巴母細胞白血病/淋巴瘤、及何杰金(Hodgkin)氏淋巴瘤。在某些實施方式中，該癌症是一或多種先前治療難治的，與/或該癌症在一或多種先前治療後又復發。

[0186] 在某些實施方式中，該癌症係選自濾泡性淋巴瘤、轉化濾泡性淋巴瘤、瀰漫性大型 B 細胞淋巴瘤、與原發性縱膈腔(胸腺)大 B 細胞淋巴瘤。在一個特定實施方式中，該癌症是瀰漫性大型 B 細胞淋巴瘤。

[0187] 在某些實施方式中，該癌症是下列中一或多者難治的或該癌症在下列中一或多者治療後又復發：化療法、放射療法、免疫療法(包括利用抗體與/或抗體藥物共軛體的 T 細胞療法與/或治療)、自體幹細胞移植法、及其任何組合。在一個特定實施方式中，該癌症是難治性瀰漫性大型 B 細胞淋巴瘤。

[0188] 在一個特定實施方式中，本發明包括一種治療患有淋巴瘤之患者的方法，該方法包含在對該患者投予治療有效量的工程化 CAR 細胞前，每日對該患者投予此處所述之任何劑量(例如約 200 mg/m²/日、約 300 mg/m²/日、約 400 mg/m²/日、約 500 mg/m²/日、約 600 mg/m²/日、約 700 mg/m²/日、約 800 mg/m²/日、或約 900 mg/m²/日)的環磷醯胺及此處所述之任何劑量(例如約 20 mg/m²/

日、約 25 mg/m²/日、約 30 mg/m²/日、約 35 mg/m²/日、約 40 mg/m²/日、約 45 mg/m²/日、約 50 mg/m²/日、約 55 mg/m²/日、約 60 mg/m²/日)的氟達拉濱投予 3 日，其中該工程化 CAR 細胞表現嵌合抗原受體，該嵌合抗原受體結合至 CD19 及另外包含 CD28 共刺激功能域與 CD3 ζ 訊息傳遞區。

[0189] 在另一個實施方式中，本發明包括一種治療患有淋巴瘤之患者的方法，該方法包含(i)對該患者投予此處所述之任何劑量(例如約 200 mg/m²/日、約 300 mg/m²/日、約 400 mg/m²/日、約 500 mg/m²/日、約 600 mg/m²/日、約 700 mg/m²/日、約 800 mg/m²/日、或約 900 mg/m²/日)的環磷醯胺及此處所述之任何劑量(例如約 20 mg/m²/日、約 25 mg/m²/日、約 30 mg/m²/日、約 35 mg/m²/日、約 40 mg/m²/日、約 45 mg/m²/日、約 50 mg/m²/日、約 55 mg/m²/日、約 60 mg/m²/日)的氟達拉濱，和(ii)對該患者投予治療有效量的工程化 CAR 細胞，其中該工程化 CAR 細胞表現嵌合抗原受體，該嵌合抗原受體結合至 CD19 及另外包含 CD28 共刺激功能域與 CD3 ζ 訊息傳遞區。

[0190] 在又一個實施方式中，本發明包括一種治療患有淋巴瘤之患者的方法，該方法包含對該患者投予治療有效量的工程化 CAR 細胞，其中已經投予此處所述之任何劑量(例如約 200 mg/m²/日、約 300 mg/m²/日、約 400 mg/m²/日、約 500 mg/m²/日、約 600 mg/m²/日、約 700 mg/m²/日、約 800 mg/m²/日、或約 900 mg/m²/日)的環磷

醯胺及此處所述之任何劑量(例如約 20 mg/m²/日、約 25 mg/m²/日、約 30 mg/m²/日、約 35 mg/m²/日、約 40 mg/m²/日、約 45 mg/m²/日、約 50 mg/m²/日、約 55 mg/m²/日、約 60 mg/m²/日)的氟達拉濱來調理該患者，及其中該工程化 CAR 細胞表現嵌合抗原受體，該嵌合抗原受體結合至 CD19 及另外包含 CD28 共刺激功能域與 CD3 ζ 訊息傳遞區。

套組

[0191] 本發明之範圍還包括套組(例如藥學套組)，其包含用於 T 細胞療法之預先調理的環磷醯胺與氟達拉濱。套組典型上包括指示該套組內容物之既定用途及使用說明的標籤。術語「標籤」包括在該套組上或連同該套組被供應的，或該套組所附有的任何書寫或記錄材料。

[0192] 在某些實施方式中，本發明提供一種調理需要 T 細胞療法之患者的套組，該套組包含：(i)環磷醯胺、(ii)氟達拉濱、與(iii)在工程化 CAR 細胞療法前，每日對需要該療法的患者投予此處所述之任何劑量(例如在 200 mg/m²/日至 2000 mg/m²/日之間)的環磷醯胺及此處所述之任何劑量(例如在 20 mg/m²/日至 900 mg/m²/日之間)的氟達拉濱投予三日的指示說明書。

[0193] 在其他實施方式中，本發明提供一種調理需要 T 細胞療法之患者的套組，該套組包含：(i)環磷醯胺、(ii)氟達拉濱、與(iii)在工程化 CAR 細胞療法前的第-7 至

-6 日每日對需要該療法之患者投予此處所述的任何劑量(例如在 $200 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至 $2000 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 之間)的環磷醯胺投予二日，及在第 -5 至 -1 日每日對該患者投予此處所述之任何劑量(例如在 $20 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至 $900 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 之間)的氟達拉濱投予五日的指示說明書。

[0194] 在其他實施方式中，本發明提供一種調理需要 T 細胞療法之患者的套組，該套組包含：(i)環磷醯胺、(ii)氟達拉濱、與(iii)在工程化 TCR 細胞療法前，每日對需要該療法的患者投予此處所述之任何劑量(例如在 $200 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至 $2000 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 之間)的環磷醯胺及此處所述之任何劑量(例如在 $20 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至 $900 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 之間)的氟達拉濱投予三日的指示說明書。

[0195] 在其他實施方式中，本發明提供一種調理需要 T 細胞療法之患者的套組，該套組包含：(i)環磷醯胺、(ii)氟達拉濱、與(iii)在工程化 TCR 細胞療法前的第 -7 至 -6 日每日對需要該療法之患者投予此處所述的任何劑量(例如在 $200 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至 $2000 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 之間)的環磷醯胺投予二日，及在第 -5 至 -1 日每日對該患者投予此處所述之任何劑量(例如在 $20 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 至 $900 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 之間)的氟達拉濱投予五日的指示說明書。

[0196] 在某些實施方式中，本發明提供一種調理需要 T 細胞療法之患者的套組，該套組包含：(i)環磷醯胺、(ii)氟達拉濱、與(iii)在工程化 CAR 細胞療法前，每日對需要該療法之患者投予劑量為 $300 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 的環磷醯胺及

劑量為 $30 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 之氟達拉濱投予三日的指示說明書。

[0197] 在其他實施方式中，本發明提供一種調理需要 T 細胞療法之患者的套組，該套組包含：(i)環磷醯胺、(ii)氟達拉濱、與(iii)在工程化 CAR 細胞療法前的第-7 至-6 日每日對需要該療法之患者投予劑量為 $300 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 的環磷醯胺投予二日，及在第-5 至-1 日每日對該患者投予劑量為 $30 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 之氟達拉濱投予五日的指示說明書。

[0198] 在其他實施方式中，本發明提供一種調理需要 T 細胞療法之患者的套組，該套組包含：(i)環磷醯胺、(ii)氟達拉濱、與(iii)在工程化 TCR 細胞療法前，每日對需要該療法之患者投予劑量為 $500 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 的環磷醯胺及劑量為 $30 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 之氟達拉濱投予三日的指示說明書。

[0199] 在其他實施方式中，本發明提供一種調理需要 T 細胞療法之患者的套組，該套組包含：(i)環磷醯胺、(ii)氟達拉濱、與(iii)在工程化 TCR 細胞療法前的第-7 至-6 日每日對需要該療法之患者投予劑量為 $500 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 的環磷醯胺投予二日，及在第-5 至-1 日每日對該患者投予劑量為 $30 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 之氟達拉濱投予五日的指示說明書。

[0200] 在某些實施方式中，本發明提供一種調理需要 T 細胞療法之患者的套組，該套組包含：(i)環磷醯胺、(ii)氟達拉濱、與(iii)在工程化 CAR 細胞療法前，每日對需要該療法之患者投予劑量為 $300 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 的環磷醯胺及劑量為 $60 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 之氟達拉濱投予三日的指示說明書。

[0201] 在其他實施方式中，本發明提供一種調理需

要 T 細胞療法之患者的套組，該套組包含：(i)環磷醯胺、(ii)氟達拉濱、與(iii)在工程化 CAR 細胞療法前的第-7 至 -6 日每日對需要該療法之患者投予劑量為 $300 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 的環磷醯胺投予二日，及在第-5 至 -1 日每日對該患者投予劑量為 $60 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 之氟達拉濱投予五日的指示說明書。

[0202] 在其他實施方式中，本發明提供一種調理需要 T 細胞療法之患者的套組，該套組包含：(i)環磷醯胺、(ii)氟達拉濱、與(iii)在工程化 TCR 細胞療法前，每日對需要該療法之患者投予劑量為 $500 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 的環磷醯胺及劑量為 $60 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 之氟達拉濱投予三日的指示說明書。

[0203] 在其他實施方式中，本發明提供一種調理需要 T 細胞療法之患者的套組，該套組包含：(i)環磷醯胺、(ii)氟達拉濱、與(iii)在工程化 TCR 細胞療法前的第-7 至 -6 日每日對需要該療法之患者投予劑量為 $500 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 的環磷醯胺投予二日，及在第-5 至 -1 日每日對該患者投予劑量為 $60 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 之氟達拉濱投予五日的指示說明書。

[0204] 在某些實施方式中，該套組另外包含生理鹽水及在投予環磷醯胺與/或氟達拉濱前或後、或在投予環磷醯胺與/或氟達拉濱前與後對該患者投予該生理鹽水的指示說明書。在某些實施方式中，該套組另外包含美司鈉(mesna)及在投予環磷醯胺與/或氟達拉濱前、在投予環磷醯胺與/或氟達拉濱後、或在投予環磷醯胺與/或氟達拉濱前與後對該患者投予該美司鈉的指示說明書。

使用生物標記之診斷

[0205] 本發明還包括識別適合 T 細胞療法之個體的方法。在一個實施方式中，本發明包括一種用於治療適合 T 細胞療法之患者中的癌症之方法，該方法包含對該患者投予劑量在 200 mg/m^2 至 2000 mg/m^2 之間(例如 200 mg/m^2 、 300 mg/m^2 、 400 mg/m^2 、 500 mg/m^2 、 600 mg/m^2 、 700 mg/m^2 、 800 mg/m^2 、 900 mg/m^2 、 1000 mg/m^2 、或 1110 mg/m^2)的環磷醯胺及劑量在 20 mg/m^2 至 900 mg/m^2 之間(例如 20 mg/m^2 、 25 mg/m^2 、 30 mg/m^2 、 35 mg/m^2 、 40 mg/m^2 、 45 mg/m^2 、或 50 mg/m^2)的氟達拉濱來預先調理該患者，其中在該患者顯出 IL-15、IP-10、與/或 IL-7 之增加的血清量，與/或顯出穿孔素之減少的血清量後再用 T 細胞療法治療。在另一個實施方式中，本發明包括一種用於治療適合 T 細胞療法之患者中的癌症之方法，該方法包含(i)對該患者投予劑量在 200 mg/m^2 至 2000 mg/m^2 之間(例如 200 mg/m^2 、 300 mg/m^2 、 400 mg/m^2 、 500 mg/m^2 、 600 mg/m^2 、 700 mg/m^2 、 800 mg/m^2 、 900 mg/m^2 、 1000 mg/m^2 、或 1110 mg/m^2)的環磷醯胺及劑量在 20 mg/m^2 至 900 mg/m^2 之間(例如 20 mg/m^2 、 25 mg/m^2 、 30 mg/m^2 、 35 mg/m^2 、 40 mg/m^2 、 45 mg/m^2 、或 50 mg/m^2)的氟達拉濱來預先調理該患者，及(ii)在該患者顯出 IL-15、IP-10、與/或 IL-7 之增加的血清量，與/或顯出穿孔素之減少的血清量後再投予 T 細胞療法。在其他實施方式中，本發明係關於一種用於治療適合 T 細胞療法之患

者中的癌症之方法，該方法包含(i)對該患者投予劑量在 200 mg/m^2 至 2000 mg/m^2 之間(例如 200 mg/m^2 、 300 mg/m^2 、 400 mg/m^2 、 500 mg/m^2 、 600 mg/m^2 、 700 mg/m^2 、 800 mg/m^2 、 900 mg/m^2 、 1000 mg/m^2 、或 1110 mg/m^2)的環磷醯胺及劑量在 20 mg/m^2 至 900 mg/m^2 之間(例如 20 mg/m^2 、 25 mg/m^2 、 30 mg/m^2 、 35 mg/m^2 、 40 mg/m^2 、 45 mg/m^2 、或 50 mg/m^2)的氟達拉濱來預先調理該患者，(ii)在(i)中的投予後，當該患者未顯出 IL-15、IP-10、與/或 IL-7 之足夠的血清量時，投予額外量之環磷醯胺與/或氟達拉濱或投予 IL-15、IP-10、與/或 IL-7，及(iii)在(ii)中的投予後，在該患者顯出 IL-15、IP-10、與/或 IL-7 之增加的血清量後再投予 T 細胞療法。在某些實施方式中，當該患者顯出至少一種選自由 MCP-1、CRP、PLGF、IP-10、及其任何組合所組成的群組之額外的細胞激素之增加的血清量時對該患者投予 T 細胞療法。

[0206] 本發明另外提供一種用於識別適合 T 細胞療法之患者的方法，該方法包含對該患者投予劑量在 200 mg/m^2 至 2000 mg/m^2 之間(例如 200 mg/m^2 、 300 mg/m^2 、 500 mg/m^2 、 400 mg/m^2 、 600 mg/m^2 、 700 mg/m^2 、 800 mg/m^2 、 900 mg/m^2 、 1000 mg/m^2 、或 1110 mg/m^2)的環磷醯胺及劑量在 20 mg/m^2 至 900 mg/m^2 之間(例如 20 mg/m^2 、 25 mg/m^2 、 30 mg/m^2 、 35 mg/m^2 、 40 mg/m^2 、 45 mg/m^2 、或 50 mg/m^2)的氟達拉濱，其中在該患者顯出 IL-15、IP-10、與/或 IL-7 之增加的血清量，與/或顯出穿孔

素之減少的血清量後再用 T 細胞療法治療。在其他實施方式中，本發明之方法是識別適合 T 細胞療法的患者，該方法包含(i)對該患者投予劑量在 200 mg/m^2 至 2000 mg/m^2 之間(例如 200 mg/m^2 、 300 mg/m^2 、 400 mg/m^2 、 500 mg/m^2 、 600 mg/m^2 、 700 mg/m^2 、 800 mg/m^2 、 900 mg/m^2 、 1000 mg/m^2 、或 1110 mg/m^2)的環磷醯胺及劑量在 20 mg/m^2 至 900 mg/m^2 之間(例如 20 mg/m^2 、 25 mg/m^2 、 30 mg/m^2 、 35 mg/m^2 、 40 mg/m^2 、 45 mg/m^2 、或 50 mg/m^2)的氟達拉濱，及(ii)在該患者顯出 IL-15、IP-10、與/或 IL-7 之增加的血清量，與/或顯出穿孔素之減少的血清量後再投予 T 細胞療法。在其他實施方式中，本發明係關於一種用於識別適合 T 細胞療法之患者的方法，該方法包含(i)對該患者投予劑量在 200 mg/m^2 至 2000 mg/m^2 之間(例如 200 mg/m^2 、 300 mg/m^2 、 400 mg/m^2 、 500 mg/m^2 、 600 mg/m^2 、 700 mg/m^2 、 800 mg/m^2 、 900 mg/m^2 、 1000 mg/m^2 、或 1110 mg/m^2)的環磷醯胺及劑量在 20 mg/m^2 至 900 mg/m^2 之間(例如 20 mg/m^2 、 25 mg/m^2 、 30 mg/m^2 、 35 mg/m^2 、 40 mg/m^2 、 45 mg/m^2 、或 50 mg/m^2)的氟達拉濱，(ii)當該患者未顯出 IL-15、IP-10、與/或 IL-7 之足夠的血清量時，投予額外量之環磷醯胺或氟達拉濱或投予有效量的 IL-15、IP-10、與/或 IL-7，及(iii)在該患者顯出 IL-15、IP-10、與/或 IL-7 之增加的血清量後再投予 T 細胞療法。在某些實施方式中，當該患者顯出至少一種選自由 MCP-1、CRP、PLGF、IP-10、及其

任何組合所組成的群組之額外的細胞激素之增加的血清量時對該患者投予 T 細胞療法。

[0207] 本發明之方法另外包含測量 IL-15、IP-10、穿孔素、與/或 IL-7 的血清量。在一個實施方式中，該患者中 IL-7 血清量在投予環磷醯胺及氟達拉濱後比在投予前的 IL-7 血清量增加到至少 2 倍、至少 3 倍、至少 4 倍、至少 5 倍、至少 10 倍、至少 15 倍、至少 20 倍、至少 25 倍、至少 30 倍、至少 35 倍、至少 40 倍、至少 45 倍、至少 50 倍、至少 60 倍、至少 70 倍、至少 80 倍、或至少 90 倍。在另一個實施方式中，該患者中 IL-15 血清量在投予環磷醯胺及氟達拉濱後比在投予前的 IL-15 血清量增加到至少 5 倍、至少 10 倍、至少 15 倍、至少 20 倍、至少 25 倍、至少 30 倍、至少 35 倍、至少 40 倍、至少 45 倍、至少 50 倍、至少 60 倍、至少 70 倍、至少 80 倍、或至少 90 倍。

[0208] 在其他實施方式中，該患者中 MCP-1 血清量在投予劑量在 200 mg/m^2 至 2000 mg/m^2 之間(例如 200 mg/m^2 、 300 mg/m^2 、 400 mg/m^2 、 500 mg/m^2 、 600 mg/m^2 、 700 mg/m^2 、 800 mg/m^2 、 900 mg/m^2 、 1000 mg/m^2 、或 1110 mg/m^2)的環磷醯胺及劑量在 20 mg/m^2 至 900 mg/m^2 之間(例如 20 mg/m^2 、 25 mg/m^2 、 30 mg/m^2 、 35 mg/m^2 、 40 mg/m^2 、 45 mg/m^2 、或 50 mg/m^2)的氟達拉濱後比在投予前的 MCP-1 血清量增加至少 1.5 倍、至少 2 倍、至少 3 倍、至少 4 倍、至少 5 倍、至少 6 倍、至少 7 倍、

至少 8 倍、至少 9 倍、至少 10 倍、至少 15 倍、或至少 20 倍。在某些實施方式中，該患者中 PLGF 血清量在投予環磷醯胺及氟達拉濱後比在投予前的 PLGF 血清量增加到至少 1.5 倍、至少 2 倍、至少 3 倍、至少 4 倍、至少 5 倍、至少 10 倍、至少 15 倍、至少 20 倍、至少 25 倍、至少 30 倍、至少 35 倍、至少 40 倍、至少 45 倍、至少 50 倍、至少 60 倍、至少 70 倍、至少 80 倍、至少 90 倍、或至少 100 倍。在某些實施方式中，該患者中 CRP 血清量在投予環磷醯胺及氟達拉濱後比在投予前的 CRP 血清量增加到至少 1.5 倍、至少 2 倍、至少 3 倍、至少 4 倍、至少 5 倍、至少約 9 倍、至少 10 倍、至少 15 倍、至少 20 倍、至少 25 倍、至少 30 倍、至少 35 倍、至少 40 倍、至少 45 倍、至少 50 倍、至少 60 倍、至少 70 倍、至少 80 倍、至少 90 倍、或至少 100 倍。在其他實施方式中，該患者中 IP-10 血清量在投予環磷醯胺及氟達拉濱後比在投予前的 IP-10 血清量增加到至少 2 倍、至少 3 倍、至少 4 倍、至少 5 倍、至少 6 倍、至少 7 倍、至少 8 倍、至少 9 倍、至少 10 倍、至少 15 倍、至少 20 倍、或至少 30 倍。

[0209] 下列實施例是用來進一步說明本發明而不應將其理解成是對本發明的進一步限制。本申請案中所引用之一切參考資料的內容以引用方式被明確地併入本案作為參考。

[實施例]

實施例 1

[0210] 設計一項臨床 1/2 期、單臂、非盲試驗以測定對患 B 細胞惡性腫瘤的個體投予的抗 CD19 CAR+T 細胞的安全性與可行性。

[0211] 簽署知後同意書且符合研究資格之個體參加研究並接受白血球分離以得到用於產生抗 CD19 CAR+T 細胞的 PBMC。在入院前用調理性化療治療個體為在第 0 日之抗 CD19 CAR+T 細胞單一輸注做準備。然後在抗 CD19 CAR+T 細胞輸注後 3 小時，對某些個體用介白素 2 治療(只有第 1 組)。若在第一次輸注後有部分反應(PR)或完全反應(CR)然後進行性疾病的反應，則用第二劑抗 CD19 CAR+T 細胞再治療。

[0212] 有三組個體參加。第 1 組包括 8 個個體(其中 1 個個體經再治療)，給藥在從 3×10^6 個至 30×10^6 個抗 CD19 CAR+T 細胞/kg 範圍內的抗 CD19 CAR+T 細胞。抗 CD19 CAR+T 細胞之給藥之後的調理方案由下述組成：60 至 120 mg/kg(2220 至 4440 mg/m²)的高劑量環磷醯胺二日，接著 25 mg/m² 的氟達拉濱五日。在投予抗 CD19 CAR+T 細胞後對這些個體亦接受 720,000 IU/kg 之高劑量介白素 2(IL-2)(每 8 小時直到 15 劑或毒性阻礙另外的給藥為止)以刺激其增生。

[0213] 第 2 組包括 15 個個體(其中 2 個個體來自第 1 組且經再治療)，其接受變化劑量的抗 CD19 CAR+T 細胞投予 1×10^6 個至 5×10^6 個抗 CD19 CAR+T 細胞/kg，接著接

受高劑量環磷醯胺與氟達拉濱但不投予介白素 2。

[0214] 第 3 組包括 11 個個體，其接受 300 mg/m² 的環磷醯胺及 30 mg/m² 的氟達拉濱之減少調理方案，2 者投予 3 並發日但不投予 IL-2。這些個體之前面 7 個與後面 4 個分別接受 1×10⁶ 個抗 CD19 CAR+T 細胞與 2×10⁶ 個抗 CD19 CAR+T 細胞的抗 CD19 CAR+T 細胞輸注。

人口統計

[0215] 個體人口統計特徵與疾病特性請參見表 1。32 個個體參加，其中 19 個個體(59%)患 DLBCL 或 PMBCL，7 個個體(22%)患 CLL，及 6 個個體(19%)患其他惰性 NHL(包括惰性濾泡性淋巴瘤與脾邊緣區淋巴瘤)。大多數個體患難治之症(84%)，且已經接受 3 種先前一線治療的中位數。所有患侵襲性 NHL 之個體先前接受過抗 CD20 治療、鉑合併化療，及 95%先前接受過以蒽環類為基礎的化療。

藥物動力學

[0216] 使用 qPCR 分析評估在第 0 日初次投予後在各種時間點在末梢血液中的抗 CD19 CAR+T 細胞數量，及利用對於存在於抗 CD19 CAR 構築體中的 scFv 具有特異性之抗體試劑藉由流動式細胞測量術所產生的標準曲線確認 (Kochenderfer et al., "B-cell depletion and remissions of malignancy along with cytokine-associated toxicity in a

clinical trial of anti-CD19 chimeric-antigen-receptor-transduced T cells," Blood 119:2709-20 (2012))。

[0217] 在第 1 組中，輸注從 3×10^6 個至 30×10^6 個抗 CD19 CAR+T 細胞/kg。在前面 6 個個體中，在輸注後 2 週內檢測出血液循環中之抗 CD19 CAR+T 細胞在較高的量，達到總 PBMC 的至多 0.02 至 1%，然後快速衰退及在 50 日後不可測。個體 7 與 8，其被給藥最高數量之抗 CD19 CAR+T 細胞(分別是 28×10^6 個與 30×10^6 個抗 CD19 CAR+T 細胞/kg)，具有達到總 PBMC 的抗 CD19 CAR+T 細胞之 >10% 的較高之高峰百分率，及在血液中抗 CD19 CAR+T 細胞的較長期持久性(分別是 >130 與 180 日)。

表1-臨床試驗個體之人口統計

	第1組 (N = 8)	第2組 (N = 15)	第3組 (N = 11)	總數 (N = 32)
年齡(歲)				
平均值	56 (6)	52 (11)	50 (16)	52 (12)
中位數	56	55	55	55
最小值, 最大值	47, 63	31, 69	29, 67	29, 69
性別	8 (100%)	8 (53%)	11 (100%)	25 (78%)
男性	0 (0%)	7 (47%)	0 (0%)	7 (22%)
女性	8 (100%)	13 (87%)	10 (91%)	29 (91%)
人種	0 (0%)	1 (7%)	0 (0%)	1 (3%)
白人	0 (0%)	1 (7%)	0 (0%)	1 (3%)
亞洲人	0 (0%)	0 (0%)	1 (9%)	1 (3%)
黑人或非裔美國人	4 (50%)	4 (27%)	0 (0%)	7 (22%)
未知	3 (38%)	0 (0%)	1 (9%)	4 (13%)
診斷	1 (13%)	1 (7%)	0 (0%)	1 (3%)
CLL FL	0 (0%)	1 (7%)	0 (0%)	1 (3%)
SMZL	0 (0%)	5 (33%)	8 (73%)	13 (41%)
iNHL	0 (0%)	4 (27%)	2 (18%)	6 (19%)
DLBCL	7 (88%)	13 (87%)	11 (100%)	30 (94%)
PMBCL	6 (75%)	13 (87%)	9 (82%)	27 (84%)
先前抗-CD20	1 (13%)	2 (13%)	0 (0%)	2 (6%)
最後一線治療後復發 (SD/PD至最後一線)	1 (13%)	0 (0%)	2 (18%)	3 (9%)
是	4 (2, 7)	3 (1, 12)	3 (2, 10)	3 (1, 12)
否				
未知				
先前一線治療 中位數(最小值, 最大值)				

[0218] 在第 2 組中(沒有介白素 2 治療)，在 2 週內抗 CD19 CAR+T 細胞在末梢血液中顯示類似的增殖，然後衰退及在數週內從血液循環中完全消失(表 2)。

[0219] 總的來說，在抗 CD19 CAR+T 細胞之劑量與其在末梢血液中的增殖與持久性之間沒有明顯的關係。同樣，至今在抗 CD19 CAR+T 細胞之劑量、抗 CD19 CAR+T 細胞在血液中的增殖或持久性、及與此治療有關的臨床反應或毒性之間沒有明顯的關係。

表2-在第2組中在個體末梢血液中抗CD19 CAR+T細胞的增殖與持久性

	抗-CD19 CAR+T細胞總劑量 cells (x 10 ⁶)	抗-CD19 CAR+T細胞/kg劑量範圍 以百萬計 (x 10 ⁶)	抗-CD19 CAR+T細胞高峰-以細胞數目 /μL 血液表示	至高峰的時間 (日)	抗-CD19 CAR+T細胞持久性(日)
平均值 (範圍)	210 (105-490)	3.1 (1.2-7.5)	50 (9-777)	10 (7-17)	32 (13-132)

[0220] 在第 1 與 2 組中，在輸注後 7 至 14 日的第一期增殖後，抗 CD19 CAR+T 細胞沒有第二期增殖。至今，沒有證據顯示在受試個體中致癌轉化歸因於 CAR 表現反轉錄病毒的基因組插入。第 3 組結果在數據截止時尚不可得。

效力

[0221] 臨床醫師對 32 個個體評估安全性及對 29 個個體評估效力。可評估效力的 29 個個體的總反應率是 76%。在 29 個個體中有 11 個(38%)達到 CR 及 11/29 個個體(38%)達到 PR(圖 2A 與圖 2B；表 3)。

[0222] 在 29 個可評估之個體中有 16 個(55%)自其第一次治療保持反應，有 12 個個體(包括經再治療的個體)的治療反應持續時間超過 1 年(表 3)。將 3 個有反應個體在進展後再治療，全部都有持續之反應(17.4 個月至 52.2 個月以上)。

[0223] 如表 3 中指示，在 19 個患難治性侵襲性 DLBCL/PMBCL 的個體中有 17 個可評估疾病反應(有 1 個個體不可評估；1 個個體尚未被評估)。在這 17 個個體

中，有 11 個(65%)有反應而有 6/17 個體(35%)達到 CR。反應中位數持續時間是 7.3 個月。

[0224] 在 7 個患 CLL 之可評估個體中有 6 個(86%)有反應，有 4/7 個體(57%)達到 CR(表 3)。反應中位數持續時間是 22.2 個月，有 4/7 個體(57%)仍有反應，包括有 3 個持續有反應超過 27 個月(表 3)。

表3-根據腫瘤類型的客觀反應率及反應持續時間

腫瘤類型 (可評估)	總反應率 Rate n (%)	完全反應率 Rate n (%)	中位數反應 持續時間(月) (個別)
任何 (n=29)	22 (76%)	11 (38%)	14.9
DLBCL/PMBCL (n=17)	11 (65%)	6 (35%)	7.3 (< 1+, 1.0, 1.2, 5.3+, 6.0, 7.3, 7.9+, 14.1+, 15.7+, 20.3+, 28.5+)
CLL (n=7)	6 (86%)	4 (57%)	22.2 (2.8, 4.6, 17.1+, 27.2+, 31.1+, 35.6+)
惰性 NHL (n=5)	5 (100%)	1 (20%)	18.8 (10.4+, 17.1+, 18.8+, 45.4+, 58.5+)

"+" 指示反應仍持續

[0225] 在 5 個患惰性 NHL 之可評估個體中有 5 個(100%)有反應，有 1/5 個(20%)達到 CR。反應中位數持續時間是 18.8 個月(表 3)。有 5 個個體(5/5；100%)持續有反應，其中有 2 個有反應超過 45 個月(表 4)。

安全性

不良事件

[0226] 用抗 CD19 CAR+T 細胞治療 32 個個體，在最後一個個體治療時仍沒有報告不良事件。整體安全性總結包括 32 個經治療之個體全部。根據群組的總結包括個體 1010003 與 1010004 兩次的安全資料，一次是當這些個體在第 1 組中被治療時及第二次是當這些個體在第 2 組中被治療時(用抗 CD19 CAR+T 細胞再治療)。

不良事件總結

[0227] 不良事件總結請參見表 4。總的來說，31 個個體(97%)經歷任何不良事件，0 個個體(0%)經歷最差之第 3 級，29 個個體(91%)經歷最差的第 4 級，及 2 個個體(6%)有致死性不良事件。20 個個體(63%)經歷抗 CD19 CAR+T 細胞相關之不良事件；6 個個體(19%)經歷最差的第 3 級，8 個個體(25%)經歷最差之第 4 級，及沒有個體經歷第 5 級事件。16 個個體(50%)經歷嚴重不良事件；3 個個體(9%)經歷最差的第 3 級，9 個個體(28%)經歷最差之第 4 級，及 2 個個體(6%)經歷最差的第 5 級。

表4-不良事件總結

n (%)	第1組 (N=8)	第2組 (N=15)	第3組 (N = 11)	總共 (N=32)
任何 Gr 2-5 AE	8 (100)	15 (100%)	10 (91%)	31 (97%)
Gr 3	0 (0)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Gr 4	7 (88%)	14 (93%)	10 (91%)	29 (91%)
Gr 5	1 (13%)	1 (7%)	0 (0%)	2 (6%)
任何 Gr 2-5 CAR 相關	3 (37%)	11 (73%)	7 (64%)	20 (63%)
Gr 3	0 (0%)	3 (20%)	3 (27%)	6 (19%)
Gr 4	2 (25%)	6 (40%)	0 (0%)	8 (25%)
Gr 5	0 (0)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
任何嚴重	6 (75%)	8 (53%)	2 (18%)	16 (50%)
Gr 3	2 (25%)	1 (7%)	0 (0%)	3 (9%)
Gr 4	2 (25%)	6 (40%)	1 (9%)	9 (28%)
Gr 5	1 (13%)	1 (7%)	0 (0%)	2 (6%)

劑量限制性毒性

[0228] 在第 1、2 與 3 組中的 DLT 發生率分別是 38%、40%、與 0%。除個體 1010002 之外，DLT 主要是神經毒性，2 例的高肌酸酐，及 1 例之缺氧症與低血壓中的每一者。表 6 提供 DLT 列表。在第 3 組中沒有報告 DLT。在第 3 組中的調理方案是用 2×10^6 個抗 CD19 CAR+T 細胞/kg 研究。

表5-劑量限制性毒性

個體編號	抗-CD19 CAR+ T 細胞/kg	劑量限制性毒性 (DLT)	組別	註釋
1010002	3 X 10 ⁶	G4 缺氧症 G4 流行性感冒感染 G5 血栓症(帶有大範圍梗塞的腦血栓症)	1	個體患有經培養驗證的H1N1病毒性肺炎且在輸注後18日死亡
1010004	2.5 X 10 ⁶	G4 肌酸酐	2	需要透析
1010007	28 X 10 ⁶	G4 嗜眠症	1	需要插管
1010008	30 X 10 ⁶	G4 嗜眠症	1	需要插管
1010009	5 X 10 ⁶	G3 錯亂/失語症 G3 腦神經VII神經病變	2	
1010010	4 X 10 ⁶	G3 間歇性錯亂/失語症	2	
1010014	2.5 X 10 ⁶	G3 缺氧症 G4 低血壓 G3 肌酸酐 G4 嗜眠症/間歇性錯亂	2	需要插管
1010015	2.5 X 10 ⁶	G4 肌陣攣 G4 表達性失語症	2	需要插管
1010021	1 X 10 ⁶	G4 失語症 G3 運動神經病變	2	

細胞激素釋放症候群

[0229] 在結合 CD19 標靶後經活化之 T 細胞誘發細胞激素釋放。使用廣泛檢索策略，可歸因於 CRS 的治療時突發性不良事件包括發燒、發熱性嗜中性減少症、低血壓、急性血管滲漏症候群、高肌酸酐、腎功能衰竭、缺氧症、與胸膜積水。28 個個體(88%)報告可歸因於細胞激素釋放之不良事件，其中 24 個個體(75%)報告一個≥第 3 級事件，及 6 個個體(19%)經歷嚴重事件。起因於協同治療(例如 IL-2(用於第 1 組)與調理性化療(引起發熱性嗜中性低下症))的不良事件可能混淆此分析。

[0230] CRS 之臨床表現典型上在抗 CD19 CAR+T 細

胞輸注後的第一週內出現，而在第 3 組個體中較不常見。在第 3 組之 11 個個體中只有 1 個經歷第 3 級低血壓，及 4 個經歷第 3 級發燒。只有在第 1 與 2 組個體中報告急性血管滲漏症候群、少尿症、高肌酸酐、與腎功能衰竭事件。

神經性不良事件

[0231] 在三組中都觀察到神經性不良事件，主要是失語症/言語障礙症、錯亂、運動神經病變及嗜眠症。13 個個體(41%)有嚴重的 $\geq$ 第 3 級神經毒性，及 11 個個體(34%)經歷嚴重事件。

[0232] 因神經毒性而死亡的個體在病毒性 A 型流行性感胃感染情況下有 CNS 腦血管缺血事件。研究員認為這事件與抗 CD19 CAR+T 細胞無關。

[0233] 對神經性不良事件而言，5 個有神經毒性事件的個體(16%)為了保護氣道而需要機械換氣法；這些個體全都在第 1 與 2 組。在第 3 組中沒有個體被插管。

[0234] 神經性不良事件在抗 CD19 CAR+T 細胞輸注後的第 2 至 17 日之間有 6 日之中位數發病時間(除在 1 個個體中出現第 4 級脊髓炎之外)，及在抗 CD19 CAR+T 細胞輸注後的第 110 日發病。考慮到發病時間、表現與腦部 MRI 發現，研究員認為這事件與氟達拉濱有關而非歸因於抗 CD19 CAR+T 細胞。神經性不良事件消退成第 1 級或更好之中位數時間是輸注後 14 日。

死亡

[0235] 2 個個體在化療與抗 CD19 CAR+T 細胞輸注 30 日內死亡。個體 2 在研究中治療後 18 日死亡，死因是腦梗塞併發病毒性肺炎、A 型流行性感胃感染、大腸桿菌感染、呼吸困難、與缺氧症。個體 11 患有 PMBCL 合併廣泛纖維化縱膈腔淋巴瘤，在研究中治療後 16 日死亡。在驗屍時未確定死因及該驗屍報告作成結論，死因很可能是心律不整合併 PMBCL 侵犯縱膈腔。研究員認為無一事件與抗 CD19 CAR+T 細胞有關。

實施例 2

[0236] 對選定患者投予調理性化療法，該調理性化療法包含 $300 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 的環磷醯胺及 $30 \text{ mg/m}^2/\text{日}$ 的氟達拉濱。從第 -5 至 -3 日投予該調理性化療法投予三日。在第 0 日，第一亞群患者(患者 22 至 28)(表 6)接受 10 日製造的新鮮抗 CD19 CAR+T 細胞，及第二亞群患者(患者 29 至 32)接受 6 日製造的經冷凍保存抗 CD19 CAR+T 細胞。

表6-用於患者22至28之症狀與結果數據

患者	症狀	結果
22	DLBCL	PR
23	FL	PR
24	DLBCL	PR
25	DLBCL	PR
26	DLBCL	PD
27	DLBCL	CR
28	DLBCL	PD

DLBCL = 瀰漫性大型B細胞淋巴瘤; FL = 濾泡性淋巴瘤; PR = 部分反應;
CR = 完全反應; PD = 進行性疾病

[0237] 利用使用 Millipore HCD8MAG15K17PMX 套組 (T1、T2、免疫調節性細胞激素、趨化因子、免疫效應子) 的 luminex 來試驗患者血清。在調理前與後測量下列的量：介白素 15(IL-15)、單核球趨化性蛋白 1(MCP-1)、 γ 誘導蛋白 10(IP-10)、胎盤生長因子(PLGF)、可溶性細胞間黏著分子 1(sICAM-1)、C-反應蛋白(CRP)、血管內皮生長因子 D(VEGF-D)、巨噬細胞發炎蛋白 1 β (MIP-1 β)。

[0238] 在患者 22 至 28 中，患者 22 至 25 與 27 顯示至少部分反應，及患者 26 與 28 顯示在治療後進行性疾病。對患者 22 至 26 而言，IL-15、MCP-1、與 PLGF 量顯示在患者血清中至少有些增加(圖 4A、圖 4B、與圖 4D)，而 IP-10、sICAM-1、CRP、VEGF-D、與 MIP-1 β 量在某些患者中增加及在其餘患者中保持穩定或減少(圖 4C 與圖 4E 至圖 4H)。對患者 27 與 28 只測量 IL-15(圖 4A)。

[0239] 在有反應患者(有部分反應或完全反應)與無反應患者(有進行性疾病)之間觀察到標記量有些差異。相對於基線值而言，IL-15 量在有反應患者中平均增加到約 35 倍(從增加到約 10 倍至增加到約 55 倍不等)，而在無反應患者中的 IL-15 量各增加到少於約 10 倍(圖 5A)。MCP-1 量在有反應患者中平均增加到約 5 倍(從增加到約 2 倍至增加到約 7 倍不等)，而在無反應患者(患者 26)中的 MCP-1 量增加到少於 4 倍(圖 5B)。IP-10 量在有反應患者中平均增加到約 3.5 倍(從增加到約 2 倍至增加到約 7 倍不等)，而在無反應患者中的 IP-10 之血清量實質上沒有變化(圖 5C)。PLGF 量在有反應患者中平均增加到約 30 倍(從稍微增加到約 2 倍或更少至增加到約 100 倍以上不等)，而在無反應患者中的血清 PLGF 之量只有稍微增加(圖 5D)。sICAM-1 量在有反應患者中平均增加到約 3 倍(從實質上沒有變化至增加到約 4.5 倍不等)，而在無反應患者中的 sICAM-1 之血清量實質上沒有變化(圖 5E)。CRP 量在有反應患者中平均增加到約 10 倍(從實質上沒有變化至增加到約 25 倍不等)，而在無反應患者中的 CRP 之血清量實質上沒有變化(圖 5F)。VEGF-D 量在有反應患者中平均增加到約 3 倍(從實質上沒有變化至增加到約 6 倍不等)，而在無反應患者中的 VEGF-D 之血清量實質上沒有變化(圖 5G)。MIP-1 β 之血清量在有反應患者中平均增加到約 1.5 倍(從實質上沒有變化至增加到約 3 倍不等)，而在無反應患者中的 MIP-1 β 之血清量減少約 50%(圖 5H)。

[0240] 對患者 30 至 33 投予 6 日製造的經冷凍保存細胞，在選定之第-6 日至第 18 日選定之日子測量下列的量：各種發炎細胞激素、趨化因子、效應子、發炎標記、與黏著分子，其包括顆粒球巨噬細胞集落刺激因子(GM-CSF)、干擾素 γ (IFN γ 或 IFNG)、介白素 10(IL-10)、IL-15、介白素 2(IL-2)、介白素 5(IL-5)、介白素 6(IL-6)、介白素 8(IL-8)、IP-10、MCP-1、MIP-1 β 、血清顆粒酶 A(GRNZA)、血清顆粒酶 B(GRNZB)、PLGF、CRP、單核球趨化性蛋白 4(MCP-4)、介白素 16(IL-16)、胸腺及活化調節趨化因子(TARC)、伊紅趨素-3(Eotaxin-3)、sICAM-1、可溶性血管黏著分子 1(sVCAM-1)、與血清澱粉樣蛋白 A(SAA)(圖 6A 至圖 6V)。

實施例 3

[0241] 為改良在實施例 1 之第 3 組中觀察到的淋巴球耗損之深度與持續期間，將 A1 組中的調理性化療劑量增加到 500 mg/m² 的環磷醯胺及 30 mg/m² 的氟達拉濱，連同目標劑量 2×10^6 個抗 CD19 CAR+T 細胞/kg 投予 3 日。用於此方案(A1 組)之環磷醯胺劑量比實施例 1 的第 2 組 30 mg/kg 的環磷醯胺調理方案(劑量限制性毒性發生率為 29%)低了約 38%，氟達拉濱劑量與實施例 1 之第 3 組的一樣低。

[0242] 根據 DLT 發生率與受益性-危險性評估來評估較高的調理性化療劑量與/或變動之抗 CD19 CAR+T 細胞

劑量。CAR 載體構築體與實施例 1 中所述的構築體相同。本實施例描述被設計來檢定利用快速、封閉及無珠(bead-less)程序產生之抗 CD19 CAR+T 細胞的安全性與效力。封閉該程序保留 T 細胞產品之特性。

研究設計

[0243] 執行一項臨床 1/2 期多中心、開放性標籤研究以評估在患有難治性 NHL 之個體中的 KTE-C19 之安全性及效力。本研究會分成被命名為第 1 期與第 2 期的二個不同期。

[0244] 在第 1 期期間內，有約 6 至 24 個患有 DLBCL、PMBCL 或 TFL 之個體參加以評估 KTE-C19 方案的安全性。研究主辦者內部的安全審查小組(SRT)將審查安全性資料及作出建議在第 1 期進一步研究與進展到第 2 期，如圖 3 所示。

[0245] 在第 2 期期間內，個體參加被命名為第 1 組與第 2 組的二個不同組。第 1 組納入患有難治性 DLBCL 之成年個體，及第 2 組納入患有難治性 PMBCL 與 TFL 之成年個體。TFL 被定義為接受用於濾泡性淋巴瘤的先前化療之個體。

[0246] 不受研究的期別支配，各個體會按照相同研究療程及程序要求。各個體會進行下列研究期間：篩選/白血球分離期；調理性化療期；研究用產品(IP)治療期；治療後評估期；長期追蹤期。

研究期間

[0247] 對各個體而言，參加期間包括 28 日的篩選期、5 至 7 日的調理性化療治療期、KTE-C19 治療期(包括 7 日的院內恢復期)、治療後評估期、及長期追蹤期(存活期監測至多 15 年)。

[0248] 在治療後 3 個月會追蹤個體之一切不良事件。在 3 個月後，會按照評估量表(SOA)中略述的不時監測個體之目標不良事件/嚴重不良事件(例如血液疾病、神經疾病、次發性惡性腫瘤、感染或自體免疫疾病)及在個體血液中的具複製力之反轉錄病毒(RCR)。延長追蹤的要求是根據在經治療個體中的基因轉移載體之潛在持久性。

[0249] 研究完成被定義為最後的個體完成長期追蹤期回診、被認為失去追蹤、撤回同意、或死亡。當在第 2 期之第 1 組中的所有個體及全體研究群體分別已完成 6 個月之疾病反應評估、失去追蹤、從研究中退出、或死亡(不論何者先發生)時，將進行主要分析。

個體資格

[0250] 用於個體之納入標準包括：

a) 組織學檢查證實為侵襲性 B 細胞 NHL，包括下列由 WHO 2008 定義的種類：DLBCL(不另加規定)、富 T 細胞/組織細胞的大型 B 細胞淋巴瘤、慢性炎相關 DLBCL、老人艾司坦-巴爾病毒(EBV)+DLBCL、原發性縱膈腔(胸

腺)大 B 細胞淋巴瘤、或濾泡性淋巴瘤轉化 DLBCL；

b) 化療難治之症，被定義為下列的一或多者：對含有最新式化療法之方案有最佳反應的穩定疾病(穩定疾病期間必須 ≤ 12 個月)或進行性疾病；及先前自體 SCT 的疾病進展或復發 ≤ 12 個月；

c) 個體先前必須接受過適當療法(至少包括抗 CD20 單株抗體，除非研究員確定腫瘤是 CD20 陰性)及含有蔥環類之化療方案；

d) 患有轉化 FL 之個體先前必須接受過濾泡性淋巴瘤化療法且後來在轉化 DLBCL 後患有化療難治之症；

e) 至少 1 個可測病灶(根據修改之 IWG Response Criteria for Malignant Lymphoma)；只有在完成放射治療後進展已被記載時，才會認為先前經放射線照射過的病灶可測得；

f) 腦部 MRI 顯示沒有中樞神經系統淋巴瘤存在的證據；

g) 在個體計畫白血球分離時，從先前任何放射治療或全身性治療起必須已經過大於或等於 2 週；

h) 由於先前療法造成之毒性必須是穩定的或回復至 $\leq$ 第 1 級(除臨床上不顯著的毒性(例如毛髮脫落)外)；

i) 個體必須年滿 18 歲；

j) 美國東岸癌症臨床研究合作組織(ECOG)日常體能狀態評估得分為 0 或 1；

k) 個體必須有下列實驗室值：i) $ANC \geq 1000/\mu L$ ；ii)

血小板數 $\geq 50,000$ 個/ μL ；iii)適當腎、肝、與心臟功能，定義為血清肌酸酐 ≤ 1.5 mg/dL，血清 ALT/AST ≤ 2.5 ULN，與總膽紅素 ≤ 1.5 mg/dl，除了患有捷倍耳氏(Gilbert's)症候群之個體以外；及 iv)左心室射出率 $\geq 50\%$ 且沒有心包滲液(利用 ECHO 測定)存在的證據；及

1) 具生育能力婦女必須血清或尿液懷孕試驗是陰性的。

[0251] 用於個體之排除標準包括：

a) 除非黑色素瘤的皮膚癌或原位癌(例如子宮頸癌、膀胱癌、乳癌)或濾泡性淋巴瘤之外的惡性腫瘤病史，除非疾病消失至少 3 年；

b) CLL 之 Richter 氏轉化病史；

c) 在簽署知後同意書 6 週內自體幹細胞移植；

d) 同種異體幹細胞移植法病史；

e) 先前 CD19 標靶療法(除在本研究中接受過 KTE-C19 且符合再治療資格之個體外)；

f) 先前嵌合抗原受體療法或其他基因改造的 T 細胞療法；

g) 歸因於胺基糖苷之嚴重立即型過敏反應病史；

h) 臨床上顯著的主動感染(例如允許單純 UTI，細菌性咽炎)或目前接受 IV 抗生素或在參加前 7 日內接受過 IV 抗生素(允許預防性抗生素、抗病毒藥物與抗黴菌藥物)；

i) 受 HIV、B 型肝炎病毒(HBsAg 陽性)或 C 型肝炎病

毒(抗 HCV 陽性)感染之已知病史；

j) 患有可檢測的腦脊髓液惡性腫瘤細胞或腦部轉移之個體，或有腦脊髓液惡性腫瘤細胞或腦部轉移病史之個體；

k) 癲癇、腦血管缺血/出血、失智症、小腦疾病、或任何自體免疫疾病合併 CNS 侵犯之病史；

l) 患有心房或心室淋巴瘤侵犯之個體；

m) 需要起因於腫瘤塊效應(例如腸阻塞或血管壓迫)的緊急療法；

n) 原發性免疫缺陷；

o) 很可能妨礙研究治療之安全性或效力的評估之任何醫療狀況；

量及用於患有腎上腺機能不全之個體的生理替代劑量之局部與吸入性皮質類固醇；不允許大於或等於 5 mg/日的強體松(prednisone)之皮質類固醇劑量或等劑量的其他皮質類固醇；

q) 對任何在本研究中使用的藥劑有嚴重立即型過敏反應之病史；

r) 在調理方案開始前≤6 週的活毒疫苗；

s) 懷孕或母乳哺育的具生育能力婦女，由於該準備性化療對胎兒或嬰兒的潛在危險效果；已接受絕育手術或停經至少 2 年的婦女不被認為具生育能力；

t) 從簽署同意書開始到 KTE-C19 完成後 6 個月期間無意願實施節育的男性與女性個體；及

u) 研究員判斷個體不太可能完成所有操作程序需要的研究回診或程序，包括追蹤回診或服從參與研究的需要。

[0252] 此外，還會對血液樣本與腫瘤樣本進行生物標記分析以評估用於 KTE-C19 之預測性及藥效指標。也可評估在侵襲性 NHL 中的預後指標。將基線白血球分離與最終 KTE-C19 樣本積存及可利用免疫表現型與/或基因表現剖析來分析。可將剩餘樣本儲存用於未來 DNA、RNA、或蛋白質指標之探索分析。將收集歸檔的腫瘤組織做為中央路徑審查之依據。另外的分析法可包括 CD19 表現、基因表現剖析、與 DNA 變異分析。可將剩餘腫瘤樣本儲存用於未來 DNA、RNA、或蛋白質指標之探索分析。

治療操作程序

排程

[0253] 利用白血球分離法從個體得到白血球(12 至 15 升血球分離，目標是靶向用於製造 KTE-C19 的約 5×10^9 至 10×10^9 個單核細胞)。將各個體之經白血球分離產物處理以濃化含有 T 細胞的 PBMC 群落。接著將 T 細胞刺激來增殖及經由反轉錄病毒載體轉導 T 細胞以導入 CAR 基因。接著使 T 細胞增殖與冷凍保存以產生研究用藥品。在完成各個體的調理性化療方案後，個體將個別接受 KTE-C19 輸注。

研究療程

[0254] 個體將接受非骨髓催毀性調理方案(由環磷醯胺與氟達拉濱組成)以誘發淋巴球耗損及創造對 KTE-C19 體內增殖來說合宜之環境。在第-5 日(或對於 B 組是第-7 日)至第-1 日為個體開始利用環磷醯胺與氟達拉濱的調理性化療。該 5 日調理性化療方案是在門診時投予。該 7 日調理性化療方案可以門診病人或住院病人方案投予，根據研究員的裁量。

第 1 期：

[0255] 在 A1 與 A2 組中，個體將接受下列 5 日調理性化療方案：在輸注日在投予環磷醯胺前先靜脈輸注 1L 的 0.9% NaCl 生理鹽水；接著在第-5、-4、與-3 日在 60 分鐘內靜脈輸注 500 mg/m² 環磷醯胺；接著在第-5、-4、與-3 日在 30 分鐘內靜脈輸注 30 mg/m² 氟達拉濱；接著在氟達拉濱輸注完畢時加輸注 1L 的 0.9% NaCl 生理鹽水(圖 3)。在某些案例中，根據院內準則可添加美司鈉(mesna)(2-巰基乙烷磺酸鈉)。

[0256] 在 A3 組中，個體將接受下列 5 日化療方案：在輸注日在投予環磷醯胺前先靜脈輸注 1L 的 0.9% NaCl 生理鹽水；接著在第-5、-4、與-3 日在 60 分鐘內靜脈輸注 300 mg/m² 環磷醯胺；接著在第-5、-4、與-3 日在 30 分鐘內靜脈輸注 30 mg/m² 氟達拉濱；接著在氟達拉濱輸

注完畢時加輸注 1L 的 0.9% NaCl 生理鹽水。在某些案例中，根據院內準則可添加美司鈉。

[0257] 對參加 A1、A2 或 A3 組的個體而言，在 KTE-C19 輸注(第 0 日)前的第 -2 與 -1 日是休息日。

[0258] 在 B1 與 B2 組中，個體將接受下列 7 日化療方案：靜脈輸注 0.9% NaCl 生理鹽水，建議為 2.6 ml/kg/hr(最大值 200 ml/hr)，按照從環磷醯胺輸注前的 11 小時開始連續輸注到最後之環磷醯胺輸注後的 24 小時為止來投予；在第 -7 與 -6 日在 120 分鐘內靜脈輸注 30 mg/kg(1110 mg/m²)環磷醯胺；接著在第 -5、-4、-3、-2 與 -1 日在 30 分鐘內靜脈輸注 25 mg/m² 氟達拉濱。在某些案例中，根據院內準則可添加美司鈉。

[0259] 對參加 B1 或 B2 組的個體而言，在化療最後一日(第 -1 日)與 KTE-C19 輸注(第 0 日)之間沒有休息日。

[0260] 對 KTE-C19 而言，在 A1、A3 或 B1 組中的個體將接受由下列組成之 KTE-C19 治療：一次靜脈輸注 CAR 轉導之自體 T 細胞，目標劑量為 2×10^6 個抗 CD19 CAR+T 細胞/kg($\pm 20\%$ ；從 1.6×10^6 個抗 CD19 CAR+T 細胞/kg 至 2.4×10^6 個抗 CD19 CAR+T 細胞/kg)。可投予最小劑量之 1×10^6 個抗 CD19 CAR+T 細胞/kg。對體重超過 100 kg 的個體而言，要投予最大平坦劑量之 2×10^8 個抗 CD19 CAR+T 細胞/kg。

[0261] 在 A2 或 B2 組中的個體將接受由下列組成之 KTE-C19 治療：一次靜脈輸注 CAR 轉導之自體 T 細胞，

目標劑量為 1×10^6 個抗 CD19 CAR+T 細胞/kg ($\pm 20\%$ ；從 0.8×10^6 個抗 CD19 CAR+T 細胞/kg 至 1.2×10^6 個抗 CD19 CAR+T 細胞/kg)。可投予最小劑量之 0.5×10^6 個抗 CD19 CAR+T 細胞/kg。對體重超過 100 kg 的個體而言，要投予最大平坦劑量之 1×10^8 個抗 CD19 CAR+T 細胞/kg。

第 2 期：

[0262] 將在第 1 期中被 SRT 確定是安全的 KTE-C19 方案轉到本研究的第 2 期部分。

再治療

[0263] 達到 PR 或 CR 的個體如果後來進行性疾病(及尚未能確定該復發是 C19 癌細胞)的話，可以接受第二次調理性化療與 KTE-C19 療程。要符合第二次療程的資格，個體應該被再次評估且繼續符合原先研究資格標準(除和先前 CAR 療法有關之排除標準外)，且應該未接受過後續用於治療淋巴瘤的化療。另外，和氟達拉濱或環磷醯胺有關之任何毒性應該是穩定的且在再治療前回復至第 1 級以下(除毛髮脫落外)。一個個體最多可有一次再治療療程。參加 2 期之個體將接受同一 KTE-C19 方案。參加第 1 期的個體將接受為第 2 期所選定之 KTE-C19 方案。如果尚未選定該第 2 期方案，則個體將接受被 SRT 確定是安全的最後 KTE-C19 方案。

[0264] 在第 1 期經歷 DLT 或在第 2 期經歷可相提並

論的毒性之個體不符合再治療資格。另外，如果個體具有已知的中和性抗體，則該個體不符合再治療資格。然而，如果發展出非中和性 HAMA 或 HABA 抗體，則個體在符合該資格標準情況下可被再治療。

治療後評估

[0265] 在完成 KTE-C19 輸注及出院(典型上在第 8 日)後，在治療後評估期間會追蹤所有個體。從第 0 日(KTE-C19 輸注)算起，個體將在第 2 週、第 4 週(± 3 日)、第 2 個月(± 1 週)、與第 3 個月(± 1 週)回診。評估可以包括 MMSE(簡易智能狀態測驗)；用於疾病評估的 PET-CT；理學檢查與生命徵象；實驗室醫學，包括 Chemistry Panel、CBC with differential、對所有具生育能力的婦女的 β -HCG 懷孕試驗(血清或尿液)、抗 KTE-C19 抗體、淋巴球亞群、細胞激素量、抗 CD19 CAR+T 細胞、與具複製力之反轉錄病毒(RCR)分析；不良事件/嚴重不良事件報告；合併用藥文件製作；及為簽署同意書可選擇部分的個體採集新鮮腫瘤樣本。

[0266] 首先利用 PCR 分析法(配合以流動式細胞測量術)監測血液中的轉導抗 CD19 CAR+T 細胞之存在、增殖、持久性、與免疫表現型。也評估血液中的細胞激素之血清量。在試片中可包括下列細胞激素：促發炎與免疫調節性細胞激素 IL-6、TNF α 、IL-8、IL-1、IL-2、GM-CSF、IL-15、IL-17a、IFN γ 、IL-12p40/p70；免疫效應分

子顆粒酶 A、B、穿孔素、sFasL；急性期反應 CRP、SAA 與趨化因子 MIP-1 α 、MIP-3 α 、IP-10、伊紅趨素、MCP-4 的相關物。當 KTE-C19 包含反轉錄病毒載體轉導之 T 細胞時，也監測被治療患者血液中的具複製力之反轉錄病毒 (RCR) 的存在。

[0267] 如果個體符合用 KTE-C19 再治療之資格，則將再治療前的最後一次掃描作為評估對再治療之反應的基線值。

[0268] 在治療後評估期間內的任何時候，如果個體在治療後沒有好轉(即 CR 或 PR)或在有反應後又進展，則該個體直接進入第 3 個月回診且在長期追蹤期內就疾病結果而被追蹤。

[0269] 在長期追蹤期內追蹤所有個體之存活期與疾病狀態，如果是適合的話。個體在完成治療後評估期的第 3 個月回診後將開始長期追蹤期(不管他們是否在治療後好轉或由於進行性疾病而直接進入第 3 個月回診)。從第 0 日(KTE-C19 輸注)算起到第 18 個月，個體將每 3 個月(± 2 週)回診；在第 24 個月至第 60 個月之間每 6 個月(± 1 個月)回診；及從第 6 年(第 72 個月)(± 3 個月)開始到第 15 年，個體將每年回診一次。在這次回診時將完成下列程序：理學檢查；PET-CT 掃描；疾病評估；實驗室醫學，包括 CBC with differential、抗 KTE-C19 抗體、淋巴球亞群、抗 CD19 CAR+T 細胞、與 RCR 分析；目標不良事件/嚴重不良事件報告(24 個月內或到進行性疾病為止，不論

何者先發生)，包括神經疾病、血液疾病、感染、自體免疫疾病、與次發性惡性腫瘤；目標合併用藥文件製作(在進行性疾病後的 2 年內)，包括 γ 球蛋白、免疫抑制劑、抗感染劑、疫苗接種、與用於治療進行性疾病的任何療法。

[0270] 評估會包括頸、胸部、腹部與骨盆之 PET-CT 掃描，連同疾病的一切其餘部位之適當影像。個體將會有第一份在 KTE-C19 輸注後 4 週及如上述定期的 KTE-C19 輸注後計畫 PET-CT 腫瘤評估。

[0271] 對為 CR 進行評估之個體進行骨髓穿刺活檢。根據修改之 IWG Response Criteria for Malignant Lymphoma，只有當個體在治療前就患有淋巴瘤侵犯骨髓時或如果在末梢血球計數或血塗片中的新異常導致臨床上診斷為淋巴瘤侵犯骨髓時，才應該進行骨髓穿刺活檢。骨髓穿刺活檢必須顯示在型態上沒有疾病存在之證據，或者如果在型態上不能確定，則在免疫組織化學上必須是陰性的，以把 CR 指定給治療。

研究之終點

主要終點

[0272] 第 1 期之主要終點是發生不良事件(被定義為劑量限制性毒性(DLT))。第 2 期之主要終點是客觀反應率(ORR)，被定義為由研究員根據修改之 IWG Response Criteria for Malignant Lymphoma 確定的完全反應或部分

反應發生率。在分析截止日期前不符合客觀反應標準之所有個體將被認為是無反應者。

次要終點

[0273] 將第 1 期個體中的客觀反應率作出總結。根據 IRRC 測定第 2 期個體中的客觀反應率，其被定義為由 IRRC 根據修改之 IWG Response Criteria for Malignant Lymphoma 確定之完全反應或部分反應的發生率。在分析截止日期前不符合客觀反應標準之所有個體將被認為是無反應者。經歷客觀反應的個體之治療反應時間(DOR)定義為該個體的第一次客觀反應或死亡(不論原因)之日期，該第一次客觀反應隨後根據修改之 IWG Response Criteria for Malignant Lymphoma 被確定為進行性疾病。在分析資料截止日期前不符合進展標準或死亡之個體將在其最後可評估的疾病評估日被審查及將其反應用進展中表示。

劑量限制性毒性(DLT)

[0274] 劑量限制性毒性被定義為下列在 KTE-C19 輸注後 30 日內發病之 KTE-C19 相關事件：

- a) 從細胞轉移日起持續 21 日以上的第 4 級嗜中性白血球減少症。
- b) 從細胞轉移日起持續 35 日以上的第 4 級血小板減少症。
- c) 任何需要插管的 KTE-C19 相關不良事件(包括為了

保護氣道而需要插管之第 4 級錯亂)被認為是 DLT。

d) 持續 3 日以上的其他一切 3 級毒性及一切第 4 級毒性，除下列被認為不是 DLT 之狀況外：i) 在 2 週內消退至第 1 級或更少及在 4 週內消退至基線值的失語症/言語障礙症或錯亂/認知障礙；ii) 第 3 級發燒；iii) 骨髓抑制(包括在血小板數少於 50×10^9 個/L 之條件成立下流血及在嗜中性白血球減少症之條件成立下確定細菌感染)，被定義為淋巴球減少症、血紅素減少、嗜中性白血球減少症、血小板減少症，除非嗜中性白血球減少症與血小板減少症符合上述 DLT 定義；iv) 在細胞輸注之 2 小時內發生的立即型過敏反應(與細胞輸注有關)，其可用標準療法在細胞輸注之 24 小時內回復至第 2 級或更少；及 v) 第 3 或第 4 級低 γ 球蛋白血症。

[0275] 將 CRS 根據修訂版分級系統(Lee 2014)分級。將歸因於 CRS 的不良事件對應到總 CRS 分級評估來確定 DLT。

[0276] 在第 1 期期間內，約 6 至 24 個患有 DLBCL、PMBCL、或 TFL 的個體參加以評估 KTE-C19 方案之安全性。在完成各自的 KTE-C19 輸注後 30 日內為 DLT 而評估各組個體。如果 6 個個體之 DLT 發生率 ≤ 1 ，則可探索 B1 組或該研究可進入試驗的第 2 期。這個決定係根據總受益性/危險性比與可用的生物標記資料。

[0277] 然而，如果 6 個個體中有 2 個在第 1 期期間內出現操作程序所定義之 DLT，則 SRT 可建議加入每組

各 3 個個體的 2 個組(總計至多 12 個個體)，所投予之劑量與第一批 6 個個體一樣。在此情況下，如果 9 個個體中有 ≤ 2 個或如果 12 個個體中有 ≤ 3 個出現 DLT，則發展到另一組或進入研究的第 2 期。

[0278] 如果個體之 DLT 發生率 $>2/6$ 、 $>3/9$ 、或 $>4/12$ 個，則可在另外的 6 至 12 個個體中探索其他 KTE-C19 方案(圖 3)。相同 DLT 規則如上述地適用。

實施例 4

[0279] 經由攜帶抗 CD19 CAR 構築體基因之 g-鼠類反轉錄病毒轉導自體淋巴球，接著增殖達到所欲細胞劑量而產生 T 細胞產品。在收集時或在與 CD19+細胞共同培養後對共同培養液的上清液進行流動式細胞測量術與多重細胞激素分析法來評估抗 CD19 CAR+T 細胞產品。用 K562-CD19 細胞或 K562-NGFR 控制組細胞在效能子對靶細胞比例為 1:1 下進行 CAR+T 細胞共同培養液之產品特性分析。標準培養時間是 18 小時。用環磷醯胺與氟達拉濱調理患有復發/難治性 B 細胞惡性腫瘤的患者，接著投予抗 CD19 CAR+T 細胞。

[0280] 使用 EMDmillipore Luminex® xMAP®多重分析法測量細胞激素量與趨化因子量。使用 Luminex 200™儀器與 xPONENT® 3.1 數據分析軟體進行數據擷取與分析。對 IL-7 而言，在純淨樣本下根據製造業者之指導方針使用人 IL-7 Quantikine HS ELISA Kit (HS750)。利用定

量 PCR 分析法測量循環中 CAR T 細胞的頻率。對患者投予預先調理方案，該方案包含在第 -5 與 -4 日投予 300 mg/m^2 環磷醯胺及在第 -5、-4、與 -3 日投予 30 mg/m^2 氟達拉濱。在下列日期採集患者血清：在第 -12 至 -5 日之間投予環磷醯胺與氟達拉濱前(「前」)、在第 0 日之間投予 CAR+T 細胞前(「後」)、及在投予 CAR+T 細胞後至第 18 日之間的選定日。在調理前與後及在投予 CAR+T 細胞後之選定日測量 GM-CSF、IL-2、MCP-1、IL-6、IL-10、MCP-4、CRP、IFN γ 、顆粒酶 A、IL-15、IL-5、顆粒酶 B、IL-8、IP-10、MIP-1b、PLGF、IL-16、TARC、伊紅趨素 3、sICAM-1、sVCAM-1、與 SAA 血清濃度，如圖 6 所示。發現在用 300 mg/m^2 環磷醯胺及 30 mg/m^2 氟達拉濱調理後，患者血清中的某些細胞激素濃度增加(圖 7A 至圖 7I 及圖 18A 至圖 18E)。尤其，在用環磷醯胺及氟達拉濱調理後，IL-15、IL-7、PLGF、CRP、與 MCP-1 濃度顯著增加(圖 7A 至圖 7D、圖 7G、圖 18A、及圖 18C 至圖 18E)。也觀察到 IL-5、IL-10、IP-10、與 sICAM-1 濃度增加(圖 7E 至圖 7F、圖 7H 至圖 7I、與圖 18B)。相反地，發現在用環磷醯胺及氟達拉濱調理後穿孔素減少(圖 18F)。觀察到在預先調理後，各種其他被分析物之血清濃度增加或減少，如圖 18G 所示。治療另外的患者，及其結果請參見圖 11 至圖 17。此外，發現在預先調理後，IL-15(圖 19A)與 IP-10(圖 19B)之增加的血清量及穿孔素(圖 19C)之減少的血清量與經 CAR T 細胞治療之患者中的正

向客觀反應顯著相關。

[0281] 分別藉由流動式細胞測量術及多重細胞激素分析法評估 CAR+T 細胞輸注後之末梢血液淋巴球(PBL)與血清。將輸注前抗 CD19 CAR+T 細胞的細胞激素生產與 K562-NGFR 負控制組作比較(圖 8)。在 T1、T2、及免疫體內恆定性細胞激素 GM-CSF、IL-2、IFN γ 、IL-5、IL-4、與 IL-13、及促發炎細胞激素與趨化因子 TNF α 、IL-6、顆粒酶 B、MIP-1b(β)、MIP-1a(α)、及 SCD137 濃度方面，抗 CD19 CAR+T 細胞樣本比負控制組更高(圖 8A 至圖 8L)。此外，靶抗原與輸注前 T 細胞產品結合導致可調節活性的受體(例如 CD107a(α)、401BB、與 PD-1)上調(圖 9A 至圖 9C)。

[0282] 在 BD FACSCanto II (利用 FlowJo 軟體作數據擷取與分析)上進行多色流動式細胞測量術。較短之製造程序產生具有 CD4+、初始及中央記憶 T 細胞較高表達的 CAR+T 細胞產品(圖 10)。輸注後 CAR+T 細胞顯出多元化亞群組成，其主要包含已分化 T 細胞及一些中央記憶或初始 T 細胞(圖 10)。

[0283] 抗 CD19 CD28 ζ CAR+T 細胞是臨床上有效的及誘發在淋巴瘤與白血病中的持續反應。持續臨床反應可在循環中沒有耐久 CAR+T 細胞情形下出現而使正常 B 細胞能恢復。用環磷醯胺及氟達拉濱調理透過引入能有利於 T 細胞之體內恆定性增殖、活化及運輸的分子來改良免疫環境。CAR+T 細胞治療導致治療後 3 週內循環細胞激

素與趨化因子快速升高且隨後消退。

實施例 5

[0284] 進行研究以檢定用非清髓性調理方案治療個體之安全性及效力，該調理方案係由劑量大於或等於 300 mg/m² 的環磷醯胺及劑量大於或等於 30 mg/m² 的氟達拉濱組成。這些調理性化療劑之劑量被用來進一步誘發淋巴球耗損及創造對 KTE-C19 體內增殖更合宜的環境。

[0285] 參加之個體接受白血球分離以得到用於產生抗 CD19 CAR+T 細胞的 PBMC。然後個體接受調理性化療，該調理性化療包含在第 -5 至 -3 日投予 500 mg/m²/日的環磷醯胺及 60 mg/m²/日的氟達拉濱。在第 0 日，個體藉由 IV 接受抗 CD19 CAR+T 細胞/kg 劑量。個體可接受 2x10⁶ 個抗 CD19 CAR+T 細胞/kg(±20%)作為起始劑量，接著可根據個體反應性增加或減少劑量。

[0286] 在調理性化療及投予抗 CD19 CAR+T 細胞後，監測個體的副作用、細胞激素之血清量、T 細胞數、及疾病反應。在調理前與後測量下列之血清量以確定該調理性化療效果：各種發炎細胞激素、趨化因子、效應子、發炎標記、與黏著分子，其包括但不限於 IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-10、IL-15、IL-16、IL-21、MCP-1、IP-10、PLGF、sICAM-1、CRP、VEGF、VEGF-C、VEGF-D、sVCAM-1、MIP-1 β 、FGF2、IL-1b、伊紅趨素、GM-CSF、IFN γ 、IL-12p40、MDC、IL-12p70、

IL-13、IL-17A、MIP-1a、TNFa、TNFb、顆粒酶 A、顆粒酶 B、穿孔素、SAA、MCP-4、與 TARC。在投予環磷醯胺、氟達拉濱、與抗 CD19 CAR+T 細胞中的每一者前或後採集血清，及將所有血清量與在調理性化療前的血清量作比較。將疾病反應性與各患者的調理後細胞激素剖析作比較以識別出在疾病反應性與調理後一或多種細胞激素量之間的任何關聯。

[0287] 嚴密監測副作用出現率以確定環磷醯胺與氟達拉濱之最大耐受劑量。視需要可醫學控制副作用。可增加或減少環磷醯胺與氟達拉濱中一或二者劑量以改良臨床療效及限制副作用。顯出最初部分反應接著進行性疾病的任何個體可接受在相同或不同環磷醯胺與/或氟達拉濱量下的第二次治療。在此專利申請案中，在小括號中註明作者名稱與日期、或專利編號、或專利公告編號來引用各種發表。在專利申請範圍前面的說明書末尾可發現這些公告之完全引用。將這些公告的揭示以引用方式將其全部內容併入本申請案作為參考以更完全地說明截至此處所描述及主張的發明日期為止該領域之習知技藝者熟知的技術狀態。然而，此處引用的參考資料不應被理解成承認該參考資料是本發明之先前技術。此處描述的各種態樣、實施方式、及選項皆可被結合於任何與全部變型中。

[0288] 本專利說明書中提到的一切公告、專利、或專利申請案以引用方式將其內容併入本案作為參考，在某種程度上彷彿個別公告、專利、或專利申請案被具體且逐

個地指明併入本案作為參考。然而，此處引用的參考資料不應被理解成承認該參考資料是本發明之先前技術。

[0289] 現在已概括描述完本發明，藉由參考此處提供之實施例可得到進一步的理解。這些實施例僅用於說明而非加以限制。

【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種表現抗-CD19 CAR的CAR-T細胞用於製造治療在CAR-T細胞投予之前已暴露於900 mg/m²/日的環磷醯胺的一個劑量及25 mg/m²/日的氟達拉濱(fludarabine)的一或多個劑量的白血病的藥劑之用途，其中，在該CAR-T細胞投予之前，且相對於將該白血病腫瘤暴露於環磷醯胺和氟達拉濱之前的基線量，患者已被測定接著在第0天呈現5倍的IL-15、2倍的IL-7、以及剩餘細胞激素至少一者的增加：1.5倍的MCP-1、1.5倍的CRP、及2倍的CXCL10/IP-10的較高血清量。

【請求項2】如請求項1之用途，其中該白血病經工程化CAR T細胞的治療有效量治療。

【請求項3】如請求項2之用途，其中該工程化嵌合抗原受體(CAR)T細胞的該治療有效量是約 1×10^6 或約 2×10^6 個細胞/kg。

【請求項4】如請求項1至3中任一項之用途，其中已每日投予氟達拉濱的劑量2至5天。

【請求項5】如請求項1至3中任一項之用途，其中在投予該CAR-T細胞(第0天)之前的第-2天，已投予該環磷醯胺的劑量及/或在投予該CAR-T細胞之前的至少4天開始，已投予該氟達拉濱的一或多個劑量。

【請求項6】如請求項1至3中任一項之用途，其中相較於以該環磷醯胺和氟達拉濱治療該腫瘤之前的血清量，帶有該腫瘤的患者進一步呈現選自下列的體內恆定性細胞

激素增加的血清濃度：介白素 7(IL-7)、介白素 5(IL-5)、 γ 誘導蛋白 10(IP-10)、胎盤生長因子(PLGF)、C-反應蛋白(CRP)、可溶性細胞間黏著分子 1(sICAM-1)、可溶性血管黏著分子 1(sVCAM-1)、巨噬細胞發炎蛋白 1 β (MIP-1 β)或其任何組合。

【請求項 7】如請求項 6 之用途，其中該體內恆定性細胞激素係 CRP 及 / 或 MIP-1 β 。

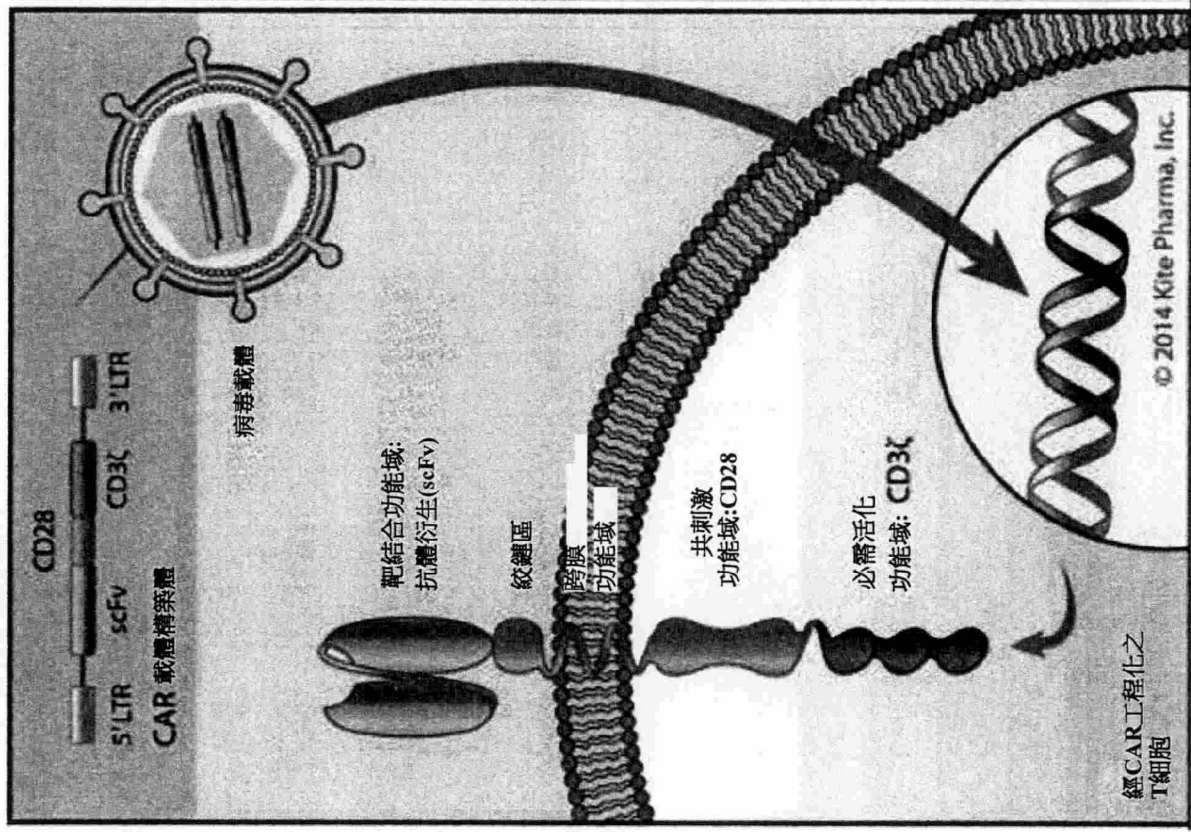
【請求項 8】如請求項 5 之用途，其中在投予該 CAR-T 細胞之前的第 -4、-3 及 -2 天，已投予該氟達拉濱。

【請求項 9】如請求項 4 之用途，其中該白血病為慢性或急性白血病、急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病、急性淋巴母細胞白血病(ALL)(包括非 T 細胞 ALL)、慢性淋巴球性白血病(CLL)、或其他白血病。

【請求項 10】如請求項 9 之用途，其中該白血病為 ALL。

【發明圖式】

圖 1



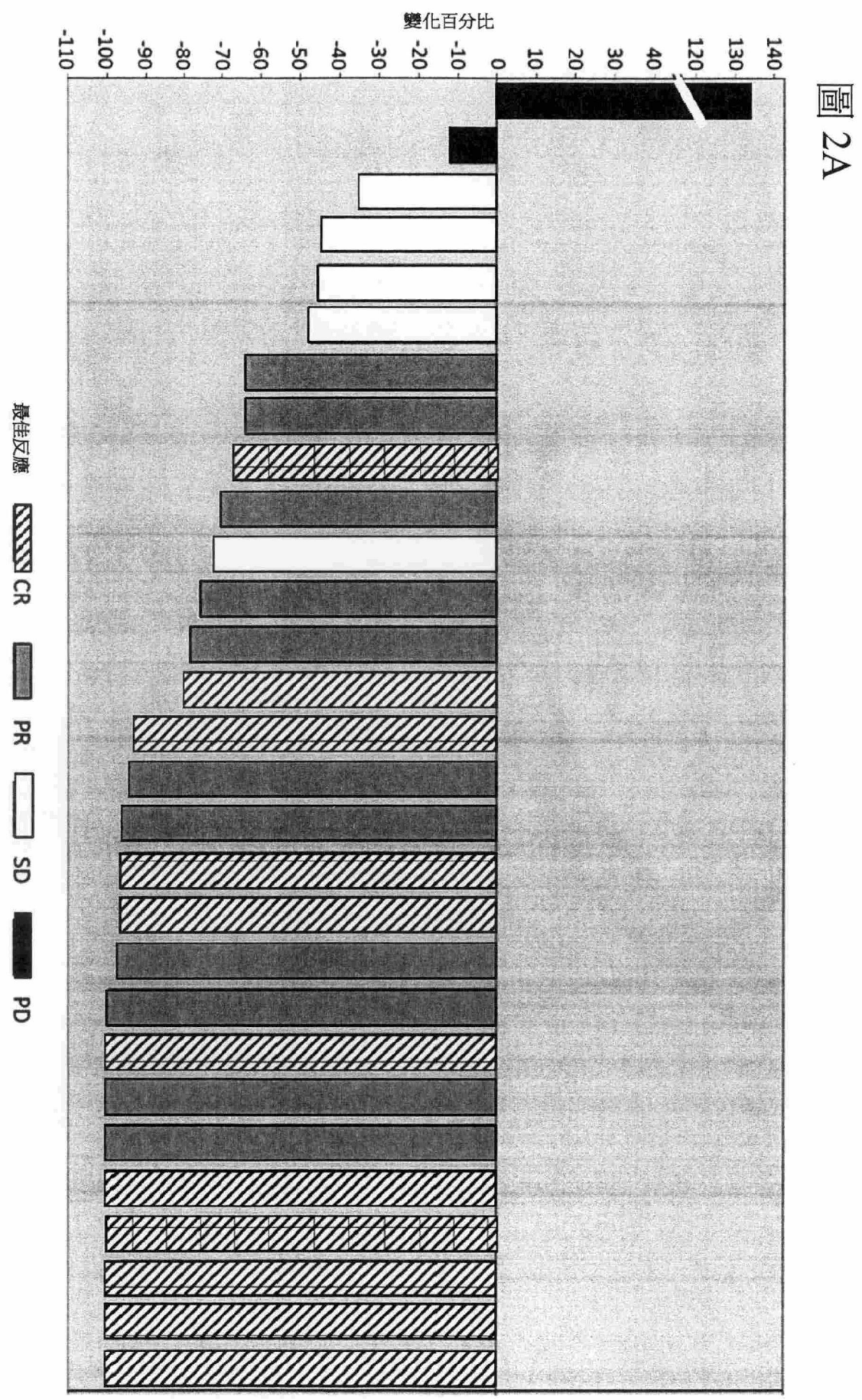


圖 2B

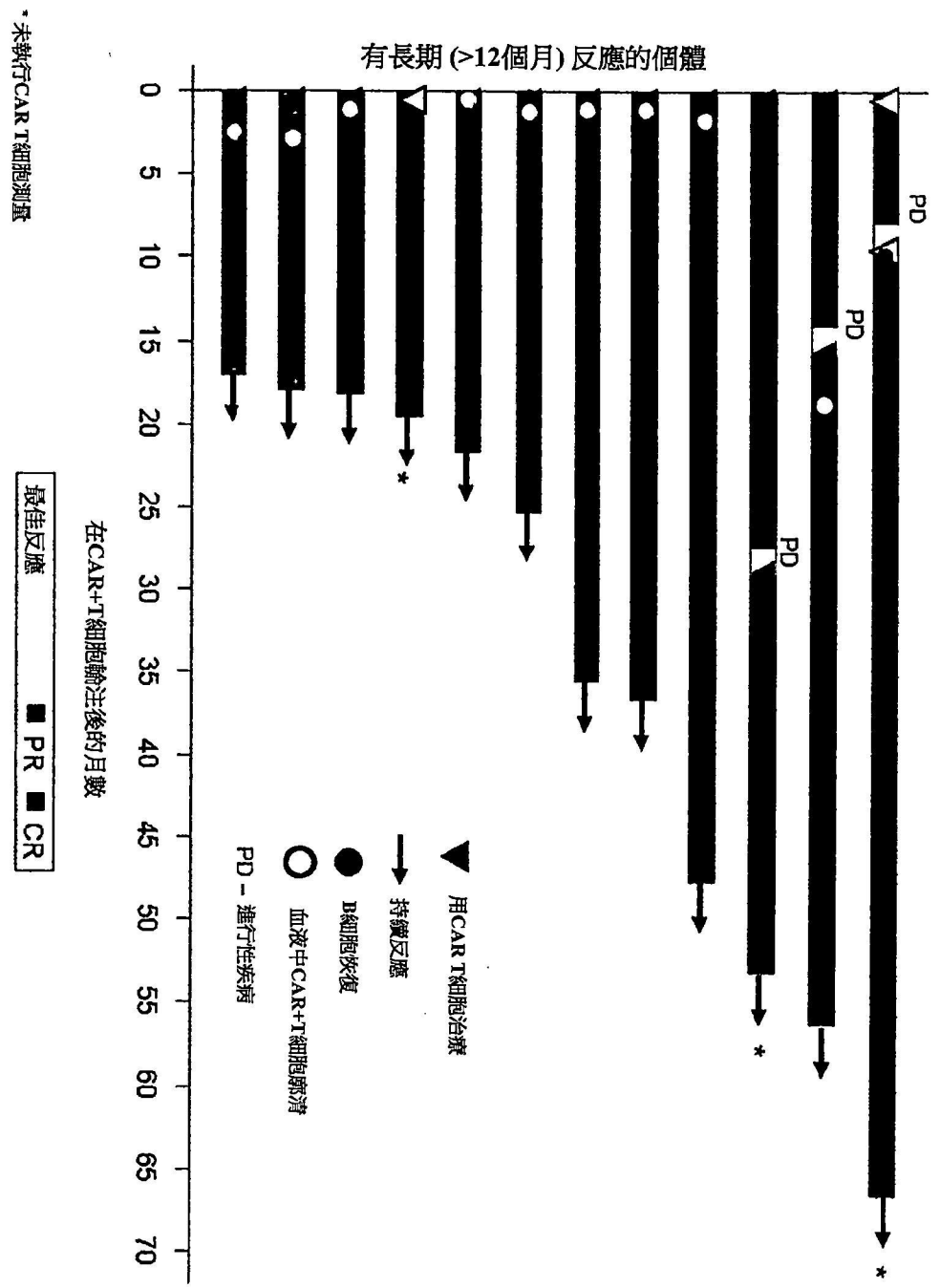


圖 3

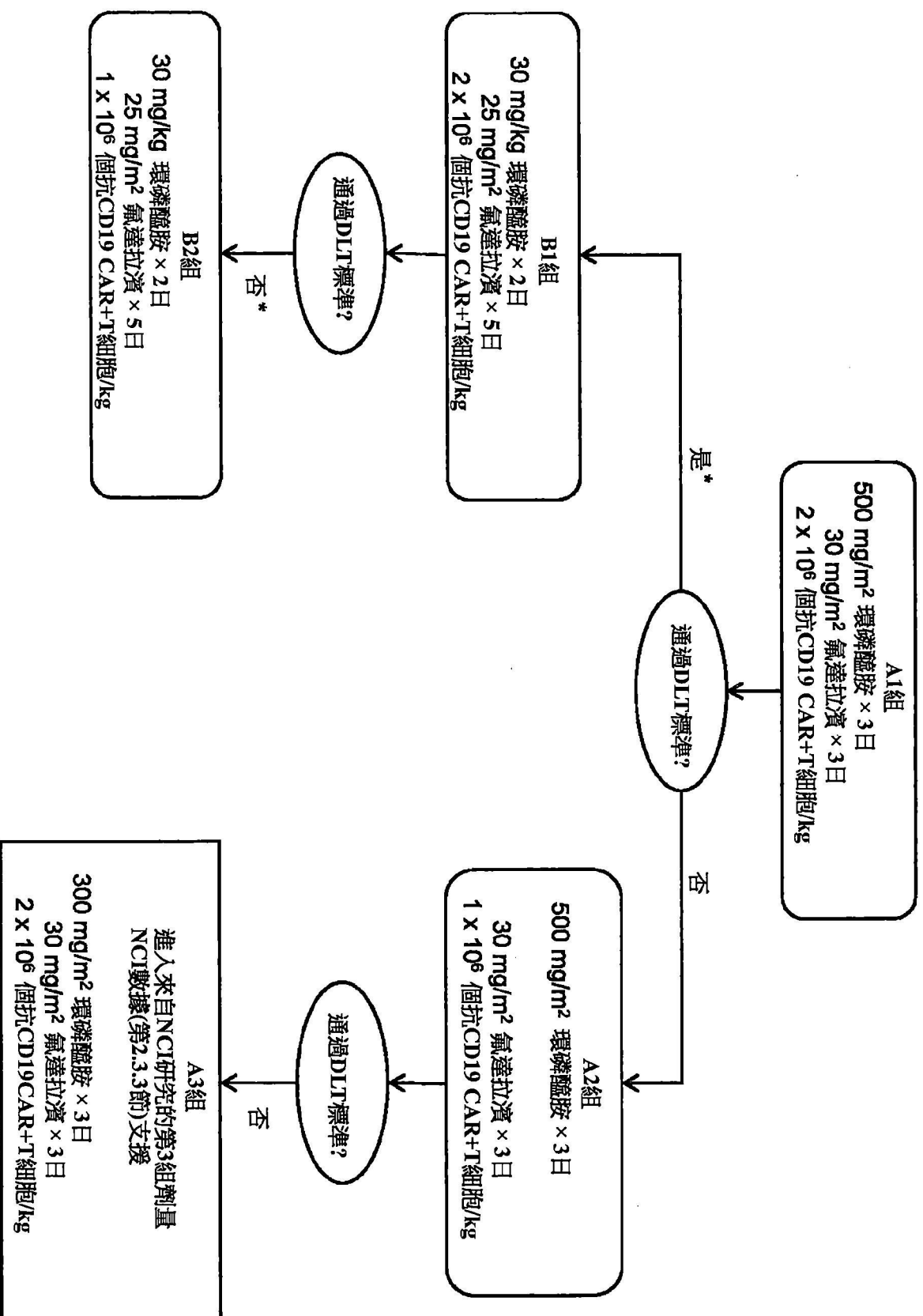


圖 4A

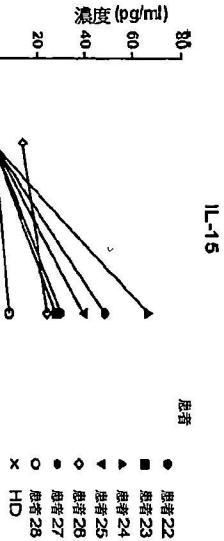


圖 4B

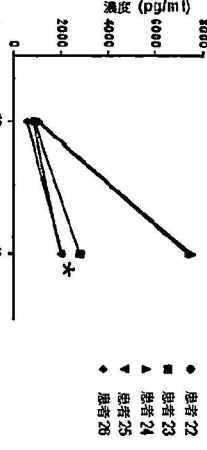


圖 4C

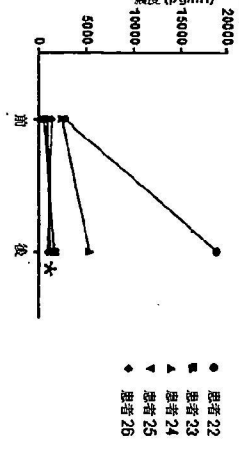


圖 4D

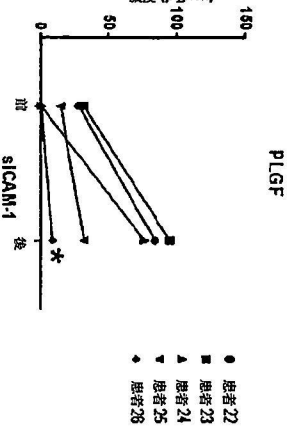


圖 4E

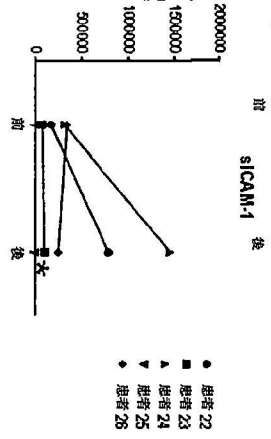


圖 4F

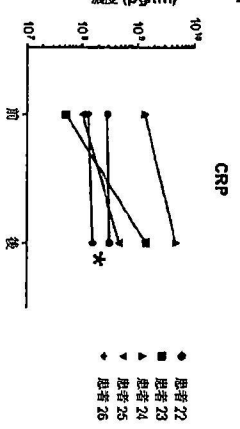


圖 4G

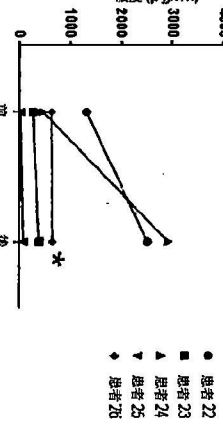


圖 4H

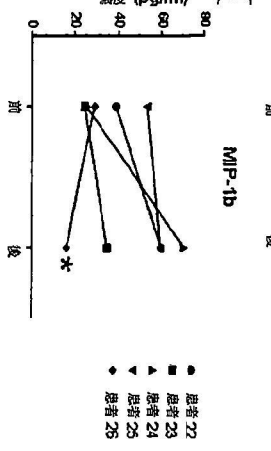


圖 5A

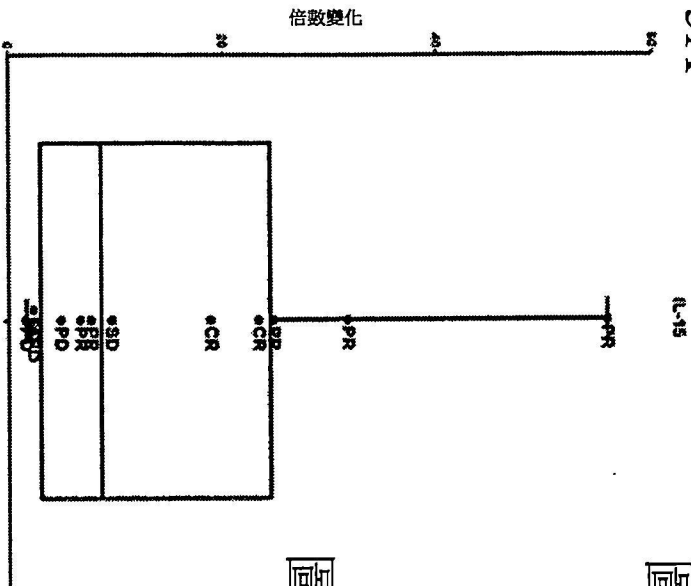


圖 5B

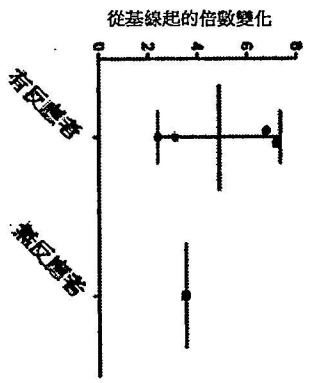


圖 5C

圖 5D

圖 5E

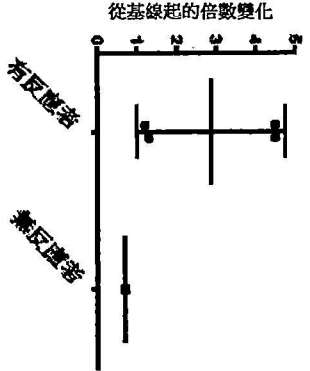
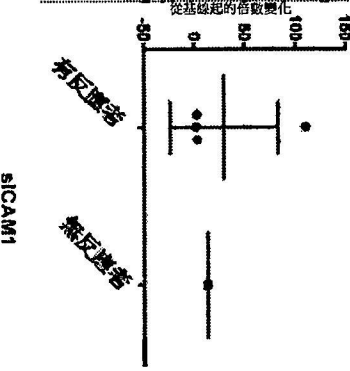
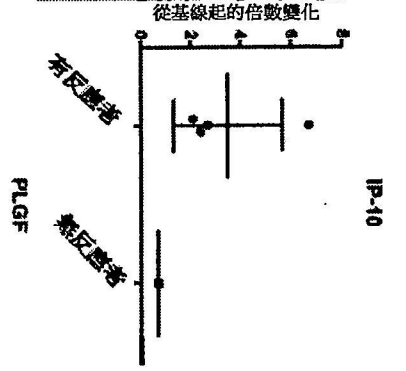
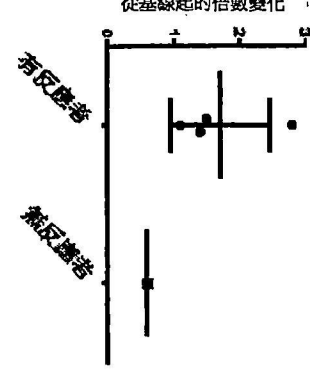
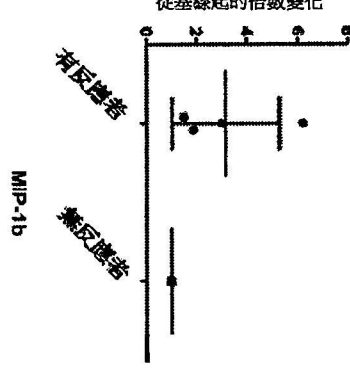
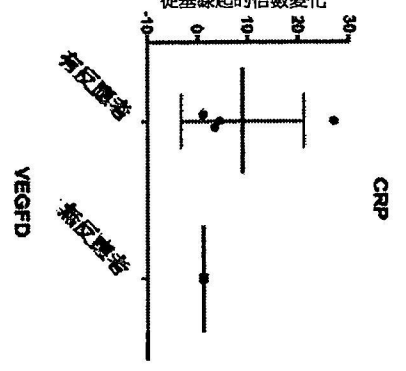
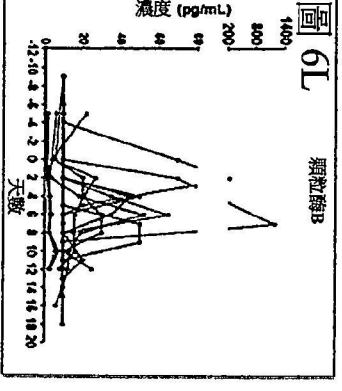
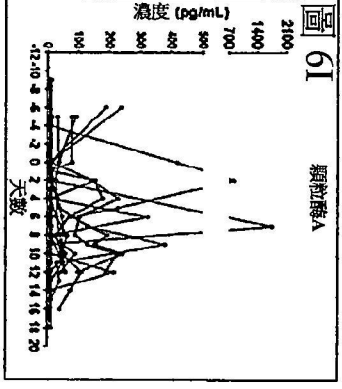
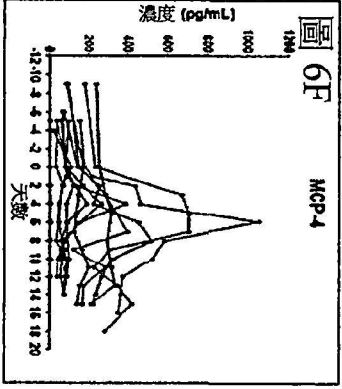
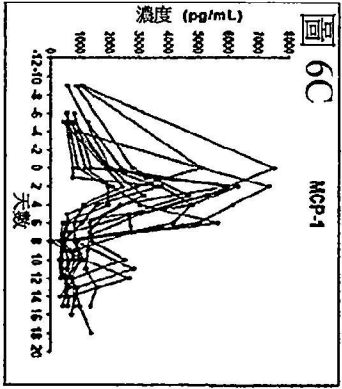
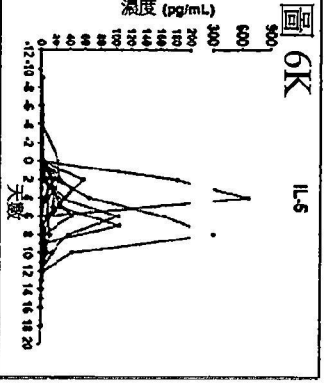
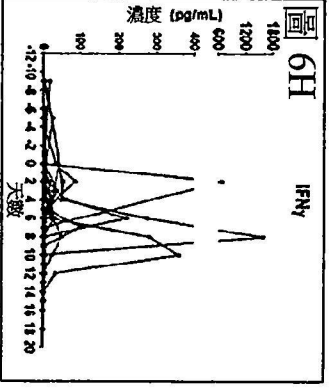
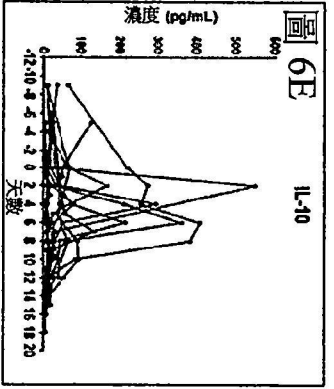
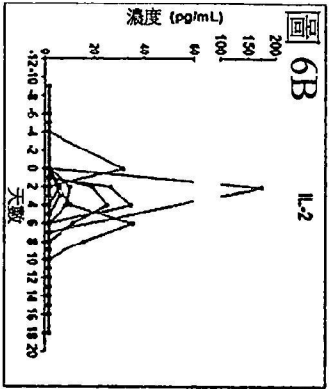
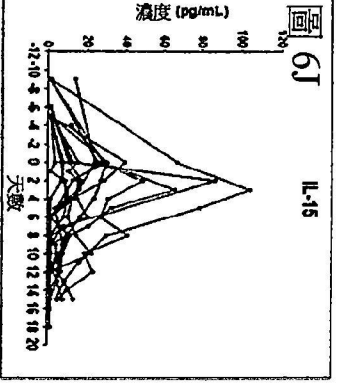
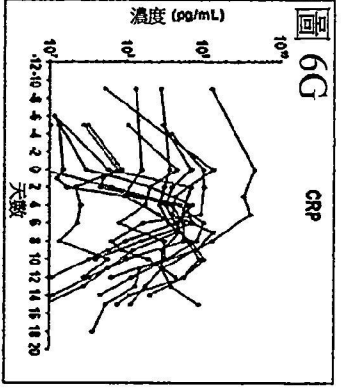
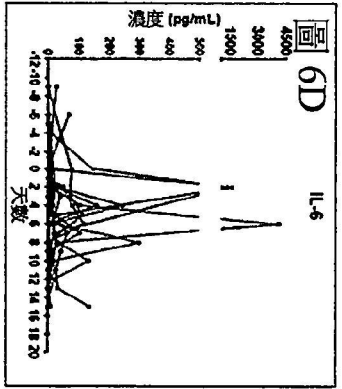
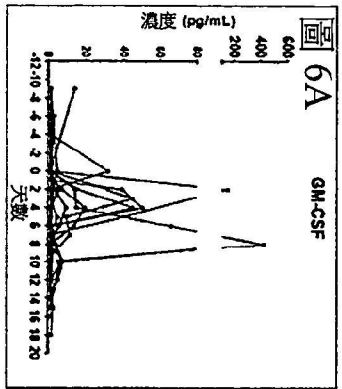


圖 5F

圖 5G

圖 5H





(續)

圖 6M

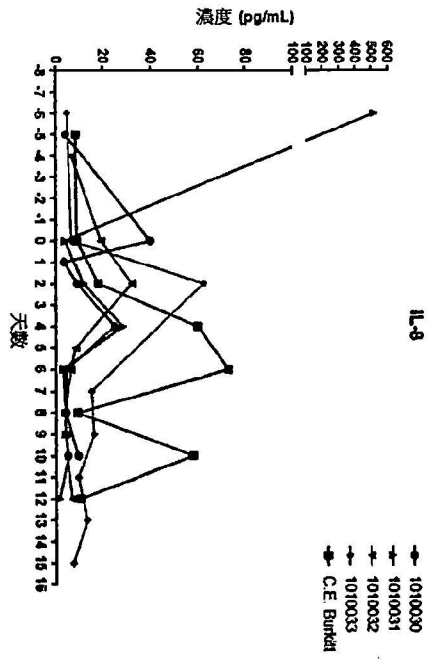


圖 6O

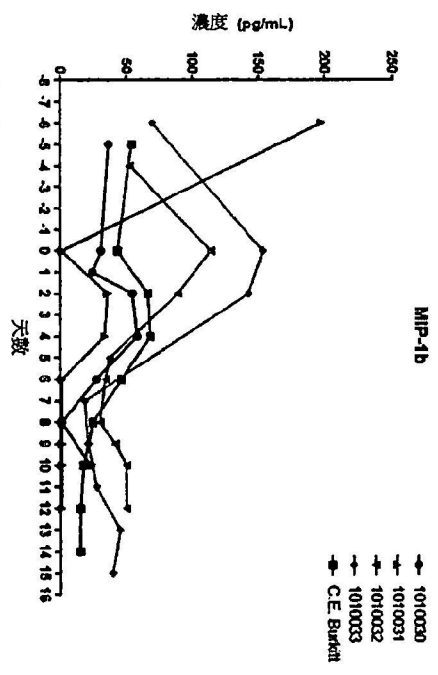


圖 6N

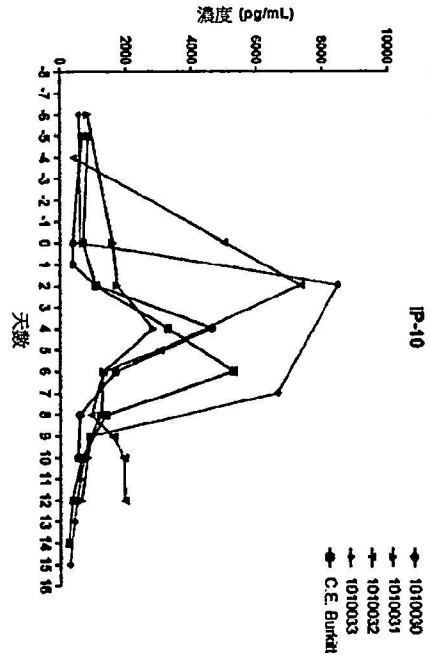
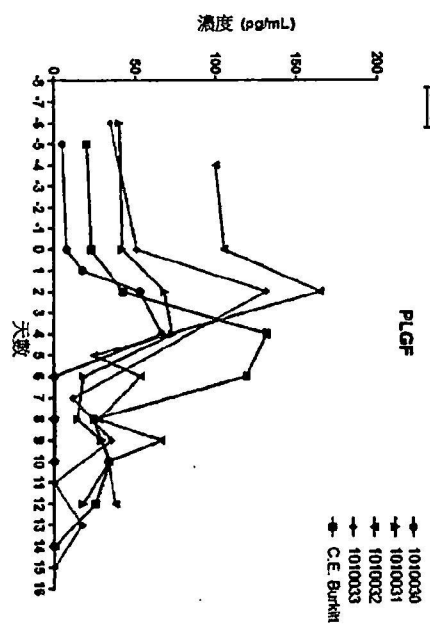


圖 6P



(續)

圖 6Q

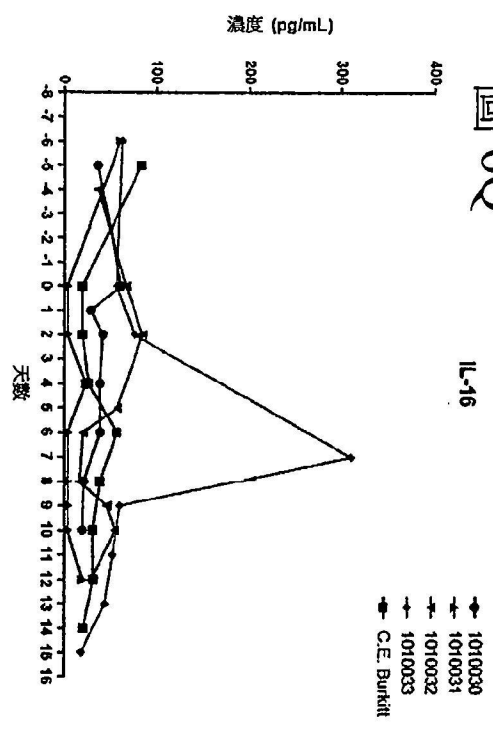


圖 6S

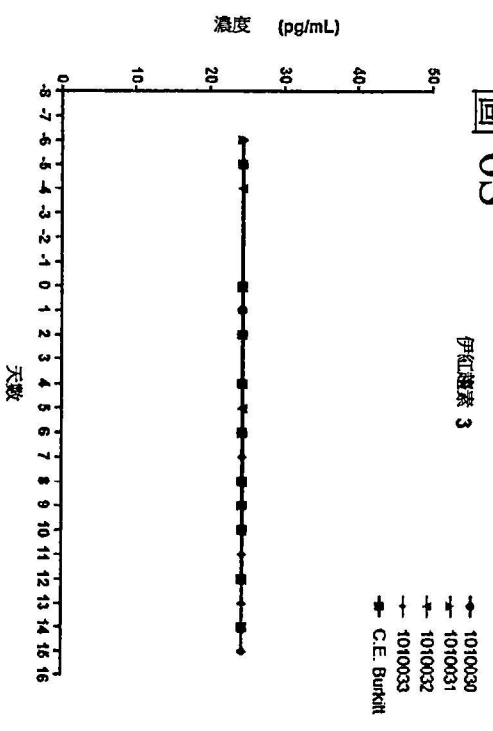


圖 6R

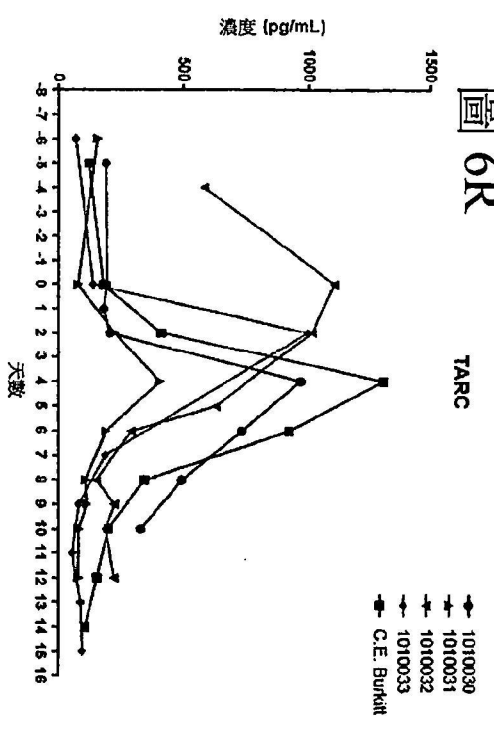
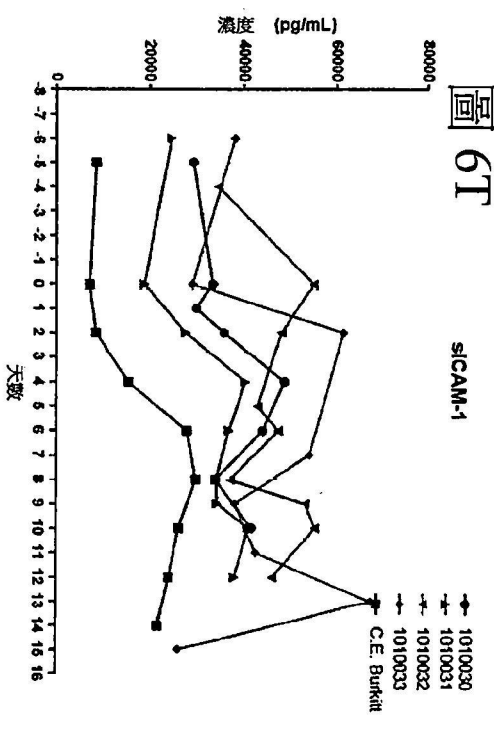
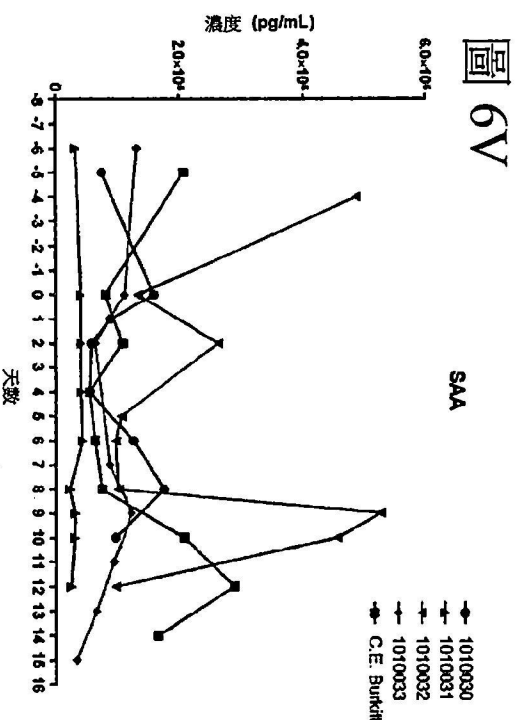
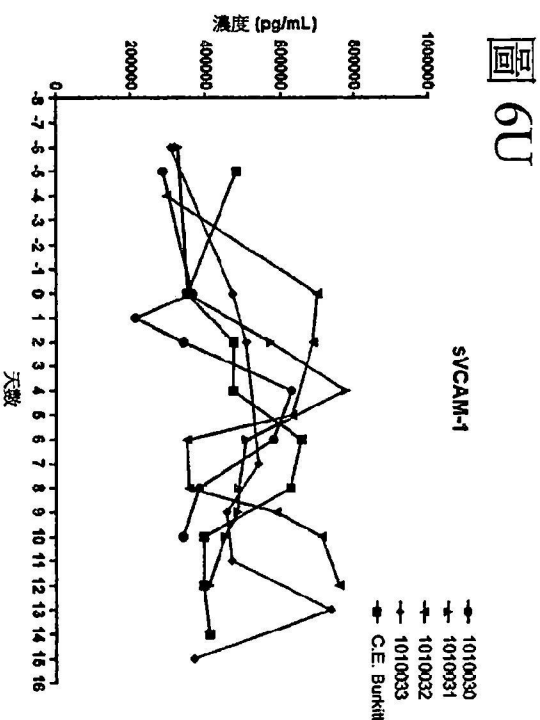
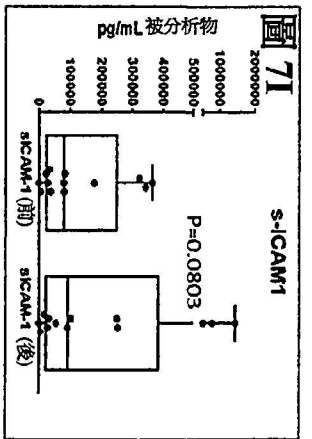
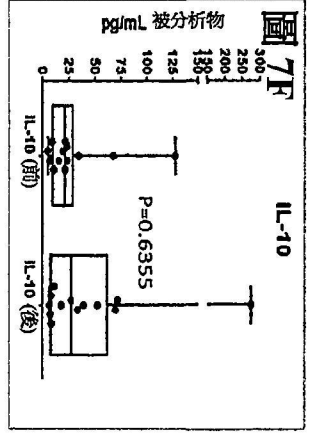
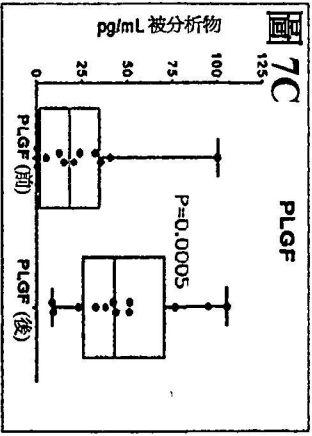
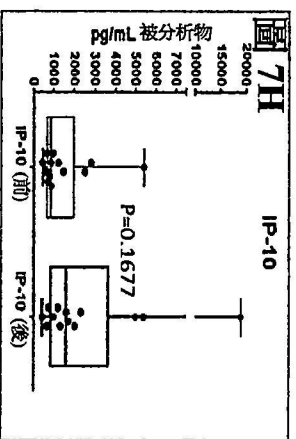
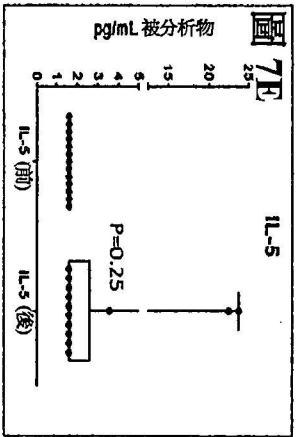
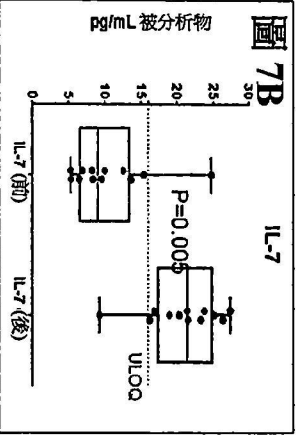
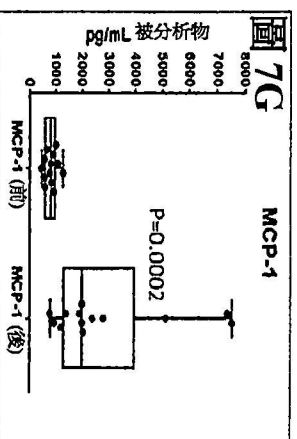
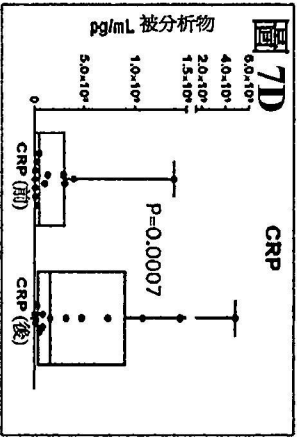
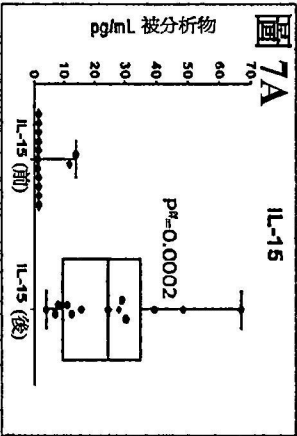


圖 6T



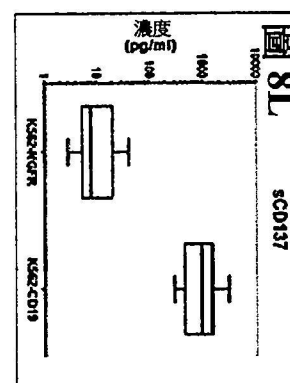
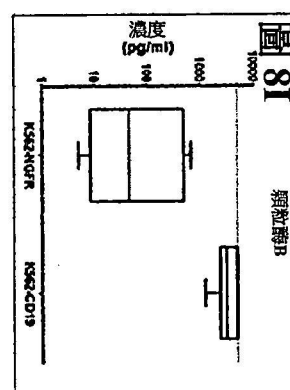
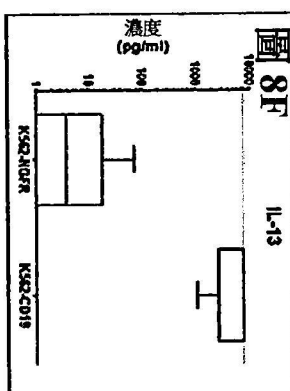
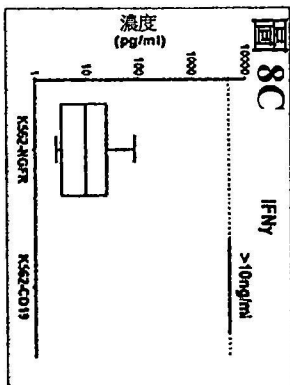
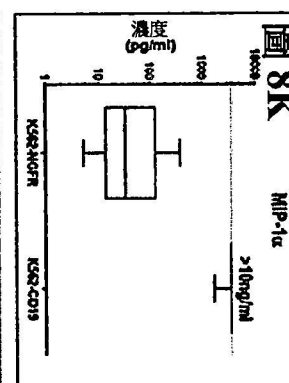
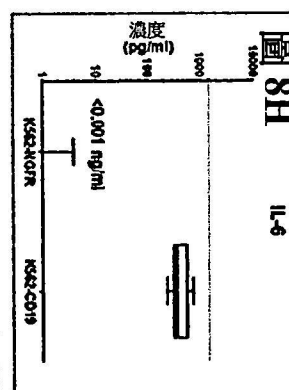
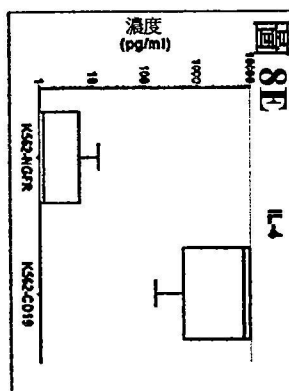
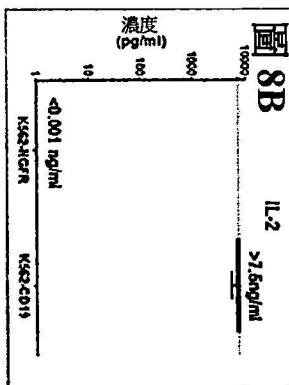
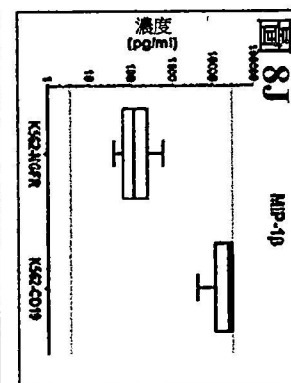
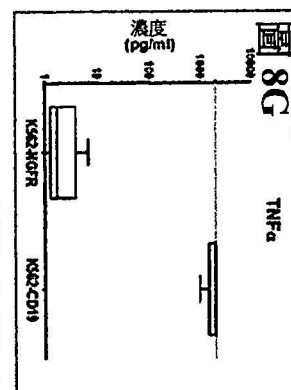
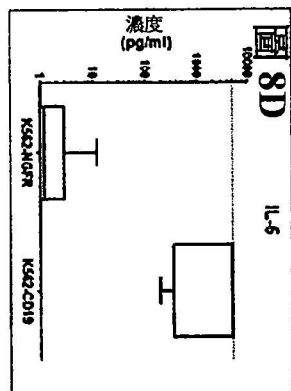
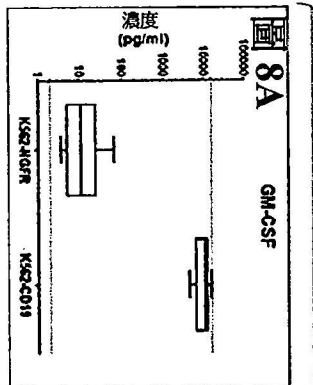
(續)



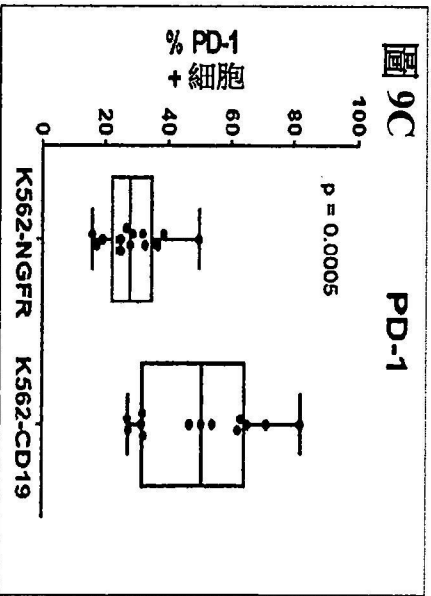
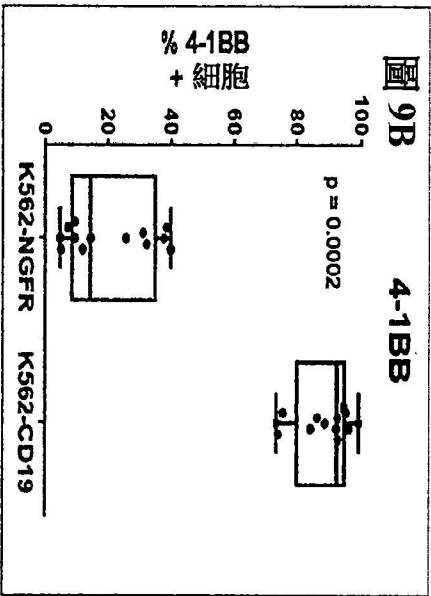
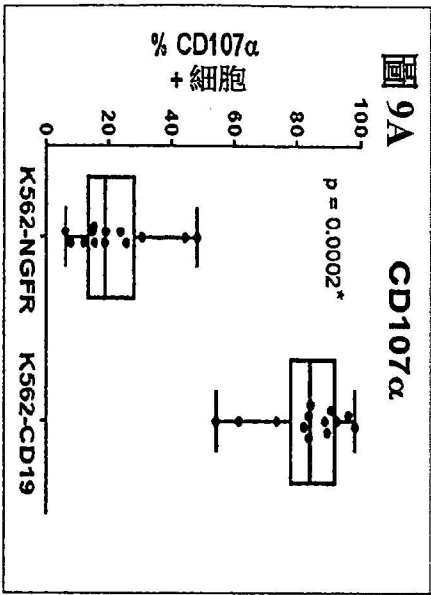


T1, T2 與免疫體內固定性細胞激素

促發炎細胞激素及趨化因子



K562-NGFR = 控制組細胞
K562-CD19 = 抗CD19 CAR+T 細胞

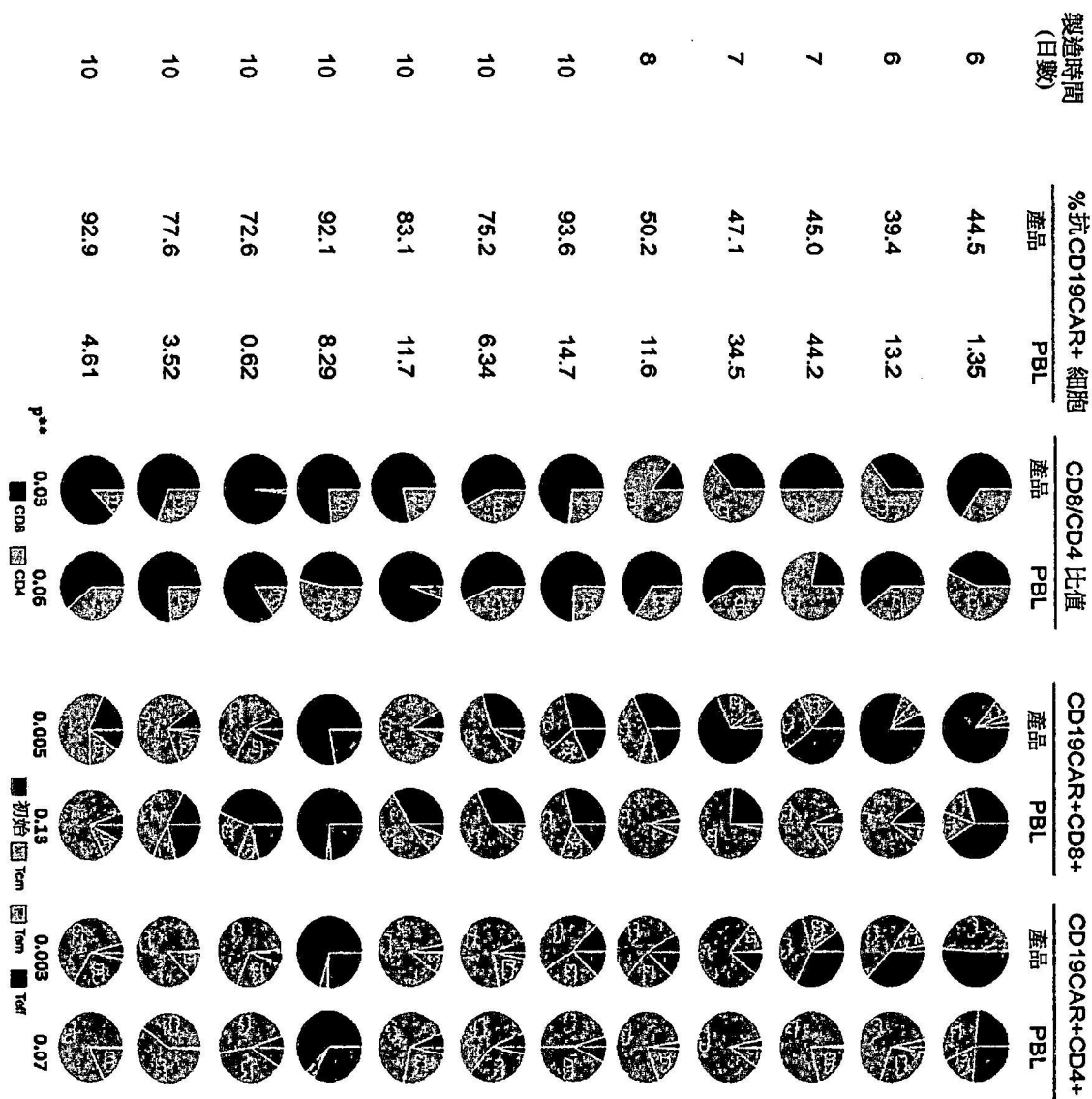


* 成對t檢定之p值

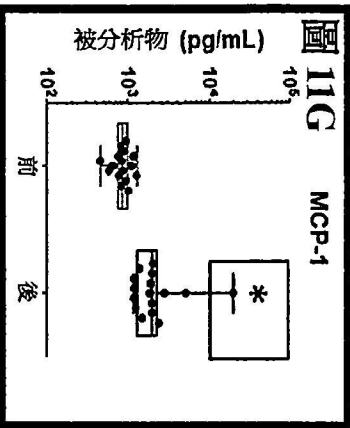
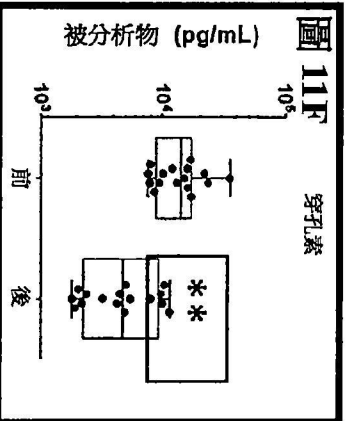
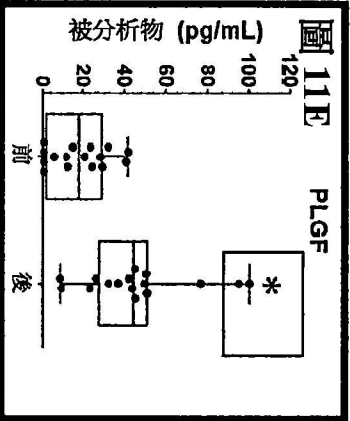
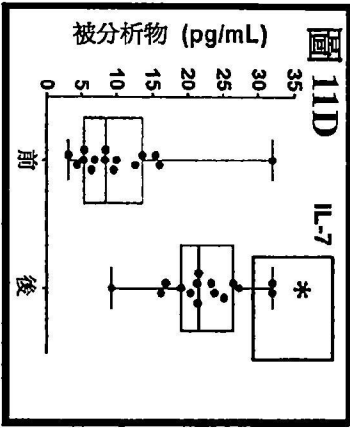
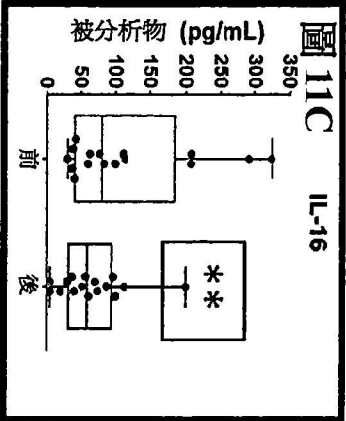
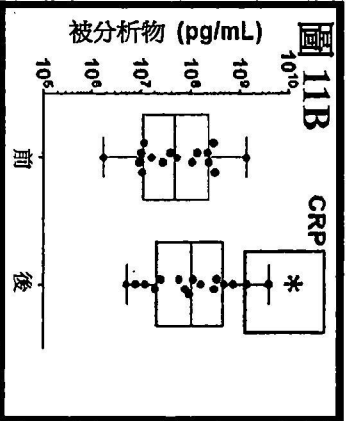
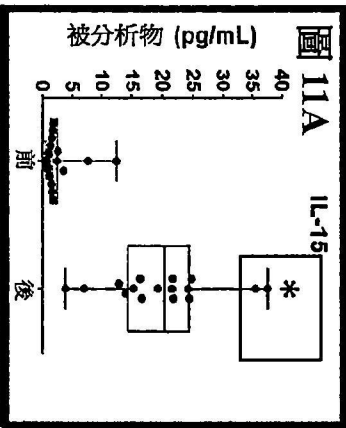
K562-NGFR = 控制組細胞

K562-CD-19 = 抗 CD19 CAR+ T 細胞

圖 10



* 在抗CD19 CAR T細胞上進行輸注前產品T細胞及血液中增殖高峰期間的PBL之表現型分析
** 來自在製造期間與T細胞亞群組成之間的關聯之等級檢定的p值



* 相較於基線增加的調理後量
($p < 0.05$).

** 相較於基線減少的調理後量
($p < 0.05$).

圖 12

標記 ^a	在基線以上的中位數倍數變化 (四分位數範圍)	有在基線以上的增加量的患者% (≥2x)	調理前後威爾科克森p值
免疫體內恆定性			
IL-15 ↑ ^b	14.8 (4.8, 21.8)	81%	0.0001
IL-7 ↑ ^b	2.1 (1.7, 3)	56%	0.0001
免疫效應			
穿孔素 ↓ ^c	0.3 (0.2, 0.5)	N/A	0.0001
發炎			
CRP ↑ ^b	2.6 (1.2, 2.9)	56%	0.0034
免疫調節性			
IL-16 ↓ ^c	0.8 (0.4, 0.9)	N/A	0.0155
趨化因子			
MCP-1 ↑ ^b	2 (1.6, 3.3)	56%	0.0001
促生成血管的、免疫調節性			
PLGF ↑ ^b	2.1 (1.2, 13.3)	50%	0.0002

^a 將標記用威爾科克森符號等級檢定在各類生物標記按照從低至高p值來排序。呈現在大多數患者中經修飾且p值≤0.05的標記。在所測得之41個標記中只有7個在大多數患者中顯出變化且p≤0.05。在CAR T細胞輸注在所測得之標記上執行分析。

^b 比基線(預先調理值)增加的標記。

^c 具有相較於基線減少的量之標記。N/A-不適用

圖 13A IL-15

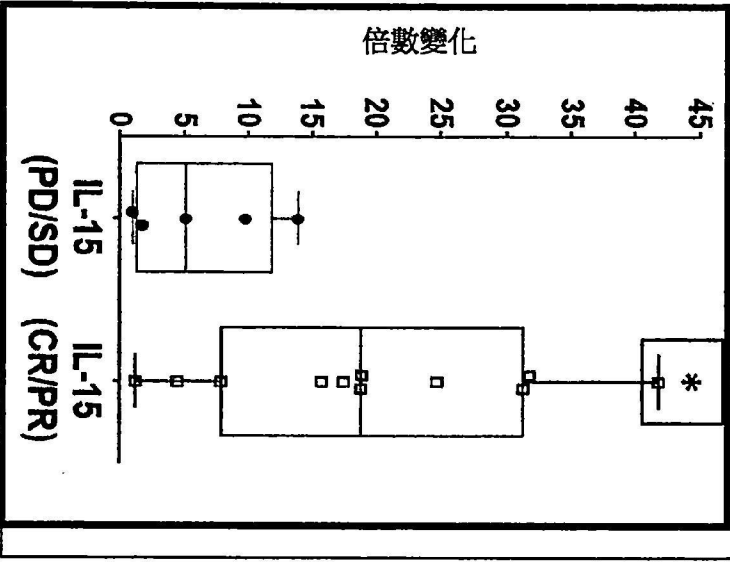
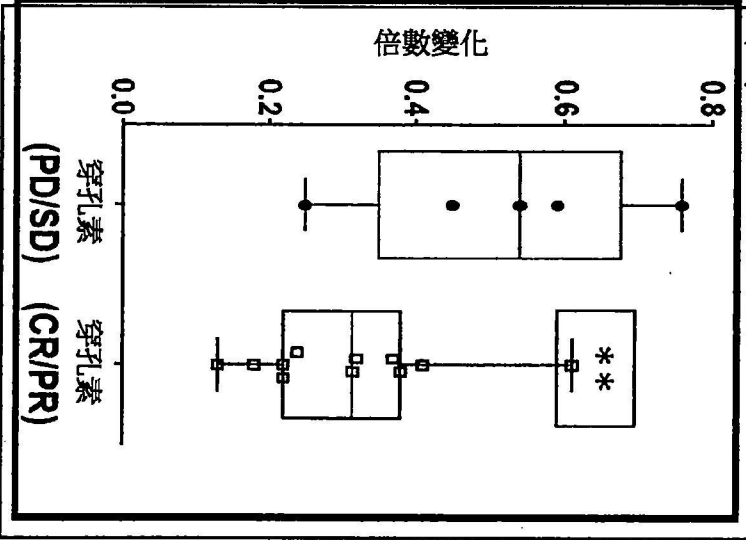


圖 13B 穿孔素^b



a 使用威爾科克森秩和檢定比較有反應組對無反應組的倍數變化值(調理後對調理前)。

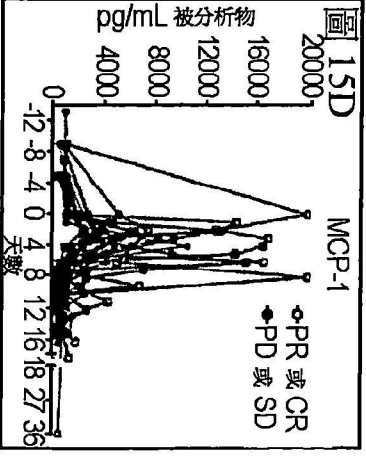
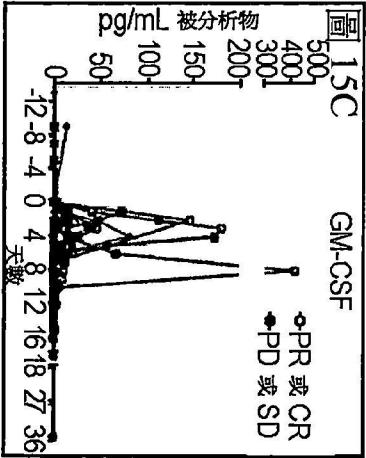
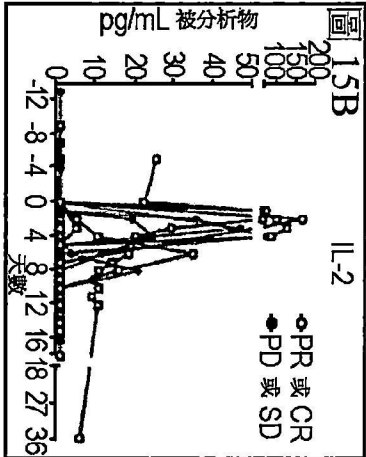
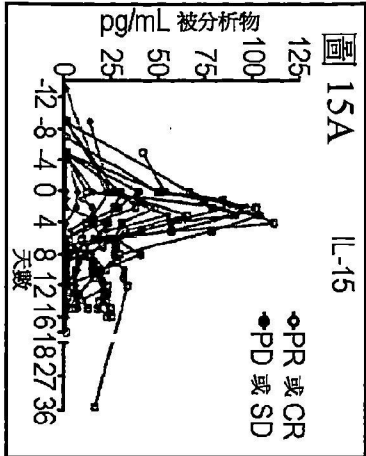
b 調理也和在第0日循環淋巴球降至不可測的量有關係。

* 調理後對調理前倍數變化，與客觀臨床反應成正相關。

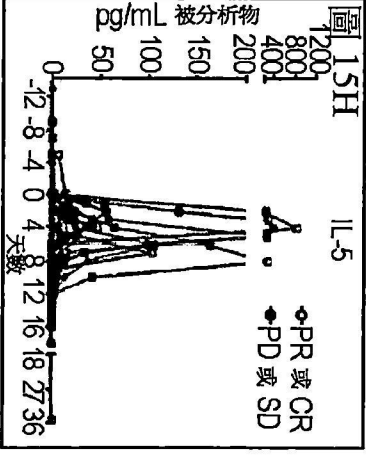
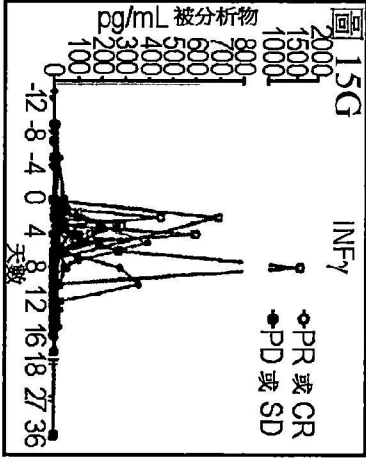
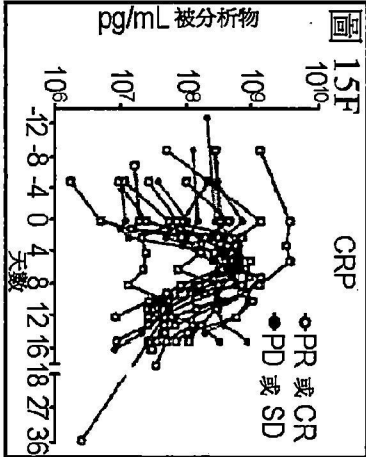
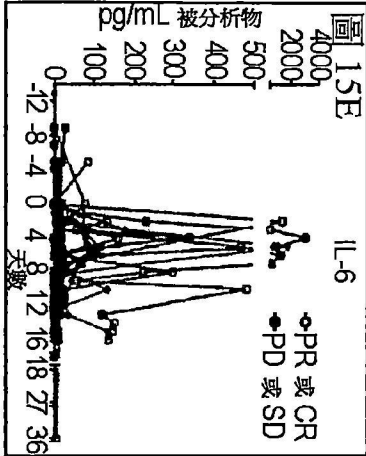
** 調理後對調理前倍數變化，與客觀臨床反應成反相關。

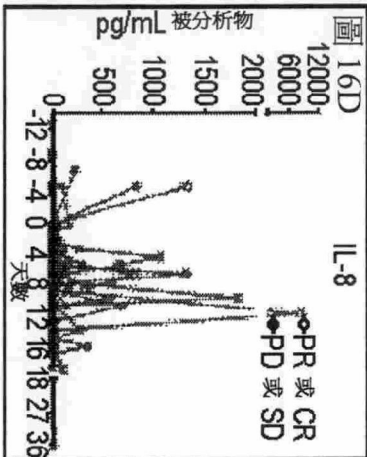
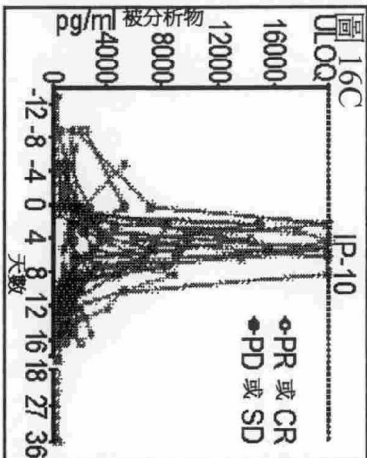
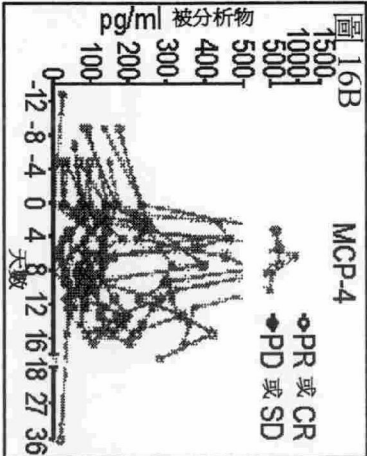
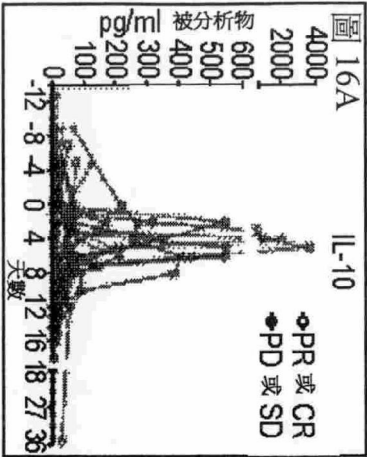
圖 14

免疫體內恆定性 細胞激素	發炎細胞激素與標記	免疫調節性 細胞激素	趨化因子	其他標記
IL-15	IL-6	IL-13	IL-8	PLGF
IL-7	IL-1 α	IL-4	MCP-1	sICAM-1
IL-2	IL-1 β	IL-5	MCP-4	sVCAM-1
	IL-17 α	IL-10	MIP-1 α	VEGF
免疫效應子	TNF α	IFN γ	MIP-1 β	VEGF-C
顆粒酶A	TNF β	IL-12p40	IP-10	VEGF-D
顆粒酶B	GM-CSF	IL-12p70	TARC	FGF-2
sFASL	CRP	IL-16	伊紅趨素	
穿孔素	SAA		伊紅趨素-3	
			MDC	



在第5至7日的高峰：發炎細胞激素與標記





在第7至11日的高峰：免疫效應分子

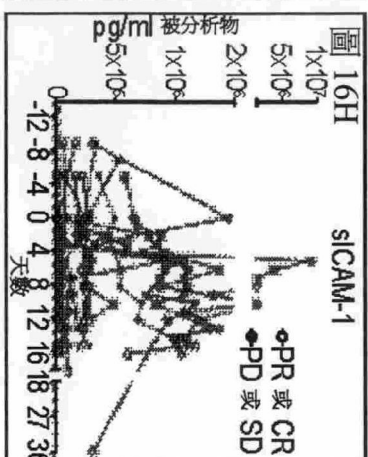
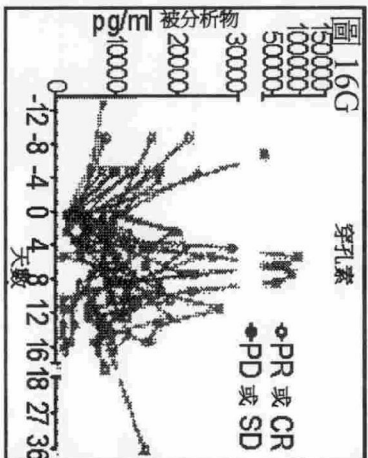
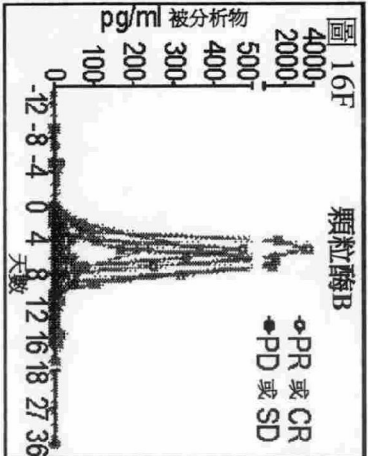
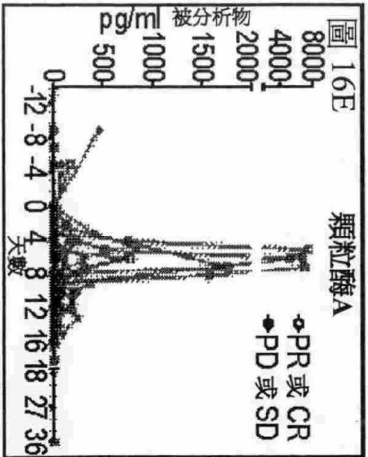
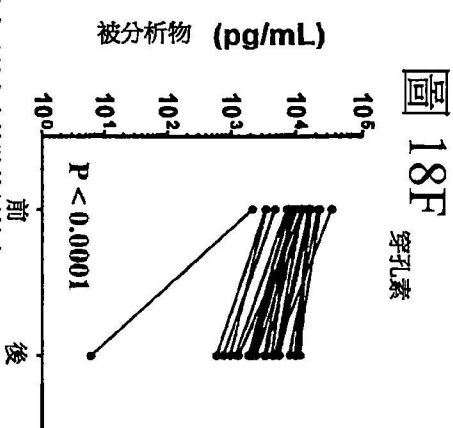
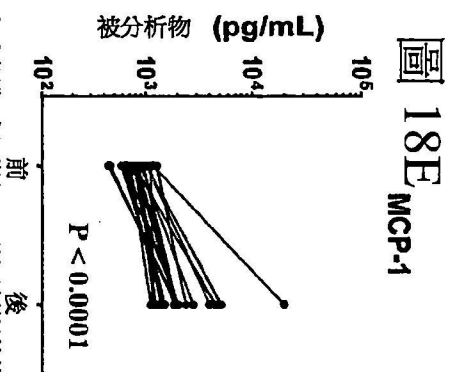
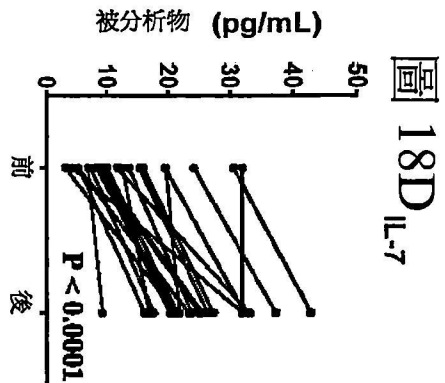
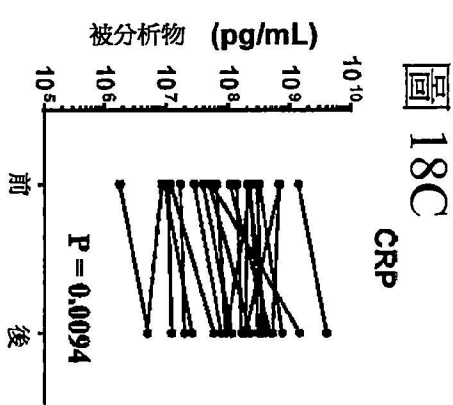
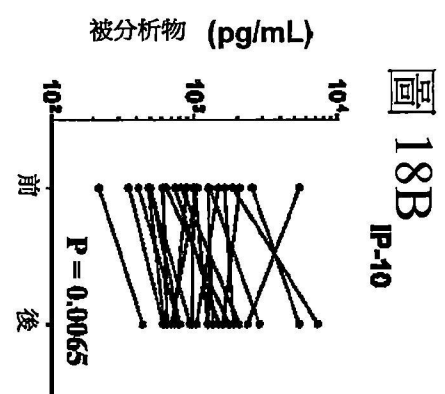
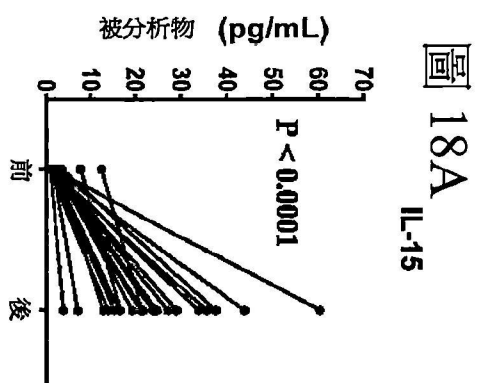


圖 17

PD 或 SD	IL-7	sICAM-1	顆粒酶 B	IL-10	IL-15	MDC
	0.3 ^a	0.9	1.6	0.5	1.7	4.0
	3.3	2.6	4.5	4.0	7.2	1.1
	1.0	1.7	396.7	12.1	34.6	0.8
	5.5	1.2	2.4	1.7	12.8	1.3
1.0	1.7	5.6	4.0	13.4	1.1	

CR 或 PR	6.6	9.0	11.6	6.1	30.4	1.9
	24.6	4.5	7.7	10.3	65.2	1.0
	1.0	1.2	9.3	1.9	24.7	1.0
	1.0	1.7	8.9	10.3	23.7	0.7
	3.3	1.8	234.1	35.3	54.2	1.1
6.8	53.0	577.7	28.2	2.3	0.9	
7.6	2.4	347.1	10.9	64.1	0.3	
8.2	3.4	20.2	17.0	6.2	0.9	
13.8	11.6	33.9	12.6	41.2	0.8	
7.5	5.5	4.8	3.8	18.9	1.0	
6.0	2.3	797.2	436.8	70.0	0.7	

P 值	0.0225*	0.0414*	0.054	0.054	0.0893	0.0697
	P≤0.05					
	0.05>P≤0.10 (趨勢)					
	顏色標記					
	IL-7	<1.0X	3.3-6.0X	>6.0X		
sICAM-1	<1.2X	1.2-1.8X	>1.8X			
顆粒酶B	<7.7X	7.7-11.6X	>11.6X			
IL-10	<4.0X	4.0-6.1X	>6.1X			
IL-15	<6.2X	6.2X-18.9X	>18.9X			
MDC	<0.8X	0.8-1.0X	>1.0X			



*總共分析41個生物標記：13個被調理所調節(7個上調與5個下調)。只顯示最顯著的實施例。使用威爾科克森符號等級檢定將調理後對調理前作比較。所有p值皆未調整。

圖 18G

細胞激素	被調節所調節 (1:增加; -1:減少)	未調整之P值 (2則威爾科克森 符號等級檢定)	多重檢定(選擇未 調整之P值<0.05代 入Holm氏程序)	經調整之P值 (Holm氏程序)
IL 15 ELISA	1	<.0001	IL 15 ELISA	<.0001
MCP 1	1	<.0001	MCP 1	<.0001
穿孔素	-1	<.0001	穿孔素	<.0001
IL 7 ELISA	1	<.0001	IL 7 ELISA	<.0001
MDC	1	0.0001	MDC	0.0012
PLGF	-1	0.0006	PLGF	0.0064
IL 16	1	0.0008	IL 16	0.0068
MCP 4	-1	0.0018	MCP 4	0.0124
TNF A	1	0.0051	TNF A	0.0354
顆粒酶B	-1	0.0061	顆粒酶B	0.0366
IP 10	-1	0.0065	IP 10	0.0366
CRP	1	0.0094	CRP	0.0375
TARC	1	0.0147	TARC	0.0441
VEGF	-1	0.0305	VEGF	0.0610
VEGF C	-1	0.0494	VEGF C	0.0610
SVCAM 1	1	0.1095		
MIP 1B	-1	0.1429		
伊紅趨素	-1	0.1536		
MIP 1A	-1	0.2979		
VEGF D	-1	0.478		
SICAM 1	1	0.6038		
IL 10	-1	0.7337		
IL 8	-1	0.7841		
IL 6	1	0.9341		
SAA	-1	0.9661		
IFNG	-1	1		

圖 19A
IL-15 ELISA

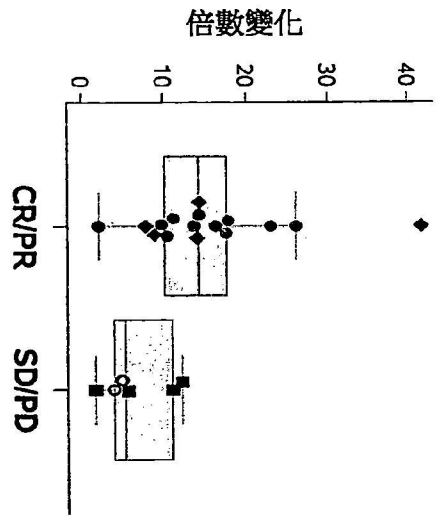


圖 19B
IP-10

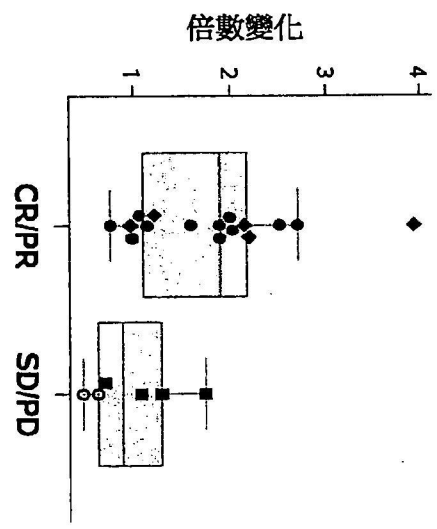


圖 19C
穿孔素

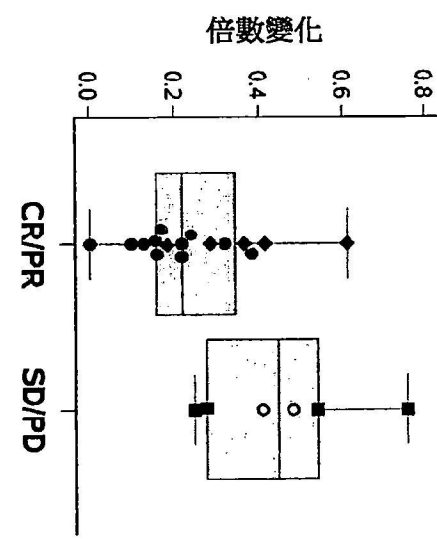


圖 19D

標記	未調整之p值	經調整之p值 *
IL-15 ↑	0.0135	0.0405
穿孔素 ↓	0.0202	0.0405
IP-10 ↑	0.0245	0.0405

* 總共分析41個生物標記：在Bonferroni下降(Holm)倍數調整後有3個顯出明顯的關係。