(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 118302171 A
(43)申请公布日 2024.07.05

(21)申请号 202280063410.3
(22)申请日 2022.08.31
(30)优先权数据
63/239,566 2021.09.01 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2024.03.19
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2022/042147 2022.08.31
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2023/034377 EN 2023.03.09
(71)申请人 AVM生物技术有限责任公司
地址 美国华盛顿州
(72)发明人 T·迭舍尔 S·W·麦凯
V·帕塔萨拉蒂 Y·扎希德
(74)专利代理机构 上海德昭知识产权代理有限公司 31204
专利代理师 郁旦蓉
(51)Int.Cl.
A61K 31/573(2006.01)
A61K 31/00(2006.01)
A61K 35/17(2006.01)
C12N 5/0783(2006.01)
A61K 31/661(2006.01)
A61K 45/06(2006.01)
A61P 31/14(2006.01)
A61P 31/18(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
A61P 37/00(2006.01)

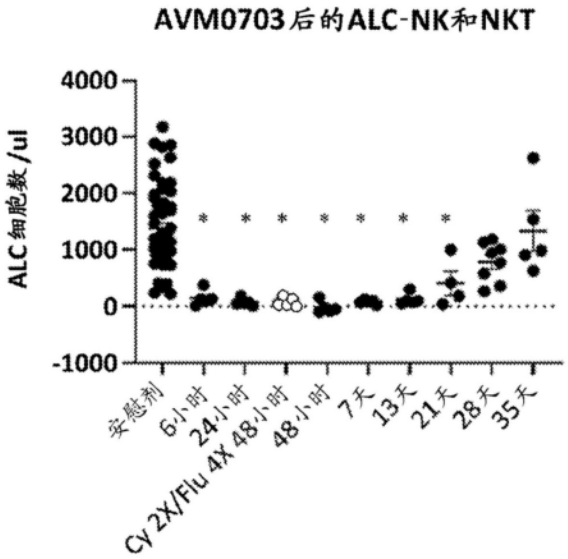
权利要求书4页 说明书84页 附图42页

(54)发明名称

淋巴细胞群体以及用于产生所述淋巴细胞群体的方法

(57)摘要

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



CN 118302171 A

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

其中所述NKT细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ和iTCR。

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

i)表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45、TCRα/β、CD34和/或ICAM3;

ii)表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45和/或TCRα/β;并且/或者;

iii)不表达:CD4。

3.根据权利要求2所述的方法,其中所述NKT样细胞表达CD56、TCRγ/δ和iTCR,并且:

i)CD16和NKp44;

(ii)TCRα/β;

(iii)CD16、NKp44和TCRα/β;

(iv)CD16、NKp44、CD8、CD14和CD19;

(v)CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19和CD45;或者

(vi)CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45和TCRα/β。

4.根据权利要求2或3所述的方法,其中所述NKT样细胞为:

i)CD3+/暗;

ii)CD8+/暗;

iii)CD3+/暗和CD8+/暗;

任选地,其中所述表达水平相对于源自常见来源的参考细胞群体中的平均表达水平确定,所述参考细胞尚未与所述糖皮质激素受体(GR)调节剂或ICAM3调节剂接触。

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

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

7.根据权利要求6所述的方法,其中所述糖皮质激素是地塞米松或倍他米松。

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

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

i)至少6-12mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);

ii)至少6mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);

iii)至少12mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);

iv)至少15mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);

v)至少21mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);

vi)至少24mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED)；

vii)15mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED)；

viii)24mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED)；或

ix)45mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED)。

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

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

12.根据权利要求1-11中任一项所述的方法，所述方法进一步包括将NKT细胞激活剂、T细胞激活剂和/或NK细胞激活剂施用于所述受试者的步骤。

13.根据权利要求12所述的方法，其中所述NKT细胞激活剂、T细胞激活剂和/或NK细胞激活剂在施用糖皮质激素后1小时内或约1小时施用。

14.根据权利要求1-13中任一项所述的方法，其中所述受试者患有、疑似患有或已被诊断患有选自由以下组成的组的疾病:癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病;并且/或者所述NKT样细胞治疗所述受试者中选自由以下组成的组的疾病:癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病。

15.根据权利要求14所述的方法，其中所述癌症是实体瘤癌症。

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

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

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

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

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

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

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

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

任选地，其中所述分离步骤在以下条件下进行:

i)在糖皮质激素施用后至少48小时；或

ii)在糖皮质激素施用后48小时与13天之间。

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

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

的步骤。

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

任选地其中所述NKT细胞激活剂选自αGalCer和硫苷脂:

任选地其中所述T细胞激活剂选自唑来膦酸盐和美伐他汀;并且

任选地其中所述NK细胞激活剂选自由IL-2、IL-12、IL-15、IL-18、IL-21组成的组。

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

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

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

30.根据权利要求23-29中任一项所述的方法,所述方法进一步包括用NKT细胞激活剂、T细胞激活剂和/或NK细胞激活剂激活所述NKT样细胞的步骤。

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

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

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

34.一种分离的NKT样细胞或NKT样细胞群体,其通过根据权利要求1-33中任一项所述的方法产生。

35.一种分离的NKT样细胞,其特征在于所述细胞表达CD56、TCRγ/δ和iTCR,并且任选地:

i)表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45、TCRα/β、CD34和/或ICAM3;

ii)表达CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45和/或TCRα/β;并且/或者

iii)不表达:CD4。

36.根据权利要求35所述的分离的NKT样细胞,其中所述NKT样细胞或其前体尚未经转染、转导或以其它方式修饰以表达TCRγ/δ。

37.根据权利要求35或36所述的分离的NKT样细胞,其中所述NKT样细胞或其前体尚未经转染、转导或以其它方式修饰以表达iTCR。

38.根据权利要求35-37所述的分离的NKT样细胞,其中所述NKT样细胞或其前体尚未经转染、转导或以其它方式修饰以表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45、TCRα/β、CD34和/或ICAM3。

39.一种分离的NKT样细胞群体,其特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ和iTCR,并且任选地:

i)表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45、TCRα/β、CD34和/或ICAM3;

ii)表达CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45和/或TCRα/β;并且/或者

iii)不表达:CD4。

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

其中所述糖皮质激素诱导NKT样细胞群体,其特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ和iTCR,并且任选地:

i)表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45、TCRα/β、CD34和/或ICAM3;

ii)表达CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45和/或TCRα/β;并且/或者

iii)不表达:CD4。

淋巴细胞群体以及用于产生所述淋巴细胞群体的方法

技术领域

[0001] 本公开涉及新型淋巴细胞群体、用于产生这些淋巴细胞的方法以及所述淋巴细胞在疾病治疗中的用途。更特别地,本公开涉及使用高剂量糖皮质激素、糖皮质激素受体激动剂和ICAM3调节剂产生新型自然杀伤T细胞样细胞(NKT样细胞)群体的方法。

背景技术

[0002] 本发明作者之前发现,高浓度的糖皮质激素可用于调理患者,以增强细胞免疫疗法(如过继性T细胞疗法)的功效;在国际专利申请PCT/US2018/025517(公开为WO2018/183927)中描述。在所述申请中,作者注意到与化学疗法和放射介导的预处理(preconditioning)相关的毒性,所述毒性据信非选择性地破坏脾脏的细胞结构。作者提供了急性剂量的糖皮质激素(类固醇的亚类)和其它无毒淋巴细胞清除剂,以使接受细胞免疫疗法的癌症患者受益。

[0003] 在国际专利申请PCT/US2019/054395(作为WO2020/072713公开)中,本发明作者还描述了使用高浓度的糖皮质激素来引起外周血淋巴细胞的淋巴细胞清除,而不会显著影响其它细胞的细胞计数。在所述申请中,作者报告了高浓度的糖皮质激素可耗减外周血淋巴细胞,包括例如负责糖尿病自身免疫性的胰岛特异性自身反应性T细胞,但嗜中性粒细胞、血小板、RBC和干细胞(HSC和MSC两者)不受影响。作者提供了糖皮质激素作为可进行安全的免疫重置且功效与化学疗法相当的非清髓性治疗方案。

[0004] 减少细胞毒性化学疗法的使用是美国国家癌症研究所的首要目标。癌(Carcinomas)(通常称为实体瘤)占总癌症的80%-90%,但已证明难以通过新的癌症疗法发展来靶向。嵌合抗原受体(CAR)T细胞疗法在治疗表达CD-19的B细胞急性淋巴细胞性白血病方面取得了显著成功。然而,存在许多障碍限制用于实体瘤的CAR T细胞疗法:向肿瘤的无效运输以及实体瘤中的免疫抑制微环境限制T细胞功效。此外,CAR T疗法一直与严重的副作用相关,包括细胞因子释放综合征(CRS)、神经水肿和移植物抗宿主病(GvHD)。此外,CAR T疗法无法治愈,即使有阴性的微小残留病,仍有高达50%或受试者在12个月内复发(Nie等人,2020)。CAR T输注前的预处理或"预适应"与延长生存期相关,虽然较高剂量化学疗法的预适应与最佳结果相关,但它也具有最严重的毒性。双特异性CAR T产品,设计用于减少认为是由于CAR T靶向抗原表达缺失或抗原在肿瘤中异质表达导致肿瘤逃逸引起的复发,似乎并不比第一代CAR T更有效(Gill等人,2021)。为了解决CAR T的这些局限性,该领域正在转向自然杀伤(NK)、NK/NKT细胞CAR和伽马德尔塔(γδ)T细胞产品。

[0005] 自然杀伤T细胞(NKT)是具有T细胞和自然杀伤(NK)细胞两者的性质的一组异源T细胞。与常规T细胞相比,NKT在它们离开胸腺时在功能上成熟,准备好用于快速细胞因子产生。NKT可直接杀死表达CD1d的癌细胞和肿瘤微环境巨噬细胞,快速产生和释放诸如IFNγ和IL-4的免疫激活细胞因子,并激活诸如树突细胞(DC)、NK细胞以及B和T淋巴细胞的其它免疫细胞。在临床上,不变NKT(iNKT)已通过注射"自体培养物激活的iNKT"、通过施用αGalCer(一种NKT激活剂)负载的树突细胞或单核细胞以激活内源性NKT或通过施用NKT激活剂

抗体或配体如KRN7000(Gal Cer的一种合成类似物)而针对多种不同的癌症使用。

[0006] 然而,用于诱导iNKT产生的这些方法均未被证明对癌症患者有效;iNKT水平在癌症患者中降低并且临床试验一直令人失望。iNKT水平在老年人中同样较低(Tarazona等人,2003,其以引用的方式整体并入本文)。在黑素瘤中使用"自体培养物激活的NKT"在9名患者中的3名中有效,结果与肿瘤浸润NKT的数量直接相关(Wolf等人,2018和Nair等人,2017,其特此以引用的方式整体并入本文)。然而,这种方法也受到癌症患者中NKT的数量少以及iNKT在IFNγ1型与肿瘤促进IL-4 2型之间移动的可塑性的限制。

[0007] 在癌症治疗中,与常规细胞毒性化学疗法相比,激酶抑制剂(KI)具有良好耐受性。然而,显著毒性仍与激酶抑制剂相关,包括疲劳、高血压、皮疹、伤口愈合受损、骨髓抑制和腹泻,以及甲状腺功能、骨代谢、线性生长、性腺功能、胎儿发育、肾上腺功能和葡萄糖代谢异常。由于KI(其必须长期服用)的毒性,许多患者需要减少剂量(Lodisch等人,2013,其特此以引用的方式整体并入)。此外,对KI的抗性和治疗的时间依赖性是常见的(Bhullar2018,其特此以引用的方式整体并入)。

[0008] 尽管努力减少与癌症治疗相关的毒性,但管理这些毒性的身体伤害和医学成本仍然是重大问题。例如,高达41%的血癌患者由于与这些药物相关的身体和财务毒性而选择停止服用新的激酶/蛋白酶体抑制剂或生物制剂(Mato 2018、Kadri 2017、Mato 2016和Barrett 2010,其各自特此以引用的方式整体并入)。

[0009] T细胞是在免疫应答中起关键作用的淋巴细胞类型。T细胞与其他类型的淋巴细胞的区别在于其细胞表面上存在T细胞受体。T细胞受体(TCR)负责识别与主要组织相容性复合物(MHC)分子结合的抗原的片段,并且是两条不同蛋白质链的异二聚体。在人类中,在95%的T细胞中,TCR由阿尔法(α)链和贝塔(β)链(分别由TRA和TRB编码)组成,而在5%的T细胞中,TCR由伽马和德尔塔(γ/δ)链(分别由TRG和TRD编码)组成。此比率在疾病状态(如白血病)中发生变化。

[0010] 与MHC限制性αβT细胞相比,γδT细胞不需要抗原加工和主要组织相容性复合物(MHC)呈递肽表位来激活,尽管一些识别MHC Ib类分子。一些γδT细胞识别由感染或肿瘤发生引起的细胞应激标志物。γδT细胞也据信在识别脂质抗原中起作用。

[0011] γδT细胞通过产生细胞因子(IFN-γ、TNF-α、IL-17)和趋化因子(RANTES、IP-10、淋巴细胞趋化因子)、感染或转化的靶细胞(穿孔素、颗粒酶、TRAIL)的细胞溶解以及与其它细胞的相互作用而在识别感染或转化的细胞后展示广泛功能可塑性。γδT细胞已被证明能够以MHC非限制性方式识别和溶解多种癌症,在感染性疾病中具有保护功能,并与各种感染性疾病中的进展和预后相关(Gogoi等人,2013;Pauza等人,2018;Zheng等人,2012;Dong等人,2018;Zhao等人2018;全部特此以引用的方式整体并入)。一些γδT细胞在一些情况下也可充当抗原呈递细胞(Himoudi等人,2012)。因此,γδT细胞在免疫疗法开发中引起相当大的兴趣。

[0012] ---

[0013] 对于用于癌症、自身免疫性病症和感染性(也称为微生物)疾病的进一步治疗存在需要,所述治疗与目前可用的疗法相比更安全且与更小毒性和/或更大功效相关。需要更简单、毒性更小且成本更低的治疗。

发明内容

[0014] 本发明是基于出人意料的发现,即虽然高剂量的糖皮质激素在初次接受试验的受试者受试者中引起许多类型外周血淋巴细胞的淋巴细胞清除,但它们也诱导新型自然杀伤T细胞样细胞(NKT样细胞)群体的产生/激活/动员。除了具有已知NKT细胞的性质外,这种新型NKT样细胞群体还能够直接吞噬癌细胞,从而扩大高浓度糖皮质激素作为实体癌的治疗性治疗的潜力。这些细胞是CD3高CD49b+,来源于CD3高CD49b-群体,并且可以通过它们表达的表面蛋白的模式来表征,如本文别处更全面描述的。

[0015] 在非初次接受试验的受试者,诸如患有癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病的受试者中,高剂量糖皮质激素会耗减患病/癌性淋巴细胞,但不影响正常淋巴细胞。不受理论的束缚,本发明作者假设初次接受试验的受试者而非癌症受试者会发生淋巴细胞清除,因为由高剂量糖皮质激素诱导/动员的NKT样细胞表达γδTCR,其识别100-1000倍表达或在包括癌症、自身反应性淋巴细胞和受感染细胞在内的应激细胞上选择性表达的磷酸抗原。在无病原体/疾病环境的初次接受试验的受试者中,不存在供NKT样细胞识别的应激细胞,并且在不存在应激细胞的情况下,NKT样细胞可识别并耗减正常淋巴细胞。

[0016] 本发明作者还发现,在高剂量施用后,糖皮质激素分子可结合并阻断细胞间粘附分子,诸如ICAM3。所述结合是协同性的,并且多达26个分子可以结合ICAM3的第一Ig结构域。ICAM3在诸如淋巴细胞、单核细胞和嗜中性粒细胞的细胞上以及在诸如黑素瘤和骨肉瘤的癌细胞类型上大量表达。地塞米松和ICAM3之间相互作用的分子建模证实了它们通过低亲和力氢键相互作用。不受理论的束缚,本发明作者假设t本发明的新型NKT样细胞的诱导和/或动员可以通过ICAM3和糖皮质激素、糖皮质激素受体激动剂和ICAM3调节剂(诸如本文别处更充分描述的那些)之间的这些低亲和力氢键相互作用而发生。

[0017] 因此,在第一方面,本发明提供了一种产生自然杀伤T细胞样细胞(NKT样细胞)群体的方法,所述方法包括以相当于约至少6mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED)的剂量向受试者施用糖皮质激素受体(GR)调节剂或ICAM3调节剂(其可以是糖皮质激素,如地塞米松),其中所述糖皮质激素受体(GR)调节剂或ICAM3调节剂诱导和/或动员受试者中的NKT样细胞群体。

[0018] 本发明的NKT样细胞表现出新型标志物表达模式。具体而言,通过本文描述的方法产生/动员的NKT样细胞表达CD56和TCRγ/δ(γδTCR)以及不变TCR(iTCR)。因此,在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ和iTCR。通过本文描述的方法产生/动员的NKT样细胞还表达CD16和NKp44,它们是活化细胞的标志物。因此,在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD16和NKp44。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16和NKp44。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45和/或TCRα/β;并且/或者不表达:CD4。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45、TCRα/β、CD34和/或ICAM3;并

且/或者不表达:CD4。

[0019] 在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达CD56、TCRγ/δ和iTCR。在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达CD16和NKp44。在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16和NKp44。在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR和TCRα/β。在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44和TCRα/β。在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD8、CD14和CD19。在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD8、CD14、CD19和TCRα/β。在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD19和CD45。在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD19、CD45和TCRα/β。

[0020] 在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ和iTCR。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD16和NKp44。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16和NKp44。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR和TCRα/β。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44和TCRα/β。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD8、CD14和CD19。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD8、CD14、CD19和TCRα/β。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD19和CD45。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD19、CD45和TCRα/β。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45和TCRα/β。

[0021] 在一些实施方案中,所述NKT样细胞不表达CD4。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞不表达CD4。

[0022] 在一些实施方案中,本公开的NKT样细胞可表达CD3。在一些此类实施方案中,本公开的NKT样细胞可以是CD3+/暗。在一些实施方案中,本公开的NKT样细胞可以表达CD8。在一些此类实施方案中,本公开的NKT样细胞可以是CD8+/暗。NKT样细胞可被描述为:CD3+/暗和/或CD8+/暗。

[0023] 所述NKT氧细胞可被描述为在初次接受试验的受试者中具有这些性质。所述NKT样细胞可被描述为在肿瘤/癌症或自身免疫状态中具有这些性质。细胞标志物的表达水平可

相对于源自常见来源的参考NKT样细胞群体中的平均表达水平确定,所述参考NKT样细胞尚未与所述糖皮质激素受体(GR)调节剂或ICAM3调节剂接触。所述标志物的表达可通过例如使用本文所述的设备、试剂和/或条件(单独或组合)进行的流式细胞术测量。

[0024] 所述糖皮质激素受体(GR)调节剂或ICAM3调节剂可以是糖皮质激素。在一些实施方案中,所述糖皮质激素选自由以下组成的组:地塞米松、氢化可的松、甲泼尼龙、泼尼松、泼尼松龙、泼尼立定、可的松、布地奈德、倍他米松、氟米松和倍氯米松。

[0025] 在优选的实施方案中,所述糖皮质激素选自由以下组成的组:地塞米松、倍他米松和甲基泼尼松(优选地塞米松或倍他米松)。

[0026] 在一些实施方案中,所述糖皮质激素选自由以下组成的组:地塞米松碱、地塞米松磷酸钠、半琥珀酸地塞米松、地塞米松琥珀酸钠、琥珀酸地塞米松、异烟酸地塞米松、乙酸地塞米松-21、磷酸地塞米松、磷酸地塞米松-21、乙酸特丁地塞米松、戊酸地塞米松-17、一水合乙酸地塞米松、特戊酸地塞米松、棕榈酸地塞米松、棕榈酸地塞米松-21、二丙酸地塞米松、丙酸地塞米松、无水乙酸地塞米松、苯丙酸地塞米松-21、磺基苯甲酸地塞米松-21、半硫酸地塞米松、硫酸地塞米松、地塞米松beloxil、地塞米松酸、乙呋地塞米松、地塞米松甲酰亚胺、地塞米松培酯、地塞米松21-磷酸二钠盐、甲磺酸地塞米松、亚油酸地塞米松、地塞米松葡糖苷、地塞米松葡糖苷酸、碘醋酸地塞米松、地塞米松氧杂环丁烷酮、羧甲基硫代-地塞米松、地塞米松bisethoximes、地塞米松环氧化物、反亚油酸地塞米松、甲基原戊酸地塞米松、地塞米松精胺、6-羟基地塞米松、三丁基乙酸地塞米松、地塞米松天冬氨酸、地塞米松吡喃半乳糖、盐酸地塞米松、羟基地塞米松、羧基地塞米松、脱氧地塞米松、地塞米松丁氮酮、地塞米松环糊精、二氢地塞米松、氧代地塞米松、丙酰氧基地塞米松、地塞米松galactodie、异烟酸地塞米松、地塞米松磷酸氢二钠、地塞米松醛、特戊酸地塞米松、三癸酸地塞米松、巴豆酸地塞米松、甲磺酸地塞米松、丁基乙酸地塞米松、脱氢地塞米松、地塞米松异硫氰酸基乙基硫醚、溴乙酸地塞米松、半戊二酸地塞米松、脱氧地塞米松、地塞米松chlorambucilate、地塞米松melphalanate、甲酰氧基地塞米松、丁酸地塞米松、月桂酸地塞米松、乙酸地塞米松以及含有地塞米松形式的任何组合治疗。

[0027] 在一些实施方案中,所述糖皮质激素是地塞米松,其可以是地塞米松磷酸钠。

[0028] 本发明的方法可涉及特定糖皮质激素剂量的施用。在一些实施方案中,所述糖皮质激素以相当于约以下的剂量施用:

[0029] ●6-12mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);

[0030] ●至少6mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);

[0031] ●至少12mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);

[0032] ●至少15mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);

[0033] ●至少18mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);

[0034] ●至少21mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);

[0035] ●至少24mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);

[0036] ●至多45mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED)。

[0037] 在一些优选的实施方案中,所述糖皮质激素以相当于约至少18mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED)的剂量施用。在一些其它优选的实施方案中,所述糖皮质激素以相当于约至少6-18mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED)的剂量施用。在一些其它优选的实施

方案中,所述糖皮质激素以相当于约至少15-18mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED)的剂量施用。

[0038] 在一些实施方案中,所述糖皮质激素以相当于约以下的剂量施用:

[0039] ●6-12mg/kg磷酸地塞米松的人体等效剂量(HED);

[0040] ●至少6mg/kg磷酸地塞米松的人体等效剂量(HED);

[0041] ●至少12mg/kg磷酸地塞米松的人体等效剂量(HED);

[0042] ●至少15mg/kg磷酸地塞米松的人体等效剂量(HED);

[0043] ●至少18mg/kg磷酸地塞米松的人体等效剂量(HED);

[0044] ●至少21mg/kg磷酸地塞米松的人体等效剂量(HED);

[0045] ●至少24mg/kg磷酸地塞米松的人体等效剂量(HED);

[0046] ●至多45mg/kg磷酸地塞米松的人体等效剂量(HED)。

[0047] 在一些优选的实施方案中,所述糖皮质激素以相当于约至少18mg/kg磷酸地塞米松的人体等效剂量(HED)的剂量施用。在一些其它优选的实施方案中,所述糖皮质激素以相当于约至少6-18mg/kg磷酸地塞米松的人体等效剂量(HED)的剂量施用。在一些其它优选的实施方案中,所述糖皮质激素以相当于约至少15-18mg/kg磷酸地塞米松的人体等效剂量(HED)的剂量施用。

[0048] 所述糖皮质激素剂量可被定义为具有来自一系列mg/kg值的mg/kg值的地塞米松的人体等效剂量(HED),其中所述范围由以上列出的mg/kg值中的两个限定。例如,所述糖皮质激素剂量可被定义为6-45mg/kg的地塞米松HED。在另一个实例中,所述糖皮质激素剂量可被定义为12-24mg/kg的地塞米松HED。

[0049] 所述糖皮质激素可作为单次急性剂量施用,或作为在约72小时时间段内给予的总剂量施用。此外,所述方法可包括施用一个或多个其它剂量的糖皮质激素。在一些实施方案中,一个或多个其它剂量:在先前糖皮质激素施用后24小时与120小时之间;在先前糖皮质激素施用后24小时与48小时之间;在先前糖皮质激素施用后72小时与120小时之间;在第一糖皮质激素施用后每24、48、72、96、120、144或168小时;在第一糖皮质激素施用后每周一次;在第一糖皮质激素施用后每两周一次;在第一糖皮质激素施用后每月一次;或在第一糖皮质激素施用后每周两次施用。

[0050] 所公开的方法可以包括激活本公开的NKT样细胞的步骤。因此,在一些实施方案中,所述方法可进一步包括向所述受试者施用NKT细胞激活剂、T细胞激活剂和/或NK细胞激活剂的步骤。所述NKT细胞激活剂可选自由以下组成的组:αGalCer、硫苷脂或NKT激活抗体。所述NKT细胞激活剂可以是负载αGalCer的树突细胞或单核细胞。所述T细胞激活剂可选自由以下组成的组:唑来膦酸盐(zoledronate)、美伐他汀(mevastatin)或T细胞激活抗体。所述NK细胞激活剂可选自由以下组成的组:IL-2、IL-12、IL-15、IL-18、IL-21或NK细胞激活抗体。所述NKT细胞激活剂、T细胞激活剂和/或NK细胞激活剂可在施用糖皮质激素后1-48小时内或约1-48小时施用。

[0051] 在一些实施方案中,受试者是人。在一些实施方案中,受试者是具有人源化免疫系统的哺乳动物受试者,诸如人免疫系统(HIS)小鼠。优选地,受试者是人。

[0052] 所述受试者可患有或疑似患有(或已被诊断患有)癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病(也称为微生物疾病)。所述癌症可以是实体瘤。或者,所述癌症可以是淋巴瘤,优选B细

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

[0053] 所述癌症可选自由以下组成的组:鳞状细胞癌(如上皮鳞状细胞癌);肺癌,包括小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肺腺癌和肺鳞状细胞癌;腹膜癌;肝细胞癌;胃部癌或胃癌,包括胃肠癌;胰腺癌;胶质母细胞瘤;宫颈癌;卵巢癌;肝癌;膀胱癌;肝细胞瘤;乳腺癌;结肠癌;直肠癌;结肠直肠癌;子宫内膜癌或子宫癌;唾液腺癌;肾脏癌或肾癌;前列腺癌;外阴癌;甲状腺癌;肝癌;肛门癌;阴茎癌以及头颈癌。

[0054] 本发明的NKT样细胞可通过肿瘤浸润来治疗癌症。本发明的NKT样细胞可通过释放免疫激活细胞因子来治疗癌症。本发明的NKT样细胞可以通过吞噬和杀死癌细胞来治疗癌症。本发明的NKT样细胞可以通过促进其它免疫细胞浸润到肿瘤中来治疗癌症。本发明的NKT样细胞可以通过CD1d指导的细胞凋亡来治疗癌症。本发明的NKT样细胞可通过肿瘤坏死来治疗癌症。本发明的NKT样细胞可通过经由在本发明的NKT样细胞上表达γ-δT细胞受体来识别由肿瘤细胞产生的高水平磷酸抗原来治疗癌症。因此,在一些实施方案中,本发明提供了通过诱导、动员或施用本发明的NKT样细胞来引起肿瘤坏死的方法。在一些实施方案中,本发明提供了通过诱导、动员或施用本发明的NKT样细胞来引起癌细胞的CD1d指导的细胞凋亡的方法。在一些实施方案中,本发明提供了使用本发明的NKT样细胞吞噬和/或杀死癌细胞的方法。在一些实施方案中,本发明提供了通过癌细胞磷酸抗原激活表达γ-δ的NKT样细胞的方法,所述NKT样细胞然后通过NKT样细胞上的NK受体识别并杀死癌细胞。

[0055] 在受试者患有、疑似患有(或已被诊断患有)自身免疫性疾病的实施方案中,所述自身免疫性疾病可以是多发性硬化症、系统性硬化症、肌萎缩性侧索硬化症、1型糖尿病(T1D)、硬皮病、天疱疮或狼疮。在受试者患有、疑似患有(或已被诊断患有)感染性疾病的实施方案中,所述感染性疾病可以是HIV、疱疹、肝炎或人乳头状瘤病毒。在一些实施方案中,所述感染性疾病是HIV。在一些优选的实施方案中,所述感染性疾病可以是COVID-19(冠状病毒2019;由严重急性呼吸综合征冠状病毒2,SARS-CoV-2引起的疾病)。

[0056] 本发明的方法可包括分离和/或扩增步骤。例如,所述方法可包括从所述受试者或从源自所述受试者的样品分离NKT样细胞群体的步骤。任选地,所述分离步骤可在糖皮质激素施用后至少48小时;糖皮质激素施用后48小时与13天之间;或糖皮质激素施用后6与48小时之间进行。在一些实施方案(如受试者患有癌症、感染性疾病或微生物疾病或自身免疫性疾病的实施方案)中,分离所述NKT样细胞的步骤可在糖皮质激素施用后3小时内进行,并且优选在糖皮质激素施用后1小时内进行。在一些实施方案中,分离步骤可在糖皮质激素施用后30分钟与60分钟之间进行。

[0057] 所述样品可选自由以下组成的组:血液、血浆、肿瘤活检物或手术切除的肿瘤、骨髓、肝脏、脾脏活检物和脂肪或脂肪组织。在一些实施方案中,所述方法进一步包括扩增所述分离的NKT样细胞的步骤。在一些实施方案中,所述方法包括用NKT细胞激活剂、T细胞激活剂和/或NK细胞激活剂激活所述分离的NKT样细胞的步骤;所述NKT细胞激活剂、T细胞激活剂和/或NK细胞激活剂可如本文别处所述。

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

CAR)。所述CAR和/或TCR包含结合至选自由以下组成的组的抗原的抗原结合结构域:CD19、CD20、CD22、GD2、CD133、EGFR、GPC3、CEA、MUC1、间皮素、IL-13R、PSMA、ROR1、CAIX、Her2。

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

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

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

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

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

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

[0065] 本发明还提供一种通过本文公开的方法产生的分离的自然杀伤T细胞样细胞(NKT样细胞)或NKT样细胞群体。相关地,本发明的NKT样细胞可由它们的表达谱定义,所述表达谱可如本文别处所述。例如,本发明提供了一种分离的自然杀伤T细胞样细胞(NKT样细胞),其特征在于所述细胞表达CD56、TCRγ/δ和iTCR并且任选地表达CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45和/或TCRα/β中的一者或多者;并且/或者不表达:CD4。所述分离的NKT样细胞可来自未患病的受试者。

[0066] 本发明还提供了一种分离的自然杀伤T细胞样细胞(NKT样细胞)群体。所述分离的NKT样细胞群体可由它们的表达谱定义,所述表达谱可如本文别处所述。例如,分离的NKT样细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ和iTCR,并且/或者表达CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45和/或TCRα/β中的一者或多者;并且/或者不表达:CD4。

[0067] 本发明提供了一种用于治疗受试者的癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病(也称为微生物疾病)的方法中的糖皮质激素,所述方法包括以相当于约6-45mg/kg地塞米松人体等效剂量(HED)的剂量向所述受试者施用糖皮质激素,其中所述糖皮质激素诱导/激活/动

员如本文定义的本发明的NKT细胞群体。例如,本发明提供了一种用于在癌症患者中诱导肿瘤坏死、引起肿瘤浸润、释放免疫激活细胞因子、吞噬和杀死肿瘤细胞、促进其它免疫细胞浸润到肿瘤中和/或引起CD1d指导的细胞凋亡的方法中的糖皮质激素,所述方法包括以相当于约6-45mg/kg地塞米松人体等效剂量(HED)的剂量向所述受试者施用糖皮质激素,以诱导如本文定义的本发明的NKT样细胞群体。例如,本发明提供了一种用于在癌症患者中诱导肿瘤坏死、引起肿瘤浸润、释放免疫激活细胞因子、吞噬和杀死肿瘤细胞、促进其它免疫细胞浸润到肿瘤中和/或引起CD1d指导的细胞凋亡的方法中的糖皮质激素,所述方法包括以相当于约6-45mg/kg地塞米松人体等效剂量(HED)的剂量向所述患者施用糖皮质激素,以动员如本文定义的本发明的NKT样细胞群体。例如,本发明提供了一种用于诱导病毒死亡、释放免疫激活细胞因子、吞噬和杀死被病毒感染的细胞、促进其它免疫细胞浸润到被病毒感染的器官中的方法中的糖皮质激素,所述方法包括以相当于约6-45mg/kg地塞米松人体等效剂量(HED)的剂量向所述受试者施用糖皮质激素,以诱导如本文定义的本发明的NKT样细胞群体。地塞米松的HED可取本文公开的值范围中的任何值。

附图说明

[0068] 现在将参考附图论述说明本公开的原理的实施方案和实验,其中:

[0069] 图1.急性高剂量地塞米松减少初次接受试验的小鼠中的小鼠淋巴细胞数量。与安慰剂相比,高剂量地塞米松(18mg/kg HED磷酸地塞米松(DP))后6小时、24小时、48小时、7天、13天和21天通过全血细胞计数测量的绝对淋巴细胞数量(ALC减去NK和NKT细胞)(细胞/ul=从CBC获得的绝对数量)显著减少。在施用后6和48小时观察到几乎完全的淋巴细胞清除,其效果与使用标准Cy/Flu化学疗法(13mg/kg HED环磷酰胺和0.8mg/kg HED氟达拉滨)实现的效果相当。

[0070] 图2.急性高剂量地塞米松减少初次接受试验的小鼠中的小鼠B淋巴细胞数量。与安慰剂相比,高剂量地塞米松(18mg/kg HED DP)后6小时、24小时、48小时、7天、13天和21天通过全血细胞计数测量的B淋巴细胞数量(细胞/ul=从CBC获得的绝对数量)显著减少。对B淋巴细胞的淋巴清除效果与使用标准Cy/Flu化学疗法(13mg/kg HED环磷酰胺和0.8mg/kg HED氟达拉滨)实现的效果相当。

[0071] 图3.急性高剂量地塞米松减少初次接受试验的小鼠中的小鼠单核细胞数量。与安慰剂相比,高剂量地塞米松(18mg/kg HED DP)后6小时、24小时和48小时通过全血细胞计数测量的单核细胞数量(细胞/ul=从CBC获得的绝对数量)显著减少。对单核细胞的消除效果优于通过标准Cy/Flu化学疗法(13mg/kg HED环磷酰胺和0.8mg/kg HED氟达拉滨)实现的效果。

[0072] 急性高剂量地塞米松减少初次接受试验的小鼠中的小鼠嗜中性粒细胞数量。与安慰剂相比,高剂量地塞米松(18mg/kg HED DP)后6小时、24小时和48小时通过全血细胞计数测量的嗜中性粒细胞数量(细胞/ul=从CBC获得的绝对数量)显著减少。

[0073] 图5.急性高剂量地塞米松不影响小鼠血小板。急性高剂量地塞米松(18mg/kg HED DP)不影响通过全血细胞计数测量的血小板数量(细胞/ul=从CBC获得的绝对数量)。因此,急性高剂量地塞米松消除输血的需要,并为化学治疗方案提供更安全、无毒的替代方案。血小板表达糖皮质激素受体(GR),因此对血小板没有作用表明糖皮质激素受体非依赖性作用

机制。

[0074] 图6.急性高剂量地塞米松不影响造血干细胞。显示的是在用安慰剂或急性高剂量地塞米松处理初次接受试验的小鼠后6小时与35天之间的时间点测量的活造血干细胞的数量。急性高剂量地塞米松(18mg/kg HED DP)不会显著改变活造血干细胞的数量。因此,由急性高剂量地塞米松代表的非清髓性方案可消除免疫重置后造血恢复对干细胞输注的需要。

[0075] 图7.急性高剂量地塞米松诱导NKT上调(图7)和新型NKT细胞群体(AVM-NKT)的产生。与安慰剂相比,高剂量地塞米松(18X mg/kg HED DP)后6小时和24小时通过全血细胞计数测量的总NKT细胞数量(细胞/ul＝从CBC获得的绝对数量)显著减少。出人意料地,到高剂量地塞米松后48小时,通过全血细胞计数测量的总NKT细胞数量增加,然后逐渐减少,直到高剂量地塞米松处理后13天左右。在施用标准Cy/Flu化学疗法(13mg/kg HED环磷酰胺和0.8mg/kg HED氟达拉滨)的情况下,在处理后48小时未观察到NKT细胞数量的这种增加。

[0076] 图8.用高剂量地塞米松处理后,可在外周血中鉴定两种NKT群体。急性高剂量地塞米松后通过流式细胞术检查外周血鉴定了两种NKT细胞群体:定义为CD3medCD49b+的NKT细胞(人中CD56),对应于先前描述的NKT细胞(中央矩形门);以及定义为CD3高CD49b+的新型NKT细胞群体(人中CD56;AVM-NKT细胞;中右矩形门)。AVM-NKT细胞是CD49b+(人中CD56)和CD3极亮,相比之下,表达CD3的已知NKT细胞的平均荧光强度(MFI)比AVM-NKT低二分之一至1log。

[0077] 图9.AVM-NKT上调的时程。使用CBC和流式细胞术结果对每微升血液中的AVM-NKT细胞的定量。AVM-NKT细胞在用一种高剂量地塞米松(HED 18.1mg/kg DP PO)处理后48小时-13天之间的初次接受试验的小鼠的血液中明显;*＝统计学上显著的。

[0078] 图10A.用高剂量地塞米松(HED 18mg/kg DP)处理诱导的A20肿瘤环境的变化。48小时后,与安慰剂相比,在用高剂量地塞米松处理的小鼠的肿瘤中坏死增加明显。

[0079] 图10B.AVM-NKT细胞在给予18mg/kg HED磷酸地塞米松后3小时内最大程度地消融植入小鼠胁腹的A20淋巴瘤(左图),而A20向血液和胸腺的转移在给药后24小时最大程度地根除(中图)并且A20向骨髓的转移在给药后48小时最大程度地根除(右图)。向小鼠胁腹中接种在混有100μL冷冻Matrigel的100μL PBS中的2x 10^6个A20淋巴瘤细胞。三小时、24小时和48小时后对小鼠实施安乐死,取出肿瘤、血液、骨髓和胸腺并制成单细胞悬液,用于流式细胞术检测活A20细胞。

[0080] 图11.与安慰剂相比,急性高剂量地塞米松(AVM0703;HED 18.1mg/kg PO)显著延迟A20 B细胞淋巴瘤的生长。高剂量地塞米松或安慰剂施用的天数由箭头指示。

[0081] 图12.来自用3-6mg/kg DSP治疗的骨关节炎患者的CD45/CD56散点图。鉴定了AVM-NKT细胞(由矩形框指示),并且与小鼠中一样是CD45暗且CD56极亮(小鼠中的CD49b)。

[0082] 图13.在施用6mg/kg AVM0703后1小时和3小时来自健康献血者和前列腺癌患者的流式细胞术数据。在前列腺癌患者中,新型CD45暗CD56亮细胞群体(圆圈)在输注后1小时明显。这些数据表明,人患者动员与小鼠中鉴定的AVM-NKT细胞对应的细胞。

[0083] 图14.AVM0703治疗的患者的裂解全血流式细胞术结果显示来自活细胞CD56+门的双阳性γδTCR和iTCR细胞。在散点图(左)上显示CD56+细胞的γδTCR和iTCR:51％的CD56+细胞的γδTCR和iTCR均呈阳性。然后评价γδTCR+iTCR+象限(AVM_NKT)的CD16和NKp44表达(右)。CD16和NKp46在几乎100％的AVM_NKT细胞上表达,指示处于激活状态。

[0084] 图15.AVM_NKT细胞的101-001大小(FSC)和复杂性(SSC)散点图。6mg/kg AVM0703(DP)输注(在一小时内静脉输注)后一小时,抽取全血并环境运送至AVM Biotechnology。血液用在黑暗中在室温下碱化15分钟的组库抗体染色。通过添加1mL的1X BD FACS裂解液(BD Bioscience)(用MilliQ水稀释),在室温下在黑暗中进行RBC裂解10分钟。用2mL 1X DPBS CMF(Gibco)洗涤样品并重悬于300uL的1X DPBS CMF中,然后将5uL的7AAD(Biolegend)添加到每份样品中进行活/死细胞测定,并在黑暗中在室温下孵育5分钟。取250uL样品在Macsquant 16流式细胞仪(Miltenyi,序列号#40150)上进行采集。针对共表达γδTCR和不变TCR的CD56+细胞对活的白细胞进行门控,并在正向与侧向散点图中标记为红色。红色标记的细胞落在正向与侧向散点图中,其中已知大颗粒细胞诸如中性粒细胞和大颗粒淋巴细胞落在其中。

[0085] 图16.患者101-001CD56+γδTCR+invTCR+细胞的流式细胞术数据。左上散点图:输注前;右上散点图:输注后1小时;左下散点图:输注后第3天;右下散点图:输注后第14天。如图15所示处理全血,并在Macsquant 16流式细胞仪(Miltenyi,序列号#40150)上采集样品。将活的白细胞在CD56+细胞上门控,然后将这些CD56+细胞散布到散点图上,显示γδTCR与不变TCR染色。表达CD56和γδTCR以及不变TCR的细胞可见于每个散点图的右上象限。该患者在AVM0703 6mg/kg输注后14天显示出大量CD56+gdTCR+invTCR+细胞的迹象(每微升血液79个细胞)。

[0086] 图17.患者103-002CD56+γδTCR+invTCR+细胞的流式细胞术数据。左上散点图:输注前;右上散点图:输注后1小时;左下散点图:输注后第3天;右下散点图:输注后第14天。如图15所示处理全血,并在Macsquant 16流式细胞仪(Miltenyi,序列号#40150)上采集样品。将活的白细胞在CD56+细胞上门控,然后将这些CD56+细胞散布到散点图上,显示γδTCR与不变TCR染色。表达CD56和γδTCR以及不变TCR的细胞可见于每个散点图的右上象限。该患者具有循环CD56+gdTCR+invTCR+细胞的基线迹象(每微升89个细胞),与荷瘤小鼠中的观察结果一致,即肿瘤环境可以诱导和动员这些NKT样细胞。给药6mg/kg后三天,这些CD56+gdTCR+invTCR+细胞达到每微升366个细胞的循环水平。

[0087] 图18.患者103-005CD56+γδTCR+invTCR+细胞的流式细胞术数据。左上散点图:输注前;右上散点图:输注后1小时;底部:输注后第3天。如图15所示处理全血,并在Macsquant 16流式细胞仪(Miltenyi,序列号#40150)上采集样品。将活的白细胞在CD56+细胞上门控,然后将这些CD56+细胞散布到散点图上,显示γδTCR与不变TCR染色。表达CD56和γδTCR以及不变TCR的细胞可见于每个散点图的右上象限。输注9mg/kg后一小时,基线CD56+gdTCR+invTCR+细胞(每微升347个细胞)显著减少至每微升22个细胞,表明循环细胞响应于9mg/kg DP激活和肿瘤归巢,与该患者中肿瘤爆发(flare)的临床观察结果一致并且与携带A20淋巴瘤的小鼠中的观察结果一致,即肿瘤环境可以诱导这些NKT样细胞的产生,但需要磷酸地塞米松或另一种糖皮质激素才能最佳地激活这些细胞并触发它们归巢和根除肿瘤细胞。

[0088] 图19.患者108-001第1次输注CD56+γδTCR+invTCR+细胞的流式细胞术数据。左上散点图:输注前;右上散点图:输注后1小时;底部:输注后第3天。如图15所示处理全血,并在Macsquant 16流式细胞仪(Miltenyi,序列号#40150)上采集样品。将活的白细胞在CD56+细胞上门控,然后将这些CD56+细胞散布到散点图上,显示γδTCR与不变TCR染色。表达CD56和γδTCR以及不变TCR的细胞可见于每个散点图的右上象限。输注9mg/kg AVM0703后一小时,

血液中的CD56+gdTCR+iTCR+细胞增加为基线的约20倍(5.8至112个细胞/uL),并在第3天保持升高(36个细胞/uL)。该患者在AVM0703输注后第3天出现显著的临床应答,视力恢复。

[0089] 图20.患者108-003CD56+γδTCR+invTCR+细胞的流式细胞术数据。左上散点图:输注前;右上散点图:输注后1小时;左下散点图:输注后第3天;右下散点图:输注后第14天。如图15所示处理全血,并在Macsquant 16流式细胞仪(Miltenyi,序列号#40150)上采集样品。将活的白细胞在CD56+细胞上门控,然后将这些CD56+细胞散布到散点图上,显示γδTCR与不变TCR染色。表达CD56和γδTCR以及不变TCR的细胞可见于每个散点图的右上象限。随着时间的推移,CD56+γδTCR+invTCR+细胞从基线时每微升血液24个细胞增加到12mg/kg输注后14天每微升94个细胞。该患者出现肿瘤爆发应答和显著的免疫归巢至颈部淋巴结(疾病发生部位)并且出现咽炎症状,需要在第14天住院治疗。该患者的临床应答及CD56+γδTCR+invTCR+细胞的流式细胞术检测与这些细胞优先归巢至肿瘤部位一致。

[0090] 图21.患者108-004CD56+γδTCR+invTCR+细胞的流式细胞术数据。左上散点图:输注前;右上散点图:输注后1小时;底部:输注后第3天。如图15所示处理全血,并在Macsquant 16流式细胞仪(Miltenyi,序列号#40150)上采集样品。将活的白细胞在CD56+细胞上门控,然后将这些CD56+细胞散布到散点图上,显示γδTCR与不变TCR染色。表达CD56和γδTCR以及不变TCR的细胞可见于每个散点图的右上象限。患者108-004在任何时间点均未显示出CD56+γδTCR+invTCR+细胞的迹象,并且是唯一一位以6mg/kg或更高的急性高剂量DP治疗但对治疗没有临床应答的患者,这与抗肿瘤活性是由这些NKT样细胞的诱导和动员介导的一致。

[0091] 图22.患者108-002CD56+γδTCR+invTCR+细胞的流式细胞术数据。左上散点图:输注前;右上散点图:输注后1小时;左下散点图:输注后第3天;右下散点图:输注后第14天。如图15所示处理全血,并在Macsquant 16流式细胞仪(Miltenyi,序列号#40150)上采集样品。将活的白细胞在CD56+细胞上门控,然后将这些CD56+细胞散布到散点图上,显示γδTCR与不变TCR染色。表达CD56和γδTCR以及不变TCR的细胞可见于每个散点图的右上象限。

[0092] 图23A-23C.来自表面健康的献血者的γδTCR+invTCR+双特异性CD56+细胞散点图。显示了12名健康献血者的总CD56+WBC中的γδTCR+iTCR+细胞的散点图。如图15所示处理全血,并在Macsquant 16流式细胞仪(Miltenyi,序列号#40150)上采集样品。将活的白细胞在CD56+细胞上门控,然后将这些CD56+细胞散布到散点图上,显示γδTCR与不变TCR染色。表达CD56和γδTCR以及不变TCR的细胞可见于每个散点图的右上象限。一些“健康”献血者具有循环水平的CD56+γδTCR+invTCR+细胞,与从未有过这些细胞的初次接受试验的小鼠大不相同。初次接受试验的小鼠维持在基本上无病原体的条件下并且没有感染,而“健康”的献血者则不然,并且可能具有无症状或未诊断的感染,或者诱导这些NKT样细胞表达的自身免疫性疾病或癌症。

[0093] 图24.AVM0703诱导γδTCR+invTCR+双特异性CD56+细胞动员到人源化小鼠的血液中。AVM0703诱导为CD16+的CD56+TCRγδ+(12%的hCD45+细胞),表明处于激活状态(小鼠10Taconic NOG-EXL)。将小鼠白细胞在活的群体上门控,然后在人CD45+细胞上门控。人CD45+暗细胞(左上图,标记为蓝色并圈出),从其它实验中鉴定为包含新型AVM-NKT细胞的群体,散布到CD56和gdTCR的散点图中(右上图)。CD56+gdTCR+细胞位于右上象限。几乎所有的人CD45+暗细胞(呈蓝色)均可见于CD56+gdTCR+右上象限中。然后在CD8(左下图)和CD16

(右下图)表达的平均荧光强度(MFI)直方图上用蓝色来标识人CD45+暗、CD56+、gdTCR+细胞。超过80％的细胞呈CD8阳性,指示为细胞毒性细胞类型;且呈CD16阳性,指示为激活细胞类型。

[0094] 图25.>18mg/kg AVM0703 HED诱导2-12％的hCD45+细胞发生双特异性免疫细胞动员(上图:小鼠M5 5.14％;下图:小鼠M7 2.37％;CRL-NCG人源化小鼠)。白细胞针对活细胞进行门控,然后针对人CD45+细胞进行门控,然后散布到CD56和gdTCR表达的散点图中(左侧图)。hCD45+、CD56+、gdTCR+细胞可见于右上象限并标记为红色。然后将人CD45+CD56+gdTCR+细胞散布到直方图上,该直方图显示不变TCR的MFI(右侧图)。这些细胞中超过97％也表达不变TCR。

[0095] 图26.>18mg/kg AVM0703 HED诱导2-12％的hCD45+细胞发生双特异性免疫细胞动员(上图:小鼠M1 3.35％;下图:小鼠M3 4.13％;CRL-NCG人源化小鼠)。白细胞针对活细胞进行门控,然后针对人CD45+细胞进行门控,然后散布到CD56和gdTCR表达的散点图中(左侧图)。hCD45+、CD56+、gdTCR+细胞可见于右上象限并标记为红色。然后将人CD45+CD56+gdTCR+细胞散布到直方图上,该直方图显示不变TCR的MFI(右侧图)。这些细胞中超过97％也表达不变TCR。

[0096] 图27.AVM0703在人源化小鼠中诱导γδTCR+invTCR+双特异性激活的CD56+骨髓细胞。>18mg/kg AVM0703 HED治疗的人源化小鼠在骨髓的0.3-8.5％hCD45+细胞中具有双特异性免疫细胞(上图:小鼠M90;下图:小鼠M88;Taconic-NOG-EXL人源化小鼠)。大约90％的双特异性γδTCR+invTCR+细胞是CD16+,表明处于激活状态。左上图中iTCD是iTCR。骨髓细胞针对活细胞进行门控,然后将表达CD56的人CD45+细胞散布到gdTCR和inv TCR表达的散点图中(左侧图)。然后将人CD45+CD56+gdTCR+invTCR+细胞散布到直方图上,该直方图显示CD16的MFI(右侧图)。这些细胞中大约90％表达CD16,指示处于激活状态。

[0097] 图28.AVM0703在人源化小鼠中诱导γδTCR+invTCR+双特异性激活的CD56+骨髓细胞。>18mg/kg AVM0703 HED治疗的人源化小鼠在骨髓的0.3-8.5％hCD45+细胞中具有双特异性免疫细胞(上图:小鼠M5;下图:小鼠M7;CRL-NCG人源化小鼠)。大约90％的双特异性γδTCR+invTCR+细胞是CD16+,表明处于激活状态。骨髓细胞针对活细胞进行门控,然后将表达CD56的人CD45+细胞散布到gdTCR和inv TCR表达的散点图中(左侧图)。然后将人CD45+CD56+gdTCR+invTCR+细胞散布到直方图上,该直方图显示CD16的MFI(右侧图)。这些细胞中大约90％表达CD16,指示处于激活状态。

[0098] 图29.AVM0703诱导人源化小鼠中的髓系细胞产生。显示了两只安慰剂小鼠(上图)和一只AVM0703治疗的小鼠(下图)在第一AVM0703或安慰剂剂量后的数据-左上:M12安慰剂小鼠;右上:M90安慰剂小鼠;下部:M88 32mg/kg AVM0703治疗的小鼠。显示了正向和侧向散点图,散点图上圈出了淋巴细胞。安慰剂治疗的人源化小鼠(上图)随机出现非淋巴细胞,没有任何明显的不同群体。AVM0703给药的小鼠(下图)具有不同的非淋巴细胞细胞群体的迹象,在第一剂量后具有比淋巴细胞群体更高的侧向散射。重复给药,如图30所示,进一步诱导这种非淋巴细胞群体,其具有与对于髓系细胞和大颗粒淋巴细胞预期的信号相似的正向与侧向散射信号。

[0099] 图30.AVM0703诱导人源化小鼠中的髓系细胞产生。显示了两只安慰剂小鼠(上图)和一只AVM0703治疗的小鼠(下图)在第二AVM0703或安慰剂剂量后的数据-左上:M12安慰剂

小鼠;右上:M90安慰剂小鼠;下部:M88 32mg/kg AVM0703治疗的小鼠。重复给药进一步诱导AVM0703给药小鼠中的非淋巴细胞群体,其具有与对于髓系细胞和大颗粒淋巴细胞预期的信号相似的正向与侧向散射信号

[0100] 图31.人源化小鼠主要具有人淋巴样细胞。在M12安慰剂小鼠中,在第一剂量后淋巴细胞主要是人CD45+(上图),且少数髓系细胞主要是mCD45+(下图)。显示了安慰剂治疗的小鼠的正向与侧向散点图并且证明在人源化小鼠中,淋巴细胞主要是人CD45+(在上图中标记为绿色)且少数髓系细胞主要是mCD45+(在下图中标记为红色)。

[0101] 图32.AVM0703给药诱导人源化小鼠中的髓系细胞产生。M12安慰剂:小鼠淋巴细胞为总小鼠WBC的13%(左上);人淋巴细胞为总人WBC的60%(右上);总淋巴细胞为总WBC的45%。

[0102] 图33.AVM0703给药诱导人源化小鼠中的髓系细胞产生。M90安慰剂:小鼠淋巴细胞仅为总WBC的12.5%;人淋巴细胞为总人WBC的31.5%;总淋巴细胞为总WBC的30%。

[0103] 图34.AVM0703给药诱导人源化小鼠中的髓系细胞产生。M88AVM0703:小鼠淋巴细胞仅为总WBC的5.7%;人淋巴细胞为总人WBC的58%;总淋巴细胞为总WBC的32%。该图中的数据说明,与安慰剂治疗的人源化小鼠相比,AVM0703给药后,总淋巴细胞群体从所有WBC的约45%减少到所有WBC的约32%。髓系细胞生成的诱导降低淋巴WBC的百分比。

[0104] 图35.AVM0703给药诱导人源化小鼠中的髓系细胞产生。M01AVM0703:小鼠淋巴细胞仅为总WBC的6.7%;人淋巴细胞为总人WBC的67%;总淋巴细胞为总WBC的35%。该图中的数据说明,与安慰剂治疗的人源化小鼠相比,AVM0703给药后,总淋巴细胞群体从所有WBC的约45%减少到所有WBC的约35%。髓系细胞生成的诱导降低淋巴WBC的百分比。

[0105] 图36.AVM0703给药诱导人源化小鼠中的髓系细胞产生。M03AVM0703:小鼠淋巴细胞仅为总WBC的23.7%;人淋巴细胞为总人WBC的47%;总淋巴细胞为总WBC的40%。该图中的数据说明,与安慰剂治疗的人源化小鼠相比,AVM0703给药后,总淋巴细胞群体从所有WBC的约45%减少到所有WBC的约40%。髓系细胞生成的诱导降低淋巴WBC的百分比。

[0106] 图37.AVM0703给药诱导人源化小鼠中的髓系细胞产生。M05AVM0703:小鼠淋巴细胞仅为总WBC的2.0%;人淋巴细胞为总人WBC的50.1%;总淋巴细胞为总WBC的20.9%。该图中的数据说明,与安慰剂治疗的人源化小鼠相比,AVM0703给药后,总淋巴细胞群体从所有WBC的约45%减少到所有WBC的约21%。髓系细胞生成的诱导降低淋巴WBC的百分比。

[0107] 图38.AVM0703给药诱导人源化小鼠中的髓系细胞产生。M07AVM0703:小鼠淋巴细胞仅为总WBC的20.4%;人淋巴细胞为总人WBC的58.2%;总淋巴细胞为总WBC的41.9%。

[0108] 图39.AVM0703给药诱导人源化小鼠中的髓系细胞产生。M10AVM0703:小鼠淋巴细胞仅为总WBC的5.2%;人淋巴细胞为总人WBC的37.5%;总淋巴细胞为总WBC的28.1%。该图中的数据说明,与安慰剂治疗的人源化小鼠相比,AVM0703给药后,总淋巴细胞群体从所有WBC的约45%减少到所有WBC的约30%。髓系细胞生成的诱导降低淋巴WBC的百分比。

[0109] 图40.来自AVM0703治疗的小鼠的ACT AVM-NKT细胞显著减少用AVM0703预适应的小鼠肿瘤(左上)和脾脏(右上)中活MOPC315细胞的总数。AVM0703预适应后进行ACT也显示出血液(左下)和骨髓(右下)中活MOPC315减少的趋势。显示了在单细胞处理和流式细胞术(CD138+CD4+)后分析的balb/c小鼠皮下(左上)肿瘤、(右上)脾脏、(左下)骨髓和(右下)血液中不同组别的活MOPC315细胞分布。细胞受者组(n=8)在过继细胞转移(ACT)前48小时用

18mg/kg HED AVM0703(经口灌胃)进行预适应。49只初次接受试验的供者balb/c小鼠口服(P.O.)给药45mg/kg AVM0703,以诱导用于ACT的双特异性γδTCR+invTCR+NKT样细胞,而8只初次接受试验的balb/c小鼠在ACT前96小时口服给药安慰剂(每只小鼠静脉(I.V.)注射330万个脾细胞;分别合并来自AVM0703或安慰剂给药小鼠的脾细胞)。组别名称的第一部分指定预适应(PC)接受者分组,而第二部分指定供者细胞是来源于AVM0703小鼠还是安慰剂(例如,AVM18 PC-AVM ACT是在ACT前48小时用18mg/kg AVM0703预适应并且静脉注射来自在收获前96小时给药1x 45mg/kg的小鼠的脾细胞)。ACT后约18小时处死所有小鼠。预适应时的平均肿瘤体积为约130mm^3。(*)P<0.05(Kruskal-Wallis检验-各组与"安慰剂PC-安慰剂ACT"组比较)。来自AVM0703治疗的小鼠的ACT细胞显著减少用AVM0703预适应的小鼠肿瘤和脾脏中活MOPC315细胞的总数。另外,虽然减少在统计学上不显著,但正如基于在接种MOPC315的小鼠中AVM0703预适应会诱导/动员内源双特异性NKT样细胞的能力所预期的那样,用AVM0703预适应后进行来自安慰剂治疗的小鼠的细胞的ACT,显示出活MOPC315细胞减少的趋势。虽然结果在统计学上不显著,但AVM0703预适应后进行ACT也显示出血液和骨髓中的活MOPC315减少的趋势。

[0110] 图41.患者103-007(套细胞淋巴瘤)。绝对淋巴细胞计数(ALC),展示在一名具有基线淋巴细胞增多的患者中AVM0703仅减少淋巴细胞。

[0111] 图42.在患者103-007中,AVM0703给药后,单核细胞、血小板、血细胞比容和RBC未减少。

[0112] 图43.离体/体外地塞米松CRC,证明在相当于超药理学剂量的浓度下不存在GCR激活。将小鼠全血(WB)和脾细胞(spl)与浓度递增的地塞米松碱一起孵育6小时,然后在使用Viobility™(Miltenyi Biotec)和eBioscience™Calcein AM活力染料(Invitrogen,ThermoFisher Scientific)对活/死细胞进行共染色后,通过CBC分析(WB)或流式细胞术(spl)确定细胞计数(WB)或细胞凋亡(spl)。

具体实施方式

[0113] 本公开涉及:产生/激活/动员自然杀伤T细胞样细胞(NKT样细胞)群体的方法,通过此类方法产生的分离的NKT样细胞或分离的NKT样细胞群体,以及其中在受试者中诱导NKT样细胞或将NKT样细胞施用于受试者的治疗方法。本公开基于作者的发现,即高剂量的糖皮质激素受体调节剂(诸如糖皮质激素地塞米松)能够诱导也表达不变TCR(iTCR+)的γδ自然杀伤T样细胞(CD56+γδTCR+)的产生和动员。这些新发现的细胞和这些细胞的群体在本文中称为自然杀伤T细胞样细胞(NKT样细胞),但也可以称为例如自然杀伤T细胞(NKT细胞)、CD56+γδTCR+iTCR+NKT细胞,或AVM-NKT细胞。如本文所用,术语"细胞群体"可以指具有相似特性的细胞的集合或组—例如,具有表面蛋白表达的特征模式的多个细胞的集合或组。举例来说,细胞群体可以指全部表达CD56、TCRγ/δ和iTCR的细胞的组或集合。

[0114] 如本文所用,"动员"此类细胞可意味着促进这些细胞移出淋巴器官/组织(例如胸腺和脾脏)并进入体循环(其中它们然后可移动至其它部位,例如肿瘤部位)。所公开的方法可包括多个上述方面。例如,本公开的方法可在胸腺和/或脾脏和/或骨髓中诱导如本文所述的NKT样细胞群体的产生,并从胸腺和/或脾脏和/或骨髓动员如本文所述的NKT样细胞群体。

[0115] 如本文所公开,产生NKT样细胞群体的方法包括向受试者施用糖皮质激素受体(GR)调节剂或ICAM3调节剂。ICAM3调节剂可以激活ICAM3信号传导或导致ICAM3脱落以导致在受试者中诱导NKT样细胞。所述糖皮质激素受体(GR)调节剂或ICAM3调节剂在所述受试者中诱导NKT样细胞群体。所述糖皮质激素受体(GR)调节剂或ICAM3调节剂可以在所述受试者中动员NKT样细胞群体。

[0116] 还公开了可以通过所公开的方法产生的分离的NKT样细胞群体和分离的NKT样细胞。

[0117] 所公开的NKT样细胞可通过它们表达的表面蛋白的模式来进行表征。在一些实施方案中,所公开的NKT样细胞可以表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45、TCRα/β、CD34和/或ICAM3。在一些实施方案中,所公开的NKT样细胞可以表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45和/或TCRα/β。在一些实施方案中,所公开的NKT细胞可不表达CD4。

[0118] 在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达TCRγ/δ和iTCR。在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达CD56、TCRγ/δ和iTCR。在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达CD45、TCRγ/δ和iTCR。在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达CD45、CD56、TCRγ/δ和iTCR。

[0119] 在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达CD16。在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达TCRγ/δ、iTCR和CD16。在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR和CD16。在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达CD45、TCRγ/δ、iTCR和CD16。在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达CD45、CD56、TCRγ/δ、iTCR和CD16。

[0120] 在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达CD16和NKp44。在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达TCRγ/δ、iTCR和CD16。在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16和NKp44。在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达CD45、TCRγ/δ、iTCR、CD16和NKp44。在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达CD45、CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16和NKp44。

[0121] 在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达TCRα/β。在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达TCRγ/δ、iTCR和TCRα/β。在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR和TCRα/β。在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达CD45、TCRγ/δ、iTCR和TCRα/β。在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达CD45、CD56、TCRγ/δ、iTCR和TCRα/β。在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达CD45、CD56、TCRγ/δ、iTCR、TCRα/β和CD16。在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达CD45、CD56、TCRγ/δ、iTCR、TCRα/β、CD16和NKp44。

[0122] 在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44和TCRα/β。在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD19和CD45。在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD19、CD45和TCRα/β。在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD8、CD14和CD19。在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD8、CD14、CD19和TCRα/β。在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达CD45、CD56、TCRγ/δ和iTCR。在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达CD45、CD56、TCRγ/δ、iTCR和TCRα/β。在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达CD45、CD56、TCRγ/δ、iTCR、TCRα/β和CD8。在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR和CD8。在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD8和CD3。在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达

CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、CD34和ICAM3。在一些实施方案中,所述NKT样细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、CD34、ICAM3和NKp44。

[0123] 在涉及所公开的NKT样细胞群体的实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达以上概述的标志物或标志物组合。

[0124] 因此,在涉及所公开的NKT样细胞群体的实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45、TCRα/β、CD34和/或ICAM3。在涉及所公开的NKT样细胞群体的实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45和/或TCRα/β。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞不表达CD4。

[0125] 在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达TCRγ/δ和iTCR。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ和iTCR。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD45、TCRγ/δ和iTCR。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD45、CD56、TCRγ/δ和iTCR。

[0126] 在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD16。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达TCRγ/δ、iTCR和CD16。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR和CD16。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD45、TCRγ/δ、iTCR和CD16。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD45、CD56、TCRγ/δ、iTCR和CD16。

[0127] 在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD16和NKp44。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达TCRγ/δ、iTCR和CD16。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16和NKp44。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD45、TCRγ/δ、iTCR、CD16和NKp44。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD45、CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16和NKp44。

[0128] 在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、

95％、96％、97％、98％或99％的所述细胞表达TCRα/β。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％或99％的所述细胞表达TCRγ/δ、iTCR和TCRα/β。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％或99％的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR和TCRα/β。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％或99％的所述细胞表达CD45、TCRγ/δ、iTCR和TCRα/β。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％或99％的所述细胞表达CD45、CD56、TCRγ/δ、iTCR和TCRα/β。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％或99％的所述细胞表达CD45、CD56、TCRγ/δ、iTCR、TCRα/β和CD16。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％或99％的所述细胞表达CD45、CD56、TCRγ/δ、iTCR、TCRα/β、CD16和NKp44。

[0129] 在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％或99％的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44和TCRα/β。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％或99％的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD19和CD45。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％或99％的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD19、CD45和TCRα/β。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％或99％的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD8、CD14和CD19。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％或99％的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD8、CD14、CD19和TCRα/β。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％或99％的所述细胞表达CD45、CD56、TCRγ/δ和iTCR。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％或99％的所述细胞表达CD45、CD56、TCRγ/δ、iTCR和TCRα/β。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％或99％的所述细胞表达CD45、CD56、TCRγ/δ、iTCR、TCRα/β和CD8。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％或99％的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR和CD8。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％或99％的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD8和CD3。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％或99％的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、CD34和ICAM3。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征在于至少60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％或99％的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、CD34、ICAM3和NKp44。

[0130] 使用熟练的本领域技术人员熟知的技术,例如酶联免疫吸附测定(ELISA)、磁激活细胞分选(MACS)或流式细胞术技术,可容易地确定细胞上表面蛋白的表达。流式细胞术使用从荧光标记抗体所结合的细胞散射的光性质来鉴定表达目标表面蛋白的细胞。流式细胞

术不仅可确定细胞是否表达目标蛋白质,而且还可基于荧光强度指示细胞所表达的蛋白质的量。在流式细胞术读数中,并且如本文所用:“+”(或“阳性”)指示给定表面蛋白的表达;“-”(或“阴性”)指示不表达给定表面蛋白;并且“+/-”指示给定表面蛋白的双峰表达。诸如“亮”(有时“高”或“++”)、“暗”(有时“低”)和“中等”用于指示特定细胞表面蛋白的相对量。

[0131] CD3

[0132] CD3(分化簇3)是T细胞共受体,其有助于激活细胞毒性T细胞(CD8+初始T细胞)和T辅助细胞(CD4+初始T细胞)。由于CD3是T细胞激活所必需的,因此正在研究靶向CD3的药物(例如单克隆抗体)作为1型糖尿病和其它自身免疫性疾病的免疫抑制剂疗法(例如奥西珠单抗)。本发明的NKT样细胞在激活后失去CD3表达(T细胞激活的已知现象—参见,例如,Valle等人,J Immunol.2015年3月1日;194(5):2117-27);因此,CD3荧光强度(例如细胞是CD3+/暗还是CD3+/亮)可能取决于细胞是否被激活。

[0133] 在一些实施方案中,本公开的NKT样细胞表达CD3。在一些实施方案中,本公开的NKT细胞是CD3+/暗。在涉及本公开的NKT样细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT样细胞可表达CD3。在一些实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT样细胞可以是CD3+/暗。在一些实施方案中,本公开的NKT细胞是CD3+/亮。在一些实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT样细胞可以是CD3+/亮。

[0134] CD4

[0135] CD4(分化簇4)是存在于包括T辅助细胞和单核细胞的免疫细胞表面上的糖蛋白。CD4是T细胞受体(TCR)的共受体,它有助于与抗原呈递细胞通讯,以实现抗原诱导的T细胞激活。CD4的交联可通过Fas配体途径诱导T细胞凋亡。

[0136] 在一些实施方案中,本公开的NKT样细胞不表达CD4。在涉及本公开的NKT样细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT样细胞可不表达CD4。

[0137] CD8

[0138] CD8(分化簇8)是充当T细胞受体(TCR)的共受体的跨膜糖蛋白。它主要在细胞毒性T细胞表面上表达,但也在自然杀伤细胞上表达。在T细胞上,它在T细胞-抗原相互作用和T细胞信号传导中发挥作用。

[0139] 在一些实施方案中,本公开的NKT样细胞表达CD8。在一些实施方案中,本公开的NKT样细胞是CD8+/暗。在一些实施方案中,本公开的NKT样细胞是CD8+/中等。在一些实施方案中,本公开的NKT样细胞是CD8+/亮。在涉及本公开的NKT样细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT样细胞可表达CD8。在一些实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT样细胞可以是CD8+/暗。在一些实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT样细胞可以是CD8+/中等。在一些实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT样细胞可以是CD8+/亮。

[0140] CD14

[0141] CD14(分化簇14)是一种主要由巨噬细胞表达的蛋白质,作为先天免疫系统的一部分。它通过结合脂多糖来帮助检测体内的细菌,并且是第一个被描述的模式识别受体。

[0142] 在一些实施方案中,本公开的NKT样细胞表达CD14。在涉及本公开的NKT样细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT样细胞可表达CD14。

[0143] CD19

[0144] CD19(分化簇19;也称为B淋巴细胞抗原CD19、B淋巴细胞表面抗原B4、T细胞表面抗原Leu-12和CVID3)是一种在所有B谱系细胞中表达的跨膜蛋白。在人类B细胞中,它充当衔接蛋白将细胞质信号传导蛋白募集到细胞膜上,并且还在CD19/CD21复合物中起作用,降低B细胞受体信号传导途径的阈值。

[0145] 在一些实施方案中,本公开的NKT样细胞表达CD19。在涉及本公开的NKT样细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT样细胞可表达CD19。

[0146] CD34

[0147] CD34(分化簇34)是一种细胞表面糖蛋白,其起到细胞间粘附因子的作用并且是T细胞进入淋巴结所必需的。表达CD34的细胞通常作为造血细胞可见于脐带和骨髓中,或可见于真皮间质和附件周围的内皮祖细胞、血管而非淋巴管的内皮细胞(胸膜淋巴管除外)、肥大细胞、树突状细胞亚群体中(其为因子XIIIa阴性)中,以及软组织肿瘤细胞中。

[0148] 在一些实施方案中,本公开的NKT样细胞表达CD34。在涉及本公开的NKT样细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT样细胞可表达CD34。

[0149] CD45

[0150] CD45(分化簇45;也称为蛋白酪氨酸磷酸酶,受体类型;PTPRC)是T细胞和B细胞抗原受体信号传导的重要调控因子,并且是所有白细胞的标志物。CD45表达对于TCR激活T细胞至关重要。CD45可以是CD26的受体。

[0151] 在一些实施方案中,本公开的NKT样细胞表达CD45。在涉及本公开的NKT样细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT样细胞可表达CD45。

[0152] CD45可以是CD45的任何同种型,如CD45RA、CD45RO和/或CD45RABC(也称为CD45R;也称为B220)。

[0153] CD56

[0154] CD56(分化簇56;也称为神经细胞粘附分子,NCAM)是在神经元、神经胶质和骨骼肌的表面上表达的同嗜性结合糖蛋白。CD56表达与自然杀伤细胞相关。

[0155] 在一些实施方案中,本公开的NKT样细胞表达CD56。在涉及本公开的NKT样细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT样细胞可表达CD56。

[0156] ICAM3

[0157] ICAM-3(细胞间粘附分子3;也称为CD50)是由淋巴细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞

和嗜中性粒细胞(以及在细支气管上,以及由淋巴瘤细胞和一些黑素瘤、肉瘤和其它癌细胞)表达。

[0158] 在一些实施方案中,本公开的NKT样细胞表达ICAM3。在涉及本公开的NKT样细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT样细胞可表达ICAM3。

[0159] 主要组织相容性复合物;MHC

[0160] MHC是由Gorer和Snell等人在1936年发现的。他们对小鼠的皮肤移植实验揭示,自我和非自我识别取决于遗传背景。Snell等人提及一组小鼠基因,所述小鼠基因确定自我/非自我作为组织相容性-2(H-2)。MHC的基因组基因座编码称为MHC经典I类和II类分子(抗原)的多态性细胞膜结合糖蛋白,它们通过分别将片段化蛋白质的肽呈递至循环细胞毒性T淋巴细胞和辅助T淋巴细胞来调控免疫应答。经典MHC 1类蛋白已细分为HLA-A、HLA-B和HLA-C(Nakamura等人,2019,其特此以引用的方式整体并入)。在另一方面,HLA-E、HLA-F、HLA-G、MHC I类多肽相关序列A(MICA)和FcRn等被分类为非经典MHC I类。

[0161] MHC经典I类分子在大多数组织中表达,并且它们与b2-微球蛋白非共价缔合,以将细胞内加工的肽抗原(其长度为8-11个氨基酸)呈递给特定CD8+T细胞的T细胞受体,以便诱导它们的激活和/或细胞毒性(Shiina等人2016,其特此以引用的方式整体并入本文)。经加工的肽可来自细胞自身的蛋白质组或来自外来细胞内病原体。成熟树突细胞使用MHC I类系统来呈递源自通过内吞作用捕获的抗原的肽。这个过程称为交叉呈递,在外周淋巴器官中特定T CD8+淋巴细胞的应答起始中起着至关重要的作用(Shiina等人)。此外,MHC经典I类蛋白可充当调控细胞毒性T细胞和自然杀伤细胞的细胞毒性活性的杀伤细胞免疫球蛋白样受体以及在骨髓单核细胞和其它白细胞谱系上表达的白细胞免疫球蛋白样受体的配体。与经典I类抗原相比,经典II类抗原形成专门将淋巴样细胞表面上的外源肽(长度为15-25个氨基酸)呈递给免疫系统的CD4+辅助T淋巴样细胞的异二聚体结构。II类基因表达主要局限于淋巴样细胞,如B细胞、单核细胞、巨噬细胞、内皮细胞、树突细胞和激活的T细胞。MHC II类蛋白被鉴定为HLA-DR、HLA-DP和HLA-DQ。MHC II类基因包括HLA-DRA1、HLA-DQA1、编码α链的HLA-DPA1、HLA-DRB1、HLA-DRB3、HLA-DRB4、HLA-DRB5(HLA-DRB3/4/5)、HLA-DQB1和编码β链的HLA-DPB1。HLA-DRA1与HLA-DRB1或HLA-DRB3/4/5形成异二聚体(Nakamura等人)。类似地,HLA-DQA1和HLA-DPA1也分别与HLA-DQB1和HLA-DPB1缔合。HLA-DR根据抗原组分为由DR1、DR51、DR52、DR53和DR8组成的5个组。DR1和DR8组两者均仅由作为表达基因的DRB1组成。在另一方面,DR51、DR52和DR53组含有共同的DRB1,并且此外由DRB5、DRB3和DRB4(其被认为通过基因复制由DRB1基因产生)组成分别作为表达基因(Nakamura等人)。

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

[0163] HLA复合物的基因座(如HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR、HLA-DQ和HLA-DP)具有许多多态性,因此组合(单倍型)非常大。然而,MHC表现出强连锁不平衡,强连锁不平衡是在多个位点出现等位基因的非随机缔合。MHC区域中的这种连锁不平衡通常导致MHC的每个基因座

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

[0164] 在人类中,MHC经典I类基因密切参与造血干细胞移植后的器官移植排斥和移植物抗宿主病。HLA I类分子与多种自身免疫性疾病以及感染性疾病和药物不良反应之间存在各种关联。除了在细化适应性免疫应答中的重要作用外,MHC I类基因的作用还展示在生殖的各个步骤中,如妊娠维持、配偶选择和亲属识别。MHC也被认为是主要用于性选择和避免近亲繁殖的系统,其中组织相容性起次要作用。MHC I类基因产物还对中枢神经系统发育和可塑性、神经细胞相互作用、突触功能和行为、大脑半球特化以及神经和精神病症具有影响。因此,人MHC I类区域是生物医学上最多样化和最重要的基因组区域之一(Shiina等人)。

[0165] TCR γ/δ

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

[0167] 最常见的人γδ变体是血液中的Vγ9/Vδ2变体,而肿瘤中的Vδ1型γδT细胞与预后相关。还描述了Vδ3变体,以及在CMV感染后降低癌症风险的Vδ2阴性变体。与MHC限制性αβT细胞相比,γδT细胞不需要抗原加工和MHC呈递肽表位,尽管一些可识别MHC Ib类。因此,肿瘤细胞不能通过下调MHC和γδT细胞来逃避检测,因此也具有杀死具有低突变负荷的肿瘤的同等潜力,并且不太可能受到耐药性问题的影响。γδT细胞肿瘤浸润也与存活率和移植物抗宿主病的较低发生率相关。γδT细胞自然地归巢于各种组织以检测肿瘤,并且比αβT细胞更适合同种异体疗法。

[0168] 在一些实施方案中,本公开的NKT样细胞表达TCRγδ。在涉及本公开的NKT样细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT样细胞可表达TCRγδ。所述NKT样细胞可表达包含德尔塔1(δ1)、德尔塔2(δ2)、德尔塔3(δ3)或德尔塔5(δ5)δ链的TCRγ/δ。也就是说,本公开的NKT样细胞可以是δ1、或δ2、或δ3、或δ5阳性的。在涉及本公开的NKT样细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT样细胞可以是δ1、或δ2、或δ3、或δ5阳性的。

[0169] 不变TCR(iTCR)

[0170] 不变TCR(iTCR)是一种高度保守的不变受体,在人类中由Vα24-Jα18连接到Vβ11链组成,并且在小鼠中由优先与Vβ2、Vβ7或Vβ8.2链配对的Vα14-Jα18链组成。iTCR由不变自然杀伤T细胞(iNKT)表达,这是一种独特的先天型T淋巴细胞,具有常规T细胞和自然杀伤细胞的特征。这些细胞直接杀死肿瘤细胞并反式激活树突状细胞(DC)、自然杀伤(NK)细胞以及T细胞和B细胞的抗肿瘤功能。iNKT细胞激活通常需要iTCR与呈递糖脂抗原的CD1d接合。

[0171] 在一些实施方案中,本公开的NKT样细胞表达iTCR。在涉及本公开的NKT样细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT样细胞可表达iTCR。

[0172] TCR α/β

[0173] T细胞受体αβ(TCR α/β;TCRαβ)是由一条α(α)链和一条β(β)链组成的主要TCR异二聚体。

[0174] 在一些实施方案中,本公开的NKT样细胞可以表达TCRα/β。在涉及本公开的NKT样细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT样细胞可表达TCRα/β。

[0175] CD16

[0176] CD16(分化簇16;也称为Fc γ RIII)是存在于激活的自然杀伤细胞上的跨膜蛋白,并且是细胞激活的标志物。

[0177] 在一些实施方案中,本公开的NKT样细胞可表达CD16。在涉及本公开的NKT样细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT样细胞可表达CD16。

[0178] NKp44

[0179] NKp44(也称为分化簇336、天然细胞毒性触发受体2)是在激活的NK细胞上选择性表达的细胞表面受体,并且是细胞激活的标志物。

[0180] 在一些实施方案中,本公开的NKT样细胞表达NKp44。在涉及本公开的NKT样细胞群体的实施方案中,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的NKT样细胞可表达NKp44。

[0181] 本公开的NKT样细胞可以表达CD56、TCR γ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45和/或TCRα/β。本公开的NKT样细胞可以不表达CD4。在一些优选的实施方案中,本公开的NKT样细胞表达CD56、TCR γ/δ和iTCR。在一些优选的实施方案中,本公开的NKT样细胞表达CD16和NKp44。在一些优选的实施方案中,本公开的NKT样细胞表达CD56、TCR γ/δ、iTCR、CD16和NKp44。在一些优选的实施方案中,本公开的NKT样细胞表达CD56、TCR γ/δ、iTCR和TCRα/β。在一些优选的实施方案中,本公开的NKT样细胞表达CD56、TCR γ/δ、iTCR、CD16、NKp44和TCRα/β。在一些实施方案中,本公开的NKT样细胞表达CD56、TCR γ/δ、iTCR、CD16和NKp44,以及CD3、CD8、CD14、CD19、CD45和/或TCRα/β中的一种或多种。在一些实施方案中,本公开的NKT样细胞表达CD56、TCR γ/δ、iTCR、CD16、NKp44和TCRα/β,以及CD3、CD8、CD14、CD19和/或CD45中的一种或多种。

[0182] 在一些特别优选的实施方案中,本公开的NKT样细胞表达CD56、TCR γ/δ和/或iTCR。

[0183] 在涉及本公开的NKT样细胞群体的实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述NKT细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45和/或TCRα/β。在一些此类实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述NKT样细胞不表达CD4。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述NKT样细胞表达CD56、TCRγ/δ和iTCR。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述NKT样细胞表达CD16和NKp44。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述NKT样细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16和NKp44。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述NKT样细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR和TCRα/β。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述NKT样细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44和TCRα/β。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述NKT样细胞表达CD56、TCR γ/δ、iTCR、CD16和NKp44,以及CD3、CD8、CD14、CD19、CD45和/或TCRα/β中的一种或多种。在一些实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述NKT样细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44和TCRα/β,以及CD3、CD8、CD14、CD19和/或CD45中的一种或多种。

[0184] 在一些特别优选的实施方案中,所述NKT样细胞群体的特征可在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述NKT样细胞表达CD56、TCRγ/δ和iTCR。

[0185] γδ T细胞

[0186] γδT细胞表面标志物特征可包括(但不限于)CD3、CD4、CD8、CD69、CD56、CD27、CD40、CD40L、CD45RA、CD45、CD83、CD16、CD16a、CD16b、ICOS、CD161、Fas、CLEC7A/Dectin-1、FasL、E钙粘蛋白、IL-18Rα、IL-23R、NKG2D/CD314、NKG2E、封闭蛋白、TKR2、TRAIL、TCR-Vg9、TCR-Vd2、TCR-Vd1、TCR-Vd3、TCR-pan g/d、NKG2D、单克隆趋化因子受体抗体CCR5、CCR6、CCR7、CXCR3、CXCR4或CXCR5或它们的组合。本发明的NKT样细胞的表面标志物特征可包括这些中的一者/多者。γδT细胞可分泌(包括但不限于)CCL2/JE/MCP-1、CXCL13/BLC/BCA-1、β-防御素2、β-防御素3、α-防御素1、EGF、KGF/FGF-7、FGF-10、GM-CSF、颗粒溶素、颗粒酶A、颗粒酶B、IFN-γ、IGF-I/IGF-1、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-12、IL-12/IL-23p40、IL-12p70、IL-13、IL-17/IL-17A、IL-22、IL-6/IL-6Rα复合物、LAP(TGF-β1)、TGF-β和/或TNF-α。本发明的NKT样细胞可分泌这些中的一者或多者。

[0187] 本公开的NKT样细胞和NKT样细胞群体的特征可在于这些细胞表达CD56、TCRγ/δ和iTCR。虽然可以制造表达TCRγ/δ和iTCR两者的细胞(例如通过用iTCR转导TCRγ/δ阳性细胞),但据作者所知,这些细胞先前尚未被描述为天然存在的(即,无需重组引入这些中的一者或两者)。因此本公开的NKT样细胞是独特的,因为它们是在施用高剂量糖皮质激素后在受试者中天然存在、产生和/或动员的。也就是说,本公开的NKT样细胞是独特的,因为它们表达TCRγ/δ和iTCR两者,而不需要重组表达这些中的一者或两者—并且有利地避免与

使用制造的γδTCR/iTCR细胞系相关的缺点。因此,本公开的分离的NKT样细胞和NKT样细胞群体可以被描述为天然存在的。本公开的细胞和细胞群体尚未经转染、转导或以其它方式遗传修饰以表达TCRγ/δ。本公开的细胞和细胞群体尚未通过将编码TCRγ/δ的核酸引入所述一个或多个细胞中而进行修饰。本公开的细胞和细胞群体尚未经转染、转导或以其它方式遗传修饰以表达iTCR。本公开的细胞和细胞群体尚未通过将编码iTCR的核酸引入所述一个或多个细胞中而进行修饰。在一些实施方案中,本公开的细胞和细胞群体可能尚未经转染、转导或以其它方式遗传修饰以表达TCRα/β。在一些实施方案中,本公开的细胞和细胞群体可能尚未通过将编码TCRα/β的核酸引入到所述一个或多个细胞中而进行修饰。在一些实施方案中,本公开的细胞和细胞群体可能尚未经转染、转导或以其它方式遗传修饰以表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45、TCRα/β、CD34和/或ICAM3。在一些实施方案中,本公开的细胞和细胞群体可能尚未经转染、转导或以其它方式遗传修饰以表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45和/或TCRα/β。在一些实施方案中,本公开的细胞和细胞群体可尚未通过将编码CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45、TCRα/β、CD34和/或ICAM3的核酸引入所述一个或多个细胞中而进行修饰。在一些实施方案中,本公开的细胞和细胞群体可尚未通过将编码CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45和/或TCRα/β的核酸引入所述一个或多个细胞中而进行修饰。在一些实施方案中,本公开的细胞和细胞群体可能尚未经转染、转导或以其它方式遗传修饰以表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45、TCRα/β、CD34或ICAM3。在一些实施方案中,本公开的细胞和细胞群体可能尚未经转染、转导或以其它方式遗传修饰以表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45或TCRα/β。在一些实施方案中,本公开的细胞和细胞群体可尚未通过将编码CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45、TCRα/β、CD34或ICAM3的核酸引入所述一个或多个细胞中而进行修饰。在一些实施方案中,本公开的细胞和细胞群体可尚未通过将编码CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45或TCRα/β的核酸引入所述一个或多个细胞中而进行修饰。在一些实施方案中,本公开的细胞和细胞群体可以从受试者分离。受试者可以是本文别处定义的受试者。在一些实施方案中,本公开的细胞和细胞群体可以从在其中诱导/动员它们的受试者分离。在一些实施方案中,本公开的细胞和细胞群体可以在向受试者施用糖皮质激素后从在其中诱导/动员它们的受试者分离。在一些实施方案中,本公开的细胞和细胞群体可以从受试者中分离,其中它们通过如本文别处公开的方法诱导/动员。在一些实施方案中,本公开的细胞和细胞群体可以通过如本文别处公开的方法产生和分离。

[0188] 本公开上下文中的ICAM3调节剂是结合ICAM3并促进本发明的NKT样细胞的诱导和/或动员的那些。结合ICAM3的ICAM3调节剂可以可替代地称为ICAM3结合分子、ICAM3结合剂等。ICAM3调节剂可以是ICAM3拮抗剂/ICAM3抑制剂,或者可以是ICAM3激动剂/激活剂。

[0189] 此类ICAM3调节剂可包括例如,针对ICAM3或其部分产生的抗ICAM3抗体、ICAM3的小分子调节剂(如ICAM3的激活剂或抑制剂)和结合ICAM3的肽剂/蛋白质。鉴定ICAM3调节剂的合适方式将是本领域技术人员熟知的——例如,抗ICAM3抗体可通过以下方法鉴定,所述方法可包括使抗体分子文库和ICAM3表位接触,并选择所述文库中能够结合所述表位的一个或多个特异性抗体分子。可替代地,可使用采用已知抗ICAM3抗体的竞争结合测定来鉴定

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

[0190] 如上所述,本发明作者发现糖皮质激素受体调节剂(如地塞米松和其它糖皮质激素)结合ICAM3并对ICAM3发挥调节作用的出人意料的能力。因此,在一些实施方案中,ICAM3调节剂可以是糖皮质激素受体(GR)调节剂。在一些实施方案中,ICAM3调节剂可以是糖皮质激素,例如地塞米松或倍他米松。ICAM3调节剂可以是和糖皮质激素例如地塞米松与ICAM3的相同区域结合的分子。ICAM3调节剂可以是通过与ICAM3中的SER31和/或MET49残基相互作用而与ICAM3结合的分子。ICAM3调节剂可以是通过与ICAM3中的THR38、LEU40、LEU56、VAL59和/或ILE65残基相互作用而与ICAM3结合的分子。ICAM3调节剂可以是通过与ICAM3中的PHE21、VAL22、GLU32、LYS33、TRP51和/或ALA52残基相互作用而与ICAM3结合的分子。ICAM3调节剂可以是通过与ICAM3中的SER25、ASN23、GLU37、PHE54和/或GLN75残基相互作用而与ICAM3结合的分子。ICAM3调节剂可以是通过与ICAM3中的PHE21、VAL22、ASN23、SER25、SER31、GLU32、LYS33、GLU37、THR38、LEU40、MET49、TRP51、ALA52、PHE54、LEU56、VAL59、ILE65和/或GLN75残基相互作用而与ICAM3结合的分子。ICAM3调节剂可以是任何分子,诸如抗ICAM3抗体、ICAM3的小分子调节剂(包括ICAM3的激活剂和抑制剂)或结合ICAM3的肽剂/蛋白质,所述分子与糖皮质激素诸如地塞米松竞争与ICAM3结合。ICAM3调节剂可以是抗ICAM3抗体,例如ICR 8.1或其人源化版本。本领域技术人员知道可以确定与ICAM3的相同区域结合的合适技术一例如,通过分子建模或竞争结合测定法。

[0191] 如本文所用,术语糖皮质激素受体(GR)调节剂包括糖皮质激素、糖皮质激素受体激动剂和与糖皮质激素受体结合的任何化合物。诸如糖皮质激素的糖皮质激素受体(GR)调节剂通过激活或阻抑基因表达的膜GR和细胞质GR两者发挥它们的作用。糖皮质激素和GR调节剂的一些合乎需要的淋巴清除作用被认为是通过膜GR或除其基因组效应之外的其它非基因组效应介导的。据报道,糖皮质激素对淋巴细胞水平具有不同的影响,这取决于所施用的糖皮质激素的浓度和治疗的持续时间。一般而言,在通常用于慢性疗法的低剂量下,据报告糖皮质激素使淋巴细胞从外周血重新分布到骨髓中,据报告在中等剂量下糖皮质激素导致白细胞增多,这被认为是白细胞从骨髓、脾脏和胸腺中重新分布到外周血中,并且在高剂量下糖皮质激素通过触发细胞凋亡和坏死性凋亡而对淋巴细胞具有淋巴毒性作用。作用的持续时间也取决于剂量水平;例如Fauci等人(1976)报告单次口服0.24mg/kg地塞米松剂量抑制80％的外周血T和B淋巴细胞,从12小时开始恢复并且到24小时恢复正常水平。本发明作者先前已经证明(在国际专利申请PCT/US2019/054395中),需要3mg/kg或更大的地塞米松急性口服剂量以在施用后24-48小时减少外周血T和B细胞,在给药后约5至14天恢复至基线水平。

[0192] 可用于所公开的方法中的糖皮质激素受体(GR)调节剂包括例如选择性糖皮质激素受体调节剂(SEGRM)和选择性糖皮质激素受体激动剂(SEGRA)。可用于所公开的方法中的糖皮质激素、选择性糖皮质激素受体调节剂和选择性糖皮质激素受体激动剂(SEGRA)是本领域技术人员熟知的。

[0193] 一些此类糖皮质激素包括但不限于地塞米松、含地塞米松的剂、氢化可的松、甲泼尼龙、泼尼松、可的松、布地奈德、倍他米松和倍氯米松。其它糖皮质激素包括泼尼松龙、糠酸莫米松、曲安奈德(Triamcinolone Acetonide)和甲泼尼龙。

[0194] 因此,在本公开方法的一些实施方案中,糖皮质激素受体(GR)调节剂可以是糖皮质激素。在一些此类实施方案中,糖皮质激素可选自由以下组成的组:地塞米松、氢化可的松、甲泼尼龙、泼尼松、泼尼松龙、泼尼立定、可的松、布地奈德、倍他米松、氟米松和倍氯米松。在一些优选的实施方案中,糖皮质激素可选自由以下组成的组:地塞米松、倍他米松和甲泼尼龙。在一些特别优选的实施方案中,糖皮质激素可以是地塞米松或倍他米松。

[0195] 在本公开方法的一些实施方案中,糖皮质激素可选自由以下组成的组:地塞米松碱、地塞米松磷酸钠、半琥珀酸地塞米松、地塞米松琥珀酸钠、琥珀酸地塞米松、异烟酸地塞米松、乙酸地塞米松-21、磷酸地塞米松、磷酸地塞米松-21、乙酸特丁地塞米松、戊酸地塞米松-17、一水合乙酸地塞米松、特戊酸地塞米松、棕榈酸地塞米松、棕榈酸地塞米松-21、二丙酸地塞米松、丙酸地塞米松、无水乙酸地塞米松、苯丙酸地塞米松-21、磺基苯甲酸地塞米松-21、半硫酸地塞米松、硫酸地塞米松、地塞米松beloxil、地塞米松酸、乙呋地塞米松、地塞米松甲酰亚胺、地塞米松培酯、地塞米松21-磷酸二钠盐、甲磺酸地塞米松、亚油酸地塞米松、地塞米松葡糖苷、地塞米松葡糖苷酸、碘醋酸地塞米松、地塞米松氧杂环丁烷酮、羧甲基硫代-地塞米松、地塞米松bisethoximes、地塞米松环氧化物、反亚油酸地塞米松、甲基原戊酸地塞米松、地塞米松精胺、6-羟基地塞米松、三丁基乙酸地塞米松、地塞米松天冬氨酸、地塞米松吡喃半乳糖、盐酸地塞米松、羟基地塞米松、羧基地塞米松、脱氧地塞米松、地塞米松丁氮酮、地塞米松环糊精、二氢地塞米松、氧代地塞米松、丙酰氧基地塞米松、地塞米松galactodie、异烟酸地塞米松、地塞米松磷酸氢二钠、地塞米松醛、特戊酸地塞米松、三癸酸地塞米松、巴豆酸地塞米松、甲磺酸地塞米松、丁基乙酸地塞米松、脱氢地塞米松、地塞米松异硫氰酸基乙基)硫醚、溴乙酸地塞米松、半戊二酸地塞米松、脱氧地塞米松、地塞米松chlorambucilate、地塞米松melphalanate、甲酰氧基地塞米松、丁酸地塞米松、月桂酸地塞米松、乙酸地塞米松以及含有地塞米松形式的任何组合治疗。在一些优选的实施方案中,糖皮质激素是地塞米松碱或地塞米松磷酸钠。

[0196] 在本公开的一些实施方案中,糖皮质激素受体调节剂可以不是上述剂中的一者或多者。

[0197] 在本公开的方法中,糖皮质激素受体(GR)调节剂或ICAM3调节剂以相当于约至少6mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED)的剂量,或以相当于约至少6mg/kg磷酸地塞米松的HED的剂量施用。

[0198] 另一种糖皮质激素或糖皮质激素受体调节剂的等效剂量可使用公开可用的类皮质激素转换算法,优选http://www.medcalc.com快速地且容易地计算。例如,3至12mg/kg地塞米松转换为19至75mg/kg泼尼松。由于泼尼松的生物半衰期是约20小时,而地塞米松的生物半衰期是约36至54小时,所以泼尼松将每24小时以19至75mg/kg之间给药以实现等效生物给药。更具体地,12mg/kg地塞米松剂量对应于将需要每24小时重复给药约2至约3个剂量的75mg/kg泼尼松龙剂量。10mg/kg倍他米松剂量是约12mg/kg地塞米松并且具有与地塞米松相似的药效学(生物)半衰期。

[0199] 本申请实施例中的地塞米松剂量以人体等效剂量(HED)给出。用于计算人体等效剂量(HED)的方法是本领域已知的。例如,FDA的药物评估和研究中心(CDER)在2005年发布了被高度引用的指导文件(美国卫生部CDER,2005),其在所述文件的第7页的表1列出用于基于体表面积将动物剂量转换为HED的既定算法(用于推断物种间剂量的普遍接受的方

法)。作为参考,将表1复制如下。本领域技术人员将理解,如下所述,从以mg/kg为单位的动物剂量,使用表1右侧栏中的标准转换因子容易地计算HED:

[0200] 表1:基于体表面积将动物剂量转换为人体等效剂量

[0201]

		以 mg/kg 为单位的动物剂量转换为以 mg/kg 为单位的 HED[a],选择以下任一种:	
物种	以 mg/kg 为单位的动物剂量转换为以 mg/m^2 为单位的剂量, 乘以 k_m	将动物剂量除以	将动物剂量乘以
人类	37	---	---
儿童(20kg)[b]	25	---	---
小鼠	3	12.3	0.08
仓鼠	5	7.4	0.13
大鼠	6	6.2	0.16
雪貂	7	5.3	0.19
豚鼠	8	4.6	0.22
兔	12	3.1	0.32
狗	20	1.8	0.54
灵长类动物:			
猴子[c]	12	3.1	0.32
狨猴	6	6.2	0.16
松鼠猴	7	5.3	0.19
狒狒	20	1.8	0.54
微型猪	27	1.4	0.73
小型猪	35	1.1	0.95

[0202] [a]假设人类体重为60kg。对于未列出的物种或重量超出标准范围的物种,HED可通过以下公式计算:

[0203] $HED = 以mg/kg为单位的动物剂量 \times (动物体重kg/人体重kg)^{0.33}$。

[0204] [b]此k_m值仅供参考,因为健康儿童很少会成为1期试验的志愿者。

[0205] [c]例如,食蟹猴、恒河猴和短尾猴。

[0206] 在本公开方法的一些实施方案中,糖皮质激素受体(GR)调节剂或ICAM3调节剂以相当于约至少12mg/kg地塞米松碱或磷酸地塞米松的人体等效剂量(HED)的剂量施用。在其它优选的实施方案中,糖皮质激素受体(GR)调节剂以相当于约至少15mg/kg或约至少18mg/kg地塞米松碱或磷酸地塞米松的人体等效剂量(HED)的剂量施用。在其它优选的实施方案中,糖皮质激素受体(GR)调节剂以相当于约至少21mg/kg或至少约24mg/kg地塞米松碱或磷酸地塞米松的人体等效剂量(HED)的剂量施用。在一些优选的实施方案中,糖皮质激素受体(GR)调节剂以相当于约12mg/kg地塞米松碱或磷酸地塞米松的人体等效剂量(HED)、约15mg/kg地塞米松碱或磷酸地塞米松的人体等效剂量(HED)或约18mg/kg地塞米松碱或磷酸地塞米松的人体等效剂量(HED)、或约21mg/kg地塞米松碱或磷酸地塞米松的人体等效剂量(HED)或约24mg/kg地塞米松碱或磷酸地塞米松的人体等效剂量(HED)、或约30mg/kg地塞米

松碱或磷酸地塞米松的人体等效剂量(HED)或约45mg/kg地塞米松碱或磷酸地塞米松的人体等效剂量(HED)的剂量施用。

[0207] 在本公开方法的一些实施方案中,糖皮质激素受体(GR)调节剂或ICAM3调节剂以相当于约至少6-45mg/kg地塞米松碱或磷酸地塞米松的人体等效剂量(HED);约至少15-24mg/kg地塞米松碱或磷酸地塞米松的人体等效剂量(HED);约至少6-12mg/kg地塞米松碱或磷酸地塞米松的人体等效剂量(HED);约至少6-18mg/kg地塞米松碱或磷酸地塞米松的人体等效剂量(HED);或约至少12-15mg/kg地塞米松碱或磷酸地塞米松的人体等效剂量(HED);或约至少18-30mg/kg地塞米松碱或磷酸地塞米松的人体等效剂量(HED);或约至少15-18mg/kg地塞米松碱或磷酸地塞米松的人体等效剂量(HED)的剂量施用。在感染性疾病是由冠状病毒例如COVID-19感染引起的疾病的实施方案中,糖皮质激素受体(GR)调节剂可优选地以相当于约18-30mg/kg之间地塞米松碱或磷酸地塞米松的人体等效剂量(HED)的剂量施用。

[0208] 在本公开的方法中,糖皮质激素受体(GR)调节剂或ICAM3调节剂可作为单一急性剂量施用,或作为在约24、48或72小时时间段内给予的总剂量施用。在一些优选的实施方案中,糖皮质激素受体(GR)调节剂作为单一急性剂量施用。在其它优选的实施方案中,糖皮质激素受体(GR)调节剂作为在约72小时时间段内给予的总剂量施用。

[0209] 在受试者患有、疑似患有或已被诊断患有感染性疾病,如由冠状病毒(如COVID-19)感染引起的疾病的一些实施方案中,糖皮质激素受体调节剂(其可优选地是地塞米松或倍他米松)可作为水性介质中的溶液施用。在一些此类实施方案中,糖皮质激素受体调节剂可以相当于约24mg/ml磷酸地塞米松(20mg/ml地塞米松碱;26.2mg/ml地塞米松磷酸钠)的浓度提供,并以约18至30mg/kg之间地塞米松碱的人体等效剂量(HED)的最终目标剂量在约1至2小时的时间段内通过静脉内(IV)输注施用。在其他实施方案中,糖皮质激素受体调节剂可作为溶解于橙汁或柠檬酸(pH 3.3-4.2)中的地塞米松片剂提供,并以约18至30mg/kg之间地塞米松碱的人体等效剂量(HED)的最终目标剂量口服或通过胃管施用。

[0210] 在本公开的方法的一些实施方案中,所述方法可包括向所述受试者施用一个或多个另外剂量的糖皮质激素受体(GR)调节剂或ICAM3调节剂的步骤。

[0211] 在这种情况下,所述一个或多个剂量在糖皮质激素受体(GR)调节剂或ICAM3调节剂的第一或先前剂量之后施用,并且因此可称为后续或第二、第三、第四等剂量。因此,在一些实施方案中,一个或多个另外剂量可在前一剂量(施用)后约24、48、72、96、120、144或168小时施用。在一些实施方案中,一个或多个另外剂量可在前一剂量(施用)后每约24、48、72、96、120、144或168小时施用。在一些其它实施方案中,一个或多个另外剂量可在前一剂量(施用)后每周一次、每两周一次、每三周一次或每月一次施用。在一些其它实施方案中,一个或多个另外剂量可在前一剂量(施用)后每周两次施用。

[0212] 在一些实施方案中,一个或多个另外剂量可在前一剂量(给药)后约24小时与168小时之间施用。在其它实施方案中,一个或多个另外剂量可在前一剂量(施用)后约24小时与120小时之间、约24小时与72小时之间或约24小时与48小时之间施用。在一些其它实施方案中,一个或多个另外剂量可在前一剂量(施用)后约48小时与168小时之间、约48小时与120小时之间或约48小时与72小时之间施用。在一些其它实施方案中,一个或多个另外剂量可在前一剂量(施用)后约72小时与168小时之间或约72小时与120小时之间施用。

[0213] 在一些实施方案中,后续剂量在初始剂量后7天给予。在一些实施方案中,后续剂量在初始剂量后14天给予。在一些实施方案中,后续剂量在初始剂量后21天给予。

[0214] 在受试者患有、疑似患有或已被诊断患有T细胞淋巴瘤的一些实施方案中,一个或多个另外剂量可每21天或每14天或每5-7天施用,持续可由医生确定的时间段。

[0215] 在受试者患有、疑似患有或已被诊断患有B细胞淋巴瘤的一些实施方案中,一个或多个另外剂量可每21天或每14天或每5-7天施用,持续可由医生确定的时间段。

[0216] 在本公开方法的一些实施方案中,所述方法可进一步包括向所述受试者施用NKT细胞激活剂、T细胞激活剂和/或NK细胞激活剂的步骤。

[0217] 如本文所用,术语NKT细胞激活剂包括触发NKT细胞激活的任何剂或分子。NKT细胞的激活与激活标志物以及Th1和Th2细胞因子和趋化因子的上调相关。可在所公开的方法中使用的NKT细胞激活剂是本领域技术人员众所周知的。

[0218] 一些此类NKT细胞激活剂包括但不限于脂肪因子、瘦素、脂联素、爱帕琳肽(apelin)、趋化素、MCP-1、PAI-1、RBP4、内脂素、网膜素、内脏脂肪特异性丝氨酸蛋白酶抑制因子(vaspin)、颗粒蛋白前体(progranulin)、CTRP-4、细胞因子、IL-1α、IL-1β、IL-1RA、IL-18、IL-33、IL-36α、IL-36β、IL-36γ、IL-36RA、IL-37、IL-38、IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15、IL-21、IFN-α、IFN-β、IFN-δ、IFN-ε、IFN-κ、IFN-τ、IFN-ω、IFN-γ、IFN-λ1、IFN-λ2、IFN-λ3、IFN-λ4、IL-6、IL-11、IL-31、CLCF1、CNTF、瘦素、LIF、OSM、iL-12、IL-17A、IL-17B、IL-17C、IL-17D、IL-17E、IL-17F、4-1BBL、BAFF、CD40LG、CD70、CD95L/CD178、EDA-A1、LTA/TNF-β、TNF-α、TNFSF4、TNFS8、TNFSF10、TNFSF11、TNFSF12、TNFSF13、TNFSF15、TGF-β1、TGF-β2、TGF-β3、IL-13、G-CSF、GM-CSF、CSF1、趋化因子、CXCL1-CXCL17、CC、CCL1-CCL28、CX3CL1、XCL1、XCL2、肌细胞因子、BDNF、核心蛋白聚糖(Decorin)、鸢尾素(irisin)、肌肉生长抑制素、肌联素(myonectin)、骨粘连蛋白、前列腺素、PGI2、PGD2、PGE2、PGF2α、前列胺(Prostamides)、前列胺I2、前列胺D2、前列胺E2、前列胺F2α、病毒因子、生长因子、肾上腺髓质素、血管生成素、自分泌运动因子、骨形态发生蛋白、睫状神经营养因子、白血病抑制因子、M-CSF、EGF、肝配蛋白A1-A5、肝配蛋白B1-B3、促红细胞生成素、FGF1-FGF23、胎牛生长激素、GDNF、神经秩蛋白(neurturin)、persephin、artemin、生长分化因子-9、肝细胞生长因子、肝细胞源性生长因子、胰岛素、胰岛素样生长因子1/2、角质形成细胞生长因子、迁移刺激因子、巨噬细胞刺激蛋白、神经调节蛋白1-4、神经营养蛋白3/4、神经生长因子、胎盘生长因子、血小板源性生长因子、肾胺酶(renalase)、T细胞生长因子、TGF-α、TGF-β、VEGF、Wnt信号传导途径、抗NKG2D抗体或其配体MICA(MHC I类链相关序列A)、DNAM-1接合、4-1BB接合、PD-1抑制剂、NKT激活剂、α-半乳糖基神经酰胺、α-葡萄糖醛酸基神经酰胺、α-半乳糖醛酸神经酰胺、α-半乳糖基二酰基甘油、磷脂酰肌醇-甘露糖苷酶、α-葡萄糖基二酰基甘油、胆固醇α-葡萄糖苷、β-半乳糖基神经酰胺、异球三己糖基神经酰胺、双唾液酸神经节苷脂、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰肌醇、磷脂酰胆碱、屋尘螨提取物、GSL-1、NKp44L、ULBP、病原体源性分子结构、PAMP、LPS、病原体源性RNA、病原体源性DNA、病毒配体、合成α-半乳糖基神经酰胺、KRN7000、PBS44、PBS57、抗炎药、IL-10、IL-19、IL-20、IL-22、IL-24、IL-28A、IL-28B、IL-29。

[0219] 在本公开的一些实施方案中,NKT细胞激活剂可以不是上述剂中的一者或多者。

[0220] 激活后,NKT细胞表达NKp44,降低CD3和CD49b表达,并表达IL-10、TGF-β、IFNγ、IL-4以及若干Th1和Th2细胞因子、人I类限制性T细胞相关分子(CRTAM)、CCL3/MIP1a、CCL4/

MIP1h和CCL5/Rantes和XCL1/淋巴细胞趋化因子、颗粒酶、CD45RO+CD62L+、CD25、IL2Rβ、GM-CSF、IL-2、IL-13、TNFα、IL-17、IL-21、CD44、CD69和IL-22。此外,在肿瘤环境中,NKT细胞排列成行,从四面八方向肿瘤细胞移动。

[0221] 在本公开方法的一些优选实施方案中,NKT细胞激活剂可选自由以下组成的组:αGalCer(α-半乳糖基神经酰胺;α-GalCer)硫苷脂(3-O-磺基半乳糖基神经酰胺;SM4;硫酸半乳糖脑苷脂)或NKT激活抗体,或者可以是穿孔素、一氧化氮、IL-2、干扰素α和γ、TGFβ、TNFα、TNFβ、G-CSF、VEGF、FGF-18、IL-17、CXCL5、CXCR2、CXCR5、CCR4-CCL17/22、CCR8-CCL1、CCR10-CCL28和CXCR3-CCL9/10/11、CCL5、CXCR9、CCL2、CCL3、CCL4、CCL5、CXCL9或CXCL10、干扰素(IFN)γ诱导型趋化因子CXCL9、CXCL10和CXCL11、CCL5和CXCL9、CCR5、IL-32、IL-6、IL-7、IL-10、IL-18、G-CSF、M-CSF、MCP-1、MCP-3、IP-10、MIG或MIP-1α。在本公开方法的一些其它优选的实施方案中,NKT细胞激活剂可以是负载αGalCer的树突细胞或单核细胞。

[0222] 如本文所用,术语T细胞激活剂包括触发T细胞激活的任何剂或分子。T细胞可通过TCR与抗原肽和MHC的相互作用以及通过非抗原特异性共刺激因子(如细胞因子白细胞介素1)而被激活。T细胞的激活与细胞因子和趋化因子产生增加、树突细胞成熟的诱导、巨噬细胞的募集和溶细胞活性增加相关。γδT细胞的激活也可与维持表皮完整性的生长因子(如IGF-1、VEGF和FGF-2)的产生增加以及αβT细胞的抗原呈递相关。T细胞的激活还可与表面标志物表达模式的变化相关。对于γδT细胞,这可包括以下标志物表型中的一者或多者:CD5-、CD4-/CD8-(双阴性)、CD3+、CD69、CD56、CD27、CD45RA+、CD45、TCR-Vg9+、TCR-Vd2+、TCR-Vd1+和/或TCR-Vd3+。可在所公开的方法中使用的T细胞激活剂是本领域技术人员众所周知的。

[0223] 一些此类T细胞激活剂包括但不限于脂肪因子、瘦素、脂联素、爱帕琳肽、趋化素、MCP-1、PAI-1、RBP4、内脂素、网膜素、内脏脂肪特异性丝氨酸蛋白酶抑制因子、颗粒蛋白前体、CTRP-4、细胞因子、IL-1α、IL-1β、IL-1RA、IL-18、IL-33、IL-36α、IL-36β、IL-36γ、IL-36RA、IL-37、IL-38、IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15、IL-21、IFN-α、IFN-β、IFN-δ、IFN-ε、IFN-κ、IFN-τ、IFN-ω、IFN-γ、IFN-λ1、IFN-λ2、IFN-λ3、IFN-λ4、IL-6、IL-11、IL-31、CLCF1、CNTF、瘦素、LIF、OSM、iL-12、IL-17A、IL-17B、IL-17C、IL-17D、IL-17E、IL-17F、4-1BBL、BAFF、CD40LG、CD70、CD95L/CD178、EDA-A1、LTA/TNF-β、TNF-α、TNFSF4、TNFS8、TNFSF10、TNFSF11、TNFSF12、TNFSF13、TNFSF15、TGF-β1、TGF-β2、TGF-β3、IL-13、G-CSF、GM-CSF、CSF1、趋化因子、CXCL1-CXCL17、CC、CCL1-CCL28、CX3CL1、XCL1、XCL2、肌细胞因子、BDNF、核心蛋白聚糖、鸢尾素、肌肉生长抑制素、肌联素、骨粘连蛋白、前列腺素、PGI2、PGD2、PGE2、PGF2α、前列胺、前列胺I2、前列胺D2、前列胺E2、前列胺F2α、病毒因子、生长因子、肾上腺髓质素、血管生成素、自分泌运动因子、骨形态发生蛋白、睫状神经营养因子、白血病抑制因子、M-CSF、EGF、肝配蛋白A1-A5、肝配蛋白B1-B3、促红细胞生成素、FGF1-FGF23、胎牛生长激素、GDNF、神经秩蛋白、persephin、artemin、生长分化因子-9、肝细胞生长因子、肝细胞源性生长因子、胰岛素、胰岛素样生长因子1/2、角质形成细胞生长因子、迁移刺激因子、巨噬细胞刺激蛋白、神经调节蛋白1-4、神经营养蛋白3/4、神经生长因子、胎盘生长因子、血小板源性生长因子、肾胺酶、T细胞生长因子、TGF-α、TGF-β、VEGF、Wnt信号传导途径、NKT激活剂、α-半乳糖基神经酰胺、α-葡萄糖醛酸基神经酰胺、α-半乳糖醛酸神经酰胺、α-半乳糖基二酰基甘油、磷脂酰肌醇-甘露糖苷酶、α-葡萄糖基二酰基甘油、胆固醇α-葡萄糖苷、β-半乳糖基神经酰

胺、异球三己糖基神经酰胺、双唾液酸神经节苷脂、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰肌醇、磷脂酰胆碱、屋尘螨提取物、GSL-1、NKp44L、ULBP、病原体源性分子结构、PAMP、LPS、病原体源性RNA、病原体源性DNA、病毒配体、合成α-半乳糖基神经酰胺、KRN7000、PBS44、PBS57、抗炎药、IL-10、IL-19、IL-20、IL-22、IL-24、IL-28A、IL-28B、IL-29。

[0224] 在本公开方法的一些优选实施方案中,所述T细胞激活剂可选自由以下组成的组:唑来膦酸盐、美伐他汀或T细胞激活抗体。

[0225] 在本公开的一些实施方案中,T细胞激活剂可以不是上述剂中的一者或多者。

[0226] 如本文所用,术语NK细胞激活剂包括触发NK细胞激活的任何剂或分子。

[0227] 一些此类NK细胞激活剂包括但不限于脂肪因子、瘦素、脂联素、爱帕琳肽、趋化素、MCP-1、PAI-1、RBP4、内脂素、网膜素、内脏脂肪特异性丝氨酸蛋白酶抑制因子、颗粒蛋白前体、CTRP-4、细胞因子、IL-1α、IL-1β、IL-1RA、IL-18、IL-33、IL-36α、IL-36β、IL-36γ、IL-36RA、IL-37、IL-38、IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15、IL-21、IFN-α、IFN-β、IFN-δ、IFN-ε、IFN-κ、IFN-τ、IFN-ω、IFN-γ、IFN-λ1、IFN-λ2、IFN-λ3、IFN-λ4、IL-6、IL-11、IL-31、CLCF1、CNTF、瘦素、LIF、OSM、iL-12、IL-17A、IL-17B、IL-17C、IL-17D、IL-17E、IL-17F、4-1BBL、BAFF、CD40LG、CD70、CD95L/CD178、EDA-A1、LTA/TNF-β、TNF-α、TNFSF4、TNFS8、TNFSF10、TNFSF11、TNFSF12、TNFSF13、TNFSF15、TGF-β1、TGF-β2、TGF-β3、IL-13、G-CSF、GM-CSF、CSF1、趋化因子、CXCL1-CXCL17、CC、CCL1-CCL28、CX3CL1、XCL1、XCL2、肌细胞因子、BDNF、核心蛋白聚糖、鸢尾素、肌肉生长抑制素、肌联素、骨粘连蛋白、前列腺素、PGI2、PGD2、PGE2、PGF2α、前列胺、前列胺I2、前列胺D2、前列胺E2、前列胺F2α、病毒因子、生长因子、肾上腺髓质素、血管生成素、自分泌运动因子、骨形态发生蛋白、睫状神经营养因子、白血病抑制因子、M-CSF、EGF、肝配蛋白A1-A5、肝配蛋白B1-B3、促红细胞生成素、FGF1-FGF23、胎牛生长激素、GDNF、神经秩蛋白、persephin、artemin、生长分化因子-9、肝细胞生长因子、肝细胞源性生长因子、胰岛素、胰岛素样生长因子1/2、角质形成细胞生长因子、迁移刺激因子、巨噬细胞刺激蛋白、神经调节蛋白1-4、神经营养蛋白3/4、神经生长因子、胎盘生长因子、血小板源性生长因子、肾胺酶、T细胞生长因子、TGF-α、TGF-β、VEGF、Wnt信号传导途径、NKT激活剂、α-半乳糖基神经酰胺、α-葡萄糖醛酸基神经酰胺、α-半乳糖醛酸神经酰胺、α-半乳糖基二酰基甘油、磷脂酰肌醇-甘露糖苷酶、α-葡萄糖基二酰基甘油、胆固醇α-葡萄糖苷、β-半乳糖基神经酰胺、异球三己糖基神经酰胺、双唾液酸神经节苷脂、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰肌醇、磷脂酰胆碱、屋尘螨提取物、GSL-1、NKp44L、ULBP、病原体源性分子结构、PAMP、LPS、病原体源性RNA、病原体源性DNA、病毒配体、合成α-半乳糖基神经酰胺、KRN7000、PBS44、PBS57、抗炎药、IL-10、IL-19、IL-20、IL-22、IL-24、IL-28A、IL-28B、IL-29。

[0228] 在本公开方法的一些优选实施方案中,所述NK细胞激活剂可选自由以下组成的组:IL-2、IL-12、IL-15、IL-18、IL-21或NK细胞激活抗体。

[0229] 在本公开的一些实施方案中,NK细胞激活剂可以不是上述剂中的一者或多者。

[0230] 在本公开方法的一些实施方案中,NKT细胞激活剂、T细胞激活剂和/或NK细胞激活剂可在施用糖皮质激素受体(GR)调节剂或ICAM3调节剂剂量的1、3、24、48、72、96、120、144或168小时内施用。在一些优选的实施方案中,NKT细胞激活剂、T细胞激活剂和/或NK细胞激活剂可在施用糖皮质激素受体(GR)调节剂或ICAM3调节剂剂量后1、3或48小时内或约1、3或48小时施用。在一些特别优选的实施方案中,NKT细胞激活剂、T细胞激活剂和/或NK细胞激

活剂可在施用糖皮质激素剂量后1、3或48小时内或约1、3或48小时施用。

[0231] 术语“受试者”和“患者”在本文中可互换使用,并且是指人或动物。在本公开方法的一些实施方案中,受试者可以是哺乳动物。在一些优选的实施方案中,受试者可以是任何性别或种族的人。在一些实施方案中,人是成年人。在本公开方法的一些实施方案中,受试者可以是健康受试者,如健康的成年人受试者。在此上下文中,健康受试者是未罹患疾病的受试者。优选地,受试者是人或具有人源化免疫系统的哺乳动物受试者,诸如人免疫系统(HIS)小鼠。最优选地,受试者是人。

[0232] 在本公开方法的一些实施方案中,受试者可患有、疑似患有或已被诊断患有选自由以下组成的组的疾病:癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病(也称为微生物疾病)。

[0233] 如本文所用,“癌症”是指以异常细胞不受控制的生长为特征的疾病。癌细胞可局部地扩散或通过血流和淋巴系统扩散至身体的其它部分。本文描述了各种癌症的实例,包括但不限于乳腺癌、前列腺癌、卵巢癌、宫颈癌、皮肤癌、胰腺癌、结直肠癌、肾癌、肝癌、脑癌、淋巴瘤、白血病、肺癌等。术语“肿瘤”和“癌症”在本文中可互换使用,例如,两个术语均涵盖实体和液体(例如扩散或循环)肿瘤。如本文所用,术语“癌症”或“肿瘤”包括恶变前以及恶性癌症和肿瘤。

[0234] 在本公开的一些实施方案中,癌症可以是:唇部恶性肿瘤、扁桃体恶性肿瘤、舌恶性肿瘤、牙龈恶性肿瘤、口腔恶性肿瘤、腮腺恶性肿瘤、唾液腺恶性肿瘤、咽恶性肿瘤、食道恶性肿瘤、胃恶性肿瘤、小肠恶性肿瘤、结肠恶性肿瘤、直肠乙状结肠连接部恶性肿瘤、直肠恶性肿瘤、肛门恶性肿瘤、肝恶性肿瘤、胆囊恶性肿瘤、胆道恶性肿瘤、胰腺恶性肿瘤、肠道恶性肿瘤、脾恶性肿瘤、鼻腔和中耳恶性肿瘤、副鼻窦恶性肿瘤、喉恶性肿瘤、气管恶性肿瘤、支气管和肺恶性肿瘤、胸腺恶性肿瘤、心脏、纵隔和胸膜恶性肿瘤、呼吸系统和胸内器官中的部位的恶性肿瘤、骨骼和四肢关节软骨的恶性肿瘤、颅骨和面部骨骼的恶性肿瘤、脊柱恶性肿瘤、肋骨、胸骨和锁骨恶性肿瘤、骨盆骨、骶骨和尾骨恶性肿瘤、皮肤恶性黑素瘤、唇部恶性黑素瘤、眼睑(包括眼角)恶性黑素瘤、耳朵和外耳道恶性黑素瘤、面部恶性黑素瘤、肛周皮肤恶性黑素瘤、乳房皮肤恶性黑素瘤、四肢(包括肩部)恶性黑素瘤、梅克尔细胞癌、唇部皮肤基底细胞癌、唇部皮肤鳞状细胞癌、皮肤/眼睑(包括眼角)的其它和未指明的恶性肿瘤、皮肤/耳朵和外耳道恶性肿瘤、面部皮肤/和未指明部位的其它和未指明恶性肿瘤、面部其它和未指明部位的皮肤基底细胞癌、面部皮肤和未指明部位的鳞状细胞癌、头皮和颈部皮肤基底细胞癌、头皮和颈部皮肤鳞状细胞癌、躯干皮肤基底细胞癌、肛周皮肤基底细胞癌、乳房皮肤基底细胞癌、躯干皮肤鳞状细胞癌、肛周皮肤鳞状细胞癌、乳房皮肤鳞状细胞癌、躯干其它部位的皮肤鳞状细胞癌、皮肤/四肢(包括肩部)的其它和未指明的恶性肿瘤、皮肤/四肢(包括肩部)基底细胞癌、皮肤/四肢(包括肩部)鳞状细胞癌、四肢(包括臀部)皮肤基底细胞癌、四肢(包括臀部)皮肤鳞状细胞癌、间皮瘤、卡波济氏肉瘤、周围神经和自主神经系统恶性肿瘤、腹膜后和腹膜恶性肿瘤、其它结缔组织和软组织恶性肿瘤、胸部结缔组织和软组织恶性肿瘤、腹部结缔组织和软组织恶性肿瘤、骨盆结缔组织和软组织恶性肿瘤、未指明的躯干结缔组织和软组织恶性肿瘤、结缔组织和软组织重叠部位的恶性肿瘤、未指明的结缔组织和软组织恶性肿瘤、胃肠道间质肿瘤、乳房恶性肿瘤、外阴恶性肿瘤、阴道恶性肿瘤、子宫颈恶性肿瘤、子宫体恶性肿瘤、部位未指明的子宫恶性肿瘤、卵巢恶性肿瘤、其它和未指明的女性生殖器官恶性肿瘤、胎盘恶性肿瘤、阴茎恶性肿瘤、前列腺恶性肿瘤、睾

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

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

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

[0235] 在本公开的一些实施方案中,癌症可以不是上述癌症之一。

[0236] 在本公开的一些优选的实施方案中,癌症可选自由以下组成的组:淋巴瘤;鳞状细胞癌(如上皮鳞状细胞癌);肺癌,包括小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肺腺癌和肺鳞状细胞癌;腹膜癌;肝细胞癌;胃部癌或胃癌,包括胃肠癌;胰腺癌;胶质母细胞瘤;宫颈癌;卵巢癌;肝癌;膀胱癌;肝细胞瘤;乳腺癌;结肠癌;直肠癌;结肠直肠癌;子宫内膜癌或子宫癌;唾液腺癌;肾脏癌或肾癌;前列腺癌;外阴癌;甲状腺癌;肝癌;肛门癌;阴茎癌以及头颈癌。在本公开的一些特别优选的实施方案中,癌症可以是淋巴瘤。在本公开的更特别优选的实施方案中,癌症可以是B细胞淋巴瘤或T细胞淋巴瘤。在本公开的一些特别优选的实施方案中,癌症可以是非霍奇金淋巴瘤。在本公开的一些特别优选的实施方案中,癌症可以是伯基特淋巴瘤、T细胞急性淋巴细胞白血病(T-ALL)、B细胞急性淋巴细胞白血病(B-ALL)或弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)。在其它优选的实施方案中,癌症可以是移植后淋巴组织增生性病症。在本公开的一些其它特别优选的实施方案中,癌症可以是实体瘤癌症。

[0237] 在其中对患有、疑似患有或已被诊断患有癌症的受试者实施本公开的方法的实施方案中,通过这些方法产生的NKT样细胞可治疗癌症。在本文中,“治疗”意指在受试者中发挥有益的治疗效果,所述有益的治疗效果可以是源自本公开的方法的任何总体临床益处。

这种总体临床益处可以是以下中的任一者,例如:延长的存活期、部分或完全疾病缓解(例如,如通过骨髓成髓细胞和/或细胞系正常成熟%所评估)、疾病进展减慢或不存在(例如,如通过骨髓成髓细胞%的变化所评估)、肿瘤缩小(例如,肿瘤体积减小5%、10%、20%、30%、40%或更多)、肿瘤负荷降低(例如,肿瘤负荷降低5%、10%、20%、30%、40%或更多)、肿瘤增大减慢或不存在、肿瘤负荷增加减慢或不存在、生活质量改善(例如,如使用健康相关的生活质量问卷如癌症疗法功能评估(FACT)问卷所评估)、无进展存活期、总体存活期、血液学改善(例如:血液血红蛋白、血小板计数和/或嗜中性粒细胞计数增加)、骨髓应答(例如:骨髓具有≤5%成髓细胞;骨髓成髓细胞减少30%、40%、50%或更多;不存在循环成髓细胞和具有Auer棒的成髓细胞;不存在髓外疾病)、血液学恢复(例如:外周血中≥11g/dL血红蛋白,≥100x109/L血小板,和/或≥1x109/L嗜中性粒细胞)、遗传标记(例如CEBPA、NPM1或FLT3)的阴性应答,或任何其它积极患者结果。

[0238] 总体临床益处可以是“抗肿瘤效应”。如本文所用,“抗肿瘤效应”是指可呈现为肿瘤体积减小、肿瘤细胞数量减少、肿瘤细胞增殖减少、转移的数量减少、总体或无进展存活增加、预期寿命增加或与肿瘤相关的各种生理症状的改善的生物效应。抗肿瘤效应还可指预防肿瘤发生,例如疫苗。用于确定肿瘤体积/负荷的合适方法是本领域技术人员熟知的,例如,使用:计算机断层摄影术(CT)或磁共振成像(MRI)成像技术;X射线成像,例如乳房X线摄影术;超声成像;核成像,例如正电子发射断层摄影术(PET)、PET/CT扫描、骨扫描、镓扫描或间碘苯甲胍(MIBG)扫描;生物发光成像(BLI);荧光成像(FLI);BD ToF(基于红外的3D飞行时间相机)成像。

[0239] 因此,在一些实施方案中,本公开的NKT样细胞可通过肿瘤浸润来治疗癌症。在一些实施方案中,本公开的NKT样细胞可通过释放免疫激活细胞因子来治疗癌症。在一些实施方案中,本公开的NKT样细胞可吞噬和杀死受试者中的癌细胞。在一些实施方案中,本公开的NKT样细胞促进其它免疫细胞浸润到肿瘤中。在一些实施方案中,本公开的NKT样细胞通过CD1d指导的细胞凋亡直接杀死癌细胞。

[0240] 在一些实施方案中,本公开的NKT样细胞通过诱导细胞凋亡,例如通过表达接合靶细胞上的死亡受体的配体而直接杀死癌细胞。在一些实施方案中,本公开的NKT样细胞可摄取或吞噬受试者中的癌细胞。在一些实施方案中,NKT样细胞可分泌杀死癌细胞的细胞毒性分子。在一些实施方案中,NKT样细胞可以通过TCRγ/δ和不变TCR(iTCR)两者的双特异性攻击来治疗癌症。

[0241] 如本文所用的“自身免疫性疾病”是指由异常免疫状态引起的自身免疫性病症和其它疾病,其中免疫系统异常攻击受试者自身的成分。(在健康受试者中,免疫系统通过建立对受试者自身成分的耐受性来避免破坏性自身免疫反应)。各种自身免疫性疾病的实例在本文描述并且包括但不限于乳糜泻、1型糖尿病、格雷夫斯病、炎症性肠病、暂时性骨质疏松症、多发性硬化症、银屑病、类风湿性关节炎和系统性红斑狼疮。

[0242] 自身反应性免疫细胞表达高水平的磷酸抗原,所述磷酸抗原是含二磷酸酯的代谢物,应激细胞和微生物如分枝杆菌、大肠杆菌和疟原虫也是如此,特别是由(E)-4-羟基-3-甲基-丁-2-烯基焦磷酸酯(HMB-PP)产生的磷酸抗原。人类不产生HMB-PP。但大多数革兰氏阴性细菌确实产生它,包括结核分枝杆菌、牛分枝杆菌、艰难梭菌、单核细胞增生性李斯特菌、疟原虫和刚地弓形虫以及日本血吸虫。γδT细胞/受体对HMB-PP、唑来膦酸盐和焦磷酸

异戊烯酯(IPP)、分枝酸阿拉伯半乳聚糖肽聚糖(mAGP)和异丁胺(IBA)非常敏感。嗜乳脂蛋白家族成员,如BTN2A1、BTN3A1、BTNL3、BTNL8、BTNL1、BTNL6、Skint1、Skint2在磷酸抗原的γδT细胞识别中起重要作用。外周血单核细胞(PBMC)的氨基双膦酸盐刺激也可激活γδT细胞受体。IL-18可增强γδT细胞受体对磷酸抗原的应答。

[0243] 在本公开的一些实施方案中,自身免疫性疾病可以是:过敏、哮喘、移植物抗宿主病(GvHD)、类固醇抗性GvHD、贲门失弛缓症、艾迪生氏病(Addison's disease)、成人斯蒂尔氏病(Still's disease)、无丙种球蛋白血症、斑秃、脱发、暂时性骨质疏松症、淀粉样变性、强直性脊柱炎、抗GBM/抗TBM肾炎、抗磷脂综合征、自身免疫性血管性水肿、自身免疫性自主神经功能障碍、自身免疫性脑脊髓炎、自身免疫性肝炎、自身免疫性内耳病(AIED)、自身免疫性心肌炎、自身免疫性卵巢炎、自身免疫性睾丸炎、自身免疫性胰腺炎、自身免疫性视网膜病变、自身免疫性荨麻疹、轴突和神经元神经病变(AMAN)、巴洛氏病(Balódisease)、白塞氏病(Behcet's disease)、良性粘膜类天疱疮、大疱性类天疱疮、卡斯尔曼氏病(CD)、乳糜泻、查加斯氏病(Chagas disease)、慢性炎症性脱髓鞘性多发性神经病(CIDP)、慢性复发性多灶性骨髓炎(CRMO)、查格-施特劳斯综合征(Churg-Strauss syndrome)(CSS)或嗜酸性肉芽肿病(EGPA)、瘢痕性类天疱疮、柯根氏综合征(Cogan's syndrome)、冷凝集素病、先天性心脏传导阻滞、柯萨奇氏心肌炎(Coxsackie myocarditis)、CREST综合征、克罗恩氏病、疱疹样皮炎、皮肌炎、德维克氏病(Devic's disease)(视神经脊髓炎)、盘状狼疮、德雷斯勒氏综合征(Dressler's syndrome)、子宫内膜异位症、嗜酸性食管炎(EoE)、嗜酸性筋膜炎、结节性红斑、原发性混合型冷球蛋白血症、埃文斯氏综合征(Evans syndrome)、纤维肌痛、纤维化肺泡炎、巨细胞动脉炎(颞动脉炎)、巨细胞心肌炎、肾小球肾炎、古德帕斯彻氏综合征(Goodpasture's syndrome)、肉芽肿性多血管炎、格雷夫斯氏病(Graves'disease)、格林-巴利综合征(Guillain-Barre syndrome)、桥本氏甲状腺炎(Hashimoto's thyroiditis)、溶血性贫血、亨-舍二氏紫癜(Henoch-Schonlein purpura)(HSP)、妊娠疱疹或妊娠类天疱疮(PG)、化脓性汗腺炎(HS)(反常性痤疮)、低丙种球蛋白血症、IgA肾病、IgG4相关硬化性疾病、免疫性血小板减少性紫癜(ITP)、包涵体肌炎(IBM)、间质性膀胱炎(IC)、幼年型关节炎、幼年型糖尿病(1型糖尿病)、幼年型肌炎(JM)、川崎病、兰伯特-伊顿氏综合征(Lambert-Eaton syndrome)、白细胞破碎性血管炎、扁平苔藓、硬化性苔藓、木样结膜炎、线性IgA疾病(LAD)、狼疮、慢性莱姆病(Lyme disease chronic)、梅尼埃氏病(Meniere's disease)、显微镜下多血管炎(MPA)、混合型结缔组织病(MCTD)、莫伦氏溃疡(Mooren's ulcer)、穆-哈二氏病(Mucha-Habermann disease)、多灶性运动神经病(MMN)或MMNCB、多发性硬化症、重症肌无力、肌炎、嗜睡症、新生儿狼疮、视神经脊髓炎、嗜中性粒细胞减少症、眼瘢痕性类天疱疮、视神经炎、复发性风湿病(PR)、PANDAS、副肿瘤性小脑变性(PCD)、阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)、帕罗二氏综合征(Parry Romberg syndrome)、睫状体扁平部炎(周边葡萄膜炎)、帕森纳-特纳综合征(Parsonnage-Turner syndrome)、天疱疮、周围神经病变、静脉周围脑脊髓炎、恶性贫血(PA)、POEMS综合征、结节性多动脉炎、I型、II型、III型多腺体综合征、风湿性多肌痛、多发性肌炎、心肌梗死后综合征、心包切开术后综合征、原发性胆汁性肝硬化、原发性硬化性胆管炎、孕酮型皮炎、银屑病、银屑病性关节炎、纯红细胞再生障碍(PRCA)、坏疽性脓皮病、雷诺现象、反应性关节炎、反射性交感神经营养不良、复发性多软骨炎、不宁腿综合征(RLS)、腹膜后纤维化、风湿热、类风湿性关节炎、结节病、施密特氏综合征

(Schmidt syndrome)、巩膜炎、硬皮病、休格连氏综合征(Sjögren's syndrome)、精子和睾丸自身免疫、僵人综合征(SPS)、亚急性细菌性心内膜炎(SBE)、苏萨克氏综合征(Susac's syndrome)、交感性眼炎(SO)、高安氏动脉炎(Takayasu's arteritis)、颞动脉炎/巨细胞动脉炎、血小板减少性紫癜(TTP)、托洛萨-亨特氏综合征(Tolosa-Hunt syndrome)(THS)、横贯性脊髓炎、1型糖尿病、溃疡性结肠炎(UC)、未分化型结缔组织病(UCTD)、葡萄膜炎、血管炎、白癜风、伏格特-小柳-原田病(Vogt-Koyanagi-Harada Disease)、噬血细胞性淋巴组织细胞增生症、多发性骨髓瘤、过敏原特异性免疫治疗、常染色体显性单倍型不足、前骨间神经综合症、查格-施特劳斯综合征(Churg-Strauss syndrome)、系统性血管炎、慢性移植物抗宿主病、眼阵挛-肌阵挛综合征、坏死性自身免疫性肌病(NAM)、肺肉瘤样癌、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症(WM)、生育能力、白塞氏病、斑秃(AA)、慢加急性肝衰竭、黑素瘤、'机化性细支气管炎综合征'或脑炎。在一些实施方案中,自身免疫性疾病可以是:类风湿性关节炎、风湿热、多发性硬化症、实验性自身免疫性脑脊髓炎、银屑病、葡萄膜炎、糖尿病、系统性红斑狼疮(SLE)、狼疮性肾炎、湿疹、硬皮病、多肌炎/硬皮病、多肌炎/皮肌炎、溃疡性直肠炎、严重联合免疫缺陷(SCID)、迪格奥尔格综合征(DiGeorge syndrome)、共济失调-毛细血管扩张症、季节性过敏、常年性过敏、食物过敏、过敏性反应、肥大细胞增多症、过敏性鼻炎、特应性皮炎、帕金森氏症、阿尔茨海默氏症、脾机能亢进、白细胞粘附缺陷、X连锁淋巴增生疾病、X-连锁无丙种球蛋白血症、选择性免疫球蛋白A缺乏症、高IgM综合征、HIV、自身免疫性淋巴增生综合征、维斯科特-奥尔德里奇综合征(Wiskott-Aldrich syndrome)、慢性肉芽肿病、常见变异型免疫缺陷病(CVID)、高免疫球蛋白E综合征、桥本氏甲状腺炎、急性特发性血小板减少性紫癜、慢性特发性血小板减少性紫癜、皮肌炎、西登哈姆舞蹈病(Sydenham's chorea)、重症肌无力、多腺体综合征、大疱性类天疱疮、亨-舍二氏紫癜、链球菌感染后肾炎、结节性红斑、多形性红斑、gA肾病、高安氏动脉炎、艾迪生氏病、结节病、溃疡性结肠炎、结节性多动脉炎、强直性脊柱炎、古德帕斯彻氏综合征、血栓闭塞性脉管炎、休格连氏综合征、原发性胆汁性肝硬化、桥本氏甲状腺炎、甲状腺毒症、慢性活动性肝炎、多软骨炎、寻常天疱疮、韦格纳氏肉芽肿病、膜性肾病、肌萎缩性侧索硬化症、脊髓痨(tabesdorsalis)、巨细胞动脉炎、多肌痛、恶性贫血、急进性肾小球肾炎、银屑病、纤维化肺泡炎或癌症。

[0244] 在本公开的一些实施方案中,自身免疫性疾病可以不是上述自身免疫性疾病之一。

[0245] 在本公开的一些优选的实施方案中,自身免疫性疾病可选自由以下组成的组:多发性硬化症、系统性硬化症、肌萎缩性侧索硬化症、1型糖尿病(T1D)、硬皮病、天疱疮和狼疮。在本公开的一些其它优选的实施方案中,自身免疫性疾病可选自由以下组成的组:移植物抗宿主病(GvHD)和过敏性病症如哮喘。在本公开的一些特别优选的实施方案中,自身免疫性疾病可以是1型糖尿病(T1D)。

[0246] 在其中对患有、疑似患有或已被诊断患有自身免疫性疾病的受试者实施本公开的方法的实施方案中,通过这些方法产生的NKT样细胞可治疗自身免疫性疾病。在本文中,"治疗"意指在受试者中发挥有益的治疗效果,所述有益的治疗效果可以是源自本公开的方法的任何总体临床益处。这种总体临床益处可以是以下中的任一者,例如:疲劳减轻、肌肉酸痛减轻、肿胀和发红减轻、低热减少、精神不易集中减少、手和脚和手臂或腿麻痹和刺痛感减少、排尿减少、脱发减少、皮疹减少、恢复正常血糖、C肽增加、伤口愈合改善、腹泻减少、肌

肉痉挛减少、肌肉张力和控制改善、皮疹或皮肤上的鳞状斑块或变色减少、体重维持改善、肌肉或关节疼痛减轻、消化道舒适度改善、正常心率、焦虑减少、扩展残疾状态量表(EDSS)评分降低、通过钆增强MRI测量的脑中的独特活动性病变减少。

[0247] 在一些实施方案中,本公开的NKT样细胞可通过直接杀死自身反应性T细胞和/或B淋巴细胞、增加Treg:T淋巴细胞比率、抑制自身反应性T和/或B淋巴细胞的活性、减少炎症或减少自身反应性淋巴细胞的运输来治疗自身免疫性疾病。

[0248] 如本文所用的“感染性疾病”(或“微生物疾病”)是指由诸如病毒、细菌或真菌的感染因子(病原体)感染受试者的身体而引起的疾病或病症。在本公开的一些实施方案中,感染性疾病可以是:不动杆菌感染(鲍氏不动杆菌)、放线菌病(以色列放线菌、戈氏放线菌和丙酸丙酸盐杆菌)、非洲睡眠病或非洲锥虫病(布氏锥虫)、AIDS(获得性免疫缺陷综合症)(人类免疫缺陷病毒)、阿米巴病(溶组织内阿米巴)、无形体病(无形体属物种)、管圆线虫病(管圆线虫)、异尖线虫病(异尖线虫)、炭疽(炭疽杆菌)、溶血隐秘杆菌感染(溶血隐秘杆菌)、阿根廷出血热(胡宁病毒)、蛔虫病(蛔虫)、曲霉病(曲霉属物种)、星状病毒感染(星状病毒科)、巴贝西虫病(巴贝西虫物种)、蜡样芽孢杆菌感染(蜡样芽孢杆菌)、细菌性肺炎(多种细菌)、细菌性阴道病(细菌性阴道病微生物群的列表)、拟杆菌感染(拟杆菌属物种)、小袋虫病(结肠小袋纤毛虫)、巴尔通体病(巴尔通体属)、贝里斯蛔虫感染(贝里斯蛔虫属物种)、BK病毒感染(BK病毒)、黑色毛结节病(何德毛结节菌)、芽囊原虫病(芽囊原虫属物种)、芽生菌病(皮炎芽生菌)、玻利维亚出血热(马丘波病毒)、肉毒中毒(和婴儿型肉毒中毒)(肉毒杆菌;注意:肉毒中毒不是由肉毒杆菌感染,而是由摄入肉毒杆菌毒素引起的)、巴西出血热(萨比亚病毒)、布鲁氏菌病(布鲁氏菌物种)、黑死病(细菌肠杆菌科)、伯克霍尔德氏菌感染(通常洋葱伯克霍尔德氏菌和其它伯克霍尔德氏属物种)、布路里溃疡(溃疡分枝杆菌)、杯状病毒感染(诺如病毒和札幌病毒)(杯状病毒科)、弯曲杆菌病(弯曲杆菌属物种)、念珠菌病(Candidiasis)(念珠菌病(Moniliasis);鹅口疮)(通常白色念珠菌和其它念珠菌属物种)、毛细线虫病(由菲律宾毛细线虫引起的肠道疾病、由肝毛细线虫引起的肝脏疾病和由嗜气毛细线虫引起的肺部疾病)、卡里翁氏病(杆菌状巴尔通体)、猫抓病(汉氏巴尔通体)、蜂窝组织炎(通常A群链球菌和葡萄球菌)、查加斯病(美洲锥虫病)(克氏锥虫)、软性下疳(杜克雷嗜血杆菌)、水痘(水痘-带状疱疹病毒(VZV))、基孔肯雅病(甲病毒属)、衣原体(沙眼衣原体)、肺炎嗜衣原体感染(台湾急性呼吸道病原体或TWAR)(肺炎嗜衣原体)、霍乱(霍乱弧菌)、着色芽生菌病(通常裴氏着色真菌)、壶菌病(蛙壶菌)、华支睾吸虫病(华支睾吸虫)、艰难梭菌结肠炎(艰难梭菌)、球孢子菌病(粗球孢子菌和波萨达斯球孢子菌(Coccidioides posadasii))、科罗拉多蜱传热(CTF)(科罗拉多蜱传热病毒(CTFV))、感冒(急性病毒性鼻咽炎;急性鼻炎)(通常鼻病毒和冠状病毒)、冠状病毒、克罗伊茨费尔特-雅各布病(CJD)(PRNP)、克里米亚-刚果出血热(CCHF)(克里米亚-刚果出血热病毒)、隐球菌病(新型隐球菌)、隐孢子虫病(隐孢子虫属物种)、皮肤幼虫移行症(CLM)(通常巴西钩虫;多种其它寄生虫)、圆孢子虫病(圆孢子虫)、囊虫病(猪带绦虫)、巨细胞病毒感染(巨细胞病毒)、登革热(登革病毒(DEN-1、DEN-2、DEN-3和DEN-4)-黄病毒)、Desmodesmus感染(绿藻栅藻)、双核阿米巴病(脆弱双核阿米巴)、白喉(白喉杆菌)、裂头绦虫病(裂头绦虫)、麦地那龙线虫病(麦地那龙线虫)、埃博拉出血热(埃博拉病毒(EBOV))、棘球蚴病(棘球绦虫属物种)、埃立克体病(埃立克体属物种)、蛲虫病(蛲虫感染)(蠕形住肠蛲虫)、肠球菌感染(肠球菌属物

种)、肠道病毒感染(肠道病毒物种)、流行性斑疹伤寒(普氏立克次氏体)、传染性红斑(第五病)(细小病毒B19)、幼儿急疹(第六病)(人疱疹病毒6(HHV-6)和人疱疹病毒7(HHV-7))、片吸虫病(肝片吸虫和大片吸虫)、姜片虫病(布氏姜片虫)、致死性家族性失眠症(FFI)(PRNP)、丝虫病(丝虫目总科)、由产气荚膜梭菌引起的食物中毒(产气荚膜梭菌)、独立生存的阿米巴感染(多种原因)、梭菌属感染(梭菌属物种)、气性坏疽(Gas gangrene)(气性坏疽(Clostridial myonecrosis))(通常产气荚膜梭菌;其它梭菌属物种)、地霉菌病(白地霉)、格斯特曼-施特劳斯-沙因克尔病(GSS)(PRNP)、贾第虫病(兰伯氏贾第虫)、鼻疽病(鼻疽伯克霍尔德氏菌)、颚口线虫病(棘腭口线虫和刚棘颚口线虫)、淋病(淋病奈瑟氏菌)、腹股沟肉芽肿(杜诺凡病)(肉芽肿克雷伯氏菌)、A群链球菌感染(酿脓链球菌)、B群链球菌感染(无乳链球菌)、嗜血杆菌感染(流感嗜血杆菌)、手足口病(HFMD)(肠道病毒,主要是柯萨奇A病毒和肠道病毒71(EV71))、汉坦病毒肺综合征(HPS)(辛诺柏病毒)、哈特兰病毒病(哈特兰病毒)、幽门螺杆菌感染(幽门螺杆菌)、溶血性尿毒症综合征(HUS)(大肠杆菌O157:H7、O111和O104:H4)、肾综合征出血热(HFRS)(布尼亚病毒科)、甲型肝炎(甲型肝炎病毒)、乙型肝炎(乙型肝炎病毒)、丙型肝炎(丙型肝炎病毒)、丁型肝炎(丁型肝炎病毒)、戊型肝炎(戊型肝炎病毒)、单纯性疱疹(单纯疱疹病毒1和2(HSV-1和HSV-2))、组织胞浆菌病(荚膜组织胞浆菌)、钩虫感染(十二指肠钩虫和美洲钩虫)、人博卡病毒感染(人博卡病毒(HBoV))、人伊氏埃立克体病(伊氏埃立克体)、人粒细胞无形体病(HGA)(嗜吞噬细胞无形体)、人偏肺病毒感染(人偏肺病毒(hMPV))、人单核细胞埃立克体病(查菲埃立克体)、人乳头状瘤病毒(HPV)感染(人乳头状瘤病毒(HPV))、人副流感病毒感染(人副流感病毒(HPIV))、膜壳绦虫病(短膜壳绦虫和缩小膜壳绦虫)、爱泼斯坦-巴尔病毒传染性单核细胞增多症(Mono)(爱泼斯坦-巴尔病毒(EBV))、流感(flu)(正粘病毒科)、等孢球虫病(贝氏等孢球虫)、川崎病(未知;证据支持它具有传染性)、角膜炎(多种原因)、金氏金氏菌感染(金氏金氏菌)、库鲁病(PRNP)、拉沙热(拉沙病毒)、军团菌病(Legionellosis)(军团菌病(Legionnaires'disease))(嗜肺军团菌)、军团菌病(庞蒂亚克热)(嗜肺军团菌)、利什曼原虫病(利什曼原虫属物种)、麻风(麻风分枝杆菌和弥散型麻风分枝杆菌)、钩端螺旋体病(钩端螺旋体属物种)、李斯特氏菌病(单核细胞增多性李斯特氏菌)、莱姆病(莱姆疏螺旋体病)(伯氏疏螺旋体、伽氏疏螺旋体和埃氏疏螺旋体)、淋巴丝虫病(象皮病)(班氏丝虫和马来丝虫)、淋巴细胞性脉络丛脑膜炎(淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒(LCMV))、疟疾(疟原虫属物种)、马尔堡出血热(MHF)(马尔堡病毒)、麻疹(麻疹病毒)、中东呼吸综合征(MERS)(中东呼吸综合征冠状病毒)、类鼻疽(惠特莫尔氏病)(类鼻疽伯克霍尔德氏菌)、脑膜炎(多种原因)、脑膜炎球菌病(脑膜炎奈瑟氏菌)、后殖吸虫病(通常横川后殖吸虫)、微孢子虫病(微孢子虫门)、接触传染性软疣(MC)(传染性软疣病毒(MCV))、猴痘(猴痘病毒)、腮腺炎(腮腺炎病毒)、鼠型斑疹伤寒(地方性斑疹伤寒)(斑疹伤寒立克次氏体)、支原体肺炎(肺炎支原体)、足分支菌病(消歧)(多种细菌(放线菌性足分支菌)和真菌(霉菌性足分支菌)物种)、蝇蛆病(寄生双翅目蝇幼虫)、新生儿结膜炎(新生儿眼炎)(最常见的是沙眼衣原体和淋病奈瑟氏菌)、诺如病毒(儿童和婴儿)((新)变异型克罗伊茨费尔特-雅各布病(vCJD,nvCJD),PRNP)、诺卡氏菌病(通常星状诺卡氏菌和其它诺卡氏菌属物种)、盘尾丝虫病(河盲症)(旋盘尾丝虫)、后睾吸虫病(麝猫后睾吸虫和猫后睾吸虫)、副球孢子菌病(南美芽生菌病)(巴西副球孢子菌)、并殖吸虫病(通常卫氏并殖吸虫和其它并殖吸虫属物种)、巴斯德氏菌病(巴斯德氏菌属物种)、头虱病(头虱)

(人头虱)、体虱病(体虱)(人体虱)、阴虱病(阴虱(Pubic lice),毛虱)(阴虱(Phthirus pubis))、盆腔炎性疾病(PID)(多种原因)、百日咳(Pertussis)(百日咳(Whooping cough))(百日咳博德特氏菌)、鼠疫(鼠疫耶尔森氏菌)、肺炎球菌感染(肺炎链球菌)、肺孢子虫性肺炎(PCP)(耶氏肺孢子虫)、肺炎(多种原因)、脊髓灰质炎(脊髓灰质炎病毒)、普雷沃氏菌感染(普雷沃氏菌属物种)、原发性阿米巴脑膜脑炎(PAM)(通常福氏耐格里阿米巴原虫)、进行性多灶性白质脑病(JC病毒)、鹦鹉热(鹦鹉热衣原体)、Q热(伯纳特氏柯克斯氏体)、狂犬病(狂犬病病毒)、回归热(赫氏疏螺旋体、回归热疏螺旋体和其它疏螺旋体属物种)、呼吸道合胞病毒感染(呼吸道合胞病毒(RSV))、鼻孢子菌病(西伯鼻孢子菌)、鼻病毒感染(鼻病毒)、立克次氏体感染(立克次氏体属物种)、立克次氏体痘(小蛛立克次氏体)、里夫特裂谷热(RVF)(里夫特裂谷热病毒)、落基山斑疹热(RMSF)(立氏立克次氏体)、轮状病毒感染(轮状病毒)、风疹(风疹病毒)、沙门氏菌病(沙门氏菌属物种)、SARS(严重急性呼吸综合征)(SARS冠状病毒)、疥疮(疥螨)、血吸虫病(血吸虫属物种)、败血症(多种原因)、志贺氏菌病(杆菌性痢疾)(志贺氏菌属物种)、带状疱疹(水痘带状疱疹病毒(VZV))、天花(Smallpox)(天花(Variola))(重型天花或轻型天花)、孢子丝菌病(申克孢子丝菌)、葡萄球菌性食物中毒(葡萄球菌属物种)、葡萄球菌感染(葡萄球菌属物种)、类圆线虫病(粪类圆线虫)、亚急性硬化性全脑炎(麻疹病毒)、梅毒(苍白密螺旋体)、绦虫病(绦虫属物种)、破伤风(口噤)(破伤风梭菌)、须疮(须癣)(通常毛癣菌属物种)、头癣(头皮癣)(通常断发毛癣菌)、体癣(Tinea corporis)(体癣(Ringworm of the Body))(通常毛癣菌属物种)、股癣(Tinea cruris)(股癣(Jock itch))(通常絮状表皮癣菌、红色毛癣菌和须毛癣菌)、手癣(Tinea manum)(手癣(Ringworm of the Hand))(红色毛癣菌)、黑癣(通常威尼克何德霉)、脚癣(香港脚)(通常毛癣菌属物种)、甲癣(甲真菌病)(通常毛癣菌属物种)、花斑癣(花斑糠疹)(马拉色氏霉菌属物种)、弓蛔虫病(眼幼虫移行症(OLM))(犬弓蛔虫或猫弓蛔虫)、弓蛔虫病(内脏幼虫移行症(VLM))(犬弓蛔虫或猫弓蛔虫)、沙眼(沙眼衣原体)、弓形体病(刚地弓形虫)、旋毛虫病(旋毛虫)、毛滴虫病(阴道毛滴虫)、鞭虫病(鞭虫感染)(毛首鞭虫)、结核病(通常结核分枝杆菌)、兔热病(土拉弗朗西斯菌)、伤寒热(肠道沙门氏菌肠道亚种伤寒血清型)、斑疹伤寒(立克次氏体)、解脲支原体感染(解脲支原体)、裂谷热(粗球孢子菌或波萨达斯球孢子菌)、委内瑞拉马脑炎(委内瑞拉马脑炎病毒)、委内瑞拉出血热(瓜纳瑞托病毒)、创伤弧菌感染(创伤弧菌)、副溶血性弧菌肠炎(副溶血性弧菌)、病毒性肺炎(多种病毒)、西尼罗河热(西尼罗河病毒)、白色毛结节菌病(白秃疮)(白吉利毛孢子菌)、假结核耶尔森氏菌感染(假结核耶尔森氏菌)、耶尔森菌病(小肠结肠炎耶尔森氏菌)、黄热病(黄热病病毒)、结合菌病(毛霉菌目(毛霉菌病)和虫霉目(虫霉病))、人类免疫缺陷病毒[HIV]病、HIV病伴感染性和寄生虫病、HIV病伴分枝杆菌感染、HIV病伴巨细胞病毒病、HIV病伴其它病毒感染、HIV病伴念珠菌病、HIV病伴其它真菌病、HIV病伴卡氏肺囊肿性肺炎、HIV病伴恶性肿瘤、HIV病伴卡波济氏肉瘤、HIV病伴伯基特氏淋巴瘤、HIV病伴其它类型的非霍奇金淋巴瘤、HIV病伴其它淋巴、造血和相关组织恶性肿瘤、HIV病伴多种恶性肿瘤、HIV病伴其它恶性肿瘤、HIV病伴未指明的恶性肿瘤、HIV病伴脑病、HIV病伴淋巴间质性肺炎、HIV病伴消耗综合征、HIV病伴在别处分类的多种疾病、HIV病伴其它疾患、HIV病急性HIV感染综合征、HIV病伴(持续性)全身性淋巴结病、HIV病伴血液学和免疫学异常、HIV病伴其它指明的疾患或未指明的HIV病。在本公开的一些实施方案中,感染性疾病可以是被病毒,如来自以下病毒科之一的病毒感染:a)腺

病毒科,如腺病毒物种;b)疱疹病毒科,如单纯疱疹病毒1型、单纯疱疹病毒2型、水痘带状疱疹病毒、爱泼斯坦-巴尔病毒、人巨细胞病毒、人疱疹病毒8型物种;c)乳头状瘤病毒科,如人乳头状瘤病毒物种;d)多瘤病毒科,如BK病毒、JC病毒物种;e)痘病毒科,如天花物种;f)肝炎病毒科,如乙型肝炎病毒物种;g)细小病毒科,如人博卡病毒、细小病毒B19物种;h)星状病毒科,如人星状病毒物种;i)杯状病毒科,如诺沃克病毒物种;j)黄病毒科,如丙型肝炎病毒(HCV)、黄热病病毒、登革热病毒、西尼罗病毒种;k)披膜病毒科,如风疹病毒物种;l)肝炎病毒科,如戊型肝炎病毒物种;m)逆转录病毒科,如人类免疫缺陷病毒(HIV)物种;n)正粘病毒科,如流感病毒物种;o)沙粒病毒科,如瓜纳瑞托病毒、胡宁病毒、拉沙病毒、马丘波病毒和/或萨比亚病毒物种;p)布尼亚病毒科,如克里米亚-刚果出血热病毒物种;q)丝状病毒科,如埃博拉病毒和/或马尔堡病毒种;副粘病毒科,如麻疹病毒、腮腺炎病毒、副流感病毒、呼吸道合胞病毒、人偏肺病毒、亨德拉病毒和/或尼帕病毒物种;r)弹状病毒科,如狂犬病病毒物种;s)呼肠孤病毒科,如轮状病毒、环状病毒、科罗拉多壁虱热病毒和/或版纳病毒物种。

[0249] 在本公开的一些实施方案中,感染性疾病可以不是上述感染性疾病之一。

[0250] 在一些实施方案中,感染性疾病可以是由甲型流感(Flu A)病毒感染引起的疾病。在一些实施方案中,流感病毒可以是禽类或猪源大流行性流感病毒,例如,H5N1、H7N3、H7N7、H7N9和H9N2(禽类亚型)或H1N1、H1N2、H2N1、H3N1、H3N2或H2N3(猪亚型)。

[0251] 在本公开的一些优选的实施方案中,感染性疾病可以是HIV,如残留HIV疾病、疱疹、肝炎或人乳头状瘤病毒。在其它优选的实施方案中,感染性疾病可以是由冠状病毒感染引起的疾病,例如COVID-19(冠状病毒2019;由严重急性呼吸综合征冠状病毒2引起的疾病,SARS-CoV-2)。

[0252] 在其中对患有、疑似患有或已被诊断患有感染性疾病的受试者实施本公开的方法的实施方案中,通过这些方法产生的NKT样细胞可治疗感染性疾病。在本文中,“治疗”意指在受试者中发挥有益的治疗效果,所述有益的治疗效果可以是源自本公开的方法的任何总体临床益处。这种总体临床益处可以是以下中的任一者:例如:发热减轻、腹泻减轻、咳嗽减轻、肌肉疼痛减轻、疲劳减轻、CRP减轻、呼吸机时间减少、对额外氧气的需求减少、恢复后的器官损伤减少。

[0253] 在一些实施方案中,本公开的NKT样细胞可通过吞噬和杀死感染性生物体、激活其它先天性和适应性免疫细胞、将其它免疫细胞募集至感染部位(例如被病毒感染的器官)、耗减被病毒感染的免疫细胞(例如被COVID-19激活的单核细胞)来治疗感染性疾病。

[0254] 在一些实施方案中,本公开的NKT样细胞可通过释放免疫激活细胞因子来治疗感染性疾病。在一些实施方案中,本公开的NKT样细胞可通过释放具有抗微生物或抗病毒作用的细胞因子(例如,TNF-α、IFN-γ)来治疗感染性疾病。在一些实施方案中,本公开的NKT样细胞可通过诱导细胞凋亡,例如通过表达接合靶细胞上的死亡受体的配体来治疗感染性疾病。在一些实施方案中,NKT样细胞可分泌杀死感染性生物体的细胞毒性分子。在一些实施方案中,本公开的NKT样细胞可摄取或吞噬感染性生物体。

[0255] 在感染性疾病是由冠状病毒感染引起的疾病(例如COVID-19)的实施方案中,本公开的NKT样细胞可通过吞噬和杀死冠状病毒和/或通过激活其它先天性和适应性免疫细胞来治疗所述疾病。

[0256] 因此,本公开还提供了治疗受试者中由冠状病毒感染引起的疾病的方法,所述方法包括以相当于约至少6mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED)的剂量向所述受试者施用糖皮质激素受体(GR)调节剂。在一些实施方案中,糖皮质激素受体(GR)调节剂可以是糖皮质激素,优选地塞米松或倍他米松。在一些实施方案中,糖皮质激素受体(GR)调节剂可以相当于约至少15mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED)的剂量施用。在一些优选的实施方案中,糖皮质激素受体(GR)调节剂可以相当于约18mg/kg与30mg/kg之间地塞米松碱的人体等效剂量(HED)的剂量施用。在一些优选的实施方案中,所述疾病是COVID-19(冠状病毒2019;由严重急性呼吸综合征冠状病毒2,SARS-CoV-2引起的疾病)或SARS-CoV或MERS。在一些实施方案中,糖皮质激素受体(GR)调节剂诱导/动员如本文别处公开的NKT样细胞群体。

[0257] 在一些优选的实施方案中,本公开提供了一种治疗受试者中的COVID-19(冠状病毒2019;由严重急性呼吸综合征冠状病毒2,SARS-CoV-2引起的疾病)的方法,所述方法包括以相当于约15mg/kg和30mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED)的剂量向所述受试者施用地塞米松或倍他米松。

[0258] 在感染性疾病是由冠状病毒感染引起的疾病(例如COVID-19)的实施方案中,糖皮质激素受体调节剂可与质子泵抑制剂(如奥美拉唑)和/或氢化可的松组合施用。在这种情况下,“组合”可能意味着同时施用或可能意味着单独和/或以任何顺序依次施用。

[0259] 在本公开的方法的一些实施方案中,产生/动员NKT样细胞群体的方法可以进一步包括从受试者或从来自受试者的样品分离本公开的NKT样细胞或本公开的NKT样细胞群体的步骤。因此,本公开提供了分离的NKT样细胞以及分离的NKT样细胞群体。如上所述,分离的细胞和分离的细胞群体可通过它们表达的表面蛋白的模式进行表征。

[0260] 用于从混合样品中分离细胞和细胞群体的合适方法是本领域技术人员熟知的——例如,流式分选(例如荧光激活细胞分选;FACS)和磁性粒子分选(如磁激活细胞分选;MACS)、微流控细胞分选、密度梯度离心、免疫密度细胞分离、基于培养基中的生长因子和其它组分的细胞培养物的扩增。在本发明的一些优选的实施方案中,分离步骤通过荧光激活细胞分选(FACS)或磁激活细胞分选(MACS)进行。

[0261] 在NKT样细胞从源自受试者的样品分离的实施方案中,所述样品可选自由以下组成的组:血液、血浆、肿瘤活检物或手术切除的肿瘤、骨髓、肝脏、脾脏活检物和脂肪或脂肪组织。

[0262] 在一些实施方案中,分离步骤可在施用糖皮质激素受体(GR)调节剂或ICAM3调节剂后至少约1、3、12、24、48、72、96、120、144或168小时进行。在一些实施方案中,分离步骤可在施用糖皮质激素受体(GR)调节剂或ICAM3调节剂后至少约1、3、8、9、10、11、12、13、14或15天进行。在一些优选的实施方案中,分离步骤在所述施用后至少约48小时进行。在一些其它优选的实施方案中,分离步骤在所述施用后至少约1、3或48小时进行。在一些实施方案中,分离步骤可在施用糖皮质激素受体(GR)调节剂或ICAM3调节剂后约1、3或48小时与13天之间、约1、3或48小时与168小时之间、约1、3或48小时与120小时之间、约1、3或48小时与96小时之间或约1、3或48小时与72小时之间进行。在一些优选的实施方案中,分离步骤在所述施用后约1、3或48小时与72小时之间进行。在一些实施方案中,分离步骤可在糖皮质激素施用后1、2、3、4、5、6、7、8、9或10小时内进行。在一些优选的实施方案中,分离步骤可在糖皮质激素施用后3小时内进行。在一些特别优选的实施方案中,分离步骤可在糖皮质激素施用后1

小时内进行。在其它特别优选的实施方案中,分离步骤可在糖皮质激素施用后30分钟与60分钟之间进行。在受试者患有癌症、感染性疾病或自身免疫性疾病的一些优选的实施方案中,分离NKT样细胞的步骤可在糖皮质激素施用后3小时内且优选在糖皮质激素施用后1小时内,诸如在糖皮质激素施用后30分钟与60分钟之间对来自受试者的血液样品进行。

[0263] 在涉及分离步骤的方法的一些优选实施方案中,受试者可以是健康受试者,如健康的成年人受试者。在此上下文中,健康受试者是未罹患疾病的受试者。

[0264] 本公开的分离的NKT样细胞和分离的NKT样细胞群体可以在培养中扩增。用于培养和扩增细胞的合适方法和试剂是本领域技术人员熟知的。例如,与IL-2、可溶性抗CD28抗体、抗CD3ε抗体、抗TCRβ抗体和糖脂如KRN7000、PBS44或PBS57一起长期培养已被证明可产生NKT细胞的稳健扩增(Watarai等人2008,其特此以引用的方式整体并入)。因此,在本公开的方法的一些实施方案中,产生NKT样细胞群体的方法可进一步包括扩增通过分离步骤分离的NKT样细胞或NKT样细胞的步骤。在本公开方法的一些实施方案中,所述方法可进一步包括用可如上文详细描述的NKT细胞激活剂、T细胞激活剂和/或NK细胞激活剂激活分离的细胞的步骤(在扩增步骤之前或之后)。

[0265] 在一些实施方案中,在从受试者或从源自受试者的样品分离出NKT样细胞或NKT样细胞群体之后,本公开的方法可进一步包括将编码蛋白质的核酸引入一个或多个分离的细胞中的步骤。用于将核酸引入细胞的合适方法是本领域技术人员熟知的——例如,物理或化学方法,包括电穿孔、声穿孔、细胞显微注射、微粒递送、磷酸钙介导的转染和基于脂质体的转染;或,病毒转导。在引入编码蛋白质的核酸后,可在促进所编码蛋白质表达的条件下培养一个或多个细胞。用于培养细胞的合适方法、试剂和条件是本领域技术人员熟知的。已将编码蛋白质的核酸引入其中的一个或多个细胞在本文中可称为经转染的或转化的细胞。

[0266] 在本公开的一些实施方案中,编码蛋白质的核酸是编码选自由以下中的一者或多者组成的组的蛋白质的核酸:T细胞受体(TCR)、嵌合抗原受体(CAR)、分裂、通用且可编程的CAR(SUPRA-CAR)。

[0267] 分离后,本公开的NKT样细胞可针对特定靶标进行遗传工程化。例如,所述细胞可通过IL-2扩增并用GalCer(半乳糖基神经酰胺)、脉冲自体辐照PBMC激活,然后转导以表达CAR或重组TCR(rTCR)。CAR或rTCR可特异性地结合选自GD2(二唾液酸神经节苷脂)和CD19的靶标。例如,CAR可以是NCT03294954(其特异性地结合GD2)或NCT03774654(其特异性地结合CD19)。

[0268] 此外,分离的细胞可以进行靶向激活。例如,可使用以下程序:用于被动和主动递送的纳米载体;负载a-GalCer的APC,用于将NKT样细胞靶向激活至肿瘤;静脉内施用α-GalCer;和/或通过向培养的细胞中添加α-GalCer(以产生富含iNKT细胞的群体,然后将所述群体输注回患者体内)来进行批量PBMC刺激(2至3次)。

[0269] 此外,分离的细胞可直接连接至肿瘤靶向部分(肿瘤细胞或TME上)。也可采用对NKT细胞(由α-GalCer类似物引起的免疫应答的极化)、T细胞和NK细胞的刺激剂的化学修饰。

[0270] 如本文所用的术语“嵌合抗原受体”(CAR)非排他性地涉及含有融合至强T细胞激活剂结构域的抗体的抗原结合结构域的构建体。用CAR构建体修饰的T细胞可与抗原结合并受到刺激以攻击所结合的细胞。人工T细胞受体(也称为嵌合T细胞受体、嵌合免疫受体、嵌

合抗原受体(CAR))是工程化受体,其可将任意特异性移植到免疫效应细胞上。这些受体被称为嵌合,因为它们由来自不同来源的部分组成。由嵌合抗原受体T细胞表达的受体/配体或抗体或细胞免疫疗法可以是单特异性或双特异性或多特异性的。

[0271] 在一些实施方案中,TCR、CAR和/或SUPRA-CAR可包含抗原结合结构域,所述抗原结合结构域结合至选自由以下组成的受体/配体/靶标的组的抗原:原癌基因酪氨酸-蛋白激酶ABL1、瓜氨酸化抗原、ErbB2/HER2、CD16、WT-1、KRAS、磷脂酰肌醇蛋白聚糖3、CD3、CD20、CD226、CD155、CD123、HPV-16E6、Melan-A/MART-1、结合至DR4受体的TRAIL、LMP、MTCR、ESO、NY-ESO-1、gp100、4SCAR-GD2/CD56、间皮素(CAK1抗原或前原巨核细胞增强因子或MSLN);DNA合成抑制剂;组胺H1受体(HRH1)拮抗剂;前列腺素G/H合酶2(环氧合酶2或COX2或前列腺素内过氧化物合酶2或PHS II或前列腺素H2合酶2或PTGS2或EC 1.14.99.1)抑制剂、CD19(B淋巴细胞表面抗原B4或分化抗原CD19或T细胞表面抗原Leu 12或CD19)、细胞粘附分子5(癌胚抗原或CEA或胎粪抗原100或CD66e或CEACAM5);白细胞介素2受体(IL2R)激动剂、表皮生长因子受体(原癌基因c ErbB 1或受体酪氨酸蛋白激酶erbB 1或HER1或ERBB1或EGFR或EC 2.7.10.1);DNA连接酶(EC 6.5.1.)抑制剂;DNA连接酶(EC 6.5.1.)、DNA聚合酶α(POLA或EC 2.7.7.7)抑制剂;DNA引发酶(EC 2.7.7.6)抑制剂;核苷二磷酸还原酶(核糖核苷酸还原酶或RRM或EC 1.17.4.1)抑制剂;RNA聚合酶II(RNAP II或Pol II或EC 2.7.7.6)抑制剂、DNA聚合酶(EC 2.7.7.7)抑制剂;DNA拓扑异构酶II(EC 5.99.1.3)抑制剂;CD22、meso、DNA引发酶(EC 2.7.7.6);程序性细胞死亡1配体1(PD L1或B7同源物1或CD274)抑制剂;RNA聚合酶II(RNAP II或Pol II或EC 2.7.7.6)、组蛋白赖氨酸N甲基转移酶EZH2(ENX 1或Zeste同源物增强子2或赖氨酸N甲基转移酶6或EZH2或EC 2.1.1.43)抑制剂;程序性细胞死亡1配体1(PD L1或B7同源物1或CD274)、C-X-C趋化因子受体4型(FB22或融合素或HM89或LCR1或白细胞源性七跨膜结构域受体或脂多糖相关蛋白3或基质细胞源性因子1受体或NPYRL或CD184或CXCR4)拮抗剂;粒细胞集落刺激因子受体(CD114或GCSFR或CSF3R)激动剂、腺苷脱氨酶(腺苷氨基水解酶或ADA或EC 3.5.4.4)抑制剂;肿瘤坏死因子受体超家族成员17(B细胞成熟抗原或CD269或TNFRSF17)、对表达失活酪氨酸蛋白激酶跨膜受体ROR1的细胞的细胞毒性(神经营养酪氨酸激酶受体相关1或ROR1或EC 2.7.10.1);T细胞表面糖蛋白CD3ε链(T细胞表面抗原T3/Leu 4ε链或CD3E);二氢叶酸还原酶(DHFR或EC 1.5.1.3)抑制剂;肝配蛋白A型受体2(上皮细胞激酶或酪氨酸蛋白激酶受体ECK或EPHA2或EC 2.7.10.1)抑制剂;糖皮质激素受体(GR或核受体亚家族3组C成员1或NR3C1)激动剂;肥大/干细胞生长因子受体Kit(原癌基因c Kit或酪氨酸蛋白激酶Kit或v Kit哈迪朱克曼4猫肉瘤病毒致癌基因同源物或花斑性状蛋白或p145c Kit或CD117或KIT或EC 2.7.10.1)抑制剂;血小板源性生长因子受体β(β型血小板源性生长因子受体或CD140抗原样家族成员B或血小板源性生长因子受体1或CD140b或PDGFRB或EC 2.7.10.1)抑制剂;微管蛋白抑制剂;酪氨酸蛋白激酶CSK(C Src激酶或蛋白酪氨酸激酶CYL或CSK或EC 2.7.10.2)抑制剂;酪氨酸蛋白激酶Fyn(原癌基因Syn或原癌基因c Fyn或Src样激酶或p59 Fyn或FYN或EC 2.7.10.2)抑制剂;酪氨酸蛋白激酶Lck(白细胞C末端Src激酶或蛋白YT16或原癌基因Lck或T细胞特异性蛋白酪氨酸激酶或淋巴细胞细胞特异性蛋白酪氨酸激酶或p56 LCK或LCK或EC 2.7.10.2)抑制剂;酪氨酸蛋白激酶Yes(原癌基因c Yes或p61 Yes或YES1或EC 2.7.10.2)抑制剂、肿瘤坏死因子(恶病质素或TNFα或肿瘤坏死因子配体超家族成员2或TNF a或TNF)抑制剂、信号转导因子和转录活化因

子3(急性期反应因子或DNA结合蛋白APRF或STAT3)抑制剂、Bcr-Abl酪氨酸激酶(EC 2.7.10.2)抑制剂;二氢叶酸还原酶(DHFR或EC 1.5.1.3);肝配蛋白A型受体2(上皮细胞激酶或酪氨酸蛋白激酶受体ECK或EPHA2或EC 2.7.10.1);肥大/干细胞生长因子受体Kit(原癌基因c Kit或酪氨酸蛋白激酶Kit或v Kit哈迪朱克曼4猫肉瘤病毒致癌基因同源物或花斑性状蛋白或p145 c Kit或CD117或KIT或EC 2.7.10.1);血小板源性生长因子受体β(β型血小板源性生长因子受体或CD140抗原样家族成员B或血小板源性生长因子受体1或CD140b或PDGFRB或EC 2.7.10.1);微管蛋白;酪氨酸蛋白激酶CSK(C Src激酶或蛋白酪氨酸激酶CYL或CSK或EC 2.7.10.2)抑制剂;酪氨酸蛋白激酶Fyn(原癌基因Syn或原癌基因c Fyn或Src样激酶或p59 Fyn或FYN或EC 2.7.10.2)抑制剂;酪氨酸蛋白激酶Lck(白细胞C末端Src激酶或蛋白YT16或原癌基因Lck或T细胞特异性蛋白酪氨酸激酶或淋巴细胞细胞特异性蛋白酪氨酸激酶或p56 LCK或LCK或EC 2.7.10.2)抑制剂;酪氨酸蛋白激酶Yes(原癌基因c Yes或p61 Yes或YES1或EC 2.7.10.2)抑制剂、半胱天冬酶9(凋亡蛋白酶Mch 6或凋亡蛋白酶激活因子3或ICE样凋亡蛋白酶6或CASP9或EC 3.4.22.62)激活剂;前列腺干细胞抗原(PSCA)、优先在肿瘤中表达的黑素瘤抗原(癌症/睾丸抗原130或Opa相互作用蛋白4或OIP4或黑素瘤优先表达抗原或PRAME)、信号转导因子和转录活化因子3(急性期反应因子或DNA结合蛋白APRF或STAT3)抑制剂、CD44抗原(CDw44或Epican或细胞外基质受体III或GP90淋巴细胞归巢/粘附受体或HUTCH I或硫酸乙酰肝素蛋白聚糖或Hermes抗原或透明质酸受体或吞噬糖蛋白1或CD44)、AXL(anexelekto)受体酪氨酸激酶、GAS6、TAM受体酪氨酸激酶、TYRO-3(还称为Brt、Dtk、Rse、Sky和Tif)、AXL(还称为Ark、Tyro7和Ufo)、和MER(还称为Eyk、Nym和Tyro12)、CTLA4、肿瘤坏死因子受体超家族成员8(CD30L受体或Ki 1抗原或淋巴细胞激活抗原CD30或CD30或TNFRSF8)、半胱天冬酶9(凋亡蛋白酶Mch 6或凋亡蛋白酶激活因子3或ICE样凋亡蛋白酶6或CASP9或EC 3.4.22.62)激活剂;对表达神经节苷脂GD2的细胞具有细胞毒性;前列腺素G/H合酶1(环氧合酶1或COX1或前列腺素内过氧化物合酶1或前列腺素H2合酶1或PTGS1或EC 1.14.99.1)抑制剂;细胞因子、白细胞介素、密封蛋白6(Skullin或CLDN6)、NKG2D、MICA、MICB和ULBP 1-6、NKp30、B7H6(NCR3LG1)、Bag6、B7家族、CD40配体(T细胞抗原Gp39或TNF相关激活蛋白或肿瘤坏死因子配体超家族成员5或CD154或CD40LG)激活剂;白细胞介素12(IL12)激活剂、白细胞介素3受体亚基α(IL3RA肥大/干细胞生长F)、因子受体Kit(原癌基因c Kit或酪氨酸蛋白激酶Kit或v Kit哈迪朱克曼4猫肉瘤病毒致癌基因同源物或花斑性状蛋白或p145 c Kit或CD117或KIT或EC 2.7.10.1)拮抗剂;原癌基因酪氨酸蛋白激酶受体Ret(钙粘蛋白家族成员12或原癌基因c Ret或RET或EC 2.7.10.1)抑制剂;受体型酪氨酸蛋白激酶FLT3(FMS样酪氨酸激酶3或FL细胞因子受体或干细胞酪氨酸激酶1或胎肝激酶2或CD135或FLT3或EC 2.7.10.1)拮抗剂;血管内皮生长因子受体1(Fms样酪氨酸激酶1或酪氨酸蛋白激酶受体FLT或酪氨酸蛋白激酶FRT或血管渗透因子受体或VEGFR1或FLT1或EC 2.7.10.1)拮抗剂;血管内皮生长因子受体2(胎肝激酶1或激酶插入结构域受体或蛋白酪氨酸激酶受体flk 1或VEGFR2或CD309或KDR或EC 2.7.10.1)拮抗剂;血管内皮生长因子受体3(Fms样酪氨酸激酶4或酪氨酸蛋白激酶受体FLT4或VEGFR3或FLT4或EC 2.7.10.1)拮抗剂、半胱天冬酶9(凋亡蛋白酶Mch 6或凋亡蛋白酶激活因子3或ICE样凋亡蛋白酶6或CASP9或EC 3.4.22.62)激活剂、细胞毒性T淋巴细胞蛋白4(细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4或CD152或CTLA4)拮抗剂、髓系细胞表面抗原CD33(唾液酸结合Ig样凝集素3或gp67

或CD33)、肝细胞生长因子受体(原癌基因c Met或酪氨酸蛋白激酶Met或HGF/SF受体或离散因子受体或MET或EC 2.7.10.1)、上皮细胞粘附分子(腺癌相关抗原或细胞表面糖蛋白Trop 1或上皮细胞表面抗原或上皮糖蛋白314或KS1/4抗原或KSA或肿瘤相关钙信号转导因子1或CD326或EPCAM)、神经节苷脂GD2、Lewis Y抗原(CD174)、潜伏膜蛋白1(蛋白p63或LMP1)、粘蛋白1(乳腺癌相关抗原DF3或爱皮希尔林(Episialin)或H23AG或克雷布斯冯隆恩(Krebs Von Den Lungen)6或PEMT或花生反应性尿粘蛋白或多形性上皮粘蛋白或肿瘤相关上皮膜抗原或肿瘤相关粘蛋白或CD227或MUC1)、T细胞受体β1链C区(TRBC1)、血管内皮生长因子受体2(胎肝激酶1或激酶插入结构域受体或蛋白酪氨酸激酶受体flk 1或VEGFR2或CD309或KDR或EC 2.7.10.1)、BCMA、PD-1、白细胞介素-6受体、NKR2、CX-072、T淋巴细胞蛋白4(细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4或CD152或CTLA4)拮抗剂;丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶B Raf(p94或原癌基因B Raf或v Raf鼠肉瘤病毒致癌基因同源物B1或BRAF或EC 2.7.11.1)抑制剂、粘蛋白16(卵巢癌相关肿瘤标志物CA125或卵巢癌抗原CA125或MUC16);Bcr-Abl酪氨酸激酶(EC 2.7.10.2)抑制剂;酪氨酸蛋白激酶CSK(C Src激酶或蛋白酪氨酸激酶CYL或CSK或EC 2.7.10.2)抑制剂;酪氨酸蛋白激酶Fyn(原癌基因Syn或原癌基因c Fyn或Src样激酶或p59 Fyn或FYN或EC 2.7.10.2)抑制剂;酪氨酸蛋白激酶Lck(白细胞C末端Src激酶或蛋白YT16或原癌基因Lck或T细胞特异性蛋白酪氨酸激酶或淋巴细胞细胞特异性蛋白酪氨酸激酶或p56 LCK或LCK或EC 2.7.10.2)抑制剂;酪氨酸蛋白激酶Yes(原癌基因c Yes或p61 Yes或YES1或EC 2.7.10.2)抑制剂、细胞周期蛋白依赖性激酶1(p34蛋白激酶或细胞分裂蛋白激酶1或细胞分裂控制蛋白2同源物或CDK1或EC 2.7.11.22或EC 2.7.11.23)抑制剂;细胞周期蛋白依赖性激酶2(p33蛋白激酶或细胞分裂蛋白激酶2或CDK2或EC 2.7.11.22)抑制剂;粒细胞巨噬细胞集落刺激因子受体亚基α(CDw116或CD116或CSF2RA)激动剂、EGFRVIII、酪氨酸蛋白激酶SYK(脾酪氨酸激酶或p72 Syk或SYK或EC 2.7.10.2)抑制剂、甲胎蛋白(α1胎蛋白或α胎蛋白或AFP)、癌症/睾丸抗原1(自身免疫原性癌症/睾丸抗原或癌症/睾丸抗原6.1或L抗原家族成员2或CTAG1A或CTAG1B);HBV抗原、EGFR家族成员、Herin、酪氨酸蛋白激酶BTK(布鲁顿酪氨酸激酶或B细胞祖细胞激酶或无丙种球蛋白血症酪氨酸激酶或BTK或EC 2.7.10.2)抑制剂、CD4、上皮细胞粘附分子(腺癌相关抗原或细胞表面糖蛋白Trop 1或上皮细胞表面抗原或上皮糖蛋白314或KS1/4抗原或KSA或肿瘤相关钙信号转导因子1或CD326或EPCAM)、脯氨酰内肽酶FAP(170kDa黑素瘤膜结合明胶酶或二肽基肽酶FAP或整合膜丝氨酸蛋白酶或成纤维细胞激活蛋白α或明胶降解蛋白酶FAP或透明质酸酶(Seprase)或FAP或EC 3.4.21.26或EC 3.4.14.5)、神经细胞粘附分子1(由单克隆抗体5.1H11识别的抗原或CD56或NCAM1);表皮生长因子受体(原癌基因c ErbB 1或受体酪氨酸蛋白激酶erbB 1或HER1或ERBB1或EGFR或EC 2.7.10.1)拮抗剂、酪氨酸蛋白激酶跨膜受体ROR1(神经营养酪氨酸激酶受体相关1或ROR1或EC 2.7.10.1);维尔姆斯肿瘤蛋白(WT33或WT1);白细胞介素13受体亚基α2(白细胞介素13结合蛋白或CD213a2或IL13RA2)、滋养层细胞糖蛋白(M6P1或5T4癌胚抗原或5T4癌胚滋养层细胞糖蛋白或Wnt激活抑制因子1或TPBG)、SLAM家族成员7(CD319或膜蛋白FOAP 12或CD2样受体激活细胞毒性细胞或新型Ly9或蛋白19A或CD2亚群1或CS1或SLAMF7)、B细胞淋巴瘤2(Bcl 2)抑制剂;DNA(胞嘧啶5)甲基转移酶1(CXXC型锌指蛋白9或DNA甲基转移酶HsaI或MCMT或DNMT1或EC 2.1.1.37)抑制剂、ROR1、CD19和CD40L、抗生物素蛋白(EGFRiiiv)、叶酸受体、CD30、pmel CD*8T、CD33、NKR2、上皮性肿瘤抗原(ETA)、酪氨酸

酶、黑素瘤相关抗原、ras异常产物、p53、甲胎蛋白(AFP)、CA-125、CA15-3、CA27-29、CA19-9、降钙素、钙网膜蛋白、CD34、CD99MIC 2、CD117、嗜铬粒蛋白、细胞角蛋白(各种类型:TPA、TPS、Cyfra21-1)、肌间线蛋白、上皮膜抗原(EMA)、因子VIII、CD31 FL1、胶质原纤维酸性蛋白(GFAP)、总胆囊疾病液蛋白(GCDFP-15)、HMB-45、人绒毛膜促性腺激素(hCG)、免疫球蛋白、抑制素、角蛋白(各种类型)、淋巴细胞标志物(各种类型)、BCR-ABL、Myo D1、肌肉特异性肌动蛋白(MSA)、神经丝、神经元特异性烯醇化酶(NSE)、胎盘碱性磷酸酶(PLAP)、前列腺特异性抗原(PSA)、PTPRC(CD45)、S100蛋白、平滑肌肌动蛋白(SMA)、突触素、胸苷激酶、甲状腺球蛋白(Tg)、甲状腺转录因子-1(TTF-1)、肿瘤M2-PK、波形蛋白、SV40、腺病毒E1b-58kd、IGF2B3、遍在(低水平)、激肽释放酶4、KIF20A、Lengsin、Meloe、MUC5AC、不成熟层粘连蛋白受体、TAG-72、HPV E6、HPV E7、BING-4、钙激活的氯离子通道2、细胞周期蛋白-B1、9D7、Ep-CAM、EphA3、端粒酶、SAP-1、BAGE家族、CAGE家族、GAGE家族、MAGE家族、SAGE家族、XAGE家族、LAGE-1、PRAME、SSX-2、pmel17、酪氨酸酶、TRP-1/-2、P.多肽、MC1R、β-连环蛋白、前列腺特异性抗原、BRCA1、BRCA2、CDK4、CML66、纤连蛋白、MART-2、Ras、TGF-β受体II、T细胞受体(TCR)、BLOC1S6、CD10/脑啡肽酶、CD24、CD248、CD5/分化簇5、CD63/Tspan-30/四次跨膜蛋白-30、CEACAM5/CD66e、CT45A3、CTAG1A、CXORF61、DSE、GPA33、HPSE、KLK3、LCP1、LRIG3、LRRC15、巨核细胞强化因子、MOK、MUC4、NDNL2、OCIAD1、PMPCB、PTOV1、RCAS1/EBAG9、RNF43、ROPN1、RPLP1、SARNP、SBEM/MUCL1、TRP1/TYRP1、CA19-9、失活酪氨酸蛋白激酶跨膜受体ROR1(神经营养酪氨酸激酶受体相关1或ROR1或EC 2.7.10.1)、ALK酪氨酸激酶受体(间变性淋巴瘤激酶或CD246或ALK或EC 2.7.10.1)、前列腺干细胞抗原(PSCA)、优先在肿瘤中表达的黑素瘤抗原(癌症/睾丸抗原130或Opa相互作用蛋白4或OIP4或黑素瘤优先表达抗原或PRAME)、信号转导因子和转录活化因子3(急性期反应因子或DNA结合蛋白APRF或STAT3)抑制剂、CD44抗原(CDw44或Epican或细胞外基质受体III或GP90淋巴细胞归巢/粘附受体或HUTCH I或硫酸乙酰肝素蛋白聚糖或Hermes抗原或透明质酸受体或吞噬糖蛋白1或CD44)、CD40配体(T细胞抗原Gp39或TNF相关激活蛋白或肿瘤坏死因子配体超家族成员5或CD154或CD40LG)激活剂;肿瘤坏死因子受体超家族成员13B(跨膜激活剂和CAML相互作用因子或CD267或TACI或TNFRSF13B);对表达肿瘤坏死因子受体超家族成员17的细胞具有细胞毒性(B细胞成熟抗原或CD269或TNFRSF17)、CD276抗原(B7同源物3或4Ig B7 H3或共刺激分子或CD276)、髓系细胞表面抗原CD33(唾液酸结合Ig样凝集素3或gp67或CD33)、ADP核糖基环化酶/环状ADP核糖水解酶1(环状ADP核糖水解酶1或T10或2'磷酸ADP核糖基环化酶/2'磷酸环状ADP核糖转移酶或ADP核糖基环化酶1或CD38或EC 3.2.2.6或EC 2.4.99.20)、C型凝集素结构域家族14成员A(表皮生长因子受体5或EGFR5或CLEC14A)、肝细胞生长因子受体(原癌基因c Met或酪氨酸蛋白激酶Met或HGF/SF受体或离散因子受体或MET或EC 2.7.10.1)、上皮细胞粘附分子(腺癌相关抗原或细胞表面糖蛋白Trop 1或上皮细胞表面抗原或上皮糖蛋白314或KS1/4抗原或KSA或肿瘤相关钙信号转导因子1或CD326或EPCAM)、神经节苷脂GD3、白细胞介素13受体亚基α2(白细胞介素13结合蛋白或CD213a2或IL13RA2);κ骨髓瘤抗原(KMA)、λ骨髓瘤抗原(LMA)、潜伏膜蛋白1(蛋白p63或LMP1)、黑素瘤相关抗原、对表达T淋巴细胞激活抗原CD80的细胞具有细胞毒性(激活B7-1抗原或CTLA 4反受体B7.1或CD80);对表达T淋巴细胞激活抗原CD86的细胞具有细胞毒性(激活B7-2抗原或CTLA 4反受体B7.2或CD86)失活酪氨酸蛋白激酶跨膜受体ROR1(神经营养酪氨酸激酶受体相关1或ROR1或EC 2.7.10.1)、Fas凋亡抑制

分子3(IgM Fc片段受体或Fas诱导型细胞凋亡调控因子Toso或TOSO或FAIM3或FCMR)、T细胞受体β1链C区(TRBC1)、血管内皮生长因子受体2(胎肝激酶1或激酶插入结构域受体或蛋白酪氨酸激酶受体flk 1或VEGFR2或CD309或KDR或EC 2.7.10.1)、甲胎蛋白(α1胎蛋白或α胎蛋白或AFP)、癌症/睾丸抗原1(自身免疫原性癌症/睾丸抗原NY ESO 1或癌症/睾丸抗原6.1或L抗原家族成员2或CTAG1A或CTAG1B)、T细胞表面糖蛋白CD5(淋巴细胞抗原T1/Leu 1或CD5)、脯氨酰内肽酶FAP(170kDa黑素瘤膜结合明胶酶或二肽基肽酶FAP或整合膜丝氨酸蛋白酶或成纤维细胞激活蛋白α或明胶降解蛋白酶FAP或透明质酸酶或FAP或EC 3.4.21.26或EC 3.4.14.5)、神经细胞粘附分子1(由单克隆抗体5.1H11识别的抗原或CD56或NCAM1)、C型凝集素结构域家族12成员A(骨髓抑制性C型凝集素样受体或树突细胞相关凝集素2或C型凝集素样分子1或CLEC12A)、整联蛋白αV(玻连蛋白受体亚基α或CD51或ITGAV);对表达整联蛋白β6的细胞具有细胞毒性(ITGB6)、白细胞介素13受体亚基α2(白细胞介素13结合蛋白或CD213a2或IL13RA2)、滋养层细胞糖蛋白(M6P1或5T4癌胚抗原或5T4癌胚滋养层细胞糖蛋白或Wnt激活抑制因子1或TPBG)、滋养层细胞糖蛋白(M6P1或5T4癌胚抗原或5T4癌胚滋养层细胞糖蛋白或Wnt激活抑制因子1或TPBG)、C型凝集素结构域家族12成员A(骨髓抑制性C型凝集素样受体或树突细胞相关凝集素2或C型凝集素样分子1或CLEC12A)、SLAM家族成员7(CD319或膜蛋白FOAP 12或CD2样受体激活细胞毒性细胞或新型Ly9或蛋白19A或CD2亚群1或CS1或SLAMF7)、SLAM家族成员7(CD319或膜蛋白FOAP 12或CD2样受体激活细胞毒性细胞或新型Ly9或蛋白19A或CD2亚群1或CS1或SLAMF7)、免疫球蛋白、多药耐药性相关蛋白3(MRP3)、原癌基因酪氨酸-蛋白激酶ABL1、前列腺酸性磷酸酶、OY-TES-1、ACSM2A、α-辅肌动蛋白-4、脂滴包被蛋白-2、α-胎蛋白、淋巴原始细胞危象致癌基因(Lbc)癌蛋白、醛脱氢酶1家族成员A1(ALDH1A1)、AML、ANKRD17、NY-BR-1、膜联蛋白II、ARHGAP17、ARHGAP30、ARID1B、内质网驻留蛋白、5'-氨基咪唑-4-甲酰胺-1-β-d-核糖核苷酸转甲酰酶/肌苷酸酶(AICRT/I)、ATR、ATXN2、ATXN2L、BAGE1、BCL11A、Bcl-xL、断裂点簇集区、存活蛋白、活素(Livin)/ML-IAP、HM1.24、含BTB结构域2(BTBD2)、C6ORF89、碳酸酐酶IX、CLCA2、CRT2、CAMEL、CAN蛋白、半胱天冬酶-5、半胱天冬酶-8、KM-HN-1、CCDC88B、细胞周期蛋白B1、细胞周期蛋白D1、CCNI、CDC2、CDC25A、CDC27、CDK12、肠羧酸酯酶、CEP95、CHAF1A、毛状蛋白样1、CPSF、CRYBA1、TRAG-3、巨噬细胞集落刺激因子、CSNK1A1、黑素瘤相关硫酸软骨素蛋白聚糖(MCSP)、组织蛋白酶H、Kita-kyushu肺癌抗原1、P450 1B1或CYP1B1、DDR1、DEK致癌基因、DEK-CAN、Dickkopf-1(DKK1)、DNAJC8、DSCAML1、EEF2、含延伸因子Tu GTP结合结构域或SNRP116、EIF4EBP1、人Mena蛋白、EP300、ETV5、TEL1或ETV6、zeste同源物多梳家族蛋白增强子2(EZH2)、F2R、F4.2、FAM53C、成纤维细胞生长因子5或FGF5、白细胞中的形成蛋白相关蛋白1(FMNL1)、纤调蛋白(FMOD)、FNDC3B、FKHR、GDP-L-岩藻糖、GAS7、GFI1、GIGYF2、GPNMB、O、A1、GPSM3、GRK2、GRM5、H3F3A、HAUS3、HERC1、HERV-K-MEL、HIVEP2、HMGN、HMHA1、血红素加氧酶-1(HO-1)、HNRPL、乙酰肝素酶、HMSD-v编码的mHA、HSPA1A、Hsp70、HSPB1、即刻早期应答基因X-1(IEX-1)、胰岛素样生长因子(IGF)-II mRNA结合蛋白3(IMP-3)、IP6K1、IRS2、ITGB8、JUP、RU2AS、KANSL3、KLF10、KLF2、KLK4、KMT2A、K-ras、低密度脂质受体(LDLR)、LDLR-FUT、Mac-2结合蛋白、KIAA0205、LPP、LRP1、LRRC41、LSP1、LUZP1、淋巴细胞抗原6复合物基因座K(LY6K)、MACF1、MAP1A、MAP3K11、MAP7D1、母系蛋白-2、Mcl-1、MDM2、苹果酸酶、MEF2D、MEFV、乳脂肪球膜蛋白BA46(乳凝集素)、黑素转铁蛋白、GNT-V或N-乙酰葡糖氨基转移酶V、MIIP、MMP14、基质金属

蛋白酶-2、MORC2、黑素瘤抗原p15、MUC2、MUM、MYC、MYL9、非常规肌球蛋白I类基因、N4BP2、NCBP3、NCOA1、NCOR2、NFATC2、NFYC、NIFK、Ninein、NPM、NPM1-ALK1、N-ras、OAS3、P多肽、OGT、OS-9、ErbB3结合蛋白1、PAGE-4、P21激活丝氨酸激酶2(PAK2)、新-PAP、PARP12、PAX3、PAX3-FKHR、PCBP2、磷酸甘油酸酯激酶1(PKG1)、PLEKHM2、早幼粒细胞性白血病或PML、PML-RARA、POLR2A、亲环蛋白B、PPP1CA、PPP1R3B、过氧化物还原酶5、蛋白酶3、甲状旁腺激素相关蛋白(PTHrP)、受体样蛋白酪氨酸磷酸酶κ、MG50、NY-MEL-1或RAB38、RAGE、RALGAPB、RARα、RBM、RCSD1、恢复蛋白、RERE、RGS5、RHAMM/CD168、RPA1、核糖体蛋白L10a、核糖体蛋白S2、RREB1、RSRP1、RTCB、SART、SCAP、乳腺珠蛋白A、Secernin 1、SDCBP、SETD2、SF3B1、肾遍在蛋白1、SIK1、SIRT2、SKI、发夹结合蛋白、SLC35A4、Prostein、SLC46A1、SNRPD1、SOGA1、SON、SOX10、SOX11、SOX2、SOX-4、精子蛋白17、SPEN、SRRM2、SRSF7、SRSF8、SSX1、SSX2或HOM-MEL-40、SSX4、STAT1、STEAP、STRAP、ART-1、SVIL、HOM-TES-14/SCP1、CD138、SYNM、SYNPO、SYT、SYT15、SYT-SSX1、SYT-SSX2、SZT2、TAPBP、TBC1D10C、TBC1D9B、hTERT、THNSL2、THOC6、TLK1、TNS3、TOP2A、TOP2B、ATP依赖性干扰素应答因子(ADIR)、TP53、磷酸丙糖异构酶或TPI1、原肌球蛋白-4、TPX2、TRG、T细胞受体γ替代阅读框蛋白(TARP)、TRIM68、前列腺特异性蛋白瞬时受体电位-p8(trp-p8)、TSC22D4、TTK蛋白激酶(TTK)、胸苷酸合酶(TYMS)、UBE2A、泛素缀合酶变体Kua、COA-1、USB1、NA88-A、VPS13D、BING4、WHSC1L1、WHSC2、WNK2、WT1、XBP1、XPO1、ZC3H14、ZNF106、ZNF219、乳头状瘤病毒结合因子(PBF)、E3泛素-蛋白连接酶UBR4。

[0272] 在本公开的一些实施方案中,TCR、CAR和/或SUPRA-CAR可不包含与选自上述受体/配体/靶标组的抗原结合的抗原结合结构域。

[0273] 在一些优选的实施方案中,TCR、CAR和/或SUPRA-CAR可包含与选自由以下组成的组的抗原结合的抗原结合结构域:CD19、CD20、CD22、GD2、CD133、EGFR、GPC3、CEA、MUC1、间皮素、IL-13R、PSMA、ROR1、CAIX、Her2。

[0274] 在引入编码蛋白质的核酸后,NKT样细胞或NKT样细胞可在培养中扩增。用于培养和扩增细胞的合适方法和试剂是本领域技术人员熟知的。在扩增之后,本公开的方法可进一步包括用NKT细胞激活剂、T细胞激活剂和/或NK细胞激活剂激活所述细胞的步骤。NKT细胞激活剂、T细胞激活剂和NK细胞激活剂可如上文详述。

[0275] 在一些实施方案中,如上所述本公开的细胞或靶向细胞用于递送有效载荷如核酸、dsRNA、siRNA、微小RNA、dsDNA、ssDNA、cDNA、rRNA、mRNA、tRNA、siRNA、dsRNAi、RNAi、有机化合物、细胞毒性药物、抗体、维多汀(vedotin)、奥佐米星(ozogamicine)、恩他新(emtansine)、德卢替康(deruxtecan)、默坦辛(mertansine)、马佛多汀(mafodotin)、微管蛋白抑制剂、单甲基奥瑞斯他汀-E(MMAE)和单甲基奥瑞斯他汀-F(MMAF)是尾海兔素-10的肽类似物、美登木素生物碱、长春花生物碱、卡奇霉素、倍癌霉素、吡咯并苯二氮杂䓬二聚体、他立林(talirine)、特司林(tesirine)、吲哚并苯并二氮杂䓬假二聚体、索他新(soravtansine)、DM1、DM4、神经递质、DNA嵌入剂、抗代谢药、内皮抑素、神经营养蛋白、化学疗法或生长因子、或抗体、毒素、放射物、抗生素、抗真菌剂、抗病毒剂、受体、病毒、细胞因子、脂质、趋化因子、肽和蛋白质、抗寄生虫药、激素、抗原、神经活性剂、受体激动剂或拮抗剂、小分子或任何类型的生物有效载荷或生物活性有效载荷。

[0276] 在本公开的一些实施方案中,本公开的细胞可用于递送不是上述有效载荷中的一

者或多者的有效载荷。

[0277] ---

[0278] 本公开还提供了治疗受试者的癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病(也称为微生物疾病)的方法。在一些实施方案中,治疗方法是如本文别处描述的在受试者中产生NKT样细胞群体的方法。在一些实施方案中,治疗方法是如本文别处描述的在受试者中动员NKT样细胞群体的方法。在这些实施方案中,NKT样细胞可以通过本文别处描述的一种机制治疗癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病。在其它实施方案中,治疗方法是包括向受试者施用治疗有效剂量的本公开的分离的NKT样细胞的方法。这些可以是上文概述的任何分离的NKT样细胞或NKT样细胞群体,包括上述扩增的和未扩增的、和/或激活的或未激活的、和/或转染的或未转染的细胞。在这些实施方案中,受试者、癌症、自身免疫性疾病、感染性疾病和/或治疗功效的机制可如上文详细描述。

[0279] 在治疗方法是包括向受试者施用治疗有效剂量的本公开的分离的NKT样细胞的方法的实施方案中,向其施用分离的细胞的受试者可以是从其分离所述细胞的同一受试者。在此类实施方案中,治疗可被称为自体细胞治疗。术语“自体”是指源自同一个体的任何材料,所述材料稍后被重新引入所述同一个体,无论所述个体是人类还是其它动物。在治疗方法是包括向受试者施用治疗有效剂量的本公开的分离的NKT样细胞的方法的其它实施方案中,向其施用分离的细胞的受试者可不同于从其分离所述细胞的受试者。在此类实施方案中,治疗可被称为同种异体细胞治疗。术语“同种异体”是指源自一个个体的任何材料,所述材料然后被引入同一物种的另一个个体,无论所述个体是人类还是其它动物。即,在治疗方法是包括向受试者施用治疗有效剂量的本公开的分离的NKT样细胞的方法的实施方案中,所述细胞可来自自体或同种异体来源。将本公开的分离的NKT样细胞施用于受试者的方法的治疗功效在实施例16中进行描述。

[0280] 根据本公开的治疗受试者的癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病的方法可进一步包括向所述受试者施用NKT细胞激活剂、T细胞激活剂和/或NK细胞激活剂的步骤。这些可如上文详细描述。根据本公开治疗受试者的癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病的方法可以包括将本公开的糖皮质激素或细胞与一种或多种另外的剂,例如如以上概述的NKT细胞激活剂、T细胞激活剂和/或树突状NK细胞激活剂,或化学治疗剂,诸如免疫检查点抑制剂组合施用于受试者。在这种情况下,“组合”可能意味着同时施用或可能意味着单独和/或以任何顺序依次施用。

[0281] 如本文所用,术语“施用”是指使用本领域技术人员已知的各种方法和递送系统中的任一种将剂物理引入受试者中。本文公开的剂的示例性施用途径包括静脉内、肌内、皮下、腹膜内、脊髓或其它肠胃外施用途径,例如通过注射或输注。如本文所用的短语“胃肠外施用”意指除经肠和局部施用外的施用方式,通常通过注射进行,并且包括但不限于静脉内、肌内、动脉内、鞘内、淋巴管内、病灶内、囊内、眶内、心内、真皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊柱内、硬膜外和胸骨内注射和输注以及体内电穿孔。在一些实施方案中,本文公开的剂可通过非肠胃外途径(例如口服)施用。其他非肠胃外途径包括经局部、经表皮或经粘膜施用途径,例如鼻内、经阴道、经直肠、舌下或经局部施用。

[0282] 如本文所用的短语“全身注射”非排他地涉及静脉内、腹膜内、皮下、经鼻粘膜下层、舌下、经支气管镜检查、静脉内、动脉内、肌内、眼内、纹状体内、皮下、皮内、通过真皮贴

剂、通过皮肤贴剂、通过贴剂、进入脑脊液、进入门静脉、进入脑、进入淋巴系统、胸膜内、眶后、真皮内、进入脾脏、淋巴内等等。

[0283] 如本文使用的术语“注射部位”非排它性地涉及肿瘤内或器官内(诸如肾或肝脏或胰腺或心脏或肺或脑或脾或眼)、肌内、眼内、纹状体内、真皮内、通过真皮贴剂、通过皮肤贴剂、通过贴剂、进入脑脊液、进入脑等等。

[0284] 在本公开的一些优选的实施方案中,糖皮质激素受体调节剂可口服施用。在本公开的治疗方法是包括向受试者施用治疗有效剂量的本公开的分离的NKT样细胞的方法的实施方案中,所述细胞可通过胶原基质、细胞外基质组合物、由纤维蛋白或其它细胞外基质材料制成的生物聚合物微丝、含有细胞外基质和生物可降解材料的贴剂、纤维蛋白贴剂、基于海藻酸盐或琼脂糖的贴剂、由细胞外基质材料和可非排他性地涉及诸如葡聚糖的组分的生物可降解的生理学上惰性材料组成的支架、具有器官特异性抗原或结合分子的包被干细胞、残留细胞外基质(也称为支架或脱细胞器官,来自离体消化的器官供者或遗体器官)以及隐形眼镜等等直接施加至器官或肿瘤。优选地,所述细胞通过选自由以下组成的组的方法施用于所述受试者:静脉内注射、腹膜内注射、淋巴管内注射、鞘内注射、注射到脑脊液(CSF)中、直接注射到肿瘤中或作为放置在实体瘤上或附近的凝胶。

[0285] 在本公开的一些实施方案中,用于本文公开的剂和细胞的施用途径可以不是上述途径中的一者或多者。

[0286] ---

[0287] 本公开还提供了用于如上文详细描述的产生/动员NKT样细胞群体的方法中的糖皮质激素受体(GR)调节剂和ICAM3调节剂。本公开还提供了用于治疗受试者的癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病(也称为微生物疾病)的方法中的糖皮质激素受体(GR)调节剂和ICAM3调节剂,其中所述治疗方法是如上文详细描述的在受试者中产生/激活/动员NKT样细胞群体的方法。优选的实施方案包括用于如上文详细描述的产生和/或动员NKT样细胞群体的方法中的糖皮质激素,以及用于治疗受试者的癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病的方法中的糖皮质激素,其中所述治疗方法是如上文详细描述的在受试者中产生和/或动员NKT样细胞群体的方法。其它优选的实施方案包括用于如上文详细描述的动员NKT细胞群体的方法中的糖皮质激素。在一些特别优选的实施方案中,糖皮质激素是地塞米松。

[0288] 本公开还提供了糖皮质激素受体(GR)调节剂或ICAM3调节剂在制造用于如上文详细描述的产生/动员NKT样细胞群体的方法中的药物的用途。本公开还提供了糖皮质激素受体(GR)调节剂或ICAM3调节剂在制造用于治疗受试者的癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病(也称为微生物疾病)的方法中的药物的用途,其中所述治疗方法是如上文详细描述的在受试者中产生和/或动员NKT样细胞群体的方法。

[0289] 本公开还提供了糖皮质激素受体(GR)调节剂或ICAM3调节剂用于诱导和/或动员NKT样细胞群体的用途,其中所述NKT样细胞群体通过如上文详细描述的在受试者中产生和/或动员细胞群体的方法来诱导。

[0290] ---

[0291] 本公开还提供了产生诱导型多能干细胞(iPSC)的方法,所述方法包括对本公开的NKT样细胞进行重编程以产生iPSC。用于产生iPSC的方法中的本公开的NKT样细胞可以是通过如上文详细描述的方法产生和分离的NKT样细胞。

[0292] 在所公开的产生iPSC的方法的一些实施方案中,重编程包括将编码Oct3/4、Klf4、Sox2和C-myc的一个或多个表达盒引入本公开的细胞中。在一些实施方案中,重编程包括将Oct3/4、KLF4、Sox2和c-myc编码mRNA引入细胞中。在所公开的产生iPSC的方法的一些其它实施方案中,重编程可进一步包括将编码以下中的一者或多者的一个或多个表达盒引入所述细胞中:Sox1、Sox3、Sox15、Klf1、Klf2、Klf5、L-myc、N-myc、Nanog和/或LIN28。在其它实施方案中,重编程可进一步包括将以下中的一者或多者引入所述细胞中:Sox1、Sox3、Sox15、Klf1、Klf2、Klf5、L-myc、N-myc、Nanog和/或LIN28编码mRNA。用于将表达盒或编码mRNA引入细胞中的合适方法是本领域技术人员熟知的——例如通过电穿孔、细胞显微注射或基于脂质体的转染方法。已经描述了使用包括慢病毒和腺病毒系统在内的逆转录病毒系统对iPSC中的非多能细胞进行重编程(Stadtfeld等人,2008,其特此以引用的方式整体并入)。成体细胞重编程为iPSC也可通过质粒完成,而无需使用病毒转染系统(Okita等人,2008,其特此以引用的方式整体并入)。

[0293] Oct-3/4

[0294] Oct-3/4(Pou5f1;可从Bioclone,San Diego CA获得的cDNA)是八聚体(“Oct”)转录因子家族中的一者,并且在维持多能性中起关键作用。Oct-3/4+细胞如卵裂球和胚胎干细胞中Oct-3/4的缺乏导致自发滋养层细胞分化,并且存在Oct-3/4因此产生胚胎干细胞的多能性和分化潜能。“Oct”家族中的各种其它基因(包括Oct-3/4的近亲Oct1和Oct6)未能引发诱导,从而证明Oct-3/4对诱导过程的排他性。

[0295] Klf家族:

[0296] Klf家族基因的Klf4是用于产生小鼠iPS细胞的因子。Klf2(可从Bioclone,Inc.,San Diego,CA获得的cDNA)和Klf4(可从Bioclone,Inc.,San Diego,CA获得的cDNA)是能够产生iPS细胞的因子,并且相关基因Klf1(可从Bioclone,Inc.,San Diego,CA获得的cDNA)和Klf5(可从ioclone,Inc.,San Diego,CA获得的cDNA)也如此,尽管效率降低。

[0297] Sox家族

[0298] Sox基因家族与维持多能性相关,类似于Oct-3/4,但是它与多潜能和单能干细胞相关,与仅在多能干细胞中表达的Oct-3/4形成对比(Bowles等人,2000,其特此以引用的方式整体并入)。虽然Sox2(可从Bioclone,San Diego,CA获得的cDNA)是用于诱导的初始基因,但已发现Sox家族中的其它基因在诱导过程中也起作用。Sox1(可从Bioclone,Inc.,San Diego,CA获得的cDNA)产生与Sox2具有相似效率的iPS细胞,并且基因Sox3(可从Bioclone,Inc.,San Diego,CA获得的人cDNA)、Sox15和Sox18也产生iPS细胞,尽管效率降低。

[0299] Myc家族

[0300] Myc基因家族是牵涉于癌症中的原癌基因。C-myc(可从Bioclone,Inc.,San Diego,CA获得的cDNA)是牵涉于小鼠iPS细胞产生中的因子。然而,c-myc对于人iPS细胞的产生可能不是必需的。在iPS细胞诱导中使用“myc”基因家族对iPS细胞作为临床疗法的不测事件是麻烦的,因为25%的移植有c-myc诱导型iPS细胞的小鼠发展致命性畸胎瘤。N-myc(可从Bioclone,Inc.,San Diego,CA获得的cDNA)和L-myc已被鉴定为代替c-myc以相似的效率诱导。

[0301] Nanog

[0302] 在胚胎干细胞中,Nanog(可从Bioclone,Inc.,San Diego,CA获得的cDNA)以及

Oct-3/4和Sox2对于促进多能性是必需的(Chambers等人,2003,其特此以引用的方式整体并入)。

[0303] LIN28

[0304] LIN28(可从Bioclone,Inc.,San Diego,CA获得的cDNA)是在胚胎干细胞和胚胎癌细胞中表达的与分化和增殖相关的mRNA结合蛋白(Moss和Tang,2003,其特此以引用的方式整体并入)。

[0305] 在一些实施方案中,所公开的产生iPSC的方法进一步包括诱导本公开的iPSC分化的步骤。在一些优选的实施方案中,所公开的方法可进一步包括诱导本公开的iPSC分化成NKT细胞。因此,本公开还提供了产生NKT细胞群体的方法,所述方法包括使通过根据本公开的方法产生的iPSC分化成NKT细胞谱系。在一些实施方案中,所公开的方法可进一步包括诱导本公开的iPSC分化成T细胞。因此,本公开还提供了产生T细胞群体的方法,所述方法包括使通过根据本公开的方法产生的iPSC分化成T细胞谱系。此类分化细胞可用于根据本公开治疗受试者的癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病(也称为微生物疾病)的方法中。

[0306] ---

[0307] 本公开还提供了产生如本文别处公开的自然杀伤T细胞样细胞(NKT样细胞)群体、分离的NKT样细胞或分离的NKT样细胞群体的体外方法。本公开的体外方法可以包括:获得CD3高CD49b-细胞或细胞群体;并且,使一个或多个CD3高CD49b-细胞与一种或多种细胞因子接触;其中接触步骤诱导所述一个或多个细胞变成本公开的NKT样细胞。所述NKT样细胞可通过它们表达的表面蛋白的模式来进行表征,如本文别处所述。在一些实施方案中,CD3高CD49b-细胞或细胞群体可以获自受试者,诸如人类受试者。受试者可以是本文别处定义的受试者。在一些实施方案中,接触步骤可以包括使所述一个或多个细胞与如本文别处描述的NKT细胞激活剂、T细胞激活剂和/或NK细胞激活剂接触。在一些实施方案中,所述一种或多种细胞因子可以包括本文别处描述为NKT细胞激活剂、T细胞激活剂和/或NK细胞激活剂的一种或多种细胞因子。在一些实施方案中,所述一种或多种细胞因子可包括本文别处描述的一种或多种细胞因子。在一些实施方案中,所述一种或多种细胞因子可以包括IL-2和IFNγ。在一些实施方案中,所述一种或多种细胞因子可包括IL-2、IFNγ和一种或多种另外的细胞因子。本公开的体外方法可以进一步包括分离、激活、扩增、引入核酸、对靶标的基因工程化、连接至肿瘤靶向部分等的步骤,如本文别处所述。通过本公开的体外方法产生的所述一个或多个细胞可以用于将NKT样细胞施用于受试者的治疗方法,以及产生如本文别处描述的诱导多能干细胞(iPSC)的方法。

[0308] ---

[0309] 本公开还提供了通过本文公开的任何方法产生或动员的分离的NKT样细胞,以及通过本文公开的任何方法产生或动员的分离的NKT样细胞群体。还提供了通过本文别处详细描述的表面蛋白的模式表征的NKT样细胞和分离的NKT样细胞群体,以及此类细胞在本公开的治疗方法中的用途。

[0310] 实施例

[0311] 以下实施例证明,高剂量糖皮质激素受体激动剂除了引起外周血淋巴细胞的几乎完全淋巴细胞清除(而不影响嗜中性粒细胞、血小板、RBC和干细胞的细胞计数)外,还可诱导在受试者(包括人免疫系统(HIS)小鼠和人类)中产生和动员新型NKT样细胞群体。

[0312] 这些实施例还证明,除了具有NKT细胞的已知性质外,通过高剂量糖皮质激素受体激动剂诱导的NKT样细胞群体还具有新型表面蛋白表达模式,这使得它们能够直接吞噬癌细胞并表现出针对实体癌的增强的细胞毒性功效。

[0313] 因此,高剂量的糖皮质激素激动剂代表了用于治疗癌症和由免疫细胞如淋巴细胞介导的疾病的有希望的疗法。

[0314] 缩写

[0315] 术语:

[0316] • ab αβ

[0317] • A20 小鼠B淋巴瘤

[0318] • AVM_NKT CD56+gdTCR+invTCR+人细胞

[0319] • BM 骨髓

[0320] • CanMod 癌症模型

[0321] • CBC 全血细胞计数

[0322] • CD 分化簇

[0323] • CD19 B淋巴细胞标志物

[0324] • CD3 T淋巴细胞标志物

[0325] • CD4 辅助性T淋巴细胞标志物

[0326] • CD45 白细胞标志物

[0327] • CD49b 小鼠自然杀伤标志物

[0328] • CD56 人自然杀伤标志物

[0329] • CD8 细胞毒性T淋巴细胞标志物

[0330] • CNS 中枢神经系统

[0331] • CR 完全应答

[0332] • Cy/Flu 环磷酰胺/氟达拉滨

[0333] • DN 双阴性

[0334] • DP 磷酸地塞米松

[0335] • DOB 出生日期

[0336] • DOM 制造日期

[0337] • DSP 地塞米松磷酸钠

[0338] • FDA 美国食品和药物管理局

[0339] • FSC 正向散射(细胞大小)

[0340] • gd γδ

[0341] • GMP 药品生产质量管理规范

[0342] • GP 祖父母

[0343] • hCD45 人CD45

[0344] • HED 人体等效剂量

[0345] • Inv 不变

[0346] • LyDep 淋巴细胞清除研究

[0347] • mCD45 小鼠CD45

[0348] • MCL 套细胞淋巴瘤

[0349] • MFI 平均荧光强度。

[0350] • Neoadj 新辅助

[0351] • NHL 非霍奇金淋巴瘤

[0352] • NK 自然杀伤细胞

[0353] • NKT 自然杀伤T细胞

[0354] • NKT新 AVM NKT细胞

[0355] • NOD 非肥胖糖尿病小鼠

[0356] • PBS 磷酸盐缓冲盐水

[0357] • PFA 低聚甲醛

[0358] • PR 部分应答

[0359] • R/R 复发/难治性

[0360] • SBIR 小型企业创新研究

[0361] • SD 疾病稳定

[0362] • SSC 侧向散射(细胞复杂度)

[0363] • TCRα/β T细胞受体αβ

[0364] • TCRg/d T细胞受体γδ

[0365] • TCRinv T细胞受体不变

[0366] • UC 脐带

[0367] • WBC 白细胞

[0368] 材料和方法

[0369] 急性高剂量地塞米松在本文中也可称为Dex、AugmenStem™、PlenaStem™或AVM0703。在施用急性高剂量地塞米松(AVM0703)后诱导的新型NKT样细胞群体在本文中也可称为NKT细胞或AVM-NKT细胞。

[0370] 对于初始淋巴细胞清除研究,将初次接受试验的C57B1/6小鼠通过经口灌胃用18mg/kg HED DP进行处理。雄性C57BL/6小鼠从Taconic Bioscience(Germantown,NY)获得并适应实验室条件至少一周。向小鼠一次口服给予18mg/kg磷酸地塞米松(DP)或安慰剂并保持到时间点。根据表3,每个给药时间点组伴随有相同年龄和条件的安慰剂组。使用GLP级AVM0703和安慰剂在24小时、48小时、72小时、5天、7天、11天、13天时间点给药。使用GMP级AVM0703和安慰剂在6小时、21天、28天、35天时间点给药。当小鼠达到研究时间点时,如下对它们实施安乐死。用异氟烷气体对小鼠进行麻醉。麻醉后,通过心脏穿刺抽血并立即置于肝素内衬的微管中。10mL的5U/mL肝素/PBS用于通过腹主动脉缓慢推动进行输注来进行逆行灌注,以冲洗掉脉管系统中所有剩余的血液。随后,将250uL的血液转移至顶部淡紫色的内衬EDTA的微管中,并运输至由Lynette Brown在Flow Contract Site Labs(Bothell,WA)通过流式细胞术进行分析。剩余的血液送至Phoenix Labs(Mukilteo,WA)进行全血细胞计数和临床化学

[0371] 为了表征人类中诱导/动员的NKT样细胞(AVM-NKT)群体,将人类受试者的全血抽取到K2 EDTA真空采血管(367862,BD Biosciences,NJ)中并在室温下运送到AVM Biotechnology。将100μl全血用以下抗体染色:CD45 AF700(2D1)、CD16 APC(3G8)、iNKT

PECy7(6B11)、CD8 PE(SK1)、CD14 FITC(M5E2)、CD56 BV650(5.1H11)、γδTCR BV510(B1)、CD19 BV421(HIB19)、NKp44 APC(P44-8)(全部来自Biolegend,San Diego,CA)和CD3 APCVio770(BW264/56),(Miltenyi Biotec,San Jose,CA),将7-AAD(Biolegend,San Diego CA)纳入以区分活细胞和死细胞。抗体染色在室温下进行15分钟。使用BD FACS裂解液(BD Biosciences,San Diego CA)在室温下裂解样品中存在的红细胞10分钟,然后洗涤并重悬于300μl 1X DPBS CMF中。纳入来自BloodWorks(Seattle,WA)的健康患者血液、未染色的和荧光减一(FMO)作为对照。在MACSQuant 16(序列号#40150,Miltenyi Biotec,San Jose,Ca)流式细胞仪上分析250μl样品。使用Kaluza 2.1(Beckman Coulter Lifesciences,Indianapolis,IN)软件对不同免疫群体的数据进行分析。将Kaluza分析的流式细胞术获得的数据组合以确定从活的CD45淋巴细胞门控的不同细胞群体:CD3+T细胞、CD8+细胞毒性T细胞、CD3+CD56+(NKT细胞)CD3-CD56+、CD3-CD56亮(NK细胞)和CD3-CD19+(B细胞)、CD3+γδTCR+细胞、CD3+γδTCR亮细胞、CD3+iTCR+细胞、活的WBC CD3-CD16亮粒细胞、活的WBC CD3-CD14+单核细胞。数字以%WBC和每微升细胞数报告。

[0372] 人源化小鼠实验采用高浓度、大容量的AVM0703制剂,该制剂含有活性药物成分地塞米松磷酸钠。AVM0703含有26.23mg/mL地塞米松磷酸钠(相当于24mg/mL磷酸地塞米松,DP)、10mg/mL柠檬酸钠、0.5mg/mL依地酸二钠和0.035mg/mL亚硫酸钠(无水)。用于这些研究的AVM0703材料为GMP级并且是由Hospira,Australia制造的。本报告中的所有AVM0703给药信息均就磷酸地塞米松而言。雌性huNOG-EXL小鼠(n=6)获自Taconic Bioscience(Germantown,NY)。雌性huCD34-NCG小鼠(n=8)获自Charles River(Wilmington,MA)。来自两个机构的小鼠都适应实验室条件至少5-6天。

[0373] 向小鼠三次口服给药32mg/kg磷酸地塞米松(DP)或安慰剂并保持到时间点。在第一剂(03/01/2021)和第二剂1周后(03/08/2021)后,当小鼠达到预定时间点时,通过脸颊穿刺对它们放血至70uL/只小鼠。通过流式细胞术分析血液。在前一剂量后28天(04/05/2021)施用第三剂后,当小鼠达到研究时间点时,根据此处总结的标准操作规程对它们实施安乐死:用异氟醚气体麻醉小鼠。一经麻醉,就通过心脏穿刺抽血,立即将至少300uL血液置于EDTA内衬的微管中,以通过流式细胞术进行分析,并在标准微量离心管中单独收集300-400uL血液,以允许凝固进行血清收集。

[0374] 使用10mL的5U/mL肝素/PBS通过腹主动脉缓慢推动进行输注来进行逆行灌注,以冲洗掉脉管系统中所有剩余的血液。收集所有小鼠的脾脏、胸腺、股骨和胸骨。将脾脏和胸腺处理成单细胞悬液,用于通过流式细胞术进行分析。使用浸有70%乙醇的纱布清除骨骼中的肌肉并处理骨髓以通过流式细胞术进行分析。根据视频和JoVE教学文件进行胰腺和结肠解剖。通过用22号管饲管施用冰冷的PBS使粪便从结肠中排出。还收集了其它器官,如小肠、盲肠、肾脏、肺和肝脏。从外部去除过量液体后记录所有器官的重量。首先将软器官在4%PFA中固定,然后在24小时后转移至70%乙醇中并储存在4℃下。将骨骼直接储存在4℃的70%乙醇中。处理血液用于流式细胞术分析和血清收集。未进行CBC。

[0375] 所有流式细胞术均在内部进行。通过标准染色方案处理血液、脾脏、胸腺和骨髓以进行流式细胞术。使用MACSQUANT 16进行流式细胞术。第一剂、第二剂和第三剂之间的抗体组库略有不同。第一剂分析后流动组库中的标志物包括活/死、hCD45、mCD45、hCD56、hTCRgd、hCD3、hCD8、hCD16、hCD19、hCD14。第二剂后流动组库中的标志物包括上述所有标志

物,以及hTCRab和hiTCR。在第二剂后的血液分析中,7AAD、CD14和CD19一起纳入转储通道中。后来发现,新型AVM-NKT可能也具有独特的CD19和CD14表达谱。对于第三剂组库设计,当进行全面(full sac)分析时,为上述所有标志物分配独特的通道以避免重叠,但由于开放通道的限制,未将TCRab纳入最终组库中。

[0376] 对于脸颊出血,将70ul血液收集在EDTA涂层微量容器中并进行免疫染色。该组库中使用的抗体是小鼠CD45(克隆:30F-11)、人CD45(克隆:2D1);人CD3(克隆:HIT3a);人CD8(克隆:SK1);人CD16(克隆:3G8);人CD14(克隆:M5E2);人TCRgd(克隆:B1);人CD56(克隆:5.1H11);人CD19(克隆:HIB19)。将血液在室温下对活死标志物染色10分钟,然后在黑暗中在室温下对以上提到的表面抗体染色20分钟。用BD FACS裂解缓冲液裂解RBC并用DPBS洗涤并重悬于300ul DBPS中。将250ul样品在MACSquant 16流式细胞仪上运行。

[0377] 实施例1-急性高剂量糖皮质激素受体激动剂导致外周血淋巴细胞的几乎完全淋巴细胞清除,但诱导独特的NKT细胞群体

[0378] 在国际专利申请PCT/US2019/054395中,本发明作者提出了一系列实验,证明高剂量糖皮质激素受体激动剂可导致外周血淋巴细胞的几乎完全淋巴细胞清除,以及减少淋巴器官中生发中心的数量并耗减胸腺淋巴细胞。这些效果是在不显著影响嗜中性粒细胞、血小板、RBC和干细胞(造血干细胞HSC和间充质干细胞MSC两者)的细胞计数的情况下实现的。

[0379] 在此,在初次接受试验的小鼠中进行的研究表明,施用高剂量糖皮质激素受体激动剂导致外周血淋巴细胞的几乎完全淋巴细胞清除,而不会显著影响嗜中性粒细胞、血小板、红细胞(RBC)和干细胞(HSC和MSC两者)的细胞计数。令人感兴趣地,还发现高剂量糖皮质激素受体激动剂诱导NKT细胞上调。

[0380] 如图1所示,在初次接受试验的小鼠中,与安慰剂相比,高剂量地塞米松(18mg/kg HED DP)显著降低绝对淋巴细胞计数(ALC减去NK和NKT细胞)—在施用后持续长达21天的效果。在施用后6和48小时观察到几乎完全的淋巴细胞清除,其效果与使用标准Cy/Flu化学疗法(13mg/kg HED环磷酰胺和0.8mg/kg HED氟达拉滨)实现的效果相当。

[0381] 在初次接受试验的小鼠中,高剂量地塞米松选择性地消除T和B淋巴细胞(与标准Cy/Flu化学疗法相当;图2)、单核细胞(优于Cy/Flu化学疗法;图3),并在目标临床剂量下淋巴清除嗜中性粒细胞(图4)。嗜碱性粒细胞(仅在6小时时间点减少)、嗜酸性粒细胞(仅在24和48小时时间点减少)、血小板(参见图5)和RBC都不受影响,而HSC(图6)和MSC不受影响或增加。(*p<0.05;#p<0.0001)。

[0382] 出人意料地,高剂量地塞米松还显示诱导NKT上调(图7)和产生新型NKT细胞群体(AVM-NKT)。当通过流式细胞术检查时,这些新型AVM-NKT细胞是CD49b+和CD3极亮(CD3高CD49b+)。先前描述的NKT细胞表达CD3,MFI比AVM-NKT细胞低1log(CD3medCD49b+;图8)。AVM-NKT细胞在高剂量(HED 18.1mg/kg)的糖皮质激素受体激动剂地塞米松和倍他米松施用后48小时出现在初次接受试验的小鼠血液中,但不由标准Cy/Flu化学疗法诱导。

[0383] 剂量递增研究表明,介于6-12mg/kg HED地塞米松碱之间的单剂量可诱导AVM-NKT细胞。15mg/kg HED地塞米松碱诱导AVM-NKT细胞的特别稳健产生,在时间0以6mg/kg和24小时后以6mg/kg施用的6+6mg/kg HED给药日程表也如此。

[0384] 实施例2-AVM-NKT细胞负责体内T和B淋巴细胞清除

[0385] 将来自初次接受试验的雄性C57Bl/6小鼠外周血的单核细胞或单细胞脾细胞与相

等浓度的AVM0703一起孵育,因为急性高剂量AVM0703的峰值血液浓度在体内达到。在向体外外周血单核细胞或单细胞脾细胞添加AVM0703后72小时内,未观察到细胞凋亡。外周血单核细胞或脾细胞体外细胞凋亡的缺乏表明体内淋巴细胞清除主要是由于AVM-NKT细胞的诱导。

[0386] 实施例3-AVM-NKT细胞归巢于肿瘤部位

[0387] 在初步研究中,将初次接受试验的C57Bl/6小鼠用高剂量地塞米松处理,外周血通过流式细胞术在预定的时间间隔进行检查,以表征不同的免疫群体。在用高剂量地塞米松处理后,鉴定了两种NKT细胞群体:定义为CD3medCD49b+的NKT细胞和定义为CD3高CD49b+的新型AVM-NKT细胞群体(图8)。

[0388] 在超药理学剂量(HED 18.1mg/kg)地塞米松(AVM0703)或倍他米松后48小时,AVM-NKT被发现在初次接受试验的小鼠的血液中出现。相反,通过标准Cy/Flu化学疗法和甲基泼尼松,这些细胞均未诱导至任何显著程度。

[0389] 如图9和表2所示,在正常小鼠中,AVM-NKT细胞在地塞米松给药的48小时内在脾脏中被诱导,从地塞米松试验后48小时在外周血中明显,并且在血流中保持明显直到地塞米松施用后第13天。在初次接受试验的安慰剂处理的小鼠的脾脏中未检测到AVM-NKT细胞。环磷酰胺/氟达拉滨施用未诱导这种新型NKT群体。

[0390] 表2:在有和无AVM0703处理的初次接受试验和A20小鼠的血液、脾脏和肿瘤中AVM-NKT细胞的存在

[0391]

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

[0392] NA:不适用;ND:未进行

[0393] 与在正常无疾病小鼠中观察到的AVM-NKT上调的时程相比,对A20 B细胞淋巴瘤荷瘤小鼠中AVM-NKT细胞的定量发现外周血中不存在AVM-NKT细胞。相反,在这些荷瘤小鼠中,AVM-NKT细胞似乎归巢于肿瘤部位—在地塞米松施用后48小时检查时,所述肿瘤部位的坏死增加是明显的(图10A)。另外的时程研究证明,AVM-NKT细胞在给予18mg/kg HED磷酸地塞米松后3小时内最大程度地消融植入小鼠胁腹的A20淋巴瘤,而A20向血液和胸腺的转移在给药后24小时最大程度地根除并且A20向骨髓的转移在给药后48小时最大程度地根除(图10B)。

[0394] 与此一致,高剂量地塞米松显示在A20模型中显著延迟肿瘤生长(图11;实施例6)。因为A20细胞在体外高剂量地塞米松处理后72小时仅经历约30%的细胞凋亡,因此认为AVM-NKT细胞在控制肿瘤生长中起作用。

[0395] 将200万个在收获时细胞密度为1.8e7个细胞/mL的A20 B淋巴瘤细胞与相等体积的Matrigel(各自100ul)混合并皮下注射到BALB/c小鼠的左侧腹中(200ul总体积),从而产生B细胞淋巴瘤的实体瘤模型。在肿瘤形成后(大约7天或约100-150mm^3左右,其是良好建立的肿瘤),将小鼠根据如下所示的给药表进行处理。每周三次用卡尺测量肿瘤体积,并使用

等式V＝L x W2 x 0.5计算肿瘤体积。每周三次和给药日也测量体重以确定适当的剂量。一旦小鼠达到1500mm^{3}的肿瘤体积或体重减轻大于20％,就认为小鼠处于研究终点。当小鼠达到研究终点时,如下对它们实施安乐死。用异氟烷气体对小鼠进行麻醉。一旦麻醉,就通过心脏穿刺抽血,然后用10mL的5U/mL肝素/PBS灌注。通过剥去小鼠右侧后侧的皮肤,从右侧腹移除肿瘤。将皮肤拉长并固定,并用手术刀轻轻刮擦,将肿瘤与皮肤分离。将肿瘤固定48小时,然后将其转移至70％乙醇中并在4℃下储存在盒中。将肿瘤运送至HistotoxLabs(Bolder,CO)进行切片和染色。通过NKp46染色鉴定肿瘤中的NKT细胞。

[0396] 实施例4-血癌增强外周血中AVM-NKT细胞的浓度。

[0397] 在对数生长期,通过尾静脉注射1-5M淋巴瘤细胞将小鼠接种T或B细胞淋巴瘤。6小时至13天后,从小鼠收获血液,并通过流式细胞术对CD3极高(MFI比T淋巴细胞高至少0.5log)且CD49b阳性细胞进行门控或通过对NKp46进行门控来确定血液中的AVM-NKT数量。与初次接受试验或携带实体瘤的小鼠相比,如包裹在Matrigel中并在侧腹皮下植入的T或B淋巴瘤细胞,具有循环T或B淋巴瘤细胞的小鼠在外周血中具有显著增加的AVM-NKT数量。

[0398] 实施例5-在初次接受试验的Balb/c小鼠中在约29mg/kg和更高AVM0703剂量(作为DP给予)后48小时在骨髓和脂肪组织中诱导AVM-NKT。

[0399] Balb/c小鼠具有MHC单倍型“d”:H-2K是d(H-2K$_d$)。H-2D是d(H-2D$_d$)。H2-L是d(H-2L$_d$)。Aαβ是d,d。Eαβ是d,d。Mls1是b。Mls 2是a。I-A是d(I-A$_d$)。I-E是d(I-E$_d$)。Qa-1是b(Qa-1$_b$)。Qa-2是a(Qa-2$_a$)。

[0400] C57Bl/6小鼠具有MHC单倍型“b”:H-2K是b(H-2K$_b$)。H-2D是b(H-2D$_b$)。H2-L是空。Aαβ是b,b。Eαβ是b,b。Mls1是b。Mls 2是b。I-A是b(I-A$_b$)。I-E是空。Qa-1是b(Qa-1$_b$)。Qa-2是a(Qa-2$_a$)。

[0401] 在初次接受试验的Balb/c小鼠中诱导的AVM NKT是CD3 MFI高,类似于在初次接受试验的C57Bl/6小鼠中诱导的外周血AVM-NKT,并且初次接受试验的Balb/c小鼠中的AVM-NKT为TCRγ/δ阳性。许多细胞为NKp46阴性的,从而表明它们未被激活。此实施例证明MHC表达可确定靶器官。

[0402] MHC可控制AVM_NKT细胞的运输:AVM_NKT细胞位于初次接受试验的AVM0703处理的雄性C57Bl6小鼠的血液中。AVM_NKT细胞位于初次接受试验的AVM0703处理的雄性Balb/c小鼠的脂肪和骨髓中。AVM_NKT细胞位于AVM0703处理的雄性荷瘤Balb/c小鼠的肿瘤中。初次接受试验的Balb/c小鼠中的新NKT还为tCRgd阳性、B220-、NKp46+/-、Ly6G-、CD4-、CD8-、CD3高、MFI 10492和CD49b+。

[0403] 实施例6-急性高剂量地塞米松对T细胞和B细胞淋巴瘤具有肿瘤杀伤作用,预防或延迟自发性糖尿病NOD小鼠的高血糖,并逆转早发和已建立的糖尿病NOD小鼠的糖尿病

[0404] 在A20 B细胞淋巴瘤肿瘤模型中高剂量地塞米松显示显著延迟肿瘤生长(图11)。随后的一系列实验(描述于PCT/US2021/019773,其内容特此通过引用整体并入)证实了急性高剂量地塞米松在A20 B细胞淋巴瘤肿瘤模型和T细胞淋巴瘤异种移植物模型(CCRF-CEM)中的肿瘤杀伤作用,并且证明了高剂量地塞米松在早发和已建立的糖尿病NOD小鼠中预防高血糖和逆转糖尿病的能力。

[0405]

表 3：示例性给药日程表

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

[0406] 实施例7-用急性高剂量地塞米松治疗的人类受试者中AVM-NKT细胞的鉴定

[0407] 在小鼠中鉴定AVM-NKT细胞后,对来自用高剂量地塞米松处理的人受试者的档案

数据进行重新分析。

[0408] 在骨关节炎患者中,根据“医师医学实践”的指南,将3-6mg/kg通用地塞米松(由Dr.Loniewski,Advanced Orthopedic Specialists,Brighton,MI)施用于4名患者。

[0409] 对来自4名患者的在用地塞米松剂量处理后48小时采集的流式细胞术数据进行审查,所述剂量是用于在小鼠中最大诱导AVM_NKT的剂量6分之一。来自四名患者之一的CD45/CD56散点图显示,与小鼠中鉴定的AVM-NKT细胞相对应的新细胞群体在处理后约48小时出现(图12)。

[0410] 如图13所示,在以6mg/kg输注第四AVM0703处理后一小时,还在前列腺癌患者中观察到新的CD56极亮细胞群体。所述前列腺癌患者在多年癌症治疗后是无选择患者,并且在间隔至少28天总共接受了4次AVM0703输注。

[0411] 与健康献血者相比,前列腺癌患者具有新的CD3暗细胞群体的证据,所述群体在AVM0703后一小时不再明显;然而,新的CD56极亮细胞群体然后在血液中明显,其在输注后3小时不再观察到。

[0412] 与健康献血者相比,前列腺癌患者在输注前具有CD3暗和NKp46暗细胞群体,并且在以6mg/kg输注AVM0703后一小时,所述患者具有新的CD56极亮CD3暗群体,其为CD45暗/阴性且CD4/CD8双阴性。

[0413] 实施例8-在人源化小鼠中产生和动员人AVM-NKT细胞

[0414] 向通过将人脐带血CD34+干细胞移植到缺乏小鼠B和T淋巴细胞以及NK细胞、但具有功能性小鼠补体系统的受辐射小鼠中而产生的基于Balb/c来自Genoway的背景的BRGSF人源化小鼠口服给药HED 18-45mg/kg DSP。24-48小时后,可观察到对应于在非人小鼠中鉴定的AVM-NKT细胞的新细胞群体。人CD56+细胞可在约36小时至13天后之间的血液中观察到。

[0415] HuCD34-NCG小鼠模型

[0416] 来自Charles River的HuCD34-NCG小鼠是可用于研究的具有人样免疫系统的小鼠模型,通过CD34+干细胞的过继性转移创建。HuCD34-NCG小鼠是评估调节人免疫系统的化合物的有效性的理想体内平台。人源化小鼠中移植物抗宿主病(GvHD)的缺乏或迟发使其成为长期研究的理想选择。

[0417] NCG小鼠在清髓处理后,通过使用人脐带血来源的CD34+干细胞过继性转移而被人源化。来自4个供者的NCG小鼠(n=2/供者)口服给药HED 18-45mg/kg DSP。24-48小时后通过流式细胞术可观察到对应于非人小鼠中鉴定的AVM-NKT细胞的细胞占总脾细胞的约0.2%-3%。人CD56+细胞可在约36小时至13天后之间的血液中观察到。

[0418] huNOG-EXL小鼠模型

[0419] 来自Taconic的huNOG EXL平均有54%的对人CD45呈阳性的CD45细胞。来自3个供者的六只huNOG EXL人源化免疫系统小鼠(n=2/供者)口服给药HED 18-45mg/kg DSP。24-48小时后通过流式细胞术可观察到对应于非人小鼠中鉴定的AVM-NKT细胞的细胞为总脾细胞的约0.2%-3%。人CD56+细胞可在约36小时至13天后之间的血液中观察到。

[0420] 实施例9-在人类受试者中诱导/动员的AVM-NKT(NKT样细胞)的表征。

[0421] 临床前,AVM0703诱导的AVM-NKT细胞已得到表征,并已证明针对小鼠黑素瘤、小鼠B淋巴瘤、人异种移植T淋巴瘤和糖尿病的活性。

[0422] 从用AVM0703治疗的人类癌症受试者中收集血样,并通过以上概述的人全血表面染色方案对细胞进行表征。AVM0703,诱导γδ自然杀伤T样细胞(CD56+γδTCR+)的产生和动员。有趣的是,还发现动员的NKT样细胞会表达iTCR(图14)。这一发现可以解释AVM0703诱导的细胞对癌症和1型糖尿病都有活性的原因,而iNKT和γδT细胞通常被描述为对一种疾病有活性,但对另一种疾病没有活性。动员的细胞通常也是CD16+和NKp44+(图14)。

[0423] 在输注后30分钟内施用AVM0703后,CD56+γδTCR+(1.64%的WBC)细胞动员到全血中。这些细胞是从所有活的WBC(白细胞)中门控的。在代表性受试者中,这些细胞对于iNKT(约96%的新型细胞)、NKp44(约97%的新型细胞)、CD8暗/-(约98%的新型细胞)、CD19+(85%的新型细胞)、CD16+(86%的新型细胞)、CD14+(67%的新型细胞)也呈阳性。此处报告的数字为%CD56+γδTCR+。还发现CD56+γδTCR+iTCR+细胞会表达CD3、CD45,并且在一些情况下不表达CD4。还发现一些CD56+γδTCR+iTCR+细胞会表达αβTCR。

[0424] 实施例10-分离并扩增AVM-NKT细胞,然后用于在细胞疗法之前对患者进行预处理。

[0425] 自体或同种异体AVM-NKT细胞在施用细胞疗法之前6至96小时之间静脉内或腹膜内施用于患者。细胞疗法可用于再生目的、用于治疗癌症、用于治疗自身免疫性疾病或用于治疗感染或需要细胞疗法的任何其它医学疾患。

[0426] 实施例11-AVM-NKT诱导肿瘤溶解综合征

[0427] AVM-NKT靶向肿瘤并形成攻击细胞带,像军队一样从四面八方侵入肿瘤。肿瘤溶解综合征发生,并且在小鼠中不能治疗并可能导致死亡。肿瘤溶解综合征的临床化学标志物升高,如尿酸。肿瘤的肉眼检查显示包裹在肿瘤膜中的污泥状油。

[0428] 实施例12-AVM-NKT细胞用于使患者准备进行癌症或其它严重医学治疗

[0429] 将自体或同种异体AVM-NKT细胞静脉内或腹膜内施用于具有阻止他们进行药物疗法(如化学疗法、细胞疗法、器官或骨髓移植)的行为状态的患者。患者的行为状态得到改善,使得它们有资格接受医学治疗。

[0430] 实施例13-AVM-NKT细胞导致肿瘤假性进展

[0431] 用AVM-NKT细胞治疗的肿瘤似乎继续生长,然而,这种生长是由于AVM-NKT细胞通过释放细胞因子和趋化因子或通过直接接合其它免疫细胞而吸引至肿瘤的其它免疫细胞引起的肿瘤假性进展。最终,肿瘤变得完全无细胞并被吸收。

[0432] 实施例14-AVM-NKT细胞用于治疗任何类型的癌症、移植物抗宿主病、自身免疫或免疫疗法的免疫相关不良事件

[0433] AVM-NKT细胞归巢至并靶向血液癌症和实体癌、和纤维瘤、良性肿瘤以及自身反应性T和B淋巴细胞。

[0434] 实施例15-在用急性高剂量地塞米松治疗的人R/R NHL受试者中以及在用急性高剂量地塞米松治疗的人源化小鼠中检测到AVM-NKT细胞

[0435] 概述

[0436] 在人R/R NHL临床试验患者中,在以6mg/kg至18mg/kg给药AVM0703后30-60分钟内,双特异性γδTCR+和不变TCR+细胞动员到血液中。这种新型诱导免疫细胞在处于无病原体环境中的健康小鼠的血液中或在任何程度上在健康人类供者(不处于无病原体环境中)的血液中不明显,然而,在癌症环境中,在基线时,患者表达低水平的这种新型双特异性细

胞,所述新型双特异性细胞也表达CD56(自然杀伤标志物)。因此,所述细胞是γδTCR+不变TCR+双特异性自然杀伤T样细胞。

[0437] 作者假设癌症环境可诱导对这些细胞的诱导,但这些细胞直到AVM0703给药后才最大程度地动员到血液中,类似于在小鼠A20淋巴瘤模型中观察到的结果(图11,实施例3和6)。对于一名患有CNS鳞状细胞癌的同情用药(compassionate use)患者,在开始输注18mg/kg AVM0703后30分钟内观察到免疫浸润,其特征在于局限于脑左侧CNS肿瘤区域的皮肤变红(数据未示出)。

[0438] 有趣的是,这些CD56+γδTCR+iTCR+细胞的存在与R/R NHL临床试验患者的临床应答相关。在基线时或在AVM0703给药后没有这些细胞迹象的唯一患者(108-004)是在AVM0703后没有任何客观临床有益应答的唯一患者。

[0439] 在小鼠中,按磷酸地塞米松计算在18mg/kg人体等效剂量(HED)下的AVM0703诱导脾脏、骨髓和胸腺中CD3高细胞的产生,以及这些细胞从脾脏动员到血液中向A20小鼠B细胞淋巴瘤动员,无论A20细胞是注射在胁腹、骨髓、脾脏、胸腺还是血液中的实体瘤中。最快速和最初步的动员是向肿瘤动员,在给药后约3小时观察到杀死A20的最大效果。

[0440] 初次接受试验的小鼠通常不会在所检查的任何器官中表达这些细胞。不同品系的小鼠响应于AVM0703诱导和动员这些细胞的敏感性不同,并且肿瘤环境本身可诱导脾脏中这些细胞的产生,但需要AVM0703来实现细胞的最佳动员和肿瘤靶向。

[0441] 从Charles River和Taconic购买的带有人淋巴区室的人源化小鼠在AVM0703给药后也会动员hCD45+CD56+γδTCR+invTCR+细胞。

[0442] AVM0703 R/R NHL临床试验患者的人体数据汇总

[0443] 101-001(6mg/kg):输注前血液中存在低水平的CD56+γδTCR+,在输注6mg/kg AVM0703后一小时从所有CD45+细胞的1.6%(76个细胞/uL血液)增加到3.48%(165个细胞/uL血液)。当CD56+γδTCR+细胞门控到invTCR和αβTCR表达的直方图中时,所述细胞也是invTCR+,并且在该患者中也是αβTCR+。从大小和复杂性来看,它们主要是大颗粒淋巴细胞样细胞(在FSC与SSC图上作为红点出现;图15)。

[0444] 使用不同的门控方法将CD56+WBC门控到散点图中,X轴上为γδTCR且Y轴上为invTCR,CD56+γδTCR+iTCR+三阳性细胞在输注前以0.15%(7个细胞/uL)且在输注后1小时以0.24%(11.4个细胞/uL)存在于WBC中。这些细胞在输注后第3天不明显,表明细胞归巢到肿瘤部位,并且在第14天占所有WBC的1.74%(78.7个细胞/uL)。该患者在第28天PET/CT时出现肿瘤爆发和疾病稳定(SD)的迹象。这些数据如图16所示,并与GP门控百分比(GP为WBC)一起汇总于下表4中。

[0445] 表4:101-001CD56+γδTCR+invTCR+特性

[0446]

	总 WBC 的 CD56+ γδTCR+ iTCR+%	CD56+ γδTCR+ iTCR+ 细胞/uL	以下为 CD56+γδTCR+iTCR+细胞的%					
			CD19+	TCRαβ	CD8med	CD8hi	CD 3	CD 45
Pre-inf	0.15	7	55	99	84		56	99
1 小时	0.24	11.4	54	100	86		39	99
第 3 天	0.00							
第 14 天	1.74	78.7	22	99	94		99	99.5

[0447] 103-002(6mg/kg):CD56+γδTCR+细胞在输注前较高(所有CD45+细胞的9.3%,735个细胞/uL血液),并在输注后1小时在血液中减少(所有CD45+细胞的6.54%,517个细胞/uL血液)。由于该患者在第28天PET/CT时有肿瘤爆发的迹象和PR,这表明AVM-NKT在AVM0703输注后靶向肿瘤。该患者的细胞并不都是双特异性的,只有约10%的CD56+γδTCR+细胞共表达invTCR。该患者还表达较高水平的CD8,包括CD8 MFI高细胞。

[0448] 使用不同的门控方法将CD56+WBC门控到散点图中,X轴上为γδTCR且Y轴上为invTCR,测量CD56+γδTCR+iTCR+三阳性细胞并表征所表达的标志物。第3天,除了4%的CD56+γδTCR+iTCR+细胞外,任何细胞均未CD19染色,但是FCS与SSC中淋巴细胞群体很明显,并且流式检测中只有60%呈CD3阳性。这些数据示于图17并汇总于下表5中。

[0449] 表5:103-002CD56+γδTCR+invTCR+特性

[0450]

	总WBC的CD56+γδTCR+iTCR+%	CD56+γδTCR+iTCR+细胞/uL	以下为CD56+γδTCR+iTCR+细胞的%					
			CD19+	TCRαβ	CD8med	CD8hi	CD3	CD45
Pre-inf	1.13	89.3	0.91	72	4.6	3.9	5.6	81
1小时	0.83	65.6	0.78	79	2.9	2.6	4.2	92
第3天	1.99	366.2	4.2	54	30	2	67	17
第14天	0.42	27	1.76	78	70	2.4	31.5	98

[0451] 103-005(9mg/kg):基线CD56+γδTCR+细胞是CD45+细胞的2.7%,并且全部对于invTCR是双特异性的(图18左上)。αβTCR不纳入该流动组库中。它们大部分呈CD8阴性,但95%是CD14阳性且60%呈CD16阳性,指示处于激活状态。13%呈CD19阳性。

[0452] 9mg/kg AVM0703后一小时(图18右上),CD56+γδTCR+细胞降低至CD45+细胞的0.21%,并且由于该患者在第28天PET/CT时有肿瘤爆发的迹象和PR,这表明AVM-NKT细胞被靶向肿瘤部位。

[0453] 使用不同的门控方法将CD56+WBC门控到散点图中,X轴上为γδTCR且Y轴上为invTCR,测量CD56+γδTCR+iTCR+三阳性细胞并表征所表达的标志物。在1周内具有PI注意到的临床应答并在第28天PET/CT时具有PR的该患者血液中的高细胞水平,在输注9mg/kg AVM0703后一小时急剧下降,表明肿瘤归巢。这些数据示于图18并汇总于下表7中。

[0454] 表7:103-005CD56+γδTCR+invTCR+特性

[0455]

	总WBC的CD56+γδTCR+iTCR+%	CD56+γδTCR+iTCR+细胞/uL	以下为CD56+γδTCR+iTCR+细胞的%						
			CD19+	CD14+	CD8med	CD8hi	CD16	CD3	CD45
Pre-inf	13.89	347.3	8	76	4	2	67	30	98
1小时	0.87	21.8	33.9	76	17		66	6	99
第3天	2.67	82.8	28	8	15		84	10	63
第14天	0.66	22.4	99	81	16		37	66	84

[0456] 103-006(9mg/kg):基线CD56+γδTCR+细胞为CD45+的3.84%。αβTCR和invTCR未纳入该流动组库中。CD56+γδTCR+细胞也呈CD16、CD34和ICAM3阳性(ICAM3 MFI为294,而健康

对照MFI为760),并且42%呈NKp44阳性。它们大部分呈CD8阴性,但95%是CD14阳性且20%呈CD16阳性,指示处于激活状态。13%呈CD19阳性。

[0457] 9mg/kg AVM0703 CD56+γδTCR+后一小时,血液中的细胞数量或表达没有变化,除了当时只有25%为NKp44+。ICAM3 MFI没有变化。第3天,CD56+γδTCR+细胞为所有WBC的2.2%且92%表达CD16,19%表达NKp44,ICAM3 MFI为240。第14天,CD56+γδTCR+细胞为所有WBC的2.2%且92%表达CD16,19%表达NKp44,ICAM3MFI为240。第14天,CD56+γδTCR+细胞仅占所有WBC的0.11%。

[0458] 108-001(9mg/kg):输注AVM0703后一小时,血液中的CD56+γδTCR+iTCR+细胞增加为基线的约20倍(5.8至112个细胞/uL),并在第3天保持升高(36个细胞/uL)。该患者在AVM0703输注后第3天出现显著的临床应答,视力恢复。有趣的是,对于该患者而言在基线或任何时间点的CD19+淋巴细胞非常少。第一次输注后的CD56+γδTCR+iTCR+流式细胞术表征示于图19且汇总于下表8中。αβTCR未纳入该流动组库中。

[0459] 表8:108-001第1次输注CD56+γδTCR+invTCR+的特性

[0460]

	总WBC的CD56+γδTCR+iTCR+%	CD56+γδTCR+iTCR+细胞/uL	以下为CD56+γδTCR+iTCR+细胞的%						
			CD19+	CD14+	CD8med	CD8hi	CD16	CD3	CD45
Pre-inf	0.05	5.8							
1小时	0.72	112	11.3	35	11	1	90	4	96
第3天	0.22	36.0	24	50	16	2	80	24	98
第14天	0.06	3							

[0461] 基线时或第二次输注9mg/kg AVM0703后1小时的AVM_NKT CD56+γδTCR+iTCR+细胞,但在第3天增加10倍。该患者的CNS实体瘤持续应答不明显,CSF母细胞减少在第二次输注9mg/kg后减少40%。数据汇总于下表9中。

[0462] 表9:108-001第2次输注CD56+γδTCR+invTCR+的特性

[0463]

	总WBC的CD56+γδTCR+iTCR+%	CD56+γδTCR+iTCR+细胞/uL	以下为CD56+γδTCR+iTCR+细胞的%						
			CD19+	CD14+	CD8med	CD8hi	CD16	CD3	CD45
Pre-inf	0.98	31	29	85	6	2	80	17	13
1小时	0.84	26	26	81	4.4	2.2	89	23	13
第3天	0.19	10.2	17	35	55	1	58	49	11
第14天	0.43	20	28	76	20	4	82	22	84

[0464] 第三次输注9mg/kg AVM0703后,血液中的AVM_NKT CD56+γδTCR+iTCR+细胞不明显,这与患者对第三次输注失去应答一致。

[0465] 108-003(12mg/kg):患者108-003中CD56+γδTCR+iTCR+细胞的数据示于图20中并

汇总于下表10中。

[0466] 表10:108-003CD56+γδTCR+invTCR+特性

[0467]

	总WBC的CD56+γδTCR+iTCR+%	CD56+γδTCR+iTCR+细胞/uL	以下为CD56+γδTCR+iTCR+细胞的%						
			CD19+	CD14+	CD8med	CD8hi	CD16	CD3	CD45
Pre-inf	0.3	23.9	40	54	21	4	70	20	96
1小时	0.4	31.8	40	43	9	1.7	85	14	95
第3天	0.6	58.4	11.5	68	45	12.6	75	80	67
第14天	0.83	94	12.4	87	84	8	89	90	94

[0468] 108-004(12mg/kg):输注前的CD56+γδTCR+invTCR+细胞为总细胞的0.09%(4.6个细胞/uL)。AVM0703输注后一小时、3天或14天没有增加。有趣的是,患者108-004是没有通过PET/CT、临床化学、CBC或临床症状测量得出客观有益应答的唯一患者。如图21所示,108-004没有动员CD56+γδTCR+invTCR+细胞。

[0469] 108-002(18mg/kg):基线时所有WBC的2.8%为CD56+γδTCR+iTCR+(163.2个细胞/uL),输注AVM0703 18mg/kg后在一小时时间点没有变化。第3天,血液中这些新型细胞减少到0.04%,这表明肿瘤归巢,正如在小鼠模型中观察到的那样,并且在第14天,它们在血液中恢复到2.12%。患者108-002通过PET/CT检测具有持续PR和SD,自2021年8月30日给药日期起一直存活。这些数据示于图22并汇总于下表11中。

[0470] 表11:108-002CD56+γδTCR+invTCR+特性

[0471]

	总WBC的CD56+γδTCR+iTCR+%	CD56+γδTCR+iTCR+细胞/uL	以下为CD56+γδTCR+iTCR+细胞的%						
			CD19+	CD14+	CD8med	CD8hi	CD16	CD3	CD45
Pre-inf	0.71	53.3	97	86	18	82	57	80	100
1小时	0.66	49.5	98	79	12.3	88	87	83.2	100
第3天	0.04	2.3							
第14天	0.25	9.7	80	80	16.5	73	41.2	72	84

[0472] 剂量递增AVM-NKT以及与临床和PET/CT应答的关联汇总

[0473] 对于R/R NHL剂量递增阶段的AVM0703汇总示于下表12。截至2022年7月15日;12名患者给药;平均5.6个先前的细胞系,12个细胞系中有7个细胞系未通过HSCT或CarT。接受流式细胞术测量但没有新型AVM-NKT迹象的唯一患者也对治疗没有应答(108-004)。所有具有新型AVM-NKT细胞迹象的患者均具有SD/PR/CR的临床和/或PET/CT应答。

[0474]

AVM0703单一疗法(X#输注)	6 mg/kg			9 mg/kg			12 mg/kg			18 mg/kg		
	101-001 (X1)	103-002 (X1)	103-00 4 (X1)	108-001 (X3)	103-00 5 (X1)	103-006 (X1)	108-00 3 (X2)	108-004 (X1)	103-007 (X1)	108-00 2 (X1)	103-00 8 (X1)	103-00 9 (X1)
诊断	B-ALL	PTCL	T-ALL	CNS B-ALL	MCL	DLBCL	AITCL	DLBCL	MCL	PTCL	DLBC L	DLBC L
经过大量预处理-先前的细胞系	5+2 alloHSCT+6 XRT	4 + auto HSCT	5	5 + 1 XRT	9 + CarT	2 + 1 XRT	1 + auto HSCT	2 + CarT	1 + Splx + 1 XRT	4	8 + CarT	3 + HSCT + CarT
自第 1 次 AVM0703 起的存活期(月)	*4.8*	*7*	*2.7*	**>11.8 持续**	*8.3*	**>12.6 持续**	**>10.2 持续**	**>8 持续**	**>7.6 持续**	**>10.3 持续**	**>2.1 持续**	NE
中心 Lugano 28 天	**SD**	**PR**	**PR**	ND	**PR**	ND	PD	PD	ND	**PR/SD**	ND/NE	
客观临床应答				**A**			**B**		**C**		**D**	
诱导的 CD56+gdT CR+inv TCR+细胞	**是**	**是**	**是**	**是**	**是**	NE	**是**	否	NE	**是**	NE	NE
+另外的抗癌疗法	+2	+3	无	+2+CarT	+1+CarT **SD**	CarT+1 **CR**	+2+CarT **SD**	+2 **SD**	+2 **CR**	无	无	无

[0475]

(编号细胞系、应答和治疗详情)														
同情用药计划 AVM0703 18 mg/kg	维奈托克(Venetoclax)+罗米地辛(romidepsin)		HD MTX	IGM 临床试验	Tisagenlecleucel + IL-7	ICE		PBR	R-GEM OX+阿卡替尼(Acalabrutinib)					
	顺铂(Cisplatin)-吉西他滨(gemcitabine)		IT AraC			罗米地辛(Romidepsin)								
长春新碱(Vincristine)	苯达莫司汀(bendamustine)		布瑞基奥仑赛(Brexacabtagene Autoleucel)	CarT	维泊妥珠单抗(Polatuzumab)+莫妥珠单抗(Mosunetuzumab)	CarT	泰朗妥昔单抗(Loncastuximab Tesirine)		利妥昔单抗(Rituximab)					
存活期(月)	4.8	7	2.7	>11.8	8.3	>12.6	>10.2	>8	>7.6	>10.3	>2.1			

ND 未完成 NE 无法评价/尚未评价 CR 完全缓解 PR 部分缓解 SD 疾病稳定 PD 进行性疾病 XRT 放射单一疗法 Splx 脾切除术

客观临床应答： A 3 个月视力恢复 B 咽炎和局部 Lugano 28 天 SD C 淋巴细胞增多逆转和血红蛋白增加 D 通过 MRI 发现水肿/炎症脑干肿瘤增加

[0476] CR:另外的抗癌治疗后2/10可评价PR:单一疗法4/10可评价SD:单一疗法2/10可评价仅临床应答:2/11可评价

[0477] CR+PR+SD+临床应答＝11名可评价患者中的10名

[0478] 人类健康对照献血者的数据汇总

[0479] 在健康对照献血者中:通常不存在CD56+γδTCR+细胞。存在的少数细胞通常是invTCR共表达细胞,并且也呈CD14和CD16阳性。图23中显示了12名健康献血者的总CD56+WBC中的γδTCR+iTCR+细胞的散点图。

[0480] 下表13中显示了在其血液中具有明显的一定低水平的健康供者的CD56+γδTCR+iTCR+标志物表达。表达的标志物与我们的R/R NHL患者血液中这些细胞表达的标志物一致,并且我们假设这些"健康"献血者实际上可能有感染或其它无症状问题,诱导这些细胞的产生,这在饲养在无病原体环境中的安慰剂小鼠中从未见到过。这些细胞存在于我们的健康献血者体内时的特征与AVM0703-001试验患者体内这些细胞的特征没有什么不同。门控GP%是表中列出的%(GP是WBC)。

[0481] 表13:表观健康献血者的CD56+γδTCR+invTCR+细胞特征

[0482]

健康供者:	总WBC的CD56+γδTCR+iTCR+%	以下为CD56+γδTCR+iTCR+细胞的%						
		CD19+	TCRαβ	CD8med	CD8hi	CD16	CD3	CD45
103-004 D0	0.77	100	100	82	17		99	100
103-002 D3	0.73	50	46	40	9		54	74
103-005 D0	2.43	29	11	22	0	85	14	57

[0483] 人源化小鼠实验LYDEP 43和45的数据汇总

[0484] 在通过照射新生小鼠并植入脐带(UC)CD34+细胞而产生的具有部分人血细胞的小鼠中,将治疗的小鼠与源自同一人类UC血液CD34+供者的安慰剂小鼠进行比较时,与在用AVM0703治疗的初次接受试验的小鼠和人类患者中观察到的细胞相似,在AVM0703治疗后血液中新型人类免疫细胞增加。当小鼠1周后重新给药时,与安慰剂治疗的小鼠相比,更大数量小鼠的hCD45+CD56+TCRγδ+人免疫细胞增加。这些人源化小鼠缺乏小鼠和人的髓系细胞,并且有趣的是,在AVM0703之后,它们开始同时产生人和小鼠髓系细胞。另外,在第三次AVM0703剂量后,人源化小鼠具有hCD45+mCD45+双阳性细胞。

[0485] 雌性huNOG-EXL小鼠(n＝6)获自Taconic Bioscience(Germantown,NY)。雌性huCD34-NCG小鼠(n＝8)获自Charles River(Wilmington,MA)。来自两个机构的小鼠都适应实验室条件至少5-6天。

[0486] 向小鼠三次口服给药32mg/kg磷酸地塞米松(DP)或安慰剂并保持到时间点。在第一剂(03/01/2021)和第二剂1周后(03/08/2021)后,当小鼠达到预定时间点时,通过脸颊穿刺对它们放血至70uL/只小鼠。通过流式细胞术分析血液。

[0487] 在前一剂量后28天(04/05/2021)施用第三剂后,当小鼠达到48或60小时的研究时间点时,根据标准操作规程对它们实施安乐死。

[0488] 研究的雌性人源化小鼠总共来自6个不同的脐带血供者和两个不同的供应商。在两个供应商和所有6个供者中对AVM0703的应答一致并且汇总如下。AVM0703诱导人CD56+γδTCR+invTCR+免疫细胞的表达和动员,并且在很大程度上缺乏骨髓区室的小鼠中诱导髓系细胞的产生。

[0489] 表14:人源化小鼠供应商和脐带血供者

[0490]

供应商	供者	安慰剂治疗的	AVM0703 治疗的
CRL-NCG	1		M1 M2
	2		M3 M4
	3		M5 M6
	4		M7 M8
Taconic-NOG-EXL	1	M12	M10 M11
	2	M90	M88 M89

[0491] 在第一剂AVM0703后,购自Taconic的人源化小鼠比购自Charles River的小鼠动员更多数量的hCD45+CD56+γδTCR+细胞。invTCR标志物纳入针对第二剂而非第一剂进行的流动组库中。然而,在重新给药后,来自Charles River的小鼠比它们在第一剂后动员更多数量的hCD45+CD56+γδTCR+invTCR+细胞,而来自Taconic的小鼠在重新给药后与安慰剂相比具有相同的动员作用。安慰剂治疗的小鼠不能被视为初次接受试验的小鼠,因为所有小鼠都经过致命辐射,然后移植人脐带血CD34+细胞,因此安慰剂治疗的小鼠可能具有这些新型免疫细胞的基线水平不足为奇,因为我们已经证实所述细胞在小鼠患有癌症或糖尿病时直到AVM0703治疗后才存在,但并未得到最佳动员。

[0492] 表15:人源化小鼠供应商、治疗、AVM_NKT细胞

[0493]

供应商	小鼠	治疗	hCD45+(CD56+gdTCR+)	hCD45+(CD56+gdTCR+inTCR+)
CR	1	AVM0703 72 小时	1.1%	2.3%
CR	2	AVM0703 96 小时	4.4%	30.7%
CR	3	AVM0703 72 小时	1.6%	3.5%
CR	4	AVM0703 96 小时	1.4%	47.5%
CR	5	AVM0703 72 小时	4.7%	4.4%
CR	6	AVM0703 96 小时	1.1%	24.1%
CR	7	AVM0703 72 小时	6.3%	1.8%
CR	8	AVM0703 96 小时	0.4%	50%
Tac	10	AVM0703 72 小时	10.5%	0.7%
Tac	11	AVM0703 96 小时	11%	22.6%
Tac	12	安慰剂 72 小时	7.1%	0.8%
Tac	88	AVM0703 72 小时	3.4%	0.7%
Tac	89	AVM0703 96 小时	0.6%	41.9%
Tac	90	安慰剂 96 小时	4.0%	20%

[0494] 与人类患者类似,AVM0703在人源化小鼠中诱导CD56+TCRγδ+invTCR+双特异性免疫细胞动员。如图24所示,AVM0703诱导为CD16+的CD56+TCRγδ+细胞(12%的hCD45+细胞),表明处于激活状态(小鼠10Taconic NOG-EXL)。如图25和图26所示,>18mg/kg AVM0703 HED在2-12%的hCD45+细胞中诱导双特异性免疫细胞动员。如图27和图28所示,AVM0703在人源化小鼠中诱导γδTCR+invTCR+双特异性激活的CD56+骨髓细胞,这与来自人类患者的数据相关。超过60%的人CD45+CD56+细胞对于TCRγδ和不变TCR具有双特异性,并且呈CD16阳性,指示处于激活状态。第三次重复剂量的AVM0703 32mg/kg HED后48-60小时对骨髓进行分析。

[0495] 图29和图30显示了人源化小鼠在第一剂(图29)和第二剂(图30)的AVM0703之后的FSC与SSC。据Charles River和Taconic报道所述小鼠没有骨髓区室,然而,在AVM0703给药后,小鼠开始产生人和小鼠髓系细胞。显示了两只安慰剂小鼠(图29和图30上图;安慰剂小鼠M12左上,安慰剂小鼠M90右上)和AVM0703治疗的小鼠(图29和图30下图;小鼠M88)的散点图。在所有12只AVM0703治疗的人源化小鼠中,小鼠88的髓系细胞最早增加。平均而言,安慰剂治疗的小鼠的总小鼠WBC的12.7%是淋巴样细胞,而AVM0703治疗的小鼠的总小鼠WBC的10.62%是淋巴样细胞(范围为2%-20.4%)。

[0496] 这种观察结果,即小鼠开始产生包括中性粒细胞在内的髓系细胞,与德国一位同情用药患者的报告一致,该患者在AVM0703后开始产生健康的活性中性粒细胞。这位18岁男性自AVM0703治疗前6年的第一个化疗周期后就没有产生中性粒细胞。类似地,我们在R/R NHL中的AVM0703-001试验中的人类患者全部展示出一些中性粒细胞增加的迹象。

[0497] 图31-33显示人源化小鼠主要具有人淋巴样细胞。这些图表示观察安慰剂治疗的小鼠中淋巴样细胞与髓系细胞起源的另一种方式,并再次证明少数髓系细胞主要来自小鼠,而大多数淋巴样细胞来自人类。这些流式细胞术样品中存在显著的碎片,这就是为什么非门控hCD45与mCD45散点图中的如此多的点对于人类和小鼠CD45都是阴性的。

[0498] 图31显示在安慰剂治疗的小鼠中,淋巴细胞主要是人CD45+(图31上),少数髓系细胞主要是mCD45+(图31下)。图32-33显示AVM0703给药诱导人源化小鼠中的髓系细胞产生。显示了mCD45+细胞(左上)和hCD45+细胞(右上)门控的FSC与SSC以及hCD45+与mCD45+细胞(下)的散点图。图32显示了安慰剂小鼠M12的数据,其中小鼠淋巴细胞为总小鼠WBC的13%(图32左上);人淋巴细胞为总人WBC的60%(图32右上);并且总淋巴细胞为总WBC的45%。图33显示了安慰剂小鼠M90的数据,其中小鼠淋巴细胞为总小鼠WBC的12.5%(图33左上);人淋巴细胞为总人WBC的31.5%(图33右上);并且总淋巴细胞为总WBC的30%。

[0499] 图34-39显示AVM0703给药诱导人源化小鼠中的髓系细胞产生。这些显示了AVM0703治疗的小鼠在第一剂AVM0703后的流式细胞术散点图。在散点图中,圈出淋巴细胞,而髓系细胞具有较高的SSC,并且绘制在淋巴细胞上方。这些FSC与SSC散点图显示,与安慰剂相比,小鼠来源的髓系细胞(左上)数量显著更高,表明AVM0703给药会诱导髓系细胞产生,正如在人类临床试验患者和同情用药患者中观察到的那样。淋巴群体主要保留hCD45+起源(右上)。与安慰剂治疗的人源化小鼠相比,其中人CD45+细胞为mCD45+细胞数量的约两倍,AVM0703治疗的人源化小鼠具有大约相等数量的小鼠CD45+细胞和人CD45+细胞(较低)。

[0500] 图34显示了AVM0703治疗的小鼠M88的数据,其中小鼠淋巴细胞仅为总WBC的5.7%(图34左上);人淋巴细胞为总人WBC的58%(图34右上);并且总淋巴细胞为总WBC的32%。图35显示了AVM0703治疗的小鼠M01的数据,其中小鼠淋巴细胞仅为总WBC的6.7%(图35左上);人淋巴细胞为总人WBC的67%(图35右上);并且总淋巴细胞为总WBC的35%。图36显示了AVM0703治疗的小鼠M03的数据,其中小鼠淋巴细胞仅为总WBC的23.7%(图36左上);人淋巴细胞为总人WBC的47%(图36右上);并且总淋巴细胞为总WBC的40%。图37显示了AVM0703治疗的小鼠M05的数据,其中小鼠淋巴细胞仅为总WBC的2.0%(图37左上);人淋巴细胞为总人WBC的50.1%(图37右上);并且总淋巴细胞为总WBC的20.9%。图38显示了AVM0703治疗的小鼠M07的数据,其中小鼠淋巴细胞仅为总WBC的20.4%(图38左上);人淋巴细胞为总人WBC的58.2%(图38右上);并且总淋巴细胞为总WBC的41.9%。图39显示了AVM0703治疗的小鼠

M10的数据,其中小鼠淋巴细胞仅为总WBC的5.2％(图39左上);人淋巴细胞为总人WBC的37.5％(图39右上);并且总淋巴细胞为总WBC的28.1％。

[0501] 实施例16-AVM0703诱导然后过继转移免疫细胞的体内抗癌活性

[0502] 体内激活的免疫细胞过继转移(ACT)到有MOPC315多发性骨髓瘤细胞注射到小鼠胁腹中的小鼠中,所述细胞也转移到脾脏、血液和骨髓。AVM0703不仅用于诱导分离,然后过继转移的双特异性γδTCR+invTCR+NKT样细胞,而且还用作预适应剂来确定AVM0703是否可以替代细胞毒性预适应方案诸如环磷酰胺/氟达拉滨(Cy/Flu)。正如预期的那样,来自AVM0703治疗的小鼠的ACT细胞需要进行预适应才能产生统计学上显著的效果。用AVM0703预适应的小鼠除了接受的ACT细胞外,还会动员它们自身的内源性新型免疫细胞。

[0503] 来自AVM0703治疗的小鼠的ACT细胞显著减少用AVM0703预适应的小鼠肿瘤(图40左上)和脾脏(图40右上)中活MOPC315细胞的总数。另外,虽然减少在统计学上不显著,但用AVM0703预适应,然后对安慰剂治疗的小鼠的细胞进行ACT,显示出活MOPC315细胞减少的趋势。这是基于AVM0703预适应在接种MOPC315的小鼠中诱导/动员内源性双特异性NKT样细胞的能力而预期的。虽然结果在统计学上不显著,但AVM0703预适应后进行ACT也显示出血液(图40左下)和骨髓(图40右下)中的活MOPC315减少的趋势。这项MOPC315研究得到NCI SBIR授予的1R43CA246896-01A1的支持。

[0504] 实施例17-高剂量糖皮质激素诸如地塞米松通过低亲和力氢键与ICAM3结合,这可以介导本发明的新型NKT样细胞的诱导和/或动员

[0505] 本发明作者还发现,在高剂量施用后,糖皮质激素分子可结合并阻断细胞间粘附分子,诸如ICAM3-例如WO 2021 247473中描述的。地塞米松和ICAM3之间的相互作用的分子建模预测,这些之间的相互作用是通过低亲和力氢键,包括地塞米松中的氢分子与ICAM3中的SER31残基之间的相互作用,以及地塞米松中的氧分子与ICAM3中的MET49残基之间的相互作用。ICAM3与许多其它配体之间的相互作用的分子建模预测:激动性抗体在疏水口袋处与ICAM3结合并与残基THR38、LEU40、LEU56、VAL59和ILE65相互作用;抗ICAM3抗体ICR 8.1与残基PHE21、VAL22、GLU32、LYS33、TRP51和ALA52相互作用;并且,整联蛋白淋巴细胞功能相关抗原1(LFA-1)与SER25、ASN23、GLU37、PHE54和GLN75处的残基相互作用。

[0506] 作者认为,本发明的新型NKT样细胞的诱导和/或动员可通过ICAM3与糖皮质激素之间的这种相互作用以糖皮质激素受体非依赖性作用机制介导。

[0507] 如图41所示,在一名套细胞淋巴瘤患者(患者103-007)中,输注12mg/kg AVM0703后,淋巴细胞增多在AVM0703后第4天和第7天之间降至正常淋巴细胞水平,表明AVM0703免疫激活优先识别癌细胞并不影响正常血细胞,包括淋巴细胞、单核细胞、血小板和RBC(图42)。血细胞比容和血红蛋白也没有受到影响,并且在R/R MCL患者中输注9mg/kg AVM0703后,血红蛋白实际上在临床上显著增加。响应于AVM0703不存在淋巴细胞减少,支持糖皮质激素受体(GCR)非依赖性作用机制。同样,对血小板和中性粒细胞增加没有影响也支持GCR非依赖性作用机制。

[0508] 浓度-应答曲线显示地塞米松碱在已知会结合跨膜GCR的浓度(10nM至100uM)下对分离的小鼠脾细胞和全血的预期凋亡作用,然而,观察到双相曲线,随着浓度增加到100uM以上,细胞凋亡减少(这是约2.8mg/kg人体等效剂量(HED)的体内等效血液浓度峰值,如图43所示。对于趋化因子(Olsen I,J Immunol Methods.2013年4月30日;390(1-2):106-12;

Florini J R,Am J Physiol.1986年5月;250(5Pt1):C771-8)和生长因子(Parris,Dose Response.2015年5月20日;13(2):dose-response.14-020;Kanodia J,Cell Commun Signal.2014年5月15日;12:34)双相应答曲线已得到很好的描述,并已证实是受体脱敏/内化或新的低亲和力的结果(Olsen,2013;Florini,1986),但非常密集的受体吸收因子,使得它无法结合亲和力更高但较难接近的受体(Kanodia,2014;Koledova Z,Front Cell Dev Biol.2019年12月12日;7:331)。

[0509] 类似地,从R/R NHL患者的AVM0703-001剂量递增阶段开始,在6mg/kg至18mg/kg的剂量下,WBC、淋巴细胞、血小板和RBC并未耗减。已知WBC、血小板、单核细胞、淋巴细胞和脾细胞表达GCRα,这与在1nM至10uM之间的地塞米松碱浓度下对这些细胞群体的影响一致。双相CRC表明亲和力低但非常密集的非GCR受体吸收高浓度,从而防止GCR的结合和激活(Kanodia,2014)。不表达GCR的RBC对任何浓度的离体地塞米松碱均没有应答(数据未示出)。通过文献和人类蛋白质组数据库检索,将ICAM3鉴定为地塞米松超药理学浓度的潜在低亲和力受体,并通过两名独立顾问进行的分子对接研究得以证实。

[0510] 据报道,ICAM3在地塞米松结合后脱落(Juan M,1999),并且作者假设这种结合在超药理学剂量下是共价的,从而阻止AVM0703与GCR结合并解释了没有观察到GCR激活的原因,因为从PK分析中确定AVM0703似乎已从血液中清除。在血液的血浆/血清级分中会发现与脱落的ICAM3共价结合的AVM0703,并且结合的AVM0703会在LC-MS/MS分析期间从ICAM3中释放,但被阻止与GCR结合并激活GCR。可替代地,AVM0703的结构可以在ICAM3结合后改变,使得即使在血液中游离,它也不能再结合GCR。

[0511] 参考文献

[0512] 以上引用了许多出版物,以便更全面地描述和公开本发明以及本发明所属的现有技术水平。每个参考文献特此以引用的方式整体并入。下面提供这些参考文献的完整引用。

[0513] Tarazona,Raquel&Peralbo,E.&Casado,Javier&Pena,Jose&Solana,Rafael.Human NKT cells inhealth and disease.Inmunologia.2003;22Watarai H,Nakagawa R.,Omori-Miyake M,Dashtsoodol N,&Taniguchi M.Methods for detection,isolation and culture of mouse and human invariant NKT cells.Nat Protoc.2008;3,70-78.

[0514] Wolf BJ,Choi JE,&Exley MA.Novel Approaches to Exploiting Invariant NKT Cells in Cancer Immunotherapy.Frontiers in immunology.2018;9,384Nair S,&Dhodapkar MV.Natural Killer T Cells in Cancer Immunotherapy.Frontiers in immunology.2017;8,1178Lodisch M.B.Clinical review:kinase inhibitors:adverse effects related to the endocrine system.The Journal of clinical endocrinology and metabolism.2013;98(4),1333-1342

[0515] Bhullar,KS,Lagarón NO,McGowan EM.et al.Kinase-targeted cancer therapies:progress,challenges and future directions.Mol Cancer.2018;17,48

[0516] Mato AR,Thompson M,Allan JN,Brander DM,Pagel JM,Ujjani CS,Nabhan C.Real-world outcomes and management strategies for venetoclax-treated chronic lymphocytic leukemia patients in the United States.Haematologica.2018;103(9),1511-1517

[0517] Kadri S,Lee J,Fitzpatrick C,Galanina,N,Sukhanova,M,Venkataraman,G,Wang YL.Clonal evolution underlying leukemia progression and Richter transformation in patients with ibrutinib-relapsed CLL.Blood advances.2017;1(12),715-727

[0518] Mato AR,Nabhan C,Barr PM,Ujjani CS,HillBT,Lamanna N,skarbnik AP,Howlett C,Pu JJ,Sehgal AR,Strelec LE,Vandegrift A,Fitzpatrick DM,Zent CS,Feldman T,Goy A,Claxton DF,Bachow SH,Kaur G0,Svoboda J,Nasta SD,Porter D,Landsburg DJ,Schuster SJ,Cheson BD,Kiselev P,Evens AM.Outcomes of CLL patients treated with sequential kinase inhibitor therapy:a real world experience.Blood.2016;128(18):2199-2205

[0519] Barrett AJ,&Battiwalla M.Relapse after allogeneic stem cell transplantation.Expert review of hematology.2010;3(4),429-441

[0520] Nie Y,Lu W,Chen D,Tu H,Guo Z,Zhou X,Li M,Tu S,Li Y.Mechanisms underlying CD19-positive ALL relapse after anti-CD19CAR T cell therapy and associated strategies.Biomark Res.2020May 27;8(1)./pmc/articles/PMC725465

[0521] Gill S,Brudno J.CAR T-Cell Therapy in Hematologic Malignancies:Clinical Role,Toxicity,and Unanswered Questions.Am Soc Clin Oncol Educ book Am Soc Clin Oncol Annu Meet.2021Jun;41(41):e246-65.https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33989023/

[0522] Stadtteld et al,Science.2008Nov 7;322(5903):945-9

[0523] Okita et al,Science.2008Nov 7;322(5903):949-53

[0524] Bowles et al,Dev Biol.2000Nov 15;227(2):239-55.

[0525] Chambers et al,Cell.2003May 30;113(5):643-55.

[0526] Moss&Tang,2003,Dev Biol.2003Jun 15;258(2):432-42.

[0527] Shiina et al,Immunology 2016;150:127-138

[0528] Nakamura et al 2019Int.J.Mol.Sci 20:4544

[0529] Kaczmarek et al 2017Arch.Immunol.Ther.Exp.65:201-214

[0530] WO 2018/183927

[0531] Zheng et al;Cell Mol Immunol.2013Jan;10(1):50-7.

[0532] Gogoi et al;Indian J Med Res.2013Nov;138(5):755-761.

[0533] Dong et al;Front Immunol.2018Dec 4;9:2812.

[0534] Zhao et al,2018;J Immunol Res.2018Jul 10;2018:5

[0535] Pauza et al,2018;Front Immunol.2018;9:1305.

[0536] Himoudi et al,2012;J Immunol.2012Feb 15;188(4):1708-16

[0537] 本公开的声明

[0538] 概述本公开的方面的以下编号的声明形成说明书的一部分。

[0539] 产生人类免疫系统NKT样细胞(AVM-NKT细胞)的方法

[0540] 101.一种产生和/或动员自然杀伤T细胞样细胞(NKT样细胞)群体的方法,所述方法包括以相当于约至少6mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED)的剂量向受试者施用糖皮

质激素受体(GR)调节剂或ICAM3调节剂,

[0541] 其中所述糖皮质激素受体(GR)调节剂或ICAM3调节剂在所述受试者中诱导和/或动员所述NKT样细胞群体。

[0542] 细胞标志物表达

[0543] 102.如声明101所述的方法,其中所述细胞群体的特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞:

[0544] i)表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45、TCRα/β、CD34和/或ICAM3;

[0545] ii)表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45和/或TCRα/β;并且/或者;

[0546] iii)不表达:CD4。

[0547] 103.如声明102所述的方法,其中所述细胞表达:

[0548] (i)TCRγ/δ和iTCR;

[0549] (ii)CD56、TCRγ/δ和iTCR;

[0550] (iii)CD45、TCRγ/δ和iTCR;

[0551] (iv)CD45、CD56、TCRγ/δ和iTCR;

[0552] (vi)TCRγ/δ、iTCR和TCRα/β;

[0553] (vii)CD56、TCRγ/δ、iTCR和TCRα/β;

[0554] (viii)CD45、TCRγ/δ、iTCR和TCRα/β;

[0555] (ix)CD45、CD56、TCRγ/δ、iTCR和TCRα/β;

[0556] (x)CD56、TCRγ/δ、iTCR和CD16;

[0557] (xi)CD45、TCRγ/δ、iTCR和CD16;

[0558] (xii)CD16和NKp44;

[0559] (xiii)CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16和NKp44;

[0560] (xiv)CD56、TCRγ/δ、iTCR和TCRα/β;

[0561] (xv)CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44和TCRα/β;

[0562] (xvi)CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD8、CD14和CD19;

[0563] (xvii)CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19和CD45;或

[0564] (viii)CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45和TCRα/β。

[0565] 104.如声明102-103中任一项所述的方法,其中所述细胞不表达CD4。

[0566] 105.根据声明102-104中任一项所述的方法,其中所述细胞为:

[0567] i)CD3+/暗;

[0568] ii)CD8+/暗;

[0569] iii)CD3+/暗和CD8+/暗;

[0570] 任选地,其中所述表达水平相对于源自常见来源的参考细胞群体中的平均表达水平确定,所述参考细胞尚未与所述糖皮质激素受体(GR)调节剂或ICAM3调节剂接触。

[0571] 106.根据声明102-105中任一项所述的方法,其中通过流式细胞术测量表达,任选地其中所述流式细胞术使用本文所述的设备、试剂和/或条件(单独或组合)进行。

[0572] 糖皮质激素

[0573] 107.根据声明101-106中任一项所述的方法,其中所述糖皮质激素受体(GR)调节剂或所述ICAM3调节剂是糖皮质激素,任选地其中所述糖皮质激素选自由以下组成的组:地塞米松、氢化可的松、甲泼尼龙、泼尼松、泼尼松龙、泼尼立定、可的松、布地奈德、倍他米松、氟米松和倍氯米松。

[0574] 108.根据声明107所述的方法,其中所述糖皮质激素选自由以下组成的组:地塞米松、倍他米松和甲基泼尼松,优选地其中所述糖皮质激素是地塞米松或倍他米松。

[0575] 109.根据声明107-108中任一项所述的方法,其中所述糖皮质激素选自由以下组成的组:地塞米松碱、地塞米松磷酸钠、半琥珀酸地塞米松、地塞米松琥珀酸钠、琥珀酸地塞米松、异烟酸地塞米松、乙酸地塞米松-21、磷酸地塞米松、磷酸地塞米松-21、乙酸特丁地塞米松、戊酸地塞米松-17、一水合乙酸地塞米松、特戊酸地塞米松、棕榈酸地塞米松、棕榈酸地塞米松-21、二丙酸地塞米松、丙酸地塞米松、无水乙酸地塞米松、苯丙酸地塞米松-21、磺基苯甲酸地塞米松-21、半硫酸地塞米松、硫酸地塞米松、地塞米松beloxil、地塞米松酸、乙呋地塞米松、地塞米松甲酰亚胺、地塞米松培酯、地塞米松21-磷酸二钠盐、甲磺酸地塞米松、亚油酸地塞米松、地塞米松葡糖苷、地塞米松葡糖苷酸、碘醋酸地塞米松、地塞米松氧杂环丁烷酮、羧甲基硫代-地塞米松、地塞米松bisethoximes、地塞米松环氧化物、反亚油酸地塞米松、甲基原戊酸地塞米松、地塞米松精胺、6-羟基地塞米松、三丁基乙酸地塞米松、地塞米松天冬氨酸、地塞米松吡喃半乳糖、盐酸地塞米松、羟基地塞米松、羧基地塞米松、脱氧地塞米松、地塞米松丁氮酮、地塞米松环糊精、二氢地塞米松、氧代地塞米松、丙酰氧基地塞米松、地塞米松galactodie、异烟酸地塞米松、地塞米松磷酸氢二钠、地塞米松醛、特戊酸地塞米松、三癸酸地塞米松、巴豆酸地塞米松、甲磺酸地塞米松、丁基乙酸地塞米松、脱氢地塞米松、地塞米松异硫氰酸基乙基)硫醚、溴乙酸地塞米松、半戊二酸地塞米松、脱氧地塞米松、地塞米松chlorambucilate、地塞米松melphalanate、甲酰氧基地塞米松、丁酸地塞米松、月桂酸地塞米松、乙酸地塞米松以及含有地塞米松形式的任何组合治疗。

[0576] 110.根据声明109所述的方法,其中所述地塞米松是地塞米松磷酸钠。

[0577] 糖皮质激素剂量

[0578] 111.根据声明101-110中任一项所述的方法,其中所述糖皮质激素以相当于约以下的剂量施用:

[0579] i)至少6-12mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);

[0580] ii)至少6mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);

[0581] iii)至少12mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);

[0582] iv)至少15mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);

[0583] v)至少18mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);

[0584] vi)至少24mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);

[0585] vii)15mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);

[0586] viii)24mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);

[0587] ix)30mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);

[0588] x)45mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED);或

[0589] xi)取来自一系列mg/kg值的mg/kg值的地塞米松碱的人体等效剂量(HED),其中所述范围由上述部分i)至x)中列出的mg/kg值中的两个限定。

[0590] 112.根据声明101-111中任一项所述的方法,其中所述糖皮质激素作为单一急性剂量施用,或作为在约72小时时间段内给予的总剂量施用。

[0591] 113.根据声明101-112中任一项所述的方法,其中所述方法包括施用一个或多个另外剂量的糖皮质激素。

[0592] 114.根据声明113所述的方法,其中所述一个或多个另外的剂量施用如下:

[0593] i)在先前糖皮质激素施用后24小时与120小时之间;

[0594] ii)在先前糖皮质激素施用后24小时与48小时之间;

[0595] iii)在先前糖皮质激素施用后72小时与120小时之间;

[0596] iv)在第一糖皮质激素施用后每24、48、72、96、120、144或168小时;

[0597] v)在第一糖皮质激素施用后每两周一次;

[0598] vi)在第一糖皮质激素施用后每月一次;或

[0599] vii)在第一糖皮质激素施用后每周两次。

[0600] 细胞激活

[0601] 115.根据声明101-114中任一项所述的方法,所述方法进一步包括将NKT细胞激活剂、T细胞激活剂和/或NK细胞激活剂施用于所述受试者的步骤。

[0602] 116.根据声明115所述的方法,其中所述NKT细胞激活剂选自由以下组成的组:αGalCer、硫苷脂或NKT激活抗体。

[0603] 117.根据声明116所述的方法,其中所述NKT细胞激活剂是负载αGalCer的树突细胞或单核细胞。

[0604] 118.根据声明115所述的方法,其中所述T细胞激活剂选自由以下组成的组:唑来膦酸盐、美伐他汀或T细胞激活抗体。

[0605] 119.根据声明115所述的方法,其中所述NK细胞激活剂选自由以下组成的组:IL-2、IL-12、IL-15、IL-18、IL-21或NK细胞激活抗体。

[0606] 120.根据声明115-119中任一项所述的方法,其中所述NKT细胞激活剂、T细胞激活剂和/或NK细胞激活剂在施用糖皮质激素后48小时内或约48小时施用。

[0607] 受试者

[0608] 121.根据声明101-120中任一项所述的方法,其中所述受试者是人或具有人源化免疫系统的哺乳动物,诸如人免疫系统(HIS)小鼠。

[0609] 122.根据声明101-121中任一项所述的方法,其中所述受试者患有、疑似患有或已被诊断患有选自由以下组成的组的疾病:癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病。

[0610] 123.根据声明122所述的方法,其中所述癌症是实体瘤癌症。

[0611] 124.根据声明122所述的方法,其中所述癌症选自由以下组成的组:鳞状细胞癌(如上皮鳞状细胞癌);肺癌,包括小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肺腺癌和肺鳞状细胞癌;腹膜癌;肝细胞癌;胃部癌或胃癌,包括胃肠癌;胰腺癌;胶质母细胞瘤;宫颈癌;卵巢癌;肝癌;膀胱癌;肝细胞瘤;乳腺癌;结肠癌;直肠癌;结肠直肠癌;子宫内膜癌或子宫癌;唾液腺癌;肾脏癌或肾癌;前列腺癌;外阴癌;甲状腺癌;肝癌;肛门癌;阴茎癌以及头颈癌。

[0612] 125.根据声明122所述的方法,其中所述癌症是淋巴瘤,优选B细胞淋巴瘤、T细胞淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤。

[0613] 126.根据声明122-125中任一项所述的方法,其中所述诱导/动员的细胞通过肿瘤

浸润来治疗所述癌症。

[0614] 127.根据声明126所述的方法,其中所述诱导/动员的细胞通过释放免疫激活细胞因子来治疗所述癌症。

[0615] 128.根据声明126或127所述的方法,其中所述诱导/动员的细胞吞噬并杀死癌细胞。

[0616] 129.根据声明126至128中任一项所述的方法,其中所述诱导/动员的细胞促进其它免疫细胞浸润到所述肿瘤中。

[0617] 130.根据声明126至129中任一项所述的方法,其中所述诱导/动员的细胞通过CD1d指导的细胞凋亡直接杀死癌细胞。

[0618] 131.根据声明126至130中任一项所述的方法,其中所述诱导/动员的细胞导致肿瘤坏死。

[0619] 132.根据声明122所述的方法,其中所述自身免疫性疾病选自由以下组成的组:多发性硬化症、系统性硬化症、肌萎缩性侧索硬化症、1型糖尿病(T1D)、硬皮病、天疱疮和狼疮。

[0620] 133.根据声明122所述的方法,其中所述自身免疫性疾病是1型糖尿病(T1D)。

[0621] 134.根据声明122所述的方法,其中所述感染性疾病选自由以下组成的组:HIV和疱疹、肝炎、人乳头状瘤病毒或由冠状病毒感染引起的疾病如COVID-19。

[0622] 135.根据声明122所述的方法,其中所述感染性疾病是:

[0623] i)HIV;或

[0624] ii)COVID-19。

[0625] 分离/扩增步骤

[0626] 136.根据声明101-135中任一项所述的方法,所述方法进一步包括从所述受试者或从源自所述受试者的样品分离所述诱导/动员的细胞群体的步骤,

[0627] 任选地,其中所述分离步骤在以下条件下进行:

[0628] i)在糖皮质激素施用后30与60分钟之间;

[0629] ii)在糖皮质激素施用后至少48小时;

[0630] iii)在糖皮质激素施用后48小时与13天之间;或

[0631] iv)在糖皮质激素施用后6与48小时之间。

[0632] 137.如声明136所述的方法,其中所述样品选自由以下组成的组:血液、血浆、肿瘤活检物或手术切除的肿瘤、骨髓、肝脏和脂肪或脂肪组织。

[0633] 138.根据声明136或137所述的方法,所述方法进一步包括扩增所述分离的细胞的步骤。

[0634] 139.根据声明136-138中任一项所述的方法,所述方法进一步包括用NKT细胞激活剂、T细胞激活剂和/或NK细胞激活剂激活所述分离的细胞的步骤;

[0635] 任选地其中所述NKT细胞激活剂选自:αGalCer(α-半乳糖基神经酰胺;α-GalCer)和硫苷脂(3-O-磺基半乳糖基神经酰胺;SM4;硫酸化半乳糖脑苷脂)。

[0636] 任选地其中所述T细胞激活剂选自:唑来膦酸盐和美伐他汀;并且

[0637] 任选地其中所述NK细胞激活剂选自由IL-2、IL-12、IL-15、IL-18、IL-21组成的组。

[0638] 分离的细胞的转染

[0639] 140.根据声明136至139中任一项所述的方法,所述方法进一步包括将编码蛋白质的核酸引入所述分离的细胞中以及在促进所述蛋白质表达的条件下培养所述细胞的步骤。

[0640] 141.根据声明140所述的方法,其中所述蛋白质选自由以下中的一者或多者组成的组:T细胞受体(TCR)、嵌合抗原受体(CAR)、分裂、通用且可编程的CAR(SUPRA-CAR)。

[0641] 142.根据声明141所述的方法,其中所述CAR和/或TCR包含结合至选自由以下组成的组的抗原的抗原结合结构域:CD19、CD20、CD22、GD2、CD133、EGFR、GPC3、CEA、MUC1、间皮素、IL-13R、PSMA、ROR1、CAIX、Her2。

[0642] 143.根据声明140-142中任一项所述的方法,所述方法进一步包括扩增所述细胞的步骤。

[0643] 144.根据声明140-143中任一项所述的方法,所述方法进一步包括用NKT细胞激活剂、T细胞激活剂和/或NK细胞激活剂激活所述细胞的步骤。

[0644] 分离的细胞的施用

[0645] 145.一种治疗受试者的癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效剂量的根据声明136至144中任一项分离的细胞,或治疗有效剂量的如声明201-211中任一项所述的分离的细胞或细胞群体。

[0646] 146.根据声明145所述的方法,其中向其施用所述分离的细胞的受试者是从其分离所述细胞的同一受试者。

[0647] 147.根据声明145所述的方法,其中向其施用所述分离的细胞的受试者与从其分离所述细胞的受试者不同。

[0648] 148.根据声明145至147中任一项所述的方法,其中所述分离的细胞通过选自由以下组成的组的方法施用于所述受试者:静脉内注射、腹膜内注射、淋巴管内注射、鞘内注射、注射到脑脊液(CSF)中、直接注射到肿瘤中以及作为放置在实体瘤上或附近的凝胶。

[0649] 医学用途

[0650] 149.一种糖皮质激素,所述糖皮质激素用于根据声明101-148中任一项所述的方法中。

[0651] 150.糖皮质激素用于制造用于根据声明101-148中任一项所述的方法中的药物中的用途。

[0652] 151.地塞米松用于诱导和/或动员NKT样细胞群体的用途,其中所述细胞群体通过根据声明101-148中任一项所述的方法来诱导和/或动员。

[0653] AVM-NKT源性iPSC

[0654] 152.一种产生诱导型多能干细胞(iPSC)的方法,所述方法包括对通过根据声明136-138中任一项所述的方法分离的细胞进行重编程以产生iPSC。

[0655] 153.如声明152所述的方法,其中所述重编程包括将编码Oct3/4、Klf4、Sox2和C-myc的一个或多个表达盒引入所述细胞中。

[0656] 154.如声明152所述的方法,其中所述重编程包括将Oct3/4、KLF4、Sox2和C-myc编码mRNA引入所述细胞中。

[0657] 155.如声明153或154所述的方法,其中所述重编程进一步包括将编码以下中的一者或多者的一个或多个表达盒引入所述细胞中:Sox1、Sox3、Sox15、Klf1、Klf2、Klf5、L-myc、N-myc、Nanog和/或LIN28。

[0658] 156.如声明153或154所述的方法,其中所述重编程进一步包括将以下中的一者或多者引入所述细胞中:Sox1、Sox3、Sox15、Klf1、Klf2、Klf5、L-myc、N-myc、Nanog和/或LIN28编码mRNA。

[0659] 157.根据声明152-156中任一项所述的方法,所述方法进一步包括诱导所述iPSC的分化。

[0660] 158.根据声明157所述的方法,其中所述iPSC分化成NKT细胞。

[0661] 159.一种产生NKT样细胞群体的方法,所述方法包括使通过根据声明152-156中任一项所述的方法产生的iPSC分化成NKT细胞谱系。

[0662] ---

[0663] 分离的人免疫系统NKT样细胞

[0664] 201.一种分离的自然杀伤T细胞样细胞(NKT样细胞)或NKT样细胞群体,其通过根据声明101-159中任一项所述的方法产生。

[0665] 202.一种分离的NKT样细胞,其特征在于所述细胞表达CD56、TCRγ/δ和iTCR。

[0666] 203.根据声明202所述的分离的细胞,其中所述细胞的特征在于:

[0667] i)所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45、TCRα/β、CD34和/或ICAM3;

[0668] ii)所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45和/或TCRα/β;

[0669] iii)所述细胞不表达CD4;

[0670] iv)所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16和NKp44;

[0671] v)所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR和TCRα/β;

[0672] vi)所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44和TCRα/β;

[0673] vii)所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD8、CD14和CD19

[0674] viii)所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19和CD45;

[0675] ix)所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45和TCRα/β;并且/或者

[0676] x)所述细胞表达声明103中定义的标志物组合。

[0677] 204.一种分离的NKT样细胞群体,其特征在于至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ和iTCR。

[0678] 205.根据声明204所述的分离的细胞群体,其中所述细胞群体的特征在于:

[0679] i)至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45、TCRα/β、CD34和/或ICAM3;

[0680] ii)至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45和/或TCRα/β;

[0681] iii)至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞不表达CD4;

[0682] iv)至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16和NKp44;

[0683] v)至少60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％或99％的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR和TCRα/β;

[0684] vi)至少60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％或99％的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44和TCRα/β;

[0685] vii)至少60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％或99％的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD8、CD14和CD19;

[0686] viii)至少60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％或99％的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19和CD45;

[0687] ix)至少60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％或99％的所述细胞表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45和TCRα/β;并且/或者

[0688] x)至少60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％或99％的所述细胞表达声明103中定义的标志物组合。

[0689] 206.根据声明202-205中任一项所述的分离的细胞或分离的细胞群体,其中所述一个或多个细胞是通过根据声明101-159中任一项所述的方法产生的。

[0690] 207.根据声明202-205中任一项所述的分离的细胞或分离的细胞群体,其中所述一个或多个细胞是天然存在的细胞。

[0691] 208.根据声明202-205和207中任一项所述的分离的细胞或分离的细胞群体,其中所述一个或多个细胞尚未经转染、转导或以其它方式修饰以表达TCRγ/δ。

[0692] 209.根据声明202-205和207-208中任一项所述的分离的细胞或分离的细胞群体,其中所述一个或多个细胞尚未经转染、转导或以其它方式修饰以表达iTCR。

[0693] 210.根据声明202-205和207-209中任一项所述的分离的细胞或分离的细胞群体,其中所述一个或多个细胞尚未经转染、转导或以其它方式修饰以表达TCRα/β。

[0694] 211.根据声明202-205和207-210中任一项所述的分离的细胞或分离的细胞群体,其中所述一个或多个细胞尚未经转染、转导或以其它方式修饰以表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45、TCRα/β、CD34和/或ICAM3。

[0695] ---

[0696] 治疗方法

[0697] 301.一种用于治疗受试者的癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病的方法中的糖皮质激素,所述方法包括以相当于约6-45mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED)的剂量向所述受试者施用糖皮质激素,

[0698] 其中所述糖皮质激素诱导NKT样细胞群体,其特征在于至少60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％或99％的所述细胞:

[0699] i)表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45、TCRα/β、CD34和/或ICAM3;

[0700] ii)表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45和/或TCRα/β;并且/或者;

[0701] iii)不表达:CD4。

[0702] 302.一种用于治疗受试者的癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病的方法中的糖皮质激素,所述方法包括以相当于约6-45mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED)的剂量向所

述受试者施用糖皮质激素，

[0703] 其中糖皮质激素诱导如声明101-159中任一项所定义的NKT样细胞群体。

[0704] 303.一种治疗受试者的癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病的方法，所述方法包括以相当于约6-45mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED)的剂量向所述受试者施用糖皮质激素，

[0705] 其中所述糖皮质激素诱导NKT样细胞群体，其特征在于至少60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％或99％的所述细胞：

[0706] i)表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45、TCRα/β、CD34和/或ICAM3；

[0707] ii)表达CD56、TCRγ/δ、iTCR、CD16、NKp44、CD3、CD8、CD14、CD19、CD45和/或TCRα/β；并且/或者；

[0708] iii)不表达：CD4。

[0709] 304.一种治疗受试者的癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病的方法，所述方法包括以相当于约6-45mg/kg地塞米松碱的人体等效剂量(HED)的剂量向所述受试者施用糖皮质激素，

[0710] 其中糖皮质激素诱导如声明101-159中任一项所定义的NKT样细胞群体。

[0711] 305.一种用于治疗受试者的癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病的方法中的分离的NKT样细胞或NKT样细胞群体，所述方法包括向有需要的受试者施用治疗有效剂量的：

[0712] i)根据声明136至144中任一项分离的细胞；

[0713] ii)根据声明201-211中任一项所述的细胞。

[0714] 306.一种治疗受试者的癌症、自身免疫性疾病或感染性疾病的方法，所述方法包括向有需要的受试者施用治疗有效剂量的：

[0715] i)根据声明136至144中任一项分离的细胞；

[0716] ii)根据声明201-211中任一项所述的细胞。

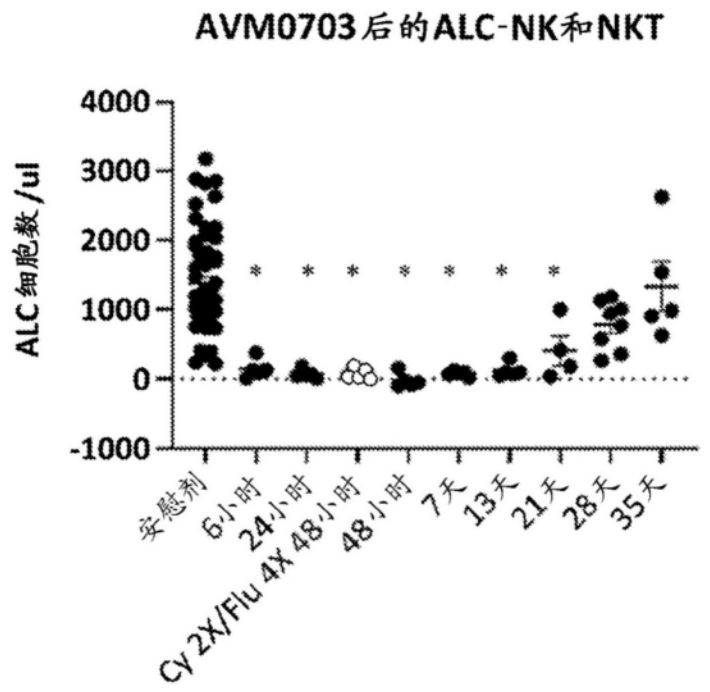

AVM0703后的ALC-NK和NKT
ALC细胞数/ul
4000
3000
2000
1000
0
-1000
安慰剂
6小时
24小时
Cy 2X/Flu 4X 48小时
48小时
7天
13天
21天
28天
35天

图1

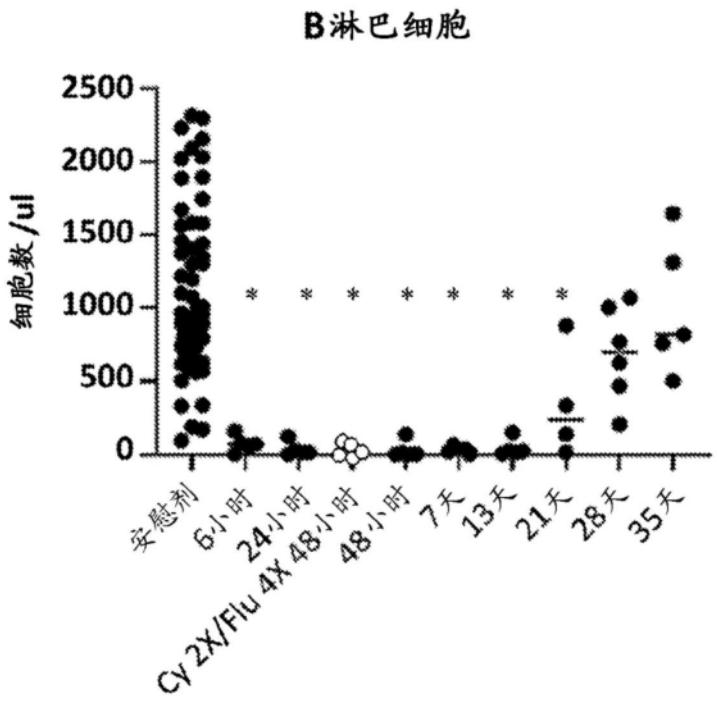

B淋巴细胞
细胞数/ul
2500
2000
1500
1000
500
0
安慰剂
6小时
24小时
Cy 2X/Flu 4X 48小时
48小时
7天
13天
21天
28天
35天

图2

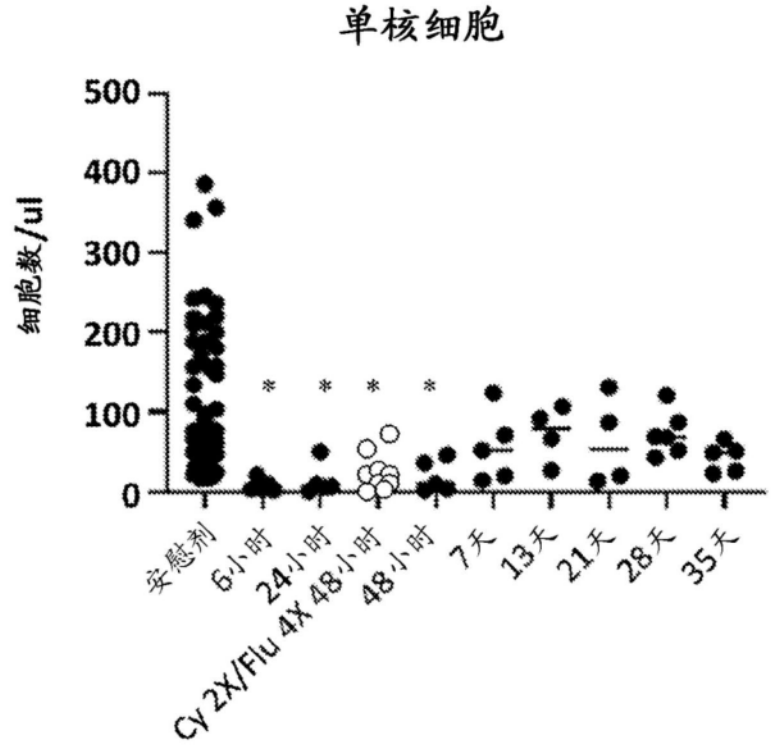

单核细胞
细胞数/ul
500
400
300
200
100
0
*
*
*
*
安慰剂
6小时
24小时
Cy 2X/Flu 4X 48小时
48小时
7天
13天
21天
28天
35天

图3

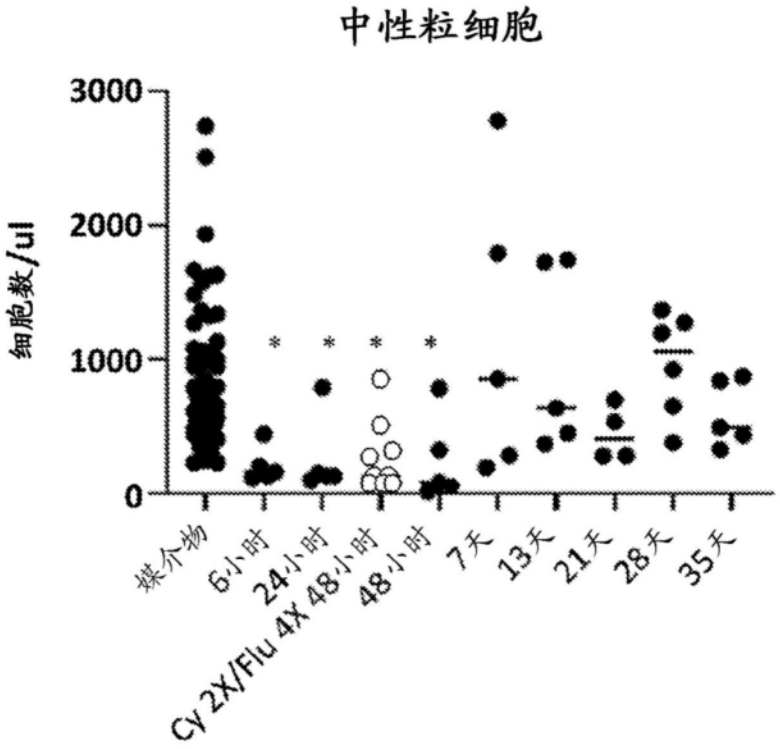

中性粒细胞
细胞数/ul
3000
2000
1000
0
*
*
*
*
媒介物
6小时
24小时
Cy 2X/Flu 4X 48小时
48小时
7天
13天
21天
28天
35天

图4

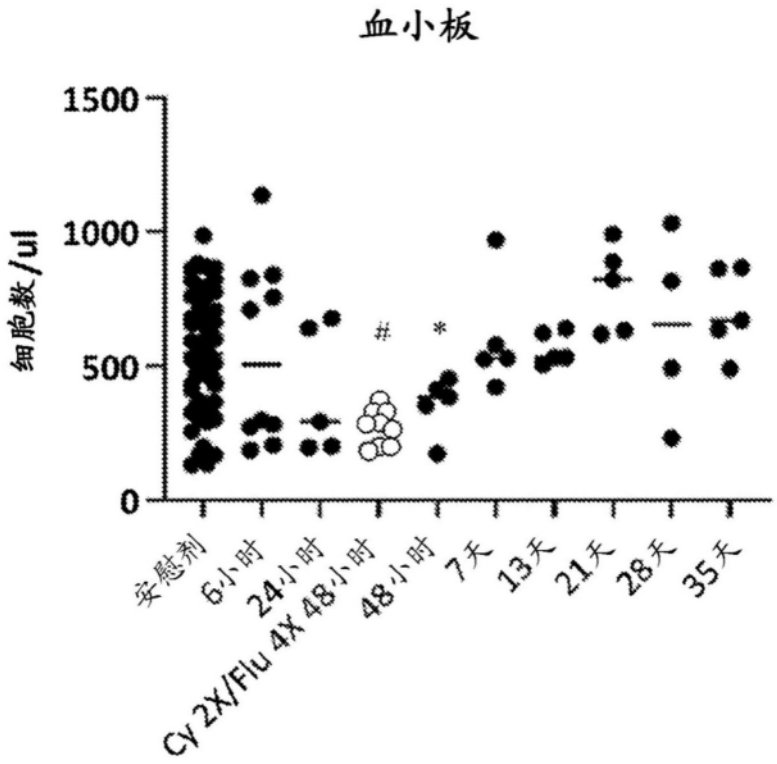

血小板
细胞数/ul
1500
1000
500
0
#
*
安慰剂
6小时
24小时
Cy 2X/Flu 4X 48小时
48小时
7天
13天
21天
28天
35天

图5

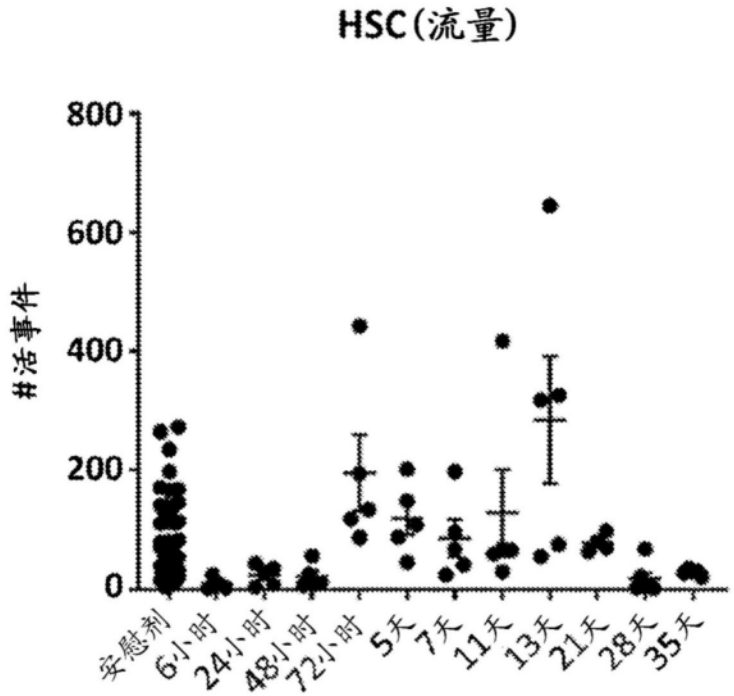

HSC(流量)
#活事件
800
600
400
200
0
安慰剂
6小时
24小时
48小时
72小时
5天
7天
11天
13天
21天
28天
35天

图6

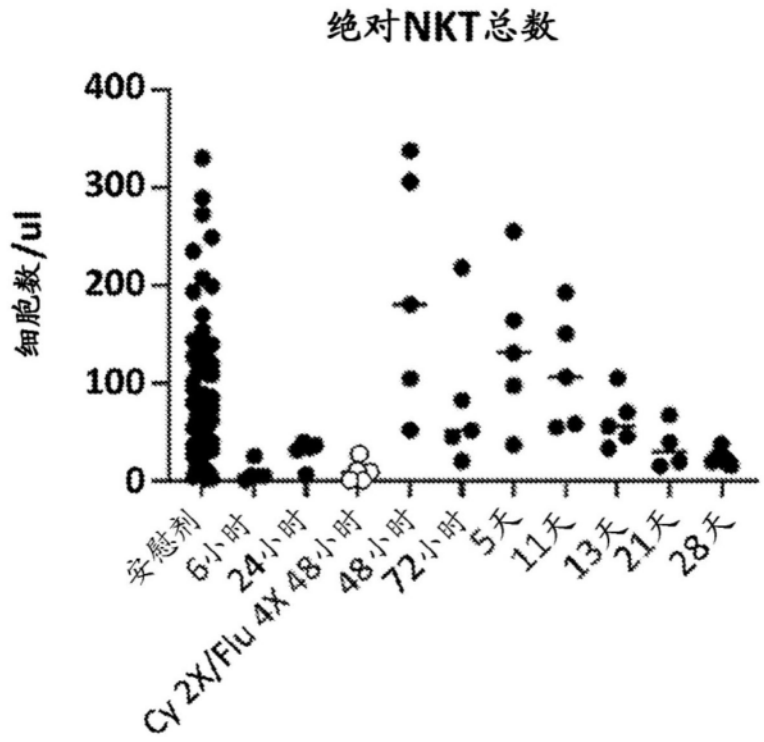

绝对NKT总数
细胞数/ul
400
300
200
100
0
安慰剂
6小时
24小时
Cy 2X/Flu 4X 48小时
48小时
72小时
5天
11天
13天
21天
28天

图7

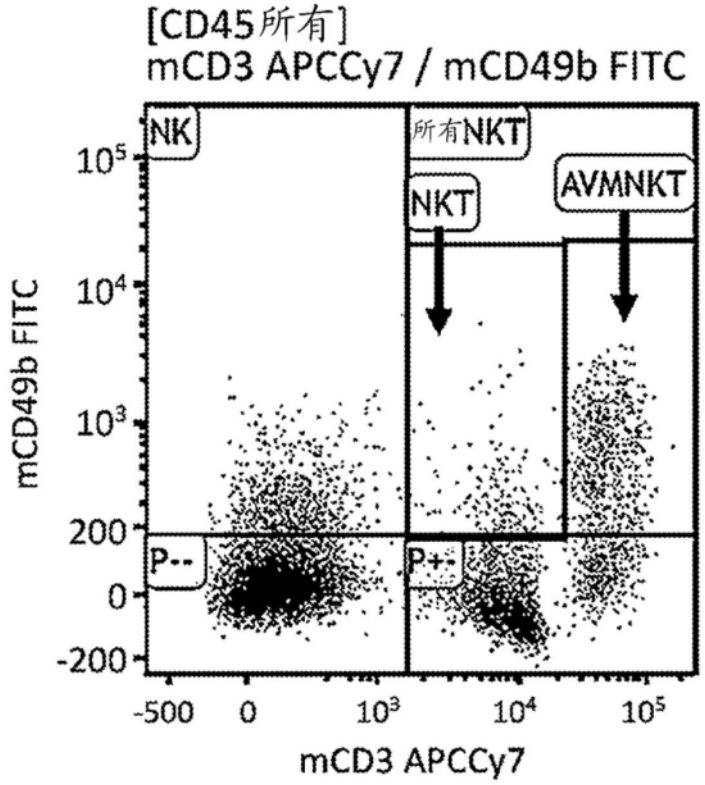

[CD45所有]
mCD3 APCCy7 / mCD49b FITC
NK
所有NKT
NKT
AVMNKT
P--
P+-
mCD49b FITC
mCD3 APCCy7
10^5
10^4
10^3
200
0
-200
-500
0
10^3
10^4
10^5

图8

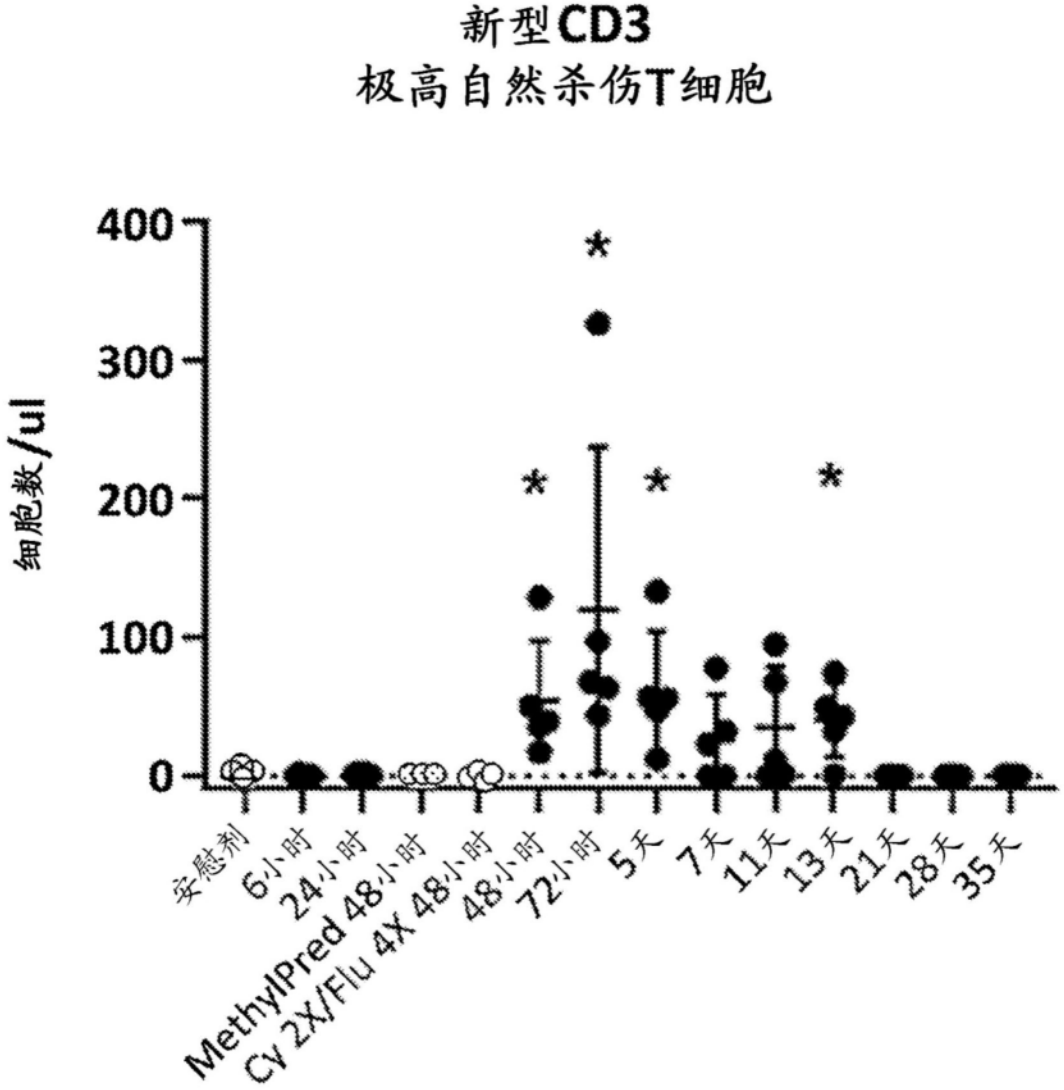

新型CD3
极高自然杀伤T细胞
细胞数/ul
400
300
200
100
0
*
*
*
安慰剂
6小时
24小时
MethylPred 48小时
Cy 2X/Flu 4X 48小时
48小时
72小时
5天
7天
11天
13天
21天
28天
35天

图9

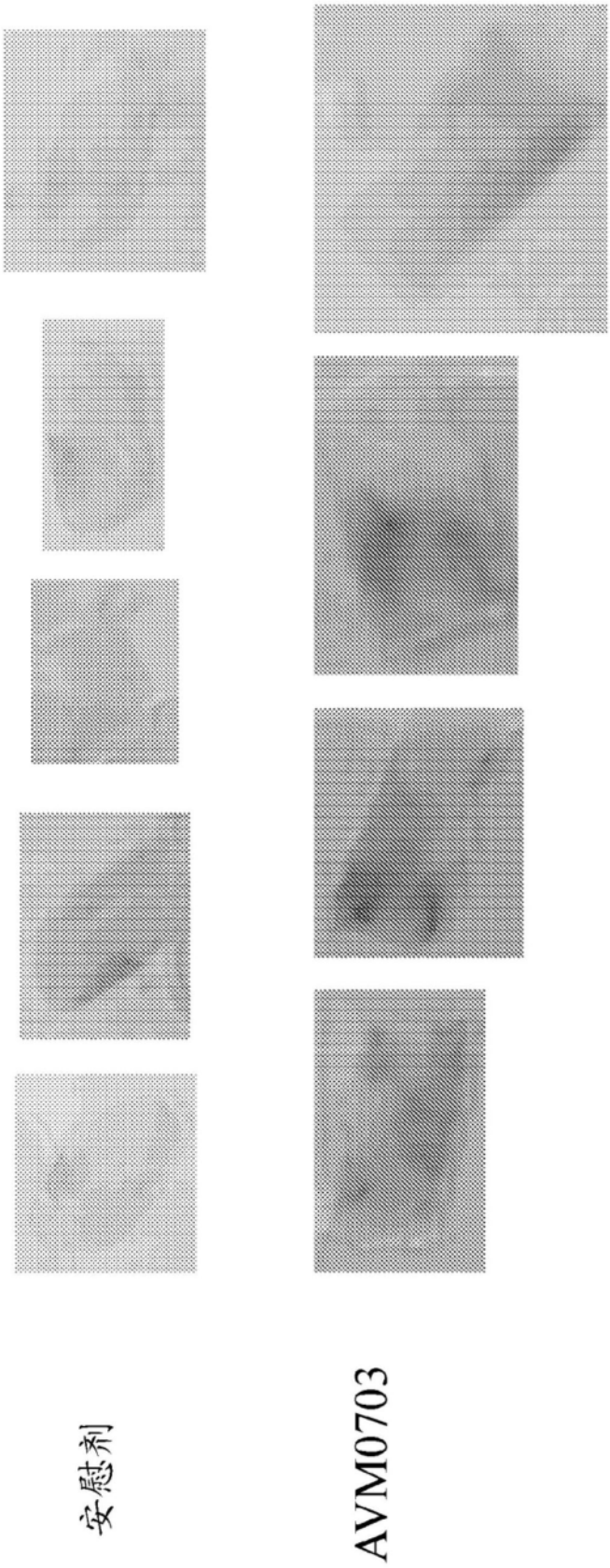


图10A

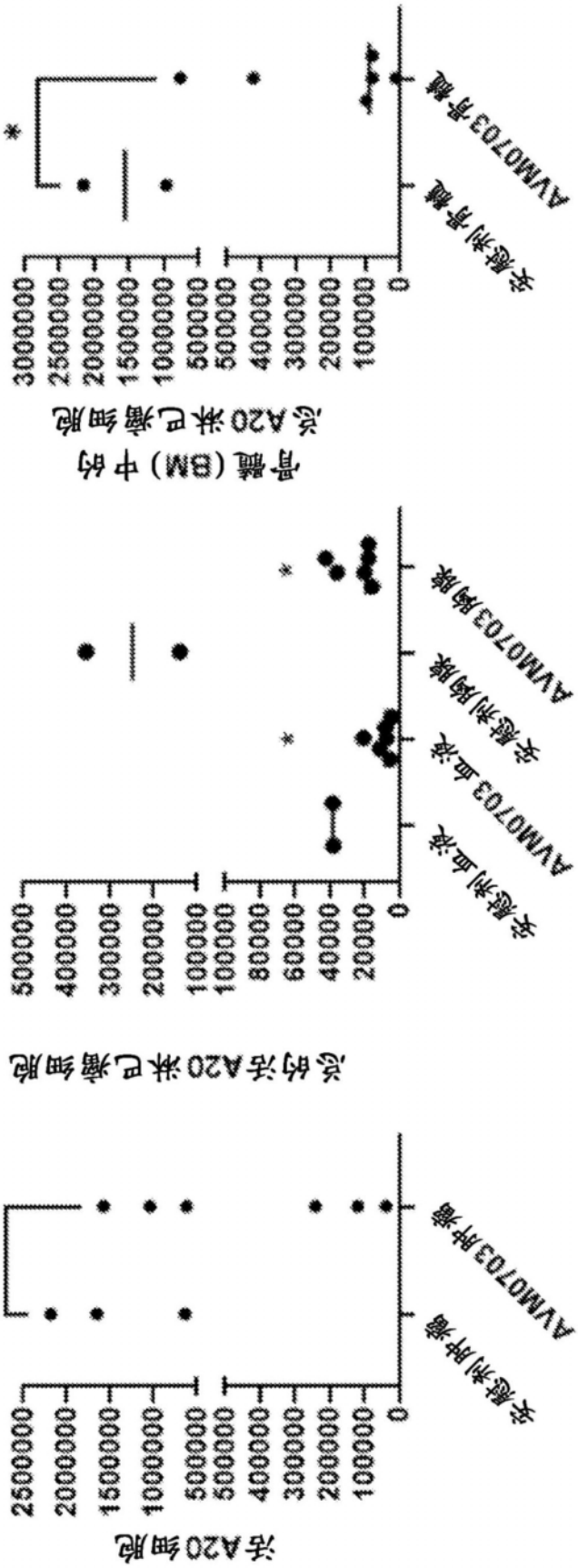

活A20细胞
3000000
2500000
2000000
1500000
1000000
500000
500000
400000
300000
200000
100000
0
未经刺激
AVM0703处理
*
总的活A20淋巴瘤细胞
500000
400000
300000
200000
100000
100000
80000
60000
40000
20000
0
未经刺激
AVM0703处理
未经刺激
AVM0703处理
*
*
骨髓(BM)中的
总A20淋巴瘤细胞
3000000
2500000
2000000
1500000
1000000
500000
500000
400000
300000
200000
100000
0
未经刺激
AVM0703处理
*

图10B

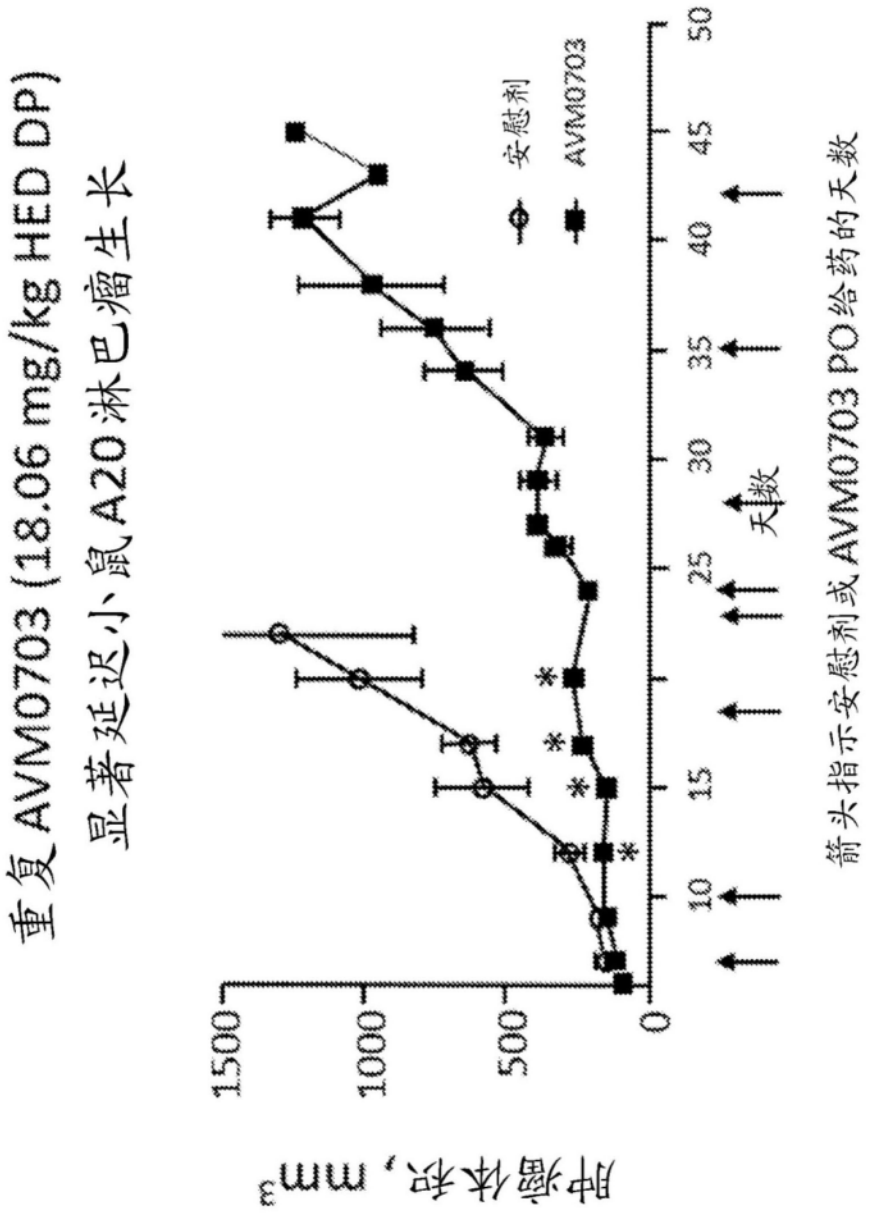
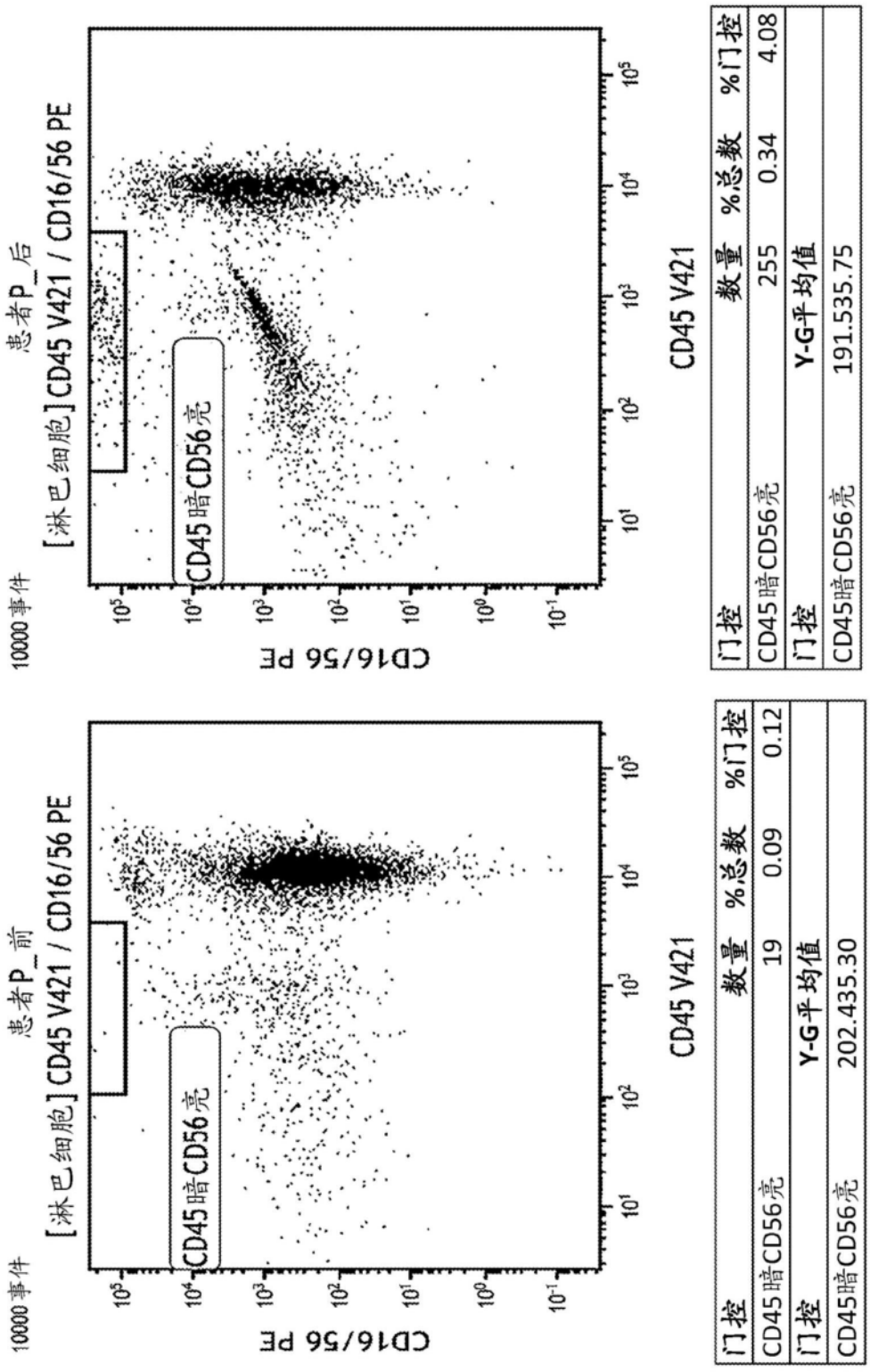

重复AVM0703 (18.06 mg/kg HED DP)
显著延迟小鼠A20淋巴瘤生长
肿瘤体积，mm³
1500
1000
500
0
10
15
25
30
35
40
45
50
天数
安慰剂
AVM0703
箭头指示安慰剂或AVM0703 PO给药的天数

图11



门控	数量	%总数	%门控
CD45暗CD56亮	255	0.34	4.08
门控	Y-G平均值		
CD45暗CD56亮	191.535.75		

门控	数量	%总数	%门控
CD45暗CD56亮	19	0.09	0.12
门控	Y-G平均值		
CD45暗CD56亮	202.435.30		

图12

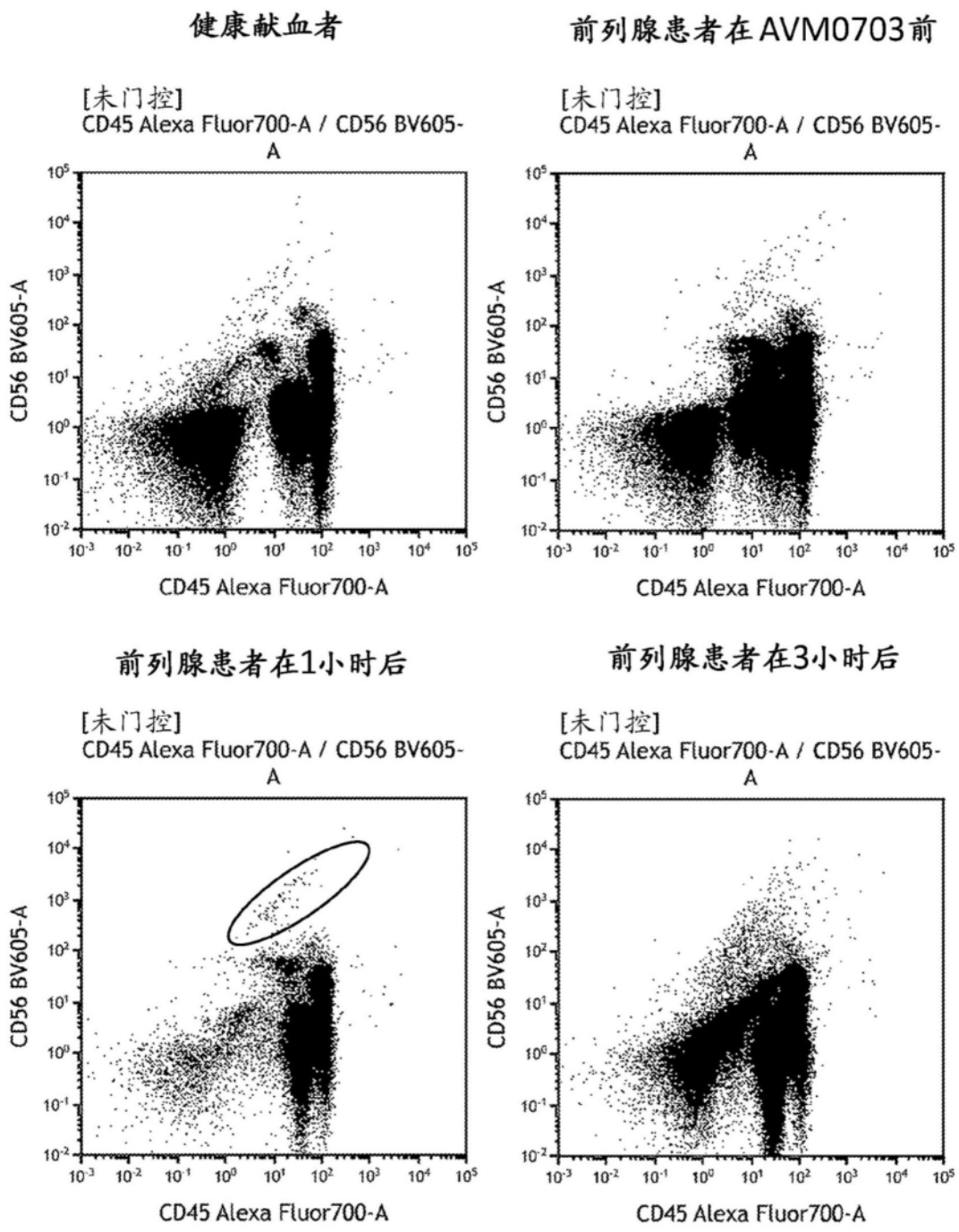

健康献血者
[未门控]
CD45 Alexa Fluor700-A / CD56 BV605-A
CD56 BV605-A
CD45 Alexa Fluor700-A
前列腺患者在AVM0703前
[未门控]
CD45 Alexa Fluor700-A / CD56 BV605-A
CD56 BV605-A
CD45 Alexa Fluor700-A
前列腺患者在1小时后
[未门控]
CD45 Alexa Fluor700-A / CD56 BV605-A
CD56 BV605-A
CD45 Alexa Fluor700-A
前列腺患者在3小时后
[未门控]
CD45 Alexa Fluor700-A / CD56 BV605-A
CD56 BV605-A
CD45 Alexa Fluor700-A

图13

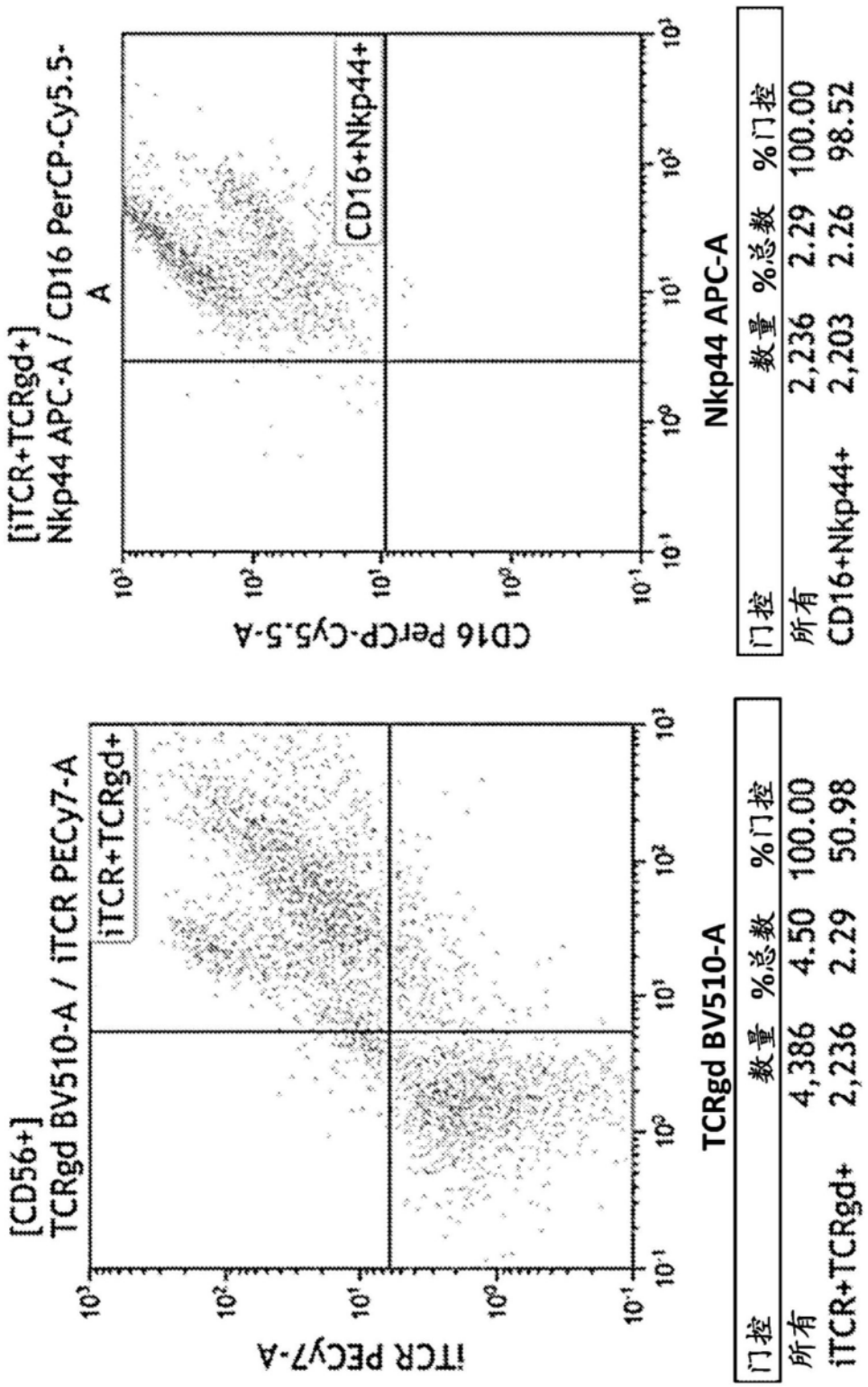

[CD56+]
TCRgd BV510-A / iTCR PECy7-A
iTCR+TCRgd+
iTCR PECy7-A
TCRgd BV510-A
门控 数量 %总数 %门控
所有 4,386 4.50 100.00
iTCR+TCRgd+ 2,236 2.29 50.98
[iTCR+TCRgd+]
Nkp44 APC-A / CD16 PerCP-Cy5.5-A
CD16+Nkp44+
CD16 PerCP-Cy5.5-A
Nkp44 APC-A
门控 数量 %总数 %门控
所有 2,236 2.29 100.00
CD16+Nkp44+ 2,203 2.26 98.52

图14

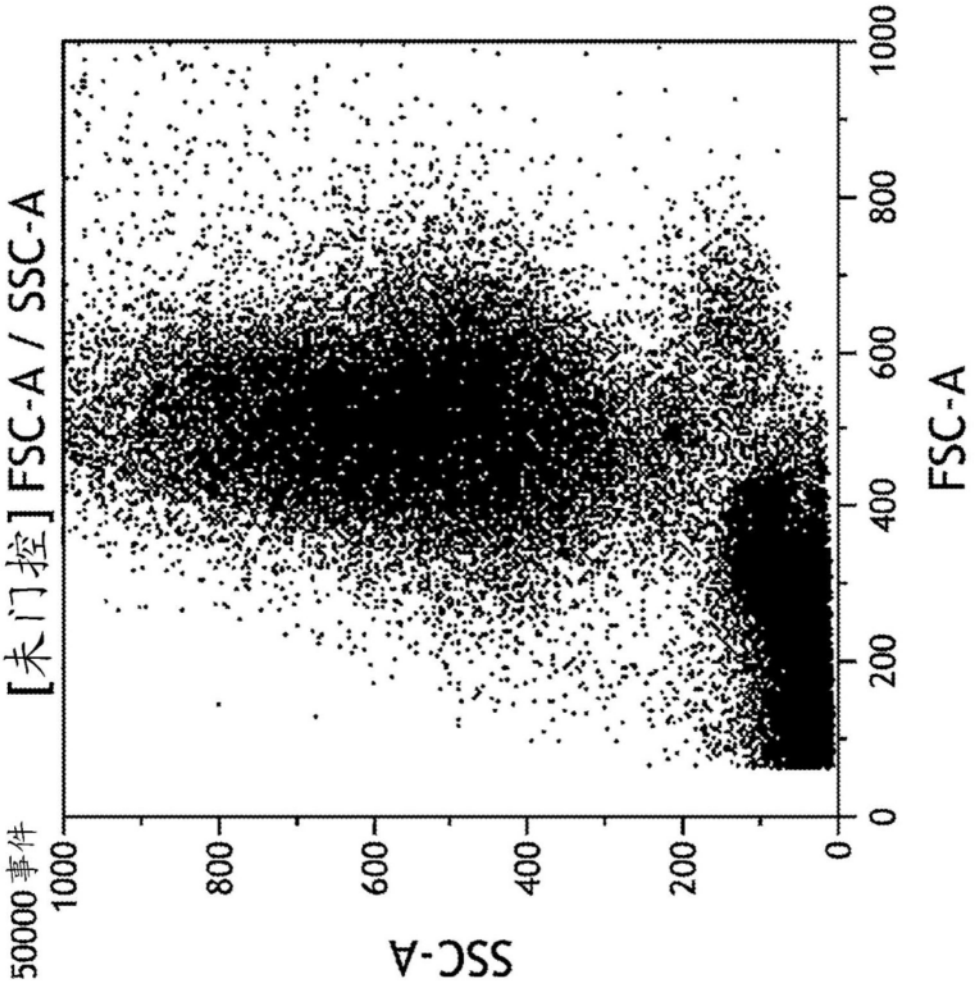
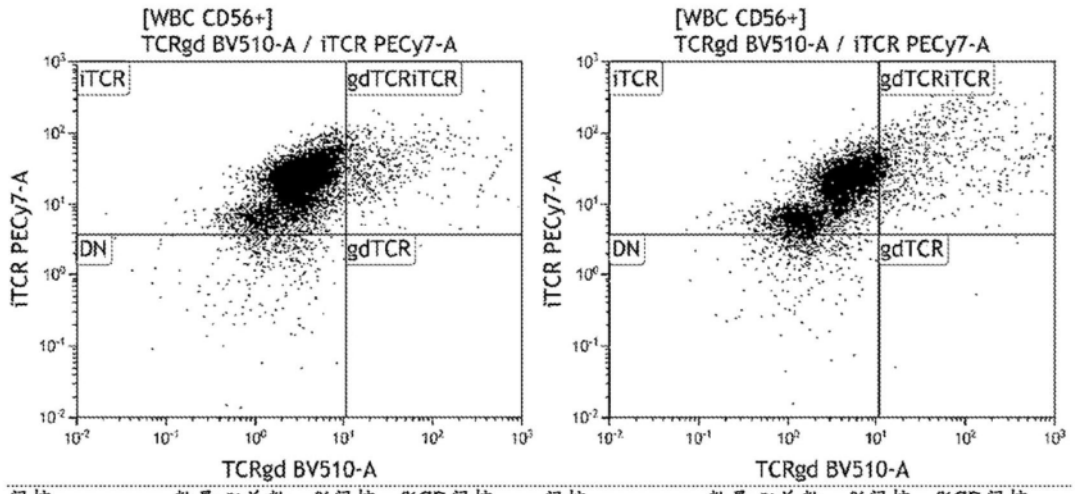
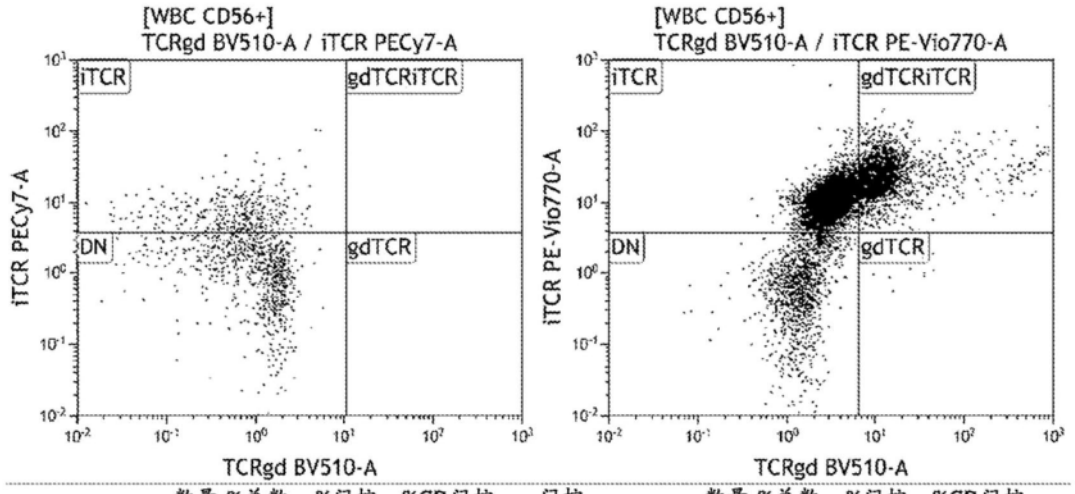


图15



门控	数量	%总数	%门控	%GP门控
所有	10,782	1.84	100.00	N/A
DN	577	0.10	5.35	0.16
gdTCR	2	0.00	0.02	0.00
gdTCRiTCR	547	0.09	5.07	0.15
iTCR	9,656	1.65	89.56	2.67

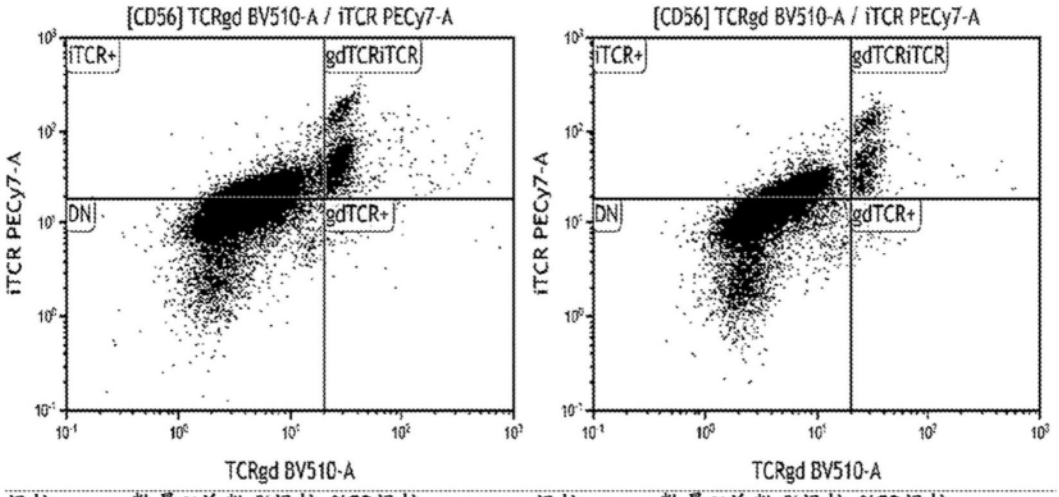
门控	数量	%总数	%门控	%GP门控
所有	7,324	1.13	100.00	N/A
DN	620	0.10	8.47	0.17
gdTCR	17	0.00	0.23	0.00
gdTCRiTCR	860	0.13	11.74	0.24
iTCR	5,827	0.90	79.56	1.61



	数量	%总数	%门控	%GP门控
所有	4,978	2.58	100.00	N/A
DN	2,578	1.34	51.79	1.54
gdTCR	216	0.11	4.34	0.13
gdTCRiTCR	5	0.00	0.10	0.00
iTCR	2,179	1.13	43.77	1.30

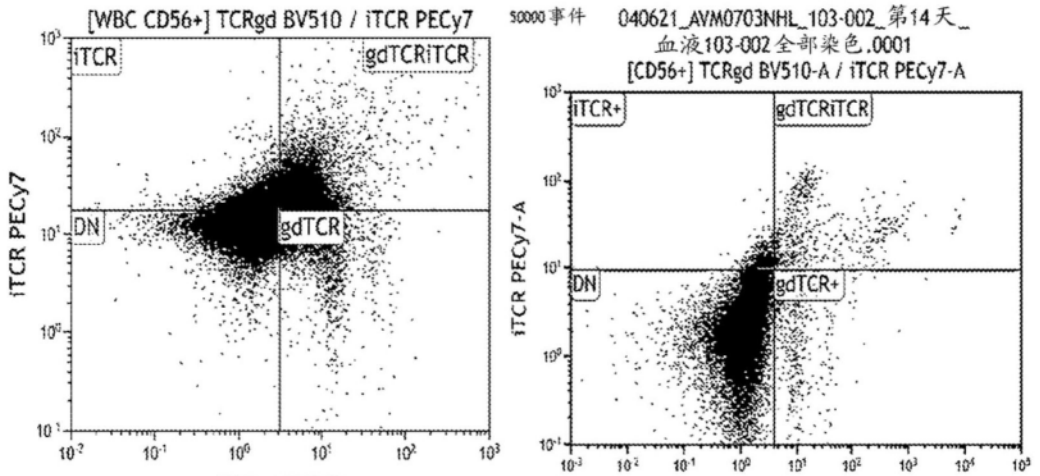
门控	数量	%总数	%门控	%GP门控
所有	14,017	6.81	100.00	N/A
DN	2,469	1.20	17.61	1.41
gdTCR	161	0.08	1.15	0.09
gdTCRiTCR	3,064	1.49	21.86	1.74
iTCR	8,323	4.04	59.38	4.74

图16



门控	数量	%总数	%门控	%GP门控
所有	37,116	15.26	100.00	N/A
DN	19,353	7.96	52.14	10.02
gdTCR+	205	0.08	0.55	0.11
gdTCRiTCR	2,179	0.90	5.87	1.13
iTCR+	15,379	6.32	41.43	7.97

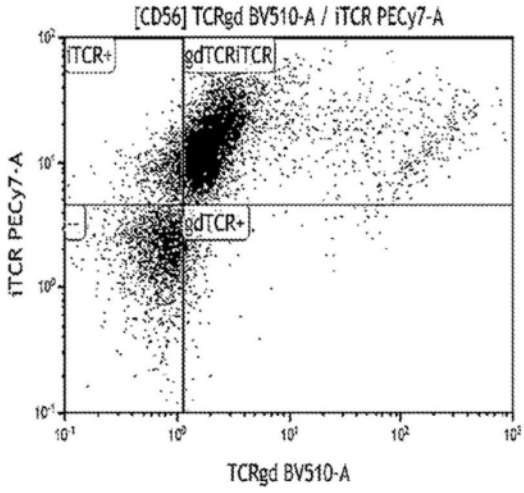
门控	数量	%总数	%门控	%GP门控
所有	23,826	14.76	100.00	N/A
DN	13,872	8.60	58.22	10.95
gdTCR+	115	0.07	0.48	0.09
gdTCRiTCR	1,053	0.65	4.42	0.83
iTCR+	8,786	5.44	36.88	6.93



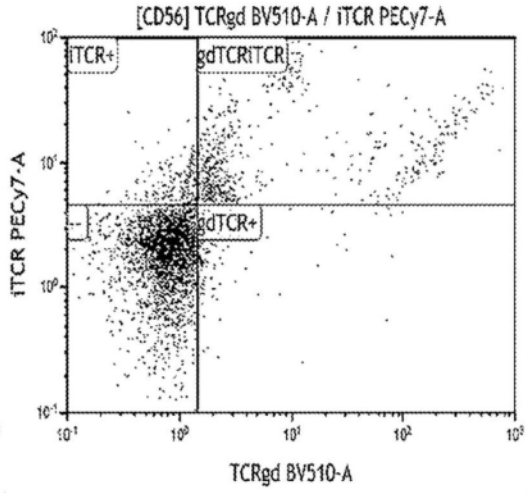
门控	数量	%总数	%门控	%GP门控
所有	73,065	10.48	100.00	N/A
DN	41,509	5.95	56.81	6.90
gdTCR	10,863	1.56	14.87	1.81
gdTCRiTCR	11,954	1.71	16.36	1.99
iTCR	8,739	1.25	11.96	1.45

门控	数量	%总数	%门控	%GP门控
所有	22,656	9.97	100.00	N/A
DN	19,595	8.63	86.49	12.36
gdTCR+	1,707	0.75	7.53	1.08
gdTCRiTCR	671	0.30	2.96	0.42
iTCR+	683	0.30	3.01	0.43

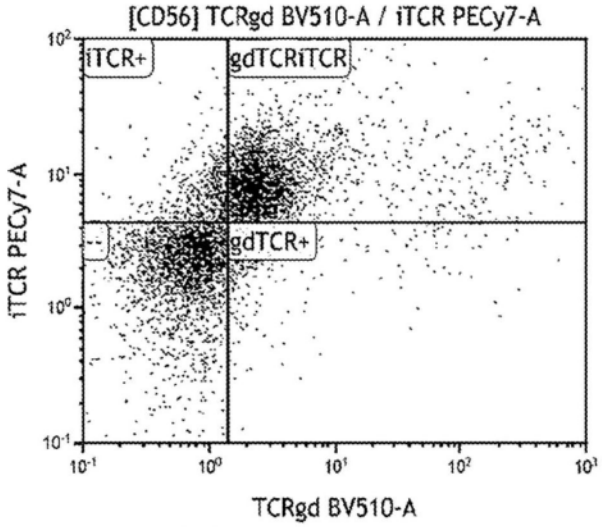
图17



门控	数量	%总数	%门控	%GP门控
所有	9,952	9.92	100.00	N/A
--	2,010	2.00	20.20	4.20
gdTCR+	468	0.47	4.70	0.98
gdTCRiTCR	6,645	6.62	66.77	13.89
iTCR+	829	0.83	8.33	1.73

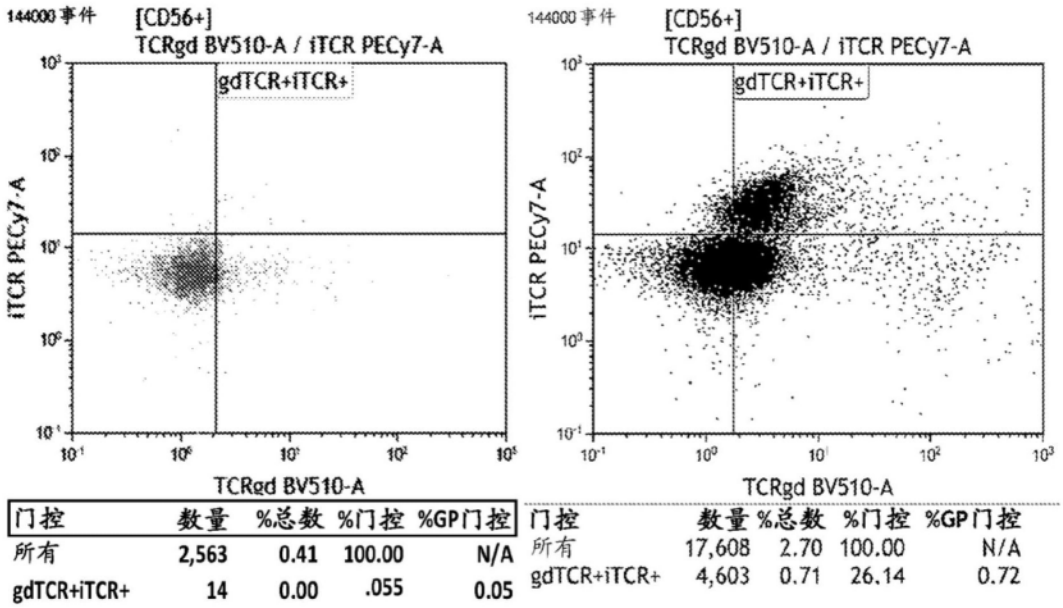


门控	数量	%总数	%门控	%GP门控
所有	4,228	3.37	100.00	N/A
--	2,961	2.36	70.03	3.62
gdTCR+	335	0.27	7.92	0.41
gdTCRiTCR	710	0.57	16.79	0.87
iTCR+	222	0.18	5.25	0.27



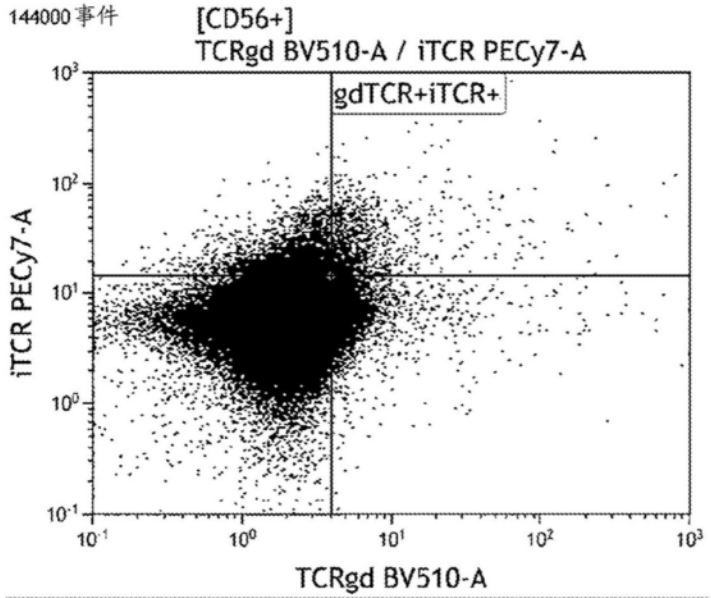
门控	数量	%总数	%门控	%GP门控
所有	7,021	4.72	100.00	N/A
--	2,897	1.95	41.26	2.66
gdTCR+	598	0.40	8.52	0.55
gdTCRiTCR	2,908	1.95	41.42	2.67
iTCR+	618	0.42	8.80	0.57

图18



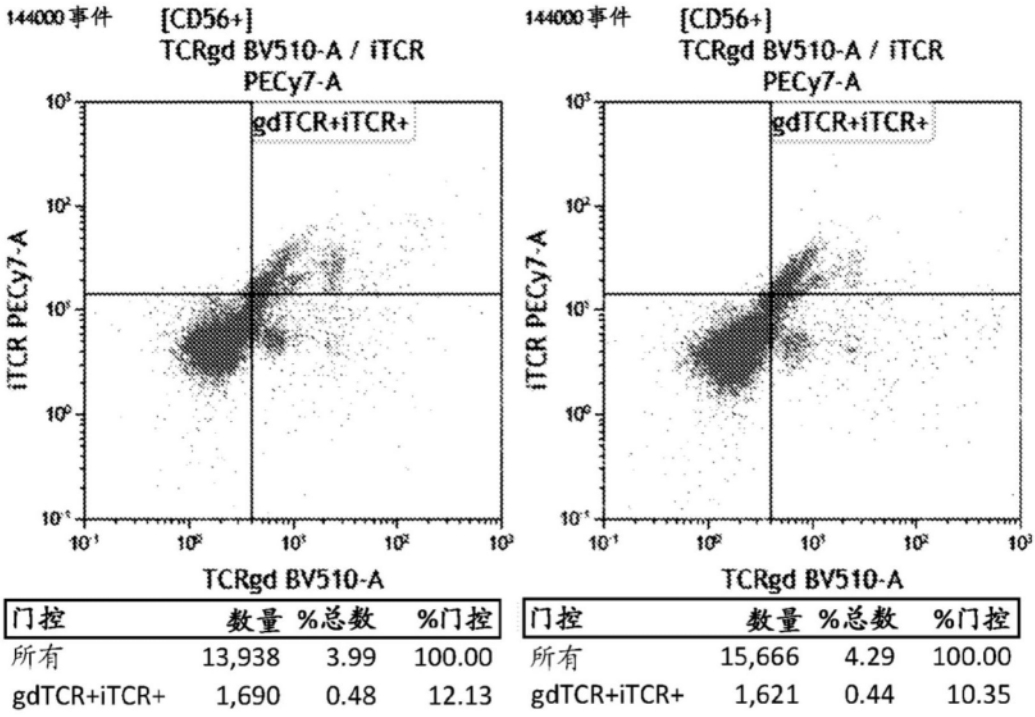
门控	数量	%总数	%门控	%GP门控
所有	2,563	0.41	100.00	N/A
gdTCR+iTCR+	14	0.00	.055	0.05

门控	数量	%总数	%门控	%GP门控
所有	17,608	2.70	100.00	N/A
gdTCR+iTCR+	4,603	0.71	26.14	0.72



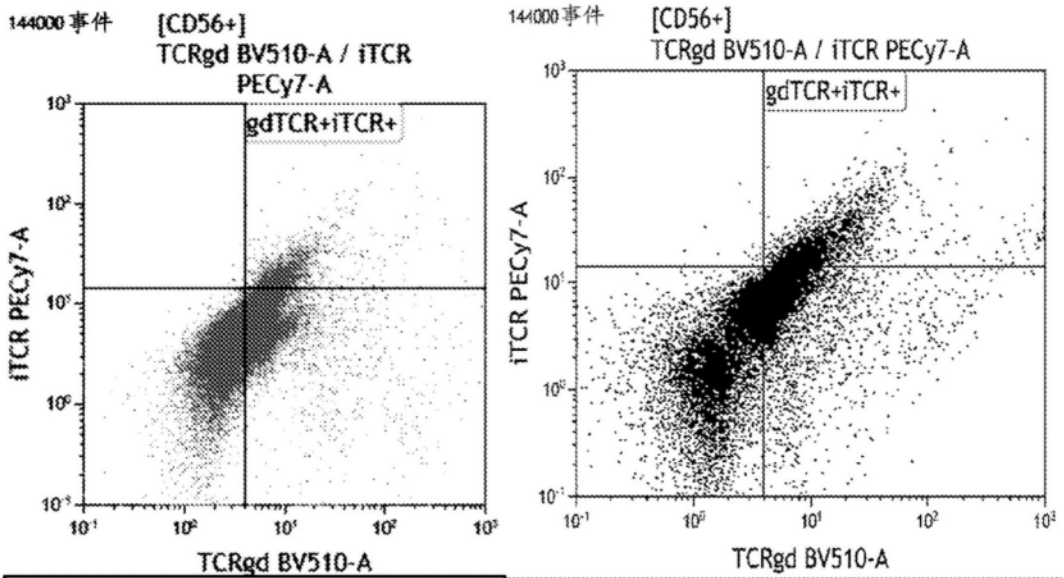
门控	数量	%总数	%门控	%GP门控
所有	216,238	21.57	100.00	N/A
gdTCR+iTCR+	2,165	0.22	1.00	0.22

图19



门控	数量	%总数	%门控
所有	13,938	3.99	100.00
gdTCR+iTCR+	1,690	0.48	12.13

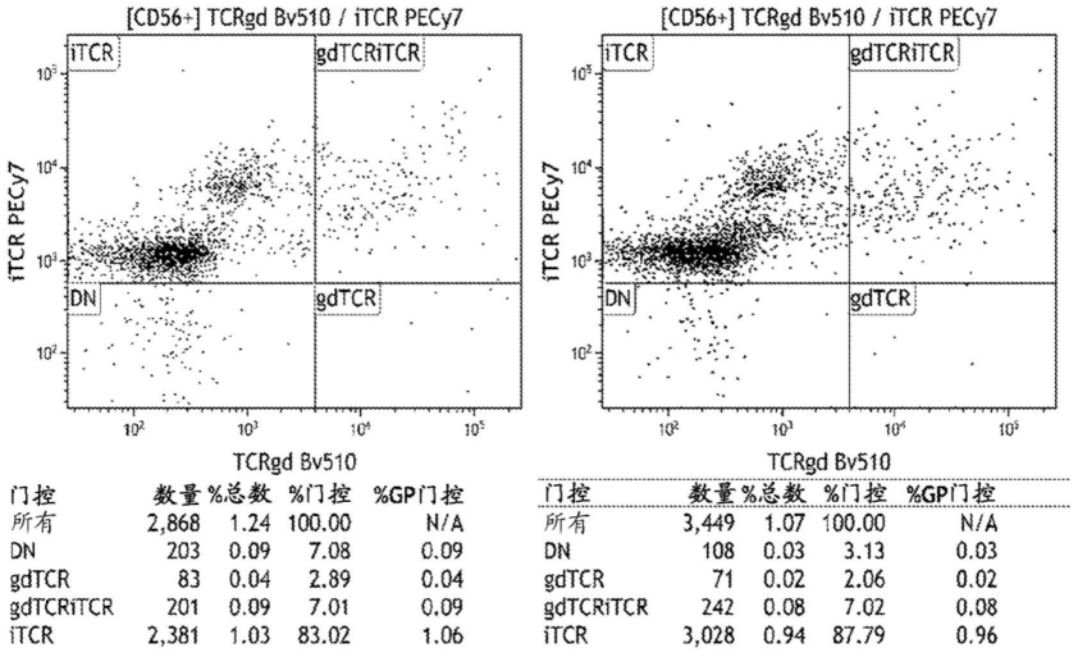
门控	数量	%总数	%门控
所有	15,666	4.29	100.00
gdTCR+iTCR+	1,621	0.44	10.35



门控	数量	%总数	%门控
所有	31,166	8.15	100.00
gdTCR+iTCR+	2,274	0.59	7.30

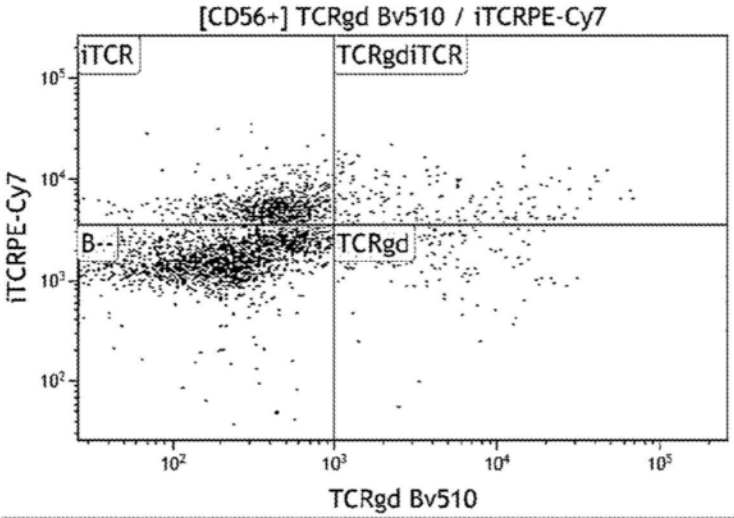
门控	数量	%总数	%门控	%GP门控
所有	25,485	7.55	100.00	N/A
gdTCR+iTCR+	2,745	0.81	10.77	0.83

图20



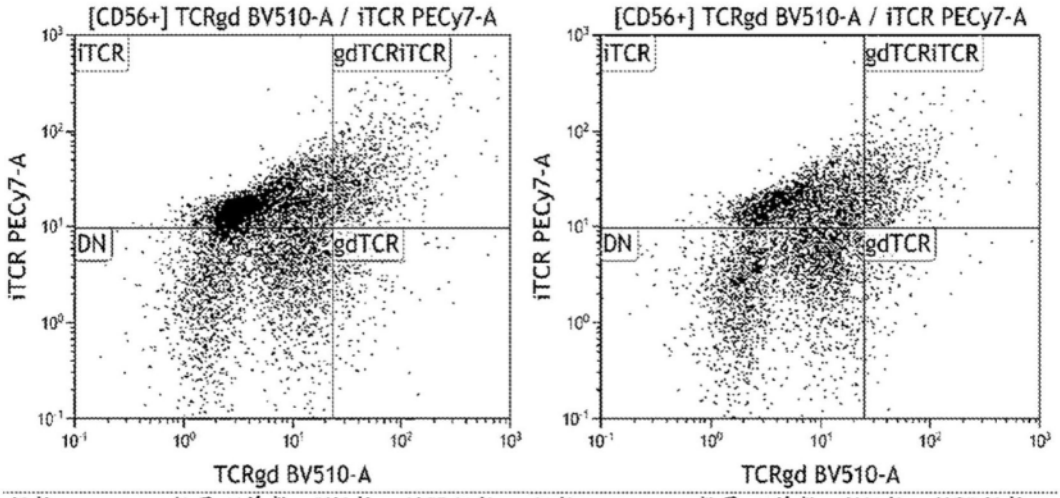
门控	数量	%总数	%门控	%GP门控
所有	2,868	1.24	100.00	N/A
DN	203	0.09	7.08	0.09
gdTCR	83	0.04	2.89	0.04
gdTCRiTCR	201	0.09	7.01	0.09
iTCR	2,381	1.03	83.02	1.06

门控	数量	%总数	%门控	%GP门控
所有	3,449	1.07	100.00	N/A
DN	108	0.03	3.13	0.03
gdTCR	71	0.02	2.06	0.02
gdTCRiTCR	242	0.08	7.02	0.08
iTCR	3,028	0.94	87.79	0.96



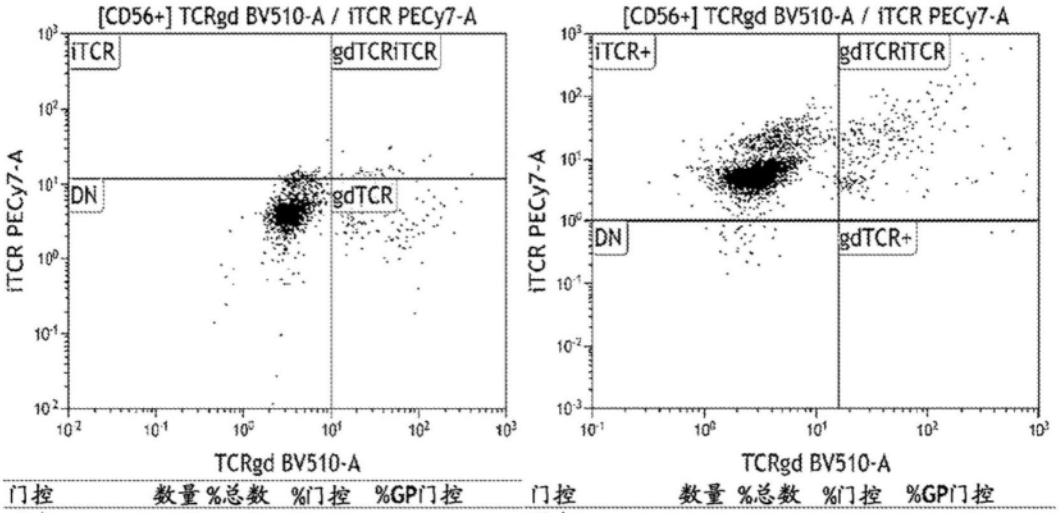
门控	数量	%总数	%门控	%GP门控
所有	3,712	1.40	100.00	N/A
B--	2,526	0.95	68.05	0.97
iTCR	781	0.29	21.04	0.30
TCRgd	216	0.08	5.82	0.08
TCRgdiTCR	189	0.07	5.09	0.07

图21



门控	数量	%总数	%门控	%GP门控
所有	10,524	7.49	100.00	N/A
DN	4,974	3.54	47.26	3.76
gdTCR	508	0.36	4.83	0.38
gdTCRiTCR	933	0.66	8.87	0.71
iTCR	4,109	2.92	39.04	3.11

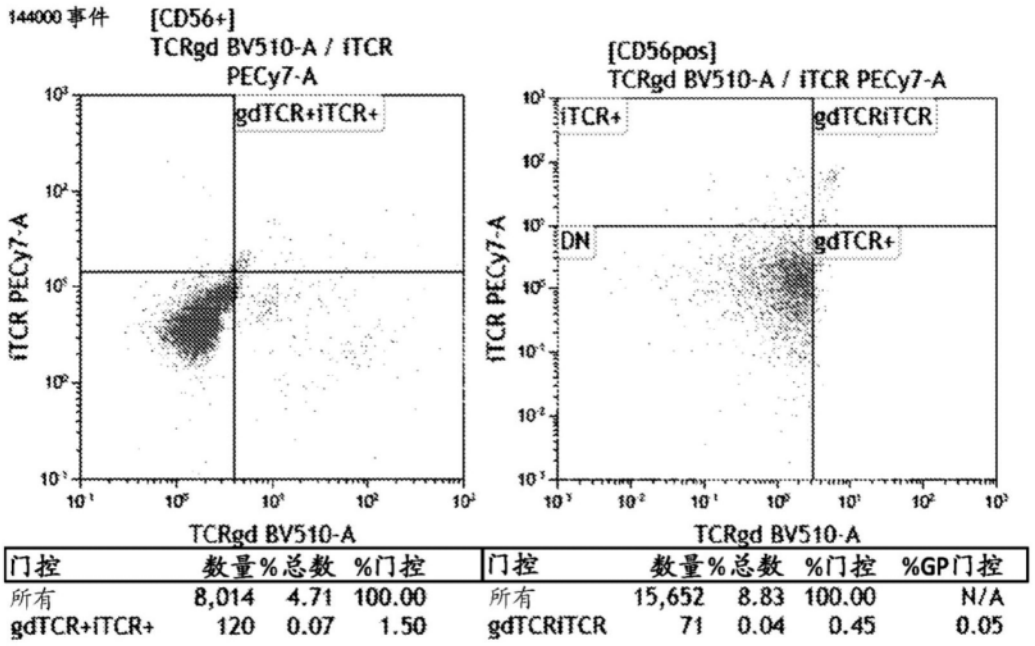
门控	数量	%总数	%门控	%GP门控
所有	8,115	7.49	100.00	N/A
DN	4,412	4.07	54.37	4.27
gdTCR	335	0.31	4.13	0.32
gdTCRiTCR	685	0.63	8.44	0.66
iTCR	2,683	2.48	33.06	2.60



门控	数量	%总数	%门控	%GP门控
所有	1,899	2.01	100.00	N/A
DN	1,594	1.69	83.94	1.71
gdTCR	196	0.21	10.32	0.21
gdTCRiTCR	39	0.04	2.05	0.04
iTCR	70	0.07	3.69	0.08

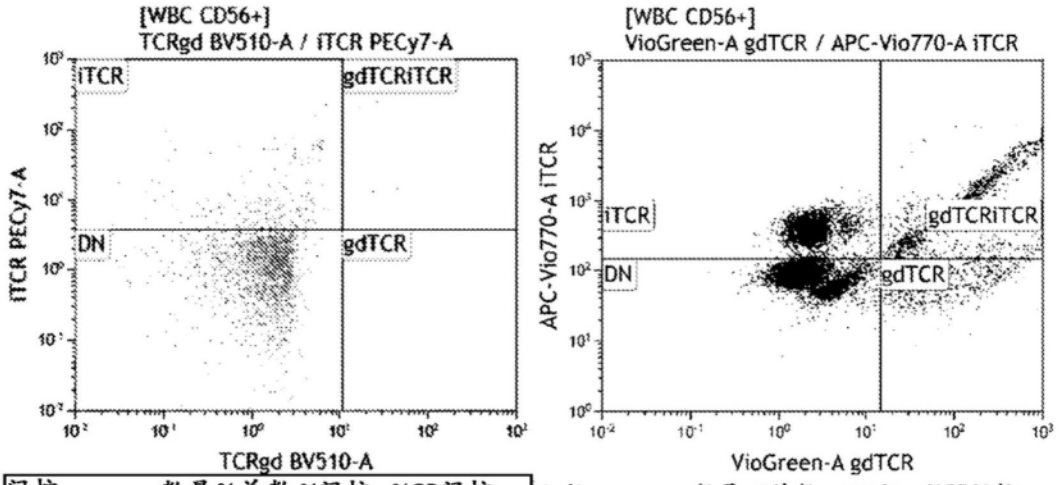
门控	数量	%总数	%门控	%GP门控
所有	3,942	3.38	100.00	N/A
DN	46	0.04	1.17	0.04
gdTCR+	4	0.00	0.10	0.00
gdTCRiTCR	279	0.24	7.08	0.25
iTCR+	3,613	3.10	91.65	3.19

图22



门控	数量	%总数	%门控
所有	8,014	4.71	100.00
gdTCR+iTCR+	120	0.07	1.50

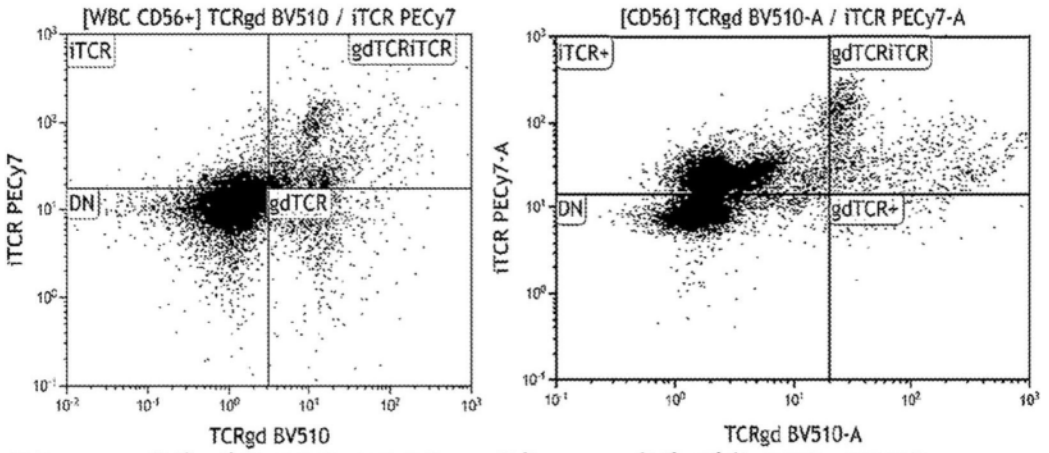
门控	数量	%总数	%门控	%GP门控
所有	15,652	8.83	100.00	N/A
gdTCRiTCR	71	0.04	0.45	0.05



门控	数量	%总数	%门控	%GP门控
所有	16,818	9.49	100.00	N/A
DN	6,833	3.85	40.63	4.47
gdTCR	77	0.04	0.46	0.05
gdTCRiTCR	10	0.01	0.06	0.01
iTCR	9,898	5.58	58.85	6.48

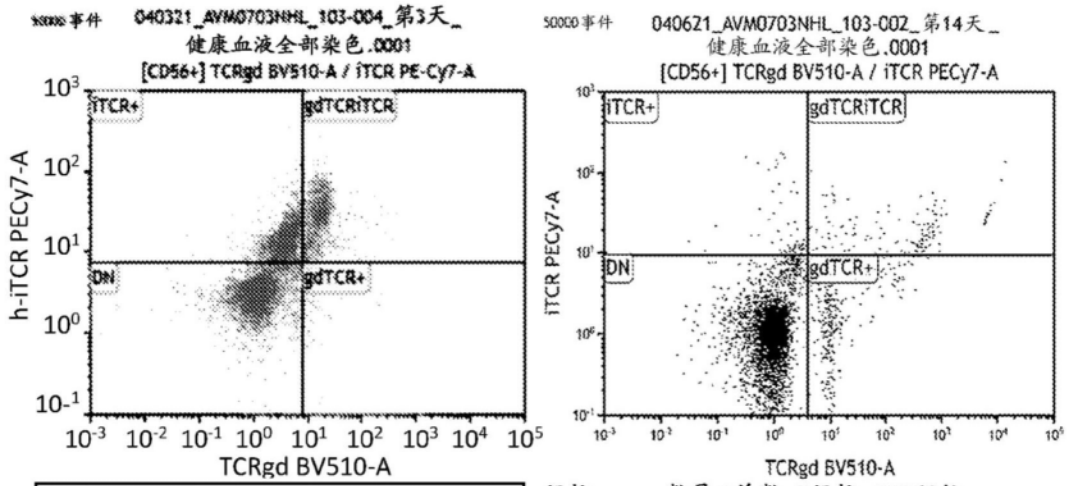
门控	数量	%总数	%门控	%GP门控
所有	11,814	5.50	100.00	N/A
DN	5,961	2.77	50.46	3.13
gdTCR	652	0.30	5.52	0.34
gdTCRiTCR	1,470	0.68	12.44	0.77
iTCR	3,731	1.74	31.58	1.96

图23A



门控	数量	%总数	%门控	%GP门控
所有	17,365	5.77	100.00	N/A
DN	11,853	3.94	68.26	4.53
gdTCR	1,873	0.62	10.79	0.72
gdTCRiTCR	1,899	0.63	10.94	0.73
iTCR	1,740	0.58	10.02	0.66

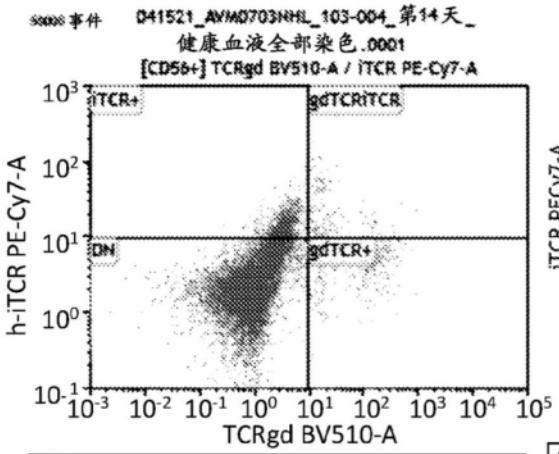
门控	数量	%总数	%门控	%GP门控
所有	14,059	6.54	100.00	N/A
DN	6,001	2.79	42.68	3.46
gdTCR+	219	0.10	1.56	0.13
gdTCRiTCR	1,091	0.51	7.76	0.63
iTCR+	6,748	3.14	48.00	3.89



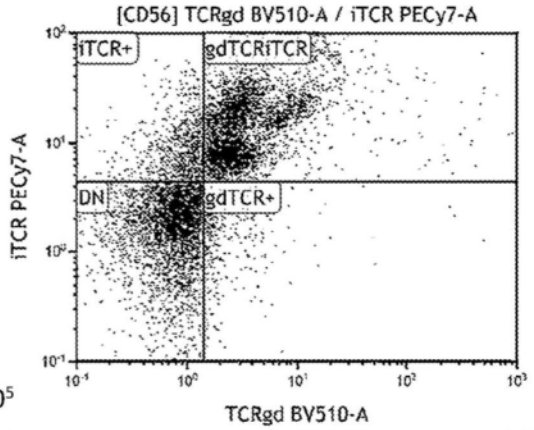
门控	数量	%总数	%门控	%GP门控
所有	8,595	4.29	100.00	N/A
DN	3,966	1.98	46.14	4.42
gdTCR+	520	0.26	6.05	0.58
gdTCRiTCR	1,262	0.63	14.68	1.41
iTCR+	2,847	1.42	33.12	3.17

门控	数量	%总数	%门控	%GP门控
所有	5,807	4.63	100.00	N/A
DN	4,854	3.87	83.59	6.86
gdTCR+	715	0.57	12.31	1.01
gdTCRiTCR	158	0.13	2.72	0.22
iTCR+	80	0.06	1.38	0.11

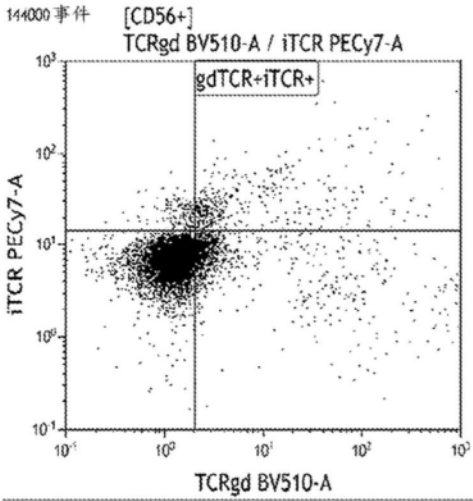
图23B



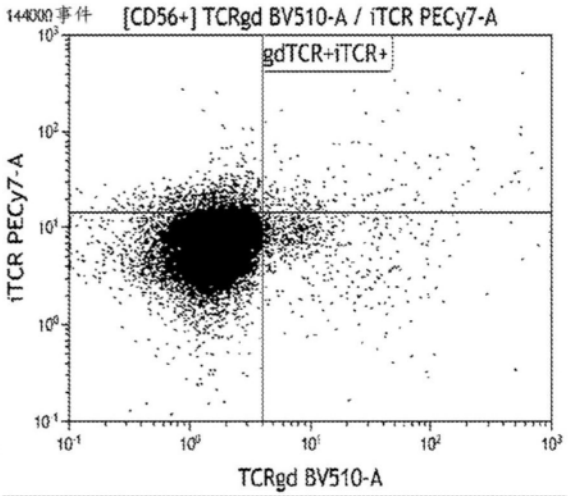
门控	数量	%总数	%门控	%GP门控
所有	18,708	7.82	100.00	N/A
DN	16,454	6.88	87.95	15.85
gdTCR+	517	0.22	2.76	0.50
gdTCRiTCR	204	0.09	1.09	0.20
iTCR+	1,533	0.64	8.19	1.48



门控	数量	%总数	%门控	%GP门控
所有	11,419	4.23	100.00	N/A
--	4,648	1.72	40.70	2.30
gdTCR+	851	0.32	7.45	0.42
gdTCRiTCR	4,902	1.82	42.93	2.43
iTCR+	1,533	0.64	8.19	0.50

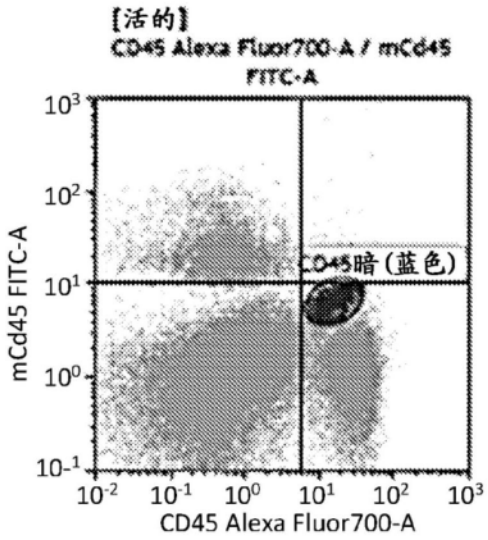


门控	数量	%总数	%门控	%GP门控
所有	7,545	2.66	100.00	N/A
gdTCR+iTCR+	506	0.18	6.71	0.19

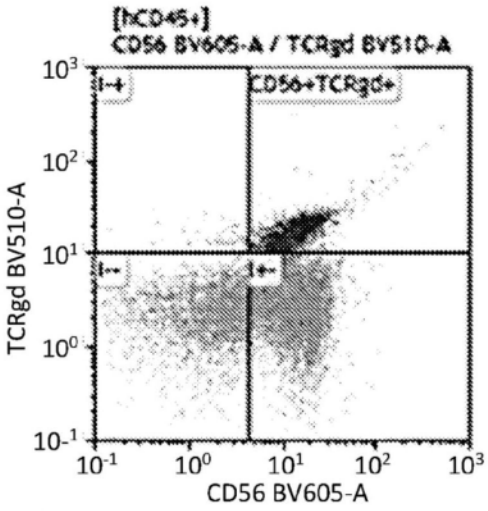


门控	数量	%总数	%门控	%GP门控
所有	77,735	30.91	100.00	N/A
gdTCR+iTCR+	224	0.09	0.29	0.10

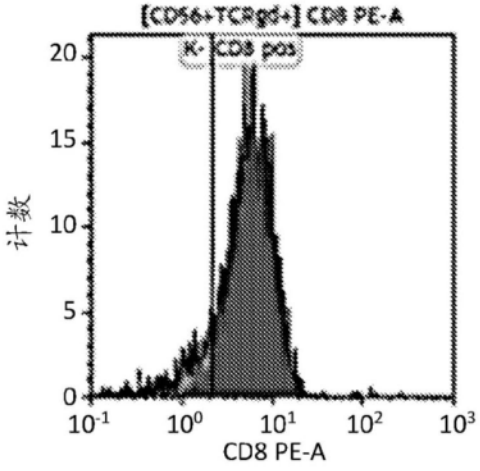
图23C



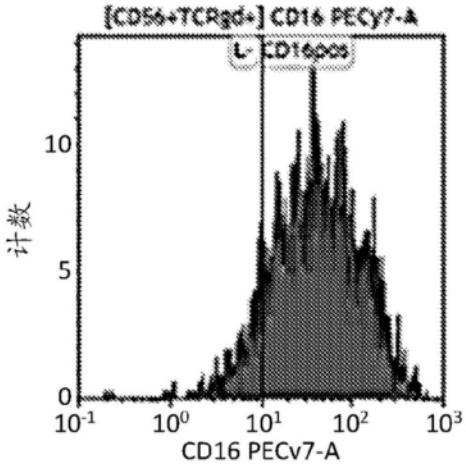
门控	数量	%总数	%门控
hCD45+	22,211	4.88	18.59
hCD45+mCD45+	465	0.10	0.39
hCD45暗蓝色	2,791	0.61	2.34
mCD45-hCD45-	84,689	18.62	70.83
mCD45+ red	12,113	2.66	10.14



门控	数量	%门控
所有	22,211	100.00
CD56+TCRgd+	2,672	12.03
I--	8,675	39.06
I-+	144	0.65
I+-	10,720	48.26

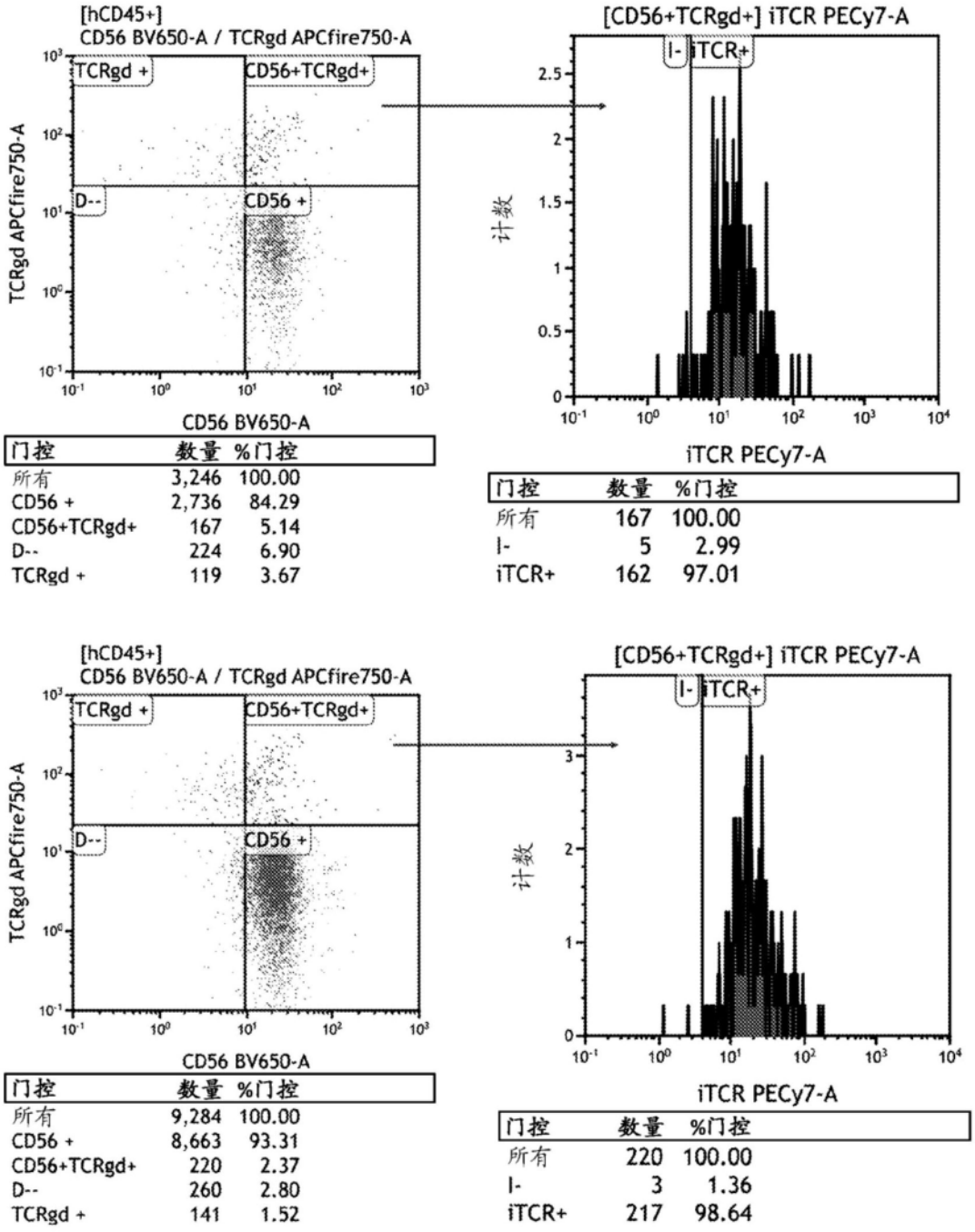


门控	数量	%门控
所有	2,672	100.00
CD8 pos	2,275	85,14
K-	397	14.86



门控	数量	%门控
所有	2,672	100.00
CD16pos	2,349	87.91
L-	323	12.09

图24



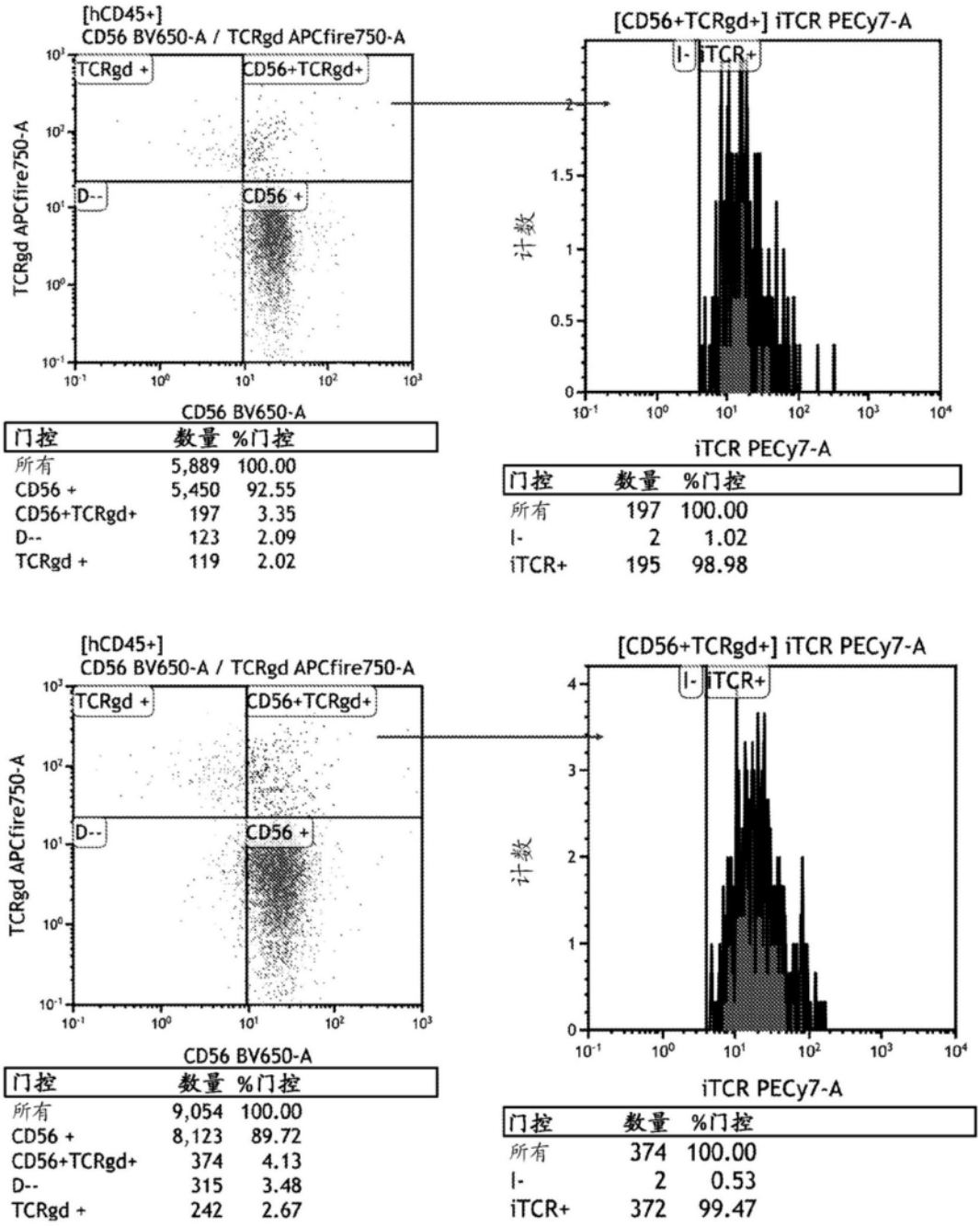
门控	数量	%门控
所有	3,246	100.00
CD56 +	2,736	84.29
CD56+TCRgd+	167	5.14
D--	224	6.90
TCRgd +	119	3.67

门控	数量	%门控
所有	167	100.00
I-	5	2.99
iTCR+	162	97.01

门控	数量	%门控
所有	9,284	100.00
CD56 +	8,663	93.31
CD56+TCRgd+	220	2.37
D--	260	2.80
TCRgd +	141	1.52

门控	数量	%门控
所有	220	100.00
I-	3	1.36
iTCR+	217	98.64

图25



门控	数量	%门控
所有	5,889	100.00
CD56 +	5,450	92.55
CD56+TCRgd+	197	3.35
D--	123	2.09
TCRgd +	119	2.02

门控	数量	%门控
所有	197	100.00
I-	2	1.02
iTCR+	195	98.98

门控	数量	%门控
所有	9,054	100.00
CD56 +	8,123	89.72
CD56+TCRgd+	374	4.13
D--	315	3.48
TCRgd +	242	2.67

门控	数量	%门控
所有	374	100.00
I-	2	0.53
iTCR+	372	99.47

图26

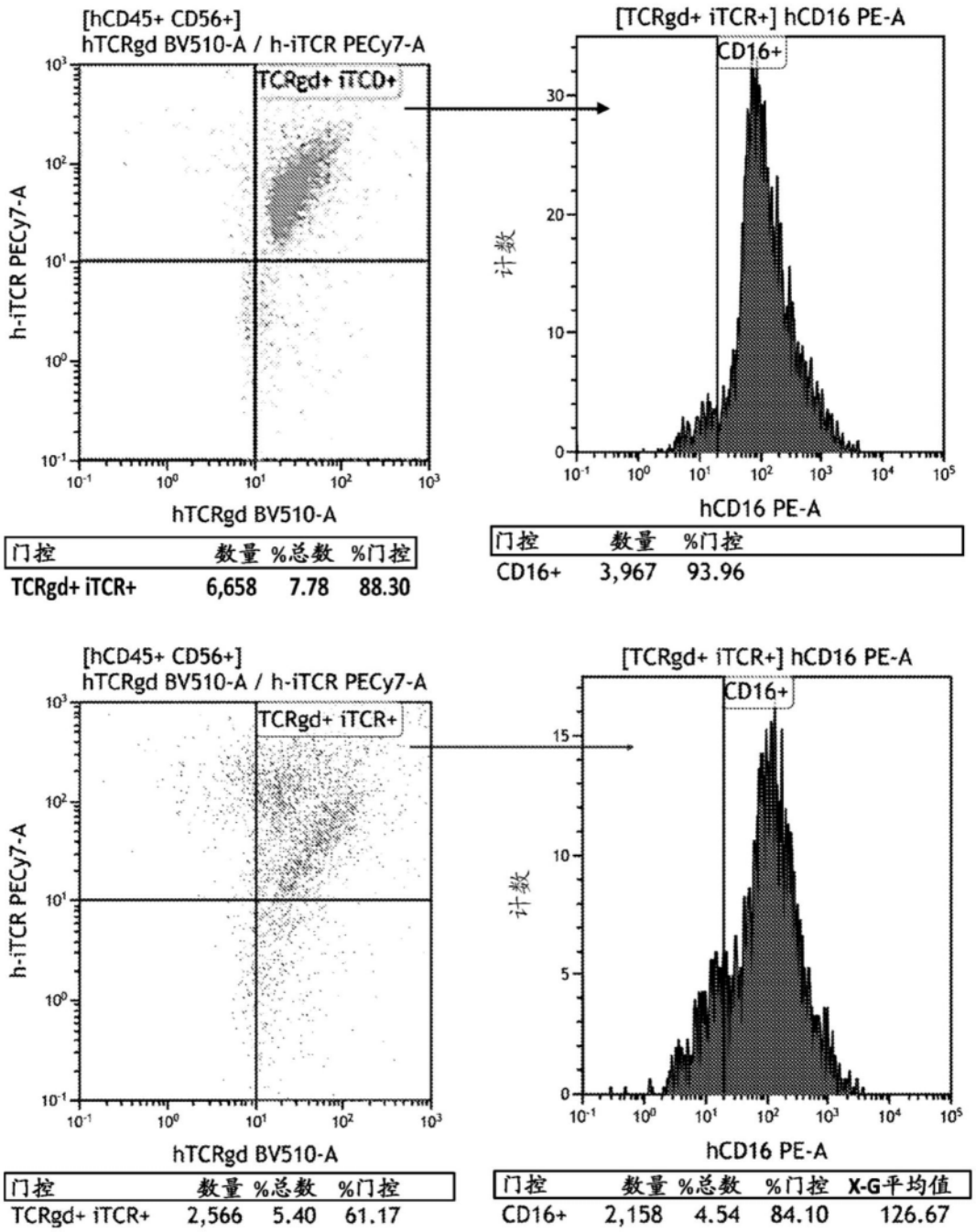
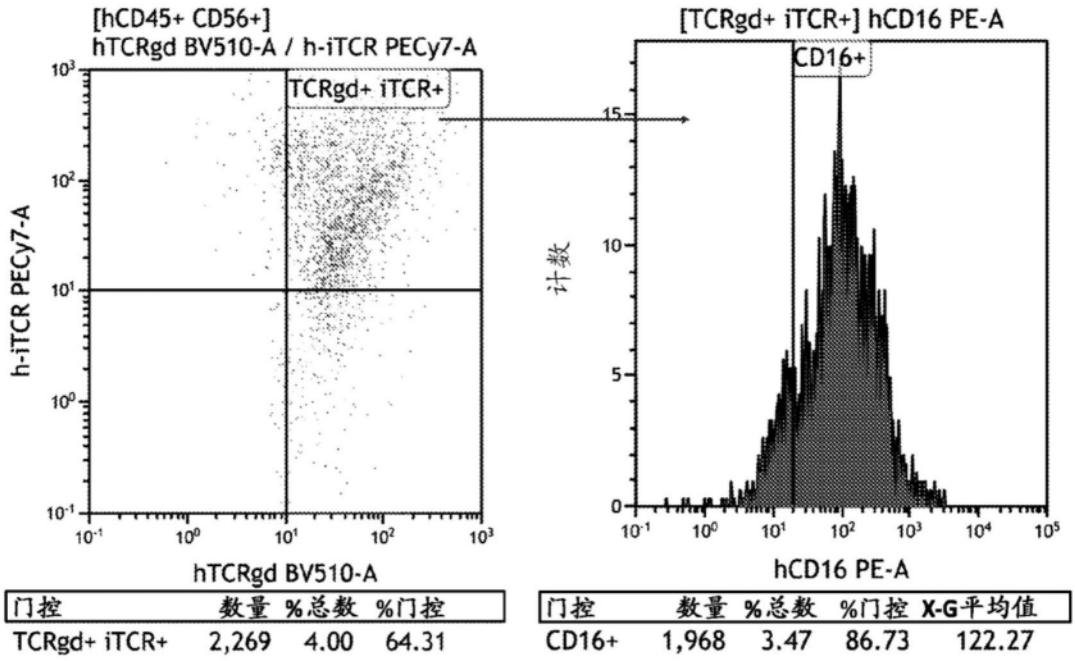

[hCD45+ CD56+]
hTCRgd BV510-A / h-iTCR PECy7-A
TCRgd+ iTCD+
h-iTCR PECy7-A
hTCRgd BV510-A
门控 数量 %总数 %门控
TCRgd+ iTCR+ 6,658 7.78 88.30
[TCRgd+ iTCR+] hCD16 PE-A
CD16+
计数
hCD16 PE-A
门控 数量 %门控
CD16+ 3,967 93.96
[hCD45+ CD56+]
hTCRgd BV510-A / h-iTCR PECy7-A
TCRgd+ iTCR+
h-iTCR PECy7-A
hTCRgd BV510-A
门控 数量 %总数 %门控
TCRgd+ iTCR+ 2,566 5.40 61.17
[TCRgd+ iTCR+] hCD16 PE-A
CD16+
计数
hCD16 PE-A
门控 数量 %总数 %门控 X-G平均值
CD16+ 2,158 4.54 84.10 126.67

图27


[hCD45+ CD56+]
hTCRgd BV510-A / h-iTCR PECy7-A
TCRgd+ iTCR+
h-iTCR PECy7-A
hTCRgd BV510-A
[TCRgd+ iTCR+] hCD16 PE-A
CD16+
计数
hCD16 PE-A
门控 数量 %总数 %门控
TCRgd+ iTCR+ 2,269 4.00 64.31
门控 数量 %总数 %门控 X-G平均值
CD16+ 1,968 3.47 86.73 122.27

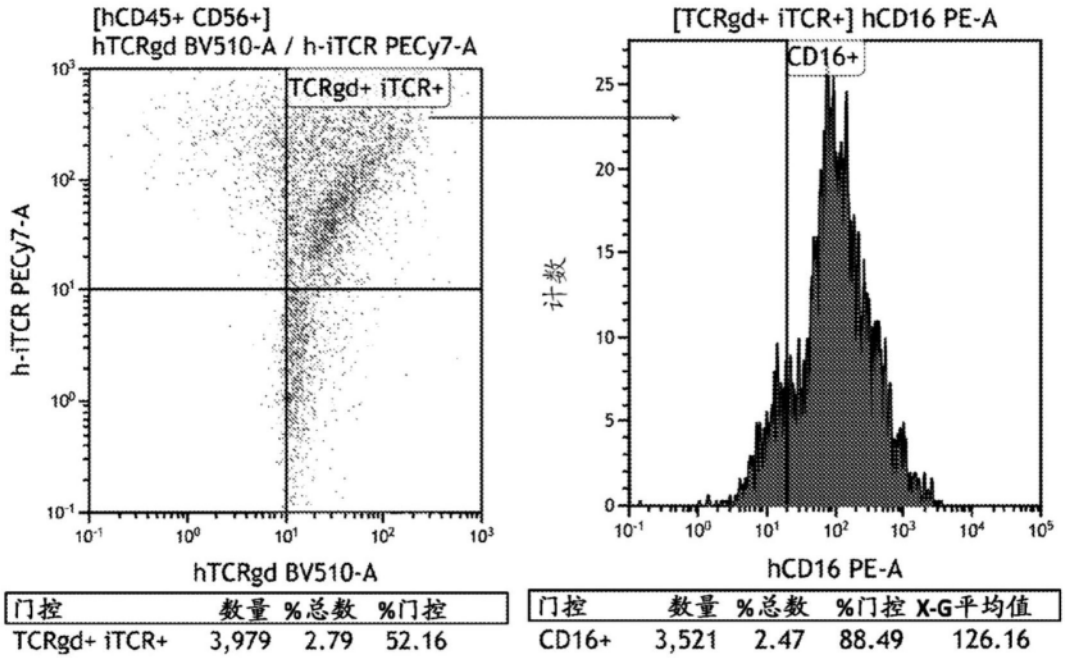
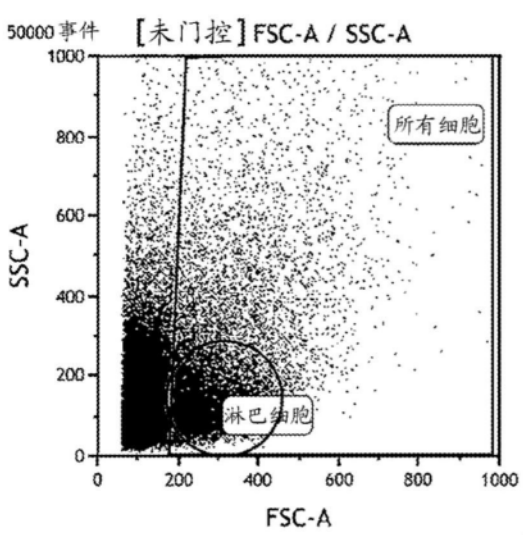
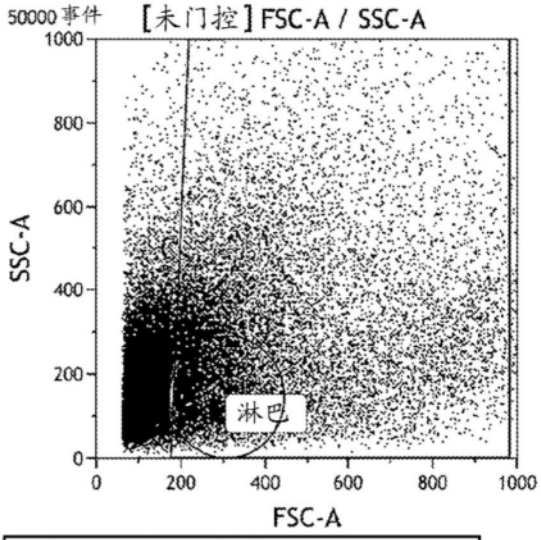

[hCD45+ CD56+]
hTCRgd BV510-A / h-iTCR PECy7-A
TCRgd+ iTCR+
h-iTCR PECy7-A
hTCRgd BV510-A
[TCRgd+ iTCR+] hCD16 PE-A
CD16+
计数
hCD16 PE-A
门控 数量 %总数 %门控
TCRgd+ iTCR+ 3,979 2.79 52.16
门控 数量 %总数 %门控 X-G平均值
CD16+ 3,521 2.47 88.49 126.16

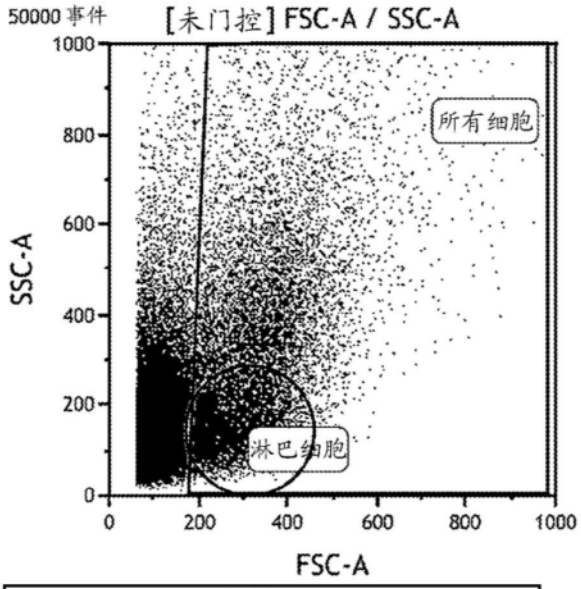
图28



门控	数量
所有	255,680
所有细胞	76,100
淋巴细胞	52,478

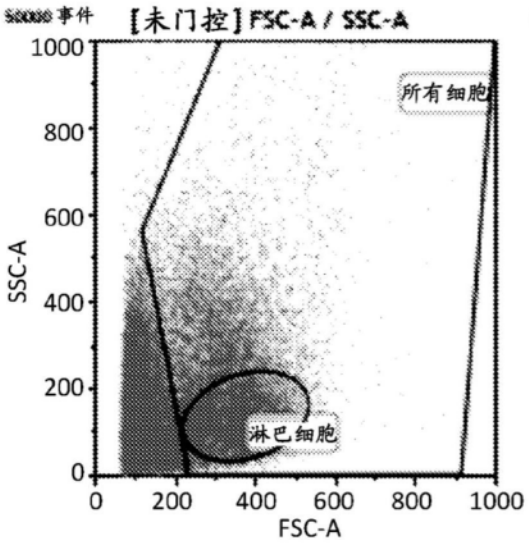


门控	数量
所有	430,232
所有细胞	153,829
淋巴细胞	59,073

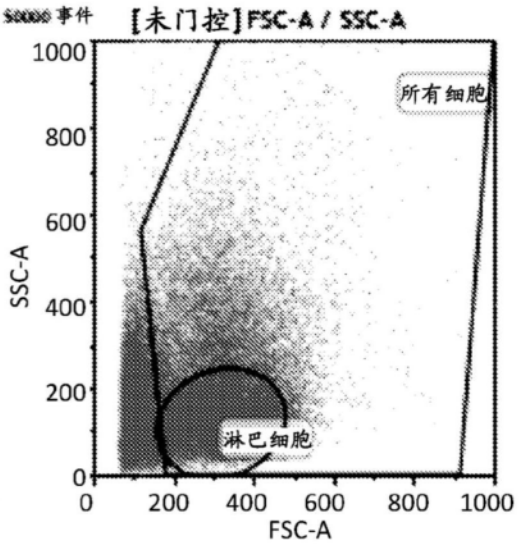


门控	数量
所有	207,601
所有细胞	63,986
淋巴细胞	32,230

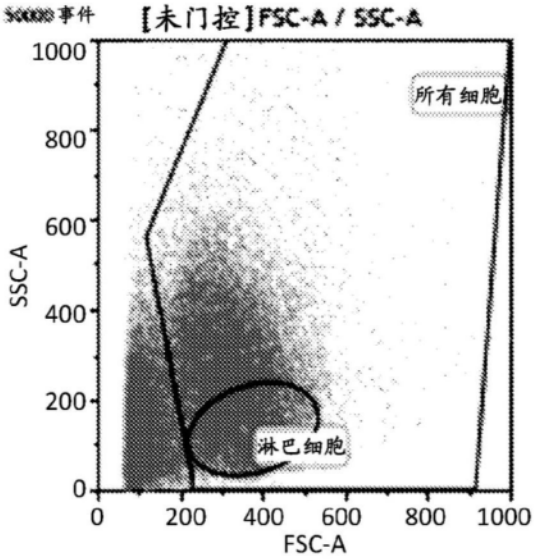
图29



门控	数量
所有	71,591
所有细胞	28,934
淋巴细胞	15,519

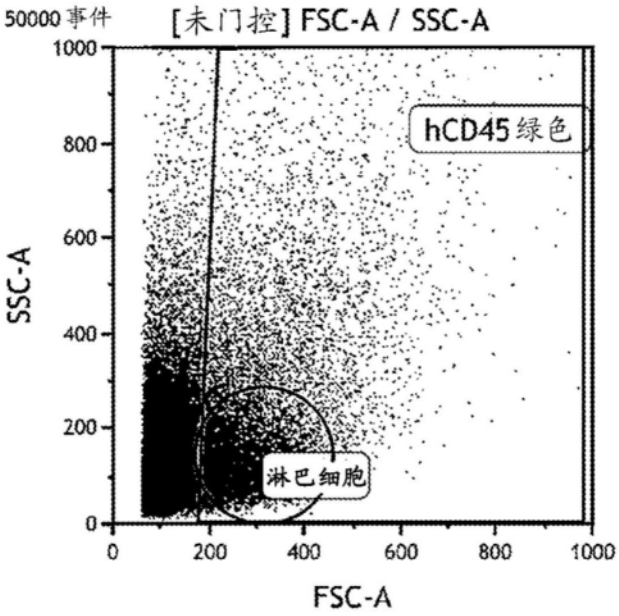


门控	数量
所有	58,348
所有细胞	34,911
淋巴细胞	22,658

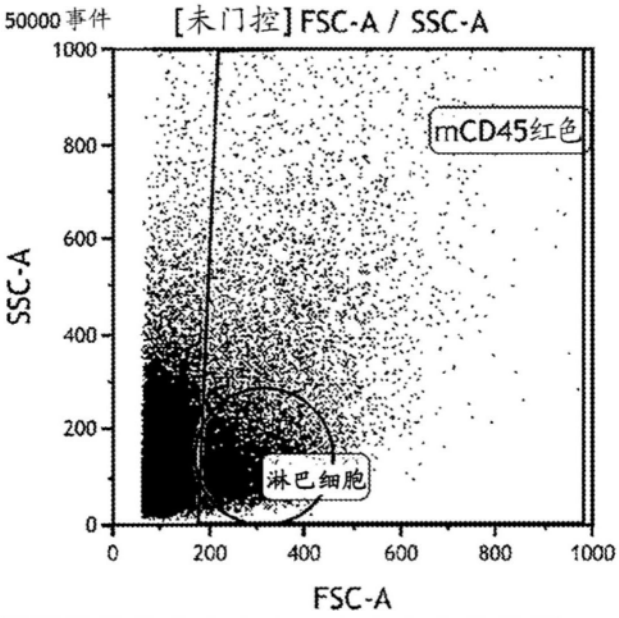


门控	数量
所有	75,494
所有细胞	44,311
淋巴细胞	17,211

图30

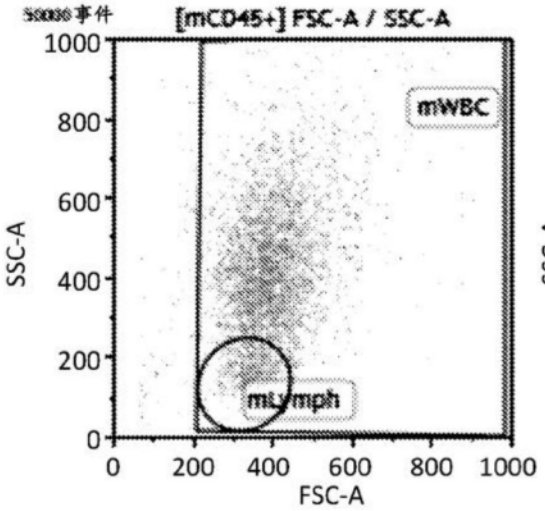


门控	数量
所有	255,680
hCD45-绿色	76,100
淋巴细胞	52,478

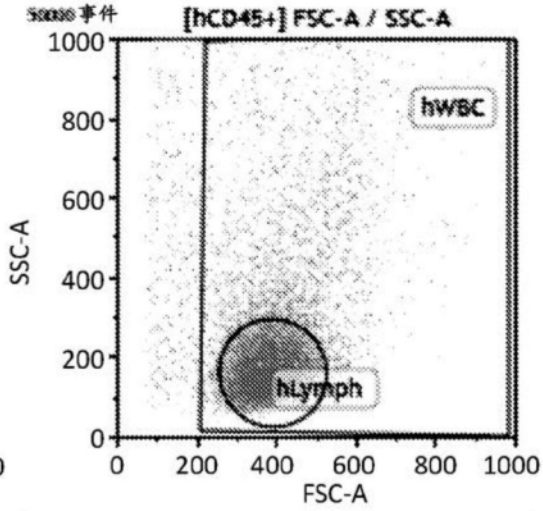


门控	数量
所有	255,680
淋巴细胞	52,478
mCD45 红色	76,100

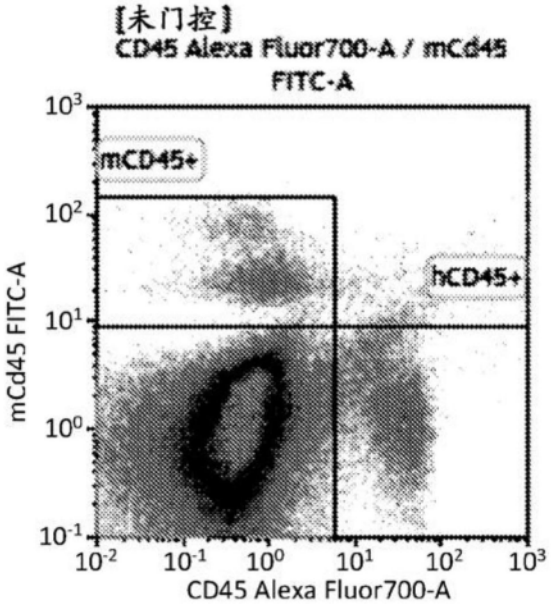
图31



门控	数量
所有	4,750
mLymph	620
mWBC	4,541

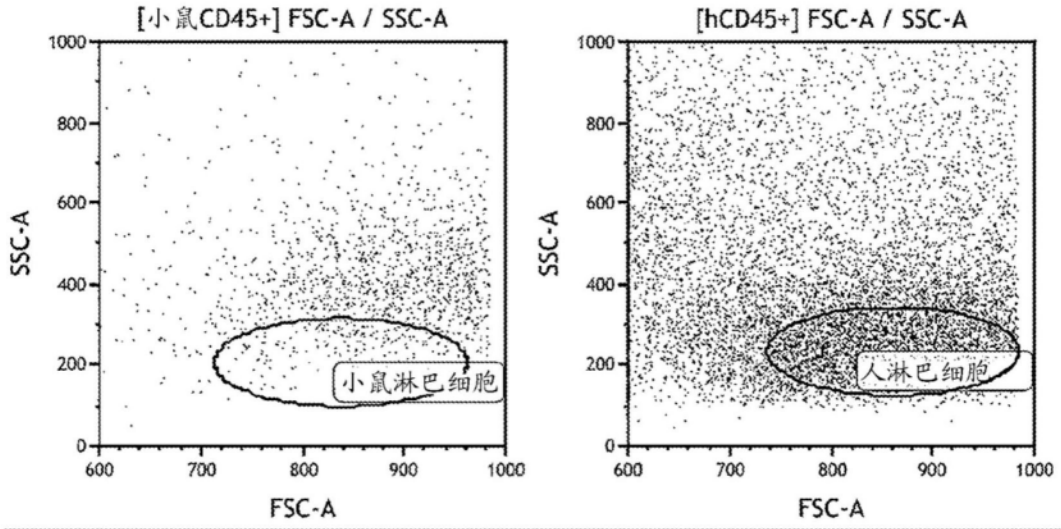


门控	数量
所有	11,428
hLymph	6,021
hWBC	10,179



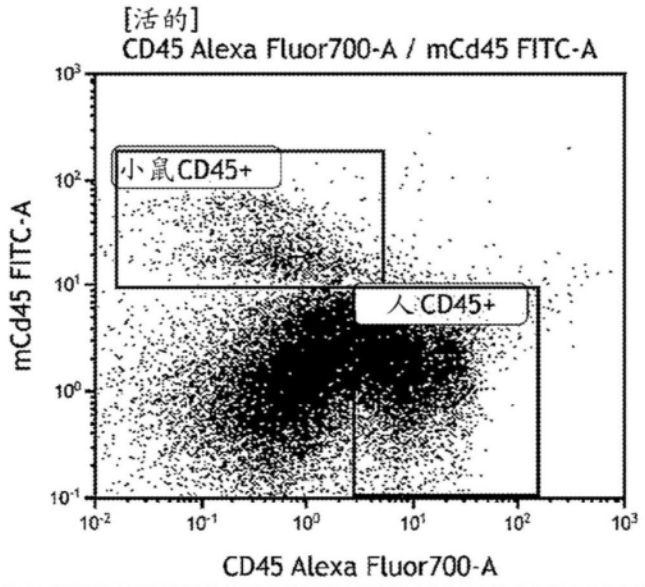
门控	数量	%总数	%门控
hCD45+	11,428	4.47	4.47
mCD45+	4,750	1.86	1.86

图32



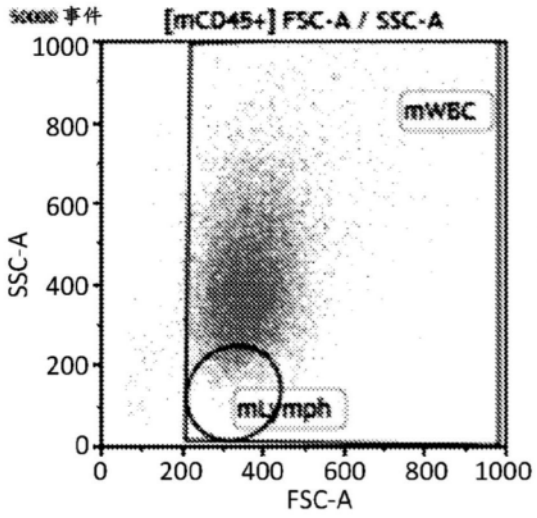
门控	数量	%门控
所有	1,680	100.00
小鼠淋巴细胞	210	12.50

门控	数量	%门控
所有	10,256	100.00
人淋巴细胞	3,232	31.51

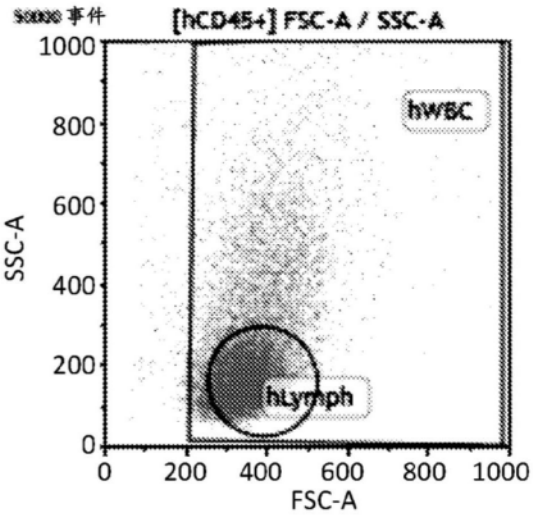


门控	数量	%总数	%门控
所有	34,689	8.06	100.00
人CD45+	10,101	2.35	29.12
小鼠CD45+	1,680	0.39	4.84

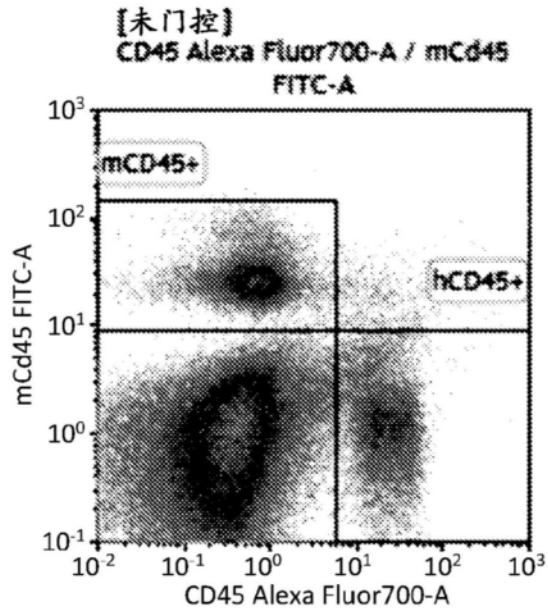
图33



门控	数量
所有	13,470
mLymph	749
mWBC	13,112

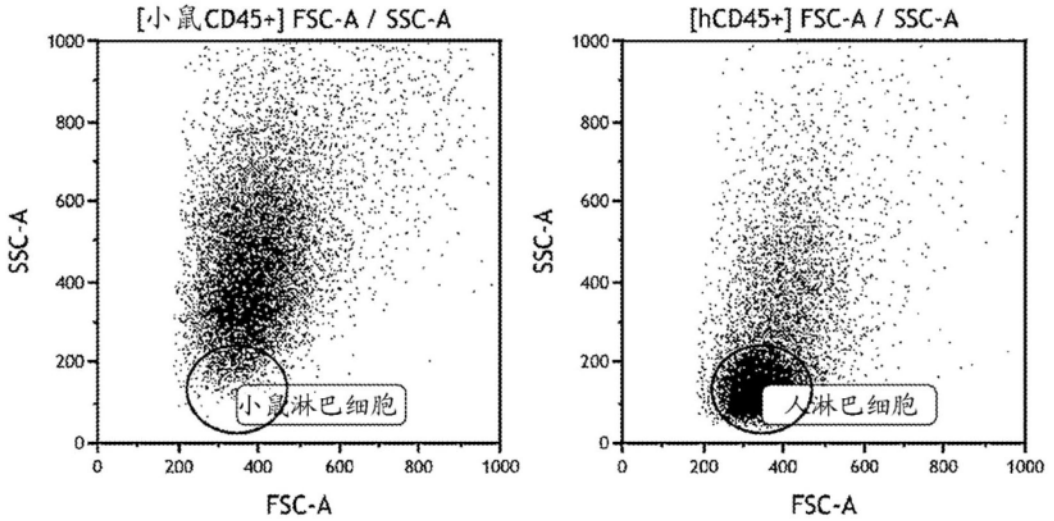


门控	数量
所有	14,794
hLymph	7,854
hWBC	13,612



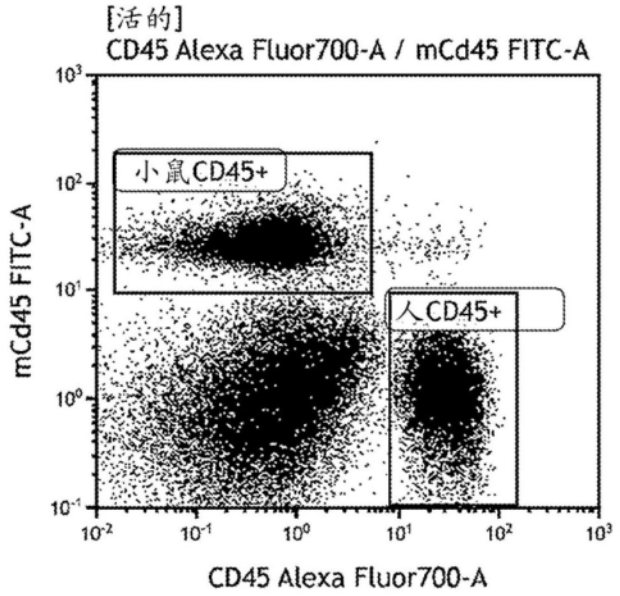
门控	数量	%总数	%门控
hCD45+	14,794	7.13	7.13
mCD45+	13,470	6.49	6.49

图34



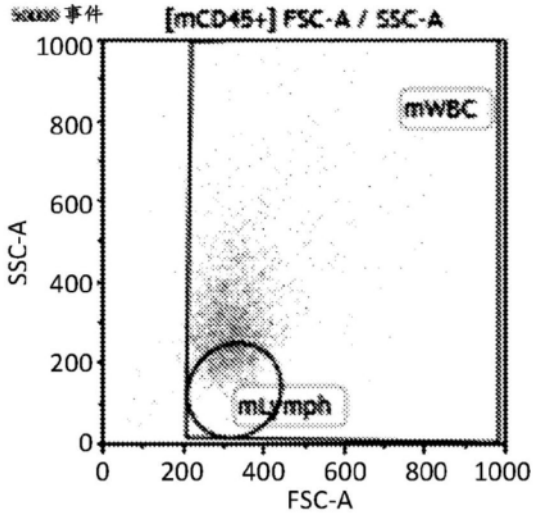
门控	数量	%门控
所有	11,687	100.00
小鼠淋巴细胞	788	6.74

门控	数量	%门控
所有	10,390	100.00
人淋巴细胞	6,970	67.08

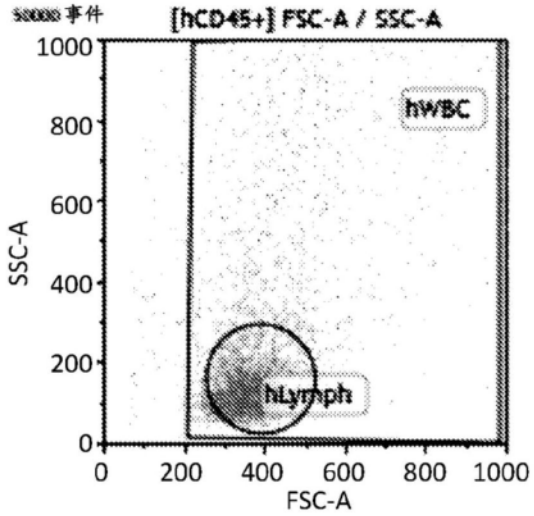


门控	数量	%总数	%门控
所有	61,221	32.34	100.00
人CD45+	9,688	5.12	15.82
小鼠CD45+	11,687	6.17	19.09

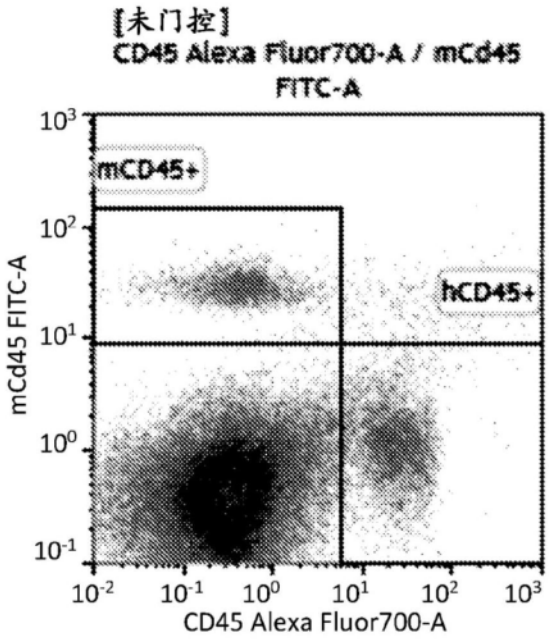
图35



门控	数量
所有	2,839
mLymph	638
mWBC	2,687

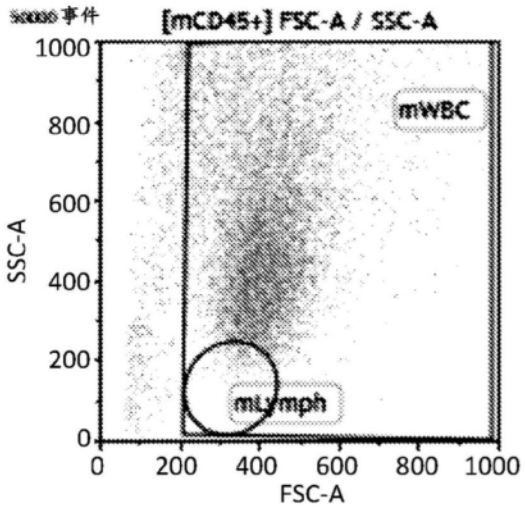


门控	数量
所有	8,013
hLymph	3,029
hWBC	6,401

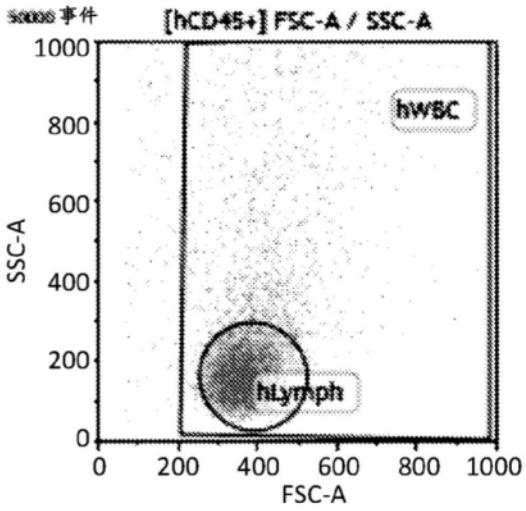


门控	数量	%总数	%门控
hCD45+	8,013	5.57	5.57
mCD45+	2,839	1.97	1.97

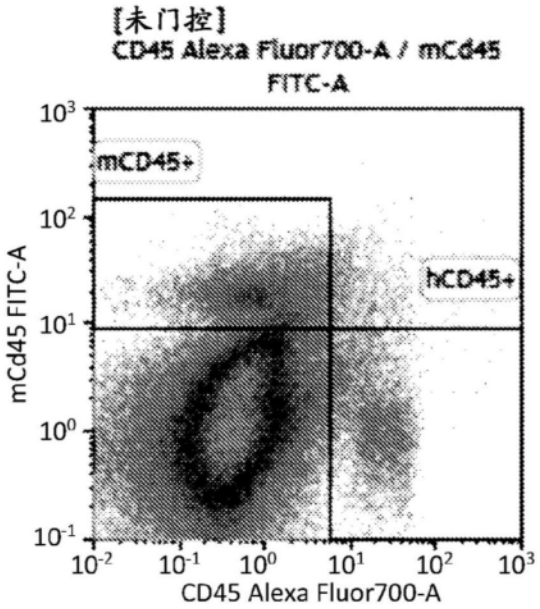
图36



门控	数量
所有	16,394
mLymph	256
mWBC	12,600

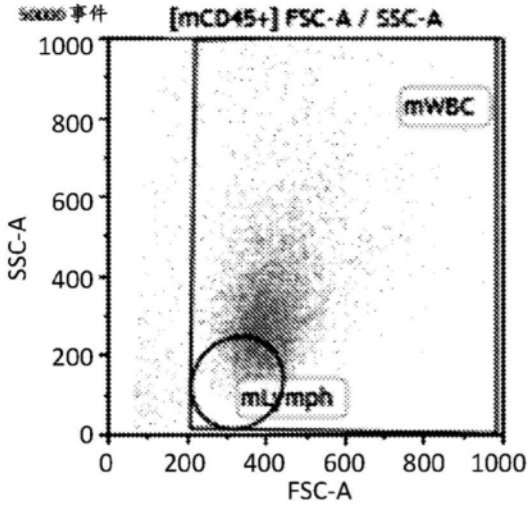


门控	数量
所有	10,413
hLymph	4,073
hWBC	8,134

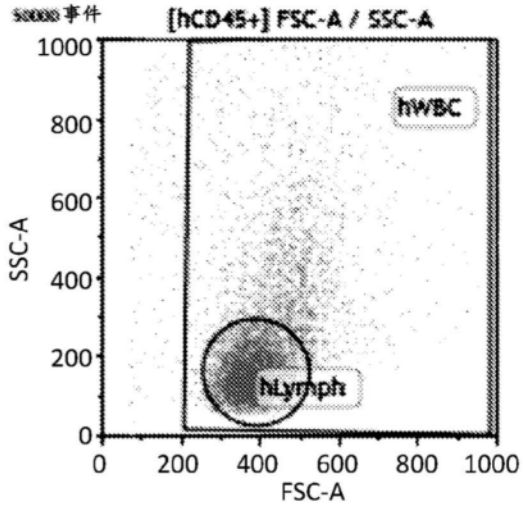


门控	数量	%总数	%门控
hCD45+	10,413	3.67	3.67
mCD45+	16,394	5.78	5.78

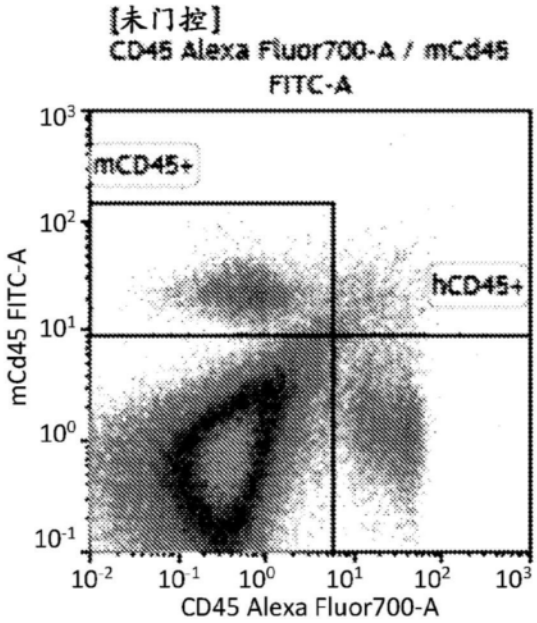
图37



门控	数量
所有	8,042
mLymph	1,494
mWBC	7,341

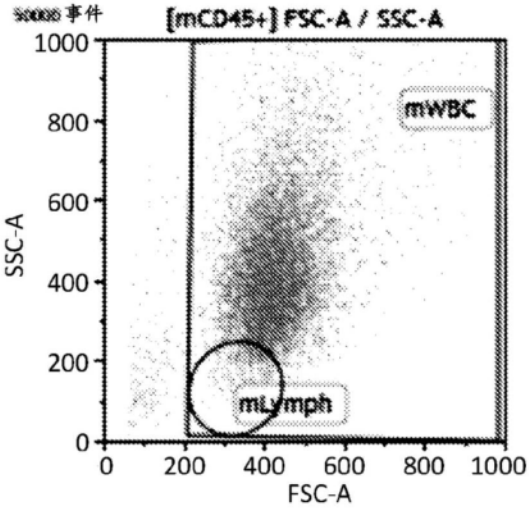


门控	数量
所有	10,698
hLymph	5,618
hWBC	9,645

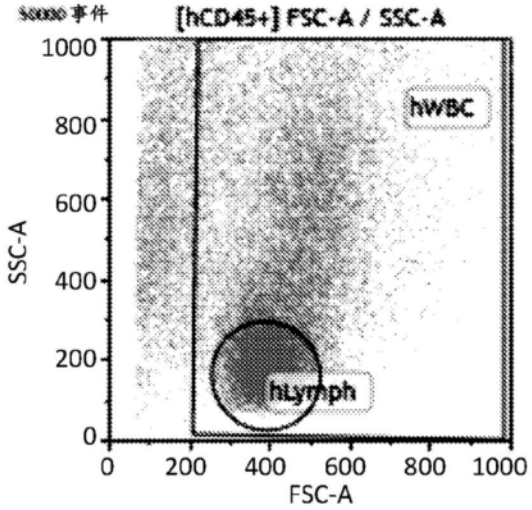


门控	数量	%总数	%门控
hCD45+	10,698	4.25	4.25
mCD45+	8,042	3.20	3.20

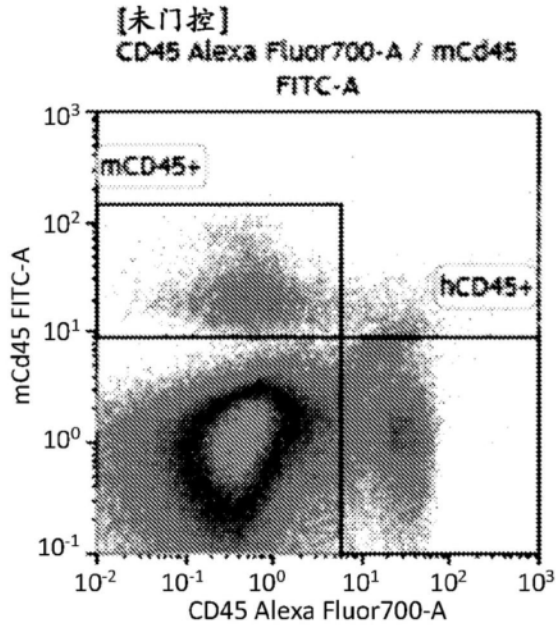
图38



门控	数量
所有	10,937
mLymph	547
mWBC	10,562



门控	数量
所有	32,487
hLymph	9,696
hWBC	25,888



门控	数量	%总数	%门控
hCD45+	32,487	7.14	7.14
mCD45+	10,937	2.41	2.41

图39

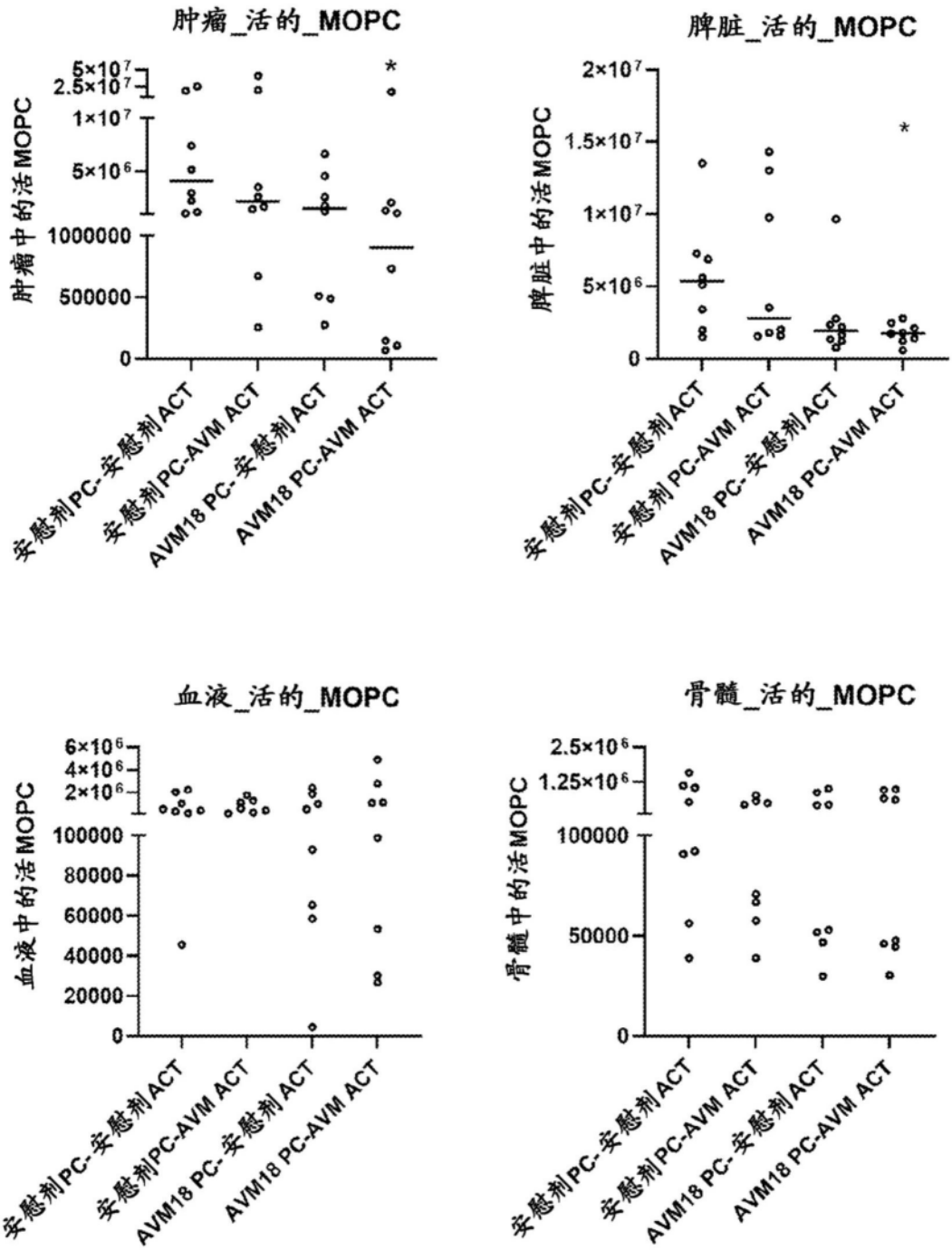

肿瘤_活的_MOPC
肿瘤中的活MOPC
5×10⁷
2.5×10⁷
1×10⁷
5×10⁶
1000000
500000
0
*
安慰剂PC-安慰剂ACT
安慰剂PC-AVM ACT
AVM18 PC-安慰剂ACT
AVM18 PC-AVM ACT
脾脏_活的_MOPC
脾脏中的活MOPC
2×10⁷
1.5×10⁷
1×10⁷
5×10⁶
0
*
安慰剂PC-安慰剂ACT
安慰剂PC-AVM ACT
AVM18 PC-安慰剂ACT
AVM18 PC-AVM ACT
血液_活的_MOPC
血液中的活MOPC
6×10⁶
4×10⁶
2×10⁶
100000
80000
60000
40000
20000
0
安慰剂PC-安慰剂ACT
安慰剂PC-AVM ACT
AVM18 PC-安慰剂ACT
AVM18 PC-AVM ACT
骨髓_活的_MOPC
骨髓中的活MOPC
2.5×10⁶
1.25×10⁶
100000
50000
0
安慰剂PC-安慰剂ACT
安慰剂PC-AVM ACT
AVM18 PC-安慰剂ACT
AVM18 PC-AVM ACT

图40

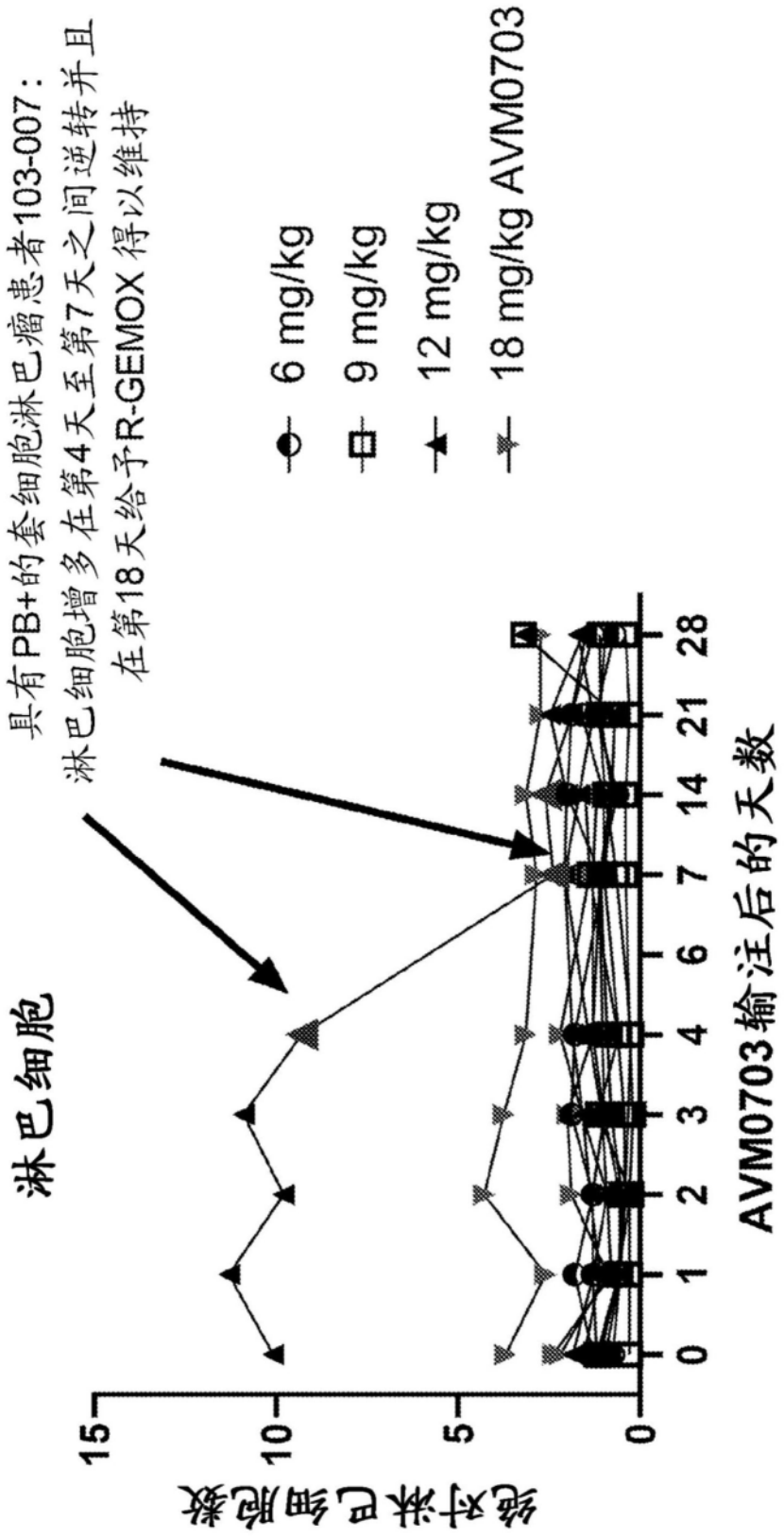

具有PB+的套细胞淋巴瘤患者103-007：
淋巴细胞增多在第4天至第7天之间逆转并且
在第18天给予R-GEMOX得以维持
6 mg/kg
9 mg/kg
12 mg/kg
18 mg/kg AVM0703
淋巴细胞
绝对淋巴细胞数
15
10
5
0
0 1 2 3 4 6 7 14 21 28
AVM0703输注后的天数

图41

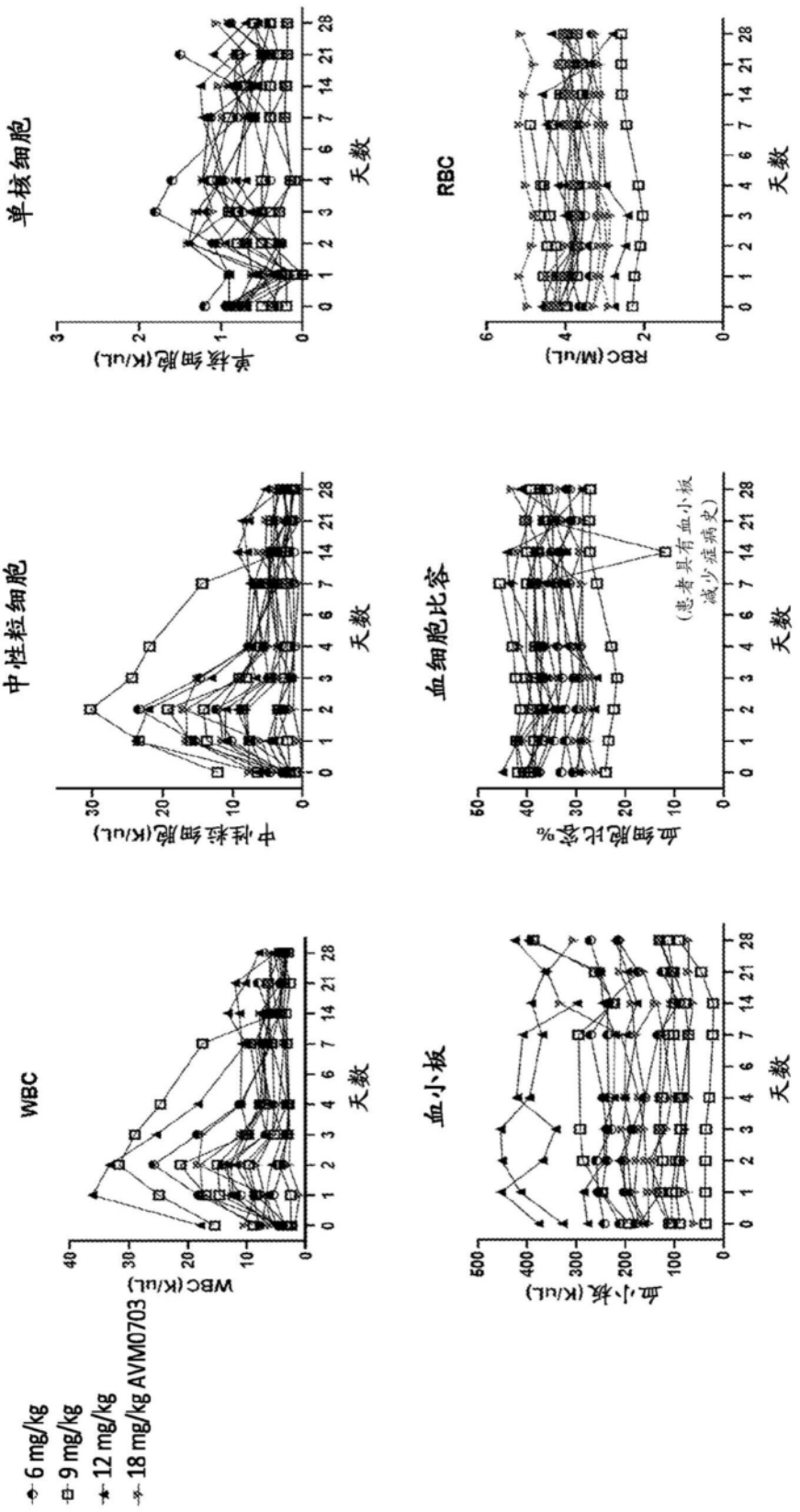

单核细胞
单核细胞(K/uL)
天数
RBC
RBC(M/uL)
天数
中性粒细胞
中性粒细胞(K/uL)
天数
血细胞比容
血细胞比容%
(患者具有血小板减少症病史)
天数
WBC
WBC(K/uL)
天数
血小板
血小板(K/uL)
天数
6 mg/kg
9 mg/kg
12 mg/kg
18 mg/kg AVM0703

图42

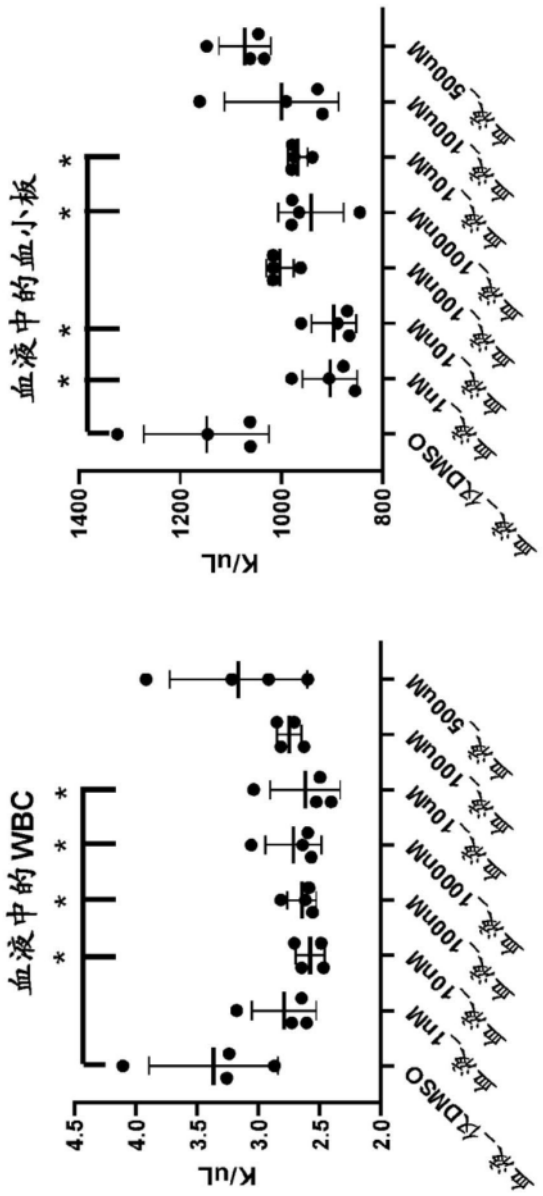

血液中的血小板
K/uL
1400
1200
1000
800
血液_仅DMSO
血液_1nM
血液_10nM
血液_100nM
血液_1000nM
血液_10uM
血液_100uM
血液_500uM
血液中的WBC
K/uL
4.5
4.0
3.5
3.0
2.5
2.0
血液_仅DMSO
血液_1nM
血液_10nM
血液_100nM
血液_1000nM
血液_10uM
血液_100uM
血液_500uM

图43