



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 111989106 A

(43) 申请公布日 2020.11.24

(21) 申请号 201880087684.X

(22) 申请日 2018.11.30

(30) 优先权数据

62/593,878 2017.12.01 US

62/596,773 2017.12.08 US

62/633,599 2018.02.21 US

62/679,763 2018.06.01 US

62/679,764 2018.06.01 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2020.07.24

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2018/063502 2018.11.30

(87) PCT国际申请的公布数据

W02019/109053 EN 2019.06.06

(71) 申请人 朱诺治疗学股份有限公司

地址 美国华盛顿州

(72) 发明人 T·艾伯森 M·D·海佩尔 H·李

C·L·萨瑟兰 M·J·吉伯

N·S·特雷德 J·R·加西亚

J·哈斯卡尔

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

代理人 封新琴

(51) Int.Cl.

A61K 31/573 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

G01N 33/68 (2006.01)

权利要求书19页 说明书214页

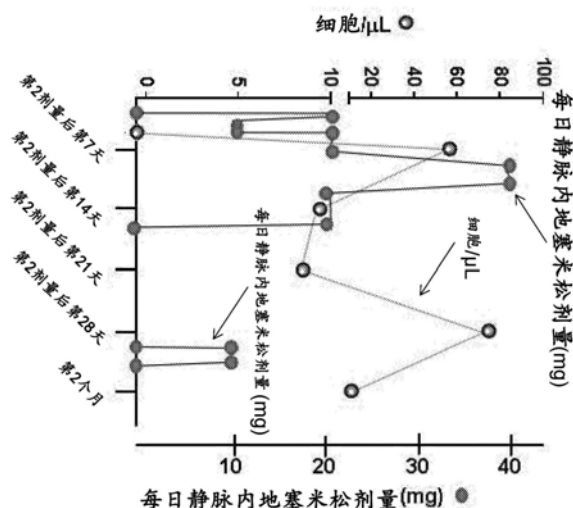
序列表24页 附图57页

(54) 发明名称

基因工程化细胞的给药和调节方法

(57) 摘要

提供了治疗方法,如涉及给予细胞疗法和/或确定细胞疗法的给药的方法,所述细胞疗法是例如用重组受体如T细胞受体(TCR)或嵌合抗原受体(CAR)工程化的细胞。在一些实施方案中,所述方法包括例如基于在给予细胞疗法或工程化细胞后发生毒性的风险的估计概率以及治疗结果或反应或者所述治疗结果或反应的程度或持久性的估计概率来确定给药的治疗范围和/或窗口,所述治疗结果或反应例如为对其体征或症状的治疗、减少或改善。在一些方面,所述方法涉及给予能够调节所述工程化细胞的药剂。还提供了改善和/或治疗毒性的方法。



1. 一种改善毒性的方法,所述方法包括向展现一种或多种毒性身体体征或症状的受试者给予能够减轻和/或改善所述一种或多种与毒性相关的身体体征或症状的一种或多种药剂,所述受试者已经被给予一定剂量的包含表达重组受体的T细胞的基因工程化细胞,其中将所述一种或多种药剂按以下治疗方案给予,所述治疗方案包括:

(a) 在以下情况下给予一种或多种药剂:

(i) 在接受所述剂量的基因工程化细胞的给予后等于或大于72小时,所述受试者展现出发热并展现一种或多种与所述毒性、任选细胞因子释放综合征(CRS)相关的身体体征或症状和/或展现出与所述毒性相关的所述身体体征或症状的迅速进展;或

(ii) 在接受所述剂量的基因工程化细胞的给予后48或72小时内,所述受试者展现出发热和/或一种或多种与2级或更高级CRS相关的身体体征或症状;

(b) 在以下情况下给予一种或多种药剂:在(a)中所述一种或多种药剂的给予后24、48或72小时内,所述受试者没有展现出所述发热和/或所述一种或多种与所述毒性相关的身体体征或症状的改善和/或展现出与所述毒性相关的所述身体体征或症状的快速进展,所述一种或多种药剂任选地不同于在(a)中给予的所述一种或多种药剂和/或是以与(a)中给予的所述一种或多种药剂相同或更高的剂量和/或频率给予;

(c) 在以下情况下给予一种或多种药剂:在(b)中所述一种或多种药剂的给予后24、48或72小时内,所述受试者没有展现出所述发热和/或所述一种或多种与所述毒性相关的身体体征或症状的改善和/或展现出与所述毒性相关的所述身体体征或症状的快速进展,所述一种或多种药剂任选地不同于在(a)或(b)中给予的所述一种或多种药剂和/或是以与在(a)或(b)中给予的所述一种或多种药剂相同或更高的剂量和/或频率给予;以及

(d) 在以下情况下给予一种或多种药剂:在(c)中所述一种或多种药剂的给予后,所述受试者没有展现出所述发热和/或所述一种或多种与所述毒性相关的身体体征或症状的改善,所述一种或多种药剂任选地不同于在(a)、(b)或(c)中给予的所述一种或多种药剂和/或是以与在(a)、(b)或(c)中给予的所述一种或多种药剂相同或更高的剂量和/或频率给予。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中所述一种或多种药剂选自能够结合白细胞介素-6受体(IL-6R)的药剂或一种或多种类固醇、任选一个或多个剂量的所述一种或多种类固醇。

3. 根据权利要求1或权利要求2所述的方法,其中在(a)中所述治疗方案包括:

(1) 如果在接受所述剂量的基因工程化细胞后48或72小时内,所述受试者展现出发热和/或一种或多种与1级CRS相关的第一身体体征或症状,则给予(i)能够结合白细胞介素-6受体(IL-6R)的药剂,将所述药剂每24小时给予不多于一次,以及任选地(ii)一个或多个剂量的类固醇,将所述类固醇每24小时给予不多于一次;

(2) 如果在接受所述剂量的基因工程化细胞后48或72小时内,所述受试者展现一种或多种与2级CRS相关的身体体征或症状,则给予(i)能够结合IL-6R的药剂,将所述药剂大约每12至24小时给予一次,以及(ii)一个或多个剂量的类固醇,将所述类固醇大约每12至24小时给予一次;并且如果在接受所述剂量的基因工程化细胞后等于或大于72小时,所述受试者展现一种或多种与2级CRS相关的身体体征或症状,则给予(i)能够结合IL-6R的药剂,将所述药剂大约每12至24小时给予一次,以及任选地(ii)一个或多个剂量的类固醇,将所述类固醇大约每12至24小时给予一次;

(3) 如果所述受试者在接受一定剂量的所述基因工程化细胞后展现出一种或多种与3级CRS相关的身体体征或症状,则给予(i)能够结合IL-6R的药剂,将所述药剂每天给予至少两次、任选至少大约每12小时给予一次,以及(ii)一个或多个剂量的类固醇,将所述类固醇每天给予至少两次、任选至少大约每12小时给予一次;以及

(4) 如果所述受试者在接受一定剂量的所述基因工程化细胞后展现出一种或多种与4级CRS相关的身体体征或症状,则给予(i)能够结合IL-6R的药剂,将所述药剂每天给予至少两次、任选至少大约每6小时给予一次,以及(ii)一个或多个剂量的类固醇,将所述类固醇每天给予至少两次、任选至少大约每6小时给予一次。

4. 根据权利要求1-3中任一项所述的方法,其中在(b)中所述治疗方案包括给予另外剂量的所述能够结合IL-6R的药剂和一个或多个另外剂量的所述类固醇,将所述类固醇每天给予至少两次、任选至少大约每6小时给予一次。

5. 根据权利要求1-4中任一项所述的方法,其中在(c)中所述治疗方案包括给予与(a)或(b)中给予的所述一种或多种药剂不同的另外的类固醇和/或给予与(a)或(b)中给予的所述一种或多种药剂不同的能够结合IL-6R或IL-6的药剂。

6. 根据权利要求1-5中任一项所述的方法,其中在(d)中所述治疗方案还包括给予抗T细胞疗法、任选的环磷酰胺。

7. 根据权利要求1-6中任一项所述的方法,其中将所述能够结合IL-6R的药剂以一个或多个剂量给予。

8. 一种改善毒性的方法,所述方法包括向展现出一种或多种毒性身体体征或症状的受试者给予能够减轻和/或改善所述一种或多种与毒性相关的身体体征或症状的一种或多种药剂,所述受试者已经被给予一定剂量的包含表达重组受体的T细胞的基因工程化细胞,其中将所述一种或多种药剂按以下治疗方案给予,所述治疗方案包括:

(a) 在以下情况下给予一种或多种药剂:

(i) 在接受所述剂量的基因工程化细胞的给予后等于或大于72小时,所述受试者展现出一种或多种与所述毒性、任选神经毒性(NT)相关的身体体征或症状;或

(ii) 在接受所述剂量的基因工程化细胞的给予后48或72小时内,所述受试者展现出一种或多种与所述毒性相关的身体体征或症状;

(b) 在以下情况下给予一种或多种药剂:在(a)中所述一种或多种药剂的给予后24、48或72小时内,所述受试者没有展现出所述一种或多种与所述毒性相关的身体体征或症状的改善和/或展现出与所述毒性相关的所述身体体征或症状的进展,所述一种或多种药剂任选地不同于在(a)中给予的所述一种或多种药剂和/或是以与(a)中给予的所述一种或多种药剂相同或更高的剂量和/或频率给予;以及

(c) 在以下情况下给予一种或多种药剂:在(b)中所述一种或多种药剂的给予后24、48或72小时内,所述受试者没有展现出所述一种或多种与所述毒性相关的身体体征或症状的改善和/或展现出与所述毒性相关的所述身体体征或症状的快速进展,所述一种或多种药剂任选地不同于在(a)或(b)中给予的所述一种或多种药剂和/或是以与在(a)或(b)中给予的所述一种或多种药剂相同或更高的剂量和/或频率给予。

9. 根据权利要求8所述的方法,其中所述一种或多种药剂是一种或多种类固醇、任选一个或多个剂量的所述一种或多种类固醇。

10. 根据权利要求8或权利要求9所述的方法, 其中在 (a) (i) 中所述治疗方案包括:

(1) 如果所述受试者在接受一定剂量的所述基因工程化细胞后展现出一种或多种与2级NT相关的身体体征或症状, 则任选地给予一个或多个剂量的类固醇, 将所述类固醇大约每12至24小时给予一次;

(2) 如果所述受试者在接受一定剂量的所述基因工程化细胞后展现出一种或多种与3级NT相关的身体体征或症状, 则给予一个或多个剂量的类固醇, 将所述类固醇大约每8至12小时给予一次, 其中如果所述受试者展现出失语或意识模糊, 则给予较低剂量和/或频率的所述类固醇, 并且如果所述受试者展现出导致意识水平低下的事件, 则给予更高剂量和/或频率的所述类固醇; 以及

(3) 如果所述受试者在接受一定剂量的所述基因工程化细胞后展现出一种或多种与4级NT相关的身体体征或症状, 则给予一个或多个剂量的类固醇, 将所述类固醇大约每6至8小时给予一次, 其中如果所述受试者展现出需要呼吸支持的事件或癫痫, 则给予更高剂量和/或频率的所述类固醇。

11. 根据权利要求8-10中任一项所述的方法, 其中在 (a) (ii) 中所述治疗方案包括:

(1) 如果所述受试者在接受一定剂量的所述基因工程化细胞后展现出一种或多种与1级NT相关的身体体征或症状, 则任选地给予一个或多个剂量的类固醇, 将所述类固醇大约每8至12小时给予一次;

(2) 如果所述受试者在接受一定剂量的所述基因工程化细胞后展现出一种或多种与2级NT相关的身体体征或症状, 则给予一个或多个剂量的类固醇, 将所述类固醇大约每8至12小时给予一次;

(3) 如果所述受试者在接受一定剂量的所述基因工程化细胞后展现出一种或多种与3级NT相关的身体体征或症状, 则给予一个或多个剂量的类固醇, 将所述类固醇大约每6至8小时给予一次; 以及

(4) 如果所述受试者在接受一定剂量的所述基因工程化细胞后展现出一种或多种与4级NT相关的身体体征或症状, 则给予一个或多个剂量的类固醇, 将所述类固醇大约每天给予至少两次、任选至少大约6小时给予一次。

12. 根据权利要求8-11中任一项所述的方法, 其中在 (b) 中所述治疗方案包括与 (a) (i) 或 (a) (ii) 中给予的所述剂量的类固醇相比给予更高剂量和/或频率的所述类固醇, 并且如果所述受试者展现出需要呼吸支持的事件或癫痫, 则任选地给予与 (a) (i) 或 (a) (ii) 中给予的所述一种或多种药剂不同的另外的类固醇。

13. 根据权利要求8-12中任一项所述的方法, 其中在 (c) 中所述治疗方案包括与在 (a) 或 (b) 中给予的所述剂量的类固醇相比给予更高剂量和/或频率的所述类固醇, 以及任选地以在 (b) 中给予的所述另外的类固醇的更高剂量和/或频率给予与在 (a) 和 (b) 中给予的所述一种或多种药剂不同的另外的类固醇。

14. 根据权利要求8-13中任一项所述的方法, 其中如果所述受试者展现出脑水肿, 则给予与 (a) 和 (b) 中给予的所述一种或多种药剂不同的一个或多个剂量的另外的类固醇, 任选每24小时给予一次。

15. 一种改善毒性的方法, 所述方法包括向展现出一种或多种毒性身体体征或症状的受试者给予能够减轻和/或改善所述一种或多种与毒性相关的身体体征或症状的一种或多

种药剂,所述受试者已经被给予一定剂量的包含表达重组受体的T细胞的基因工程化细胞,其中将所述一种或多种药剂按以下治疗方案给予,所述治疗方案包括:

(a) 如果在接受所述剂量的基因工程化细胞后48或72小时内,所述受试者展现出发热和/或一种或多种与1级CRS相关的第一身体体征或症状,则给予(i)能够结合白细胞介素-6受体(IL-6R)的药剂,将所述药剂每24小时给予不多于一次,以及任选地(ii)一个或多个剂量的类固醇,将所述类固醇每24小时给予不多于一次;

(b) 如果在接受所述剂量的基因工程化细胞后48或72小时内,所述受试者展现出一种或多种与2级CRS相关的身体体征或症状,则给予(i)能够结合IL-6R的药剂,将所述药剂大约每12至24小时给予一次,以及(ii)一个或多个剂量的类固醇,将所述类固醇大约每12至24小时给予一次;并且如果在接受所述剂量的基因工程化细胞后等于或大于72小时,所述受试者展现出一种或多种与2级CRS相关的身体体征或症状,则给予(i)能够结合IL-6R的药剂,将所述药剂大约每12至24小时给予一次,以及任选地(ii)一个或多个剂量的类固醇,将所述类固醇每24小时给予不多于一次;

(c) 如果所述受试者在接受一定剂量的所述基因工程化细胞后展现出一种或多种与3级CRS相关的身体体征或症状,则给予(i)能够结合IL-6R的药剂,将所述药剂每天给予至少两次、任选至少大约每12小时给予一次,以及(ii)一个或多个剂量的类固醇,将所述类固醇每天给予至少两次、任选至少大约每12小时给予一次;以及

(d) 如果所述受试者在接受一定剂量的所述基因工程化细胞后展现出一种或多种与4级CRS相关的身体体征或症状,则给予(i)能够结合IL-6R的药剂,将所述药剂每天给予至少两次、任选至少大约每6小时给予一次,以及(ii)一个或多个剂量的类固醇,将所述类固醇每天给予至少两次、任选至少大约每6小时给予一次。

16. 一种改善毒性的方法,所述方法包括向展现出毒性体征或症状的受试者给予用于治疗所述毒性的治疗方案,所述受试者已经被给予一定剂量的包含表达重组受体的T细胞的基因工程化细胞,其中所述治疗方案包括:

(a) 如果在接受所述剂量的基因工程化细胞后72、96或120小时内,所述受试者展现出发热和/或一种或多种与毒性、任选细胞因子释放综合征(CRS)相关的第一身体体征或症状和/或一种或多种与1级CRS相关的身体体征或症状,则给予(i)能够结合白细胞介素-6受体(IL-6R)的药剂,将所述药剂每24小时给予不多于一次,和(ii)一个或多个剂量的类固醇,将所述类固醇大约每12至24小时给予一次;

(b) 如果所述受试者在接受一定剂量的所述基因工程化细胞后展现出一种或多种与2级CRS相关的身体体征或症状,则给予(i)能够结合IL-6R的药剂,将所述药剂每24小时给予不多于一次,以及(ii)一个或多个剂量的类固醇,将所述类固醇大约每12至24小时给予一次;

(c) 如果所述受试者在接受一定剂量的所述基因工程化细胞后展现出一种或多种与3级CRS相关的身体体征或症状,则给予(i)能够结合IL-6R的药剂,将所述药剂每24小时给予不多于一次,以及(ii)一个或多个剂量的类固醇,将所述类固醇每天给予至少两次、任选至少大约每12小时给予一次;以及

(d) 如果所述受试者在接受一定剂量的所述基因工程化细胞后展现出一种或多种与4级CRS相关的身体体征或症状,则给予(i)能够结合IL-6R的药剂,将所述药剂每24小时给予

不多于一次,以及(ii)一个或多个剂量的类固醇,将所述类固醇每天给予至少两次、任选至少大约每6小时给予一次。

17. 根据权利要求15或权利要求16所述的方法,其中给予多达两个剂量的所述药剂。

18. 一种改善毒性的方法,所述方法包括向展现出毒性体征或症状的受试者给予用于治疗所述毒性的治疗方案,所述受试者已经被给予一定剂量的包含表达重组受体的T细胞的基因工程化细胞,其中所述治疗方案是:如果在给予所述剂量的基因工程化细胞的72、96或120小时内,所述受试者展现出发热和/或一种或多种与毒性、任选细胞因子释放综合征(CRS)相关的第一身体体征或症状和/或一种或多种与1级CRS相关的身体体征或症状,则给予(i)能够结合白细胞介素-6受体(IL-6R)的药剂和(ii)一个或多个剂量的类固醇。

19. 一种改善毒性的方法,所述方法包括向展现出毒性体征或症状的受试者给予用于治疗所述毒性的治疗方案,所述受试者已经被给予一定剂量的包含表达重组受体的T细胞的基因工程化细胞,其中所述治疗方案包括:

(a) 如果所述受试者在接受一定剂量的所述基因工程化细胞后展现出一种或多种与2级神经毒性(NT)相关的身体体征或症状,则给予一个或多个剂量的类固醇,将所述类固醇大约每12至24小时给予一次,直到所述受试者展现出与1级NT相关的身体体征或症状或所述受试者没有展现出与神经毒性相关的任何身体体征或症状,任选地进一步给予一个或多个减少剂量的所述类固醇;

(b) 如果所述受试者在接受一定剂量的所述基因工程化细胞后展现出一种或多种与3级NT相关的身体体征或症状,则给予一个或多个剂量的类固醇,将所述类固醇每天给予至少两次、任选至少大约每12小时给予一次,直到所述受试者展现出与1级NT相关的身体体征或症状或所述受试者没有展现出与神经毒性相关的任何身体体征或症状,并且进一步给予一个或多个减少剂量的所述类固醇;以及

(c) 如果所述受试者在接受一定剂量的所述基因工程化细胞后展现出一种或多种与4级NT相关的身体体征或症状,则给予一个或多个剂量的类固醇,将所述类固醇每天给予至少两次、任选至少大约每6小时给予一次,直到所述受试者展现出与1级NT相关的身体体征或症状或所述受试者没有展现出与神经毒性相关的任何身体体征或症状,并且进一步给予一个或多个减少剂量的所述类固醇。

20. 根据权利要求16-19中任一项所述的方法,其中如果在接受所述剂量的基因工程化细胞后72小时内,所述受试者展现出一种或多种与所述毒性相关的第一身体体征或症状和/或如果所述一种或多种与所述毒性相关的身体体征或症状和/或展现出与所述毒性相关的身体体征或症状的快速发展,则给予一个或多个剂量的类固醇,将所述类固醇每天给予至少两次、任选至少大约每6小时给予一次。

21. 根据权利要求2-8、16-18和20所述的方法,其中将所述能够结合IL-6R的药剂的剂量和类固醇或所述另外的类固醇的剂量同时给予,或者将所述类固醇或所述另外的类固醇的剂量在所述能够结合IL-6R的药剂的剂量的约1、2、3或4小时内给予。

22. 根据权利要求2-8、16-18、20和21中任一项所述的方法,其中将所述能够结合IL-6R的药剂每4、5、6、7、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24小时或更多小时给予不多于一次。

23. 根据权利要求1-22中任一项所述的方法,其中给予多达两个剂量的所述一种或多

种药剂。

24. 根据权利要求2-8和10-23中任一项所述的方法, 其中将所述类固醇或所述另外的类固醇每3、6、9、12、15、18、21、24、36或48小时或大约每3、6、9、12、15、18、21、24、36或48小时或由任两个前述值限定的范围内给予一次。

25. 根据权利要求2-8和10-24中任一项所述的方法, 其中所述类固醇或所述另外的类固醇是或包含皮质类固醇, 所述皮质类固醇任选地是糖皮质激素。

26. 根据权利要求2-8和10-25中任一项所述的方法, 其中所述类固醇或所述另外的类固醇选自可的松、地塞米松、氢化可的松、甲基泼尼松龙、泼尼松龙和泼尼松。

27. 根据权利要求26所述的方法, 其中所述类固醇或所述另外的类固醇是或包含地塞米松、泼尼松或甲基泼尼松龙。

28. 根据权利要求2-8和10-27中任一项所述的方法, 其中所述类固醇或所述另外的类固醇是地塞米松或甲基泼尼松龙。

29. 根据权利要求2-8和10-28中任一项所述的方法, 其中所述类固醇或所述另外的类固醇用于按以下等效剂量量给予: 从或从约1.0mg至或至约40mg、从或从约1.0mg至或至约20mg、从或从约2.0mg至或至约20mg、从或从约5.0mg至或至约25.0mg、或从或从约10mg至或至约20mg地塞米松或其等效物, 每个都包含端值。

30. 根据权利要求2-8和10-28中任一项所述的方法, 其中将所述类固醇或所述另外的类固醇按以下等效剂量量给予: 在或在约0.5mg/kg与或与约5mg/kg之间, 或为或为约1mg/kg、2mg/kg、3mg/kg、4mg/kg或5mg/kg的甲基泼尼松龙或其等效物, 每个都包含端值。

31. 根据权利要求2-8和10-30中任一项所述的方法, 其中给予多个剂量的所述类固醇或所述另外的类固醇, 任选地其中给予至少2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14个或更多个剂量的所述类固醇或所述另外的类固醇。

32. 根据权利要求2-8和10-31中任一项所述的方法, 其中将所述类固醇或所述另外的类固醇在等于或大于2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14天的时间段内或在由任何前述值限定的范围内以多个剂量给予。

33. 根据权利要求2-8和10-32中任一项所述的方法, 其中将所述类固醇或所述另外的类固醇给予2、3、4、5天或更多天。

34. 根据权利要求2-8和10-33中任一项所述的方法, 其中将所述类固醇或所述另外的类固醇每天给予一次、每天给予两次或每天给予三次或更多次。

35. 根据权利要求2-8和10-34中任一项所述的方法, 其中将所述类固醇或所述另外的类固醇按以下等效剂量量给予: 每天或每24小时在或在约1.0mg与或与约80mg之间、在或在约1.0mg与或与约60mg之间、在或在约1.0mg与或与约40mg之间、在或在约1.0mg与或与约20mg之间、在或在约1.0mg与或与约10mg之间、在或在约2.0mg与或与约80mg之间、在或在约2.0mg与或与约60mg之间、在或在约2.0mg与或与约40mg之间、在或在约2.0mg与或与约20mg之间、在或在约2.0mg与或与约10mg之间、在或在约5.0mg与或与约80mg之间、在或在约5.0mg与或与约60mg之间、在或在约5.0mg与或与约40mg之间、在或在约5.0mg与或与约20mg之间、在或在约5.0mg与或与约10mg之间、在或在约10mg与或与约80mg之间、在或在约10mg与或与约60mg之间、在或在约10mg与或与约40mg之间、在或在约10mg与或与约20mg之间的地塞米松或其等效物, 每个都包含端值, 或每天或每24小时从或从约10mg至或至约80mg地

塞米松或其等效物,或每天或每24小时等于或等于约10mg、20mg、40mg或80mg地塞米松或其等效物。

36. 根据权利要求31-35中任一项所述的方法,其中所述多个剂量包含以下初始剂量的所述类固醇或所述另外的类固醇:在或在约1与或与约3mg/kg之间,如为或为约2mg/kg甲基泼尼松龙或其等效物,接着为以下后续剂量:在或在约1与或与约5mg/kg之间,或为或为约1mg/kg、2mg/kg、3mg/kg、4mg/kg或5mg/kg甲基泼尼松龙或其等效物,在一天内或在24小时内分成1、2、3、4或5次。

37. 根据权利要求2-8和10-36中任一项所述的方法,其中所述类固醇或所述另外的类固醇被配制用于静脉内或口服给予。

38. 根据权利要求2-8、16-18和20-47所述的方法,其中所述能够结合IL-6R的药剂是重组抗IL-6受体抗体或其抗原结合片段或者包含选自托珠单抗或萨瑞鲁单抗或其抗原结合片段的药剂。

39. 根据权利要求38所述的方法,其中所述重组抗IL-6R抗体是或包含托珠单抗或其抗原结合片段。

40. 根据权利要求38或权利要求39所述的方法,其中所述抗IL-6R抗体用于按以下剂量量给予:从或从约1mg/kg至或至约20mg/kg、从或从约2mg/kg至或至约19mg/kg、从或从约4mg/kg至或至约16mg/kg、从或从约6mg/kg至或至约14mg/kg、或8mg/kg至或至约12mg/kg,每个都包含端值,或者所述抗IL-6R抗体是按以下剂量量给予:至少或至少约或约1mg/kg、2mg/kg、4mg/kg、6mg/kg、8mg/kg、10mg/kg、12mg/kg、14mg/kg、16mg/kg、18mg/kg、20mg/kg。

41. 根据权利要求38-40中任一项所述的方法,其中所述抗IL-6R抗体被配制用于以下量的单一剂量给予:从或从约30mg至或至约5000mg、从或从约50mg至或至约1000mg、从或从约50mg至或至约500mg、从或从约50mg至或至约200mg、从或从约50mg至或至约100mg、从或从约100mg至或至约1000mg、从或从约100mg至或至约500mg、从或从约100mg至或至约200mg、从或从约200mg至或至约1000mg、从或从约200mg至或至约500mg、或从或从约500mg至或至约1000mg。

42. 根据权利要求38-41中任一项所述的方法,其中所述抗IL-6R抗体被配制用于静脉内给予。

43. 根据权利要求1-42中任一项所述的方法,如果在所述剂量的基因工程化细胞的给予的72小时内,所述受试者展现出一种或多种与所述毒性相关的第一身体体征或症状、任选CRS,如果与所述毒性相关的身体体征或症状、任选CRS没有改善,如果与所述毒性相关的身体体征或症状是严重的或侵袭性的和/或如果毒性的等级、任选CRS变得更严重,则所述方法还包括给予另外剂量、任选高剂量的类固醇和/或一定剂量、任选高剂量的另外的类固醇。

44. 根据权利要求43所述的方法,其中所述高剂量的所述类固醇或所述另外的类固醇是以下剂量的甲基泼尼松龙或其等效物:初始剂量为或为约1至或至约4mg/kg,接着为或为约1至或至约4mg/kg/天,每天分成2、3、4、5或6次。

45. 根据权利要求43所述的方法,其中所述高剂量的所述类固醇或所述另外的类固醇是以下剂量量的地塞米松:为或为约10mg、20mg、25mg、30mg、35mg、40mg、45mg、50mg、55mg、60mg、65mg、70mg、75mg或80mg地塞米松或其等效物,或由任何前述值限定的范围,每个都包

含端值。

46. 根据权利要求1-45中任一项所述的方法,其中在给予所述治疗方案之前,所述方法还包括向所述受试者给予一定剂量的包含表达重组受体的T细胞的基因工程化细胞以治疗疾病或病症。

47. 根据权利要求1-46中任一项所述的方法,其中所述重组受体是或包含嵌合受体和/或重组抗原受体。

48. 根据权利要求1-47中任一项所述的方法,其中所述重组受体能够与靶抗原结合,所述靶抗原与疾病、障碍或病症的细胞或组织相关,为疾病、障碍或病症的细胞或组织所特有,和/或在疾病、障碍或病症的细胞或组织上表达。

49. 根据权利要求48所述的方法,其中所述疾病、障碍或病症是感染性疾病或障碍、自身免疫性疾病、炎性疾病或者肿瘤或癌症。

50. 根据权利要求48或权利要求49所述的方法,其中所述靶抗原是肿瘤抗原。

51. 根据权利要求48-50中任一项所述的方法,其中所述靶抗原选自 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素(avb6整合素)、B细胞成熟抗原(BCMA)、B7-H3、B7-H6、碳酸酐酶9(CA9,也称为CAIX或G250)、癌症-睾丸抗原、癌症/睾丸抗原1B(CTAG,也称为NY-ESO-1和LAGE-2)、癌胚抗原(CEA)、细胞周期蛋白、细胞周期蛋白A2、C-C基序趋化因子配体1(CCL-1)、CD19、CD20、CD22、CD23、CD24、CD30、CD33、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD123、CD138、CD171、表皮生长因子蛋白(EGFR)、表皮生长因子受体III型突变体(EGFR vIII)、上皮糖蛋白2(EPG-2)、上皮糖蛋白40(EPG-40)、肝配蛋白B2、肝配蛋白受体A2(EPha2)、雌激素受体、Fc受体样蛋白5(FCRL5;也称为Fc受体同源物5或FCRH5)、胎儿乙酰胆碱受体(胎儿AChR)、叶酸结合蛋白(FBP)、叶酸受体 α 、神经节苷脂GD2、O-乙酰化GD2(OGD2)、神经节苷脂GD3、糖蛋白100(gp100)、G蛋白偶联受体5D(GPRC5D)、Her2/neu(受体酪氨酸激酶erb-B2)、Her3(erb-B3)、Her4(erb-B4)、erbB二聚体、人高分子量黑色素瘤相关抗原(HMW-MAA)、乙型肝炎表面抗原、人白细胞抗原A1(HLA-A1)、人白细胞抗原A2(HLA-A2)、IL-22受体 α (IL-22Ra)、IL-13受体 $\alpha 2$ (IL-13Ra2)、激酶插入结构域受体(kdr)、 κ 轻链、L1细胞粘附分子(L1-CAM)、L1-CAM的CE7表位、含有富亮氨酸重复序列的蛋白8家族成员A(LRRC8A)、路易斯Y、黑色素瘤相关抗原(MAGE)-A1、MAGE-A3、MAGE-A6、间皮素、c-Met、鼠类巨细胞病毒(CMV)、粘蛋白1(MUC1)、MUC16、自然杀伤细胞2族成员D(NKG2D)配体、黑色素A(MART-1)、神经细胞粘附分子(NCAM)、癌胚胎抗原、黑色素瘤优先表达抗原(PRAME)、孕酮受体、前列腺特异性抗原、前列腺干细胞抗原(PSCA)、前列腺特异性膜抗原(PSMA)、受体酪氨酸激酶样孤儿受体1(ROR1)、存活蛋白、滋养层糖蛋白(TPBG,也称为5T4)、肿瘤相关糖蛋白72(TAG72)、血管内皮生长因子受体(VEGFR)、血管内皮生长因子受体2(VEGFR2)、Wilms肿瘤1(WT-1)、病原体特异性或病原体表达的抗原、或与通用标签相关的抗原、和/或生物素化分子、和/或由HIV、HCV、HBV或其他病原体表达的分子。

52. 根据权利要求48-51中任一项所述的方法,其中所述重组受体是或包含功能性非TCR抗原受体或TCR或其抗原结合片段。

53. 根据权利要求48-52中任一项所述的方法,其中所述重组受体是嵌合抗原受体(CAR)。

54. 根据权利要求48-53中任一项所述的方法,其中所述重组受体包含含有抗原结合结构域的细胞外结构域。

55. 根据权利要求54所述的方法, 其中所述抗原结合结构域是或包含抗体或其抗体片段, 所述抗体片段任选地是单链片段。

56. 根据权利要求55所述的方法, 其中所述片段包含通过柔性接头连接的抗体可变区。

57. 根据权利要求55或56中任一项所述的方法, 其中所述片段包含scFv。

58. 根据权利要求48-57中任一项所述的方法, 其中所述重组受体包含细胞内信号传导区。

59. 根据权利要求58所述的方法, 其中所述细胞内信号传导区包含细胞内信号传导结构域。

60. 根据权利要求59所述的方法, 其中所述细胞内信号传导结构域是或包含初级信号传导结构域、能够在T细胞中诱导初级激活信号的信号传导结构域、T细胞受体 (TCR) 组分的信号传导结构域和/或包含基于免疫受体酪氨酸的激活基序 (ITAM) 的信号传导结构域。

61. 根据权利要求60所述的方法, 其中所述细胞内信号传导结构域是或包含CD3链、任选CD3-zeta (CD3 ζ) 链的细胞内信号传导结构域或其信号传导部分。

62. 根据权利要求58-61中任一项所述的方法, 其中所述重组受体还包含设置在所述细胞外结构域与所述细胞内信号传导区之间的跨膜结构域。

63. 根据权利要求46-62中任一项所述的方法, 其中所述细胞内信号传导区还包含共刺激信号传导结构域。

64. 根据权利要求63所述的方法, 其中所述共刺激信号传导结构域包含T细胞共刺激分子的细胞内信号传导结构域或其信号传导部分。

65. 根据权利要求63或权利要求64所述的方法, 其中所述共刺激信号传导结构域包含CD28、4-1BB或ICOS的细胞内信号传导结构域或其信号传导部分。

66. 根据权利要求63-65中任一项所述的方法, 其中所述共刺激信号传导结构域位于所述跨膜结构域与所述细胞内信号传导结构域之间。

67. 根据权利要求1-66中任一项所述的方法, 其中所述细胞是T细胞。

68. 根据权利要求67所述的方法, 其中所述T细胞是CD4⁺或CD8⁺。

69. 根据权利要求1-68中任一项所述的方法, 其中所述T细胞是从受试者获得的原代T细胞。

70. 根据权利要求1-69中任一项所述的方法, 其中所述基因工程化细胞的细胞对于所述受试者是自体的。

71. 根据权利要求1-69中任一项所述的方法, 其中细胞是对于所述受试者同种异体的所述基因工程化细胞的细胞。

72. 一种治疗方法, 所述方法包括:

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

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

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

其中所述治疗范围是:

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

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

73. 一种治疗方法,所述方法包括:

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

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

其中所述治疗范围是:

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

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

74. 根据权利要求72-73中任一项所述的方法,其中如果所述受试者血液中CAR+T细胞的峰值数量小于所述治疗范围内的峰值CAR+T细胞的最低数量,则向所述受试者给予能够增加CAR+T细胞扩增或增殖的药剂。

75. 根据权利要求74所述的方法,其中所述药剂能够增加CAR特异性扩增。

76. 根据权利要求74或权利要求75所述的方法,其中所述药剂是对所述CAR具有特异性的抗独特型抗体或其抗原结合片段、免疫检查点抑制剂、代谢途径调节剂、腺苷受体拮抗剂、激酶抑制剂、抗TGFβ抗体或抗TGFβR抗体或细胞因子。

77. 根据权利要求72-73中任一项所述的方法,其中如果所述受试者的血液中CAR+T细胞的峰值数量大于所述治疗范围内的峰值CAR+T细胞的最高数量,则向所述受试者给予能够减少CAR+T细胞扩增或增殖的药剂。

78. 一种治疗方法,所述方法包括:

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

(b) 在给予所述剂量的基因工程化细胞后,监测所述受试者的血液中的CAR+T细胞,并且

(c) 在以下情况下向所述受试者给予能够减少CAR+T细胞扩增或增殖的药剂:

(i) 在给予所述基因工程化细胞后,血液中CD3+CAR+T细胞的量大于或大于约500个细胞/微升;或

(ii) 在给予所述基因工程化细胞后,血液中CD8+CAR+T细胞的量大于或大于约200个细胞/微升。

79. 一种治疗方法,所述方法包括:

(a) 在受试者的血液中监测包含表达嵌合抗原受体 (CAR) 的T细胞的基因工程化细胞的存在,其中所述受试者先前已经被给予一定剂量的所述基因工程化细胞以治疗疾病或病症;以及

(b) 在以下情况下向所述受试者给予能够减少CAR+T细胞扩增或增殖的药剂：(i) 在给予所述基因工程化细胞后，血液中CD3+CAR+T细胞的量大于或大于约500个细胞/微升；或(ii) 在给予所述基因工程化细胞后，血液中CD8+CAR+T细胞的量大于或大于约200个细胞/微升。

80. 根据权利要求78-79中任一项所述的方法，其中所述药剂是一种或多种类固醇。

81. 根据权利要求80所述的方法，其中所述类固醇是地塞米松或甲基泼尼松龙。

82. 根据权利要求80-81中任一项所述的方法，其中将所述类固醇按以下量的地塞米松或其等效物给予：在或在约1.0mg与或与约40mg之间、在或在约1.0mg与或与约20mg之间、在或在约2.0mg与或与约20mg之间、在或在约5.0mg与或与约25.0mg之间、在或在约10mg与或与约20mg之间，每个都包含端值。

83. 根据权利要求80-82中任一项所述的方法，其中将所述类固醇在等于或大于2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14天或更长时间的时间段内或在由任何前述值限定的范围内以多个剂量给予。

84. 根据权利要求80-83中任一项所述的方法，其中将所述类固醇每天给予一次、每天给予两次或每天给予三次或更多次。

85. 根据权利要求80-84中任一项所述的方法，其中将所述类固醇以一定的量给予，所述量为每天或每24小时在或在约1.0mg与或与约80mg之间、在或在约1.0mg与或与约60mg之间、在或在约1.0mg与或与约40mg之间、在或在约1.0mg与或与约20mg之间、在或在约1.0mg与或与约10mg之间、在或在约2.0mg与或与约80mg之间、在或在约2.0mg与或与约60mg之间、在或在约2.0mg与或与约40mg之间、在或在约2.0mg与或与约20mg之间、在或在约2.0mg与或与约10mg之间、在或在约5.0mg与或与约80mg之间、在或在约5.0mg与或与约60mg之间、在或在约5.0mg与或与约40mg之间、在或在约5.0mg与或与约20mg之间、在或在约5.0mg与或与约10mg之间、在或在约10mg与或与约80mg之间、在或在约10mg与或与约60mg之间、在或在约10mg与或与约40mg之间、在或在约10mg与或与约20mg之间的地塞米松或其等效物，每个都包含端值，或为每天或每24小时约10mg、20mg、40mg或80mg地塞米松或其等效物。

86. 根据权利要求72-85中任一项所述的方法，其中在开始给予所述基因工程化细胞后至少8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天或21天的时间；或在开始给予所述基因工程化细胞后在或在约11至22天、12至18天或14至16天之间的时间，每个都包含端值，监测所述受试者的血液中的CAR+T细胞。

87. 根据权利要求72-86中任一项所述的方法，其中将所述药剂在以下时间给予：开始给予所述基因工程化细胞后大于或大于约8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天或21天的时间；或在开始给予所述基因工程化细胞后在或在约11至或至约22天、12至18天或14至16天之间的时间，每个都包含端值。

88. 一种调节工程化细胞活性的方法，所述方法包括：

(a) 选择受试者，其中来自所述受试者的样品中的肿瘤负荷的体积量度或炎性标记的水平、量或浓度等于或高于阈值水平，其中所述样品不包含表达嵌合抗原受体(CAR)的基因工程化T细胞和/或是在接受表达CAR的基因工程化T细胞的给予之前从所述受试者获得；并且

(b) 向所选受试者给予能够减少表达CAR的基因工程化T细胞的扩增或增殖的药剂。

89. 一种调节工程化细胞活性的方法, 所述方法包括向受试者给予能够在受试者中减少表达嵌合抗原受体 (CAR) 的基因工程化T细胞的扩增或增殖的药剂, 其中所述受试者是其中在来自所述受试者的样品中肿瘤负荷的体积量度或炎性标记的水平、量或浓度等于或高于阈值水平的受试者。

90. 根据权利要求89所述的方法, 其中所述样品不包含表达CAR的基因工程化T细胞和/或是在接受表达CAR的基因工程化T细胞的给予之前从所述受试者获得。

91. 根据权利要求88-90中任一项所述的方法, 其中将所述药剂在开始给予一定剂量的基因工程化细胞之前或同时给予, 所述基因工程化细胞包含表达CAR的T细胞。

92. 根据权利要求91所述的方法, 其中所述方法还包括给予一定剂量的包含表达CAR的T细胞的所述基因工程化细胞。

93. 根据权利要求88-92中任一项所述的方法, 其中所述受试者患有疾病或病症, 并且所述基因工程化细胞用于治疗所述疾病或病症。

94. 根据权利要求88-93中任一项所述的方法, 其中在给予所述药剂之前, 在给予所述基因工程化细胞后所选受试者具有发生毒性的风险。

95. 根据权利要求88-94中任一项所述的方法, 其中所述药剂的给予足以在所述受试者中、或在大多数通过所述方法如此治疗的所选受试者中、或在大于75%的通过所述方法如此治疗的所选受试者中实现在治疗范围内的峰值CAR+T细胞。

96. 根据权利要求95所述的方法, 其中所述治疗范围是:

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

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

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

97. 根据权利要求95所述的方法, 其中所述治疗范围是:

(i) 基于在给予所述基因工程化细胞之后, 血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的CD3+CAR+T细胞数量或水平; 或

(ii) 基于在给予所述基因工程化细胞之后, 血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的CD8+CAR+T细胞数量或水平。

98. 根据权利要求88-97中任一项所述的方法, 其中测量肿瘤负荷的体积量度, 并且所述体积量度是直径乘积之和 (SPD)、最长肿瘤直径 (LD)、最长肿瘤直径之和 (SLD)、肿瘤体积、坏死体积、坏死-肿瘤比率 (NTR)、瘤周水肿 (PTE)、以及水肿-肿瘤比率 (ETR)。

99. 根据权利要求88-98中任一项所述的方法, 其中所述体积量度是直径乘积之和 (SPD)。

100. 根据权利要求88-99中任一项所述的方法, 其中使用所述受试者的计算机断层成像 (CT)、正电子发射断层成像 (PET) 和/或磁共振成像 (MRI) 测量所述体积量度。

101. 根据权利要求88-96中任一项所述的方法, 其中测量来自所述受试者的样品中的炎性标记, 并且所述炎性标记是C反应蛋白 (CRP)、红细胞沉降率 (ESR)、白蛋白、铁蛋白、 $\beta 2$

微球蛋白($\beta 2$ -M)、乳酸脱氢酶(LDH)、细胞因子或趋化因子。

102. 根据权利要求88-96和101中任一项所述的方法,其中所述炎性标记是LDH。

103. 根据权利要求88-96和101中任一项所述的方法,其中所述炎性标记是细胞因子或趋化因子,所述细胞因子或趋化因子是IL-7、IL15、MIP-1 α 或TNF- α 。

104. 根据权利要求88-96、101和103中任一项所述的方法,其中所述细胞因子或趋化因子与巨噬细胞或单核细胞激活相关。

105. 根据权利要求88-96和101-104中任一项所述的方法,其中所述样品是或包含血液样品、血浆样品或血清样品。

106. 根据权利要求88-105中任一项所述的方法,其中所述阈值是如下值:

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

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

iii) 高于所述体积量度或炎性标记的最高值,如在来自多个对照受试者的超过75%、80%、85%、90%、95%或98%的受试者中所测量的。

107. 根据权利要求106所述的方法,其中所述多个对照受试者是在接受一定剂量的所述基因工程化细胞之前的受试者组,其中:

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

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

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

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

108. 根据权利要求88-107中任一项所述的方法,其中所述体积量度是SPD,并且所述阈值为或为约30cm²,为或为约40cm²,为或为约50cm²,为或为约60cm²,或者为或为约70cm²。

109. 根据权利要求88-108中任一项所述的方法,其中所述炎性标记是LDH,并且所述阈值为或为约300单位/升,为或为约400单位/升,为或为约500单位/升,或者为或为约600单位/升。

110. 根据权利要求88-109中任一项所述的方法,其中所述药剂是类固醇。

111. 根据权利要求110所述的方法,其中所述类固醇是地塞米松或甲基泼尼松龙。

112. 根据权利要求110-111中任一项所述的方法,其中将所述类固醇以一定的量给予,所述量为在或在约1.0mg与约40mg之间、在或在约1.0mg与约20mg之间、在或在约2.0mg与约20mg之间、在或在约5.0mg与约25.0mg之间、在或在约10mg与约20mg之间的地塞米松或其等效物,每个都包含端值。

113. 根据权利要求110-112中任一项所述的方法,其中将所述类固醇在等于或大于2、

3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14天或更长时间的时间段内或在由任何前述值限定的范围内以多个剂量给予。

114. 根据权利要求110-113中任一项所述的方法, 其中将所述类固醇每天给予一次、每天给予两次或每天给予三次或更多次。

115. 根据权利要求110-114中任一项所述的方法, 其中将所述类固醇以一定的量给予, 所述量为每天或每24小时在或在约1.0mg与或与约80mg之间、在或在约1.0mg与或与约60mg之间、在或在约1.0mg与或与约40mg之间、在或在约1.0mg与或与约20mg之间、在或在约1.0mg与或与约10mg之间、在或在约2.0mg与或与约80mg之间、在或在约2.0mg与或与约60mg之间、在或在约2.0mg与或与约40mg之间、在或在约2.0mg与或与约20mg之间、在或在约2.0mg与或与约10mg之间、在或在约5.0mg与或与约80mg之间、在或在约5.0mg与或与约60mg之间、在或在约5.0mg与或与约40mg之间、在或在约5.0mg与或与约20mg之间、在或在约5.0mg与或与约10mg之间、在或在约10mg与或与约80mg之间、在或在约10mg与或与约60mg之间、在或在约10mg与或与约40mg之间、在或在约10mg与或与约20mg之间的地塞米松或其等效物, 每个都包含端值, 或每天或每24小时从或从约10mg至或至约80mg地塞米松或其等效物, 或每天或每24小时等于或等于约10mg、20mg、40mg或80mg地塞米松或其等效物。

116. 根据权利要求88-115中任一项所述的方法, 其中在开始给予所述基因工程化细胞之前1天、2天、3天、4天、6天、8天、12天、16天、20天、24天、28天或更长时间内, 在所述受试者中测量所述体积量度或炎性标记。

117. 根据权利要求72-116中任一项所述的方法, 其中所述剂量的基因工程化细胞包含至少或至少约 1×10^5 个CAR表达细胞、至少或至少约 2.5×10^5 个CAR表达细胞、至少或至少约 5×10^5 个CAR表达细胞、至少或至少约 1×10^6 个CAR表达细胞、至少或至少约 2.5×10^6 个CAR表达细胞、至少或至少约 5×10^6 个CAR表达细胞、至少或至少约 1×10^7 个CAR表达细胞、至少或至少约 2.5×10^7 个CAR表达细胞、至少或至少约 5×10^7 个CAR表达细胞、至少或至少约 1×10^8 个CAR表达细胞、至少或至少约 2.5×10^8 个CAR表达细胞、或至少或至少约 5×10^8 个CAR表达细胞、或从或从约 1×10^5 至或至约 5×10^8 个总CAR表达T细胞、从或从约 1×10^6 至或至约 2.5×10^8 个总CAR表达T细胞、从或从约 5×10^6 至或至约 1×10^8 个总CAR表达T细胞、从或从约 1×10^7 至或至约 2.5×10^8 个总CAR表达T细胞、从或从约 5×10^7 至或至约 1×10^8 个总CAR表达T细胞, 每个都包含端值。

118. 根据权利要求72-117中任一项所述的方法, 其中在所治疗的多个受试者中, 与不包括给予所述药剂的方法相比, 所述方法实现了实现持久反应、任选完全反应 (CR) 或客观反应 (OR) 或部分反应 (PR) 的受试者的百分比的增加, 所述持久反应任选在等于或大于3个月或者等于或大于6个月内是持久的。

119. 根据权利要求118所述的方法, 其中所述增加大于或大于约1.2倍、1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍或更多。

120. 根据权利要求72-119中任一项所述的方法, 其中:

至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%或至少50%的根据所述方法治疗的受试者实现完全反应 (CR), 所述完全反应在等于或大于3个月或等于或大于6个月内是持久的; 和/或

至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%或至少70%的根据所述方法治疗

的所述受试者实现客观反应 (OR), 所述客观反应在等于或大于3个月或等于或大于6个月内是持久的。

121. 根据权利要求72-120中任一项所述的方法, 其中:

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

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

122. 根据权利要求72-121中任一项所述的方法, 其中将峰值CAR+T细胞的量确定为所述受试者血液中的CAR+T细胞数量/微升。

123. 根据权利要求72-122中任一项所述的方法, 其中所述治疗范围是其中估计毒性概率小于20%、小于15%、小于10%或小于5%并且反应的估计概率大于65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多的范围。

124. 根据权利要求72-123中任一项所述的方法, 其中所述毒性概率基于选自以下各项的毒性:

任何神经毒性或细胞因子释放综合征 (CRS);

严重毒性或3级或更高级毒性;

严重CRS或3级或更高级CRS; 或

严重神经毒性、2级或更高级神经毒性或3级或更高级神经毒性。

125. 根据权利要求72-124中任一项所述的方法, 其中所述毒性概率基于严重毒性或3级或更高级毒性的概率。

126. 根据权利要求124或权利要求125所述的方法, 其中所述严重毒性是3-5级神经毒性。

127. 根据权利要求72-126中任一项所述的方法, 其中所述反应概率基于作为完全反应 (CR)、客观反应 (OR) 或部分反应 (PR) 的反应, 任选地其中所述反应是持久的, 任选在等于或至少3个月或者等于或至少6个月内持久的。

128. 根据权利要求72-127中任一项所述的方法, 其中所述反应是骨髓反应, 如基于对所述受试者骨髓中恶性免疫球蛋白重链基因座 (IGH) 和/或指标克隆的存在的评估所确定的。

129. 根据权利要求128所述的方法, 其中所述恶性IGH和/或指标克隆是通过流式细胞术或IgH测序来评估。

130. 一种评估持久反应的可能性的方法, 所述方法包括:

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

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

131. 根据权利要求130所述的方法, 其中:

如果所述一种或多种炎性标记的峰值水平低于阈值, 则所述受试者可能实现持久反

应,并且如果所述一种或多种炎性标记的峰值水平高于阈值,则所述受试者不太可能实现持久反应;或

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

132. 根据权利要求130或权利要求131所述的方法,如果确定所述受试者不太可能实现持久反应,则还包括选择受试者以用除了所述基因工程化细胞之外的治疗剂或替代性治疗性治疗来治疗。

133. 根据权利要求130-132中任一项所述的方法,如果确定所述受试者不太可能实现持久反应,则所述方法还包括给予除了所述基因工程化细胞之外的治疗剂或替代性治疗性治疗。

134. 一种治疗方法,其包括:

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

来自所述受试者的样品中的一种或多种炎性标记的峰值水平高于阈值;和/或

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

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

135. 根据权利要求130-133中任一项所述的方法,其中所述反应是完全反应(CR)、客观反应(OR)或部分反应(PR)。

136. 根据权利要求130-133和135中任一项所述的方法,其中所述反应在等于或大于3个月、4个月、5个月或6个月内是持久的。

137. 根据权利要求130-136中任一项所述的方法,其中在开始给予所述基因工程化细胞后至少8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天或21天的时间;或在开始给予所述基因工程化细胞后在或在约11天与或与约22天、在或在约12天与或与约18天或在或在约14天与或与约16天之间的时间,每个都包含端值,评估所述峰值水平和/或从所述受试者获得样品。

138. 根据权利要求130-137中任一项所述的方法,其中所述峰值水平是一种或多种炎性标记的峰值水平,并且所述炎性标记选自C反应蛋白(CRP)、IL-2、IL-6、IL-10、IL-15、TNF- α 、MIP-1 α 、MIP-1 β 、MCP-1、CXCL10和CCL13。

139. 根据权利要求131-138中任一项所述的方法,其中评估一种或多种炎性标记的峰值水平,并且所述阈值在所述炎性标记的峰值水平的中值或平均值的25%内、20%内、15%内、10%内或5%内和/或在所述炎性标记的峰值水平的中值或平均值的标准差内,如在已经接受所述基因工程化细胞的给予的对照受试者组中所确定的,其中所述组的每个受试者未实现持久反应、任选CR和/或PR,任选在给予所述基因工程化细胞后等于或大于3个月或6个月内是持久的。

140. 根据权利要求139所述的方法,其中在给予所述基因工程化细胞后,任选在给予所述基因工程化细胞后等于或大于3个月或6个月,所述对照受试者展现出稳定疾病(SD)或进行性疾病(PD)。

141. 根据权利要求130-137中任一项所述的方法, 其中基因工程化细胞的所述峰值水平是峰值CAR+T细胞或其CD8+T细胞子集。

142. 根据权利要求131-137和141中任一项所述的方法, 所述下限阈值和上限阈值分别是在先前用所述基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中峰值CD3+CAR+T细胞或其CD8+CAR+T细胞子集的治疗范围的下限和上限, 所述治疗范围与大于或大于约65%的估计反应概率和小于或小于约30%的估计毒性概率相关。

143. 根据权利要求131-137、141和142中任一项所述的方法, 其中所述治疗范围是其中估计毒性概率小于20%、小于15%、小于10%或小于5%并且反应的估计概率大于65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多的范围。

144. 根据权利要求142或权利要求143所述的方法, 其中所述毒性概率基于选自以下各项的毒性:

任何神经毒性或细胞因子释放综合征 (CRS);

严重毒性或3级或更高级毒性;

严重CRS或3级或更高级CRS; 或

严重神经毒性、2级或更高级神经毒性或3级或更高级神经毒性。

145. 根据权利要求142-144中任一项所述的方法, 其中所述反应概率基于作为完全反应 (CR)、客观反应 (OR) 或部分反应 (PR) 的反应, 任选地其中所述反应是持久的, 任选在等于或至少3个月或者等于或至少6个月内持久的。

146. 根据权利要求130-137和141-145中任一项所述的方法, 其中将基因工程化细胞的峰值水平确定为所述受试者血液中的CAR+T细胞数量/微升。

147. 根据权利要求131-137和141-146中任一项所述的方法, 其中

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

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

148. 根据权利要求130-147中任一项所述的方法, 其中所述样品是血液样品或血浆样品。

149. 根据权利要求130-148中任一项所述的方法, 其中所述方法是离体进行的。

150. 根据权利要求132-149中任一项所述的方法, 基因工程化细胞的峰值水平高于所述上限阈值, 并且所述治疗剂是能够减少CAR+T细胞扩增或增殖的药剂。

151. 根据权利要求150所述的方法, 其中所述药剂是类固醇。

152. 根据权利要求151所述的方法, 其中所述类固醇是地塞米松或甲基泼尼松龙。

153. 根据权利要求151-152中任一项所述的方法, 其中将所述类固醇按以下量的地塞米松或其等效物给予: 在或在约1.0mg与或与约40mg之间、在或在约1.0mg与或与约20mg之间、在或在约2.0mg与或与约20mg之间、在或在约5.0mg与或与约25.0mg之间、在或在约10mg与或与约20mg之间, 每个都包含端值。

154. 根据权利要求151-153中任一项所述的方法, 其中将所述类固醇在等于或大于2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14天或更长时间的时间段内或在由任何前述值限定的范围内以多个剂量给予。

155. 根据权利要求151-154中任一项所述的方法, 其中将所述类固醇每天给予一次、每天给予两次或每天给予三次或更多次。

156. 根据权利要求151-155中任一项所述的方法, 其中将所述类固醇以一定的量给予, 所述量为每天或每24小时在或在约1.0mg与或与约80mg之间、在或在约1.0mg与或与约60mg之间、在或在约1.0mg与或与约40mg之间、在或在约1.0mg与或与约20mg之间、在或在约1.0mg与或与约10mg之间、在或在约2.0mg与或与约80mg之间、在或在约2.0mg与或与约60mg之间、在或在约2.0mg与或与约40mg之间、在或在约2.0mg与或与约20mg之间、在或在约2.0mg与或与约10mg之间、在或在约5.0mg与或与约80mg之间、在或在约5.0mg与或与约60mg之间、在或在约5.0mg与或与约40mg之间、在或在约5.0mg与或与约20mg之间、在或在约5.0mg与或与约10mg之间、在或在约10mg与或与约80mg之间、在或在约10mg与或与约60mg之间、在或在约10mg与或与约40mg之间、在或在约10mg与或与约20mg之间的地塞米松或其等效物, 每个都包含端值, 或每天或每24小时从或从约10mg至或至约80mg地塞米松或其等效物, 或每天或每24小时等于或等于约10mg、20mg、40mg或80mg地塞米松或其等效物。

157. 根据权利要求132-149中任一项所述的方法, 基因工程化细胞的所述峰值水平低于所述下限阈值, 并且所述治疗剂是能够增加所述CAR+T细胞的扩增或增殖、任选CAR特异性扩增的药剂。

158. 根据权利要求157所述的方法, 其中所述药剂是对所述CAR具有特异性的抗独特型抗体或其抗原结合片段、免疫检查点抑制剂、代谢途径调节剂、腺苷受体拮抗剂、激酶抑制剂、抗TGF β 抗体或抗TGF β R抗体或细胞因子。

159. 根据权利要求72-158中任一项所述的方法, 其中所述疾病或病症是癌症。

160. 根据权利要求159所述的方法, 其中所述癌症是B细胞恶性肿瘤。

161. 根据权利要求160所述的方法, 其中所述癌症选自肉瘤、癌、淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤(NHL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、白血病、CLL、ALL、AML和骨髓瘤。

162. 根据权利要求161所述的方法, 其中所述癌症是胰腺癌、膀胱癌、结直肠癌、乳腺癌、前列腺癌、肾癌、肝细胞癌、肺癌、卵巢癌、宫颈癌、胰腺癌、直肠癌、甲状腺癌、子宫癌、胃癌、食道癌、头颈癌、黑色素瘤、神经内分泌癌、CNS癌、脑肿瘤、骨癌或软组织肉瘤。

163. 根据权利要求72-162中任一项所述的方法, 其中所述受试者是人。

164. 根据权利要求72-163中任一项所述的方法, 其中所述CAR特异性地结合至与疾病或病症相关和/或在与所述疾病或病症相关的细胞中表达的抗原。

165. 根据权利要求164所述的方法, 其中所述抗原选自 α v β 6整合素(α v β 6整合素)、B细胞成熟抗原(BCMA)、B7-H3、B7-H6、碳酸酐酶9(CA9, 也称为CAIX或G250)、癌症-睾丸抗原、癌症/睾丸抗原1B(CTAG, 也称为NY-ESO-1和LAGE-2)、癌胚抗原(CEA)、细胞周期蛋白、细胞周期蛋白A2、C-C基序趋化因子配体1(CCL-1)、CD19、CD20、CD22、CD23、CD24、CD30、CD33、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD123、CD138、CD171、表皮生长因子蛋白(EGFR)、表皮生长因子受体III型突变体(EGFR vIII)、上皮糖蛋白2(EPG-2)、上皮糖蛋白40(EPG-40)、肝配蛋白B2、肝配蛋白受体A2(EPha2)、雌激素受体、Fc受体样蛋白5(FCRL5; 也称为Fc受体同源物5或

FCRH5)、胎儿乙酰胆碱受体(胎儿AChR)、叶酸结合蛋白(FBP)、叶酸受体 α 、神经节苷脂GD2、O-乙酰化GD2(OGD2)、神经节苷脂GD3、糖蛋白100(gp100)、G蛋白偶联受体5D(GPRC5D)、Her2/neu(受体酪氨酸激酶erb-B2)、Her3(erb-B3)、Her4(erb-B4)、erbB二聚体、人高分子量黑色素瘤相关抗原(HMW-MAA)、乙型肝炎表面抗原、人白细胞抗原A1(HLA-A1)、人白细胞抗原A2(HLA-A2)、IL-22受体 α (IL-22Ra)、IL-13受体 α 2(IL-13Ra2)、激酶插入结构域受体(kdr)、 κ 轻链、L1细胞粘附分子(L1-CAM)、L1-CAM的CE7表位、含有富亮氨酸重复序列的蛋白8家族成员A(LRRC8A)、路易斯Y、黑色素瘤相关抗原(MAGE)-A1、MAGE-A3、MAGE-A6、间皮素、c-Met、鼠类巨细胞病毒(CMV)、粘蛋白1(MUC1)、MUC16、自然杀伤细胞2族成员D(NKG2D)配体、黑色素A(MART-1)、神经细胞粘附分子(NCAM)、癌胚胎抗原、黑色素瘤优先表达抗原(PRAME)、孕酮受体、前列腺特异性抗原、前列腺干细胞抗原(PSCA)、前列腺特异性膜抗原(PSMA)、受体酪氨酸激酶样孤儿受体1(ROR1)、存活蛋白、滋养层糖蛋白(TPBG,也称为5T4)、肿瘤相关糖蛋白72(TAG72)、血管内皮生长因子受体(VEGFR)、血管内皮生长因子受体2(VEGFR2)、Wilms肿瘤1(WT-1)、病原体特异性或病原体表达的抗原、或与通用标签相关的抗原、和/或生物素化分子、和/或由HIV、HCV、HBV或其他病原体表达的分子。

166. 根据权利要求72-165中任一项所述的方法,其中所述嵌合抗原受体(CAR)包含与所述抗原特异性结合的细胞外抗原识别结构域和包含ITAM的细胞内信号传导结构域。

167. 根据权利要求166所述的方法,其中所述细胞内信号传导结构域包含CD3-zeta(CD3 ζ)链的细胞内结构域。

168. 根据权利要求166或权利要求167所述的方法,其中所述嵌合抗原受体(CAR)还包含共刺激信号传导区。

169. 根据权利要求168所述的方法,其中所述共刺激结构域是4-1BB的信号传导结构域。

170. 根据权利要求72-169中任一项所述的方法,其中所述T细胞是CD4⁺或CD8⁺的。

171. 根据权利要求72-170中任一项所述的方法,其中所述T细胞是从受试者获得的原始T细胞。

172. 根据权利要求72-171中任一项所述的方法,其中所述基因工程化细胞的细胞对于所述受试者是自体的。

173. 根据权利要求72-171中任一项所述的方法,其中所述基因工程化细胞的细胞对于所述受试者是同种异体的。

基因工程化细胞的给药和调节方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求以下申请的优先权:2017年12月1日提交的名称为“基因工程化细胞的给药和调节方法 (METHODS FOR DOSING AND FOR MODULATION OF GENETICALLY ENGINEERED CELLS)”的美国临时申请号62/593,878、2017年12月8日提交的名称为“基因工程化细胞的给药和调节方法 (METHODS FOR DOSING AND FOR MODULATION OF GENETICALLY ENGINEERED CELLS)”的美国临时申请号62/596,773、2018年2月21日提交的名称为“基因工程化细胞的给药和调节方法 (METHODS FOR DOSING AND FOR MODULATION OF GENETICALLY ENGINEERED CELLS)”的美国临时申请号62/633,599、2018年6月1日提交的名称为“基因工程化细胞的给药和调节方法 (METHODS FOR DOSING AND FOR MODULATION OF GENETICALLY ENGINEERED CELLS)”的美国临时申请号62/679,763以及2018年6月1日提交的名称为“基因工程化细胞的给药和调节方法 (METHODS FOR DOSING AND FOR MODULATION OF GENETICALLY ENGINEERED CELLS)”的美国临时申请号62/679,764,将这些申请的内容通过引用以其整体并入。

[0003] 通过引用并入序列列表

[0004] 本申请是与电子格式的序列列表一起提交的。序列列表以2018年11月30日创建、大小为34千字节的名为735042015240SeqList.txt的文件提供。将在电子格式的序列列表中的信息通过引用以其整体并入。

技术领域

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

背景技术

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

发明内容

[0007] 本文提供了对受试者进行给药或治疗的方法,所述方法在一些方面涉及向所述受

试者给予一定剂量的工程化细胞(如用嵌合抗原受体(CAR)工程化的那些),和/或评估一种或多种另外的药剂和/或将一种或多种另外的药剂给予至已经给予此类工程化细胞的受试者。在一些任何此类实施方案中,所给予的剂量在治疗范围和/或窗口内和/或足以实现任选在给予后一定时间段内或期间,使受试者的样品或组织或体液中(例如在受试者的血液中)的工程化细胞(例如CAR+细胞)的总体或峰值量或数量在指定的范围内,例如在指定或确定的治疗范围内。在一些方面,所述治疗范围是基于概率确定或涉及概率,例如估计的概率,例如,反应概率和/或发生毒性(例如严重和/或3级或更高级毒性,例如神经毒性(NT),例如3级或更高级毒性)的体征或症状的概率或风险。

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

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

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

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

90%、95%或更多。

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

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

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

[0015] 在一些任何此类实施方案中,所述嵌合抗原受体(CAR)含有与所述抗原特异性结合的细胞外抗原识别结构域和包含ITAM的细胞内信号传导结构域。在一些方面,所述细胞内信号传导结构域含有CD3-zeta(CD3 ζ)链的细胞内结构域。在一些任何此类实施方案中,所述嵌合抗原受体(CAR)还包含共刺激信号传导区。在一些情况下,所述共刺激信号传导区包含CD28或4-1BB的信号传导结构域。在一些情形下,所述共刺激结构域是CD28的结构域。在一些情形下,所述共刺激结构域是4-1BB的结构域。

[0016] 在一些任何此类实施方案中,所述CAR特异性地识别或结合选自以下各项的抗原: B细胞表达的抗原、ROR1、B细胞成熟抗原(BCMA)、Her2、L1-CAM、CD19、CD20、CD22、间皮素、CEA和乙型肝炎表面抗原、抗叶酸受体、CD23、CD24、CD30、CD33、CD38、CD44、EGFR、EGP-2、EGP-4、EPHa2、ErbB2、3或4、erbB二聚体、EGFR vIII、FBP、FCRL5、FCRH5、GPCR5D、胎儿乙酰胆碱e受体、GD2、GD3、HMW-MAA、IL-22R- α 、IL-13R- α 2、kdr、 κ 轻链、路易斯Y、L1细胞粘附分子(L1-CAM)、黑色素瘤相关抗原(MAGE)-A1、MAGE-A3、MAGE-A6、黑色素瘤优先表达抗原(PRAME)、存活蛋白、EGP2、EGP40、TAG72、B7-H6、IL-13受体a2(IL-13Ra2)、CA9、GD3、HMW-MAA、CD171、G250/CAIX、HLA-AI MAGE A1、HLA-A2 NY-ESO-1、PSCA、叶酸受体-a、CD44v6、CD44v7/8、avb6整合素、8H9、NCAM、VEGF受体、5T4、胎儿AchR、NKG2D配体、CD44v6、双重抗原和与通用标签相关的抗原、癌症-睾丸抗原、间皮素、MUC1、MUC16、PSCA、NKG2D配体、NY-ESO-1、MART-1、gp100、癌胚胎抗原、ROR1、TAG72、VEGF-R2、癌胚抗原(CEA)、前列腺特异性抗原、PSMA、Her2/neu、雌激素受体、孕酮受体、肝配蛋白B2、CD123、c-Met、GD-2、O-乙酰化GD2(OGD2)、CE7、Wilms肿瘤1(WT-1)、细胞周期蛋白、细胞周期蛋白A2、CCL-1、CD138和病原体特异性抗原。

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

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

[0019] 本文提供了治疗方法,所述治疗方法包括向患有疾病或病症的受试者给予一定剂量的包含表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞的基因工程化细胞以治疗所述疾病或病症,在给

予所述剂量的基因工程化细胞后监测所述受试者的血液中的CAR⁺ T细胞以评估所述细胞是否在治疗范围内,并且如果所述基因工程化细胞不在所述治疗范围内,则向所述受试者给予能够调节、任选增加或减少所述受试者中的CAR⁺ T细胞扩增或增殖的药剂,其中所述治疗范围是:(i) 基于先前用所述基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3+CAR⁺ T细胞或其CD8+CAR⁺ T细胞子集的范围,所述范围与大于或大于约65%、70%、75%、80%、85%、90%的估计反应概率以及小于或约30%的估计毒性概率相关;或(ii) 在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的峰值CD3+CAR⁺ T细胞;或(iii) 在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR⁺ T细胞。

[0020] 本文提供了治疗方法,包括监测受试者的血液中含有表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞的基因工程化细胞的存在,以评估所述细胞是否在治疗范围内,其中所述受试者先前已经被给予一定剂量的所述基因工程化细胞以治疗疾病或病症;并且如果所述基因工程化细胞不在所述治疗范围内,则向所述受试者给予能够调节、任选增加或减少所述受试者中的CAR⁺ T细胞扩增或增殖的药剂,其中所述治疗范围是:(i) 基于先前用所述基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3+CAR⁺ T细胞或其CD8+CAR⁺ T细胞子集的范围,所述范围与大于或大于约65%、70%、75%、80%、85%、90%的估计反应概率以及小于或约30%、25%、20%、15%、10%、5%的估计毒性概率相关;或(ii) 在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的峰值CD3+CAR⁺ T细胞;或(iii) 在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR⁺ T细胞。在一些任何此类实施方案中,如果所述受试者血液中CAR⁺ T细胞的峰值数量小于所述治疗范围中峰值CAR⁺ T细胞的最低数量,则向所述受试者给予能够增加CAR⁺ T细胞扩增或增殖的药剂。在一些情况下,所述药剂能够进行CAR特异性扩增。

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

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

[0023] 在一些任何此类实施方案中,将所述类固醇以一定的量给予,所述量为在或在约1.0mg与约40mg之间、在或在约1.0mg与约20mg之间、在或在约2.0mg与约20mg之间、在或在约5.0mg与约25.0mg之间、在或在约10mg与约20mg之间的地塞米松或其等效物,每个都包含端值。

[0024] 在一些任何此类实施方案中,将所述类固醇在等于或大于2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14天或更长时间的时间段内或在由任何前述值限定的范围内以多个剂量给予。在一些任何此类实施方案中,将所述类固醇每天给予一次、每天给予两次或每天给予三次或更多次。在一些任何此类实施方案中,将所述类固醇以一定的量给予,所述量为每天或每24小时在或在约1.0mg与约80mg之间、在或在约1.0mg与约60mg之间、在或在约1.0mg与约

40mg之间、在或在约1.0mg与约20mg之间、在或在约1.0mg与约10mg之间、在或在约2.0mg与约80mg之间、在或在约2.0mg与约60mg之间、在或在约2.0mg与约40mg之间、在或在约2.0mg与约20mg之间、在或在约2.0mg与约10mg之间、在或在约5.0mg与约80mg之间、在或在约5.0mg与约60mg之间、在或在约5.0mg与约40mg之间、在或在约5.0mg与约20mg之间、在或在约5.0mg与约10mg之间、在或在约10mg与约80mg之间、在或在约10mg与约60mg之间、在或在约10mg与约40mg之间、在或在约10mg与约20mg之间的地塞米松或其等效物,每个都包含端值,或为每天或每24小时约10mg、20mg、40mg或80mg地塞米松或其等效物。

[0025] 在一些任何此类实施方案中,在开始给予所述基因工程化细胞后至少8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天或21天的时间监测所述受试者的血液中的CAR⁺ T细胞。在一些任何此类实施方案中,在开始给予所述基因工程化细胞后在或在约11天至22天、12天至18天或14天至16天之间的时间监测所述受试者的血液中的CAR⁺ T细胞,所述时间中的每个都包含端值。

[0026] 在一些任何此类实施方案中,将所述药剂在开始给予所述基因工程化细胞后大于或大于约8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天或21天的时间给予。在一些任何此类实施方案中,将所述药剂在开始给予所述基因工程化细胞后在或在约11天至22天、12天至18天或14天至16天之间的时间给予,所述时间中的每个都包含端值。

[0027] 提供了调节工程化细胞活性的方法,所述方法包括选择受试者,其中来自所述受试者的样品中的肿瘤负荷的体积量度或炎性标记的水平、量或浓度等于或高于阈值水平,其中所述样品不含有表达嵌合抗原受体(CAR)的基因工程化T细胞和/或是在接受表达CAR的基因工程化T细胞的给予之前从所述受试者获得;以及向所述选择的受试者给予能够减少表达CAR的基因工程化T细胞的扩增或增殖的药剂。

[0028] 提供了调节工程化细胞活性的方法,所述方法包括向受试者给予能够在受试者中减少表达嵌合抗原受体(CAR)的基因工程化T细胞的扩增或增殖的药剂,其中所述受试者是其中在来自所述受试者的样品中肿瘤负荷的体积量度或炎性标记的水平、量或浓度等于或高于阈值水平的受试者。

[0029] 在一些任何此类实施方案中,所述样品不包含表达CAR的基因工程化T细胞和/或是在接受表达CAR的基因工程化T细胞的给予之前从所述受试者获得。

[0030] 在一些任何此类实施方案中,将所述药剂在开始给予一定剂量的基因工程化细胞之前或同时给予,所述基因工程化细胞包含表达嵌合抗原受体的T细胞。在一些情况下,所述方法还包括给予一定剂量的所述基因工程化细胞。

[0031] 在一些任何此类实施方案中,所述受试者患有疾病或病症,并且所述基因工程化细胞用于治疗所述疾病或病症。

[0032] 在一些任何此类实施方案中,在给予所述药剂之前,所述选择的受试者具有在给予所述基因工程化细胞后发生毒性的风险。在一些任何此类实施方案中,所述药剂的给予足以在所述受试者中、或在大多数通过所述方法如此治疗的选择的受试者中、或在大于75%、80%、85%、90%、95%的通过所述方法如此治疗的选择的受试者中,实现在治疗范围内的峰值CAR⁺ T细胞。

[0033] 在一些方面,所述治疗范围是:基于先前用所述基因工程化细胞治疗的一个或多

个受试者的血液中的峰值CD3+CAR+ T细胞或其CD8+CAR+ T细胞子集的范围,所述范围与大于或大于约65%、70%、75%、80%、85%、90%的估计反应概率以及小于或约30%、25%、20%、15%、10%、5%的估计毒性概率相关;或在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的峰值CD3+CAR+ T细胞;或在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR+ T细胞。

[0034] 在一些任何此类实施方案中,所述治疗范围是:(i) 基于在给予所述基因工程化细胞后血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的CD3+CAR+ T细胞的数量或水平;或(ii) 基于在给予所述基因工程化细胞后血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的CD8+CAR+ T细胞的数量或水平。

[0035] 在一些实施方案中,测量肿瘤负荷的体积量度,并且所述体积量度是直径乘积之和 (SPD)、最长肿瘤直径 (LD)、最长肿瘤直径之和 (SLD)、肿瘤体积、坏死体积、坏死-肿瘤比率 (NTR)、瘤周水肿 (PTE)、以及水肿-肿瘤比率 (ETR)。在一些情况下,所述体积量度是直径乘积之和 (SPD)。在一些任何此类实施方案中,使用计算机断层成像 (CT)、正电子发射断层成像 (PET) 和/或磁共振成像 (MRI) 测量所述受试者的体积量度。

[0036] 在一些任何此类实施方案中,测量来自所述受试者的样品中的炎性标记,并且所述炎性标记是C反应蛋白 (CRP)、红细胞沉降率 (ESR)、白蛋白、铁蛋白、B2微球蛋白 (B2-M)、乳酸脱氢酶 (LDH)、细胞因子或趋化因子。在一些情况下,所述炎性标记是LDH。在一些例子中,所述炎性标记是细胞因子或趋化因子,所述细胞因子或趋化因子是IL-7、IL15、MIP-1 α 或TNF- α 。在一些任何此类实施方案中,所述细胞因子或趋化因子与巨噬细胞或单核细胞激活相关。在一些实施方案中,所述样品是或含有血液样品、血浆样品或血清样品。在一些情况下,使用比色测定或免疫测定来评估所述炎性标记。在一些情况下,使用免疫测定来评估所述炎性标记,并且所述免疫测定选自酶联免疫吸附测定 (ELISA)、酶免疫测定 (EIA)、放射免疫测定 (RIA)、表面等离子体共振 (SPR)、蛋白质印迹、侧向流测定、免疫组织化学、蛋白质阵列或免疫PCR (iPCR)。

[0037] 在一些任何此类实施方案中,所述阈值是如下值:在高于体积量度或炎性标记的平均值的25%内、20%内、15%内、10%内或5%内,和/或在高于多个对照受试者中体积量度或炎性标记的平均值的标准差内;高于在来自多个对照受试者的至少一个受试者中测量的体积量度或炎性标记的最高值,任选在高于这个最高倍数变化的50%内、25%内、20%内、15%内、10%内或5%内;和/或高于如在来自多个对照受试者的超过75%、80%、85%、90%、95%或98%的受试者中所测量的体积量度或炎性标记的最高值。

[0038] 在一些任何此类实施方案中,所述多个对照受试者是在接受一定剂量的所述基因工程化细胞之前的受试者组,其中:所述组的每个对照受试者在血液中展现出比所述治疗范围内的最高峰值CAR+ T细胞高的峰值CAR+ T细胞;所述组的每个对照受试者在接受一定剂量的所述工程化细胞用于治疗相同疾病或病症后,继续发生毒性、任选神经毒性或细胞因子释放综合征 (CRS)、2级或3级或更高级神经毒性或者3级或更高级CRS;所述组的每个对照受试者在给予所述剂量的基因工程化细胞之后,均未发生反应、任选完全反应 (CR) 或部分反应 (PR);和/或所述组的每个对照受试者在给予所述剂量的基因工程化细胞之后,均未发生任选持续为或约或大于或大于约3个月或者持续为或约或大于或大于约6个月的持久

反应。

[0039] 在一些任何此类实施方案中,所述体积量度是SPD,并且所述阈值为或为约 30cm^2 ,为或为约 40cm^2 ,为或为约 50cm^2 ,为或为约 60cm^2 ,或者为或为约 70cm^2 。

[0040] 在一些任何此类实施方案中,所述炎性标记是LDH,并且所述阈值为或为约300单位/升,为或为约400单位/升,为或为约500单位/升,或者为或为约600单位/升。

[0041] 在一些任何此类实施方案中,所述药剂是类固醇。在一些情形下,所述类固醇是皮质类固醇。在一些例子中,所述类固醇是地塞米松或甲基泼尼松龙。在一些任何此类实施方案中,将所述类固醇以一定的量给予,所述量为在或在约 1.0mg 与约 40mg 之间、在或在约 1.0mg 与约 20mg 之间、在或在约 2.0mg 与约 20mg 之间、在或在约 5.0mg 与约 25.0mg 之间、在或在约 10mg 与约 20mg 之间的地塞米松或其等效物,每个都包含端值。

[0042] 在一些任何此类实施方案中,将所述类固醇在等于或大于2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14天或更长时间的时间段内或在由任何前述值限定的范围内以多个剂量给予。在一些任何此类实施方案中,将所述类固醇每天给予一次、每天给予两次或每天给予三次或更多次。在一些任何此类实施方案中,将所述类固醇以一定的量给予,所述量为每天或每24小时在或在约 1.0mg 与约 80mg 之间、在或在约 1.0mg 与约 60mg 之间、在或在约 1.0mg 与约 40mg 之间、在或在约 1.0mg 与约 20mg 之间、在或在约 1.0mg 与约 10mg 之间、在或在约 2.0mg 与约 80mg 之间、在或在约 2.0mg 与约 60mg 之间、在或在约 2.0mg 与约 40mg 之间、在或在约 2.0mg 与约 20mg 之间、在或在约 2.0mg 与约 10mg 之间、在或在约 5.0mg 与约 80mg 之间、在或在约 5.0mg 与约 60mg 之间、在或在约 5.0mg 与约 40mg 之间、在或在约 5.0mg 与约 20mg 之间、在或在约 5.0mg 与约 10mg 之间、在或在约 10mg 与约 80mg 之间、在或在约 10mg 与约 60mg 之间、在或在约 10mg 与约 40mg 之间、在或在约 10mg 与约 20mg 之间的地塞米松或其等效物,每个都包含端值,或为每天或每24小时约 10mg 、 20mg 、 40mg 或 80mg 地塞米松或其等效物。

[0043] 在一些任何此类实施方案中,在开始给予所述基因工程化细胞之前1天、2天、3天、4天、6天、8天、12天、16天、20天、24天、28天或更长时间内,在所述受试者中测量所述体积量度或炎性标记。

[0044] 提供了向受试者给药的方法,所述方法包括向患有疾病或病症的受试者给予一定剂量的包含表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞的基因工程化细胞,其中所述剂量含有的所述基因工程化细胞的数量足以在所述受试者中、或在大多数通过所述方法如此治疗的受试者中、或在大于75%、80%、85%、90%、95%的通过所述方法如此治疗的所述受试者中,实现在确定的治疗范围内的血液中的峰值CAR+细胞,其中所述治疗范围是:(i)基于先前用所述基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3+CAR+ T细胞或其CD8+CAR+ T细胞子集的范围,所述范围与大于或大于约65%、70%、75%、80%、85%、90%的估计反应概率以及小于或约30%、25%、20%、15%、10%、5%的估计毒性概率相关;或(ii)在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的峰值CD3+CAR+ T细胞;或(iii)在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR+ T细胞。

[0045] 在一些任何此类实施方案中,所述剂量的基因工程化细胞含有从或从约 1×10^5 至 5×10^8 个总CAR表达T细胞、 1×10^6 至 2.5×10^8 个总CAR表达T细胞、 5×10^6 至 1×10^8 个总CAR表达T细胞、 1×10^7 至 2.5×10^8 个总CAR表达T细胞、 5×10^7 至 1×10^8 个总CAR表达T细胞,每个都

包含端值。在一些任何此类实施方案中,所述剂量的基因工程化细胞含有至少或至少约 1×10^5 个CAR表达细胞、至少或至少约 2.5×10^5 个CAR表达细胞、至少或至少约 5×10^5 个CAR表达细胞、至少或至少约 1×10^6 个CAR表达细胞、至少或至少约 2.5×10^6 个CAR表达细胞、至少或至少约 5×10^6 个CAR表达细胞、至少或至少约 1×10^7 个CAR表达细胞、至少或至少约 2.5×10^7 个CAR表达细胞、至少或至少约 5×10^7 个CAR表达细胞、至少或至少约 1×10^8 个CAR表达细胞、至少或至少约 2.5×10^8 个CAR表达细胞或者至少或至少约 5×10^8 个CAR表达细胞。

[0046] 提供了向受试者给药的方法,所述方法包括向患有疾病或病症的受试者给予次最佳剂量的包含用嵌合抗原受体(CAR)工程化的T细胞的基因工程化细胞,其中所述剂量含有的所述基因工程化细胞的数量不足以在所述受试者中、或在大多数通过所述方法如此治疗的受试者中、或在大于75%、80%、85%、90%、95%的通过所述方法如此治疗的受试者中,实现在确定的治疗范围内的血液中的峰值CAR+细胞;以及在给予所述基因工程化细胞后,给予药剂以增强所述受试者中的CAR+细胞扩增或增殖从而实现在所述治疗范围内的血液中的峰值CAR+ T细胞,其中所述治疗范围是:(i) 基于先前用所述基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3+CAR+ T细胞或其CD8+CAR+ T细胞子集的范围,所述范围与大于或大于约65%、70%、75%、80%、85%、90%的估计反应概率以及小于或约30%、25%、20%、15%、10%、5%的估计毒性概率相关;或(ii) 在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的峰值CD3+CAR+ T细胞;或(iii) 在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR+ T细胞。

[0047] 在一些任何此类实施方案中,在给予所述剂量的基因工程化细胞后,所述方法包括监测所述受试者血液中的CAR+ T细胞。在一些任何此类实施方案中,在给予所述药剂后,所述方法实现了:与涉及给予相同剂量的基因工程化细胞但不给予所述药剂的方法相比,在所述受试者中在确定的治疗范围内的血液中峰值CAR+细胞的频率增加;或在所述受试者中、或在大多数通过所述方法如此治疗的受试者中、或在大于75%、80%、85%、90%、95%的通过所述方法如此治疗的受试者中,在确定的治疗范围内的血液中的峰值CAR+细胞。

[0048] 在一些任何此类实施方案中,所述剂量的基因工程化细胞是小于或小于约 1×10^7 个CAR表达细胞、小于或小于约 5×10^6 个CAR表达细胞、小于或小于约 2.5×10^6 个CAR表达细胞、小于或小于约 1×10^6 个CAR表达细胞、小于或小于约 5×10^5 个CAR表达细胞、小于或小于约 2.5×10^5 个CAR表达细胞、小于或小于约 1×10^5 个CAR表达细胞。

[0049] 在一些任何此类实施方案中,所述药剂能够增加所述CAR+ T细胞的扩增、任选CAR特异性扩增。在一些情况下,所述药剂是对CAR具有特异性的抗独特型抗体或其抗原结合片段、免疫检查点抑制剂、代谢途径的调节剂、腺苷受体拮抗剂、激酶抑制剂、抗TGF β 抗体或抗TGF β R抗体或细胞因子。

[0050] 在一些任何此类实施方案中,在所治疗的多个受试者中,与不包括给予所述药剂的方法相比,所述方法实现了实现持久反应、任选完全反应(CR)或客观反应(OR)或部分反应(PR)的受试者的百分比的增加,所述持久反应任选在等于或大于3个月或等于或大于6个月内是持久的。在一些例子中,所述增加为大于或大于约1.2倍、1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍或更多。在一些任何此类实施方案中,至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%或至少50%的根据所述方法治疗的受试者实现在等于或大于3个月或等于

或大于6个月内持久的完全反应 (CR) ; 和/或至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%或至少70%的根据所述方法治疗的受试者实现在等于或大于3个月或等于或大于6个月内持久的客观反应 (OR) 。

[0051] 在一些任何此类实施方案中, 大于或大于约50%、大于或大于约60%、大于或大于约70%、或者大于或大于约80%的根据所述方法治疗的受试者不展现3级或更高级细胞因子释放综合征 (CRS) 和/或不展现2级或更高级或3级或更高级神经毒性; 或大于或大于约40%、大于或大于约50%、或者大于或大于约55%的根据所述方法治疗的受试者不展现任何神经毒性或CRS。

[0052] 在一些任何此类实施方案中, 将峰值CAR+ T细胞确定为所述受试者血液中的CAR+ T细胞数量/微升。在一些任何此类实施方案中, 所述治疗范围是其中估计毒性概率小于20%、小于15%、小于10%或小于5%并且实现反应的估计概率大于65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多的范围。

[0053] 在一些任何此类实施方案中, 所述毒性概率基于选自以下各项的毒性: 任何神经毒性或细胞因子释放综合征 (CRS) ; 严重毒性或3级或更高级毒性; 严重CRS或3级或更高级CRS; 或严重神经毒性、2级或更高级神经毒性、或3级或更高级神经毒性。在一些任何此类实施方案中, 所述毒性概率基于严重毒性或3级或更高级毒性的概率。在一些情况下, 所述严重毒性是3-5级神经毒性。

[0054] 在一些任何此类实施方案中, 所述反应概率基于作为完全反应 (CR)、客观反应 (OR) 或部分反应 (PR) 的反应, 任选地其中所述反应是持久的, 任选在等于或至少3个月或者等于或至少6个月内持久的。在一些任何此类实施方案中, 所述反应是骨髓反应, 如基于对所述受试者骨髓中恶性免疫球蛋白重链基因座 (IGH) 和/或指标克隆 (index clone) 的存在的评估所确定的。在一些情况下, 所述恶性IGH和/或指标克隆是通过流式细胞术或IgH测序来评估。

[0055] 提供了评估持久反应的可能性的方法, 所述方法包括在来自受试者的生物样品中检测一种或多种炎性标记的峰值水平和/或包含表达嵌合抗原受体 (CAR) 的T细胞的基因工程化细胞的峰值水平, 其中所述受试者先前已经被给予一定剂量的所述基因工程化细胞以治疗疾病或病症; 以及单独地比较所述峰值水平与阈值, 从而确定受试者将实现对给予所述基因工程化细胞的持久反应的可能性。

[0056] 在一些任何此类实施方案中, 如果所述一种或多种炎性标记的峰值水平低于阈值, 则所述受试者可能实现持久反应, 并且如果所述一种或多种炎性标记的峰值水平高于阈值, 则所述受试者不太可能实现持久反应; 或如果所述基因工程化细胞的峰值水平在下限阈值与上限阈值之间的治疗范围内, 则所述受试者可能实现持久反应, 并且如果所述基因工程化细胞的峰值水平低于所述下限阈值或高于所述上限阈值, 则所述受试者不太可能实现持久反应。

[0057] 在一些任何此类实施方案中, 如果确定所述受试者不太可能实现持久反应, 则还包括选择受试者以用除了所述基因工程化细胞之外的治疗剂或者替代性治疗性治疗来治疗。在一些方面, 如果确定受试者不太可能实现持久反应, 则还包括给予除了基因工程化细胞之外的治疗剂或替代性治疗性治疗。

[0058] 提供了治疗方法, 其包括选择已经接受给予包含表达嵌合抗原受体 (CAR) 的T细胞

的基因工程化细胞的受试者,其中来自所述受试者的样品中的一种或多种炎性标记的峰值水平高于阈值;和/或来自所述受试者的样品中的包含嵌合抗原受体 (CAR) 的T细胞的峰值水平低于下限阈值或高于上限阈值;以及向所述受试者给予除了所述基因工程化细胞之外的治疗剂或替代性治疗性治疗。

[0059] 在一些任何此类实施方案中,所述反应是完全反应 (CR)、客观反应 (OR) 或部分反应 (PR)。在一些情况下,所述反应在等于或大于3个月、4个月、5个月或6个月内是持久的。

[0060] 在一些任何此类实施方案中,在开始给予所述基因工程化细胞后至少8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天或21天的时间评估所述峰值水平和/或从所述受试者获得所述样品。在一些任何此类实施方案中,在开始给予所述基因工程化细胞后在或在约11天至22天、12天至18天或14天至16天之间的时间评估所述峰值水平和/或从所述受试者获得所述样品,所述时间中的每个都包含端值。

[0061] 在一些任何此类实施方案中,所述峰值水平是一种或多种炎性标记的峰值水平,并且所述炎性标记选自C反应蛋白 (CRP)、IL-2、IL-6、IL-10、IL-15、TNF- α 、MIP-1 α 、MIP-1 β 、MCP-1、CXCL10或CCL13。在一些任何此类实施方案中,评估一种或多种炎性标记的峰值水平,并且所述阈值在所述炎性标记的峰值水平的中值或平均值的25%内、20%内、15%内、10%内或5%内和/或在所述炎性标记的峰值水平的中值或平均值的标准差内,如在已经接受所述基因工程化细胞的给予的对照受试者组中所确定的,其中任选在给予所述基因工程化细胞后等于或大于3个月或6个月,所述组的每个受试者未实现持久反应、任选CR和/或PR。在一些情形下,在给予所述基因工程化细胞之后,任选在给予所述基因工程化细胞之后等于或大于3个月或6个月,所述对照受试者展现出稳定疾病 (SD) 或进行性疾病 (PD)。

[0062] 在一些任何此类实施方案中,所述峰值水平是CAR+ T细胞或其CD8+ T细胞子集的峰值水平。在一些任何此类实施方案中,所述下限阈值和上限阈值分别是先前用所述基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3+CAR+ T细胞或其CD8+CAR+ T细胞子集的治疗范围的下限和上限,所述治疗范围与大于或大于约65%、70%、75%、80%、85%、90%的估计反应概率以及小于或约30%、25%、20%、15%、10%、5%的估计毒性概率相关。

[0063] 在一些任何此类实施方案中,所述治疗范围是其中估计毒性概率小于20%、小于15%、小于10%或小于5%并且实现反应的估计概率大于65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多的范围。在一些情况下,所述毒性概率基于选自以下各项的毒性:任何神经毒性或细胞因子释放综合征 (CRS);严重毒性或3级或更高级毒性;严重CRS或3级或更高级CRS;或严重神经毒性、2级或更高级神经毒性、或3级或更高级神经毒性。在一些任何此类实施方案中,所述反应概率基于作为完全反应 (CR)、客观反应 (OR) 或部分反应 (PR) 的反应,任选地其中所述反应是持久的,任选在等于或至少3个月或者等于或至少6个月内持久的。

[0064] 在一些任何此类实施方案中,将峰值CAR+ T细胞确定为所述受试者血液中的CAR+ T细胞数量/微升。在一些任何此类实施方案中,所述上限阈值在或在约300个细胞/微升与1000个细胞/微升之间或400个细胞/微升与600个细胞/微升之间,或者为约300个细胞/微升、400个细胞/微升、500个细胞/微升、600个细胞/微升、700个细胞/微升、800个细胞/微升、900个细胞/微升或1000个细胞/微升;或下限阈值为小于或小于约10个细胞/微升、9个细胞/微升、8个细胞/微升、7个细胞/微升、6个细胞/微升、5个细胞/微升、4个细胞/微升、3

个细胞/微升、2个细胞/微升或1个细胞/微升。

[0065] 在一些任何此类实施方案中,所述样品是血液样品或血浆样品。在一些任何此类实施方案中,所述方法是离体进行的。

[0066] 在一些任何此类实施方案中,基因工程化细胞的峰值水平高于上限阈值,并且所述治疗剂是能够减少CAR+ T细胞扩增或增殖的药剂。在一些任何此类实施方案中,CAR+ T细胞的峰值水平低于下限阈值,并且所述治疗剂是能够减少CAR+ T细胞扩增或增殖的药剂。在一些情况下,所述药剂是类固醇。在一些情况下,所述类固醇是皮质类固醇。在一些例子中,所述类固醇是地塞米松或甲基泼尼松龙。在一些任何此类实施方案中,将所述类固醇以一定的量给予,所述量为在或在约1.0mg与约40mg之间、在或在约1.0mg与约20mg之间、在或在约2.0mg与约20mg之间、在或在约5.0mg与约25.0mg之间、在或在约10mg与约20mg之间的地塞米松或其等效物,每个都包含端值。

[0067] 在一些任何此类实施方案中,将所述类固醇在等于或大于2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14天或更长时间的时间段内或在由任何前述值限定的范围内以多个剂量给予。在一些任何此类实施方案中,将所述类固醇每天给予一次、每天给予两次或每天给予三次或更多次。在一些任何此类实施方案中,将所述类固醇以一定的量给予,所述量为每天或每24小时在或在约1.0mg与约80mg之间、在或在约1.0mg与约60mg之间、在或在约1.0mg与约40mg之间、在或在约1.0mg与约20mg之间、在或在约1.0mg与约10mg之间、在或在约2.0mg与约80mg之间、在或在约2.0mg与约60mg之间、在或在约2.0mg与约40mg之间、在或在约2.0mg与约20mg之间、在或在约2.0mg与约10mg之间、在或在约5.0mg与约80mg之间、在或在约5.0mg与约60mg之间、在或在约5.0mg与约40mg之间、在或在约5.0mg与约20mg之间、在或在约5.0mg与约10mg之间、在或在约10mg与约80mg之间、在或在约10mg与约60mg之间、在或在约10mg与约40mg之间、在或在约10mg与约20mg之间的地塞米松或其等效物,每个都包含端值,或为每天或每24小时约10mg、20mg、40mg或80mg地塞米松或其等效物。

[0068] 在一些任何此类实施方案中,CAR+ T细胞的峰值水平高于所述上限阈值,并且所述治疗剂是能够增加所述CAR+ T细胞的扩增、任选CAR特异性扩增的药剂。

[0069] 在一些任何此类实施方案中,所述药剂是对所述CAR具有特异性的抗独特型抗体或其抗原结合片段、免疫检查点抑制剂、代谢途径的调节剂、腺苷受体拮抗剂、激酶抑制剂、抗TGF β 抗体或抗TGF β R抗体或细胞因子。

[0070] 在一些任何此类实施方案中,所述疾病或病症是癌症。在一些情况下,所述癌症是B细胞恶性肿瘤。在一些例子中,所述癌症选自肉瘤、癌、淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤(NHL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、白血病、CLL、ALL、AML和骨髓瘤。在一些情形下,所述癌症是胰腺癌、膀胱癌、结直肠癌、乳腺癌、前列腺癌、肾癌、肝细胞癌、肺癌、卵巢癌、宫颈癌、胰腺癌、直肠癌、甲状腺癌、子宫癌、胃癌、食道癌、头颈癌、黑色素瘤、神经内分泌癌、CNS癌、脑肿瘤、骨癌或软组织肉瘤。

[0071] 在一些任何此类实施方案中,所述受试者是人。

[0072] 在一些任何此类实施方案中,所述抗原选自 α v β 6整合素(α v β 6整合素)、B细胞成熟抗原(BCMA)、B7-H3、B7-H6、碳酸酐酶9(CA9,也称为CAIX或G250)、癌症-睾丸抗原、癌症/睾丸抗原1B(CTAG,也称为NY-ESO-1和LAGE-2)、癌胚抗原(CEA)、细胞周期蛋白、细胞周期蛋白A2、C-C基序趋化因子配体1(CCL-1)、CD19、CD20、CD22、CD23、CD24、CD30、CD33、CD38、CD44、

CD44v6、CD44v7/8、CD123、CD138、CD171、表皮生长因子蛋白(EGFR)、表皮生长因子受体III型突变体(EGFR vIII)、上皮糖蛋白2(EPG-2)、上皮糖蛋白40(EPG-40)、肝配蛋白B2、肝配蛋白受体A2(EPHa2)、雌激素受体、Fc受体样蛋白5(FCRL5;也称为Fc受体同源物5或FCRH5)、胎儿乙酰胆碱受体(胎儿AChR)、叶酸结合蛋白(FBP)、叶酸受体 α 、神经节苷脂GD2、O-乙酰化GD2(OGD2)、神经节苷脂GD3、糖蛋白100(gp100)、G蛋白偶联受体5D(GPRC5D)、Her2/neu(受体酪氨酸激酶erb-B2)、Her3(erb-B3)、Her4(erb-B4)、erbB二聚体、人高分子量黑色素瘤相关抗原(HMW-MAA)、乙型肝炎表面抗原、人白细胞抗原A1(HLA-A1)、人白细胞抗原A2(HLA-A2)、IL-22受体 α (IL-22Ra)、IL-13受体 α 2(IL-13Ra2)、激酶插入结构域受体(kdr)、 κ 轻链、L1细胞粘附分子(L1-CAM)、L1-CAM的CE7表位、含有富亮氨酸重复序列的蛋白8家族成员A(LRRC8A)、路易斯Y、黑色素瘤相关抗原(MAGE)-A1、MAGE-A3、MAGE-A6、间皮素、c-Met、鼠类巨细胞病毒(CMV)、粘蛋白1(MUC1)、MUC16、自然杀伤细胞2族成员D(NKG2D)配体、黑色素A(MART-1)、神经细胞粘附分子(NCAM)、癌胚胎抗原、黑色素瘤优先表达抗原(PRAME)、孕酮受体、前列腺特异性抗原、前列腺干细胞抗原(PSCA)、前列腺特异性膜抗原(PSMA)、受体酪氨酸激酶样孤儿受体1(ROR1)、存活蛋白、滋养层糖蛋白(TPBG,也称为5T4)、肿瘤相关糖蛋白72(TAG72)、血管内皮生长因子受体(VEGFR)、血管内皮生长因子受体2(VEGFR2)、Wilms肿瘤1(WT-1)、病原体特异性抗原、或与通用标签相关的抗原、和/或生物素化分子、和/或由HIV、HCV、HBV或其他病原体表达分子。

[0073] 在一些任何此类实施方案中,所述CAR特异性地结合至与疾病或病症相关的抗原和/或在与所述疾病或病症相关的细胞中表达的抗原。在一些例子中,所述抗原选自5T4、8H9、avb6整合素、B7-H6、B细胞成熟抗原(BCMA)、CA9、癌症-睾丸抗原、碳酸酐酶9(CAIX)、CCL-1、CD19、CD20、CD22、CEA、乙型肝炎表面抗原、CD23、CD24、CD30、CD33、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD123、CD138、CD171、癌胚抗原(CEA)、CE7、细胞周期蛋白、细胞周期蛋白A2、c-Met、双重抗原、EGFR、上皮糖蛋白2(EPG-2)、上皮糖蛋白40(EPG-40)、EPHa2、肝配蛋白B2、erb-B2、erb-B3、erb-B4、erbB二聚体、EGFR vIII、雌激素受体、胎儿AChR、叶酸受体 α 、叶酸结合蛋白(FBP)、FCRL5、FCRH5、胎儿乙酰胆碱受体、G250/CAIX、GD2、GD3、gp100、Her2/neu(受体酪氨酸激酶erbB2)、HMW-MAA、IL-22R- α 、IL-13受体 α 2(IL-13Ra2)、激酶插入结构域受体(kdr)、 κ 轻链、路易斯Y、L1细胞粘附分子(L1-CAM)、黑色素瘤相关抗原(MAGE)-A1、MAGE-A3、MAGE-A6、MART-1、间皮素、鼠CMV、粘蛋白1(MUC1)、MUC16、NCAM、NKG2D、NKG2D配体、NY-ESO-1、O-乙酰化GD2(OGD2)、癌胚胎抗原、黑色素瘤优先表达抗原(PRAME)、PSCA、孕酮受体、存活蛋白、ROR1、TAG72、VEGF受体、VEGF-R2、Wilms肿瘤1(WT-1)、病原体特异性抗原。

[0074] 在一些任何此类实施方案中,所述嵌合抗原受体(CAR)含有与所述抗原特异性结合的细胞外抗原识别结构域和包含ITAM的细胞内信号传导结构域。在一些情况下,所述细胞内信号传导结构域含有CD3-zeta(CD3 ζ)链的细胞内结构域。在一些任何此类实施方案中,所述嵌合抗原受体(CAR)还含有共刺激信号传导区。在一些方面,所述共刺激信号传导区含有CD28或4-1BB的信号传导结构域。在一些任何此类实施方案中,所述共刺激结构域是4-1BB的结构域。

[0075] 在一些任何此类实施方案中,所述细胞是T细胞。在一些情况下,所述T细胞是CD4⁺或CD8⁺。在一些例子中,所述T细胞是从受试者获得的原代T细胞。在一些任何此类实施方案中,所述基因工程化细胞的细胞对于所述受试者是自体的。在一些任何此类实施方案中,所

述细胞对所述受试者是同种异体的。

[0076] 提供了试剂盒,所述试剂盒包含组合物,所述组合物含有包含表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞的基因工程化细胞;以及根据或基于评估峰值CAR+T细胞是否在治疗范围内的结果向受试者给予一定剂量的所述细胞的说明书,其中所述治疗范围是:(i)基于先前用所述基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3+CAR+ T细胞或其CD8+CAR+ T细胞子集的范围,所述范围与大于或大于约65%的估计反应概率以及小于或约30%的估计毒性概率相关;或(ii)在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的峰值CD3+CAR+ T细胞;或(iii)在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR+ T细胞。在一些任何此类实施方案中,所述说明书详细描述,如果所述基因工程化细胞不在所述治疗范围内,则向所述受试者给予能够在所述受试者中调节、任选增加或减少CAR+ T细胞扩增或增殖的药剂。在一些任何此类实施方案中,所述试剂盒还含有所述药剂。

[0077] 本发明提供了试剂盒,所述试剂盒含有能够在受试者中调节、任选增加或减少包含CAR+ T细胞的基因工程化细胞的扩增或增殖的药剂,以及将所述药剂给予至受试者的说明书,所述受试者已经基于评估峰值CAR+ T细胞是否在治疗范围内的结果而被给予所述基因工程化细胞,其中所述治疗范围是(i)基于先前用所述基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3+CAR+ T细胞或其CD8+CAR+ T细胞子集的范围,所述范围与大于或大于约65%的估计反应概率以及小于或约30%的估计毒性概率相关,或者(ii)在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的峰值CD3+CAR+ T细胞;或(iii)在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR+ T细胞。在一些任何此类实施方案中,所述说明书详细描述,如果所述受试者血液中CAR+ T细胞的峰值数量小于所述治疗范围内峰值CAR+ T细胞的最低数量,则向所述受试者给予能够增加CAR+ T细胞扩增或增殖的药剂。在一些任何此类实施方案中,所述药剂能够进行CAR特异性扩增。

[0078] 在一些任何此类实施方案中,所述药剂是对所述CAR具有特异性的抗独特型抗体或其抗原结合片段、免疫检查点抑制剂、代谢途径的调节剂、腺苷受体拮抗剂、激酶抑制剂、抗TGF β 抗体或抗TGF β R抗体或细胞因子。在一些任何此类实施方案中,如果所述受试者血液中CAR+ T细胞的峰值数量大于所述治疗范围中峰值CAR+ T细胞的最高数量,则向所述受试者给予能够减少CAR+ T细胞扩增或增殖的药剂。

[0079] 提供了试剂盒,所述试剂盒含有能够在受试者中减少包含CAR+ T细胞的基因工程化细胞的扩增或增殖的药剂,以及用于以下的说明书:评估受试者的来自所述受试者的样品中肿瘤负荷的体积量度或炎性标记的水平、量或浓度,并且如果所述水平、量或浓度等于或高于阈值水平,则向所述受试者给予所述药剂,其中所述样品不含有表达嵌合抗原受体(CAR)的基因工程化T细胞和/或是在接受表达CAR的基因工程化T细胞的给予之前从所述受试者获得。在一些任何此类实施方案中,所述体积量度是直径乘积之和(SPD)、最长肿瘤直径(LD)、最长肿瘤直径之和(SLD)、肿瘤体积、坏死体积、坏死-肿瘤比率(NTR)、瘤周水肿(PTE)和水肿-肿瘤比率(ETR)。在一些情况下,所述体积量度是直径乘积之和(SPD)。

[0080] 在一些任何此类实施方案中,所述炎性标记是C反应蛋白(CRP)、红细胞沉降率(ESR)、白蛋白、铁蛋白、 β 2微球蛋白(β 2-M)、乳酸脱氢酶(LDH)、细胞因子或趋化因子。在一

些例子中,所述炎性标记是LDH。

[0081] 在一些任何此类实施方案中,所述药剂是类固醇。在一些情况下,所述类固醇是皮质类固醇。在一些例子中,所述类固醇是地塞米松或甲基泼尼松龙。在一些任何此类实施方案中,所述类固醇被配制用于以一定量给予,所述量为在或在约1.0mg与约40mg之间、在或在约1.0mg与约20mg之间、在或在约2.0mg与约20mg之间、在或在约5.0mg与约25.0mg之间、在或在约10mg与约20mg之间的地塞米松或其等效物,每个都包含端值。

[0082] 在一些任何此类实施方案中,所述CAR特异性地结合至与疾病或病症相关的抗原和/或在与所述疾病或病症相关的细胞中表达的抗原。在一些任何此类实施方案中,所述基因工程化细胞包含T细胞、任选CD4⁺和/或CD8⁺ T细胞。

[0083] 还提供了含有本文所提供的任何试剂盒的制品。

[0084] 在一些方面提供了改善毒性的方法,所述方法涉及向展现出毒性体征或症状的受试者给予用于治疗所述毒性的治疗方案,所述受试者已经被给予一定剂量的含有表达重组受体的T细胞的基因工程化细胞,其中所述治疗方案选自:(a)如果在接受所述剂量的基因工程化细胞后72、96或120小时内,所述受试者展现出发热和/或一种或多种与毒性、任选细胞因子释放综合征(CRS)相关的第一身体体征或症状和/或一种或多种与1级CRS相关的身体体征或症状,则给予(i)能够结合白细胞介素-6受体(IL-6R)的药剂,将所述药剂每24小时给予不多于一次,和(ii)一个或多个剂量的类固醇,将所述类固醇大约每12至24小时给予一次;(b)如果所述受试者在接受一定剂量的所述基因工程化细胞后展现出一种或多种与2级CRS相关的身体体征或症状,则给予(i)能够结合IL-6R的药剂,将所述药剂每24小时给予不多于一次,以及(ii)一个或多个剂量的类固醇,将所述类固醇大约每12至24小时给予一次;(c)如果所述受试者在接受一定剂量的所述基因工程化细胞后展现出一种或多种与3级CRS相关的身体体征或症状,则给予(i)能够结合IL-6R的药剂,将所述药剂每24小时给予不多于一次,以及(ii)一个或多个剂量的类固醇,将所述类固醇每天给予至少两次、任选至少大约每12小时给予一次;或(d)如果所述受试者在接受一定剂量的所述基因工程化细胞后展现出一种或多种与4级CRS相关的身体体征或症状,则给予(i)能够结合IL-6R的药剂,将所述药剂每24小时给予不多于一次,以及(ii)一个或多个剂量的类固醇,将所述类固醇每天给予至少两次、任选至少大约每6小时给予一次。在本文描述的方法的一些任何此类实施方案中,给予多达两个剂量的所述药剂。

[0085] 在一些方面还提供了改善毒性的方法,所述方法涉及向展现出毒性体征或症状的受试者给予用于治疗所述毒性的治疗方案,所述受试者已经被给予一定剂量的包含表达重组受体的T细胞的基因工程化细胞,其中所述治疗方案包括:(a)如果在接受所述剂量的基因工程化细胞后72、96或120小时内,所述受试者展现出发热和/或一种或多种与毒性、任选细胞因子释放综合征(CRS)相关的第一身体体征或症状和/或一种或多种与1级CRS相关的身体体征或症状,则给予(i)能够结合白细胞介素-6受体(IL-6R)的药剂,将所述药剂每24小时给予不多于一次,和(ii)一个或多个剂量的类固醇,将所述类固醇大约每12至24小时给予一次;(b)如果所述受试者在接受一定剂量的所述基因工程化细胞后展现出一种或多种与2级CRS相关的身体体征或症状,则给予(i)能够结合IL-6R的药剂,将所述药剂每24小时给予不多于一次,以及(ii)一个或多个剂量的类固醇,将所述类固醇大约每12至24小时给予一次;(c)如果所述受试者在接受一定剂量的所述基因工程化细胞后展现出一种或多

种与3级CRS相关的身体体征或症状,则给予(i)能够结合IL-6R的药剂,将所述药剂每24小时给予不多于一次,以及(ii)一个或多个剂量的类固醇,将所述类固醇每天给予至少两次、任选至少大约每12小时给予一次;和(d)如果所述受试者在接受一定剂量的所述基因工程化细胞后展现出一种或多种与3级CRS相关的身体体征或症状,则给予(i)能够结合IL-6R的药剂,将所述药剂每24小时给予不多于一次,以及(ii)一个或多个剂量的类固醇,将所述类固醇每天给予至少两次、任选至少大约每6小时给予一次。

[0086] 在其他方面提供了改善毒性的方法,所述方法涉及向展现出毒性体征或症状的受试者给予用于治疗所述毒性的治疗方案,所述受试者已经被给予一定剂量的含有表达重组受体的T细胞的基因工程化细胞,其中所述治疗方案是:如果在给予所述剂量的基因工程化细胞的72、96或120小时内,所述受试者展现出发热和/或一种或多种与毒性、任选细胞因子释放综合征(CRS)相关的第一身体体征或症状和/或一种或多种与1级CRS相关的身体体征或症状,则给予(i)能够结合白细胞介素-6受体(IL-6R)的药剂和(ii)一个或多个剂量的类固醇。在一些任何此类实施方案中,将所述能够结合IL-6R的药剂以一个或多个剂量给予。

[0087] 本文还提供了改善毒性的方法,所述方法包括向展现出一种或多种毒性身体体征或症状的受试者给予能够减轻和/或改善所述一种或多种与所述毒性相关的身体体征或症状的一种或多种药剂,所述受试者已经被给予一定剂量的包含表达重组受体的T细胞的基因工程化细胞,其中将所述一种或多种药剂按如下治疗方案给予,所述治疗方案包括:(a)在如下情况下给予一种或多种药剂:(i)在接受所述剂量的基因工程化细胞的给予后等于或大于72小时,所述受试者展现出发热并展现出一种或多种与所述毒性、任选细胞因子释放综合征(CRS)相关的身体体征或症状和/或展现出与所述毒性相关的所述身体体征或症状的迅速进展;或(ii)在接受所述剂量的基因工程化细胞的给予后48或72小时内,所述受试者展现出发热和/或一种或多种与2级或更高级CRS相关的身体体征或症状;(b)在如下情况下给予一种或多种药剂:在(a)中所述一种或多种药剂的给予后24、48或72小时内,所述受试者没有展现出所述发热和/或所述一种或多种与所述毒性相关的身体体征或症状的改善和/或展现出与所述毒性相关的所述身体体征或症状的快速进展,所述一种或多种药剂任选地不同于在(a)中给予的所述一种或多种药剂和/或是以与(a)中给予的所述一种或多种药剂相同或更高的剂量和/或频率给予;(c)在如下情况下给予一种或多种药剂:在(b)中所述一种或多种药剂的给予后24、48或72小时内,所述受试者没有展现出所述发热和/或所述一种或多种与所述毒性相关的身体体征或症状的改善和/或展现出与所述毒性相关的所述身体体征或症状的快速进展,所述一种或多种药剂任选地不同于在(a)或(b)中给予的所述一种或多种药剂和/或是以与在(a)或(b)中给予的所述一种或多种药剂相同或更高的剂量和/或频率给予;和(d)在如下情况下给予一种或多种药剂:在(c)中所述一种或多种药剂的给予后,所述受试者没有展现出所述发热和/或所述一种或多种与所述毒性相关的身体体征或症状的改善,所述一种或多种药剂任选地不同于在(a)、(b)或(c)中给予的所述一种或多种药剂和/或是以与在(a)、(b)或(c)中给予的所述一种或多种药剂相同或更高的剂量和/或频率给予。

[0088] 在一些任何此类实施方案中,所述一种或多种药剂选自能够结合白细胞介素-6受体(IL-6R)的药剂或一种或多种类固醇、任选一个或多个剂量的所述一种或多种类固醇。

[0089] 本文还提供了改善毒性的方法,所述方法包括向展现出一种或多种毒性身体体征

或症状的受试者给予能够减轻和/或改善所述一种或多种与所述毒性相关的身体体征或症状的一种或多种药剂,所述受试者已经被给予一定剂量的包含表达重组受体的T细胞的基因工程化细胞,其中所述一种或多种药剂是按如下治疗方案给予,所述治疗方案包括:(a)在以下情况下给予一种或多种药剂:(i)在接受所述剂量的基因工程化细胞的给予后等于或大于72小时,所述受试者展现出一种或多种与所述毒性、任选神经毒性(NT)相关的身体体征或症状;或(ii)在接受所述剂量的基因工程化细胞的给予后48或72小时内,所述受试者展现出一种或多种与所述毒性相关的身体体征或症状;(b)在如下情况下给予一种或多种药剂:在(a)中所述一种或多种药剂的给予后24、48或72小时内,所述受试者没有展现出所述一种或多种与所述毒性相关的身体体征或症状的改善和/或展现出与所述毒性相关的所述身体体征或症状的进展,所述一种或多种药剂任选地不同于在(a)中给予的所述一种或多种药剂和/或是以与(a)中给予的所述一种或多种药剂相同或更高的剂量和/或频率给予;和(c)在如下情况下给予一种或多种药剂:在(b)中所述一种或多种药剂的给予后24、48或72小时内,所述受试者没有展现出所述一种或多种与所述毒性相关的身体体征或症状的改善和/或展现出与所述毒性相关的所述身体体征或症状的快速进展,所述一种或多种药剂任选地不同于在(a)或(b)中给予的所述一种或多种药剂和/或是以与在(a)或(b)中给予的所述一种或多种药剂相同或更高的剂量和/或频率给予。在一些任何此类实施方案中,所述一种或多种药剂是一种或多种类固醇、任选一个或多个剂量的所述一种或多种类固醇。

[0090] 在一些任何此类实施方案中,给予多达两个剂量的所述药剂。在一些任何此类实施方案中,将所述能够结合IL-6R的药剂的剂量和类固醇的剂量同时给予,或者将所述类固醇的剂量在所述能够结合IL-6R的药剂的剂量的约1、2、3或4小时内给予。在一些任何此类实施方案中,将所述能够结合IL-6R的药剂每10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24小时或更多小时给予不多于一次。在一些任何此类实施方案中,给予多达两个剂量的所述药剂。

[0091] 在一些任何此类实施方案中,将所述类固醇每6、9、12、15、18、21、24、36或48小时或由任两个前述值限定的范围内给予一次。在一些任何此类实施方案中,所述类固醇是或含有皮质类固醇,所述皮质类固醇任选地是糖皮质激素。在一些任何此类实施方案中,所述类固醇选自可的松、地塞米松、氢化可的松、甲基泼尼松龙、泼尼松龙和泼尼松。在一些任何此类实施方案中,所述类固醇是或含有地塞米松、泼尼松或甲基泼尼松龙。在某些实施方案中,所述类固醇是地塞米松或甲基泼尼松龙。

[0092] 在一些任何此类实施方案中,所述类固醇用于按以下等效剂量量给予:从或从约1.0mg至或至约40mg、从或从约1.0mg至或至约20mg、从或从约2.0mg至或至约20mg、从或从约5.0mg至或至约25.0mg、或从或从约10mg至或至约20mg地塞米松或其等效物,每个都包含端值。在一些任何此类实施方案中,将所述类固醇按以下等效剂量量给予:在或在约0.5mg/kg与约5mg/kg之间,或约1mg/kg、2mg/kg、3mg/kg、4mg/kg或5mg/kg的甲基泼尼松龙或其等效物,每个都包含端值。在一些任何此类实施方案中,给予多个剂量的所述类固醇。在一些任何此类实施方案中,将所述类固醇给予2、3、4、5天或更多天。在其他实施方案中,将所述类固醇按以下等效剂量量给予:每天或每24小时从或从约10mg至约80mg地塞米松或其等效物,或每天或每24小时约10mg、20mg、40mg或80mg地塞米松或其等效物。

[0093] 在一些任何此类实施方案中,将所述类固醇在等于或大于2、3、4、5、6、7、8、9、10、

11、12、13、14天的时间段内或在由任何前述值限定的范围内以多个剂量给予。在一些任何此类实施方案中,将所述类固醇给予2、3、4、5天或更多天。在一些任何此类实施方案中,将所述类固醇每天给予一次、每天给予两次或每天给予三次或更多次。

[0094] 在一些任何此类实施方案中,将所述类固醇按以下等效剂量量给予:每天或每24小时在或在约1.0mg与约80mg之间、在或在约1.0mg与约60mg之间、在或在约1.0mg与约40mg之间、在或在约1.0mg与约20mg之间、在或在约1.0mg与约10mg之间、在或在约2.0mg与约80mg之间、在或在约2.0mg与约60mg之间、在或在约2.0mg与约40mg之间、在或在约2.0mg与约20mg之间、在或在约2.0mg与约10mg之间、在或在约5.0mg与约80mg之间、在或在约5.0mg与约60mg之间、在或在约5.0mg与约40mg之间、在或在约5.0mg与约20mg之间、在或在约5.0mg与约10mg之间、在或在约10mg与约80mg之间、在或在约10mg与约60mg之间、在或在约10mg与约40mg之间、在或在约10mg与约20mg之间的地塞米松或其等效物,每个都包含端值,或每天或每24小时从或从约10mg至约80mg地塞米松或其等效物,或每天或每24小时约10mg、20mg、40mg或80mg地塞米松或其等效物。

[0095] 在一些任何此类实施方案中,所述多个剂量含有以下初始剂量的类固醇:在约1与约3mg/kg之间,如2mg/kg甲基泼尼松龙或其等效物,接着为以下后续剂量:在约1与约5mg/kg之间或约1mg/kg、2mg/kg、3mg/kg、4mg/kg或5mg/kg甲基泼尼松龙或其等效物,在一天内或在24小时内分成1、2、3、4或5次。在一些任何此类实施方案中,高剂量的类固醇是如下剂量量的地塞米松:为或为约10mg、20mg、25mg、30mg、35mg、40mg、45mg、50mg、55mg、60mg、65mg、70mg、75mg或80mg地塞米松或其等效物,或由任何前述值限定的范围,每个都包含端值。

[0096] 在一些任何此类实施方案中,所述类固醇被配制用于静脉内或口服给予。

[0097] 在一些任何此类实施方案中,所述能够结合IL-6R的药剂是重组抗IL-6受体抗体或其抗原结合片段或者含有选自托珠单抗或萨瑞鲁单抗(sarilumab)或其抗原结合片段的药剂。在一些任何此类实施方案中,所述重组抗IL-6R抗体是或含有托珠单抗或其抗原结合片段。在一些任何此类实施方案中,所述抗IL-6R抗体用于按以下剂量量给予:从或从约1mg/kg至20mg/kg、2mg/kg至19mg/kg、4mg/kg至16mg/kg、6mg/kg至14mg/kg、或8mg/kg至12mg/kg,每个都包含端值,或者所述抗IL-6R抗体是按以下剂量量给予:至少或至少约或约1mg/kg、2mg/kg、4mg/kg、6mg/kg、8mg/kg、10mg/kg、12mg/kg、14mg/kg、16mg/kg、18mg/kg、20mg/kg。在一些任何此类实施方案中,所述抗IL-6R抗体被配制用于如下量的单一剂量给予:从或从约30mg至约5000mg、从约50mg至约1000mg、从约50mg至约500mg、从约50mg至约200mg、从约50mg至约100mg、从约100mg至约1000mg、从约100mg至约500mg、从约100mg至约200mg、从约200mg至约1000mg、从约200mg至约500mg、或从约500mg至约1000mg。在一些任何此类实施方案中,所述抗IL-6R抗体被配制用于静脉内给予。

[0098] 在一些任何此类实施方案中,如果在所述剂量的基因工程化细胞的给予的72小时内,所述受试者展现出一种或多种与所述毒性相关的第一身体体征或症状、任选CRS,如果与所述毒性相关的身体体征或症状、任选CRS没有改善,如果与所述毒性相关的身体体征或症状是严重的或侵袭性的和/或如果毒性的等级、任选CRS变得更严重,则所述方法还涉及给予另外剂量、任选高剂量的类固醇。在一些任何此类实施方案中,所述高剂量的类固醇是如下剂量的甲基泼尼松龙或其等效物:初始剂量为约1至约4mg/kg,接着约1至约4mg/kg/

天,每天分成2、3、4、5或6次。

[0099] 在一些任何此类实施方案中,所述方法还涉及在给予所述治疗方案之前向所述受试者给予一定剂量的含有表达重组受体的T细胞的基因工程化细胞以治疗疾病或病症。在一些任何此类实施方案中,所述重组受体是或含有嵌合受体和/或重组抗原受体。在一些任何此类实施方案中,所述重组受体能够与靶抗原结合,所述靶抗原与疾病、障碍或病症的细胞或组织相关,为疾病、障碍或病症的细胞或组织所特有,和/或在疾病、障碍或病症的细胞或组织上表达。在一些任何此类实施方案中,所述疾病、障碍或病症是感染性疾病或障碍、自身免疫性疾病、炎性疾病、或肿瘤或癌症。在一些任何此类实施方案中,所述靶抗原是肿瘤抗原。在某些实施方案中,所述靶抗原选自 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素($\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素)、B细胞成熟抗原(BCMA)、B7-H3、B7-H6、碳酸酐酶9(CA9,也称为CAIX或G250)、癌症-睾丸抗原、癌症/睾丸抗原1B(CTAG,也称为NY-ESO-1和LAGE-2)、癌胚抗原(CEA)、细胞周期蛋白、细胞周期蛋白A2、C-C基序趋化因子配体1(CCL-1)、CD19、CD20、CD22、CD23、CD24、CD30、CD33、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD123、CD138、CD171、表皮生长因子蛋白(EGFR)、表皮生长因子受体III型突变体(EGFR vIII)、上皮糖蛋白2(EPG-2)、上皮糖蛋白40(EPG-40)、肝配蛋白B2、肝配蛋白受体A2(EPha2)、雌激素受体、Fc受体样蛋白5(FCRL5;也称为Fc受体同源物5或FCRH5)、胎儿乙酰胆碱受体(胎儿AChR)、叶酸结合蛋白(FBP)、叶酸受体 α 、神经节苷脂GD2、O-乙酰化GD2(OGD2)、神经节苷脂GD3、糖蛋白100(gp100)、G蛋白偶联受体5D(GPRC5D)、Her2/neu(受体酪氨酸激酶erb-B2)、Her3(erb-B3)、Her4(erb-B4)、erbB二聚体、人高分子量黑色素瘤相关抗原(HMW-MAA)、乙型肝炎表面抗原、人白细胞抗原A1(HLA-A1)、人白细胞抗原A2(HLA-A2)、IL-22受体 α (IL-22Ra)、IL-13受体 $\alpha 2$ (IL-13Ra2)、激酶插入结构域受体(kdr)、 κ 轻链、L1细胞粘附分子(L1-CAM)、L1-CAM的CE7表位、含有富亮氨酸重复序列的蛋白8家族成员A(LRRC8A)、路易斯Y、黑色素瘤相关抗原(MAGE)-A1、MAGE-A3、MAGE-A6、间皮素、c-Met、鼠类巨细胞病毒(CMV)、粘蛋白1(MUC1)、MUC16、自然杀伤细胞2族成员D(NKG2D)配体、黑色素A(MART-1)、神经细胞粘附分子(NCAM)、癌胚胎抗原、黑色素瘤优先表达抗原(PRAME)、孕酮受体、前列腺特异性抗原、前列腺干细胞抗原(PSCA)、前列腺特异性膜抗原(PSMA)、受体酪氨酸激酶样孤儿受体1(ROR1)、存活蛋白、滋养层糖蛋白(TPBG,也称为5T4)、肿瘤相关糖蛋白72(TAG72)、血管内皮生长因子受体(VEGFR)、血管内皮生长因子受体2(VEGFR2)、Wilms肿瘤1(WT-1)、病原体特异性或病原体表达的抗原、或与通用标签相关的抗原、和/或生物素化分子、和/或由HIV、HCV、HBV或其他病原体表达的分子。

[0100] 在一些任何此类实施方案中,所述重组受体是或含有功能性非TCR抗原受体或TCR或其抗原结合片段。在一些任何此类实施方案中,所述重组受体是嵌合抗原受体(CAR)。在一些任何此类实施方案中,所述重组受体含有包含抗原结合结构域的细胞外结构域。在一些任何此类实施方案中,所述抗原结合结构域是或含有抗体或其抗体片段,所述抗体片段任选地是单链片段。在一些任何此类实施方案中,所述片段含有通过柔性接头连接的抗体可变区。在一些任何此类实施方案中,所述片段含有scFv。

[0101] 在一些任何此类实施方案中,所述重组受体含有细胞内信号传导区。在一些任何此类实施方案中,所述细胞内信号传导区含有细胞内信号传导结构域。在一些任何此类实施方案中,所述细胞内信号传导结构域是或含有初级信号传导结构域、能够在T细胞中诱导初级激活信号的信号传导结构域、T细胞受体(TCR)组分的信号传导结构域和/或含有基于

免疫受体酪氨酸的激活基序 (ITAM) 的信号传导结构域。在一些任何此类实施方案中,所述细胞内信号传导结构域是或含有CD3链、任选CD3-zeta (CD3 ζ) 链的细胞内信号传导结构域或其信号传导部分。

[0102] 在一些任何此类实施方案中,所述重组受体还含有设置在所述细胞外结构域与所述细胞内信号传导区之间的跨膜结构域。在一些任何此类实施方案中,所述细胞内信号传导区还含有共刺激信号传导结构域。在一些任何此类实施方案中,所述共刺激信号传导结构域含有T细胞共刺激分子的细胞内信号传导结构域或其信号传导部分。在一些任何此类实施方案中,所述共刺激信号传导结构域含有CD28、4-1BB或ICOS的细胞内信号传导结构域或其信号传导部分。在一些任何此类实施方案中,所述共刺激信号传导结构域位于所述跨膜结构域与所述细胞内信号传导结构域之间。

[0103] 在一些任何此类实施方案中,所述细胞是T细胞。在一些任何此类实施方案中,所述T细胞是CD4⁺或CD8⁺。在一些任何此类实施方案中,所述T细胞是从受试者获得的原代T细胞。在一些任何此类实施方案中,所述基因工程化细胞的细胞对于所述受试者是自体的。在一些任何此类实施方案中,所述细胞对所述受试者是同种异体的。

[0104] 还提供了治疗方法,所述方法包括:(a) 向患有疾病或病症的受试者给予一定剂量的包含表达嵌合抗原受体 (CAR) 的T细胞的基因工程化细胞以治疗所述疾病或病症;(b) 在给予所述剂量的基因工程化细胞后,监测所述受试者的血液中的CAR⁺ T细胞以评估所述细胞是否在治疗范围内,以及(c) 如果所述基因工程化细胞不在所述治疗范围内,则向所述受试者给予能够调节、任选增加或减少所述受试者中的CAR⁺ T细胞扩增或增殖的药剂,其中所述治疗范围是:(i) 在给予所述基因工程化细胞后血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的峰值CD3+CAR⁺ T细胞;或(ii) 在给予所述基因工程化细胞后血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR⁺ T细胞。

[0105] 还提供了治疗方法,所述方法包括:(a) 监测受试者的血液中包含表达嵌合抗原受体 (CAR) 的T细胞的基因工程化细胞的存在,以评估所述细胞是否在治疗范围内,其中所述受试者先前已经被给予一定剂量的所述基因工程化细胞以治疗疾病或病症;以及(b) 如果所述基因工程化细胞不在所述治疗范围内,则向所述受试者给予能够调节、任选增加或减少所述受试者中的CAR⁺ T细胞扩增或增殖的药剂,其中所述治疗范围是:(i) 在给予所述基因工程化细胞后血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的峰值CD3+CAR⁺ T细胞;或(ii) 在给予所述基因工程化细胞后血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR⁺ T细胞。

[0106] 在一些任何此类实施方案中,如果所述受试者血液中CAR⁺ T细胞的峰值数量小于所述治疗范围内的峰值CAR⁺ T细胞的最低数量,则向所述受试者给予能够增加CAR⁺ T细胞扩增或增殖的药剂。在一些任何此类实施方案中,所述药剂能够增加所述CAR特异性扩增。

[0107] 在一些任何此类实施方案中,所述药剂是对所述CAR具有特异性的抗独特型抗体或其抗原结合片段、免疫检查点抑制剂、代谢途径的调节剂、腺苷受体拮抗剂、激酶抑制剂、抗TGF β 抗体或抗TGF β R抗体或细胞因子。

[0108] 在一些任何此类实施方案中,如果所述受试者血液中CAR⁺ T细胞的峰值数量大于所述治疗范围内的峰值CAR⁺ T细胞的最高数量,则向所述受试者给予能够减少CAR⁺ T细胞扩增或增殖的药剂。

[0109] 本文提供了治疗方法,所述治疗方法包括:(a)向患有疾病或病症的受试者给予一定剂量的包含表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞的基因工程化细胞以治疗所述疾病或病症;(b)在给予所述剂量的基因工程化细胞后,监测所述受试者的血液中的CAR⁺ T细胞,和(c)在如下情况下向所述受试者给予能够减少所述受试者中的CAR⁺ T细胞扩增或增殖的药剂:(i)在给予所述基因工程化细胞后,血液中CD3+CAR⁺ T细胞的量大于或大于约500个细胞/微升;或(ii)在给予所述基因工程化细胞后,血液中CD8+CAR⁺ T细胞的量大于或大于约200个细胞/微升。

[0110] 本文还提供了治疗方法,所述方法包括:(a)监测受试者的血液中包含表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞的基因工程化细胞的存在,其中所述受试者先前已经被给予一定剂量的所述基因工程化细胞以治疗疾病或病症;以及(b)在如下情况下向所述受试者给予能够减少所述受试者中的CAR⁺ T细胞扩增或增殖的药剂:(i)在给予所述基因工程化细胞后,血液中CD3+CAR⁺ T细胞的量大于或大于约500个细胞/微升;或(ii)在给予所述基因工程化细胞后,血液中CD8+CAR⁺ T细胞的量大于或大于约200个细胞/微升。

[0111] 在一些任何此类实施方案中,所述药剂是一种或多种类固醇。在一些任何此类实施方案中,所述类固醇是地塞米松或甲基泼尼松龙。

[0112] 在一些任何此类实施方案中,将所述类固醇以一定的量给予,所述量为在或在约1.0mg与或与约40mg之间、在或在约1.0mg与或与约20mg之间、在或在约2.0mg与或与约20mg之间、在或在约5.0mg与或与约25.0mg之间、在或在约10mg与或与约20mg之间的地塞米松或其等效物,每个都包含端值。在一些任何此类实施方案中,将所述类固醇在等于或大于2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14天或更长的时间段内或在由任何前述值限定的范围内以多个剂量给予。在一些任何此类实施方案中,将所述类固醇每天给予一次、每天给予两次或每天给予三次或更多次。

[0113] 在一些任何此类实施方案中,将所述类固醇以一定的量给予,所述量为每天或每24小时在或在约1.0mg与或与约80mg之间、在或在约1.0mg与或与约60mg之间、在或在约1.0mg与或与约40mg之间、在或在约1.0mg与或与约20mg之间、在或在约1.0mg与或与约10mg之间、在或在约2.0mg与或与约80mg之间、在或在约2.0mg与或与约60mg之间、在或在约2.0mg与或与约40mg之间、在或在约2.0mg与或与约20mg之间、在或在约2.0mg与或与约10mg之间、在或在约5.0mg与或与约80mg之间、在或在约5.0mg与或与约60mg之间、在或在约5.0mg与或与约40mg之间、在或在约5.0mg与或与约20mg之间、在或在约5.0mg与或与约10mg之间、在或在约10mg与或与约80mg之间、在或在约10mg与或与约60mg之间、在或在约10mg与或与约40mg之间、在或在约10mg与或与约20mg之间的地塞米松或其等效物,每个都包含端值,或为每天或每24小时约10mg、20mg、40mg或80mg地塞米松或其等效物。

[0114] 在一些任何此类实施方案中,在开始给予所述基因工程化细胞后至少8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天或21天的时间;或在开始给予所述基因工程化细胞后在或在约11至22天、12至18天或14至16天之间的时间,每个都包含端值,监测所述受试者的血液中的CAR⁺ T细胞。

[0115] 在一些任何此类实施方案中,将所述药剂在如下时间给予:开始给予所述基因工程化细胞后大于或大于约8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天或21天的时间;或在开始给予所述基因工程化细胞后在或在约11至或至约22天、12

至18天或14至16天之间的时间,每个都包含端值。

附图说明

[0116] 图1显示基于血液中CD4⁺/截短受体+或CD8⁺/截短受体+CAR-T细胞数量构建的反应的估计概率曲线和发生3-5级神经毒性的估计概率。

[0117] 图2A显示对于依据最佳总体反应分组的受试者,在输注后的某些时间点测量的外周血中CD3⁺/CAR⁺ T细胞的数量。

[0118] 图2B-图2D显示对于依据在3个月时的持续反应分组、实现反应的受试者,在输注后的某些时间点测量的外周血中的CD3⁺/CAR⁺ T细胞、CD4⁺/CAR⁺ T细胞和CD8⁺/CAR⁺ T细胞水平。

[0119] 图3显示经历过实验室异常和在≥20%受试者中发生的治疗紧急不良事件 (TEAE) 的受试者的百分比。*:一次多器官衰竭的5级AE,与研究治疗无关,并且是由于淋巴瘤进展所致;†:一次弥漫性肺泡损伤的5级AE,研究者评估为与氟达拉滨、环磷酰胺和CAR T细胞疗法有关,在第23天发生于如下受试者中,所述受试者拒绝针对进行性呼吸衰竭进行机械通气,同时患嗜中性粒细胞减少症,使用生长因子以及广谱抗生素和抗真菌药。

[0120] 图4是描绘所观察到的至CRS和神经毒性发作的时间的Kaplan Meier曲线。

[0121] 图5A和图5B描绘受试者的完整(图5A)和核心(图5B)群组中被治疗受试者的亚组之间的三个月总体反应率(M3 ORR)。

[0122] 图6A和图6B显示受试者的完整(图6A)和核心(图6B)群组的反应(CR/PR、CR或PR)持续时间和总存活期。

[0123] 图7A显示在不同剂量水平下,在治疗后的不同时间点,外周血中CAR⁺ T细胞的药代动力学。图7B显示第3个月时在反应者(CR+PR)与无反应者(PD)之间在治疗后的不同时间点处外周血中CAR⁺ T细胞的药代动力学。图7C显示在发生或未发生任何神经毒性的受试者中在治疗后的不同时间点处外周血中CAR⁺ T细胞的药代动力学。

[0124] 图8显示在给予CAR⁺ T细胞之前在受试者血清中测量的分析物水平以及与神经毒性发生的关联。

[0125] 图9显示这样的图,其标绘了无进展时间(月)并指示最佳总体反应和反应持久性,以及在使用含有表达CAR-T的CD4⁺和CD8⁺ T细胞的抗CD19细胞疗法治的NHL受试者的完整群组和核心群组内在单独受试者中随时间观察到的单独临床结果。^a:患者在第1个月时达到BOR,除非另有说明;^b:在2名患者中观察到由淋巴瘤引起的CNS受累的完全消退;^c:一名患者在疾病进展时进行活检后再扩增。

[0126] 图10A描绘表达CAR的CD3⁺细胞/μL血液的中值(±四分位数)数,通过流式细胞术使用对截短受体具有特异性的抗体来评估(CD3,圆形;N=87);整合CAR转基因/μg基因组DNA的中值(±四分位数)数,在来自87名已经给予表达抗CD19 CAR的细胞的受试者的血液样品中通过定量聚合酶链式反应(qPCR)使用对编码CAR的载体中存在的土拨鼠肝炎病毒转录后调节元件(WPRE)具有特异性的引物来评估(qPCR,正方形;N=85)。将流式细胞术中CAR⁺细胞检测的截止值设为CAR⁺门中≥25个事件,并且qPCR的检测限为≥12.5个CAR转基因拷贝/μg基因组DNA。图10B描绘在第11±3天,在来自已经给予表达抗CD19 CAR的细胞的67名受试者的血液和骨髓样品中,表达CAR的CD4⁺和CD8⁺细胞的相对数量/μL。线条代表统一线,

不是回归线。

[0127] 图11A和图11B描绘第0天与第28天之间的中值(±四分位数)曲线下面积(AUC₀₋₂₈;图11A),以及患有从头或从惰性淋巴瘤转化的弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL NOS型;N=27)、转化的滤泡性淋巴瘤(tFL;N=10)、从边缘区淋巴瘤或慢性淋巴细胞白血病转化的DLBCL(tMZL/tCLL;N=4)或套细胞淋巴瘤(MCL;N=5),已经接受DL1下的CAR表达T细胞的受试者亚组中的CD4⁺和CD8⁺CAR⁺细胞的最大血清浓度(C_{max};CAR⁺细胞/μL血液;图11B)。

[0128] 图12A和图12B描绘在第0天与第28天之间的中值(±四分位数)曲线下面积(AUC₀₋₂₈;图12A),以及已经接受DL1或DL2下的CAR⁺细胞的受试者中CD3⁺、CD4⁺和CD8⁺CAR⁺细胞的最大血清浓度(C_{max};CAR⁺细胞/μL血液;图12B)。

[0129] 图13A-图13D描绘在与尚未发生CRS(无CRS)的受试者相比发生细胞因子释放综合征(任何CRS)的受试者中(CD4⁺:图13A;CD8⁺:图13B)或在与尚未发生NT(无NT)的受试者相比发生神经毒性(任何NT)的受试者中(CD4⁺:图13C;CD8⁺:图13D),随时间变化的CAR表达CD4⁺和CD8⁺CAR⁺细胞/μL血液的中值(±四分位数)数量。

[0130] 图14A和图14B描绘在依照具有CR、PR或PD的最佳总体反应(BOR)或CR、PR或PD的3个月(M3)持久反应的受试者分组的受试者中,峰值CD3⁺CAR⁺细胞/μL(CD3+C_{max})的数量。

[0131] 图15A描绘在来自展现高CAR⁺细胞扩增(CD3+C_{max}>500)的受试者和展现低CAR⁺细胞扩增(CD3+C_{max}<500)的受试者的血清样品中的淋巴细胞清除前血液分析物水平。图15B描绘在来自展现高CAR⁺细胞扩增(CD3+C_{max}>500)的受试者和展现低CAR⁺细胞扩增(CD3+C_{max}<500)的受试者的血清样品中的峰值血液分析物水平。

[0132] 图16描绘标绘图,其描绘对于给予CAR⁺细胞的DL1或DL2的单独受试者,针对CD3⁺CAR⁺细胞的AUC₀₋₂₈(细胞*天/μL)的淋巴细胞清除前总和(SPD;cm²)。

[0133] 图17A和图17B描绘在与尚未发生CRS(CRS 0级)的受试者相比发生细胞因子释放综合征(CRS 1-4级)的受试者中(图17A)或在与尚未发生NT(NT 0级)的受试者相比发生神经毒性(NT 1-4级)的受试者中(图17B)的血清样品中的淋巴细胞清除前血液分析物水平。单位为:铁蛋白和D-二聚体(μg/L);CRP(mg/L)和细胞因子(pg/mL)。

[0134] 图18描绘在与尚未发生CRS(无CRS)的受试者相比发生细胞因子释放综合征(任何CRS)的受试者中或在与尚未发生NT(无NT)的受试者相比发生神经毒性(任何NT)的受试者中,对淋巴细胞清除前患者参数的评估:指示肿瘤负荷的尺寸乘积之和(SPD;cm²)和乳酸脱氢酶(LDH;U/L)水平。

[0135] 图19A是标绘图,其描绘在已发生神经毒性的个体(1-4级NT)或未发生NT的受试者(0级NT)中(左图),以及在已发生CRS的个体(1-4级CRS)或未发生CRS的受试者(0级CRS)中(右图),针对淋巴细胞清除前LDH(U/L)水平的淋巴细胞清除前SPD(cm²)。虚线表示与CRS或NT的较高比率相关的SPD(50cm²或更高)或LDH(500U/L或更高)的水平。图19B描绘基于SPD(50cm²或更高)或LDH(500U/L或更高)的水平,发生CRS或NT的优势比估计值,置信区间(CI)为95%。图19C描绘基于SPD或LDH的水平,发生CRS或NT的优势比估计值,包括针对低于阈值的值的优势比估计值,置信区间(CI)为95%。

[0136] 图20描绘对于在3个月时具有持久反应的受试者与在3个月时没有反应的受试者,淋巴细胞清除前肿瘤负荷参数(SPD)和血液分析物水平。单位为:铁蛋白和D-二聚体(μg/L);CRP和SAA-1(mg/L)和细胞因子(pg/mL)。

[0137] 图21A和图21B描绘在与尚未发生CRS (无CRS) 的受试者相比发生细胞因子释放综合征 (任何CRS) 的受试者中 (图21A) 或在与尚未发生NT (无NT) 的受试者相比发生神经毒性 (任何NT) 的受试者中 (图21B) 的血清样品中的峰值血液分析物水平。单位为:CRP (mg/L), SAA-1 (mg/L) 和细胞因子 (pg/mL)。

[0138] 图22A描绘与具有稳定疾病 (SD) 或进行性疾病 (PD) 的受试者 (N=17) 的水平相比, 来自具有完全反应 (CR) 或部分反应 (PR) 的最佳总体反应 (BOR) 的受试者 (N=57) 的血清样品中的峰值血液分析物水平。图22B描绘与具有3个月反应CR/PR的受试者 (N=35) 相比, 来自具有SD/PD的3个月反应的受试者 (N=31) 的血清样品中的峰值血液分析物水平。单位为:CRP (mg/L), SAA-1 (mg/L) 和细胞因子 (pg/mL)。

[0139] 图23A-图23C描绘基于CD3+ (图23A)、CD4+ (图23B) 或CD8+ (图23C) CAR表达细胞的最大血清浓度 (C_{max} ; 细胞/ μ L血液), 反应、毒性和持久反应结构的估计概率曲线。总体反应率 (ORR; 包括具有完全反应 (CR) 和部分反应 (PR) 的受试者)、3个月反应 (M3反应; 包括给予后第3个月的CR和PR)、任何NT、任何CRS、3-4级NT、3-5级NT或2-5级CRS的估计概率曲线。

[0140] 图24描绘在所治疗受试者的亚组之间的第3个月的客观反应率 (ORR), 置信区间为95%。

[0141] 图25A和图25B描绘完整群组 (图25A) 和核心群组 (图25B) 的反应持续时间 (DOR), 并且图25C和图25D描绘对于实现CR、PR的受试者、显示反应的所有受试者、无反应者和所有被治疗的受试者, 完整群组 (图25C) 和核心群组 (图25D) 的总存活期。对于反应持续时间, 中值F/U是6.3个月。

[0142] 图26显示完整DLBCL群组中经历在 $\geq 20\%$ 的患者中发生的治疗紧急不良事件 (TEAE) 的受试者的百分比。不包括用合规产品以DL1治疗且随访至少28天的5名患有MCL的患者的数据。^b: 一次与CAR+ T细胞给予无关的脓毒性休克的5级AE。^c: 一次弥漫性肺泡损伤的5级AE, 研究者评估为与氟达拉滨、环磷酰胺和CAR+ T细胞相关, 在第23天发生于一名患者中, 所述患者拒绝针对进行性呼吸衰竭进行机械通气, 同时患嗜中性粒细胞减少症, 使用生长因子及广谱抗生素和抗真菌药。^d: 实验室异常。

[0143] 图27显示在完整群组中, 随时间的发生CRS或神经毒性的受试者的百分比。

[0144] 图28显示在实施例6中描述的研究时间点, 完整DLBCL群组中经历在 $\geq 20\%$ 的受试者中发生的治疗紧急不良事件 (TEAE) 的受试者的百分比。不包括用合规产品以DL1治疗且随访至少28天的6名患有MCL的受试者的数据。^b: 一次与CAR+ T细胞给予无关的脓毒性休克的5级AE, 发生在疾病进展的环境下。^c: 一次弥漫性肺泡损伤的5级AE, 研究者评估为与氟达拉滨、环磷酰胺和CAR+ T细胞相关, 在第23天发生于一名患者中, 所述患者拒绝针对进行性呼吸衰竭进行机械通气, 同时患嗜中性粒细胞减少症, 使用生长因子及广谱抗生素和抗真菌药。^d: 实验室异常。

[0145] 图29描绘在所治疗受试者的亚组之间的六 (6) 个月客观反应率 (ORR), 置信区间为95%。^a包括核心群组中以所有剂量水平治疗的所有DLBCL受试者。

[0146] 图30A和图30B描绘完整群组 (图30A) 和核心群组 (图30B) 的反应持续时间 (DOR), 并且图30C和图30D描绘对于实现CR、PR的受试者、显示反应的所有受试者、无反应者和所有被治疗的受试者, 完整群组 (图30C) 和核心群组 (图30D) 的总存活期。NE, 无法估计。

[0147] 图31显示在已经被给予两个剂量的自体工程化CAR+ T细胞的受试者中在给予第

二剂量之后的不同时间点处,CAR+ T细胞浓度(细胞/ μ L;左轴)和地塞米松给予的每日剂量(每日静脉内剂量,mg;右轴)。

具体实施方式

[0148] I. 确定治疗剂量范围的方法

[0149] 本文所提供的实施方案包括涉及和关于将细胞疗法(例如包括工程化细胞的那些)给予至患有或被怀疑患有疾病或病症(如由所述疗法的细胞特异性识别的那些和/或由所述细胞特异性结合或识别的那些)的受试者的方法、用途、组合物和制品。在一些方面,所提供的实施方案涉及向受试者给药,例如,向受试者给予特定剂量的细胞疗法,例如给予在或怀疑在治疗剂量范围和/或窗口内的剂量,所述治疗剂量范围和/或窗口通常是在受试者的样品、体液、组织、器官或位置中实现或可能实现工程化细胞的所需水平的范围和/或窗口。还提供了改善和/或治疗毒性的方法。还提供了调节用于细胞疗法的工程化细胞的活性的方法。在一些方面,还提供了评估反应(如持久反应)的可能性的方法。在一些方面,还提供了与所提供的方法有关的相关用途以及试剂盒和制品。

[0150] 过继细胞疗法(包括涉及给予表达目的疾病或障碍所特有的重组和/或嵌合受体的细胞的那些(所述嵌合受体是如嵌合抗原受体(CAR)和/或其他重组抗原受体),以及其他过继免疫细胞疗法和过继T细胞疗法)可以有效治疗癌症和其他疾病和障碍。在某些背景下,过继细胞疗法的可行途径可能并不总是完全令人满意。在一些背景下,对疗法的最佳反应可取决于所给予的细胞的以下能力:识别并结合至靶标(例如靶抗原),运输、定位至并成功进入受试者、肿瘤和其环境内的适当部位,被激活,扩增,发挥各种效应子功能(包括细胞毒性杀伤和分泌各种因子(如细胞因子)),持续(包括长期)存在,分化、转变或参与重编程为某些表型状态(如效应子、长期记忆、较低分化和效应子状态),在清除和再暴露于靶配体或抗原后提供有效且稳健的回忆反应,并避免或减少消耗、无反应性、终末分化和/或分化为抑制状态。

[0151] 在一些方面,过继细胞疗法的治疗效果可受到被给予此类细胞的受试者体内毒性发生的限制,在一些情况下,在所给予细胞的某些剂量或暴露下,所述毒性可能是严重的。在一些情况下,虽然较高剂量的此类细胞可以增加治疗效果(例如,通过增加对细胞的暴露,例如通过促进扩增和/或持久性),但是它们也可能导致甚至更高的发生毒性或更严重毒性的风险。在一些方面,一些给予的细胞可以含有迅速扩增或增殖的细胞,这也可能促成发生毒性或更严重毒性的风险。而且,在一些情况下,具有较高疾病负荷的受试者也可能具有更高的发生毒性或更严重毒性的风险。某些可以用于向受试者给予细胞疗法的方法可能并不总是完全令人满意。增加细胞的剂量或促进所给予细胞在受试者中的扩增或增殖可能与较高反应率相关,但也可能与毒性发生的增加有关。

[0152] 所提供的方法提供在确定细胞疗法的剂量方面优于可用途的优点。所提供的方法允许向受试者给予在或怀疑在治疗剂量范围和/或窗口内的剂量,所述治疗剂量范围和/或窗口通常是实现或可能实现工程化细胞在受试者中的所需水平的范围和/或窗口。所提供的方法允许细胞的给药,其可以实现或可以关联于治疗结果(例如有利的结果或反应和/或持久反应或结果)的高或指定所需程度的可能性,并且还可以关联于在向受试者给予细胞疗法后发生毒性结果或毒性的风险的相对低或最小化或所需程度的可能性。

[0153] 所提供的方法还通过以下方式提供优于可用途径的优点：如果确定受试者不太可能实现反应和/或持久反应，则允许调节、修改和/或改变细胞疗法中的细胞的活性、功能、增殖和/或扩增，从而在不显著增加毒性风险的情况下优化反应。在一些实施方案中，可以使用药代动力学参数、患者属性、肿瘤负荷和/或生物标记（例如炎性标记）的表达来确定反应的可能性和/或调节、修改或改变疗法的任何需要，以在不显著增加毒性风险的情况下实现更强的反应或更持久反应。

[0154] 还提供了治疗和/或改善可能与给予细胞疗法有关的毒性的方法。在一些方面，方法包括给予治疗方案以治疗和/或改善毒性。所提供的方法提供了如下优点：允许系统地管理可能与免疫疗法和/或过继细胞疗法相关的毒性。

[0155] 在一些实施方案中，治疗剂量范围和/或窗口实现或可能实现工程化细胞（例如 CAR T 细胞）的所需水平，所述所需水平在一些方面是峰值水平，峰值水平通常是指在治疗后或在治疗后的一定时间段内，在相关样品、体液、组织、器官或其他位置中观察或测量的细胞的最大数量、浓度或百分比。在一些方面，所述水平可以在给定时间或在一定时间段内，细胞的数量、浓度或百分比（例如每重量或体积或面积或总细胞数量的细胞数量）或受试者或组织或器官或体液或位置对细胞的暴露。在一些方面，所述水平是在治疗或给予细胞或其开始后的给定时间段期间，关于相关细胞在组织或样品或体液或器官或其他位置中的数量或百分比或其他读出的标绘图的曲线下面积（AUC）。

[0156] 在一些例子中，所述水平表示为血液中的 CAR+ 细胞浓度（例如，CAR+ 细胞/微升（ μ l））、一定时间段内的 CAR+ 细胞/体积（例如，CAR+ 细胞/微升）曲线的 AUC、治疗后血液中的最大或峰值 CAR+ 细胞/体积（例如，CAR+ 细胞/微升）、或在治疗或其开始后第 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20 或 21 天或第 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11 或 12 周或更晚时血液中的 CAR+ 细胞/微升。在一些实施方案中，所需水平在确定的治疗范围内，或者是在确定的治疗范围内的水平。在一些例子中，水平表示为每单位质量的 DNA 中编码 CAR 的核酸序列（例如，转基因序列）或与 CAR 编码序列可操作连接的核酸序列的拷贝（例如，拷贝/ μ g DNA）；随时间变化的拷贝/ μ g DNA 曲线的 AUC，治疗后的最大或峰值拷贝/ μ g DNA，或在治疗或其开始后第 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20 或 21 天，或第 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11 或 12 周或更长时间的拷贝/ μ g DNA。在一些实施方案中，所需水平在确定的治疗范围内，或者是在确定的治疗范围内的水平。

[0157] 在一些实施方案中，治疗范围是与治疗结果（例如有利的结果或反应和/或持久反应或结果）的高或指定所需程度的可能性相关、并且还向受试者给予细胞疗法（例如工程化细胞）后发生毒性结果或毒性的风险的相对低或最小化或所需程度的可能性相关的治疗范围和/或窗口。在一些方面，毒性或毒性结果是细胞因子释放综合征（CRS）或神经毒性（NT）。在一些方面，毒性或毒性结果是任何 CRS 或 1 级或更高级 CRS，或者任何神经毒性或 1 级或更高级神经毒性。在一些方面，毒性或毒性结果是严重 CRS 或 3 级或更高级 CRS，或者严重神经毒性或 3 级或更高级神经毒性。在一些情况下，毒性风险与疾病负荷、细胞剂量、细胞扩增和细胞的药代动力学（PK）（例如细胞暴露或峰值细胞浓度）相关。然而，在使反应最大化的同时，在一些情况下，需要较高或较大细胞剂量、细胞暴露或细胞峰值浓度。然而，在一些方面，本文发现，持久反应（例如在开始治疗一段时间后持续的反应）的概率可随着较高或较大细胞剂量、细胞暴露或细胞峰值浓度而增加，直至某一剂量、暴露或浓度；然后可减小。

本文发现,根据从用CAR+ T细胞治疗的受试者群体发生的毒性(例如CRS或神经毒性、严重CRS或严重神经毒性)和反应(例如骨髓反应)和/或持久反应的概率曲线,在曲线之间存在治疗范围和/或窗口,例如最宽范围,在所述范围内可以确定一个剂量以使反应或持久反应的估计概率最大化并使毒性的估计风险最小化。在一些实施方案中,此类概率曲线可以用于选择或确定给予至受试者的细胞剂量的方法中。在一些实施方案中,此类概率曲线可以用于修改细胞剂量和/或调节细胞的扩增和/或活性的方法中,例如通过给予影响细胞扩增、活性和/或功能的药剂和/或干预。

[0158] 在一些实施方案中,所提供的方法包括向受试者给予一定剂量的用嵌合抗原受体(CAR)工程化的细胞,其中所述剂量足以实现在确定的治疗范围内的峰值CAR+细胞/ μ l和/或在确定的治疗范围内的暴露(例如,AUC),其中所述治疗范围是基于反应结果(例如骨髓反应)和/或持久反应(例如,在3个月时的反应)的估计概率以及毒性结果(例如3-5级神经毒性)的估计概率来确定。

[0159] 在一些实施方案中,估计概率是从基于来自受试者群体(例如至少10、25、50、100、150、300、400、500个或更多个受试者)的效果或结果产生的概率曲线确定的。在一些实施方案中,所述受试者群体是患病受试者,例如患有疾病或病症(例如肿瘤或癌症)的受试者。在一些实施方案中,受试者群体是或包括如下受试者:可能是或是候选者,或者其正在或已经接受用于治疗疾病或病症的基因工程化细胞(例如,CAR-T细胞)的治疗。在一些实施方案中,受试者患有肉瘤、癌或淋巴瘤,任选非霍奇金淋巴瘤(NHL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、白血病、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、急性成淋巴细胞性白血病(ALL)、急性髓性白血病(AML)和骨髓瘤。在一些实施方案中,受试者患有CLL。在一些实施方案中,第一概率曲线是针对毒性结果(例如,CRS或神经毒性,例如3-5级神经毒性)的风险产生,并且第二概率曲线是针对反应结果(例如骨髓反应)产生。在一些实施方案中,第一概率曲线是针对毒性结果(例如,CRS或神经毒性,例如3-5级神经毒性)的风险产生,并且第二概率曲线是针对持久反应结果产生。在一些实施方案中,概率曲线被转换或提供为S形曲线(Sigmoidal curve)。

[0160] 在一些实施方案中,毒性(例如CRS或神经毒性,例如3-5级CRS或神经毒性)的估计概率和/或反应(例如骨髓反应)或持久反应(例如,3个月时的反应)的估计概率与生物样品中(例如在血液中)的峰值CAR+细胞浓度(细胞/ μ l)相关。在一些实施方案中,CAR+细胞是或包含T细胞,例如是或包含CD3+ T细胞。在一些实施方案中,T细胞是CD4+或CD8+ T细胞。在一些实施方案中,所给予的组合物包含CD4+和CD8+CAR+ T细胞,并且针对CD4+细胞和针对CD8+细胞和/或针对CD3+细胞单独产生概率曲线。

[0161] 在一些实施方案中,所提供的方法包括向受试者给药的方法,其包括向受试者给予一定剂量的用重组受体(例如抗原受体,例如嵌合抗原受体(CAR))工程化的细胞,其中所述剂量足以实现在确定的治疗范围内的峰值CAR+细胞/ μ l,其中所述治疗范围是基于反应结果(例如骨髓反应)和/或持久反应(例如,在3个月时的反应)的估计概率和毒性结果(例如CRS或神经毒性,例如3-5级神经毒性)的估计概率来确定。在一些实施方案中,在毒性概率曲线上,引起毒性的估计概率小于35%、小于30%、小于25%、小于20%、小于15%、小于10%或小于5%。在一些实施方案中,实现反应的估计概率为大于65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高。在一些实施方案中,实现持久反应(例如在3个月的反应)的估计概

率为大于65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高。在一些实施方案中,毒性是CRS,例如任何CRS,例如1级或更高级CRS,或者神经毒性,例如任何神经毒性,例如1级或更高级神经毒性。在一些实施方案中,严重的毒性是严重CRS或3级或更高级CRS,或者严重神经毒性或3级或更高级神经毒性。在一些情况下,反应是骨髓反应。在一些实施方案中,使用IgH深度测序评估反应。在一些实施方案中,毒性结果是严重神经毒性或3级或更高级神经毒性,例如3-5级神经毒性。

[0162] 还提供了一种给药方法,其通过向患有疾病或病症(例如肿瘤或癌症)的受试者给予一定剂量的细胞,并且在输注后监测受试者的峰值CAR+细胞/ μ l,例如在用细胞疗法输注后的一个或多个不同时间点监测,例如为或为约或大于3天、7天、14天、28天、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、1年、2年或更长时间监测;或随时间监测AUC,例如在给予后的至多一个或多个时间点监测,例如,在用细胞疗法输注后多达或多达约或大于3天、7天、14天、28天、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、1年、2年或更长时间监测。在一些实施方案中,所述方法可以包括确定或评估峰值CAR+细胞/ μ l在治疗范围内的概率,例如从毒性概率曲线和/或反应概率曲线和/或持久反应概率曲线来确定。在一些实施方案中,如果峰值CAR+细胞/ μ l或AUC不在治疗范围内,则所述方法还涉及给予化合物或药剂以增强或加强体内的CAR+细胞扩增而使得峰值CAR+扩增在治疗范围内(例如通过所提供的方法来确定);和/或以减少、抑制、预防和/或延迟CAR+ T细胞活性和/或扩增。

[0163] 还提供了通过向受试者给予次最佳剂量的细胞来向患有疾病或病症(例如肿瘤或癌症)的受试者给药的方法,其中所述剂量不足以实现在确定的治疗范围内的峰值CAR+细胞/ μ l。在一些实施方案中,所述方法还涉及给予化合物或药剂以增强或加强体内的CAR+细胞扩增,使得峰值CAR+扩增在治疗范围内,例如通过所提供的方法来确定。

[0164] 在一些实施方案中,所述方法还涉及基于峰值CD3+、CD4+和/或CD8+CAR+ T细胞浓度(细胞/ μ l)和/或AUC(例如,峰值CD8+CAR+ T细胞浓度)的反应和毒性概率曲线向受试者给予第二剂量的细胞。在一些实施方案中,所述方法还涉及基于峰值CD3+、CD4+和/或CD8+CAR+ T细胞浓度(细胞/ μ l)和/或AUC(例如,峰值CD8+CAR+ T细胞浓度)的反应和毒性概率曲线向受试者给予肿瘤微环境(TME)靶向剂。在一些方面,所述方法允许选择实现更持久反应和/或缓解的剂量范围。还提供了涉及评估、确定或监测受试者中所给予细胞的药代动力学参数的方法,所述药代动力学参数例如给予的最大(峰值)血浆浓度(C_{max})和曲线下面积(即通过标绘时间与治疗剂CAR+ T细胞的血浆浓度产生的曲线下面积;AUC)。在一些实施方案中,此类评估可以用于确定所给予的细胞是否在治疗范围或窗口内。在一些实施方案中,此类评估可以用作指示物以调节、修改和/或改变疗法,例如通过给予能够调节所给予CAR+ T细胞的扩增、增殖和/或活性的药剂,给予额外的和/或经修改的剂量,和/或给予替代疗法。在一些实施方案中,还因此提供了给予治疗剂的方法。在一些实施方案中,此类评估可以用于监测治疗进展和/或评估经调节治疗的效果。在一些实施方案中,此类测量值可以用于评估反应或持久反应的可能性。

[0165] 还提供了涉及评估、确定或监测其他参数的方法,所述其他参数例如患者属性、肿瘤负荷和/或生物标记(例如炎性标记)的表达。在一些实施方案中,可以使用在给予细胞疗法或其开始之前获得的来自受试者的样品进行所述评估。在一些实施方案中,可以使用在给予细胞疗法或其开始后获得的来自受试者的样品进行所述评估。在一些实施方案中,此

类评估可以用于确定所给予细胞是否可能在治疗范围或窗口内,或者可能与在治疗范围或窗口内相关联或有关。在一些实施方案中,此类评估可以用作指示物以调节、修改和/或改变疗法,例如通过给予能够调节所给予CAR+ T细胞的扩增、增殖和/或活性的药剂,给予额外的和/或经修改的剂量,和/或给予替代疗法。在一些实施方案中,还因此提供了给予治疗剂的方法。在一些实施方案中,此类评估可以用于监测治疗进展和/或评估经调节治疗的效果。在一些实施方案中,此类测量值可以用于评估反应或持久反应的可能性。

[0166] II. 毒性和反应概率曲线

[0167] 在一些实施方案中,产生来自所描述的受试者群体的概率曲线并且所述概率曲线与毒性结果(例如CRS或神经毒性,例如2-5级CRS或3-5级神经毒性)的风险或反应(例如骨髓反应)和/或反应持久性(例如,第3个月的反应)相关联。在一些实施方案中,将关于如上所述的毒性结果和反应结果的信息与关于受试者中的峰值细胞水平和/或浓度或暴露(例如,AUC)收集的数据组合和/或相关联。在一些实施方案中,从受试者群组收集关于毒性结果和反应结果的信息,将每条信息与细胞水平数据(例如,CAR+ T细胞的峰值数量或浓度)相关联,并独立进行评估。例如,在一些实施方案中,收集毒性结果数据并用CAR+细胞数量评估以构建毒性概率曲线。在一些情况下,收集反应结果数据(包括持久反应结果的数据),并用CAR+细胞数量评估,以构建反应概率曲线和/或持久反应概率曲线。

[0168] 在一些实施方案中,所得的毒性和反应和/或持久反应概率曲线可以联合评估,例如平行评估或大致同时或基本上同时评估,以给出受试者的给药决定或适应性治疗的信息。

[0169] 在一些实施方案中,使用毒性结果和反应结果基于血液中CAR+ T细胞的数量、浓度和/或暴露来构建反应的估计概率曲线和发生毒性的估计概率。在一些情况下,实现反应的估计概率大于或大于约65%、大于或大于约70%、大于或大于约75%、大于或大于约80%、大于或大于约85%、大于或大于约90%、大于或大于约95%或更大。在一些情况下,实现持久反应(例如,3个月或6个月持久反应)的估计概率大于或大于约65%、大于或大于约70%、大于或大于约75%、大于或大于约80%、大于或大于约85%、大于或大于约90%、大于或大于约95%或更大。在一些情况下,在毒性概率曲线上,引起或导致毒性的估计概率小于或小于约35%、小于或小于约30%、小于或小于约25%、小于或小于约20%、小于或小于约15%、小于或等于10%或小于或小于约5%。

[0170] 在一些实施方案中,所述方法涉及给予足够数量或剂量的细胞以在受试者中实现在确定的目标治疗范围或窗口内的峰值CAR+细胞浓度。在一些实施方案中,所述方法涉及给予足够数量或剂量的细胞以在大多数通过所述方法如此治疗的受试者(或者大于50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%或95%或更多或者大于或大于约50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%或95%或更多,如大于75%通过所述方法如此治疗的受试者)中实现在确定的目标治疗范围或窗口内的峰值CAR+细胞浓度。在所提供的方法中,评估与毒性(毒性结果)相关的一种或多种治疗结果或事件以及与治疗剂的功效(反应结果,包括持久反应结果)相关的一种或多种治疗结果或事件,并且根据所提供的方法做出给药决定。在一些实施方案中,将关于毒性结果和反应结果的信息组合和/或与所收集的关于受试者中的峰值细胞水平、浓度和/或暴露的数据相关联。在一些实施方案中,从受试者群组收集关于毒性结果和反应结果的信息,将每条信息与细胞水平数据相关联,并独立评估。例如,在一些实施

方案中,收集并评估毒性结果数据以构建毒性概率曲线,并收集和评估反应结果数据以构建反应概率曲线。在一些实施方案中,收集并评估持久反应结果数据(例如,在3、6、9或12个月的持久反应)以构建持久反应概率曲线。

[0171] 在一些实施方案中,可以联合评估毒性和反应概率曲线,例如平行评估或大致同时或基本同时评估,以给出受试者的给药决定或适应性治疗的信息。

[0172] 在一些实施方案中,在存在毒性结果和反应结果的时间监测毒性结果和反应结果。可能存在这种结果的特定时间将取决于特定治疗剂并且是熟练技术人员(例如医生或临床医生)已知的,或者是这样的熟练技术人员所熟练掌握的。在一些实施方案中,评估毒性结果或反应结果的时间是在或大约在受试者中可检测到毒性症状或功效的时间段内,或者在受试者中无法检测到与无反应或毒性相关的不良结果的时间。在一些实施方案中,所述时间段接近或基本接近受试者中的毒性结果和/或反应结果达到峰值的时间。在一些实施方案中,所述时间段包括评估反应持久性(例如在首次给予细胞后3、6、9或12个月的持久反应)所需的时间。

[0173] 在一些实施方案中,可以在受试者中在以下时间评估毒性结果或反应结果:在或大约在开始将第一剂量的治疗剂给予至受试者后120天内、在或大约在开始第一剂量后90天内、在或大约在开始第一剂量的治疗剂后60天内、或在或大约在开始将第一剂量给予至受试者后30天内。在一些实施方案中,可以在受试者中在以下时间评估毒性结果或反应:在开始将第一剂量给予至受试者之后6天、12天、16天、20天、24天、28天、32天、36天、40天、44天、48天、52天、56天、60天、64天、68天、72天、76天、80天、84天、88天、92天、96天或100天内或者在开始将第一剂量给予至受试者之后等于或约6天、12天、16天、20天、24天、28天、32天、36天、40天、44天、48天、52天、56天、60天、64天、68天、72天、76天、80天、84天、88天、92天、96天或100天内。

[0174] 在一些实施方案中,毒性结果或反应结果存在或可以在仅给予单一剂量治疗剂的这种时间段进行评估或监测。在过继细胞疗法的背景下,给定“剂量”的给予涵盖以单一组合物和/或单次不间断给予的方式(例如以单次注射或连续输注的方式)给予给定量或数量的细胞,并且还涵盖以分割剂量的方式给予给定量或数量的细胞,所述分割剂量是在不超过3天的指定时间段中在多个单独组合物或输注中提供。因此,在一些背景下,第一剂量是指定细胞数量的单次或连续给予,在单一时间点给予或开始。然而,在一些背景下,将第一剂量在不超过三天的时段期间以多次注射或输注给予,例如每天一次达三天或两天,或通过在一天时段期间多次输注给予。

[0175] 术语“分割剂量”是指分割的剂量,使其在超过一天的时间内给予。这种类型的给药包括在本发明方法中并且被认为是单一剂量。

[0176] 如本文所用,“第一剂量”用于描述给定剂量的时机,所述剂量在一些情况下可以是唯一的剂量,或者可以在其之后给予一次或多次重复或额外剂量。所述术语不一定意味着受试者之前从未接受过治疗剂的剂量,甚至受试者之前尚未接受过相同或基本相同的治疗剂的剂量。

[0177] 在一些实施方案中,毒性结果或反应结果存在和/或可以在以下时间段进行评估或监测:在给予治疗剂的第一周期之后、在给予治疗剂的第二周期之后、在给予治疗剂的第三周期之后、或在给予治疗剂的第四周期之后。在一些实施方案中,给予周期可以是在连续

给予期间重复的给药方案的重复时间表。在一些实施方案中,给予时间表可以是每天、每隔一天或每周一次,持续一周、两周、三周或四周(例如28天)。

[0178] 在一些实施方案中,毒性结果和反应结果可以通过监测与毒性结果相关的一种或多种症状或事件以及与反应结果相关的一种或多种症状或事件来评估。在一些实施方案中,所述疾病或病症是肿瘤或癌症。

[0179] A. 毒性结果

[0180] 在一些实施方案中,可以评估或监测受试者对给予治疗剂(例如CAR T细胞)的毒性结果。在一些实施方案中,毒性结果是毒性事件或与毒性事件的存在有关,所述毒性事件例如细胞因子释放综合征(CRS)、严重CRS(sCRS)、巨噬细胞活化综合征、肿瘤溶解综合征、在或在约38摄氏度发热三天或更多天且C反应蛋白(CRP)的血浆水平为至少或至少约20mg/dL、神经毒性(NT)和/或严重神经毒性(sNT)。在一些实施方案中,毒性结果是体征或症状,特定地多种体征和症状和/或其量或程度,其存在或不存在可指定受试者中毒性的特定程度、严重程度或水平。熟练技术人员熟练地掌握指定或确定与治疗剂(例如CAR-T细胞)的不期望毒性结果相关的特定体征、症状和/或其量或程度。

[0181] 在一些实施方案中,毒性结果是与毒性事件相关的指示物。在一些实施方案中,毒性结果是一种或多种生物标记的存在或不存在,或者一定水平的一种或多种生物标记的存在或不存在。在一些实施方案中,生物标记是存在于血清或其他体液或组织中的分子,其指示细胞因子释放综合征(CRS)、严重CRS或CRS相关结果。在一些实施方案中,生物标记是存在于血清或其他体液或组织中的分子,其指示神经毒性或严重神经毒性。

[0182] 在一些实施方案中,如果毒性事件(如CRS相关结果),例如如果CRS的指示物或毒性的其他生化指示物的血清水平是基线或治疗前水平(如在即将给予第一剂量治疗剂之前所述指示物的血清水平)的大于或大于约10倍、大于或大于约15倍、大于或大于约20倍、大于或大于约25倍、大于或大于约50倍、大于或大于约75倍、大于或大于约100倍、大于或大于约125倍、大于或大于约150倍、大于或大于约200倍、或者大于或大于约250倍,则受试者展现出毒性或毒性结果。

[0183] 在一些方面,毒性结果是细胞因子释放综合征(CRS)或严重CRS(sCRS),或与细胞因子释放综合征(CRS)或严重CRS(sCRS)相关,或指示细胞因子释放综合征(CRS)或严重CRS(sCRS)。在一些情况下,在过继T细胞疗法和向受试者给予其他生物制品后可能发生CRS,例如sCRS。参见Davila等人,Sci Transl Med 6,224ra25(2014);Brentjens等人,Sci.Transl.Med.5,177ra38(2013);Grupp等人,N.Engl.J.Med.368,1509-1518(2013);和Kochenderfer等人,Blood 119,2709-2720(2012);Xu等人,Cancer Letters 343(2014) 172-78。

[0184] 通常,CRS由例如通过T细胞、B细胞、NK细胞、单核细胞和/或巨噬细胞介导的过度的全身免疫应答引起。此类细胞可以释放大量炎性介质,如细胞因子和趋化因子。细胞因子可能引发急性炎症应答和/或诱导内皮器官损伤,所述内皮器官损伤可能导致微血管渗漏、心力衰竭或死亡。严重危及生命的CRS可能导致肺浸润和肺损伤、肾衰竭或弥散性血管内凝血。其他严重危及生命的毒性可以包括心脏毒性、呼吸窘迫、神经毒性和/或肝衰竭。在一些方面,发热、尤其是高热($\geq 38.5^{\circ}\text{C}$ 或 $\geq 101.3^{\circ}\text{F}$)与CRS相关。在一些情况下,CRS的特征或症状类似感染。在一些实施方案中,在呈现CRS症状的受试者中也考虑感染,并且通过培养物

进行监测以及给予经验性抗生素疗法。与CRS相关的其他症状可以包括心功能障碍、成人呼吸窘迫综合征、肾和/或肝衰竭、凝血障碍、弥散性血管内凝血和毛细血管渗漏综合征。

[0185] 在给予CAR表达细胞的背景下,CRS通常在输注表达CAR的细胞后6-20天时发生。参见Xu等人,Cancer Letters 343 (2014) 172-78。在一些情况下,CRS在CAR T细胞输注后少于6天或超过20天发生。CRS的发生率和时间可能与在输注时的基线细胞因子水平或肿瘤负荷有关。通常,CRS包括干扰素 (IFN) - γ 、肿瘤坏死因子 (TNF) - α 和/或白细胞介素 (IL) -2的血清水平升高。可能在CRS中快速诱导的其他细胞因子是IL-1 β 、IL-6、IL-8和IL-10。

[0186] 与CRS相关的示例性体征或症状包括发热、寒颤、寒战、低血压、呼吸困难、急性呼吸窘迫综合征 (ARDS)、脑病、天冬氨酸转氨酶 (AST) /丙氨酸转氨酶 (ALT) 升高、肾衰竭、心脏病、缺氧、神经紊乱和死亡。神经系统并发症包括谵妄、癫痫样活动、意识模糊、找词困难、失语和/或变得迟钝。其他CRS相关体征或结果包括疲劳、恶心、头痛、癫痫、心动过速、肌痛、皮疹、急性血管渗漏综合征、肝功能损害和肾衰竭。在一些方面,CRS与一种或多种因子(如血清铁蛋白、d-二聚体、转氨酶、乳酸脱氢酶和甘油三酯)的增加相关,或与低纤维蛋白原血或肝脾肿大相关。与CRS相关的其他示例性体征或症状包括血流动力学不稳定、发热型嗜中性粒细胞减少症、血清C反应蛋白 (CRP) 增加、凝血参数(例如,国际标准化比率 (INR)、凝血酶原时间 (PTI) 和/或纤维蛋白原)变化、心脏和其他器官功能的变化、和/或绝对嗜中性粒细胞计数 (ANC)。

[0187] 在一些实施方案中,与CRS相关的体征或症状包括以下中的一种或多种:持续性发热,例如,在指定温度(例如,高于或高于约38摄氏度)下发热两天或更多天(例如三天或更多天,例如,四天或更多天或至少连续三天);在高于或高于约38摄氏度下发热;细胞因子(例如IFN γ 或IL-6)升高;和/或毒性的至少一种临床体征,例如低血压(例如,如通过至少一种静脉内血管用加压器来测量);缺氧(例如,血浆氧 (PO₂) 水平低于或低于约90%);和/或一种或多种神经障碍(包括精神状态变化,迟钝和癫痫)。在一些实施方案中,神经毒性 (NT) 可以与CRS同时观察到。

[0188] 示例性CRS相关结果包括增加的或高的一种或多种因子(包括细胞因子和趋化因子和与CRS相关的其他因子)的血清水平。示例性结果进一步包括一种或多种此类因子的合成或分泌的增加。这种合成或分泌可以由T细胞或与T细胞相互作用的细胞(如先天免疫细胞或B细胞)进行。

[0189] 在一些实施方案中,在CAR治疗之前、期间或之后监测一种或多种炎性标记,例如细胞因子或趋化因子。在一些方面,一种或多种细胞因子或趋化因子包括IFN- γ 、TNF- α 、IL-2、IL-1 β 、IL-6、IL-7、IL-8、IL-10、IL-12、sIL-2R α 、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF) 或巨噬细胞炎性蛋白 (MIP)。在一些实施方案中,监测IFN- γ 、TNF- α 和IL-6。

[0190] 在一些实施方案中,一种或多种生物标记的存在指示毒性事件(例如CRS或神经毒性)的等级、严重程度或程度。在一些实施方案中,毒性结果是毒性事件的特定等级、严重程度或程度,例如CRS或神经毒性的特定等级、严重程度或程度。在一些实施方案中,大约某种等级、严重程度或程度的毒性事件的存在可能是剂量限制性毒性。在一些实施方案中,毒性事件的不存在或低于某一等级、严重程度或程度的毒性事件的存在可能指示剂量限制性毒性的不存在。

[0191] 已经研发出CRS标准,其显现出与CRS的发作相关联,以预测哪些患者更可能有发

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

[0192]

表1. CRS的示例性分级标准	
等级	症状的描述
1 轻度	不危及生命, 只需要对症治疗如退热剂和止吐药(例如, 发热、恶心、疲劳、头痛、肌痛、不适)
2 中度	需要并响应中等干预: • 氧气需求 < 40%, 或 • 低血压对流体或低剂量的单一血管加压药有反应, 或 • 2级器官毒性(通过CTCAE v4.0)
3 严重	需要并响应积极干预: • 氧气需求 ≥ 40%, 或 • 需要高剂量单一血管加压药的低血压(例如, 去甲肾上腺素 ≥ 20 µg/kg/min、多巴胺 ≥ 10 µg/kg/min、去氧肾上腺素 ≥ 200 µg/kg/min或肾上腺素 ≥ 10 µg/kg/min), 或 • 需要多种血管加压药的低血压(例如, 血管加压素+上述药剂之一, 或相当于 ≥ 20 µg/kg/min去甲肾上腺素的组合血管加压药), 或 • 3级器官毒性或4级转氨酶升高(通过CTCAE v4.0)
4 危及生命	危及生命: • 需要呼吸机支持, 或 • 4级器官毒性(不包括转氨酶升高)
5 致命的	死亡

[0193] 在一些实施方案中,反映CRS等级的标准是下表2中详述的那些。

[0194]

表2. CRS的示例性分级标准				
症状/体征	1级(轻度)	2级(中度)	3级(严重)	4级(危及生命)
	CRS级由最严重的症状(不包括发热)定义			
温度 ≥ 38.5°C/101.3°F	任何	任何	任何	任何
收缩压 ≤ 90 mm Hg	N/A	对液体或单一低剂量血管加压药有反应	需要高剂量或多次血管加压药	危及生命
需要氧气以达到SaO ₂ > 90%	N/A	FiO ₂ < 40%	FiO ₂ ≥ 40%	需要呼吸机支持
器官毒性	N/A	2级	3级或转氨酶升高	4级(不包括转氨酶升高)

[0195] 在一些实施方案中,高剂量血管加压药疗法包括下表3中所述的那些。

表3. 高剂量血管加压药（所有剂量均需 ≥3小时）	
血管加压药	剂量
[0196] 去甲肾上腺素单一疗法	≥ 20 µg/min
多巴胺单一疗法	≥ 10 µg/kg/min
苯肾上腺素单一疗法	≥ 200 µg/min
肾上腺素单一疗法	≥ 10 µg/min
如果使用血管加压素	血管加压素 + 去甲肾上腺素当量 (NE) ≥ 10 µg/min ^a
[0197] 如果使用组合血管加压药（非血管加压素）	去甲肾上腺素当量 ≥ 20 µg/min ^a
^a VASST试验血管加压药当量方程：去甲肾上腺素当量剂量 = [去甲肾上腺素 (µg/min)] + [多巴胺 (µg/kg/min) ÷ 2] + [肾上腺素 (µg/min)] + [苯肾上腺素 (µg/min) ÷ 10]	

[0198] 在一些实施方案中，毒性结果是严重CRS。在一些实施方案中，毒性结果是严重CRS的不存在（例如中度或轻度CRS）。在一些实施方案中，严重CRS包括3级或更高级CRS，如表1和表2中所示。在一些实施方案中，严重CRS包括2级或更高级CRS，例如2级、3级、4级或5级CRS。

[0199] 在一些实施方案中，毒性结果（例如，CRS相关结果）的水平（例如CRS指示物的血清水平）是通过ELISA测量。在一些实施方案中，可以测量发热和/或C反应蛋白（CRP）的水平。在一些实施方案中，患有发热且CRP ≥ 15mg/dL的受试者可以被认为具有发生严重CRS的高风险。在一些实施方案中，CRS相关血清因子或CRS相关结果包括炎性细胞因子和/或趋化因子的水平和/或浓度的增加，所述炎性细胞因子和/或趋化因子包括F1t-3L、分形趋化因子（fracktalkine）、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子（GM-CSF）、白细胞介素-1β（IL-1β）、IL-2、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-10、IL-12、干扰素γ（IFN-γ）、巨噬细胞炎性蛋白（MIP）-1、MIP-1、sIL-2Rα或肿瘤坏死因子α（TNFα）。在一些实施方案中，所述因子或结果包括C反应蛋白（CRP）。除了作为CRS的早期且易于测量的风险因子外，CRP也是细胞扩增的标记。在一些实施方案中，被测量为具有高CRP水平（如≥15mg/dL）的受试者患有CRS。在一些实施方案中，被测量为具有高CRP水平的受试者未患CRS。在一些实施方案中，CRS的量度包括CRP的量度和指示CRS的另一因子。

[0200] 在一些方面，毒性结果是神经毒性或与神经毒性相关。在一些实施方案中，与神经毒性的临床风险相关的体征或症状包括意识模糊、谵妄、失语、表达性失语、迟钝、肌阵挛、嗜睡、精神状态改变、惊厥、癫痫样活动、癫痫（任选地如通过脑电图（EEG）确认）、β淀粉样蛋白（Aβ）水平升高、谷氨酸水平升高和氧自由基水平升高。在一些实施方案中，基于严重程度对神经毒性进行分级（例如，使用1-5级量表（参见例如Guido Cavaletti&Paola Marmioli Nature Reviews Neurology 6,657-666 (2010年12月)；美国国家癌症研究所—常见毒性标准第4.03版（NCI-CTCAE v4.03））。在一些实施方案中，如果受试者在给予后展示出限制自我护理（例如，洗澡、穿衣和脱衣、进食、如厕、服药）的如下症状，则认为受试者响应于或继发于细胞疗法或其细胞剂量的给予而发生“严重神经毒性”：1) 外周运动神经病的症状，包括外周运动神经的炎症或退化；2) 外周感觉神经病的症状，包括外周感觉神经的炎症或退化、感觉迟钝（如感官知觉失真），导致异常和不愉快的感觉、神经痛（如沿着神经或一组神

经的剧烈疼痛感),和/或感觉异常如感觉神经元的功能性紊乱,导致在没有刺激的情况下刺痛、麻木、压迫、冷和温的异常皮肤感觉。在一些实施方案中,严重神经毒性包括3级或更高级神经毒性,如表4中所示。在一些实施方案中,严重神经毒性包括2级或更高级神经毒性,例如2级、3级、4级或5级神经毒性。

[0201]

表4: 神经毒性的示例性分级标准	
等级	症状的描述
1 无症状或轻度	轻度或无症状的症状
2 中度	存在限制工具性日常生活活动(ADL)(如准备饭菜、购买杂货或衣服、使用电话、理财)的症状
3 严重	存在限制自理ADL(如洗澡、穿衣和脱衣、自己进食、如厕、服药)的症状
4 危及生命	危及生命的症状,需要紧急干预
5 致命的	死亡

[0202] 在一些实施方案中,所述毒性结果是剂量限制性毒性。在一些实施方案中,毒性结果是剂量限制性毒性的不存在。在一些实施方案中,剂量限制性毒性(DLT)被定义为任何3级或更高级的毒性,如通过任何已知或公开的用于评估特定毒性的指南所评估,如上述任何指南并且包括国家癌症研究所(NCI)的不良事件通用术语标准(Common Terminology Criteria for Adverse Events,CTCAE)4.0版。

[0203] B.反应结果

[0204] 在一些实施方案中,可以监测或评估受试者对给予治疗剂的反应结果。在一些实施方案中,反应结果是无反应。在一些实施方案中,反应结果是部分反应(PR)。在一些实施方案中,反应结果是完全反应(CR)。在一些实施方案中,通过监测受试者的疾病负荷来评估反应结果。在一些实施方案中,可以评估无反应、部分反应或临床或完全反应的存在。

[0205] 在一些实施方案中,部分反应(PR)或完全反应(CR)是治疗剂减少或防止受试者中的疾病或病症的扩展或负荷的反应。例如,当疾病或病症是肿瘤时,如果与用治疗剂(例如CAR T细胞)治疗之前相比,肿瘤大小、体积、转移、骨髓中原始细胞(blast)的百分比或可分子检测的癌症有所减少,和/或预后或存活或与肿瘤负荷相关的其他症状有所改善,则存在或呈现减少的疾病负荷。

[0206] 在一些实施方案中,尽管受试者已经对另一种疗法产生抗性,但所述给予有效治疗所述受试者。在一些实施方案中,至少35%、至少40%或至少50%的根据所述方法治疗的受试者实现完全反应(CR);和/或至少50%、至少60%或至少70%的根据所述方法治疗的受试者实现客观反应率(ORR)。在一些实施方案中,至少或约至少50%的根据所述方法治疗的受试者、至少或约至少60%的受试者、至少或约至少70%的受试者、至少或约至少80%的受试者或至少或约至少90%的受试者实现CR和/或实现客观反应(OR)。在一些实施方案中,有效治疗的所评估标准包括总体反应率或客观反应率(ORR)、完全反应(CR)、反应持续时间(DOR)、无进展存活期(PFS)和/或总存活期(OS)。

[0207] 在一些实施方案中,至少40%或至少50%的根据本文所提供的方法治疗的受试者实现完全缓解(CR),展现出大于大于或大约3个月、6个月或12个月或大于13个月或约14个

月的无进展存活期(PFS)和/或总存活期(OS);平均而言,根据所述方法治疗的受试者展现出大于或大于约6个月、12个月或18个月的中值PFS或OS;和/或所述受试者在治疗后展现出至少或至少约6、12、18个月或更长时间的PFS或OS。

[0208] 在一些方面,受试者(例如患有NHL的受试者)的反应率基于卢加诺标准(Lugano criteria)。(Cheson等人,(2014) JCO 32(27):3059-3067;Johnson等人,(2015) Radiology 2:323-338;Cheson,B.D.(2015) Chin Clin Oncol 4(1):5)。在一些方面,反应评估利用任何临床、血液学和/或分子方法。在一些方面,使用卢加诺标准评估的反应涉及视情况使用正电子发射断层成像(PET)-计算机断层成像(CT)和/或CT。PET-CT评价还可包括使用氟脱氧葡萄糖(FDG)用于嗜FDG淋巴瘤。在一些方面,在使用PET-CT评估嗜FDG组织学的反应的情况下,可以使用5分量表。在一些方面,5分量表包括以下标准:1,没有高于背景的摄取;2,摄取 $\leq$ 纵隔;3,摄取 $>$ 纵隔但 $\leq$ 肝脏;4,摄取适度 $>$ 肝脏;5,摄取显著高于肝脏和/或新病灶;X,新的摄取区域不太可能与淋巴瘤有关。

[0209] 在一些方面,如使用卢加诺标准描述的完全反应涉及在不同可测量位点的完全代谢反应和完全放射学反应。在一些方面,这些部位包括淋巴结和淋巴外部位,其中当使用PET-CT时,在5分量表上CR被描述为得分为1、2或3,其具有或不具有残余质量。在一些方面,在脾或骨髓内具有高生理摄取或激活的Waldeyer环或结节外位点中(例如,对于化学疗法或髓系细胞集落刺激因子),摄取可以大于正常纵隔和/或肝脏。在这种情况下,如果在初始受累位点的摄取不大于周围的正常组织,即使所述组织具有高生理摄取,也可以推断为完全代谢反应。在一些方面,使用CT在淋巴结中评估反应,其中CR被描述为没有患病的淋巴外位点,并且靶淋巴结/淋巴结肿块病变的最长横径(LDi)必须复原至 $\leq 1.5\text{cm}$ 。其他评估位点包括骨髓,其中基于PET-CT的评估应指示在骨髓中缺乏嗜FDG疾病的证据,并且基于CT的评估应指示正常形态,如果不确定则应是IHC阴性。其他位点可以包括对器官肿大的评估,其应复原至正常。在一些方面,评估未测量的病灶和新病灶,其在CR的情况下应不存在(Cheson等人,(2014) JCO 32(27):3059-3067;Johnson等人,(2015) Radiology 2:323-338;Cheson,B.D.(2015) Chin Clin Oncol 4(1):5)。

[0210] 在一些方面,如使用卢加诺标准描述的部分反应(PR)涉及在不同可测量部位的部分代谢和/或放射学反应。在一些方面,这些部位包括淋巴结和淋巴外部位,其中在使用PET-CT时,与基线和任何大小的一种或多种残余质量相比,将PR描述为4分或5分,具有降低的摄取。在中间时期,此类发现可以指示反应中的疾病。在治疗结束时,此类发现可以指示残留疾病。在一些方面,使用CT在淋巴结中评估反应,其中将PR描述为多达6个靶标可测量结节和结节外部位的尺寸乘积之和(SPD)减小 $\geq 50\%$ 。如果病灶太小而无法在CT上测量,则将 $5\text{mm} \times 5\text{mm}$ 指定为默认值;如果病灶不再可见,则所述值为 $0\text{mm} \times 0\text{mm}$;对于 $>5\text{mm} \times 5\text{mm}$ 但小于正常的结节,使用实际测量值进行计算。其他评估位点包括骨髓,其中基于PET-CT的评价应指示残余摄取,所述残余摄取高于正常骨髓中的摄取但与基线相比有所降低(弥漫性摄取与来自所允许化学疗法的反应性变化相容)。在一些方面,如果在结节反应的背景下在骨髓中存在持续的局灶性变化,则应考虑用MRI或活检或间隔扫描进一步评价。在一些方面,其他位点可以包括对器官肿大的评估,其中脾脏的超过正常的长度必须已经复原 $>50\%$ 。在一些方面,评估未测量病灶和新病灶,其在PR的情况下应不存在/正常,已复原但没有增加。也可以使用基于PET-CT和/或CT的评估来测量无反应/稳定疾病(SD)或进行性疾病(PD)。

(Cheson等人, (2014) JCO 32 (27) :3059-3067; Johnson等人, (2015) Radiology 233:323-338; Cheson, B.D. (2015) Chin Clin Oncol 4(1):5)。

[0211] 在一些方面,无进展存活期(PFS)被描述为治疗疾病(如癌症)期间和之后,受试者带病生存但所述疾病不恶化的时间长度。在一些方面,客观反应(OR)被描述为可测量的反应。在一些方面,客观反应率(ORR)被描述为实现CR或PR的患者的比例。在一些方面,总存活期(OS)被描述为从诊断或开始治疗疾病(如癌症)的日期到被诊断患有所述疾病的受试者仍然存活时的时间长度。在一些方面,无事件存活期(EFS)被描述为在癌症治疗结束后,受试者保持没有所述治疗意图预防或延迟的某些并发症或事件的时间长度。这些事件可以包括癌症的复发或某些症状的发作,如已经扩散到骨骼的癌症引起的骨痛,或死亡。

[0212] 在一些实施方案中,反应持续时间(DOR)的量度包括从记录到肿瘤反应至疾病进展的时间。在一些实施方案中,用于评估反应的参数可以包括持久反应,例如,在开始治疗一段时间后持续存在的反应和/或对治疗的长效积极反应。在一些实施方案中,持久反应是由在治疗开始后约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、18或24个月的反应率来指示。在一些实施方案中,反应在大于3个月或大于6个月内是持久的。在一些实施方案中,持久反应是在给予疗法后第3个月测量的反应,例如3个月的反应。在一些实施方案中,持久反应是在给予疗法后第6个月测量的反应,例如6个月的反应。

[0213] 在一些方面,使用RECIST标准确定客观肿瘤反应;在一些方面,在实体瘤中确定。(Eisenhauer等人, European Journal of Cancer 45 (2009) 228-247.) 在一些方面,使用RECIST标准确定靶病灶的客观肿瘤反应。在一些方面中,如使用RECIST标准确定的完全反应被描述为所有靶病灶的消失,并且任何病理性淋巴结(无论是靶标还是非靶标)必须在短轴上减少至<10mm。在其他方面中,如使用RECIST标准确定的部分反应被描述为以基线总直径为参考,靶病灶的直径总和减小至少30%。在其他方面中,进行性疾病(PD)被描述为以研究中的最小总和(如果基线总和在研究中最小,则这个最小总和包括基线总和)作为参考,靶病灶直径总和增加至少20%。除了20%的相对增加外,所述总和还必须显示至少5mm的绝对增加(在一些方面,出现一个或多个新病灶也被视为进展)。在其他方面中,疾病稳定(SD)被描述为以研究时的最小总直径作为参考,既没有足够缩小以符合PR,也没有足够增加以符合PD。

[0214] 在一些实施方案中,疾病或病症是肿瘤,并且疾病负荷的减少是肿瘤尺寸的减小。在一些实施方案中,疾病负荷的减少是由一种或多种因素的减少来指示,所述因素例如受试者或其体液或器官或组织中的疾病细胞的负担或数量、肿瘤的质量或体积、或转移的程度或范围。在一些实施方案中,可以针对形态学疾病和/或微小残留疾病的程度评估或监测疾病负荷(例如肿瘤负荷)。

[0215] 在一些实施方案中,检测、评估或测量所述受试者的疾病或病症的负荷。可以在一些方面通过检测受试者中或受试者的器官、组织或体液(如血液或血清)中的疾病或疾病相关细胞例如肿瘤细胞的总数来检测疾病负荷。在一些实施方案中,通过测量实体瘤的质量和/或转移的数量或成数来评估疾病负荷,例如肿瘤负荷。在一些方面,评估受试者的存活、特定时间段内的存活、存活程度、无事件或无症状存活的存在或持续时间或无复发存活。在一些实施方案中,评估疾病或病症的任何症状。在一些实施方案中,指定疾病或病症负荷的量度。

[0216] 在一些实施方案中,疾病负荷可以包括受试者或受试者的器官、组织或体液(例如肿瘤或其他位置(例如,其可指示转移)的器官或组织)中疾病细胞的总数。例如,可以在某些血液恶性肿瘤环境中在血液或骨髓中检测和/或定量肿瘤细胞。在一些实施方案中,疾病负荷可以包括肿瘤的质量、转移的数量或程度和/或骨髓中存在的原始细胞的百分比。

[0217] 在一些实施方案中,受试者患有白血病。疾病负荷的程度可以通过评估血液或骨髓中的残留白血病来确定。

[0218] 在一些方面,受试者(例如患有慢性淋巴细胞白血病(CLL)受试者)的反应率基于国际慢性淋巴细胞白血病研讨会(IWCLL)反应标准(Hallek等人,Blood 2008年6月15日;111(12):5446-5456)。在一些方面,这些标准描述如下:完全缓解(CR),其在一些方面要求不存在通过免疫表型分析的外周血克隆淋巴细胞、不存在淋巴结病、不存在肝肿大或脾肿大、不存在全身症状和令人满意的血细胞计数;完全缓解伴随不完全骨髓恢复(CRi),其在一些方面被描述为上述CR但没有正常的血细胞计数;部分缓解(PR),其在一些方面被描述为淋巴细胞计数下降 $\geq 50\%$ 、淋巴结病减少 $\geq 50\%$ 或肝或脾减少 $\geq 50\%$ 以及外周血细胞计数改善;进展性疾病(PD),其在一些方面被描述为淋巴细胞计数增加 $\geq 50\%$ 至 $\geq 5 \times 10^9/L$ 、淋巴结病增加 $\geq 50\%$ 、肝或脾尺寸增加 $\geq 50\%$ 、Richter转化或由于CLL导致新的血细胞减少;和稳定疾病,其在一些方面被描述为不符合CR、CRi、PR或PD的标准。

[0219] 在一些实施方案中,如果在给予细胞的所述剂量的1个月内,受试者的淋巴结大小小于或小于约20mm,大小小于或小于约10mm或大小小于或小于约10mm,则所述受试者展现出CR或OR。

[0220] 在一些实施方案中,在所述受试者的骨髓中(或在大于50%、60%、70%、80%、90%或更多的根据所述方法治疗的受试者的骨髓中)没有检测到CLL的指标克隆。在一些实施方案中,通过IgH深度测序评估CLL的指标克隆。在一些实施方案中,在给予细胞之后等于或约或者至少为或至少约1、2、3、4、5、6、12、18或24个月的时间未检测到指标克隆。

[0221] 在一些实施方案中,如果与用治疗剂治疗前骨髓中的原始细胞的百分比相比,骨髓中原始细胞的百分比有所减少,则存在反应结果。在一些实施方案中,如果与治疗前骨髓中原始细胞的数量或百分比相比,骨髓中原始细胞的数量或百分比降低或减少至少或至少约20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或更多,则存在疾病负荷的减少。

[0222] 在一些实施方案中,如果受试者不展现形态学疾病(非形态学疾病)或者不展现显著的形态学疾病,则受试者展现出反应。在一些实施方案中,如果例如如通过光学显微镜检查检测的,在骨髓中存在大于或等于5%的原始细胞,则受试者展现出形态学疾病。在一些实施方案中,如果骨髓中存在少于5%原始细胞,则受试者展现出完全或临床缓解。

[0223] 在一些实施方案中,受试者患有白血病。疾病负荷的程度可以通过评估血液或骨髓中的残留白血病来确定。

[0224] 在一些实施方案中,如果例如如通过光学显微术检测,骨髓中存在大于或等于5%原始细胞,如骨髓中大于或等于10%原始细胞、骨髓中大于或等于20%原始细胞、骨髓中大于或等于30%原始细胞、骨髓中大于或等于40%原始细胞或骨髓中大于或等于50%原始细胞,则受试者展现出形态学疾病。在一些实施方案中,如果骨髓中存在少于5%原始细胞,则受试者展现出完全或临床缓解。

[0225] 在一些实施方案中,如果受试者在治疗前展现出形态学疾病并且在治疗后展现出

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

[0226] 在一些实施方案中,受试者可以展现出完全缓解,但存在小部分形态学上(通过光学显微镜技术)不可检测的残余白血病细胞。如果受试者展现出在骨髓中小于5%原始细胞并且展现出可分子检测的癌症,则称受试者展现出最小残留疾病(MRD)。在一些实施方案中,可分子检测的癌症可以使用允许灵敏地检测少量细胞的多种分子技术中的任一种来评估。在一些方面,此类技术包括PCR测定,其可以确定通过染色体易位产生的独特Ig/T细胞受体基因重排或融合转录物。在一些实施方案中,可以使用流式细胞术基于白血病特异性免疫表型来鉴定癌细胞。在一些实施方案中,癌症的分子检测可以检测到100,000个正常细胞中的1个白血病或原始细胞或10,000个正常细胞中的1个白血病或原始细胞。在一些实施方案中,如果如通过PCR或流式细胞术检测到100,000个细胞中的至少或大于1个白血病细胞,则受试者展现出可分子检测的MRD。在一些实施方案中,受试者的疾病负荷是不可分子检测的或MRD⁻,使得在一些情况下使用PCR或流式细胞术技术无法检测到所述受试者中的白血病细胞。

[0227] 在一些实施方案中,在所述受试者的骨髓中(或在大于50%、60%、70%、80%、90%或更多的根据所述方法治疗的受试者的骨髓中)没有检测到白血病(例如CLL)的指标克隆。在一些实施方案中,通过IGH深度测序来评估白血病(例如CLL)的指标克隆。在一些实施方案中,在给予细胞之后等于或约或者至少为或至少约1、2、3、4、5、6、12、18或24个月的时间未检测到指标克隆。

[0228] 在一些方面,MRD是通过流式细胞术来检测。可以使用流式细胞术监测骨髓和外周血样品中的癌细胞。在特定方面中,使用流式细胞术检测或监测骨髓中癌细胞的存在。在一些方面,使用通过流式细胞术进行的多参数免疫学检测来检测癌细胞(参见例如,Coustan-Smith等人,(1998) Lancet 351:550-554)。在一些方面,使用通过质谱流式细胞技术进行的多参数免疫学检测来检测癌细胞。在一些例子中,可以使用1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45或50个参数来检测癌细胞。用于检测的抗原是基于所检测的癌症选择的(Foon和Todd (1986) Blood 68:1-31)。

[0229] 在一些例子中,通过骨髓抽吸物或骨髓活检收获骨髓,并分离淋巴细胞用于分析。可以使用与荧光染料(例如,异硫氰酸荧光素(FITC)、藻红蛋白、多甲藻素叶绿素蛋白或生物素)缀合的单克隆和/或多克隆抗体检测分离的淋巴细胞上的表位,如末端脱氧核苷酸基转移酶(TdT)、CD3、CD10、CD11c、CD13、CD14、CD33、CD19、CD20、CD21、CD22、CD23、CD34、CD45、CD56、CD79b、IgM和/或KORSA3544。然后可以使用流式细胞术(如多参数流式细胞术或质谱流式细胞技术)来检测标记的细胞,以检测多个表位。

[0230] 可以基于光散射点图鉴定和门控淋巴细胞,然后进行二次门控以鉴定表达目的免疫表型特征的细胞群。示例性表位显示于下表5中。白血病和淋巴瘤的其他免疫学分类提供于Foon和Todd (Blood (1986) 68 (1):1-31)中。在一些方面,MRD的流式细胞术评估可以通过对带有一种或多种CLL免疫表型(例如,低前向/侧向散射;CD3⁻;CD5⁺;CD14⁻;CD19⁺;CD23⁺;CD45⁺;CD56⁻)的活淋巴细胞进行定量来实现。

[0231]

表5.示例性免疫表型和细胞遗传学特征		
疾病	免疫表型	细胞遗传学
慢性淋巴细胞白血病 (CLL)	全B+; CD5+; CD23+; CD79b/CD22 弱 ; FMC7-; sIg弱	三体性12 del(13)(q14.3) del 11q22-q23 del 17p13 (p53) t(11;14)(q13;q32) BCL1/IgH重排 t(14;19)(q32;q13) IgH缺失(14q32) del(6q) +8q24 +3 +18 del 6q21
小淋巴细胞淋巴瘤 (SLL)	全B+; CD5+; CD23+; CD10-; sIgM+微弱	del(6)(q21-23)
淋巴浆细胞性淋巴瘤	全B+; CD5-; CD10-; cyIgM+	t(9;14)(p13;q32) PAX5/IgH

[0232]

表5.示例性免疫表型和细胞遗传学特征		
疾病	免疫表型	细胞遗传学
滤泡中心细胞淋巴瘤	全 B+ ; CD10+/- ; CD5-; sIg+	t(14;18)(q32;q21) / BCL2重排
弥漫性大细胞淋巴瘤	CD19+ ; CD22+ ; CD10-/+; SIg+	t(14;18)和p53突变 t(3;V)(q27;V)/ BCL6重排 变体c-MYC重排
伯基特淋巴瘤	全B+; TdT-; CD10+; CD5-; sIgM+	t(8;14)(q24;q32)或变体/c-MYC重排
伯基特样淋巴瘤	全B+; TdT-; CD10-/+ CD5-; sIg+	t(8;14)或变体 t(8;14)+ t(14;18)
套细胞淋巴瘤	全B+; CD5+; CD23-; CD10-/+; sIgM+亮	t(11;14)(q13;q32) / BCL1重排
边缘区B细胞淋巴瘤 (MZBCL)	pan-B+ ; CD5-/+ ; CD10- ; CD23- ; CD11c+/- ; cyIg + (40% 的细胞) , sIgM+明亮; sIgD-	t(11;18)(q21;q21) / PI2 / MLT融合: 结节外低级MALT淋巴瘤; 惰性疾病 t(1;14)(p21;q32): 结节外MALT淋巴瘤 del(7)(q22-31): 脾脏MZBCL /+3q: 结节、结节外和脾MZBCL
+: > 90%的病例呈阳性 +/-: 超过50%的病例呈阳性 -/+ : 少于50%的病例呈阳性 -: < 10%的病例呈阳性 全B标记: 例如, CD19、CD20、CD79a sIg: 表面免疫球蛋白 cyIg: 胞质免疫球蛋白		

[0233] 在一些方面,可以使用所收获的B细胞免疫球蛋白重链 (IGH) 基因座的深度测序来检测微小残留疾病 (MRD)。特定IgG重排的克隆存在可以提供标记以检测B细胞恶性肿瘤(如CLL或NHL)的存在和/或其恶性细胞的残余存在。在一些方面,从血液收获并分离细胞,如含有或怀疑含有B细胞的群体。在一些方面,从骨髓(例如从骨髓抽吸物或骨髓活检)和/或从

其他生物样品收获并分离细胞。在一些方面,使用针对基因座的V区和J区内的高度保守序列的引物实现互补决定区3 (CDR3) 的聚合酶链式反应 (PCR) 扩增,其可用于鉴定细胞的克隆群体,用于评估微小残留疾病的目的。可以使用用于检测克隆群体的其他方法,如单细胞测序法,包括提供关于特定谱系的和/或表达特定可变链(如可变重链或其结合位点)的细胞(如克隆群体)的数量信息的那些方法。在一些方面,使用简并引物或识别不同细胞克隆之间共有的可变链区的引物(如识别IGH序列的共有V区和简并共有J区的那些引物)扩增IGH DNA。V区的示例性序列是ACACGGCCTCGTGATTACTGT (SEQ ID NO:57)。J区的示例性简并共有序列是ACCTGAGGAGACGGTGACC (SEQ ID NO:58)。

[0234] 在一些方面,PCR产物或测序结果是重排的等位基因特有的,并且用作MRD检测的克隆标记。在CDR3区域的PCR扩增之后,可以对PCR产物进行测序以产生患者特异性寡核苷酸,所述患者特异性寡核苷酸被构建为等位基因特异性PCR的探针,用于灵敏地检测在用CAR-T细胞疗法(例如CD19CAR-T细胞疗法)治疗B细胞恶性肿瘤后的MRD。在不使用共有引物产生PCR产物的例子中,可以替代地使用框架区1的V区家族特异性引物。

[0235] 在一些方面,在治疗后可PCR检测的肿瘤细胞(如B细胞恶性肿瘤(如NHL或CLL)的细胞,如对应于恶性或克隆IGH序列的可检测IGH序列)的持久性与增加的复发风险相关。在一些方面,与具有持续恶性IGH序列的患者相比,治疗后恶性IGH序列呈阴性的患者(在一些方面,即使在其他标准指示进行性疾病或仅部分反应(如淋巴结增大的持久性)的背景下或在一些背景下其他标准可能与疾病或缺乏完全反应相关)可能被认为具有增加的PFS可能性或进入CR或持久CR或延长的存活期。在一些实施方案中,例如与其他临床症状(如淋巴结大小)或其他分期标准的消退相比,这种预后和分期确定与在给予所述疗法后的短时间段内观察到恶性细胞清除的治疗特别相关。例如,在一些此类方面中,如与其他可用分期或预后方法相比,样品(如骨髓)中可检测IGH或微小残留疾病的不存在可以是反应或反应可能性或其持久性的优选读数。在一些方面,来自MRD的结果,例如IGH深度测序信息,可以告知进一步干预或其缺乏。例如,所述方法和其他所提供的实施方案在一些背景下提供,被认为恶性IGH呈阴性的受试者的一些方面可以不进行进一步治疗或不被进一步给予所提供疗法的剂量,或者向所述受试者给予较低的或减少的剂量。相反,可以提供或规定经由IGH深度测序展现出MRD的受试者被进一步治疗,例如采用最初以相似或更高剂量给予的疗法或采用进一步治疗。

[0236] 在一些实施方案中,反应结果是CR的不存在或完全反应的存在,其中受试者实现或展现出最小残留疾病或可分子检测的疾病状态。在一些实施方案中,反应结果是具有可分子检测的疾病的CR的存在或不具有可分子检测的疾病的CR的存在。在一些实施方案中,使用如本文所述的方法(例如通过流式细胞术或qPCR方法评估骨髓中的原始细胞或分子疾病的方法)评估受试者的疾病负荷。

[0237] 在本文所提供的方法的一些实施方案中,反应是由完全缓解或完全反应(CR)和/或客观反应(OR)来确定;和/或受试者在使用所述剂量的细胞的1个月内展现出CR、OR、大小小于或小于约20mm的淋巴结;和/或任选地在给予细胞剂量后为或为约、或者至少或至少约1、2、3、4、5、6、12、18或24个月的时间,任选地如通过IgH深度测序所评估,在受试者的骨髓中(或在超过50%的根据所述方法治疗的受试者的骨髓中)未检测到疾病或病症(例如CLL或NHL)的指标克隆。

[0238] C. 确定工程化细胞的药代动力学 (PK), 例如峰值细胞水平

[0239] 在一些实施方案中, 所述方法包括评估T细胞 (例如, 出于基于T细胞的疗法给予的T细胞) 的暴露、数量、浓度、持久性和增殖。在一些实施方案中, 方法包括评估工程化T细胞 (例如, 针对基于T细胞的疗法而给予的T细胞或其子集, 如CD3⁺细胞、CD4⁺细胞、CD8⁺细胞、CD3⁺CAR⁺细胞、CD4⁺CAR⁺细胞或CD8⁺CAR⁺细胞) 的暴露、数量或水平。在一些实施方案中, 在本文所提供的方法中, 细胞 (例如, 免疫疗法 (例如T细胞疗法) 所给予的细胞) 的暴露、或延长的扩增和/或持久性, 和/或所述细胞的细胞表型或功能活性的变化可以通过在体外或离体评估T细胞的特征来测量。在一些实施方案中, 可以在给予本文所提供的细胞疗法之前或之后使用此类测定来确定或确认用于免疫疗法 (例如T细胞疗法) 的T细胞的功能。

[0240] 在一些方面, 暴露、数量、浓度、持久性和增殖与药代动力学参数有关。在一些情况下, 药代动力学可以通过测量诸如以下等参数来评估: 最大 (峰值) 血浆浓度 ($C_{\max}$)、峰值时间 (即出现最大血浆浓度 ($C_{\max}$) 的时间; $T_{\max}$)、最小血浆浓度 (即治疗剂 (例如, CAR⁺ T细胞) 的剂量之间的最小血浆浓度; $C_{\min}$)、给予后的消除半衰期 ($T_{1/2}$) 和曲线下面积 (即通过标绘时间与治疗剂CAR⁺ T细胞的血浆浓度产生的曲线下面积; AUC)。给予后血浆中特定治疗剂 (例如CAR⁺ T细胞) 的浓度可以使用本领域已知的任何适合于评估治疗剂 (例如CAR⁺ T细胞) 在血液样品中的浓度的方法或本文所述的任何方法来测量。例如, 可以使用基于核酸的方法 (例如定量PCR (qPCR)) 或基于流式细胞术的方法或其他测定, 例如免疫测定、ELISA或基于色谱/质谱的测定。

[0241] 在一些实施方案中, 确定所给予细胞 (例如CAR⁺ T细胞组合物) 的药代动力学 (PK) 以评估所给予细胞的可用性, 例如生物利用度。在一些实施方案中, 所给予细胞的确定的药代动力学参数包括最大 (峰值) 血浆浓度 ($C_{\max}$), 例如CD3⁺CAR⁺细胞、CD4⁺CAR⁺细胞和/或CD8⁺CAR⁺ T细胞的 $C_{\max}$; 实现 $C_{\max}$ 的时间点 ($T_{\max}$), 例如CD3⁺CAR⁺细胞、CD4⁺CAR⁺细胞和/或CD8⁺CAR⁺ T细胞的 $T_{\max}$ 和/或曲线下面积 (AUC), 例如CD3⁺CAR⁺细胞、CD4⁺CAR⁺细胞和/或CD8⁺CAR⁺ T细胞的AUC₀₋₂₈。在一些实施方案中, 药代动力学参数是峰值CD3⁺CAR⁺ T细胞浓度 ($C_{\max}$ CD3⁺CAR⁺ T细胞) 或CD8⁺CAR⁺ T细胞浓度 ($C_{\max}$ CD8⁺CAR⁺ T细胞)。在一些实施方案中, 药代动力学参数是CD3⁺CAR⁺ T细胞的AUC₀₋₂₈ (AUC₀₋₂₈ CD3⁺CAR⁺ T细胞), 或CD8⁺CAR⁺ T细胞的AUC₀₋₂₈ (AUC₀₋₂₈ CD8⁺CAR⁺ T细胞)。

[0242] 在一些实施方案中, “暴露”可以指在给予治疗剂后的某一时间段期间, 治疗剂 (例如, CAR⁺ T细胞) 在血浆 (血液或血清) 中的身体暴露。在一些实施方案中, 暴露可以陈述为在给予一定剂量的治疗剂 (例如CAR⁺ T细胞) 后的治疗剂浓度-时间曲线下面积 (AUC), 如通过药代动力学分析所确定。在一些情况下, 对于细胞疗法中给予的细胞, AUC是以细胞*天/ μ L或以其相应单位来表示。在一些实施方案中, AUC被测量为患者群体 (例如样品患者群体) 中的平均AUC, 例如一个或多个患者的平均AUC。在一些实施方案中, 全身暴露是指在某一时间段内的曲线下面积 (AUC), 例如, 第0天到第1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、21、28天或更长时间, 或第1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15周或更长时间, 或第1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、18、24、48个月或更长时间。在一些实施方案中, AUC被测量为给予治疗剂 (例如CAR⁺ T细胞) 后第0天到第28天的AUC (AUC₀₋₂₈), 包括所有测量数据和从所测量的药代动力学 (PK) 参数外推的数据, 例如来自患者群体 (例如样品患者群体) 的平均AUC。在一些实施方案中, 为了确定随时间的暴露, 例如某一时间段的AUC, 例如AUC₀₋₂₈, 使用随时间的

多次测量或参数(例如,细胞浓度)评估(例如,每1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、21或28天或更长时间进行的测量)产生治疗剂浓度-时间曲线。

[0243] 在一些实施方案中,检测在给予T细胞后且在给予所述疗法之前、期间和/或之后,受试者中表达重组受体的细胞(例如,出于基于T细胞的疗法给予的表达CAR的细胞)的存在和/或数量。在一些方面,使用基于核酸的方法(例如定量PCR(qPCR))来评估受试者的血液或血清或器官或组织样品(例如,疾病部位例如肿瘤样品)中表达重组受体的细胞(例如,出于基于T细胞的疗法给予的表达CAR的细胞)的量。在一些方面,持久性被定量为每微克的DNA中编码受体(例如,CAR)的DNA或质粒的拷贝,或者定量为每微升的样品(例如,血液或血清)中表达受体的(例如,表达CAR的)细胞的数量,或者每微升的样品中外周血单核细胞(PBMC)或白细胞或T细胞的总数量。在一些实施方案中,用于qPCR或其他基于核酸的方法的引物或探针对结合、识别和/或扩增编码重组受体的核酸和/或质粒和/或载体中的其他组分或元件具有特异性,所述其他组分或元件包括调节元件(例如启动子、转录和/或转录后调节元件)或反应元件,或标记(例如替代标记)。在一些实施方案中,所述引物可以对调节元件(例如土拨鼠肝炎病毒转录后调节元件(WPRE))具有特异性。在一些例子中,表达重组受体的细胞的存在和/或量表示为每单位质量的DNA中编码CAR的核酸序列(例如,转基因序列)或与CAR编码序列可操作连接的核酸序列的拷贝(例如,拷贝/ μg DNA);随时间变化的拷贝/ μg DNA曲线的AUC,治疗后的最大或峰值拷贝/ μg DNA,或在治疗或其开始后第1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或21天,或第1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12周或更长时间的拷贝/ μg DNA。

[0244] 在一些实施方案中,在给予T细胞(例如,表达CAR的T细胞)之后,在或至少在4天、14天、15天、27天或28天,在受试者中检测细胞。在一些方面,在给予T细胞(例如,表达CAR的T细胞)后,在或至少在2、4或6周,或3、6或12、18或24或30或36个月,或1、2、3、4、5年或更长时间,检测所述细胞。

[0245] 在一些实施方案中,在开始给予基因工程化细胞后至少8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天或21天的时间评估峰值水平和/或AUC和/或从受试者获得样品。在一些实施方案中,在开始给予所述基因工程化细胞后在或在约11天至22天、12天至18天或14天至16天之间的时间评估所述峰值水平和/或AUC和/或从所述受试者获得所述样品,所述时间中的每个都包含端值。

[0246] 指示扩增和/或持久性的细胞(例如T细胞疗法给予的T细胞)的暴露(例如数量或浓度)可以根据暴露至受试者的细胞的最大数量或浓度、可检测细胞或高于某一数量或百分比的细胞的持续时间、细胞的数量或浓度随时间的曲线下面积(AUC)和/或其组合及其指示物来陈述。此类结果可以使用已知方法来评估,例如使用qPCR来检测与特定样品(例如,血液、血清、血浆或组织,如肿瘤样品)中核酸或DNA的总量相比,编码重组受体的核酸的拷贝数;和/或使用流式细胞术测定,通常使用对受体具特异性的抗体来检测表达受体的细胞。还可以使用基于细胞的测定来检测功能细胞的数量或百分比或浓度,所述功能细胞是例如能够结合至和/或中和疾病或病症细胞或表达由所述受体所识别抗原的细胞的细胞,和/或能够诱导针对疾病或病症细胞或表达由所述受体所识别抗原的细胞的反应(例如细胞毒性反应)的细胞。

[0247] 在一些方面,增加的受试者对细胞的暴露包括增加的细胞扩增。在一些实施方案

中,在给予T细胞(例如,表达CAR的T细胞)后,表达受体的细胞(例如,表达CAR的细胞)在受试者中扩增。

[0248] 在一些实施方案中,在给予T细胞(例如,表达CAR的T细胞)后至少20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59天或60天或更长时间,在给予T细胞(例如,表达CAR的T细胞)后至少或至少约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23周或24周或更长时间中,表达受体的细胞在受试者的血清、血浆、血液或组织(例如肿瘤样品)中是可检测的,例如通过指定方法(例如基于qPCR或流式细胞术的检测方法)检测。

[0249] 在一些方面,在受试者或其体液、血浆、血清、组织或隔室中,例如在其血液(例如外周血)或疾病部位(例如肿瘤)中,可检测到或存在至少或至少约 1×10^2 、至少或至少约 1×10^3 、至少或至少约 1×10^4 、至少或至少约 1×10^5 、或至少或至少约 1×10^6 、或至少或至少约 5×10^6 、或至少或至少约 1×10^7 、或至少或至少约 5×10^7 、或至少或至少约 1×10^8 个表达重组受体(例如表达CAR)的细胞,和/或至少10个、25个、50个、100个、200个、300个、400个或500或1000个表达受体的细胞/微升(例如至少10个细胞/微升)。在一些实施方案中,在给予T细胞(例如,表达CAR的T细胞)后至少或至少约20天、至少或至少约40天、或至少或至少约60天,或至少或至少约3、4、5、6、7、8、9、10、11或12个月,或至少2或3年中,细胞的所述数量或浓度在受试者中是可检测的。此类细胞数量可以如通过基于流式细胞术或基于定量PCR的方法来检测,并使用已知方法外推至总细胞数量。参见例如,Brentjens等人,Sci Transl Med.2013 5(177);Park等人,Molecular Therapy 15(4):825-833(2007);Savoldo等人,JCI 121(5):1822-1826(2011);Davila等人,(2013)PLoS ONE 8(4):e61338;Davila等人,Oncoimmunology 1(9):1577-1583(2012);Lamers,Blood 2011 117:72-82;Jensen等人,Biol Blood Marrow Transplant 2010年9月;16(9):1245-1256;Brentjens等人,Blood 2011 118(18):4817-4828。

[0250] 在一些方面,如通过免疫组织化学、PCR和/或流式细胞术所测量,在给予细胞(例如,表达CAR的T细胞)后在约1周、约2周、约3周、约4周、约5周或至少约6周,或至少约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12个月或至少2或3年,例如在外周血或骨髓或其他隔室中,每100个细胞中编码重组受体的核酸的拷贝数(例如载体拷贝数)是至少0.01、至少0.1、至少1或至少10。在一些实施方案中,在给予T细胞(例如,表达CAR的T细胞)后约1周、约2周、约3周或至少约4周,或在这种给予后至少2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12个月或至少2或3年的时间,每微克基因组DNA中表达受体(例如,CAR)的载体的拷贝数是至少100、至少1000、至少5000、或至少10,000、或至少15,000或至少20,000。

[0251] 在一些方面,在给予细胞后(例如在开始给予T细胞后)至少或至少约3个月、至少或至少约6个月、至少或至少约12个月、至少或至少约1年、至少或至少约2年、至少或至少约3年、或超过3年的时间,细胞表达的受体(例如CAR)可通过定量PCR(qPCR)或通过流式细胞术在受试者、血浆、血清、血液、组织和/或其疾病部位(例如肿瘤部位)中检测。在一些实施方案中,测量在给予T细胞(例如,表达CAR的T细胞)后,受试者的体液、血浆、血清、血液、组织、器官和/或疾病部位(例如肿瘤部位)中表达受体(例如CAR)的细胞随时间的浓度的曲线下面积(AUC)。

[0252] 还提供了评估反应或持久反应的可能性的方法。在一些实施方案中,所述方法涉

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

[0253] 在一些实施方案中,如果一种或多种炎性标记的峰值水平低于阈值,则受试者可能实现反应或持久反应,并且如果一种或多种炎性标记的峰值水平高于阈值,则受试者不太可能实现持久反应。在一些实施方案中,如果基因工程化细胞的峰值水平在下限阈值与上限阈值之间的治疗范围内,则受试者可能实现持久反应,并且如果基因工程化细胞的峰值水平低于下限阈值或高于上限阈值,则受试者不太可能实现持久反应。

[0254] III. 治疗方法

[0255] 在一些实施方案中,提供了治疗方法。在一些实施方案中,所述方法包括给予免疫疗法和/或细胞疗法。在一些实施方案中,所述方法涉及给予基因工程化细胞,例如经工程化以表达重组受体(例如嵌合抗原受体(CAR))的细胞。在一些方面,还提供了将任何工程化细胞或含有工程化细胞的组合物给予至受试者(如患有疾病或障碍的受试者)的方法。在一些方面,还提供了工程化细胞或含有工程化细胞的组合物用于治疗疾病或障碍的用途。在一些方面,还提供了工程化细胞或含有工程化细胞的组合物用于制造用于治疗疾病或障碍的药物的用途。在一些方面,还提供了工程化细胞或含有工程化细胞的组合物,其用于治疗疾病或障碍或用于给予至患有疾病或障碍的受试者。

[0256] 表达重组受体(如嵌合抗原受体(CAR))的工程化细胞或包含所述工程化细胞的组合物可用于多种治疗性、诊断性和预防性适应症。例如,工程化细胞或包含工程化细胞的组合物可用于治疗受试者中的多种疾病和障碍。此类方法和用途包括治疗性方法和用途,例如涉及将工程化细胞或含有所述工程化细胞的组合物给予至患有疾病、病症或障碍(如肿瘤或癌症)的受试者。在一些实施方案中,以有效量给予工程化细胞或包含所述工程化细胞的组合物以实现疾病或障碍的治疗。用途包括工程化细胞或组合物在此类方法和治疗中以及在制备药物以实施此类治疗方法中的用途。在一些实施方案中,通过向患有或怀疑患有该疾病或病症的受试者给予工程化细胞或包含其的组合物来进行。在一些实施方案中,该方法由此治疗该受试者的该疾病或病症或障碍。

[0257] 在一些实施方案中,所述方法包括向受试者给予一定剂量的细胞(例如CAR+表达细胞),使得所述细胞在目标治疗范围或窗口内。在一些实施方案中,可以通过监测参数(例如,药代动力学参数,例如峰值细胞浓度(C_{max}))来确定或评估受试者中的细胞是否在目标治疗范围或窗口内。在一些方面,所提供的方法还包括基于对参数的评估确定受试者的剂量的方法或向受试者给药的方法,所述参数例如药代动力学参数,例如峰值细胞浓度(C_{max})、患者属性和/或生物标记。

[0258] 在一些实施方案中,将一定剂量的表达重组受体的细胞给予至受试者以治疗或预防疾病、病症和障碍,包括癌症。在一些实施方案中,将细胞、群体和组合物给予至受试者或患者,所述受试者或患者患有要例如通过过继细胞疗法(例如过继T细胞疗法)治疗的特定疾病或病症。在一些实施方案中,将细胞和组合物(例如在孵育和/或其他处理步骤后的工程化组合物和生产结束时(end-of-production)的组合物)给予至受试者,例如患有或有风险患上疾病或病症的受试者。在一些方面,所述方法由此治疗所述疾病或病症(例如,改善

其一种或多种症状),例如通过减轻表达由工程化T细胞识别的抗原的癌症中的肿瘤负荷来治疗。

[0259] 用于过继细胞疗法的细胞的给予方法是已知的,并且可以与所提供的方法和组合物一起使用。例如,过继T细胞治疗方法描述于例如Gruenberg等人的美国专利申请公开号2003/0170238;Rosenberg的美国专利号4,690,915;Rosenberg (2011) Nat Rev Clin Oncol.8 (10):577-85)。参见例如Themeli等人 (2013) Nat Biotechnol.31 (10):928-933; Tsukahara等人 (2013) Biochem Biophys Res Commun 438 (1):84-9;Davila等人 (2013) PLoS ONE 8 (4):e61338。

[0260] 所治疗的疾病或病症可以是任何疾病或病症,其中抗原的表达与疾病、病症或障碍的病因相关和/或参与所述病因,例如引起、加重或以其他方式参与这种疾病、病症或障碍。示例性疾病和病症可以包括与恶性肿瘤或细胞转化(例如癌症)、自身免疫性疾病或炎性疾病或例如由细菌、病毒或其他病原体引起的感染性疾病相关的疾病或病症。上文描述了示例性抗原,其包括与可以治疗的各种疾病和病症相关的抗原。在特定实施方案中,嵌合抗原受体或转基因TCR特异性地结合至与所述疾病或病症相关的抗原。

[0261] 疾病、病症和障碍包括肿瘤,包括实体瘤、血液学恶性肿瘤和黑色素瘤,并且包括局部和转移性肿瘤;感染性疾病,如病毒或其他病原体的感染,例如HIV、HCV、HBV、CMV和寄生虫病;以及自身免疫和炎性疾病。在一些实施方案中,所述疾病或病症是肿瘤、癌症、恶性肿瘤、赘生物或其他增殖性疾病或障碍。此类疾病包括但不限于白血病、淋巴瘤(例如慢性淋巴细胞白血病(CLL)、急性成淋巴细胞性白血病(ALL)、非霍奇金淋巴瘤、急性髓性白血病、多发性骨髓瘤、难治性滤泡性淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、惰性B细胞淋巴瘤、B细胞恶性肿瘤)、结肠癌、肺癌、肝癌、乳腺癌、前列腺癌、卵巢癌、皮肤癌、黑色素瘤、骨癌和脑癌、卵巢癌、上皮癌、肾细胞癌、胰腺腺癌、霍奇金淋巴瘤、宫颈癌、结直肠癌、胶质母细胞瘤、神经母细胞瘤、尤因肉瘤、髓母细胞瘤、骨肉瘤、滑膜肉瘤和/或间皮瘤。在一些实施方案中,受试者患有急性成淋巴细胞性白血病(ALL)。在一些实施方案中,受试者患有B细胞恶性肿瘤。在一些实施方案中,受试者患有非霍奇金淋巴瘤。

[0262] 在一些实施方案中,疾病或病症是感染性疾病或病症,例如但不限于病毒、逆转录病毒、细菌和原生动物感染、免疫缺陷、巨细胞病毒(CMV)、埃-巴二氏病毒(Epstein-Barr virus,EBV)、腺病毒、BK多瘤病毒。在一些实施方案中,所述疾病或病症是自身免疫性或炎性疾病或病症,如关节炎(例如类风湿性关节炎(RA))、I型糖尿病、系统性红斑狼疮(SLE)、炎性肠病、银屑病、硬皮病、自身免疫性甲状腺疾病、格雷夫斯病、克罗恩病、多发性硬化症、哮喘和/或与移植相关的疾病或病症。

[0263] 在一些实施方案中,与所述疾病或障碍相关的抗原选自: $\alpha v\beta 6$ 整合素($\alpha v\beta 6$ 整合素)、B细胞成熟抗原(BCMA)、B7-H3、B7-H6、碳酸酐酶9(CA9,也称为CAIX或G250)、癌症-睾丸抗原、癌症/睾丸抗原1B(CTAG,也称为NY-ESO-1和LAGE-2)、癌胚抗原(CEA)、细胞周期蛋白、细胞周期蛋白A2、C-C基序趋化因子配体1(CCL-1)、CD19、CD20、CD22、CD23、CD24、CD30、CD33、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD123、CD133、CD138、CD171、硫酸软骨素蛋白聚糖4(CSPG4)、表皮生长因子蛋白(EGFR)、表皮生长因子受体III型突变体(EGFR vIII)、上皮糖蛋白2(EPG-2)、上皮糖蛋白40(EPG-40)、肝配蛋白B2、肝配蛋白受体A2(EPHa2)、雌激素受体、Fc受体样蛋白5(FCRL5;也称为Fc受体同系物5或FCRH5)、胎儿乙酰胆碱受体(胎儿

AchR)、叶酸结合蛋白(FBP)、叶酸受体 α 、神经节苷脂GD2、O-乙酰化GD2(OGD2)、神经节苷脂GD3、糖蛋白100(gp100)、磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(GPC3)、G蛋白偶联受体5D(GPRC5D)、Her2/neu(受体酪氨酸激酶erb-B2)、Her3(erb-B3)、Her4(erb-B4)、erbB二聚体、人高分子量黑色素瘤相关抗原(HMW-MAA)、乙型肝炎表面抗原、人白细胞抗原A1(HLA-A1)、人白细胞抗原A2(HLA-A2)、IL-22受体 α (IL-22R α)、IL-13受体 α 2(IL-13R α 2)、激酶插入结构域受体(kdr)、 κ 轻链、L1细胞粘附分子(L1-CAM)、L1-CAM的CE7表位、含有富亮氨酸重复序列的蛋白8家族成员A(LRRC8A)、路易斯Y、黑色素瘤相关抗原(MAGE)-A1、MAGE-A3、MAGE-A6、MAGE-A10、间皮素(MSLN)、c-Met、鼠类巨细胞病毒(CMV)、粘蛋白1(MUC1)、MUC16、自然杀伤细胞2族成员D(NKG2D)配体、黑色素A(MART-1)、神经细胞粘附分子(NCAM)、癌胚胎抗原、黑色素瘤优先表达抗原(PRAME)、孕酮受体、前列腺特异性抗原、前列腺干细胞抗原(PSCA)、前列腺特异性膜抗原(PSMA)、受体酪氨酸激酶样孤儿受体1(ROR1)、存活蛋白、滋养层糖蛋白(TPBG,也称为5T4)、肿瘤相关糖蛋白72(TAG72)、酪氨酸酶相关蛋白1(TRP1,也称为TYRP1或gp75)、酪氨酸酶相关蛋白2(TRP2,也称为多巴色素互变异构酶、多巴色素 δ 异构酶或DCT)、血管内皮生长因子受体(VEGFR)、血管内皮生长因子受体2(VEGFR2)、Wilms肿瘤1(WT-1)、病原体特异性或病原体表达的抗原、或与通用标签相关的抗原、和/或生物素化分子、和/或由HIV、HCV、HBV或其他病原体表达的分子。

[0264] 在一些实施方案中,受体靶向的抗原包括与B细胞恶性肿瘤相关的抗原,如许多已知B细胞标记中的任何一种。在一些实施方案中,所述抗原是或包括CD20、CD19、CD22、ROR1、CD45、CD21、CD5、CD33、Ig κ 、Ig λ 、CD79a、CD79b或CD30。在一些实施方案中,抗原是或包括病原体特异性抗原或病原体表达的抗原。在一些实施方案中,抗原是病毒抗原(如来自HIV、HCV、HBV等的病毒抗原)、细菌抗原和/或寄生虫抗原。

[0265] 在一些实施方案中,与疾病或障碍相关的抗原选自孤儿酪氨酸激酶受体ROR1、Her2、L1-CAM、CD19、CD20、CD22、间皮素、CEA、和乙型肝炎表面抗原、抗叶酸受体、CD23、CD24、CD30、CD33、CD38、CD44、EGFR、EGP-2、EGP-4、0EPHa2、ErbB2、3或4、FBP、胎儿乙酰胆碱受体、GD2、GD3、HMW-MAA、IL-22R- α 、IL-13R- α 2、kdr、 κ 轻链、路易斯Y、L1细胞粘附分子、MAGE-A1、间皮素、MUC1、MUC16、PSCA、NKG2D配体、NY-ESO-1、MART-1、gp100、癌胚胎抗原、ROR1、TAG72、VEGF-R2、癌胚抗原(CEA)、前列腺特异性抗原、PSMA、Her2/neu、雌激素受体、孕酮受体、肝配蛋白B2、CD123、CS-1、c-Met、GD-2和MAGE A3、CE7、Wilms肿瘤1(WT-1)、细胞周期蛋白(如细胞周期蛋白A1(CCN1))和/或生物素化分子、和/或由HIV、HCV、HBV表达的分子或其他病原体。

[0266] 在一些实施方案中,细胞疗法(例如,过继T细胞疗法)通过自体转移进行,其中从接受细胞疗法的受试者或从源自这种受试者的样品中分离和/或以其他方式制备细胞。因此,在一些方面,所述细胞源自需要治疗的受试者(例如,患者),并且在分离和加工后将所述细胞给予同一受试者。

[0267] 在一些实施方案中,所述细胞疗法(例如,过继T细胞疗法)通过同种异体转移进行,其中从将要接受或最终接受细胞疗法的受试者以外的受试者(例如,第一受试者)分离和/或以其他方式制备细胞。在此类实施方案中,然后将所述细胞给予相同物种的不同受试者,例如第二受试者。在一些实施方案中,所述第一和第二受试者在遗传上是相同的。在一些实施方案中,第一和第二受试者在遗传上是相似的。在一些实施方案中,第二受试者表达

与第一受试者相同的HLA类别或超型。

[0268] 所述细胞可以通过任何合适的方式给予,例如通过推注输注,通过注射(例如静脉内或皮下注射、眼内注射、眼周注射、视网膜下注射、玻璃体内注射、经中隔注射、巩膜下注射、脉络膜内注射、前房内注射、结膜下(subconjunctival)注射、结膜下(subconjunctival)注射、眼球筋膜囊下(sub-Tenon)注射、眼球后注射、眼球周注射或后近巩膜(posterior juxtасcleral)递送。在一些实施方案中,它们通过肠胃外、肺内和鼻内给予以及(如果需要用于局部治疗的话)病灶内给予。肠胃外输注包括肌肉内、静脉内、动脉内、腹膜内或皮下给予。在一些实施方案中,给定剂量是通过所述细胞的单次推注给予来给予。在一些实施方案中,给定剂量通过细胞的多次推注给药例如在不超过3天的时间段内来给予,或通过细胞的连续输注给药。

[0269] 为了预防或治疗疾病,适当的剂量可取决于待治疗的疾病类型、细胞或重组受体的类型、疾病的严重程度和病程、是针对预防目的还是治疗目的给予细胞、先前的疗法、受试者的临床病史和对细胞的应答以及主治医师的决断。在一些实施方案中,适合将组合物和细胞一次或在一系列治疗中给予至受试者。

[0270] 在一些实施方案中,将所述细胞作为组合治疗的一部分给予,如与另一种治疗性干预如抗体或工程化细胞或受体或其他药剂(如细胞毒性剂或治疗剂)同时给予或以任何顺序依序给予。在一些实施方案中,所述细胞与一种或多种另外的治疗剂共同给予或与另一种治疗性干预联合给予(同时或以任何顺序依序给予)。在一些背景下,所述细胞是与另一种疗法共给予,其时间足够接近,使得细胞群增强一种或多种另外的治疗剂的作用,或反之亦然。在一些实施方案中,在一种或多种另外的治疗剂之前给予细胞。在一些实施方案中,将细胞在所述一种或多种另外的治疗剂之后给予。在一些实施方案中,一种或多种另外的药剂包括细胞因子(如IL-2)以例如增强持久性。在一些实施方案中,所述方法包括给予化学治疗剂。

[0271] 在一些实施方案中,所述方法包括在所述给予之前给予化学治疗剂(例如,调理性化学治疗剂)例如以减小肿瘤负荷。

[0272] 用免疫清除(例如,淋巴细胞清除)疗法预调理受试者在一些方面可以改进过继细胞疗法(ACT)的效果。

[0273] 因此,在一些实施方案中,所述方法包括在开始细胞疗法之前将预调理剂给予至受试者,所述预调理剂如淋巴细胞清除剂或化学治疗剂,如环磷酰胺、氟达拉滨或其组合。例如,可以在开始细胞疗法之前至少2天(例如至少3、4、5、6或7天),向受试者给予预处理剂。在一些实施方案中,在开始细胞疗法之前不超过7天(如之前不超过6、5、4、3或2天),向受试者给予预调理剂。

[0274] 在一些实施方案中,用环磷酰胺以在或在约20mg/kg与在或在约100mg/kg之间,如在或在约40mg/kg与或约80mg/kg之间的剂量对受试者进行预调理。在一些方面,用60mg/kg的环磷酰胺或者用为或为约60mg/kg的环磷酰胺对受试者进行预调理。在一些实施方案中,可以将环磷酰胺以单一剂量给予或者可以按多个剂量给予,如每天给药、每隔一天给药或每三天给药。在一些实施方案中,每天一次给予环磷酰胺,持续一天或两天。

[0275] 在一些实施方案中,当淋巴细胞清除剂包含氟达拉滨时,向受试者给予剂量在或在约1mg/m²与或约100mg/m²之间、如在或在约10mg/m²与或约75mg/m²之间、在或在约

15mg/m²与或约50mg/m²之间、或在约20mg/m²与或约30mg/m²之间、或在约24mg/m²与或约26mg/m²之间的氟达拉滨。在一些情形下,向受试者给予25mg/m²的氟达拉滨。在一些实施方案中,氟达拉滨可以按单一剂量给予或者可以按多个剂量给予,如每天给药、每隔一天给药或每三天给药。在一些实施方案中,每天给予氟达拉滨,如持续1-5天,例如持续3至5天。

[0276] 在一些实施方案中,淋巴细胞清除剂包含药剂的组合,如环磷酰胺和氟达拉滨的组合。因此,药剂的组合可包括任何剂量或给予时间表(如上述那些剂量或给予时间表)下的环磷酰胺以及任何剂量或给予时间表(如上述那些剂量或给予时间表)下的氟达拉滨。例如,在一些方面,在第一剂量或后续剂量之前,向受试者给予60mg/kg(约2g/m²)的环磷酰胺和3至5个剂量的25mg/m²氟达拉滨。

[0277] 在给予细胞后,工程化细胞群的生物学活性在一些实施方案中是例如通过许多已知方法中的任一种来测量。要评估的参数包括工程化或天然T细胞或其他免疫细胞与抗原的体内(例如通过成像)或离体(例如通过ELISA或流式细胞术)的特异性结合。在某些实施方案中,工程化细胞破坏靶细胞的能力可以使用本领域已知的任何合适的方法来测量,所述方法例如描述于例如以下文献中的细胞毒性测定:Kochenderfer等人,J.Immunotherapy,32(7):689-702(2009)和Herman等人J.Immunological Methods,285(1):25-40(2004)。在某些实施方案中,通过测定一种或多种细胞因子(例如CD107a、IFN γ 、IL-2和TNF)的表达和/或分泌来测量细胞的生物学活性。在一些方面,所述生物活性是通过评估临床结果(如肿瘤负荷或负担的减小)来测量。

[0278] 在某些实施方案中,将所述工程化细胞以许多方式进一步修饰,使得增加其治疗或预防功效。例如,由该群体表达的工程化的CAR或TCR可以直接或通过接头间接缀合至靶向部分。将化合物(例如,CAR或TCR)与靶向部分缀合的实践在本领域是已知的。参见例如,Wadwa等人,J.Drug Targeting 3:1 1 1(1995)和美国专利5,087,616。

[0279] A.给药

[0280] 在一些实施方案中,向受试者给予实现或可能实现CAR⁺ T细胞的治疗范围和/或窗口的剂量。在一些实施方案中,所述方法涉及给予一定剂量的细胞,其量会或可能会在血液中实现在一范围内的峰值CAR⁺细胞数量,其中所述峰值CAR⁺细胞数量具有小于引起毒性的某一估计概率的概率。在一些实施方案中,所述方法涉及给予一定剂量的细胞,其量会或可能会在血液中实现在一范围内的峰值CAR⁺细胞数量,其中所述峰值CAR⁺细胞数量具有超过引起反应或持久反应的某一估计概率的概率。在一些情况下,所述细胞的量是有效治疗疾病或病症的量,例如治疗有效量或预防有效量。在一些情况下,实现反应的估计概率大于或大于约65%、大于或大于约70%、大于或大于约75%、大于或大于约80%、大于或大于约85%、大于或大于约90%、大于或大于约95%或更大。在一些情况下,在毒性概率曲线上,引起毒性的估计概率小于或小于约35%、小于或小于约30%、小于或小于约25%、小于或小于约20%、小于或小于约15%、小于或等于10%或小于或小于约5%。在一些实施方案中,细胞剂量既高于实现反应的所需估计概率,又低于引起毒性的所需估计概率。

[0281] 在一些实施方案中,所给予细胞的量或剂量基于对参数的评估,例如药代动力学参数,以及反应和/或毒性的估计概率,例如,如章节II中所述。

[0282] 在一些实施方案中,所述方法涉及给予足够数量或剂量的细胞以在受试者中实现

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

[0283] 在一些实施方案中,治疗窗口或范围是如上文(例如章节II中)所述来确定。在一些实施方案中,治疗范围基于先前用基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3+CAR+ T细胞或其CD8+CAR+ T细胞子集的范围,所述范围与大于或大于约65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高的估计反应概率和小于或小于约30%、25%、20%、15%、10%、5%或更低的估计毒性概率相关。

[0284] 在一些实施方案中,治疗窗口或范围是基于细胞(例如CD3+、CD4+或CD8+ T细胞)的数量和/或浓度的特定范围确定的。在一些实施方案中,血液中可以实现治疗窗口的示例性峰值CD3+CAR+ T细胞浓度是或包括在或在约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、30、40、50个CD3+CAR+ T细胞/微升血液与或与约200、300、400、500、600、700或750个CD3+CAR+ T细胞/微升血液之间。在一些实施方案中,血液中可以实现治疗窗口的示例性峰值CD8+CAR+ T细胞浓度是或包括在或在约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、30、40、50个CD8+CAR+ T细胞/微升血液与或与约200、300、400、500、600、700或750个CD8+CAR+ T细胞/微升血液之间。

[0285] 在一些实施方案中,目标治疗范围或窗口是在给予后血液中的在或在约10个细胞/微升与或与约500个细胞/微升之间的峰值CD3+CAR+ T细胞浓度。在一些实施方案中,目标治疗范围或窗口是在给予后血液中的在或在约2个细胞/微升与或与约200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR+ T细胞浓度。

[0286] 在一些实施方案中,提供了向受试者给药的方法,所述方法涉及向患有疾病或病症的受试者给予一定剂量的包含表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞的基因工程化细胞,其中所述剂量包含的所述基因工程化细胞的数量足以在所述受试者中、或在大多数通过所述方法如此治疗的受试者中、或在超过75%的通过所述方法如此治疗的所述受试者中,实现在确定的治疗范围内的血液中的峰值CAR+细胞,其中所述治疗范围是:(i)基于先前用所述基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3+CAR+ T细胞或其CD8+CAR+ T细胞子集的范围,所述范围与大于或大于约65%的估计反应概率以及小于或小于约30%的估计毒性概率相关;或(ii)在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约10个细胞/微升与或与约500个细胞/微升之间的峰值CD3+CAR+ T细胞;或(iii)在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约2个细胞/微升与或与约200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR+ T细胞。

[0287] 在一些实施方案中,提供了向受试者给药的方法,所述方法涉及(a)向患有疾病或病症的受试者给予次最佳剂量的包含用嵌合抗原受体(CAR)工程化的T细胞的基因工程化细胞,其中所述剂量包含的所述基因工程化细胞的数量不足以在所述受试者中、或在大多数通过所述方法如此治疗的受试者中、或在大于75%的通过所述方法如此治疗的受试者中,实现在确定的治疗范围内的血液中的峰值CAR+细胞;以及(b)在给予所述基因工程化细胞后,给予药剂以增强所述受试者中的CAR+细胞扩增或增殖从而实现在所述治疗范围内的血液中的峰值CAR+ T细胞,其中所述治疗范围是:(i)基于先前用基因工程化细胞治疗的一

个或多个受试者的血液中的峰值CD3+CAR+ T细胞或其CD8+CAR+ T细胞子集的范围,所述范围与大于或约65%的估计反应概率和小于或约30%的估计毒性概率相关;或(ii)在给予基因工程化细胞之后,血液中的在或在约10个细胞/微升与或与约500个细胞/微升之间的峰值CD3+CAR+ T细胞;或(iii)在给予基因工程化细胞之后,血液中的在或在约2个细胞/微升与或与约200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR+ T细胞。在一些实施方案中,向受试者给予可实现目标治疗范围或窗口的剂量。在一些实施方案中,所述剂量为小于或小于约 1×10^7 个表达CAR的细胞、小于或小于约 5×10^6 个表达CAR的细胞、小于或小于约 2.5×10^6 个表达CAR的细胞、小于或小于约 1×10^6 个表达CAR的细胞、小于或小于约 5×10^5 个表达CAR的细胞、小于或小于约 2.5×10^5 个表达CAR的细胞、小于或小于约 1×10^5 个表达CAR的细胞。

[0288] 在过继细胞疗法的背景下,给定“剂量”的给予涵盖以单一组合物和/或单次不间断给予的方式(例如以单次注射或连续输注的方式)给予给定量或数量的细胞,并且还涵盖以分割剂量的方式给予给定量或数量的细胞,所述分割剂量是在不超过3天的指定时间段中在多个单独组合物或输注中提供。因此,在一些背景下,所述剂量是指定数量的细胞的单一或连续给予,在单一时间点给予或起始。然而,在一些背景下,所述剂量是在不超过三天的时间段中以多次注射或输注给予,如一天一次持续三天或持续两天,或通过在一时间段中多次输注来给予。

[0289] 因此,在一些方面,将所述细胞剂量以单一药物组合物给予。在一些实施方案中,将所述剂量的细胞以共同含有第一剂量的细胞的多种组合物给予。

[0290] 术语“分割剂量”是指分割的剂量,使其在超过一天的时间内给予。这种类型的给药包括在本发明方法中并且被认为是单一剂量。

[0291] 因此,在一些方面,所述剂量可作为分割剂量给予。例如,在一些实施方案中,所述剂量可以在2天内或在3天内给予至所述受试者。用于分割给药的示例性方法包括在第一天给予25%的剂量并在第二天给予剩余的75%的剂量。在其他实施方案中,可以在第一天给予33%的第一剂量,并且在第二天给予剩余的67%。在一些方面,在第一天给予所述剂量的10%,在第二天给予所述剂量的30%,并且在第三天给予所述剂量的60%。在一些实施方案中,所述分割剂量持续不超过3天。

[0292] 在一些实施方案中,所述剂量的细胞可以通过给予多种组合物或溶液(如第一和第二,任选更多)来给予,每种组合物或溶液含有所述剂量的一些细胞。在一些方面,任选地在一定时间段内,分开地或独立地给予多个组合物,每个组合物含有不同细胞群和/或细胞亚型。例如,细胞群或细胞亚型可以分别包括CD8⁺和CD4⁺ T细胞,和/或分别包括富集CD8⁺和CD4⁺的群体,例如CD4⁺和/或CD8⁺ T细胞,其各自单独地包括基因工程化以表达重组受体的细胞。在一些实施方案中,所述剂量的给予包括给予第一组合物,其包含一定剂量的CD8⁺ T细胞或一定剂量的CD4⁺ T细胞;以及给予第二组合物,其包含另一剂量的CD4⁺ T细胞和CD8⁺ T细胞。

[0293] 在一些实施方案中,组合物或剂量的给予(例如,所述多种细胞组合物的给予)涉及分开给予细胞组合物。在一些方面,分开给予同时或按任何顺序依序进行。在一些实施方案中,所述剂量包含第一组合物和第二组合物,并且第一组合物和第二组合物的给予相隔0至12小时、相隔0至6小时或相隔0至2小时。在一些实施方案中,第一组合物的给予的开始和第二组合物的给予的开始相隔不超过2小时、不超过1小时或不超过30分钟,相隔不超过15

分钟、不超过10分钟或不超过5分钟进行。在一些实施方案中,第一组合物的给予的开始和/或完成和第二组合物的给予的完成和/或开始相隔不超过2小时、不超过1小时或不超过30分钟,相隔不超过15分钟、不超过10分钟或不超过5分钟进行。

[0294] 在一些组合物中,第一组合物(例如,所述剂量的第一组合物)包含CD4⁺ T细胞。在一些组合物中,第一组合物(例如,所述剂量的第一组合物)包含CD8⁺ T细胞。在一些实施方案中,第一组合物是在第二组合物之前给予的。

[0295] 在一些实施方案中,细胞的剂量或组合物包括限定的或目标比率的表达重组受体的CD4⁺细胞与表达重组受体的CD8⁺细胞和/或CD4⁺细胞与CD8⁺细胞,所述比率任选地为约1:1,或者在或在约1:3与或与约3:1之间,如约1:1。在一些方面,具有目标或所需比率的不同细胞群(例如CD4⁺:CD8⁺比率或CAR+CD4⁺:CAR+CD8⁺比率,例如1:1)的组合物或剂量的给予涉及给予含有一个所述群体的细胞组合物,和随后给予包含另一所述群体的单独细胞组合物,其中所述给予是以或大约以目标或所需比率来进行。

[0296] 在一些实施方案中,可以向受试者给予一个或多个连续或后续剂量的细胞。在一些实施方案中,在开始给予第一剂量的细胞后大于或大于约7天、14天、21天、28天或35天给予连续或后续剂量的细胞。细胞的连续或后续剂量可以大于、大致等于或小于第一剂量。在一些实施方案中,可以重复T细胞疗法的给予(如第一和/或第二细胞剂量的给予)。

[0297] 在一些实施方案中,根据所提供的方法将细胞剂量给予至受试者。在一些实施方案中,剂量的大小或时间安排根据所述受试者的特定疾病或病症确定。熟练技术人员可以熟练地根据经验确定用于特定疾病的剂量的大小或时间安排。剂量可以根据疾病或障碍和/或患者和/或其他治疗特有的属性而变化。

[0298] 在一些方面,第一剂量的给予与连续剂量的给予之间的时间为或为约9至或至约35天、为或为约14至或至约28天或为或为约15至或至约27天。在一些实施方案中,给予连续剂量是在给予第一剂量后大于或大于约14天且小于或小于约28天的时间点。在一些方面,第一剂量与连续剂量之间的时间为或为约21天。在一些实施方案中,在给予连续剂量后给予另外一个或多个剂量(例如连续剂量)。在一些方面,在给予先前剂量后至少或至少约14天且小于或小于约28天给予所述另外一个或多个连续剂量。在一些实施方案中,在先前剂量后小于或小于约14天(例如,在先前剂量后4、5、6、7、8、9、10、11、12或13天)给予另外的剂量。在一些实施方案中,在先前剂量后小于或小于约14天不给予剂量,和/或在先前剂量后超过或超过约28天不给予剂量。

[0299] 在一些实施方案中,细胞(例如,重组受体表达细胞)的剂量包含两个剂量(例如,双剂量),包含T细胞的第一剂量和T细胞的连续剂量,其中第一剂量和第二剂量中的一个或两个包含给予T细胞的分割剂量。

[0300] 在某些实施方案中,向所述受试者给予为或为约10万至或至约1000亿个细胞和/或每公斤受试者体重所述细胞量的范围的细胞或单独细胞亚型群体,如例如10万至或至约500亿个细胞(例如,为或为约500万个细胞、为或为约2500万个细胞、为或为约5亿个细胞、为或为约10亿个细胞、为或为约50亿个细胞、为或为约200亿个细胞、为或为约300亿个细胞、为或为约400亿个细胞或由任两个前述值定义的范围)、100万至或至约500亿个细胞(例如,为或为约500万个细胞、为或为约2500万个细胞、为或为约5亿个细胞、为或为约10亿个细胞、为或为约50亿个细胞、为或为约200亿个细胞、为或为约300亿个细胞、为或为约400亿

个细胞或由任两个前述值定义的范围), 如为或为约1000万至或至约1000亿个细胞(例如, 为或为约2000万个细胞、为或为约3000万个细胞、为或为约4000万个细胞、为或为约6000万个细胞、为或为约7000万个细胞、为或为约8000万个细胞、为或为约9000万个细胞、为或为约100亿个细胞、为或为约250亿个细胞、为或为约500亿个细胞、为或为约750亿个细胞、为或为约900亿个细胞或由任两个前述值定义的范围), 并且在一些情况下, 为或为约1亿个细胞至或至约500亿个细胞(例如, 为或为约1.2亿个细胞、为或为约2.5亿个细胞、为或为约3.5亿个细胞、为或为约4.5亿个细胞、为或为约6.5亿个细胞、为或为约8亿个细胞、为或为约9亿个细胞、为或为约30亿个细胞、为或为约300亿个细胞、为或为约450亿个细胞) 或在这些范围和/或每公斤受试者体重的这些范围之间的任何值。剂量可以根据疾病或障碍和/或患者和/或其他治疗特有的属性而变化。在一些实施方案中, 这些值是指表达重组受体的细胞的数量; 在其他实施方案中, 它们是指给予的T细胞或PBMC或总细胞的数量。

[0301] 在一些实施方案中, 细胞疗法包括给予包含许多细胞的剂量, 所述剂量为至少或至少约或者为或为约 0.1×10^6 个细胞/kg受试者体重、 0.2×10^6 个细胞/kg、 0.3×10^6 个细胞/kg、 0.4×10^6 个细胞/kg、 0.5×10^6 个细胞/kg、 1×10^6 个细胞/kg、 2.0×10^6 个细胞/kg、 3×10^6 个细胞/kg或 5×10^6 个细胞/kg。

[0302] 在一些实施方案中, 细胞疗法包括给予包含一定数量的细胞的剂量, 所述数量为在或在约 0.1×10^6 个细胞/kg受试者体重与或与约 1.0×10^7 个细胞/kg之间、在或在约 0.5×10^6 个细胞/kg与或与约 5×10^6 个细胞/kg之间、在或在约 0.5×10^6 个细胞/kg与或与约 3×10^6 个细胞/kg之间、在或在约 0.5×10^6 个细胞/kg与或与约 2×10^6 个细胞/kg之间、在或在约 0.5×10^6 个细胞/kg与或与约 1×10^6 个细胞/kg之间、在或在约 1.0×10^6 个细胞/kg受试者体重与或与约 5×10^6 个细胞/kg之间、在或在约 1.0×10^6 个细胞/kg与或与约 3×10^6 个细胞/kg之间、在或在约 1.0×10^6 个细胞/kg与或与约 2×10^6 个细胞/kg之间、在或在约 2.0×10^6 个细胞/kg受试者体重与或与约 5×10^6 个细胞/kg之间、在或在约 2.0×10^6 个细胞/kg与或与约 3×10^6 个细胞/kg之间或者在或在约 3.0×10^6 个细胞/kg受试者体重与或与约 5×10^6 个细胞/kg之间(每个都包含端值)。

[0303] 在一些实施方案中, 细胞剂量包含在 2×10^5 或约 2×10^5 个细胞/kg和 2×10^6 或约 2×10^6 个细胞/kg之间, 如在 4×10^5 或约 4×10^5 个细胞/kg和 1×10^6 或约 1×10^6 个细胞/kg之间或在 6×10^5 或约 6×10^5 个细胞/kg和 8×10^5 或约 8×10^5 个细胞/kg之间。在一些实施方案中, 细胞剂量包含不超过 2×10^5 个细胞(例如表达抗原的细胞, 如表达CAR的细胞)/公斤受试者体重(细胞/kg), 如不超过或不超过约 3×10^5 个细胞/kg、不超过或不超过约 4×10^5 个细胞/kg、不超过或不超过约 5×10^5 个细胞/kg、不超过或不超过约 6×10^5 个细胞/kg、不超过或不超过约 7×10^5 个细胞/kg、不超过或不超过约 8×10^5 个细胞/kg、不超过或不超过约 9×10^5 个细胞/kg、不超过或不超过约 1×10^6 个细胞/kg或者不超过或不超过约 2×10^6 个细胞/kg。在一些实施方案中, 细胞剂量包含至少 2×10^5 个细胞或至少约 2×10^5 个细胞或 2×10^5 个细胞或约 2×10^5 个细胞(例如表达抗原的细胞, 如表达CAR的细胞)/公斤受试者体重(细胞/kg), 如至少 3×10^5 个细胞/kg或至少约 3×10^5 个细胞/kg或 3×10^5 个细胞/kg或约 3×10^5 个细胞/kg、至少 4×10^5 个细胞/kg或至少约 4×10^5 个细胞/kg或 4×10^5 个细胞/kg或约 4×10^5 个细胞/kg、至少 5×10^5 个细胞/kg或至少约 5×10^5 个细胞/kg或 5×10^5 个细胞/kg或约 5×10^5 个细胞/kg、至少 6×10^5 个细胞/kg或至少约 6×10^5 个细胞/kg或 6×10^5 个细胞/kg或约 6×10^5 个

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

[0304] 在一些实施方案中,将所述细胞以所需剂量给予,所述所需剂量在一些方面包括所需剂量或数量的细胞或一种或多种细胞类型和/或所需比率的细胞类型。因此,在一些实施方案中,所述细胞剂量基于细胞总数(或每kg体重的细胞数量)和所需的单独群体或亚型的比率,如CD4⁺与CD8⁺的比率。在一些实施方案中,所述细胞剂量基于所需的单独群体中的细胞或单独细胞类型的总数(或每kg体重的细胞数量)。在一些实施方案中,所述剂量基于此类特征的组合,此类特征是例如所需的总细胞数量、所需比率和所需的单独群体中的细胞总数。

[0305] 在一些实施方案中,以所需剂量的总细胞(如所需剂量的T细胞)的耐受差异或在所述耐受差异之内给予细胞的群体或亚型如CD8⁺和CD4⁺T细胞。在一些方面,所需剂量是所需细胞数量或被给予所述细胞的受试者的每单位体重的所需细胞数量,例如细胞/kg。在一些方面,所需剂量等于或高于最小细胞数量或每单位体重的最小细胞数量。在一些方面,在以所需剂量给予的总细胞中,单独群体或亚型以等于或接近所需输出比率(如CD4⁺与CD8⁺的比率)存在,例如在这种比率的一定耐受差异或误差内。

[0306] 在一些实施方案中,将所述细胞以所需剂量的一种或多种单独细胞群或亚型(如所需剂量的CD4⁺细胞和/或所需剂量的CD8⁺细胞)的耐受差异或在所述耐受差异之内给予。在一些方面,所需剂量是所需的亚型或群体的细胞数量或所需的被给予所述细胞的受试者的每单位体重的此类细胞数量,例如细胞/kg。在一些方面,所述所需剂量等于或高于群体或亚型的最小细胞数量或每单位体重的所述群体或亚型的最小细胞数量。

[0307] 因此,在一些实施方案中,剂量基于所需的总细胞的固定剂量和所需比率,和/或基于所需的一种或多种单独亚型或亚群(例如,各自)的固定剂量。因此,在一些实施方案中,所述剂量基于所需的T细胞的固定或最小剂量和所需的CD4⁺与CD8⁺细胞的比率,和/或基于所需的CD4⁺和/或CD8⁺细胞的固定或最小剂量。

[0308] 在一些实施方案中,将所述细胞以所需输出比率的多种细胞群或亚型(如CD4⁺和CD8⁺细胞或亚型)的耐受范围或在所述耐受范围内给予。在一些方面,所需比率可以是特定比率或者可以是一系列比率。例如,在一些实施方案中,所需比率(例如,CD4⁺与CD8⁺细胞的比率)在或在约1:5与或约5:1之间(或大于约1:5且小于约5:1),或在或在约1:3与或约3:1之间(或大于约1:3且小于约3:1),如在或在约2:1与或约1:5之间(或大于约1:5且小于约2:1),如为或为约5:1、4.5:1、4:1、3.5:1、3:1、2.5:1、2:1、1.9:1、1.8:1、1.7:1、1.6:1、1.5:1、1.4:1、1.3:1、1.2:1、1.1:1、1:1、1:1.1、1:1.2、1:1.3、1:1.4、1:1.5、1:1.6、1:1.7、1:1.8、1:1.9、1:2、1:2.5、1:3、1:3.5、1:4、1:4.5或1:5。在一些方面,所述耐受差异在所需比率的约1%、约2%、约3%、约4%、约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%(包括这些范围之间的任何值)内。

[0309] 在特定实施方案中,细胞的数量和/或浓度是指重组受体(例如,CAR)表达细胞的

数量。在其他实施方案中,细胞的数量和/或浓度是指所给予的所有细胞、T细胞或外周血单核细胞(PBMC)的数量或浓度。

[0310] 在一些实施方案中,例如在受试者是人的情况下,所述剂量包含少于约 5×10^8 个总重组受体(例如,CAR)表达细胞、T细胞或外周血单核细胞(PBMC),例如在为或为约 1×10^6 至或至约 5×10^8 个此类细胞的范围内(如为或为约 2×10^6 、 5×10^6 、 1×10^7 、 5×10^7 、 1×10^8 或 5×10^8 个总此类细胞),或任何两个前述值之间的范围内。在一些实施方案中,例如在受试者是人的情况下,所述剂量包含大于或大于约 1×10^6 个总重组受体(例如,CAR)表达细胞、T细胞或外周血单核细胞(PBMC)且少于或少于约 2×10^9 个总重组受体(例如,CAR)表达细胞、T细胞或外周血单核细胞(PBMC),例如在为或为约 2.5×10^7 至或至约 1.2×10^9 个此类细胞的范围内(如为或为约 2.5×10^7 、 5×10^7 、 1×10^8 、 1.5×10^8 、 3×10^8 、 4.5×10^8 、 8×10^8 或 1.2×10^9 个总此类细胞),或任何两个前述值之间的范围内。

[0311] 在一些实施方案中,所述剂量的基因工程化细胞包含从或从约 1×10^5 至或至约 5×10^8 个总CAR表达T细胞、从或从约 1×10^5 至或至约 2.5×10^8 个总CAR表达T细胞、从或从约 1×10^5 至或至约 1×10^8 个总CAR表达T细胞、从或从约 1×10^5 至或至约 5×10^7 个总CAR表达T细胞、从或从约 1×10^5 至或至约 2.5×10^7 个总CAR表达T细胞、从或从约 1×10^5 至或至约 1×10^7 个总CAR表达T细胞、从或从约 1×10^5 至或至约 5×10^6 个总CAR表达T细胞、从或从约 1×10^5 至或至约 2.5×10^6 个总CAR表达T细胞、从或从约 1×10^5 至或至约 1×10^6 个总CAR表达T细胞、从或从约 1×10^6 至或至约 5×10^8 个总CAR表达T细胞、从或从约 1×10^6 至或至约 2.5×10^8 个总CAR表达T细胞、从或从约 1×10^6 至或至约 1×10^8 个总CAR表达T细胞、从或从约 1×10^6 至或至约 5×10^7 个总CAR表达T细胞、从或从约 1×10^6 至或至约 2.5×10^7 个总CAR表达T细胞、从或从约 1×10^6 至或至约 1×10^7 个总CAR表达T细胞、从或从约 1×10^6 至或至约 5×10^6 个总CAR表达T细胞、从或从约 1×10^6 至或至约 2.5×10^6 个总CAR表达T细胞、从或从约 2.5×10^6 至或至约 5×10^8 个总CAR表达T细胞、从或从约 2.5×10^6 至或至约 2.5×10^8 个总CAR表达T细胞、从或从约 2.5×10^6 至或至约 1×10^8 个总CAR表达T细胞、从或从约 2.5×10^6 至或至约 5×10^7 个总CAR表达T细胞、从或从约 2.5×10^6 至或至约 2.5×10^7 个总CAR表达T细胞、从或从约 2.5×10^6 至或至约 1×10^7 个总CAR表达T细胞、从或从约 2.5×10^6 至或至约 5×10^6 个总CAR表达T细胞、从或从约 5×10^6 至或至约 5×10^8 个总CAR表达T细胞、从或从约 5×10^6 至或至约 2.5×10^8 个总CAR表达T细胞、从或从约 5×10^6 至或至约 1×10^8 个总CAR表达T细胞、从或从约 5×10^6 至或至约 5×10^7 个总CAR表达T细胞、从或从约 5×10^6 至或至约 2.5×10^7 个总CAR表达T细胞、从或从约 5×10^6 至或至约 1×10^7 个总CAR表达T细胞、从或从约 1×10^7 至或至约 5×10^8 个总CAR表达T细胞、从或从约 1×10^7 至或至约 2.5×10^8 个总CAR表达T细胞、从或从约 1×10^7 至或至约 1×10^8 个总CAR表达T细胞、从或从约 1×10^7 至或至约 5×10^7 个总CAR表达T细胞、从或从约 1×10^7 至或至约 2.5×10^7 个总CAR表达T细胞、从或从约 2.5×10^7 至或至约 5×10^8 个总CAR表达T细胞、从或从约 2.5×10^7 至或至约 2.5×10^8 个总CAR表达T细胞、从或从约 2.5×10^7 至或至约 1×10^8 个总CAR表达T细胞、从或从约 2.5×10^7 至或至约 5×10^7 个总CAR表达T细胞、从或从约 5×10^7 至或至约 5×10^8 个总CAR表达T细胞、从或从约 5×10^7 至或至约 2.5×10^8 个总CAR表达T细胞、从或从约 5×10^7 至或至约 1×10^8 个总CAR表达T细胞、从或从约 1×10^8 至或至约 5×10^8 个总CAR表达T细胞、从或从约 1×10^8 至或至约 2.5×10^8 个总CAR表达T细胞、从或从约 2.5×10^8 至或至约 5×10^8 个总CAR表达T细胞。

[0312] 在一些实施方案中,所述剂量的基因工程化细胞包含至少或至少约 1×10^5 个CAR表达细胞、至少或至少约 2.5×10^5 个CAR表达细胞、至少或至少约 5×10^5 个CAR表达细胞、至少或至少约 1×10^6 个CAR表达细胞、至少或至少约 2.5×10^6 个CAR表达细胞、至少或至少约 5×10^6 个CAR表达细胞、至少或至少约 1×10^7 个CAR表达细胞、至少或至少约 2.5×10^7 个CAR表达细胞、至少或至少约 5×10^7 个CAR表达细胞、至少或至少约 1×10^8 个CAR表达细胞、至少或至少约 1.5×10^8 个CAR表达细胞、至少或至少约 2.5×10^8 个CAR表达细胞、至少或至少约 3×10^8 个CAR表达细胞、至少或至少约 4.5×10^8 个CAR表达细胞、或至少或至少约 5×10^8 个CAR表达细胞。

[0313] 在一些实施方案中,细胞疗法包括给予包含如下数量的细胞的剂量:从或从约 1×10^5 至或至约 5×10^8 个总重组受体表达细胞、总T细胞或总外周血单核细胞(PBMC),从或从约 5×10^5 至或至约 1×10^7 个总重组受体表达细胞、总T细胞或总外周血单核细胞(PBMC)或从或从约 1×10^6 至或至约 1×10^7 个总重组受体表达细胞、总T细胞或总外周血单核细胞(PBMC),每个都包含端值。在一些实施方案中,细胞疗法包括给予包含如下数量的细胞的细胞剂量:至少或至少约 1×10^5 个总重组受体表达细胞、总T细胞或总外周血单核细胞(PBMC),如至少或至少 1×10^6 、至少或至少约 1×10^7 、至少或至少约 1×10^8 个此类细胞。在一些实施方案中,所述数量是关于CD3+或CD8+的总数,在一些情况下还关于重组受体(例如CAR+)表达细胞。在一些实施方案中,细胞疗法包括给予包含如下数量的细胞的剂量:从或从约 1×10^5 至 5×10^8 个CD3+或CD8+总T细胞或CD3+或CD8+重组受体表达细胞、从或从约 5×10^5 至 1×10^7 个CD3+或CD8+总T细胞或CD3+或CD8+重组受体表达细胞或从或从约 1×10^6 至 1×10^7 个CD3+或CD8+总T细胞或CD3+或CD8+重组受体表达细胞,每个都包含端值。在一些实施方案中,细胞疗法包括给予包含以下细胞数量的剂量:从或从约 1×10^5 至 5×10^8 个总CD3+/CAR+或CD8+/CAR+细胞、从或从约 5×10^5 至 1×10^7 个总CD3+/CAR+或CD8+/CAR+细胞、或从或从约 1×10^6 至 1×10^7 个总CD3+/CAR+或CD8+/CAR+细胞,每个都包含端值。

[0314] 在一些实施方案中,所述剂量的T细胞包括CD4+ T细胞、CD8+ T细胞或CD4+和CD8+ T细胞。

[0315] 在一些实施方案中,例如在受试者是人的情况下,所述剂量的CD8+ T细胞(包括在包括CD4+和CD8+ T细胞的剂量中)包括在或在约 1×10^6 个与或与约 5×10^8 个之间的总重组受体(例如,CAR)表达CD8+细胞,例如在从或从约 5×10^6 至或至约 1×10^8 个此类细胞的范围内(如 1×10^7 、 2.5×10^7 、 5×10^7 、 7.5×10^7 、 1×10^8 、 1.5×10^8 、 3×10^8 、 4.5×10^8 或 5×10^8 个总此类细胞),或任何两个前述值之间的范围内。在一些实施方案中,给予患者多个剂量,并且每个剂量或总剂量可以在任何前述值内。在一些实施方案中,细胞的剂量包括给予从或从约 1×10^7 至或至约 0.75×10^8 个总重组受体表达CD8+ T细胞、从或从约 1×10^7 至或至约 5×10^7 个总重组受体表达CD8+ T细胞、从或从约 1×10^7 至或至约 0.25×10^8 个总重组受体表达CD8+ T细胞,每个都包含端值。在一些实施方案中,细胞的剂量包括给予为或为约 1×10^7 、 2.5×10^7 、 5×10^7 、 7.5×10^7 、 1×10^8 、 1.5×10^8 、 2.5×10^8 、 3×10^8 、 4.5×10^8 或 5×10^8 个总重组受体表达CD8+ T细胞。

[0316] 在一些实施方案中,将细胞(例如,重组受体表达T细胞)的剂量作为单一剂量给予至受试者,或者在两周、一个月、三个月、六个月、1年或更长的时间段内仅给予一次。

[0317] 在一些方面,剂量的大小基于一个或多个标准来确定,如受试者对先前治疗(例如

化学疗法)的反应、受试者的疾病负荷(如肿瘤负担、体积、尺寸或程度)、转移的程度或类型、分期和/或受试者发生毒性结果(例如,CRS、巨噬细胞活化综合征、肿瘤溶解综合征、神经毒性和/或针对所给予的细胞和/或重组受体的宿主免疫应答)的可能性或发生率。

[0318] IV. 监测、评估和调节疗法的方法

[0319] 在一些实施方案中,提供了治疗方法。在一些实施方案中,所述方法包括给予免疫疗法和/或细胞疗法。在一些实施方案中,所述方法涉及给予基因工程化细胞,例如经工程化以表达重组受体(例如嵌合抗原受体(CAR))的细胞。在一些实施方案中,所述方法包括向受试者给予一定剂量的细胞(例如CAR+表达细胞),使得所述细胞在目标治疗范围或窗口内。在一些实施方案中,所述方法还涉及监测参数(如数量或水平,例如药代动力学参数,如峰值细胞浓度(C_{max})),以确定受试者中的细胞是否在治疗范围或窗口内。在一些实施方案中,如果细胞不在治疗范围或窗口内,则可以例如通过给予额外剂量、改变后续或额外剂量和/或通过给予可以调节CAR+ T细胞扩增、增殖和/或活性的药剂来修改治疗。在一些方面,所提供的方法还包括基于对参数的评估确定受试者的剂量的方法或向受试者给药的方法,所述参数例如药代动力学参数如数量或水平,例如峰值细胞浓度(C_{max})、患者属性和/或生物标记。

[0320] 在一些方面,提供了用表达重组受体的细胞调节疗法(例如细胞疗法,例如T细胞疗法)的方法。在一些实施方案中,通过向接受细胞疗法的受试者给予能够调节CAR+ T细胞扩增、增殖、扩增、存活、活性和/或功能(例如,增加或减少CAR+ T细胞扩增、增殖、存活和/或活性)的药剂来调节细胞疗法。

[0321] 在一些实施方案中,在评估药代动力学参数(例如,数量、水平或峰值CAR+ T细胞浓度、暴露(例如,AUC)和/或细胞水平或浓度)后给予所述药剂。在一些实施方案中,在评估其他参数(例如患者属性、因素、特征和/或生物标记的表达)之后给予所述药剂,所述评估与药代动力学参数、反应、持久反应和/或毒性的发生相关和/或相关联。

[0322] 在一些实施方案中,提供了治疗方法,其涉及向患有疾病或病症的受试者给予一定剂量的包含表达重组受体(例如嵌合抗原受体(CAR))的T细胞的基因工程化细胞以便治疗疾病或病症。在一些实施方案中,所述方法涉及在给予所述剂量的基因工程化细胞后,监测受试者血液中的药代动力学参数(例如CAR+ T细胞),以评估所述细胞是否在治疗范围或窗口内。在一些实施方案中,所述方法涉及如果基因工程化细胞不在治疗范围内,则向受试者给予能够在受试者中调节(任选地增加或减少)CAR+ T细胞扩增、增殖和/或活性的药剂。

[0323] 在一些实施方案中,还提供了治疗方法,其涉及在受试者的血液中监测包含表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞的基因工程化细胞的存在,以评估所述细胞是否在治疗范围内,其中受试者先前已经被给予一定剂量的基因工程化细胞以便治疗疾病或病症。在一些实施方案中,所述方法还涉及如果基因工程化细胞不在治疗范围内,则给予能够在受试者中调节(任选地增加或减少)CAR+ T细胞扩增、增殖和/或活性的药剂。

[0324] 在一些方面,如果受试者血液中CAR+ T细胞的数量、水平或峰值数量少于治疗范围中数量、水平或峰值CAR+ T细胞中的最低数量,则向受试者给予能够增加CAR+ T细胞扩增或增殖的药剂。在一些方面,如果受试者血液中CAR+ T细胞的数量、水平或峰值数量大于治疗范围中数量、水平或峰值CAR+ T细胞中的最高数量,则向受试者给予能够减少CAR+ T细胞扩增或增殖的药剂。

[0325] 在一些实施方案中,还提供了调节工程化细胞活性的方法。在一些实施方案中,所述方法涉及评估来自受试者的样品中的参数(例如肿瘤负荷的体积量度或炎性标记)的水平、量或浓度等于或高于阈值水平。在一些实施方案中,样品不包含表达嵌合抗原受体(CAR)的基因工程化T细胞和/或是从接受表达CAR的基因工程化T细胞的给予之前的受试者获得。在一些实施方案中,选择受试者用于给予能够降低表达CAR的基因工程化T细胞的扩增或增殖的药剂。在一些实施方案中,向受试者给予能够降低表达CAR的基因工程化T细胞的扩增或增殖的药剂。

[0326] 在一些实施方案中,还提供了调节工程化细胞活性的方法,其涉及向受试者给予能够在受试者中降低表达嵌合抗原受体(CAR)的基因工程化T细胞的扩增或增殖的药剂,其中所述受试者是其中来自受试者的样品中的参数(例如肿瘤负荷的体积量度或炎性标记)的水平、量或浓度等于或高于阈值水平的受试者。

[0327] 在一些实施方案中,所提供的方法涉及给予基因工程化细胞,例如经工程化以表达重组受体(例如CAR)的T细胞。在一些实施方案中,在开始给予一定剂量的包含表达嵌合抗原受体的T细胞的基因工程化细胞之前或同时,给予能够调节(例如,增加或减少)CAR⁺ T细胞扩增、增殖和/或活性的药剂。在一些方面,在给予所述药剂之前,所选受试者具有在给予基因工程化细胞之后发生毒性的风险。在一些实施方案中,所述药剂的给予足以在受试者中实现在治疗范围或窗口内的数量、水平或峰值CAR⁺ T细胞。在一些实施方案中,所述药剂的给予足以在大多数通过所述方法如此治疗的受试者、或者大于或大于约50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%或95%或更多(如大于或大于约75%)通过所述方法如此治疗的受试者的血液中实现在确定的目标治疗范围或窗口内的数量、水平或峰值CAR⁺ T细胞浓度。

[0328] 在一些实施方案中,还提供了向受试者给药的方法。在一些实施方案中,所述方法包括向患有疾病或病症的受试者给予次最佳剂量的包含用嵌合抗原受体(CAR)工程化的T细胞的基因工程化细胞,其中所述剂量包含的基因工程化细胞数量不足以在受试者中、或在大多数通过所述方法如此治疗的受试者中、或在大于75%的通过所述方法如此治疗的受试者中实现在确定的治疗范围内的血液中的数量、水平或峰值CAR⁺细胞。在一些实施方案中,所述方法涉及给予在受试者中增强CAR⁺细胞扩增或增殖的药剂,以在给予基因工程化细胞后实现在治疗范围或窗口内的血液中的数量、水平或峰值CAR⁺ T细胞。在一些实施方案中,所述剂量的基因工程化细胞是小于或小于约 1×10^7 个表达CAR的细胞、小于或小于约 5×10^6 个表达CAR的细胞、小于或小于约 2.5×10^6 个表达CAR的细胞、小于或小于约 1×10^6 个表达CAR的细胞、小于或小于约 5×10^5 个表达CAR的细胞、小于或小于约 2.5×10^5 个表达CAR的细胞、小于或小于约 1×10^5 个表达CAR的细胞。

[0329] 在一些实施方案中,在给予所述药剂后,所述方法实现了:与涉及给予相同剂量的基因工程化细胞但不给予所述药剂的方法相比,在受试者中在确定的治疗范围内的血液中数量、水平或峰值CAR⁺细胞的频率增加;或在受试者中、或在大多数通过所述方法如此治疗的受试者中、或在大于75%的通过所述方法如此治疗的受试者中,在确定的治疗范围内的血液中的数量、水平或峰值CAR⁺细胞。

[0330] 在一些实施方案中,治疗范围或窗口是如本文(例如,在章节II或其他地方)中所述来确定。在一些实施方案中,治疗范围基于先前用基因工程化细胞治疗的一个或多个受

试者的血液中的数量、水平或峰值CD3+CAR+ T细胞或其CD8+CAR+ T细胞子集的范围,所述范围与大于或大于约65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高的估计反应概率和小于或约30%、25%、20%、15%、10%、5%或更低的估计毒性概率相关。

[0331] 在一些实施方案中,治疗窗口或范围是基于细胞(例如CD3+、CD4+或CD8+ T细胞)的数量和/或浓度的特定范围确定的。在一些实施方案中,血液中可以实现治疗窗口的示例性数量、水平或峰值CD3+CAR+ T细胞浓度是或包括在约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、20、30、40、50个CD3+CAR+ T细胞/微升血液与约200、300、400、500、600、700或750个CD3+CAR+ T细胞/微升血液之间。在一些实施方案中,血液中可以实现治疗窗口的示例性数量、水平或峰值CD8+CAR+ T细胞浓度是或包括在大约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、20、30、40、50个CD8+CAR+ T细胞/微升血液与约200、300、400、500、600、700或750个CD8+CAR+ T细胞/微升血液之间。

[0332] 在一些实施方案中,所述方法还涉及在给予所述剂量的基因工程化细胞后监测受试者血液中的CAR+ T细胞。

[0333] 在一些实施方案中,在开始给予基因工程化细胞后至少8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天或21天的时间,监测受试者血液中的CAR+ T细胞。在一些实施方案中,在开始给予所述基因工程化细胞后在或在约11天至22天、12天至18天或14天至16天之间的时间监测所述受试者的血液中的CAR+ T细胞,所述时间中的每个都包含端值。

[0334] 还提供了评估反应或持久反应的可能性的方法,以及相应地给予治疗剂的方法。在一些实施方案中,所述方法涉及在来自受试者的生物样品中检测一种或多种炎性标记的峰值水平和/或基因工程化细胞(包含表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞)的峰值水平,其中所述受试者先前已经被给予一定剂量的基因工程化细胞以便治疗疾病或病症。在一些实施方案中,所述方法涉及单独地比较峰值水平与阈值,从而确定受试者将实现对基因工程化细胞给予的持久反应的可能性。

[0335] 在一些实施方案中,如果一种或多种炎性标记的峰值水平低于阈值,则受试者可能实现反应或持久反应,并且如果一种或多种炎性标记的峰值水平高于阈值,则受试者不太可能实现持久反应。在一些实施方案中,如果基因工程化细胞的峰值水平在下限阈值与上限阈值之间的治疗范围内,则受试者可能实现持久反应,并且如果基因工程化细胞的峰值水平低于下限阈值或高于上限阈值,则受试者不太可能实现持久反应。

[0336] 在一些实施方案中,阈值是如下值:在高于体积量度或炎性标记的平均值的25%内、20%内、15%内、10%内或5%内,和/或在高于多个对照受试者的体积量度或炎性标记的平均值的标准差内。在一些实施方案中,阈值是如下值:高于在多个对照受试者中的至少一个受试者中测量的体积量度或炎性标记的最高值,任选地在高于这个最高倍数变化的50%内、25%内、20%内、15%内、10%内或5%内。在一些实施方案中,阈值如下值:高于如在多个对照受试者中超过75%、80%、85%、90%或95%或98%的受试者中所测量的体积量度或炎性标记的最高值。在一些实施方案中,所述多个对照受试者是在接受一定剂量的基因工程化细胞之前的受试者组,其中:所述组的每个对照受试者在血液中展现出比所述治疗范围内的最高峰值CAR+ T细胞高的峰值CAR+ T细胞;所述组的每个对照受试者在接受一定剂量的工程化细胞用于治疗相同疾病或病症后,继续发生毒性,任选神经毒性或细胞因

子释放综合征 (CRS)、2级或3级或更高级神经毒性或者3级或更高级CRS;所述组的每个对照受试者在给予所述剂量的基因工程化细胞之后,均未发生反应、任选完全反应 (CR) 或部分反应 (PR);和/或所述组的每个对照受试者在给予所述剂量的基因工程化细胞之后,均未发生任选持续为或约或大于或大于约3个月或者持续为或约或大于或大于约6个月的持久反应。

[0337] 在一些实施方案中,所述方法还涉及基于对实现反应或持久反应的可能性的评估,给予药剂或替代疗法。在一些实施方案中,如果确定受试者不太可能实现反应或持久反应,则选择所述受试者以用除了所述基因工程化细胞之外的治疗剂或替代性治疗性治疗来治疗。在一些实施方案中,如果确定受试者不太可能实现反应或持久反应,则向受试者给予除了所述基因工程化细胞之外的治疗剂或替代性治疗性治疗。

[0338] 在一些实施方案中,还提供了治疗方法,其涉及选择受试者用于给予治疗剂和/或替代性治疗性治疗。在一些实施方案中,所述方法涉及选择已经接受包含表达嵌合抗原受体 (CAR) 的T细胞的基因工程化细胞的给予的受试者,其中:来自受试者的样品中的一种或多种炎性标记的峰值水平高于阈值;和/或来自受试者的样品中的包含嵌合抗原受体 (CAR) 的T细胞的峰值水平低于下限阈值或高于上限阈值。

[0339] 在一些实施方案中,所述反应是完全反应 (CR)、客观反应 (OR) 或部分反应 (PR)。在一些实施方案中,反应在等于或大于3个月、4个月、5个月或6个月内是持久的。

[0340] 在一些实施方案中,在开始给予基因工程化细胞后至少8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天或21天的时间评估峰值水平和/或从受试者获得样品。在一些实施方案中,在开始给予所述基因工程化细胞后在或在约11天至22天、12天至18天或14天至16天之间的时间评估所述峰值水平和/或从所述受试者获得所述样品,所述时间中的每个都包含端值。

[0341] 在一些实施方案中,峰值水平是或包括一种或多种炎性标记的峰值水平,所述炎性标记例如为C反应蛋白 (CRP)、IL-2、IL-6、IL-10、IL-15、TNF- α 、MIP-1 α 、MIP-1 β 、MCP-1、CXCL10或CCL13。

[0342] 在一些实施方案中,评估一种或多种炎性标记的峰值水平,并且所述阈值在所述炎性标记的峰值水平的中值或平均值的25%内、20%内、15%内、10%内或5%内和/或在所述炎性标记的峰值水平的中值或平均值的标准差内,如在已经接受所述基因工程化细胞的给予的对照受试者组中所确定的,其中任选地在给予所述基因工程化细胞后等于或大于3个月或6个月,所述组的每个受试者未实现持久反应、任选CR和/或PR。在一些实施方案中,在给予基因工程化细胞之后,任选地在给予基因工程化细胞之后等于或大于3个月或6个月,对照受试者展现出稳定疾病 (SD) 或进行性疾病 (PD)。在一些实施方案中,峰值水平是CAR⁺ T细胞或其CD8⁺ T细胞子集的峰值水平。

[0343] 在一些实施方案中,下限阈值和上限阈值分别是先前用基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者血液中的峰值CD3⁺CAR⁺ T细胞或其CD8⁺CAR⁺T细胞子集的治疗范围的下限和上限,所述范围与大于或大于约65%的估计反应概率和小于或约30%的估计毒性概率相关。在一些实施方案中,治疗范围是如下范围,其中毒性的估计概率小于或小于约20%、小于或小于约15%、小于或小于约10%或小于或小于约5%,并且实现反应的估计概率为大于或大于约65%、大于或大于约70%、大于或大于约75%、大于或大于约80%、大于或大于约

85%、大于或大于约90%、大于或大于约95%或更大。

[0344] 在一些实施方案中,所述反应概率基于作为完全反应(CR)、客观反应(OR)或部分反应(PR)的反应,任选地其中所述反应是持久的,任选在等于或至少3个月或者等于或至少6个月内持久的。

[0345] 在一些实施方案中,将数量、水平或峰值CAR⁺ T细胞确定为所述受试者血液中的CAR⁺ T细胞数量/微升。在一些实施方案中,上限阈值在或在约300个细胞/微升与或与约1000个细胞/微升之间或在或在约400个细胞/微升与或与约600个细胞/微升之间,或者为或为约300个细胞/微升、400个细胞/微升、500个细胞/微升、600个细胞/微升、700个细胞/微升、800个细胞/微升、900个细胞/微升或1000个细胞/微升;或下限阈值为小于或小于约10个细胞/微升、9个细胞/微升、8个细胞/微升、7个细胞/微升、6个细胞/微升、5个细胞/微升、4个细胞/微升、3个细胞/微升、2个细胞/微升或1个细胞/微升。

[0346] 在本文所提供的方法的一些实施方案中,在所治疗的多个受试者中,与不包括给予药剂的方法相比,所述方法实现了实现持久反应、任选完全反应(CR)或客观反应(OR)或部分反应(PR)的受试者的百分比的增加,所述持久反应任选在等于或大于3个月或等于或大于6个月内是持久的。在一些实施方案中,所述增加大于或大于约1.2倍、1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍或更多。

[0347] 在一些实施方案中,至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%或至少50%的根据所述方法治疗的受试者实现持续等于或大于3个月或等于或大于6个月的完全反应(CR);和/或至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%或至少70%的根据所述方法治疗的受试者实现在等于或大于3个月或等于或大于6个月内持久的客观反应(OR)。在一些实施方案中,大于或大于约50%、大于或大于约60%、大于或大于约70%、或者大于或大于约80%的根据所述方法治疗的受试者不展现3级或更高级细胞因子释放综合征(CRS)和/或不展现2级或更高级或3级或更高级神经毒性;或大于或大于约40%、大于或大于约50%、或者大于或大于约55%的根据所述方法治疗的受试者不展现任何神经毒性或CRS。

[0348] 在一些实施方案中,在给予疗法(例如细胞疗法)之前评估参数,例如患者和/或疾病或病症的属性、因素、特征和/或生物标记的表达。在一些实施方案中,在给予疗法(例如细胞疗法)之后评估参数,例如患者和/或疾病或病症的属性、因素、特征和/或生物标记的表达。在一些实施方案中,参数包括患者和/或疾病或病症的属性、因素、特征和/或生物标记的表达的水平或测量值,例如,峰值水平,所述参数可在给予疗法(例如,细胞疗法)之后评估。

[0349] 在一些实施方案中,所述参数是与肿瘤负荷相关的参数,例如,肿瘤负荷的测量。在一些方面,所述方法还涉及基于通过评估生物标记的存在或不存在和/或将生物标记与所述生物标记的参考值或阈值水平相比较而确定的毒性风险,进一步监测所述受试者可能的毒性症状。

[0350] 在一些实施方案中,参数是SPD,并且在一些情况下,毒性(例如CRS或NT)的发生与高于阈值的SPD值相关联。在一些实施方案中,所述体积量度是SPD,并且所述阈值为或为约30cm²,为或为约40cm²,为或为约50cm²,为或为约60cm²,或者为或为约70cm²。在一些实施方案中,所述体积量度是SPD,并且所述阈值为或为约30cm²,为或为约40cm²,为或为约50cm²,

为或为约60cm²,或者为或为约70cm²。

[0351] 在一些实施方案中,参数是LDH,并且在一些情况下,毒性(例如CRS或NT)的发生与高于阈值的LDH值相关联。在一些实施方案中,炎性标记是LDH,并且阈值为或为约300单位/升,为或为约400单位/升,为或为约500单位/升或者为或为约600单位/升。

[0352] A. 药代动力学参数

[0353] 在一些情况下,所提供的实施方案涉及基于对药代动力学(PK)参数的评估,向受试者给予能够调节CAR+ T细胞扩增、增殖和/或活性的药剂。在一些实施方案中,药代动力学参数包括本文(例如,在章节II.C中)所述的那些参数中的任何一种。在一些实施方案中,药代动力学参数包括最大(峰值)血浆浓度(C_{max})、峰值时间(即,出现最大血浆浓度(C_{max})的时间;T_{max})、最小血浆浓度(即治疗剂(例如CAR+ T细胞)的剂量之间的最小血浆浓度;C_{min})、给予后的消除半衰期(T_{1/2})和曲线下面积(即通过标绘时间与治疗剂CAR+ T细胞的血浆浓度产生的曲线下面积;AUC)。

[0354] 在一些实施方案中,如果所评估的药代动力学参数指示所给予的细胞剂量不在治疗范围和/或窗口内或落在所述治疗范围和/或窗口外,则可以向受试者给予能够调节CAR+ T细胞扩增、增殖和/或活性的药剂。在一些实施方案中,所述治疗范围和/或窗口是本文所述的任一种和/或与本文所述的任何药代动力学参数相关。

[0355] 在一些实施方案中,如果药代动力学参数(例如,受试者血液中CAR+ T细胞的峰值数量)小于治疗范围内所述药代动力学参数(例如,受试者血液中CAR+ T细胞的峰值数量)的最低数量,则向受试者给予增加CAR+ T细胞扩增、增殖和/或活性的药剂。

[0356] 在一些实施方案中,如果药代动力学参数(例如,受试者血液中CAR+ T细胞的峰值数量)大于治疗范围内所述药代动力学参数(例如,受试者血液中CAR+ T细胞的峰值数量)的最高数量,则向受试者给予降低CAR+ T细胞扩增、增殖和/或活性的药剂。

[0357] 在一些实施方案中,在评估药代动力学参数(例如,峰值CAR+ T细胞浓度、暴露(例如,AUC)和/或细胞水平或浓度)后给予所述药剂。

[0358] 在一些方面,所提供的实施方案涉及评估和/或监测药代动力学参数,例如血液中CAR+ T细胞的数量或浓度。在一些实施方案中,所述方法涉及监测受试者血液中的CAR+ T细胞数量和/或浓度,以评估所述细胞是否在治疗范围和/或窗口内。在一些实施方案中,所述方法涉及如果受试者不在治疗范围内,则向受试者给予能够在受试者中调节CAR+ T细胞扩增(任选地增加或降低CAR+ T细胞扩增)的药剂。

[0359] 在一些实施方案中,所述治疗范围和/或窗口是基于对本文所述参数的评估来确定和/或是基于任何基于所述评估的标准。在一些实施方案中,所述治疗范围和/或窗口基于先前用基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3+CAR+ T细胞或其CD8+CAR+ T细胞子集的范围,所述范围与大于或大于约65%的估计反应概率和小于或约30%的估计毒性概率相关;或在给予基因工程化细胞之后,血液中的在或在约10个细胞/微升与或与约500个细胞/微升之间的峰值CD3+CAR+ T细胞;或在给予基因工程化细胞之后,血液中的在或在约2个细胞/微升与或与约200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR+ T细胞。

[0360] B. 患者属性和生物标记

[0361] 在一些情况下,所提供的实施方案涉及评估参数,例如患者和/或疾病或病症的属性、因素、特征和/或生物标记的表达。在一些实施方案中,所评估的参数与药代动力学参

数、反应、持久反应和/或毒性的发生相关和/或相关联。在一些实施方案中,参数包括患者因素或患者属性。在一些实施方案中,参数包括疾病或病症的属性、因素、特征。在一些实施方案中,在治疗之前(例如在给予细胞疗法之前)评估参数。在一些实施方案中,在治疗后(例如在给予一个或多个剂量的细胞疗法之后)评估参数。

[0362] 在一些实施方案中,参数是或包括药代动力学参数,例如,最大(峰值)血浆浓度(C_{max})、峰值时间(即出现最大血浆浓度(C_{max})的时间; T_{max})、最小血浆浓度(即治疗剂(例如CAR+ T细胞)的剂量之间的最小血浆浓度; C_{min})、消除半衰期($T_{1/2}$)和曲线下面积(即通过标绘时间与治疗剂CAR+T细胞的血浆浓度产生的曲线下面积; AUC ;例如 AUC_{0-28})。

[0363] 在一些实施方案中,所述参数是或包括指示患者的状态和/或患者的疾病或病症的一个或多个因素。在一些实施方案中,参数指示肿瘤负荷。在一些实施方案中,指示肿瘤负荷的因素是一个或多个肿瘤的体积量度。在一些实施方案中,所述体积量度是一个或多个病灶的量度,例如肿瘤大小、肿瘤直径、肿瘤体积、肿瘤质量、肿瘤负担或体积、肿瘤相关水肿、肿瘤相关坏死和/或转移的数量或范围。在一些实施方案中,肿瘤的体积量度是二维量度。例如,在一些实施方案中,将一个或多个病灶的面积计算为所有可测量肿瘤的最长直径与最长垂直直径的乘积。在一些情况下,肿瘤的体积量度是一维量度。在一些情况下,将可测量病灶的大小评估为最长直径。在一些实施方案中,测量直径乘积之和(SPD)、最长肿瘤直径(LD)、最长肿瘤直径之和(SLD)、坏死、肿瘤体积、坏死体积、坏死-肿瘤比(NTR)、瘤周水肿(PTE)和水肿-肿瘤比(ETR)。

[0364] 用于测量和评估肿瘤负荷的示例性方法包括描述于例如以下文献中的那些: Carceller等人, *Pediatr Blood Cancer*. (2016) 63 (8):1400-1406和Eisenhauer等人, *Eur J Cancer*. (2009) 45 (2):228-247。在一些实施方案中,体积是通过确定所有可测量肿瘤的最大垂直直径的乘积之和而测量的直径乘积之和(SPD)。在一些方面,在一个维度上用最长直径(LD)和/或通过确定所有可测量病灶的最长肿瘤直径之和(SLD)来测量肿瘤或病灶。在一些实施方案中,肿瘤的体积量度是肿瘤坏死的体积定量,例如坏死体积和/或坏死-肿瘤比率(NTR),参见Monsky等人, *Anticancer Res*. (2012) 32 (11):4951-4961。在一些方面,肿瘤的体积量度是肿瘤相关水肿的体积定量,例如瘤周水肿(PTE)和/或水肿-肿瘤比率(ETR)。在一些实施方案中,测量可以使用受试者的成像技术来进行,例如计算机断层成像(CT)、正电子发射断层成像(PET)和/或磁共振成像(MRI)。

[0365] 在一些实施方案中,所述体积量度是SPD,并且在一些情况下,毒性(例如CRS或NT)的发生与高于阈值的SPD值相关。在一些实施方案中,所述体积量度是SPD,并且所述阈值为或为约 30cm^2 ,为或为约 40cm^2 ,为或为约 50cm^2 ,为或为约 60cm^2 ,或者为或为约 70cm^2 。在一些实施方案中,所述体积量度是SPD,并且所述阈值为或为约 30cm^2 ,为或为约 40cm^2 ,为或为约 50cm^2 ,为或为约 60cm^2 ,或者为或为约 70cm^2 。

[0366] 在一些实施方案中,肿瘤的体积量度是在筛选期间(如常规评估或抽血)确定,以证实和/或鉴定受试者的病症或疾病。

[0367] 在一些方面,参数(例如,肿瘤负荷的测量值)与药代动力学参数相关联和/或相关。在一些实施方案中,参数(包括药代动力学参数)与反应和/或持久反应和/或发生毒性(例如CRS或神经毒性(NT))的风险相关。

[0368] 在一些实施方案中,参数是或包括至少一种或一组生物标记。在一些实施方案中,

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

[0369] 在一些实施方案中,可以评估一个或一组生物标记的存在或不存在和/或一个或一组生物标记相关的浓度、量、水平或活性。在一些情况下,可以将参数与特定参考值比较,如阈值水平,例如与发生毒性的风险相关的那些或与特定反应(如OR、CR或PR,或持久反应,如在初始反应后在3个月、6个月、9个月、12个月或更长时间内持久的反应)相关的那些。在一些实施方案中,所述方法还涉及基于对生物标记的存在或不存在的评估和/或生物标记与所述生物标记的参考值或阈值水平的比较来选择受试者用于用细胞疗法治疗。在一些实施方案中,所述方法还涉及例如,基于对生物标记的存在或不存在的评估和/或生物标记与所述生物标记的参考值或阈值水平的比较,给予可以治疗、预防、延迟和/或减弱毒性的发生的药剂或疗法。

[0370] 在一些方面,实施方案涉及获得生物样品用于检测参数和/或评估参数的存在和/或检测参数。在一些实施方案中,通常在给予细胞疗法或其第一次给予或剂量或在开始前述任一项后的4小时至12个月内,如通常在给予细胞疗法或其第一次给予或剂量后或在开始前述任一项后,在或在等于或约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、21、28、30、60或90天或更长时间,2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15周或更长时间,或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、18、24、48个月或更长时间内,获得生物样品。在一些实施方案中,在给予细胞疗法之前或在给予细胞疗法或其第一次给予或剂量之后不久,或在开始前述任一项之后,如通常在给予细胞疗法或其第一次给予或剂量或在开始前述任一项之后的4小时至3天内,如通常在给予细胞疗法或其第一次给予或剂量之后或在开始前述任一项之后等于或约1天、2天或3天内,在受试者中评估或测量参数。在一些实施方案中,评估或测量参数。在一些实施方案中,通常在给予细胞疗法或其第一次给予或剂量或在开始前述任一项后的4小时至12个月内,如通常在给予细胞疗法或其第一次给予或剂量后或在开始前述任一项后,在或在等于或约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、21、28、30、60或90天或更长时间,2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15周或更长时间,或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、18、24、48个月或更长时间内,评估参数。

[0371] 在一些方面,参数(例如,患者因素和/或生物标记)与药代动力学参数相关联和/或相关。在一些实施方案中,参数(包括药代动力学参数)与反应和/或持久反应和/或发生毒性(例如CRS或神经毒性(NT))的风险相关。

[0372] 在一些实施方案中,参数是生物标记。在一些实施方案中,参数是或包括生物标记的表达和/或表达特定生物标记的细胞的数量、浓度和/或百分比。在一些实施方案中,参数包括生物标记或包含多种生物标记的组中的每种生物标记。在一些实施方案中,生物标记是或包含细胞因子和/或其他血清或血液因子,例如本文所述的任何血清或血液因子。在一些实施方案中,生物标记或组中的每种生物标记是细胞因子,在一些情况下,所述细胞因子可以是趋化因子。在一些实施方案中,生物标记或组中的每种生物标记包含可溶性受体。在一些实施方案中,生物标记或组中的每种生物标记包含可溶性血清蛋白。示例性生物标记

或生物标记组描述于本文中。

[0373] 在一些方面,可以获得来自受试者的生物样品(例如血液样品或组织样品)以检测生物标记的存在或不存在(如以检测或测量生物标记的参数(例如浓度、量、水平或活性)和/或评估生物标记的存在,以用于特定结果和/或毒性的分析、关联和/或检测。在一些实施方案中,可以从在给予所述细胞疗法之前或之后来自受试者的生物样品(例如,血液)评估某些与生物标记相关的生理学或生物学参数(包括生物标记的表达)和/或临床和实验室参数。在一些实施方案中,可以从在给予所述细胞疗法之前(治疗前)来自受试者的生物样品(例如,血液)评估生物标记的表达和/或临床和实验室参数。在一些实施方案中,可以从在给予所述细胞疗法之后(治疗后)来自受试者的生物样品(例如,血液)评估生物标记或分析物的表达和/或临床和实验室参数。在一些实施方案中,可以在给予所述细胞疗法之前或之后的一个或多个时间点评估生物标记的浓度、量、水平或活性和/或临床和实验室参数。在一些实施方案中,还可以确定在指定时间段期间生物标记的峰值浓度、量、水平或活性和/或临床和实验室参数。

[0374] 在一些实施方案中,生物标记(在一些情况下,也称为分析物)、包括与生物标记或分析物相关的参数,是由生物样品(包括细胞)或在所述生物样品中表达的可客观测量的特征或分子,可以指示特定状态或现象(如生物过程、治疗结果、细胞表型或疾病状态)或与所述特定状态或现象相关。在一些方面,可以测量或检测生物标记或与生物标记相关的参数。例如,可以检测生物标记的表达的存在或不存在。在一些方面,可以测量或检测生物标记的诸如浓度、量、水平或活性的参数。在一些实施方案中,生物标记的存在、不存在、表达、浓度、量、水平和/或活性可能与受试者的特定状态(如特定治疗结果或状态)相关,与所述特定状态相关联,指示所述特定状态和/或预测所述特定状态。在一些方面,生物标记(如本文所述的任一种)的存在、不存在、表达、浓度、量、水平和/或活性可以用于评估特定结果或状态(如特定治疗结果,包括反应结果或毒性结果)的可能性。在一些实施方案中,示例性生物标记包括细胞因子、细胞表面分子、趋化因子、受体、可溶受体、可溶血清蛋白和/或降解产物。在一些实施方案中,生物标记还可以包括患者和/或疾病或病症的特定属性、因素、特征,或指示患者的状态和/或患者的疾病或病症的因素(包括疾病负荷)和/或临床或实验室参数。

[0375] 在一些实施方案中,参数是或包括血液分析物的水平和/或浓度。在一些实施方案中,参数是或包括炎性标记的水平和/或浓度。在一些实施方案中,血液分析物和/或炎性标记是或包括白细胞介素-7(IL-7)、IL-15、巨噬细胞炎性蛋白(MIP-1 α)的水平和/或浓度。在一些实施方案中,血液分析物和/或炎性标记是或包括IL-6、IL-10、IL-16、干扰素 γ (IFN- γ)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、MIP-1 α 、MIP-1 β 、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)和C-X-C基序趋化因子10(CXCL10)的水平和/或浓度。在一些实施方案中,血液分析物和/或炎性标记是或包括铁蛋白、C反应蛋白(CRP)、D-二聚体(纤维蛋白降解产物)、IL-6、IL-10、IL-15、IL-16、TNF- α 、MIP-1 α 和MIP-1 β 的水平和/或浓度。在一些实施方案中,血液分析物和/或炎性标记是或包括LDH、铁蛋白、CRP、IL-6、IL-8、IL-10、TNF- α 、IFN- α 2、MCP-1和/或MIP-1 β 的水平和/或浓度。在一些实施方案中,血液分析物和/或炎性标记是或包括CRP、血清淀粉样蛋白A1(SAA-1)、IL-2、IL-6、IL-10、IL-15、TNF- α 、MIP-1 α 、MIP-1 β 、MCP-1、CXCL10和C-C基序趋化因子配体13(CCL13)的水平和/或浓度。在一些实施方案中,血液分析物和/或炎性标记是或包

括LDH、铁蛋白、CRP、D-二聚体、SAA-1、IL-6、IL-10、IL-15、IL-16、TNF- α 、IFN- γ 和/或MIP-1 α 的水平和/或浓度。

[0376] 在一些实施方案中,炎性标记是或包括检测和评估的C反应蛋白(CRP)、红细胞沉降率(ESR)、白蛋白、铁蛋白、 β 2微球蛋白(β 2-M)或乳酸脱氢酶(LDH)的水平或存在。在一些实施方案中,使用免疫测定评估炎性标记。例如,可以使用酶联免疫吸附测定(ELISA)、酶免疫测定(EIA)、放射免疫测定(RIA)、表面等离子体共振(SPR)、蛋白质印迹、侧向流测定、免疫组织化学、蛋白质阵列或免疫PCR(iPCR)来检测炎性标记。在一些实施方案中,使用制品包括检测指示肿瘤负荷的炎性标记。在一些情况下,使用流式细胞术测定或评估炎性标记。在一些情况下,试剂是结合炎性标记的可溶性蛋白质。在一些例子中,试剂是结合C反应蛋白(CRP)、红细胞沉降率(ESR)、白蛋白、铁蛋白、 β 2微球蛋白(β 2-M)或乳酸脱氢酶(LDH)的蛋白质。

[0377] 在一些实施方案中,生物标记(例如炎性标记)是或包括C反应蛋白(CRP)。在一些实施方案中,使用体外酶联免疫吸附测定来评估CRP,以从样品(例如血清、血浆或血液)获得人CRP的定量测量值。在一些例子中,使用人酶联免疫吸附测定(ELISA)检测CRP。在一些实施方案中,生物标记(例如,炎性标记)是或包括红细胞沉降率(ESR)。在一些实施方案中,通过测量红细胞在竖直移液管或导管中从血浆分离后已经下降的距离(以毫米/小时为单位)来评估ESR。在一些实施方案中,生物标记是或包括白蛋白。在一些方面,使用比色测试或体外酶联免疫吸附测定来评估白蛋白。在一些例子中,使用人酶联免疫吸附测定(ELISA)检测白蛋白。在一些实施方案中,生物标记(例如炎性标记)是或包括铁蛋白或 β 2微球蛋白。在一些实施方案中,铁蛋白或 β 2微球蛋白是使用免疫测定来评估,或使用ELISA来检测。在一些方面,生物标记(例如炎性标记)是或包括乳酸脱氢酶(LDH),并且LDH是使用比色测试或体外酶联免疫吸附测定来评估。

[0378] 在一些实施方案中,一种或多种生物标记包括两种或更多种生物标记(例如细胞因子,例如炎性细胞因子)和/或患者属性(例如肿瘤负荷和/或炎性标记的表达)。在一些方面,从同一样品同时测量两种或更多种生物标记。在其他方面,两种或更多种生物标记是从来自受试者的同一样品或从不同样品测量或依序测量。

[0379] 在一些实施方案中,生物标记或生物标记组的水平、量、浓度或其他参数指示细胞的药代动力学参数,例如,最大(峰值)血浆浓度(C_{max})、峰值时间(即出现最大血浆浓度(C_{max})的时间; T_{max})、最小血浆浓度(即治疗剂(例如CAR+ T细胞)的剂量之间的最小血浆浓度; C_{min})、消除半衰期($T_{1/2}$)和曲线下面积(即通过标绘时间与治疗剂CAR+ T细胞的血浆浓度产生的曲线下面积;AUC;例如AUC₀₋₂₈)。在一些实施方案中,生物标记或生物标记组的水平、量、浓度指示发生毒性(例如神经毒性,例如严重神经毒性和/或CRS,例如sCRS)的风险。在一些实施方案中,生物标记或生物标记组的水平、量、浓度指示反应的可能性和/或概率,与所述反应的可能性和/或概率相关联和/或相关,所述反应例如客观反应(OR)、完全反应(CR)或部分反应(PR),或持久反应(例如3个月的反应)。

[0380] 在一些实施方案中,参数是或包括C反应蛋白(CRP)、红细胞沉降率(ESR)、白蛋白、铁蛋白、 β 2微球蛋白(β 2-M)、乳酸脱氢酶(LDH)的水平、浓度和/或数量,和/或是炎性细胞因子。在一些实施方案中,炎性标记是LDH。在一些实施方案中,LDH的水平、浓度和/或数量是疾病负荷(例如,肿瘤或癌症)的替代,并且可以用于某些受试者的潜在神经毒性风险的评

估和/或治疗的风险适应性给药或调节。在一些方面,LDH水平可以单独地和/或与另一种治疗前参数组合地评估,所述治疗前参数例如为疾病负荷的另一种量度或指示物,例如体积肿瘤测量值,例如尺寸乘积之和 (SPD) 或疾病负荷的其他基于CT或基于MRI的体积测量值,例如本文所述的任一种。在一些方面,对指示疾病负荷的一个或多个参数进行评估,并且在一些背景下,所述一个或多个参数可以指示在T细胞疗法后产生神经毒性的风险的存在、不存在或程度。在一些方面,所述一个或多个参数包括LDH和/或体积肿瘤测量值。在一些实施方案中,参数是SPD和/或LDH。

[0381] 在一些实施方案中,参数是患者属性、因素和/或特征。在一些实施方案中,参数是治疗前测量值,例如基线测量值、输注前测量值和/或淋巴细胞清除前测量值。在一些实施方案中,在治疗前,例如在给予细胞疗法或其第一次给予或剂量前,或开始前述任一项之后,评估参数,和/或在细胞疗法之前进行淋巴细胞清除。在一些实施方案中,在淋巴细胞清除前评估参数。在一些实施方案中,在给予细胞疗法之前(例如,输注前)评估参数,例如,在开始给予工程化细胞之前多达2天、多达7天、多达14天、多达21天、多达28天、多达35天或多达40天获得。在一些实施方案中,试剂可在给予细胞疗法之前或在给予细胞疗法之后用于诊断目的,以评估诸如患者属性,因子和/或特征的参数。

[0382] 在一些实施方案中,治疗前测量值是或包括C反应蛋白 (CRP)、D-二聚体(纤维蛋白降解产物)、铁蛋白、IFN- α 2、IFN- γ 、IL-6、IL-7、IL-8、IL-10、IL-15、IL-16、乳酸脱氢酶 (LDH)、巨噬细胞炎性蛋白 (MIP-1 α)、MIP-1 β 、MCP-1、SAA-1和/或TNF- α 的水平和/或浓度。

[0383] 在一些实施方案中,一个或多个参数的较高或较低治疗前测量值与CAR⁺ T细胞的较高或较低药代动力学参数(例如C_{max}或AUC)和/或毒性(例如CRS或NT,例如严重CRS或严重NT)的较高或较低比率和/或发生率相关联和/或相关。在一些实施方案中,一个或多个参数的较高或较低治疗前测量值与较高或较低反应(例如,ORR,包括CR和PR)和/或反应的较高或较低持久性(例如,3个月的反应)相关联和/或相关。

[0384] 在一些实施方案中,一个或多个参数的较高治疗前测量值与CAR⁺ T细胞的较高药代动力学参数(例如,C_{max}或AUC)和/或毒性(例如,CRS或NT,例如严重CRS或严重NT)的较高比率和/或发生率相关联和/或相关。

[0385] 在一些实施方案中,参数是或包括治疗后测量值(例如,在给予疗法(例如细胞疗法)后的峰值或最大测量值)和/或输注后测量值和/或给予细胞疗法或其第一次给予或剂量后或在开始前述任一项之后的测量值。在一些实施方案中,峰值测量值是或包括在给予细胞疗法和/或其开始后某段时间后一段时间内的峰值或最大值,如在给予细胞疗法或其第一次给予或剂量后,或在开始前述任一项后,在或在等于或约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、21、28、30、60或90天或更长时间,2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15周或更长时间,或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、18、24、48个月或更长时间内的峰值或最大值。

[0386] 在一些实施方案中,参数是或包括炎性标记(包括细胞因子或趋化因子)的峰值水平和/或浓度。在一些实施方案中,一个或多个参数的较低峰值测量值与CAR⁺ T细胞的较高药代动力学参数(例如,C_{max}或AUC)和/或毒性(例如,CRS或NT,例如严重CRS或严重NT)的较高比率和/或发生率相关联和/或相关。在一些实施方案中,一个或多个参数的较低治疗前测量值与反应(例如ORR,包括CR和PR)和/或反应的较低持久性(例如3个月的反应)相关联和/或相关。

[0387] 在一些实施方案中,参数是或包括炎性标记(包括细胞因子或趋化因子)的峰值水平和/或浓度。在一些实施方案中,参数是或包括生物标记的峰值水平和/或浓度,所述生物标记包括C-C基序趋化因子配体13 (CCL13)、C反应蛋白 (CRP)、C-X-C基序趋化因子10 (CXCL10)、IL-2、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-10、IL-15、IL-16、干扰素 γ (IFN- γ)、淋巴毒素- α (LT- α)、单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1)、巨噬细胞炎性蛋白1 α (MIP-1 α)、MIP-1 β 、血清淀粉样蛋白A1 (SAA-1)、转化生长因子 β (TGF- β) 和肿瘤坏死因子 α (TNF- α)。在一些实施方案中,一个或多个参数的较高峰值水平和/或浓度与毒性(例如CRS或NT,例如严重CRS或严重NT)的较高比率和/或发生率相关联和/或相关。在一些实施方案中,较低峰值水平和/或浓度与较高反应(例如ORR,包括CR和PR)和/或反应的较高持久性(例如3个月的反应)相关联和/或相关。

[0388] 在一些实施方案中,所述生物标记(例如,分析物)包括与增加的细胞药代动力学(PK)参数(例如,增加的细胞最大血清浓度(C_{max})或增加的暴露(例如,曲线下面积(AUC)))相关的那些。在一些实施方案中,所述生物标记(例如,分析物)(包括其参数)包括IL-7、IL-15、MIP-1 α 和TNF- α 。

[0389] 在一些实施方案中,所述生物标记(例如,分析物)包括与反应结果和/或持久反应相关的那些。在一些实施方案中,所述生物标记(例如,分析物)(包括其参数)包括LDH、铁蛋白、CRP、D-二聚体、血清淀粉样蛋白A1 (SAA-1)、IL-6、IL-10、IL-15、IL-16、TNF- α 、IFN- γ 、MIP-1 α 和C-X-C基序趋化因子10 (CXCL10)。

[0390] 在一些实施方案中,阈值是如下值:在高于体积量度或炎性标记的平均值的25%内、20%内、15%内、10%内或5%内,和/或在高于多个对照受试者的体积量度或炎性标记的平均值的标准差内。在一些实施方案中,阈值是如下值:高于在多个对照受试者中的至少一个受试者中测量的体积量度或炎性标记的最高值,任选地在高于这个最高倍数变化的50%内、25%内、20%内、15%内、10%内或5%内。在一些实施方案中,阈值如下值:高于如在多个对照受试者中超过75%、80%、85%、90%或95%或98%的受试者中所测量的体积量度或炎性标记的最高值。在一些实施方案中,所述多个对照受试者是在接受一定剂量的基因工程化细胞之前的受试者组,其中:所述组的每个对照受试者在血液中展现出比所述治疗范围内的最高峰值CAR⁺ T细胞高的峰值CAR⁺ T细胞;所述组的每个对照受试者在接受一定剂量的工程化细胞用于治疗相同疾病或病症后,继续发生毒性,任选神经毒性或细胞因子释放综合征(CRS)、2级或3级或更高级神经毒性或者3级或更高级CRS;所述组的每个对照受试者在给予所述剂量的基因工程化细胞之后,均未发生反应、任选完全反应(CR)或部分反应(PR);和/或所述组的每个对照受试者在给予所述剂量的基因工程化细胞之后,均未发生任选持续为或约或大于或大于约3个月或者持续为或约或大于或大于约6个月的持久反应。

[0391] 在一些实施方案中,可以针对特定受试者或在特定样品中评估参数(如患者和/或疾病或病症的属性、因素、特征和/或生物标记的表达),并且可以将其与阈值(在一些情况下也称为阈值水平)进行比较。在一些方面,这种比较可以用于计算或评估对疗法(如细胞疗法)的反应或毒性风险的可能性。在一些方面,高于或低于特定阈值的参数(如患者和/或疾病或病症的属性、因素、特征和/或生物标记的表达)可以与疗法的特定结果(如反应结果或毒性结果)相关、相关联、预测或指示所述疗法的特定结果。在一些实施方案中,可以基于

在接受细胞疗法之前从受试者组获得的生物样品中生物标记的水平、量或浓度的平均值或中值以及在所述平均值或中值的范围或标准差内的值来确定示例性阈值,其中所述组中的每名受试者继续展现出特定结果,如特定治疗结果,包括展现出反应或不展现反应;或发生毒性或不发生毒性。

[0392] 1. 与反应结果相关的示例性生物标记

[0393] 在一些实施方案中,生物标记与特定结果相关,与所述特定结果相关联,指示所述特定结果和/或预测所述特定结果,所述特定结果如特定反应结果,如客观反应(OR)、完全反应(CR)或部分反应(PR),或持久反应,如持续3、6、9个月或更久的OR或CR或PR。在一些实施方案中,如与参考值或阈值相比,一种或多种此类生物标记(例如,生物标记)的较低或降低水平或增加的水平可以与反应相关,所述反应如OR、CR或PR或本文(例如,在章节II.B中)所述的任何反应结果、任选持久反应,如持续至少3个月、6个月或更久的反应。

[0394] 在一些实施方案中,生物标记与已经给予细胞疗法(如使用含有基因工程化细胞的组合物)的受试者中的特定结果相关,与所述特定结果相关联,指示所述特定结果和/或预测所述特定结果,所述特定结果如特定反应或持久反应结果。在一些实施方案中,在给予细胞疗法之前从受试者获得的生物样品中一种或多种生物标记的存在、表达、水平、量或浓度可以与特定结果相关,与所述特定结果相关联,指示所述特定结果和/或预测所述特定结果,所述特定结果如特定反应或持久反应结果。在一些实施方案中,特定生物标记的存在、表达、水平、量或浓度可以与特定反应或持久反应结果相关联。在一些实施方案中,所述反应结果可以是本文(例如,在章节II.B中)所述的任何反应结果。

[0395] 在一些实施方案中,所述方法包括将所述样品中所述生物标记的水平、量或浓度与阈值单独比较,由此确定受试者将实现对所述细胞疗法的反应的可能性。在一些实施方案中,所述方法包括基于通过将所述样品中所述生物标记的水平、量或浓度与阈值单独比较来确定受试者将实现对所述细胞疗法的反应的可能性的结果,选择可能对治疗有反应的受试者。在一些实施方案中,所述方法还包括将所述细胞疗法给予被选择用于治疗的患者。在一些实施方案中,如果所述受试者被确定为不太可能实现反应或持久反应,则进一步包括将另外的治疗剂给予至所述受试者。

[0396] 在一些实施方案中,所述生物标记包括与反应结果和/或持久反应相关的那些。在一些实施方案中,所述生物标记(包括其参数)包括LDH、铁蛋白、CRP、D-二聚体、血清淀粉样蛋白A1(SAA-1)、IL-6、IL-10、IL-15、IL-16、TNF- α 、IFN- γ 、MIP-1 α 和C-X-C基序趋化因子10(CXCL10)。

[0397] 在一些方面,可以关于给予细胞疗法后的反应可能性的评估进行评估或分析的示例性生物标记或生物标记包括选自铁蛋白、LDH、CXCL10、G-CSF和IL-10的一种或多种生物标记。在一些实施方案中,对于前述生物标记或生物标记中的任一种,如果一种或多种生物标记的水平、量或浓度低于阈值,则所述受试者可能实现反应,并且如果一种或多种生物标记的水平、量或浓度高于阈值,则所述受试者不太可能实现反应。在一些实施方案中,所述反应是或包含客观反应。在一些实施方案中,所述客观反应是或包含完全反应(CR)或部分反应(PR)。在一些方面,在给予细胞疗法之前(治疗前)从受试者获得的生物样品中铁蛋白、LDH、CXCL10、G-CSF和IL-10的降低的水平可以与实现客观反应(包括完全反应(CR)或部分反应(PR))相关。

[0398] 在一些实施方案中,所述阈值是在接受细胞疗法之前从受试者组获得的生物样品中铁蛋白、LDH、CXCL10、G-CSF或IL-10的中值或平均水平、量或浓度的25%内、20%内、15%内、10%内或5%内,和/或是在低于所述中值或平均水平、量或浓度的标准差内,其中在给予用于治疗相同疾病或病症的表达重组受体的治疗性细胞组合物之后所述组中的每名受试者继续实现反应。在一些实施方案中,所述阈值是在接受细胞疗法之前从受试者组获得的生物样品中铁蛋白、LDH、CXCL10、G-CSF或IL-10的中值或平均水平、量或浓度的25%内、20%内、15%内、10%内或5%内,和/或是在高于所述中值或平均水平、量或浓度的标准差内,其中在给予用于治疗相同疾病或病症的表达重组受体的治疗性细胞组合物之后所述组中的每名受试者继续展现出稳定疾病(SD)和/或进行性疾病(PD)。

[0399] 在一些方面,可以关于给予细胞疗法之后持久反应的可能性的评估进行评估或分析的示例性生物标记或生物标记包括选自LDH、铁蛋白、CRP、D-二聚体、SAA-1、IL-6、IL-10、IL-15、IL-16、TNF- α 、IFN- γ 、MIP-1 α 、CXCL-10、IL-8、MCP-1和MIP-1 β 的一种或多种生物标记。在一些实施方案中,对于前述生物标记或生物标记中的任一种,如果一种或多种所述生物标记的水平、量或浓度低于阈值,则所述受试者可能实现持久反应,并且如果一种或多种所述生物标记的水平、量或浓度高于阈值,则所述受试者不太可能实现持久反应。在一些实施方案中,所述持久反应是或包含持续等于或大于3个月、4个月、5个月或6个月的完全反应(CR)或部分反应(PR)。在一些实施方案中,所述持久反应是或包含持续至少3个月的CR或PR。在一些方面,在给予细胞疗法之前(治疗前)从受试者获得的生物样品中LDH、铁蛋白、CRP、D-二聚体、SAA-1、IL-6、IL-10、IL-15、IL-16、TNF- α 、IFN- γ 、MIP-1 α 、CXCL-10、IL-8、MCP-1和MIP-1 β 的降低的水平可以与实现持久反应(如持续至少3个月的CR或PR)相关。

[0400] 在一些实施方案中,所述阈值是在接受细胞疗法之前从受试者组获得的生物样品中LDH、铁蛋白、CRP、D-二聚体、SAA-1、IL-6、IL-10、IL-15、IL-16、TNF- α 、IFN- γ 、MIP-1 α 、CXCL-10、IL-8、MCP-1或MIP-1 β 的中值或平均水平、量或浓度的25%内、20%内、15%内、10%内或5%内,和/或是在低于所述中值或平均水平、量或浓度的标准差内,其中在给予用于治疗相同疾病或病症的表达重组受体的治疗性细胞组合物之后所述组中的每名受试者继续实现持久反应。

[0401] 在一些实施方案中,所述阈值是在接受细胞疗法之前从受试者组获得的生物样品中LDH、铁蛋白、CRP、D-二聚体、SAA-1、IL-6、IL-10、IL-15、IL-16、TNF- α 、IFN- γ 、MIP-1 α 、CXCL-10、IL-8、MCP-1或MIP-1 β 的中值或平均水平、量或浓度的25%内、20%内、15%内、10%内或5%内,和/或是在高于所述中值或平均水平、量或浓度的标准差内,其中在给予用于治疗相同疾病或病症的表达重组受体的治疗性细胞组合物之后所述组中的每名受试者未实现持久反应。

[0402] 在一些实施方案中,所述反应是在至少3个月内持久的持久反应,如CR或PR。

[0403] 在一些实施方案中,LDH的阈值为或为约或低于或低于约600U/L、500U/L、400U/L、300U/L或200U/L。

[0404] 在一些实施方案中,铁蛋白的示例性阈值为或为约或低于或低于约1000 μ g/L、900 μ g/L、800 μ g/L、700 μ g/L、600 μ g/L、500 μ g/L、400 μ g/L、300 μ g/L或200 μ g/L。

[0405] 在一些实施方案中,CRP的示例性阈值为或为约或低于或低于约20mg/L、19mg/L、18mg/L、17mg/L、16mg/L、15mg/L、14mg/L、13mg/L、12mg/L、11mg/L、10mg/L、9mg/L、8mg/L、

7mg/L、6mg/L或5mg/L。

[0406] 在一些实施方案中,D-二聚体的示例性阈值为或为约或低于或低于约1000 μ g/L、900 μ g/L、800 μ g/L、700 μ g/L、600 μ g/L、500 μ g/L、400 μ g/L、300 μ g/L或200 μ g/L。

[0407] 在一些实施方案中,SAA-1的示例性阈值为或为约或低于或低于约100mg/L、90mg/L、80mg/L、70mg/L、60mg/L、50mg/L、40mg/L、30mg/L或20mg/L。

[0408] 在一些实施方案中,IL-6的示例性阈值为或为约或低于或低于约6pg/mL、5pg/mL、4pg/mL、3pg/mL或2pg/mL。

[0409] 在一些实施方案中,IL-10的示例性阈值为或为约或低于或低于约2pg/mL、1pg/mL、0.9pg/mL、0.8pg/mL、0.7pg/mL、0.6pg/mL或0.5pg/mL。

[0410] 在一些实施方案中,IL-15的示例性阈值为或为约或低于或低于约7pg/mL、6pg/mL、5pg/mL、4pg/mL或3pg/mL。

[0411] 在一些实施方案中,IL-16的示例性阈值为或为约或低于或低于约1000pg/mL、900pg/mL、800pg/mL、700pg/mL或600pg/mL。

[0412] 在一些实施方案中,TNF- α 的示例性阈值为或为约或低于或低于约10pg/mL、9pg/mL、8pg/mL、7pg/mL或6pg/mL。

[0413] 在一些实施方案中,IFN- γ 的示例性阈值为或为约或低于或低于约30pg/mL、20pg/mL、10pg/mL、9pg/mL、8pg/mL或7pg/mL;

[0414] 在一些实施方案中,MIP-1 α 的示例性阈值为或为约或低于或低于约40pg/mL、30pg/mL或20pg/mL;和/或

[0415] 在一些实施方案中,CXCL-10的示例性阈值为或为约或低于或低于约1500pg/mL、1000pg/mL、900pg/mL、800pg/mL、700pg/mL、600pg/mL或500pg/mL。

[0416] 在一些方面,可以关于给予细胞疗法之后的持久反应可能性的评估进行评估或分析的示例性生物标记或生物标记包括选自铁蛋白、CRP、LDH、CXCL10、IL-8、IL-10、IL-15、MCP-1、MIP-1 β 和TNF- α 的一种或多种生物标记。在一些实施方案中,对于前述生物标记或生物标记中的任一种,如果一种或多种所述生物标记的水平、量或浓度低于阈值,则所述受试者可能实现持久反应,并且如果一种或多种所述生物标记的水平、量或浓度高于阈值,则所述受试者不太可能实现持久反应。在一些实施方案中,所述持久反应是或包含持续等于或大于3个月、4个月、5个月或6个月的完全反应(CR)或部分反应(PR)。在一些实施方案中,所述持久反应是或包含持续至少3个月的CR或PR。在一些方面,在给予细胞疗法之前(治疗前)从受试者获得的生物样品中铁蛋白、CRP、LDH、CXCL10、IL-8、IL-10、IL-15、MCP-1、MIP-1 β 和TNF- α 的降低的水平可以与实现持久反应(如持续至少3个月的CR或PR)相关。

[0417] 在一些实施方案中,所述阈值是在接受细胞疗法之前从受试者组获得的生物样品中铁蛋白、CRP、LDH、CXCL10、IL-8、IL-10、IL-15、MCP-1、MIP-1 β 或TNF- α 的中值或平均水平、量或浓度的25%内、20%内、15%内、10%内或5%内,和/或是在低于所述中值或平均水平、量或浓度的标准差内,其中在给予用于治疗相同疾病或病症的表达重组受体的治疗性细胞组合物之后所述组中的每名受试者继续实现持久反应。

[0418] 在一些实施方案中,所述阈值是在接受细胞疗法之前从受试者组获得的生物样品中铁蛋白、CRP、LDH、CXCL10、IL-8、IL-10、IL-15、MCP-1、MIP-1 β 或TNF- α 的中值或平均水平、量或浓度的25%内、20%内、15%内、10%内或5%内,和/或是在高于所述中值或平均水平、

量或浓度的标准差内,其中在给予用于治疗相同疾病或病症的表达重组受体的治疗性细胞组合物之后所述组中的每名受试者未实现持久反应。

[0419] 在一些方面,可以关于给予细胞疗法之后的持久反应可能性的评估进行评估或分析的示例性生物标记或生物标记包括选自血红蛋白和白蛋白的一种或多种生物标记。在一些实施方案中,对于前述生物标记或生物标记中的任一种,如果一种或多种生物标记的水平、量或浓度高于阈值,则所述受试者可能实现持久反应,并且如果一种或多种生物标记的水平、量或浓度低于阈值,则所述受试者不太可能实现持久反应。在一些实施方案中,所述持久反应是或包含持续等于或大于3个月、4个月、5个月或6个月的完全反应(CR)或部分反应(PR)。在一些实施方案中,所述持久反应是或包含持续至少3个月的CR或PR。在一些方面,在给予细胞疗法之前(治疗前)从受试者获得的生物样品中血红蛋白和白蛋白的升高的水平可以与实现持久反应(如持续至少3个月的CR或PR)相关。

[0420] 在一些实施方案中,所述阈值是在接受细胞疗法之前从受试者组获得的生物样品中血红蛋白或白蛋白的中值或平均水平、量或浓度的25%内、20%内、15%内、10%内或5%内,和/或是在高于所述中值或平均水平、量或浓度的标准差内,其中在给予用于治疗相同疾病或病症的表达重组受体的治疗性细胞组合物之后所述组中的每名受试者继续实现持久反应。

[0421] 在一些实施方案中,所述阈值是在接受细胞疗法之前从受试者组获得的生物样品中血红蛋白或白蛋白的中值或平均水平、量或浓度的25%内、20%内、15%内、10%内或5%内,和/或是在低于中值或平均水平、量或浓度的标准差内,其中在给予用于治疗相同疾病或病症的表达重组受体的治疗性细胞组合物之后所述组中的每名受试者未实现持久反应。

[0422] 2. 与毒性结果相关的示例性生物标记

[0423] 在一些实施方案中,生物标记与已经给予细胞疗法(如使用含有基因工程化细胞的组合物)的受试者中的特定结果相关,与所述特定结果相关联,指示所述特定结果和/或预测所述特定结果,所述特定结果如毒性的发生。在一些实施方案中,在给予细胞疗法之前从受试者获得的生物样品中的一种或多种生物标记的存在、表达、水平、量或浓度可以与特定结果相关,与所述特定结果相关联,指示所述特定结果和/或预测所述特定结果,所述特定结果如毒性的发生,如本文(例如,章节II.A)中所述的任何毒性结果。在一些实施方案中,特定生物标记的存在、表达、水平、量或浓度可以与特定结果或毒性(例如,NT或CRS的发生)相关联。在一些实施方案中,所述毒性是可能与细胞疗法相关的毒性,如本文(例如,章节II.A)中所述的任一种。在一些实施方案中,所述毒性是神经毒性(NT)或细胞因子释放综合征(CRS)。在一些实施方案中,所述毒性是严重NT或严重CRS。在一些实施方案中,所述毒性是2级或更高级的NT或者2级或更高级的CRS。在一些实施方案中,所述毒性是3级或更高级的NT或者3级或更高级的CRS。

[0424] 在一些实施方案中,所述方法包括将所述样品中所述生物标记的水平、量或浓度与阈值单独比较,由此确定在给予所述细胞疗法之后发生毒性的风险。在一些实施方案中,所述方法包括给予通过将所述样品中所述生物标记的水平、量或浓度与阈值单独比较,鉴定具有在给予细胞疗法之后发生毒性的风险的受试者。在一些实施方案中,所述方法还包括在所述评估后或基于所述评估的结果,向所述受试者给予所述细胞疗法以及任选地能够治疗、预防、延迟、降低或减弱毒性发生或毒性发生风险的药剂或其他治疗。在一些实施方

案中,所述方法还涉及如果所述受试者被给予细胞疗法并且被鉴定为具有发生毒性的风险,则监测所述受试者的毒性症状。

[0425] 在一些实施方案中,如果受试者被鉴定为具有发生毒性的风险,则可以向受试者给予一个或多个以下步骤:(a) (1) 能够治疗、预防、延迟、降低或减弱毒性发生或毒性发生风险的药剂或其他治疗,和(2) 所述细胞疗法,其中所述药剂的给予要在以下时间给予:(i) 在开始将所述细胞疗法给予至所述受试者之前,(ii) 在开始将所述细胞疗法给予至所述受试者的一、二或三天内,(iii) 与开始将所述细胞疗法给予至所述受试者相伴随,和/或(iv) 在开始将所述细胞疗法给予至所述受试者之后第一次发热时;和/或(b) 以降低的剂量或如下剂量向所述受试者给予细胞疗法:与给予所述细胞疗法后发生毒性或严重毒性的风险无关,或在大多数受试者和/或大多数患有所述受试者患有或怀疑患有的疾病或病症的受试者中与给予所述细胞疗法后发生毒性或严重毒性的风险无关;和/或(c) 在住院环境中或/或在入院一天或多天的情况下向所述受试者给予细胞疗法,任选地其中要在门诊基础上或/或在没有入院一天或多天的情况下将所述细胞疗法以其他方式给予至受试者。

[0426] 在一些实施方案中,可以评估的生物标记或生物标记(包括其参数)包括乳酸脱氢酶(LDH)、铁蛋白、C反应蛋白(CRP)、白细胞介素-6(IL-6)、IL-7、IL-8、IL-10、IL-15、IL-16、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、干扰素 α 2(IFN- α 2)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、巨噬细胞炎性蛋白1 α (MIP-1 α)、巨噬细胞炎性蛋白1 β (MIP-1 β)、嗜酸性粒细胞趋化因子、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、IL-1受体 α (IL-1R α)、IL-1 β 、IFN- γ 诱导蛋白10(IP-10)、穿孔素和D-二聚体(纤维蛋白降解产物)。在一些实施方案中,所述生物标记(包括其参数)包括LDH、铁蛋白、CRP、IL-6、IL-8、IL-10、TNF- α 、IFN- α 2、MCP-1和MIP-1 β 。在一些实施方案中,所述生物标记(包括其参数)包括铁蛋白、CRP、D-二聚体、IL-6、IL-15、TNF- α 和MIP-1 α 。在一些实施方案中,所述生物标记(包括其参数)包括铁蛋白、CRP、IL-10、IL-15、IL-16、TNF- α 或MIP-1 β 。在一些实施方案中,如与参考值或阈值相比,一种或多种此类生物标记(例如,生物标记)的升高的水平或增加的水平可以与神经毒性(例如,严重神经毒性或3级或更高级或4级或5级神经毒性)的发生相关。在一些实施方案中,如与参考值或阈值相比,一种或多种此类生物标记(例如,生物标记)的升高的水平或增加的水平可以与神经毒性(例如,严重神经毒性或3级或更高级或4级或5级神经毒性)的发生相关。

[0427] 在一些方面,可以关于给予细胞疗法之后发生毒性的风险的评估进行评估或分析的示例性生物标记或生物标记包括选自LDH、铁蛋白、C反应蛋白(CRP)、IL-6、IL-8、IL-10、TNF- α 、IFN- α 2、MCP-1和MIP-1 β 的一种或多种生物标记。在一些实施方案中,对于前述生物标记或生物标记中的任一种,如果一种或多种生物标记的水平、量或浓度高于阈值,则所述受试者具有发生毒性的风险,并且如果一种或多种生物标记的水平、量或浓度低于阈值,则所述受试者具有发生毒性的低风险。在一些实施方案中,所述毒性是神经毒性。在一些方面,在给予细胞疗法之前(治疗前)从受试者获得的生物样品中LDH、铁蛋白、C反应蛋白(CRP)、IL-6、IL-8、IL-10、TNF- α 、IFN- α 2、MCP-1和MIP-1 β 的升高水平可以与发生神经毒性的较高风险相关。

[0428] 在一些实施方案中,所述阈值是在接受细胞疗法之前从受试者组获得的生物样品中LDH、铁蛋白、C反应蛋白(CRP)、IL-6、IL-8、IL-10、TNF- α 、IFN- α 2、MCP-1或MIP-1 β 的中值或平均水平、量或浓度的25%内、20%内、15%内、30%内或5%内,和/或是在高于所述中值

或平均水平、量或浓度的标准差内,其中所述组中的每名受试者在接受用于治疗相同疾病或病症的表达重组受体的治疗性细胞组合物之后仍不发生任何毒性。

[0429] 在一些实施方案中,所述阈值是在接受细胞疗法之前从受试者组获得的生物样品中LDH、铁蛋白、C反应蛋白(CRP)、IL-6、IL-8、IL-10、TNF- α 、IFN- α 2、MCP-1或MIP-1 β 的中值或平均水平、量或浓度的25%内、20%内、15%内、30%内或5%内,和/或是在低于所述中值或平均水平、量或浓度的标准差内,其中所述组中的每名受试者在接受用于治疗相同疾病或病症的表达重组受体的治疗性细胞组合物之后继续发生毒性。

[0430] 在一些实施方案中,所述毒性是神经毒性。

[0431] 在一些实施方案中,LDH的示例性阈值为或为约或高于或高于约300U/L、400U/L、500U/L、600U/L或700U/L。

[0432] 在一些实施方案中,铁蛋白的示例性阈值为或为约或高于或高于约500ng/mL、600ng/mL、700ng/mL、800ng/mL、900ng/mL、1000ng/mL或1500ng/mL。

[0433] 在一些实施方案中,CRP的示例性阈值为或为约或高于或高于约20mg/L、30mg/L、40mg/L、50mg/L、60mg/L、70mg/L或80mg/L。

[0434] 在一些实施方案中,IL-6的示例性阈值为或为约或高于或高于约5pg/mL、6pg/mL、7pg/mL、8pg/mL、9pg/mL、10pg/mL、20pg/mL或30pg/mL。

[0435] 在一些实施方案中,IL-8的示例性阈值为或为约或高于或高于约8pg/mL、9pg/mL、10pg/mL、20pg/mL或30pg/mL。

[0436] 在一些实施方案中,IL-10的示例性阈值为或为约或高于或高于约20pg/mL、30pg/mL、40pg/mL、50pg/mL、60pg/mL或70pg/mL。

[0437] 在一些实施方案中,TNF- α 的示例性阈值为或为约或高于或高于约20pg/mL或30pg/mL。

[0438] 在一些实施方案中,IFN- α 2的示例性阈值为或为约或高于或高于约40pg/mL、50pg/mL、60pg/mL、70pg/mL或80pg/mL。

[0439] 在一些实施方案中,MCP-1;和/或的示例性阈值为或为约或高于或高于约200pg/mL或300pg/mL。

[0440] 在一些实施方案中,MIP-1 β 的示例性阈值为或为约或高于或高于约40pg/mL、50pg/mL、60pg/mL、70pg/mL或80pg/mL。

[0441] 在一些方面,可以关于给予细胞疗法之后发生毒性的风险的评估进行评估或分析的示例性生物标记或生物标记包括选自IL-8、IL-10和CXCL10的一种或多种生物标记。在一些实施方案中,对于前述生物标记或生物标记中的任一种,如果一种或多种生物标记的水平、量或浓度高于阈值,则所述受试者具有发生毒性的风险,并且如果一种或多种生物标记的水平、量或浓度低于阈值,则所述受试者具有发生毒性的低风险。在一些实施方案中,所述毒性是神经毒性。在一些实施方案中,所述毒性是严重神经毒性或3级或更高级的神经毒性。在一些方面,在给予细胞疗法之前(治疗前)从受试者获得的生物样品中IL-8、IL-10和CXCL10的升高的水平可以与发生神经毒性或严重神经毒性或3级或更高级的神经毒性的较高风险相关。

[0442] 在一些实施方案中,所述阈值是在接受细胞疗法之前从受试者组获得的生物样品中IL-8、IL-10或CXCL10的中值或平均水平、量或浓度的25%内、20%内、15%内、30%内或

5%内,和/或是在高于所述中值或平均水平、量或浓度的标准差内,其中所述组中的每名受试者在接受用于治疗相同疾病或病症的表达重组受体的治疗性细胞组合物之后仍不发生任何毒性。

[0443] 在一些实施方案中,所述阈值是在接受细胞疗法之前从受试者组获得的生物样品中IL-8、IL-10或CXCL10的中值或平均水平、量或浓度的25%内、20%内、15%内、30%内或5%内,和/或是在低于中值或平均水平、量或浓度的标准差内,其中所述组中的每名受试者在接受用于治疗相同疾病或病症的表达重组受体的治疗性细胞组合物之后继续发生毒性。

[0444] 在一些方面,可以关于给予细胞疗法之后发生毒性的风险的评估进行评估或分析的示例性生物标记或生物标记或肿瘤负荷的体积量度包括选自以下的一种或多种生物标记或肿瘤负荷的体积量度:直径乘积之和 (SPD)、LDH、铁蛋白、C反应蛋白 (CRP)、D-二聚体 (纤维蛋白降解产物)、IL-6、IL-10、IL-15、IL-16、TNF- α 、MIP-1 α 和MIP-1 β 。在一些实施方案中,对于前述生物标记或生物标记或肿瘤负荷的体积量度中的任一种,如果所述一种或多种生物标记的水平、量或浓度或肿瘤负荷的体积量度高于阈值,则所述受试者具有发生毒性的风险,并且如果所述一种或多种生物标记的水平、量或浓度或肿瘤负荷的体积量度低于阈值,则所述受试者具有发生毒性的低风险。在一些实施方案中,所述毒性是神经毒性。在一些方面,在给予细胞疗法之前(治疗前)从受试者获得的生物样品中直径乘积之和 (SPD)、LDH、铁蛋白、C反应蛋白 (CRP)、D-二聚体 (纤维蛋白降解产物)、IL-6、IL-10、IL-15、IL-16、TNF- α 、MIP-1 α 和MIP-1 β 的升高的水平或量度可以与发生神经毒性 (NT) 或细胞因子释放综合征 (CRS) 的较高风险相关。

[0445] 在一些实施方案中,所述一种或多种生物标记或肿瘤负荷的体积量度选自LDH、SPD、IL-10、IL-15、IL-16、TNF- α 和MIP-1 β ,并且所述毒性是神经毒性。在一些实施方案中,所述一种或多种生物标记或肿瘤负荷的体积量度选自LDH、SPD、CRP、d-二聚体、IL-6、IL-15、TNF- α 和MIP-1 α ,并且所述毒性是CRS。在一些方面,在给予细胞疗法之前(治疗前)从受试者获得的生物样品中LDH、SPD、IL-10、IL-15、IL-16、TNF- α 和MIP-1 β 的升高的水平或量度可以与发生神经毒性 (NT) 的较高风险相关。在一些方面,在给予细胞疗法之前(治疗前)从受试者获得的生物样品中LDH、SPD、CRP、d-二聚体、IL-6、IL-15、TNF- α 和MIP-1 α 的升高的水平或量度可以与发生细胞因子释放综合征 (CRS) 的较高风险相关。

[0446] 在一些实施方案中,所述阈值是在接受细胞疗法之前从受试者组获得的生物样品中LDH、铁蛋白、C反应蛋白 (CRP)、D-二聚体 (纤维蛋白降解产物)、IL-6、IL-10、IL-15、IL-16、TNF- α 、MIP-1 α 或MIP-1 β 的中值或平均水平、量或浓度或直径乘积之和 (SPD) 的肿瘤负荷的中值或平均体积量度的25%内、20%内、15%内、32%内或5%内,和/或是在高于所述中值或平均水平、量或浓度或所述肿瘤负荷的中值或平均体积量度的标准差内,其中所述组中的每名受试者在接受用于治疗相同疾病或病症的表达重组受体的治疗性细胞组合物之后仍不发生任何毒性。

[0447] 在一些实施方案中,所述阈值是在接受细胞疗法之前从受试者组获得的生物样品中LDH、铁蛋白、C反应蛋白 (CRP)、D-二聚体 (纤维蛋白降解产物)、IL-6、IL-10、IL-15、IL-16、TNF- α 、MIP-1 α 或MIP-1 β 的中值或平均水平、量或浓度或直径乘积之和 (SPD) 的肿瘤负荷的中值或平均体积量度的25%内、20%内、15%内、32%内或5%内,和/或是在低于所述中值或平均水平、量或浓度或所述肿瘤负荷的中值或平均体积量度的标准差内,其中所述组

中的每名受试者在接受用于治疗相同疾病或病症的表达重组受体的治疗性细胞组合物之后继续发生毒性。

[0448] 在一些实施方案中,所述毒性是神经毒性,并且LDH的示例性阈值为或为约或高于或高于约300U/L、400U/L、500U/L或600U/L。

[0449] 在一些实施方案中,所述毒性是神经毒性,并且SPD的示例性阈值为或为约或高于或高于约30cm²、40cm²、50cm²、60cm²、70cm²、80cm²或90cm²。

[0450] 在一些实施方案中,所述毒性是神经毒性,并且IL-10的示例性阈值为或为约或高于或高于约0.8pg/mL、0.9pg/mL、1pg/mL、2pg/mL、3pg/mL或4pg/mL。

[0451] 在一些实施方案中,所述毒性是神经毒性,并且IL-15的示例性阈值为或为约或高于或高于约3pg/mL、4pg/mL、5pg/mL、6pg/mL或7pg/mL。

[0452] 在一些实施方案中,所述毒性是神经毒性,并且IL-16的示例性阈值为或为约或高于或高于约600pg/mL、700pg/mL、800pg/mL、900pg/mL或1000pg/mL。

[0453] 在一些实施方案中,所述毒性是神经毒性,并且TNF- α 的示例性阈值为或为约或高于或高于约6pg/mL、7pg/mL、8pg/mL、9pg/mL或10pg/mL。

[0454] 在一些实施方案中,所述毒性是神经毒性,并且MIP-1 β 的示例性阈值为或为约或高于或高于约70pg/mL、80pg/mL、90pg/mL或100pg/mL。

[0455] 在一些实施方案中,所述毒性是CRS,并且LDH的示例性阈值为或为约或高于或高于约300U/L、400U/L、500U/L或600U/L。

[0456] 在一些实施方案中,所述毒性是CRS,并且SPD的所述阈值为或为约或高于或高于约20cm²、30cm²、40cm²或50cm²。

[0457] 在一些实施方案中,所述毒性是CRS,并且铁蛋白的示例性阈值为或为约或高于或高于约300ng/mL、400ng/mL、500ng/mL、600ng/mL、700ng/mL、800ng/mL、900ng/mL或1000ng/mL。

[0458] 在一些实施方案中,所述毒性是CRS,并且CRP的示例性阈值为或为约或高于或高于约20mg/L、30mg/L或40mg/L。

[0459] 在一些实施方案中,所述毒性是CRS,并且d-二聚体的示例性阈值为或为约或高于或高于约300pg/mL、400pg/mL、500pg/mL、600pg/mL、700pg/mL、800pg/mL、900pg/mL或1000pg/mL。

[0460] 在一些实施方案中,所述毒性是CRS,并且IL-6的示例性阈值为或为约或高于或高于约2pg/mL、3pg/mL、4pg/mL、5pg/mL、6pg/mL、7pg/mL、8pg/mL或9pg/mL。

[0461] 在一些实施方案中,所述毒性是CRS,并且IL-15的示例性阈值为或为约或高于或高于约3pg/mL、4pg/mL、5pg/mL、6pg/mL、7pg/mL、8pg/mL、9pg/mL或10pg/mL。

[0462] 在一些实施方案中,所述毒性是CRS,并且TNF- α 的示例性阈值为或为约或高于或高于约7pg/mL、8pg/mL、9pg/mL、10pg/mL或15pg/mL。

[0463] 在一些实施方案中,所述毒性是CRS,并且MIP-1 α 的示例性阈值为或为约或高于或高于约20pg/mL、30pg/mL或40pg/mL。

[0464] 在一些实施方案中,参数是LDH,并且在一些情况下,毒性(例如CRS或NT)的发生与高于阈值的LDH值相关联。在一些实施方案中,炎性标记是LDH,并且阈值为或为约300单位/升,为或为约400单位/升,为或为约500单位/升或者为或为约600单位/升。

[0465] 在一些实施方案中,所述参数或生物标记是LDH。在一些实施方案中,所述生物标记是LDH,并且所述阈值为或为约500U/L或更高。在一些实施方案中,所述参数或生物标记是SPD。在一些实施方案中,所述参数是SPD,并且所述阈值为或为约50cm²或更高。在一些实施方案中,生物标记或参数是SPD和LDH,并且所述阈值是为或为约50cm²或更高的SPD和为或为约500U/L或更高的LDH。在一些实施方案中,生物标记或参数与增加的发生CRS或NT的风险相关。

[0466] 在一些实施方案中,高于阈值(例如,为或为约50cm²或更高的SPD和为或为约500U/L或更高的LDH)的参数或标记的测量与增加约2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍或更多倍的发生CRS或NT(如任何等级的CRS或NT)的风险相关。在一些实施方案中,低于阈值(例如,低于或低于约500cm²的SPD和低于或低于约500U/L的LDH)的参数或标记的测量与减小约2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍或更多倍的发生CRS或NT(如任何等级的CRS或NT)的风险相关。

[0467] 在一些实施方案中,所述体积量度是SPD,并且所述阈值水平为或为约30cm²,为或为约40cm²,为或为约50cm²,为或为约60cm²,或者为或为约70cm²。在一些实施方案中,所述体积量度是SPD,并且所述阈值水平为或为约50cm²。

[0468] 在一些实施方案中,所述生物标记是LDH,并且所述阈值水平为或为约300单位/升(U/L),为或为约400U/L,为或为约500U/L,或者为或为约600U/L。在一些实施方案中,所述生物标记是LDH,并且所述阈值水平为或为约500U/L。

[0469] 在所提供方法的一些方面,通过将所述生物标记(例如,分析物)或每种生物标记的参数(例如,浓度、量、水平或活性)与所述生物标记或单独地每种生物标记的相应参数的参考值(如阈值水平)比较,确定受试者具有发生毒性(例如,神经毒性,如严重神经毒性或3级或更高级的神经毒性,例如4级或5级神经毒性和/或CRS,如严重CRS或3级或更高级的CRS)的风险。在一些实施方案中,所述比较指示所述受试者是否具有发生毒性(例如,神经毒性,如严重神经毒性或3级或更高级的神经毒性,例如,4级或5级神经毒性,和/或CRS,如严重CRS或3级或更高级的CRS)的风险,和/或指示发生所述毒性的风险的程度。在一些实施方案中,所述参考值是阈值水平或截止值,在所述阈值水平或截止值下,存在预测这种毒性将发生或者可能单独或与组中的一种或多种生物标记组合发生的良好预测价值(例如,准确度、灵敏度和/或特异性)。在一些情况下,这个参考值(例如,阈值水平)可以是或者是在进行所述方法之前预定或已知的,如从先前用细胞疗法治疗并针对生物标记或单独地组中每种生物标记的参数与毒性结果的存在(例如,神经毒性(如严重神经毒性或3级或更高级的神经毒性,例如,4级或5级神经毒性)和/或CRS(如严重CRS或3级或更高级的CRS)的存在)的相关进行评估的多个受试者来预定或已知。

[0470] 在一些实施方案中,生物标记(例如,LDH、铁蛋白、CRP、IL-6、IL-8、IL-10、TNF- α 、IFN- α 2、MCP-1和MIP-1 β)的高于或大于相应参数的参考值(例如,阈值水平)的参数与毒性风险的阳性预测相关(单独或结合对组中其他生物标记的评估)。在一些实施方案中,生物标记的等于或低于相应参数的参考值(例如,阈值水平)的参数与毒性风险的阴性预测相关(单独或结合对组中其他生物标记的评估)。

[0471] 在一些实施方案中,所述阈值水平是基于对生物标记呈阳性的样品中所述生物标记(例如,分析物)的水平、量、浓度或其他量度来确定。在一些方面,所述阈值水平是在接受

表达重组受体的治疗性细胞组合物之前从一组受试者获得的生物样品中生物标记或参数的平均水平、量或浓度或量度的25%内、20%内、15%内、10%内或5%内,和/或是在所述平均水平、量或浓度或量度的标准差内,其中所述组中的每名受试者在接受用于治疗相同疾病或病症的表达重组受体的治疗性细胞组合物后继续发生毒性(例如,神经毒性,如严重神经毒性或3级或更高级的神经毒性,例如,4级或5级神经毒性,和/或CRS,如严重CRS或3级或更高级的CRS)。

[0472] 在任何所提供方法的一些实施方案中,所述生物标记(例如,分析物)与发生严重神经毒性(如严重神经毒性或3级或更高级的神经毒性,例如,4级或5级神经毒性,和/或严重CRS或3级或更高级的CRS)的风险相关,和/或预测所述风险。在一些实施方案中,所述阈值水平是在接受表达重组受体的治疗性细胞组合物之前从一组受试者获得的生物样品中所述生物标记或参数的平均水平、量或浓度或量度的25%内、20%内、15%内、10%内或5%内,和/或是在所述平均水平、量或浓度或量度的标准差内,其中所述组中的每名受试者在接受用于治疗相同疾病或病症的表达重组受体的治疗性细胞组合物后继续发生严重神经毒性或3级或更高级的神经毒性,例如,4级或5级神经毒性,和/或严重CRS或3级或更高级的CRS。

[0473] 在一些实施方案中,在开始淋巴细胞清除之前具有治疗前高肿瘤负荷(通过垂直直径的乘积之和(SPD; $\geq 500\text{cm}^2$) 测量)或高血清乳酸脱氢酶(LDH; $\geq 500\text{U/L}$)的患有NHL的受试者也可能具有发生CRS和/或神经毒性的较高风险。在一些实施方案中,炎性标记(如铁蛋白和C反应蛋白(CRP))的给予前高水平也可能与CRS相关。在一些实施方案中,IL-6、IFN- γ 、铁蛋白和CRP的峰值水平可能与任何等级或3级或更高的神经毒性相关。在一些实施方案中,患有B细胞急性成淋巴细胞性白血病(ALL)和高疾病负荷的受试者可能具有发生CRS的升高的风险。在一些实施方案中,严重的神经毒性可能与过继细胞疗法时较高的疾病负荷相关。在一些实施方案中,与基线测量值相比,具有神经毒性的患者中的脑脊液(CSF)中的蛋白质水平可能升高。在一些方面,其他器官功能障碍(肝和肾)以及低氧血症和感染也可能促成脑病。在一些方面,细胞因子介导的内皮激活可能与凝血病、毛细血管渗漏和血脑屏障破坏相关,从而允许高浓度的全身性细胞因子转移到CSF中。

[0474] C. 测量用试剂

[0475] 在一些实施方案中,使用一种或多种能够检测参数或对所述参数具有特异性的试剂检测参数,例如患者因素、生物标记、炎性标记和/或细胞因子。在一些实施方案中,还提供了试剂盒和制品,用于检测或评估参数和/或用于调节疗法(例如细胞疗法)。

[0476] 在一些实施方案中,还提供了使用所述试剂测定来自受试者的生物样品的说明书,所述受试者是任选地用细胞疗法治疗的候选者,所述细胞疗法任选地包括表达重组受体的基因工程化细胞的剂量或组合物。在一些使用制品的实施方案中,检测并评估C-C基序趋化因子配体13(CCL13)、C反应蛋白(CRP)、C-X-C基序趋化因子10(CXCL10)、D-二聚体(纤维蛋白降解产物)、铁蛋白、IFN- $\alpha 2$ 、白细胞介素-2(IL-2)、IL-10、IL-15、IL-16、IL-6、IL-7、IL-8、干扰素 γ (IFN- γ)、乳酸脱氢酶(LDH)、巨噬细胞炎性蛋白(MIP-1 α)、MIP-1 β 、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、SAA-1、血清淀粉样蛋白A1(SAA-1)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)的水平或存在。在使用制品的一些实施方案中,检测和评估C反应蛋白(CRP)、红细胞沉降率(ESR)、白蛋白、铁蛋白、 $\beta 2$ 微球蛋白($\beta 2\text{-M}$)或乳酸脱氢酶(LDH)的水平或存在。还提供了检测和评

估指示肿瘤负荷的一种或多种患者属性、因素和/或生物标记的方法。

[0477] 在一些实施方案中,测量一个或多个参数(例如,生物标记)的值包括使能够直接或间接检测分析物的试剂与生物样品接触并确定所述分析物在所述生物样品中的存在或不存在、水平、量或浓度。在一些实施方案中,检测并评估一种或多种参数,例如生物标记、C-C基序趋化因子配体13 (CCL13)、C反应蛋白 (CRP)、C-X-C基序趋化因子10 (CXCL10)、D-二聚体(纤维蛋白降解产物)、铁蛋白、IFN- α 2、白细胞介素-2 (IL-2)、IL-10、IL-15、IL-16、IL-6、IL-7、IL-8、干扰素 γ (IFN- γ)、乳酸脱氢酶 (LDH)、巨噬细胞炎性蛋白 (MIP-1 α)、MIP-1 β 、单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1)、SAA-1、血清淀粉样蛋白A1 (SAA-1)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)。在一些使用制品的实施方案中,C反应蛋白 (CRP)、红细胞沉降率 (ESR)、白蛋白、铁蛋白、 β 2微球蛋白 (β 2-M) 或乳酸脱氢酶 (LDH) 的水平或存在。在一些实施方案中,一种或多种参数(例如生物标记)是或包括LDH。

[0478] 在一些方面,所述试剂是与生物标记特异性结合的结合分子。例如,在一些实施方案中,所述试剂是抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,所述试剂是或包括生物标记的底物或结合配偶体。

[0479] 在一些实施方案中,在样品中检测或确定LDH的存在、不存在或水平、量、浓度和/或其他量度。多种检测或确定LDH的方法是已知的。例如,可以使用通过NAD⁺还原为NADH测量将乳酸盐LDH转化为丙酮酸盐的测定来检测样品中的LDH。在一些实施方案中,使样品在辅酶NAD的存在下与乳酸盐接触,所述辅酶NAD作为样品中LDH的量度产生NADH,然后NADH在电子转移剂的存在下发生氧化。在一些实施方案中,NADH与可以通过测量可见光范围内的吸收来检测的探针或染料前体相互作用。在一些例子中,心肌黄酶使用NADH将四唑盐 (INT) 还原为红色甲臢 (formazan) 产物,并测量所述产物。因此,在一些实施方案中,所形成的有色产物的量与样品中的LDH活性成正比。

[0480] 在一些实施方案中,使用免疫测定评估患者属性、因素和/或生物标记。例如,可以使用酶联免疫吸附测定 (ELISA)、酶免疫测定 (EIA)、放射免疫测定 (RIA)、表面等离子体共振 (SPR)、蛋白质印迹、侧向流测定、免疫组织化学、蛋白质阵列或免疫PCR (iPCR) 来检测患者属性、因素和/或生物标记。在一些实施方案中,使用制品包括检测指示肿瘤负荷的患者属性、因素和/或生物标记。在一些情况下,使用流式细胞术测定或评估患者属性、因素和/或生物标记。在一些情况下,所述试剂是可溶性蛋白质,其结合患者属性、因素和/或生物标记。在一些例子中,试剂是结合C反应蛋白 (CRP)、红细胞沉降率 (ESR)、白蛋白、铁蛋白、 β 2微球蛋白 (β 2-M) 或乳酸脱氢酶 (LDH) 的蛋白质。

[0481] 在一些实施方案中,使用体外酶联免疫吸附测定来评估C反应蛋白 (CRP),以从样品(例如血清、血浆或血液)获得人CRP的定量测量值。在一些例子中,使用人酶联免疫吸附测定 (ELISA) 检测CRP。在一些实施方案中,通过测量红细胞在竖直移液管或导管中从血浆中分离后已经下降的距离(以毫米/小时为单位)来评估红细胞沉降率 (ESR)。在一些方面,使用比色测试或体外酶联免疫吸附测定来评估白蛋白。在一些例子中,使用人酶联免疫吸附测定 (ELISA) 检测白蛋白。在一些实施方案中,铁蛋白或 β 2微球蛋白是使用免疫测定来评估,或使用ELISA来检测。在一些方面,使用比色测试或体外酶联免疫吸附测定来评估乳酸脱氢酶 (LDH)。

[0482] 本文的术语“抗体”是以最广义使用,并且包括多克隆和单克隆抗体,包括完整抗

体和功能性(抗原结合)抗体片段,包括抗原结合的片段(Fab)片段、F(ab')₂片段、Fab'片段、Fv片段、重组IgG(rIgG)片段、单链抗体片段(包括单链可变片段(scFv))和单结构域抗体(例如,sdAb、sdFv、纳米抗体)片段。所述术语涵盖免疫球蛋白的基因工程化的和/或以其他方式修饰的形式,如胞内抗体、肽体、嵌合抗体、全人抗体、人源化抗体和异缀合抗体、多特异性(例如,双特异性)抗体、双抗体、三抗体和四抗体、串联二-scFv、串联三-scFv。除非另有说明,否则术语“抗体”应当理解为涵盖其功能性抗体片段。所述术语还涵盖完整或全长抗体,包括任何类别或亚类(包括IgG及其亚类、IgM、IgE、IgA和IgD)的抗体。

[0483] 所提供的抗体包括抗体片段。“抗体片段”是指不同于完整抗体的分子,其包含完整抗体的结合完整抗体所结合的抗原的一部分。抗体片段的例子包括但不限于Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂;双抗体;线性抗体;单链抗体分子(例如scFv);和由抗体片段形成的多特异性抗体。在特定实施方案中,抗体是包含可变重链区和/或可变轻链区的单链抗体片段,如scFv。

[0484] 单结构域抗体是包含抗体的全部或部分重链可变结构域或者全部或部分轻链可变结构域的抗体片段。在某些实施方案中,单结构域抗体是人单结构域抗体。

[0485] 抗体片段可以通过各种技术制备,包括但不限于完整抗体的蛋白水解消化以及通过重组宿主细胞产生。在一些实施方案中,所述抗体是重组产生的片段,如包含天然不存在的排列的片段(如具有通过合成接头(例如,肽接头)连接的两个或更多个抗体区或链的那些),和/或可以不通过酶消化天然存在的完整抗体产生的片段。在一些方面,抗体片段是scFv。

[0486] “人源化”抗体是这样的抗体,其中全部或基本上全部CDR氨基酸残基源自非人CDR并且全部或基本上全部FR氨基酸残基源自人FR。人源化抗体任选地可以包括衍生自人抗体的抗体恒定区的至少一部分。非人抗体的“人源化形式”是指非人抗体的变体,其经历人源化以通常降低对人的免疫原性,同时保留亲本非人抗体的特异性和亲和力。在一些实施方案中,人源化抗体中的一些FR残基被来自非人抗体(例如,衍生出CDR残基的抗体)的相应残基取代,例如以恢复或改善抗体特异性或亲和力。

[0487] 所提供的抗体包括人抗体。“人抗体”是具有与人或人细胞或者利用人抗体库或其他人抗体编码序列(包括人抗体文库)的非人来源产生的抗体的氨基酸序列对应的氨基酸序列的抗体。所述术语不包括包含非人抗原结合区的非人抗体的人源化形式,如所有或基本上所有CDR都是非人的那些。

[0488] 人抗体可以通过将免疫原给予转基因动物来制备,所述转基因动物已经被修饰以响应于抗原激发产生完整人抗体或具有人可变区的完整抗体。此类动物通常含有人免疫球蛋白基因座的全部或一部分,其替代内源免疫球蛋白基因座,或者其存在于染色体外或随机整合至动物染色体中。在此类转基因动物中,通常内源免疫球蛋白基因座已经被失活。人抗体也可以衍生自含有衍生自人库的抗体编码序列的人抗体文库,包括噬菌体展示和无细胞文库。

[0489] 所提供的抗体包括单克隆抗体,包括单克隆抗体片段。如本文所用的术语“单克隆抗体”是指从基本上同质抗体的群体(即,构成所述群体的单独抗体是相同的,但含有天然存在的突变或在单克隆抗体制剂的产生期间产生的可能变体除外,此类变体通常以少量存在)获得或在所述群体内的抗体。与通常包括针对不同表位的不同抗体的多克隆抗体制剂

相反,单克隆抗体制剂的每种单克隆抗体针对抗原上的单个表位。所述术语不应解释为需要通过任何特定方法产生抗体。单克隆抗体可以通过多种技术制备,包括但不限于从杂交瘤产生、重组DNA方法、噬菌体展示和其他抗体展示方法。

[0490] 还提供了抗体免疫缀合物,其包含针对附着于标签的生物标记的抗体,所述标记可以间接或直接产生可检测的信号。这些抗体免疫缀合物可以用于研究或诊断应用。所述标签优选地能够直接或间接地产生可检测的信号。例如,所述标签可以是不透射线的或放射性同位素,如³H、¹⁴C、³²P、³⁵S、¹²³I、¹²⁵I、¹³¹I;荧光(荧光团)或化学发光(发色团)化合物,如异硫氰酸荧光素、罗丹明或萤光素;酶,如碱性磷酸酶、β-半乳糖苷酶或辣根过氧化物酶;成像剂;或金属离子。在一些实施方案中,所述标签是用于闪烁扫描研究的放射性原子,例如⁹⁹Tc或¹²³I,或用于核磁共振(NMR)成像(也称为磁共振成像,MRI)的旋转标签,如钆-89、碘-123、碘-131、铟-111、氟-19、碳-13、氮-15、氧-17、钆、锰或铁。钆-89可以与多种金属螯合剂络合并与抗体缀合,例如用于PET成像(WO 2011/056983)。

[0491] 在一些实施方案中,所述抗体免疫缀合物是间接可检测的。例如,对针对在髓系细胞群免疫缀合物上表达的标记的抗体具有特异性并含有可检测标签的二抗可以用于检测所述抗体免疫缀合物。

[0492] 在一些实施方案中,可以通过多种已知测定来鉴定能够检测本文所提供的患者属性、因素和/或生物标记或对所述患者属性、因素和/或生物标记具有特异性的抗体,或针对所述抗体的物理/化学特性和/或生物学活性对所述抗体进行筛选或表征。在一个方面,例如通过已知方法测试所述抗体的抗原结合活性,所述方法是例如免疫测定、ELISA、蛋白质印迹和/或流式细胞术测定,包括基于细胞的结合测定。

[0493] D. 样品

[0494] 在一些实施方案中,从生物样品评估所述一种或多种患者属性、因素和/或生物标记。在一些方面,生物样品是体液或组织。在一些此类实施方案中,生物样品(例如,体液)是或含有全血、血清或血浆。

[0495] 在特定实施方案中,在给予疗法之前,从受试者获得、收集或采集两个或更多个样品。在某些实施方案中,样品是生物样品。在某些实施方案中,样品是血液样品、血浆样品或血清样品。在某些实施方案中,样品是组织样品。在一些实施方案中,样品是活组织检查。在一些实施方案中,样品是在筛选期间(例如常规评估或抽血)从受试者获得,以确认和/或鉴定受试者的病症或疾病。

[0496] 在一些实施方案中,生物样品是单采术或白细胞单采术样品。在一些实施方案中,评估一种或多种生物标记的或不存在和/或参数,或者所述生物样品是在给予所述细胞疗法之后获得。在一些实施方案中,试剂可以在给予所述细胞疗法之前或给予细胞疗法之后用于诊断目的,以鉴定受试者和/或评估治疗结果和/或毒性。

[0497] 在一些实施方案中,所述生物样品是在给予所述细胞疗法之前(例如,输注前)从受试者获得,例如,在开始给予工程化细胞之前多达2天、多达7天、多达14天、多达21天、多达28天、多达35天或多达40天获得。

[0498] 在某些实施方案中,在两个或更多个时间点获得的一个或多个样品中测量、评估和/或确定一种或多种患者属性、因素和/或生物标记,以确定指示疾病负荷的因素的倍数变化。在特定实施方案中,所述样品是从受试者采集、收集和/或获得的生物样品。在某些实

施方案中,受试者患有疾病或病症和/或被怀疑患有疾病或病症。在一些实施方案中,受试者已经接受疗法,将接受疗法或者是接受疗法的候选人。在一些实施方案中,所述疗法是给予细胞疗法。在特定实施方案中,所述疗法是免疫疗法。在某些实施方案中,细胞疗法治疗和/或能够治疗疾病或病症。在一些实施方案中,所述疗法是含有一种或多种工程化细胞的细胞疗法。在一些实施方案中,所述工程化细胞表达重组受体。在特定实施方案中,重组受体是CAR。在特定实施方案中,样品是从已经给予疗法、将给予疗法或者是给予治疗的候选人的受试者采集、收集和/或获得的。在特定实施方案中,样品是在用疗法(例如细胞疗法)治疗或给予前采集、收集和/或获得的。

[0499] 在一些实施方案中,样品不包含表达嵌合抗原受体(CAR)的基因工程化T细胞和/或是从接受表达CAR的基因工程化T细胞的给予之前的受试者获得。

[0500] 在特定实施方案中,样品是从已经给予疗法、将给予疗法或者是给予治疗的候选人的受试者采集、收集和/或获得的。在特定实施方案中,样品是在用疗法(例如细胞疗法)治疗或给予前采集、收集和/或获得的。根据本文所述的方法、试剂盒和制品,可以评估样品的一种或多种与毒性或毒性风险相关和/或相关联的患者属性、因素和/或生物标记。与发生在接受免疫疗法之前从受试者收集或获得的样品中可检测的毒性和/或反应的风险相关和/或相关联的示例性患者属性、因素和/或生物标记包括C反应蛋白(CRP)、红细胞沉降率(ESR)、白蛋白、铁蛋白、 β 2微球蛋白(β 2-M)或乳酸脱氢酶(LDH)。在一些实施方案中,与发生在接受免疫疗法之前或之后从受试者收集或获得的样品中可检测的毒性和/或反应的风险相关和/或相关联的患者属性、因素和/或生物标记包括C-C基序趋化因子配体13(CCL13)、C反应蛋白(CRP)、C-X-C基序趋化因子10(CXCL10)、D-二聚体(纤维蛋白降解产物)、铁蛋白、IFN- α 2、白细胞介素-2(IL-2)、IL-10、IL-15、IL-16、IL-6、IL-7、IL-8、干扰素 γ (IFN- γ)、乳酸脱氢酶(LDH)、巨噬细胞炎性蛋白(MIP-1 α)、MIP-1 β 、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、SAA-1、血清淀粉样蛋白A1(SAA-1)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)。因此,在一些方面,所提供的方法涉及在接受免疫疗法(例如细胞疗法,例如CAR-T细胞)之前鉴定受试者,所述受试者可以实现治疗窗口或范围内的药代动力学参数。在一些实施方案中,所提供的方法涉及在接受免疫疗法或细胞疗法之前或之后鉴定受试者,用于调节免疫疗法或细胞疗法,例如通过向受试者给予能够调节(任选地增加或减少)CAR⁺ T细胞扩增、增殖和/或活性的药剂来调节。如本文其他地方所述,所述方法可以用于确定在给予免疫疗法之后是否应密切监测受试者,所述受试者是门诊疗法的候选者还是应在医院环境中接受所述疗法的治疗,和/或所述受试者是否是接受能够调节CAR⁺ T细胞扩增和/或增殖的药剂和/或预防、治疗或改善毒性风险的干预的候选者。

[0501] 在一些实施方案中,样品是从患有或被怀疑患有病症或疾病的受试者采集、收集和/或获得的。在一些实施方案中,受试者患有或被怀疑患有癌症或增殖性疾病。在特定实施方案中,受试者患有疾病或病症,或被怀疑患有疾病或病症,所述疾病或病症与抗原相关和/或与表达所述抗原的患病细胞相关。在一些实施方案中,所述疾病或病症(例如癌症或增殖性障碍)与以下各项相关: α v β 6整合素(α v β 6整合素)、B细胞成熟抗原(BCMA)、B7-H3、B7-H6、碳酸酐酶9(CA9,也称为CAIX或G250)、癌症-睾丸抗原、癌症/睾丸抗原1B(CTAG,也称为NY-ESO-1和LAGE-2)、癌胚抗原(CEA)、细胞周期蛋白、细胞周期蛋白A2、C-C基序趋化因子配体1(CCL-1)、CD19、CD20、CD22、CD23、CD24、CD30、CD33、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、

CD123、CD133、CD138、CD171、硫酸软骨素蛋白聚糖4 (CSPG4)、表皮生长因子蛋白 (EGFR)、表皮生长因子受体III型突变体 (EGFR vIII)、上皮糖蛋白2 (EPG-2)、上皮糖蛋白40 (EPG-40)、肝配蛋白B2、肝配蛋白受体A2 (EPHa2)、雌激素受体、Fc受体样蛋白5 (FCRL5; 也称为Fc受体同源物5或FCRH5)、胎儿乙酰胆碱受体 (胎儿AChR)、叶酸结合蛋白 (FBP)、叶酸受体 α 、神经节苷脂GD2、O-乙酰化GD2 (OGD2)、神经节苷脂GD3、糖蛋白100 (gp100)、磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3 (GPC3)、G蛋白偶联受体5D (GPRC5D)、Her2/neu (受体酪氨酸激酶erb-B2)、Her3 (erb-B3)、Her4 (erb-B4)、erbB二聚体、人高分子量黑色素瘤相关抗原 (HMW-MAA)、乙型肝炎表面抗原、人白细胞抗原A1 (HLA-A1)、人白细胞抗原A2 (HLA-A2)、IL-22受体 α (IL-22Ra)、IL-13受体 α 2 (IL-13Ra2)、激酶插入结构域受体 (kdr)、 κ 轻链、L1细胞粘附分子 (L1-CAM)、L1-CAM的CE7表位、含有富亮氨酸重复序列的蛋白8家族成员A (LRRC8A)、路易斯Y、黑色素瘤相关抗原 (MAGE)-A1、MAGE-A3、MAGE-A6、MAGE-A10、间皮素 (MSLN)、c-Met、鼠类巨细胞病毒 (CMV)、粘蛋白1 (MUC1)、MUC16、自然杀伤细胞2族成员D (NKG2D) 配体、黑色素A (MART-1)、神经细胞粘附分子 (NCAM)、癌胚胎抗原、黑色素瘤优先表达抗原 (PRAME)、孕酮受体、前列腺特异性抗原、前列腺干细胞抗原 (PSCA)、前列腺特异性膜抗原 (PSMA)、受体酪氨酸激酶样孤儿受体1 (ROR1)、存活蛋白、滋养层糖蛋白 (TPBG, 也称为5T4)、肿瘤相关糖蛋白72 (TAG72)、酪氨酸酶相关蛋白1 (TRP1, 也称为TYRP1或gp75)、酪氨酸酶相关蛋白2 (TRP2, 也称为多巴色素互变异构酶、多巴色素 δ 异构酶或DCT)、血管内皮生长因子受体 (VEGFR)、血管内皮生长因子受体2 (VEGFR2)、Wilms肿瘤1 (WT-1)、病原体特异性或病原体表达的抗原、或与通用标签相关的抗原、和/或生物素化分子、和/或由HIV、HCV、HBV或其他病原体表达的分子。在一些实施方案中,受体靶向的抗原包括与B细胞恶性肿瘤相关的抗原,如许多已知B细胞标记中的任何一种。在一些实施方案中,所述抗原是或包括CD20、CD19、CD22、ROR1、CD45、CD21、CD5、CD33、Ig κ 、Ig λ 、CD79a、CD79b或CD30。在某些实施方案中,受试者患有疾病或病症,或被怀疑患有疾病或病症,所述疾病或病症与CD19相关和/或与表达CD19的患病细胞相关。

[0502] 在一些实施方案中,样品是从患有或被怀疑患有癌症或增殖性疾病 (其为B细胞恶性肿瘤或血液恶性肿瘤) 的受试者采集、收集和/或获得的。在一些实施方案中,所述癌症或增殖性疾病是骨髓瘤 (例如多发性骨髓瘤 (MM))、淋巴瘤或白血病、成淋巴细胞性白血病 (ALL)、非霍奇金淋巴瘤 (NHL)、慢性淋巴细胞白血病 (CLL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤 (DLBCL) 和/或急性髓性白血病 (AML)。在一些实施方案中,癌症或增殖性障碍是ALL。在一些实施方案中,受试者患有或被怀疑患有ALL。在一些实施方案中,ALL是成人ALL。在特定实施方案中,ALL是儿科ALL。

[0503] E. 调节细胞扩增和活性的药剂

[0504] 在一些方面,提供了基于对参数的评估和/或确定来调节所给予细胞 (例如CAR+ T细胞) 的扩增、增殖和/或活性的方法,所述参数例如药代动力学参数和/或其他参数,例如患者属性和/或生物标记的表达。在一些实施方案中,所述方法涉及根据对参数的确定,给予调节 (例如增加或减少) 所给予细胞 (例如CAR+ T细胞) 的扩增、增殖和/或活性的药剂。在一些实施方案中,如果基于对参数的评估,基因工程化细胞不在治疗范围内,则给予药剂,所述参数例如药代动力学参数,例如最大或峰值CAR+细胞浓度。在一些实施方案中,所述药剂是增加、扩大或加强CAR+ T细胞的增殖和/或扩增的药剂。在一些实施方案中,所述药剂是降低、减少和/或减弱CAR+ T细胞的增殖和/或扩增的药剂。

[0505] 在一些实施方案中,可以将所述药剂与所述疗法(如用于过继细胞疗法的细胞)依序、间歇或同时或在相同组合物中给予。在一些实施方案中,将所述药剂在给予细胞(例如,表达重组受体(例如,CAR)的细胞)之前、同时、间歇地、期间、在过程中或之后给予。在一些实施方案中,此类药剂包括调节所给予细胞(例如免疫细胞,例如T细胞)的细胞扩增和/或活性的药剂。在一些实施方案中,此类药剂包括减少或降低所述细胞的扩增和/或增殖、所给予细胞(例如免疫细胞,例如T细胞)的扩增和/或活性的药剂。

[0506] 在一些实施方案中,在开始给予基因工程化细胞后大于或大于约8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天或21天的时间给予所述药剂。在一些实施方案中,将所述药剂在开始给予所述基因工程化细胞后在或在约11天至22天、12天至18天或14天至16天之间的时间给予,所述时间中的每个都包含端值。

[0507] 在一些实施方案中,将所述药剂在如本文所述的时间并且根据所提供方法和/或用所提供制品或组合物给予。在一些实施方案中,将所述药剂在开始免疫疗法和/或细胞疗法后3、4、5、6、7、8、9天或10天内(例如少于或不超过3、4、5、6、7、8、9天或10天)的时间给予。在一些实施方案中,将所述药剂在开始给予免疫疗法和/或细胞疗法后,在或在约1天、2天或3天内给予。

[0508] 在一些实施方案中,可以将所述药剂与免疫疗法和/或细胞疗法(例如用于过继细胞疗法的细胞)或其开始依序、间歇或同时或在相同组合物中给予。在本文提供的任何方法的一些实施方案中,在开始给予细胞疗法之前、同时、过程中和/或之后,和/或在细胞疗法的过程中,给予所述药剂。在一些实施方案中,在开始T细胞疗法之前从或从约0至96小时、0至72小时、0至48小时、0至24小时、0至12小时或0至6小时或0至2小时,给予所述药剂;或在开始T细胞疗法之前不超过96小时、72小时、48小时、24小时、12小时、6小时、2小时或1小时,给予所述药剂。在一些实施方案中,方法涉及在给予细胞疗法(例如过继细胞疗法)之前的时间向受试者给予治疗有效量的所述药剂。在一些实施方案中,在给予用于细胞疗法的细胞之前约24小时或更短时间,给予所述药剂。在一些实施方案中,在给予细胞或其开始之前约24、22、20、18、16、14、12、10、8、6、4或2小时或更短时间,给予所述药剂。

[0509] 在一些实施方案中,将所述药剂与细胞疗法或其开始同时或几乎同时给予,例如在开始细胞疗法的约1、2、3或4小时内。

[0510] 在一些实施方案中,可以在给予细胞疗法或其开始之后大于或大于约1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、7小时、8小时、9小时、10小时、11小时、12小时、18小时、24小时、36小时、2天、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天或10天或更长时间,给予所述药剂。在一些此类实施方案中,可以在给予细胞疗法或其开始之后不迟于1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、7小时、8小时、9小时、10小时、11小时、12小时、18小时、24小时、36小时、2天、3天、4天或5天或更长时间,给予所述药剂。

[0511] 在一些方面,可以在给予细胞疗法之后在或在约1小时与或与约5天之间或在或在约4小时与或与约5天之间(如在给予细胞疗法或其开始之后在或在约1小时与或与约5天、或在或在约4小时与或与约4天、或在或在约8小时与或与约3天、或在或在约1天与或与约3天、或在或在约2天与或与约3天、或在或在约1天与或与约2天之间),给予所述药剂。在一些此类情况下,在给予细胞疗法或其开始之后为或为约1天、为或为约2天、为或为约3天,给予所述药剂。在一些情形下,在给予细胞疗法或其开始后3天内、2天内或1天内用所述药剂治疗受试

者。在一些实施方案中,可以在给予细胞疗法或其开始之后大于或大于约1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、7小时、8小时、9小时、10小时、11小时、12小时、18小时、24小时、36小时、2天、3天、4天或5天或更长时间,给予所述药剂。在一些此类实施方案中,可以在给予细胞疗法或其开始之后不迟于或不迟于约1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、7小时、8小时、9小时、10小时、11小时、12小时、18小时、24小时、36小时、2天、3天、4天或5天或更长时间、给予所述药剂。

[0512] 在一些情况下,将所述药剂或疗法或干预单独给予,或作为组合物或配制品(例如药物组合物或配制品)的一部分给予,如本文所述。因此,可以将单独的或作为药物组合物的一部分的药剂静脉内或口服给予,或者通过任何其他可接受的已知给予途径或如本文所述给予。

[0513] 1. 用于扩大或增强细胞扩增的药剂

[0514] 在一些实施方案中,所述方法包括涉及与能够扩大、加强或增强所给予细胞(例如重组受体表达细胞)的扩增、增殖、存活、效力和/或功效的药物或药剂组合给予(例如同时或依序给予)的方法。在一些实施方案中,给予这种药剂以实现在治疗范围内的峰值CAR⁺ T细胞扩增。在一些实施方案中,所给予细胞的剂量是次最佳的,并且所述药剂的组合给予加强或扩大了扩增以实现在治疗范围内的血液中的峰值CAR⁺ T细胞。在一些实施方案中,所述方法包括给予一定剂量的细胞并监测血液中的峰值CAR⁺ T细胞以确保维持或实现治疗范围,并且如果没有维持或实现所述治疗范围,则给予药剂或化合物以加强或扩大治疗剂量。在一些实施方案中,例如在低药代动力学参数(如低最大CAR⁺ T细胞浓度(C_{max}))下,细胞的低或有限扩增可限制肿瘤抑制作用。

[0515] 在一些实施方案中,将所述药剂在给予细胞(例如表达重组受体(例如CAR)的细胞)之前、期间、在过程中或之后给予。在一些实施方案中,此类药剂包括由于特异性调节转基因(例如编码重组受体的转基因)而特异性扩大、加强或增强工程化细胞的扩增、增殖、存活、效力和/或功效的药剂。在一些实施方案中,此类药剂包括调节所给予细胞(例如免疫细胞,例如T细胞)的细胞扩增和/或活性的药剂。

[0516] 在一些实施方案中,所给予的细胞(例如工程化以表达重组受体的细胞)被修饰以扩大、加强或增强所给予细胞的扩增、增殖、存活、效力和/或功效。在一些实施方案中,所给予的细胞(例如,工程化以表达重组受体的细胞)被修饰,使得可以例如通过给予药剂来调节和/或控制工程化细胞的扩增、增殖、存活、效力和/或功效。在一些实施方案中,所述药剂使抑制因子的作用最小化,所述抑制因子在体内抑制工程化细胞的增殖、扩增和/或存活。

[0517] 在一些实施方案中,另外的药剂是小分子、肽、多肽、抗体或其抗原结合片段、抗体模拟物、适体或核酸分子(例如siRNA)、脂质、多糖或其任一组合。在一些实施方案中,另外的药剂是特定因子、分子、受体、功能和/或酶的抑制剂或激活剂。在一些实施方案中,另外的药剂是特定因子、分子、受体、功能和/或酶的激动剂或拮抗剂。在一些实施方案中,另外的药剂是一种或多种因子和/或代谢物的类似物或衍生物。在一些实施方案中,另外的药剂是蛋白质或多肽。在一些实施方案中,所述另外的药剂是细胞,例如工程化细胞,例如另外的剂量的所给予的相同工程化细胞和/或不同的工程化细胞。

[0518] 在一些实施方案中,所述药剂能够进行转基因特异性扩增。在一些实施方案中,用于转基因特异性扩增的示例性方法或药剂包括内源性抗原暴露、疫苗接种、抗独特型抗体

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

[0519] 在一些实施方案中,所述方法包括调节工程化细胞的扩增,例如,通过抑制所给予细胞(例如工程化免疫细胞)的增殖、扩增和/或激活的负调节物。在受试者体内的特定环境中,所给予的表达重组受体的细胞可能遇到压抑或抑制细胞生长、增殖、扩增和/或存活的环境,例如免疫抑制环境。例如,免疫抑制环境可以含有免疫抑制性细胞因子、调节性调节剂和共抑制受体。在一些实施方案中,另外的药剂可以用于调节所给予细胞的扩增,例如克服抑制环境。

[0520] 在一些实施方案中,另外的药剂包括免疫调节剂、免疫检查点抑制剂、代谢途径调节剂、腺苷途径或腺苷受体拮抗剂或激动剂以及信号传导途径的调节剂(例如激酶抑制剂)。

[0521] 在一些实施方案中,另外的药剂是免疫调节剂,例如免疫检查点抑制剂。在一些实例中,另外的药剂增加、增强或扩大所给予细胞的扩增和/或增殖,从而通过阻断免疫检查点蛋白(即免疫检查点抑制剂)来增加、增强或扩大免疫应答。在一些实施方案中,另外的药剂是增强工程化细胞(例如重组受体表达细胞)的活性的药剂,是抑制免疫抑制分子或免疫检查点分子的分子。免疫抑制分子的例子包括PD-1、PD-L1、CTLA4、TEVI3、CEACAM(例如,CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4和TGF β R。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂可以是针对免疫检查点蛋白的抗体,例如针对细胞毒性T淋巴细胞抗原4(CTLA4或CD152)、程序性细胞死亡蛋白1(PD-1)或程序性细胞死亡蛋白1配体1(PD-L1)的抗体(参见,例如,Pardoll, *Nat Rev Cancer.* 2012年3月22日;12(4):252-264)。

[0522] 免疫检查点抑制剂包括以统计学上显著的方式阻断或抑制免疫系统的抑制途径的任何药剂。此类抑制剂可以包括小分子抑制剂或者可以包括结合至并阻断或抑制免疫检查点受体、配体和/或受体-配体相互作用的抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,特定受体的调节、增强和/或刺激可以胜过免疫检查点途径组分。可以被靶向用于阻断、抑制、调节、增强和/或刺激的示例性免疫检查点分子包括但不限于PD-1(CD279)、PD-L1(CD274、

B7-H1)、PDL2 (CD273、B7-DC)、CTLA-4、LAG-3 (CD223)、TIM-3、4-1BB (CD137)、4-1BBL (CD137L)、GITR (TNFRSF18、AITR)、CD40、OX40 (CD134、TNFRSF4)、CXCR2、肿瘤相关抗原 (TAA)、B7-H3、B7-H4、BTLA、HVEM、GAL9、B7H3、B7H4、VISTA、KIR、2B4 (属于分子的CD2家族并且在所有NK、 $\gamma\delta$ 和记忆CD8+ ($\alpha\beta$) T细胞上表达)、CD160 (也称为BY55)、CGEN-15049、CEACAM (例如,CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3 (CD276)、B7-H4 (VTCN1)、HVEM (TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I类、MHC II类、GAL9、腺苷和转化生长因子受体 (TGFR; 例如, TGFR β)。免疫检查点抑制剂包括抗体或其抗原结合片段或其他结合蛋白,其结合至并阻断或抑制和/或增强或刺激一种或多种任何所述分子的活性。

[0523] 示例性免疫检查点抑制剂包括曲美目单抗 (CTLA-4阻断抗体,也称为替西木单抗、CP-675,206)、抗OX40、PD-L1单克隆抗体 (抗B7-H1; MEDI4736)、MK-3475 (PD-1阻断剂)、纳武单抗 (抗PD-1抗体)、CT-011 (抗PD-1抗体)、BY55单克隆抗体、AMP224 (抗PD-L1抗体)、BMS-936559 (抗PD-L1抗体)、MPLDL3280A (抗PD-L1抗体)、MSB0010718C (抗PD-L1抗体) 和伊匹单抗 (抗CTLA-4抗体,也称为 **Yervoy®**、MDX-010和MDX-101)。免疫调节抗体的示例包括但不限于达珠单抗 (Dacalizumab) (Zenapax)、贝伐单抗 (Bevacizumab) (**Avastin®**)、巴利昔单抗 (Basiliximab)、伊匹单抗 (Ipilimumab)、纳武单抗、派姆单抗 (pembrolizumab)、MPDL3280A、匹地利珠单抗 (Pidilizumab) (CT-011)、MK-3475、BMS-936559、MPDL3280A (阿特珠单抗 (Atezolizumab))、曲美目单抗、IMP321、BMS-986016、LAG525、乌瑞鲁单抗 (urelumab)、PF-05082566、TRX518、MK-4166、达西珠单抗 (dacetuzumab) (SGN-40)、鲁卡木单抗 (lucatumumab) (HCD122)、SEA-CD40、CP-870、CP-893、MEDI6469、MEDI6383、MOXR0916、AMP-224、MSB0010718C (阿维鲁单抗 (Avelumab))、MEDI4736、PDR001、rHIgM12B7、乌洛鲁单抗 (Ulocuplumab)、BKT140、伐立鲁单抗 (Varlilumab) (CDX-1127)、ARGX-110、MGA271、利瑞鲁单抗 (lirilumab) (BMS-986015、IPH2101)、IPH2201、ARGX-115、艾马珠单抗 (Emactuzumab)、CC-90002和MNRP1685A或其抗体结合片段。其他示例性免疫调节剂包括例如阿夫土珠单抗 (afutuzumab) (可从 **Roche®** 获得); 培非格司亭 (pegfilgrastim) (**Neulasta®**); 来那度胺 (lenalidomide) (CC-5013, **Revlimid®**); 沙利度胺 (thalidomide) (**Thalomid®**)、actimid (CC4047); 和IRX-2 (人细胞因子的混合物,包括白细胞介素1、白细胞介素2和干扰素 γ , CAS 951209-71-5, 可从IRX Therapeutics获得)。

[0524] 在一些实施方案中,所述药剂包括减少调节性T细胞 (Treg) 群体的分子。减小 (例如,耗尽) Treg细胞数量的方法是本领域中已知的,并且包括例如CD25耗尽、环磷酰胺给予和调节糖皮质激素诱导的TNFR家族相关基因 (GITR) 功能。GITR是TNFR超家族的成员,其在激活的T细胞上发生上调,从而增强免疫系统。在单采术之前或在给予工程化细胞 (例如, CAR表达细胞) 之前减小受试者中Treg细胞的数量可以减小肿瘤微环境中不需要的免疫细胞 (例如, Treg) 的数量并降低所述受试者的复发风险。在一些实施方案中,所述药剂包括靶向GITR和/或调节GITR功能的分子,例如清除调节性T细胞 (Treg) 的GITR激动剂和/或GITR抗体。在一些实施方案中,所述药剂包括环磷酰胺。在一些实施方案中,将所述GITR结合分子和/或调节GITR功能的分子 (例如GITR激动剂和/或耗尽Treg的GITR抗体) 在工程化细胞 (例如CAR表达细胞) 之前给予。例如,在一些实施方案中,可以将所述GITR激动剂在所述细

胞的单采术之前给予。在一些实施方案中,在给予(例如,输注或再输注)工程化细胞(例如,CAR表达细胞)之前或在所述细胞的单采术之前,将环磷酰胺给予至所述受试者。在一些实施方案中,在给予(例如,输注或再输注)工程化细胞(例如,CAR表达细胞)之前或在所述细胞的单采术之前,将环磷酰胺和抗GITR抗体给予至所述受试者。

[0525] 在一些实施方案中,所述药剂是GITR激动剂。示例性GITR激动剂包括例如GITR融合蛋白和抗GITR抗体(例如,二价抗GITR抗体),例如美国专利号6,111,090、欧洲专利号090505B 1、美国专利号8,586,023、PCT公开号W0 2010/003118和2011/090754中描述的GITR融合蛋白;或例如美国专利号7,025,962、欧洲专利号1947183B 1、美国专利号7,812,135、美国专利号8,388,967、美国专利号8,591,886、欧洲专利号EP 1866339、PCT公开号W0 2011/028683、PCT公开号W0 2013/039954、PCT公开号W0 2005/007190、PCT公开号W0 2007/133822、PCT公开号W0 2005/055808、PCT公开号W0 99/40196、PCT公开号W0 2001/03720、PCT公开号W0 99/20758、PCT公开号W0 2006/083289、PCT公开号W0 2005/115451、美国专利号7,618,632和PCT公开号W0 2011/051726中描述的抗GITR抗体。示例性抗GITR抗体是TRX518。

[0526] 在一些实施方案中,所述药剂是沙利度胺的结构或功能类似物或衍生物和/或E3泛素连接酶的抑制剂。在一些实施方案中,所述免疫调节剂与赛拉隆蛋白(cereblon,CRBN)结合。在一些实施方案中,所述免疫调节剂与CRBN E3泛素连接酶复合物结合。在一些实施方案中,所述免疫调节剂与CRBN和CRBN E3泛素连接酶复合物结合。在一些实施方案中,所述免疫调节剂上调CRBN的蛋白质或基因表达。在一些方面,CRBN是CRL4^{CRBN} E3泛素连接酶的底物衔接子,并调节所述酶的特异性。在一些实施方案中,与CRB或CRBN E3泛素连接酶复合物的结合会抑制E3泛素连接酶的活性。在一些实施方案中,免疫调节剂诱导IKZF1 (Ikaros)和IKZF3 (Aiolos)的泛素化和/或诱导IKZF1 (Ikaros)和IKZF3 (Aiolos)的降解。在一些实施方案中,免疫调节剂通过CRL4^{CRBN} E3泛素连接酶诱导酪蛋白激酶1A1 (CK1α)的泛素化。在一些实施方案中,CK1α的泛素化导致CK1α降解。

[0527] 在一些实施方案中,所述药剂是Ikaros (IKZF1) 转录因子的抑制剂。在一些实施方案中,所述药剂增强Ikaros的泛素化。在一些实施方案中,所述药剂增强Ikaros的降解。在一些实施方案中,所述药剂下调Ikaros的蛋白质或基因表达。在一些实施方案中,所述药剂的给予引起Ikaros蛋白水平降低。

[0528] 在一些实施方案中,所述药剂是Aiolos (IKZF3) 转录因子的抑制剂。在一些实施方案中,所述药剂增强Aiolos的泛素化。在一些实施方案中,所述药剂增强Aiolos的降解。在一些实施方案中,所述药剂下调Aiolos的蛋白质或基因表达。在一些实施方案中,所述药剂的给予引起Aiolos蛋白水平降低。

[0529] 在一些实施方案中,所述药剂是沙利度胺(2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1H-异吲哚-1,3(2H)-二酮)或沙利度胺的类似物或衍生物。在某些实施方案中,沙利度胺衍生物包括具有相似生物学活性的沙利度胺的结构变体。示例性沙利度胺衍生物包括但不限于来那度胺(REVLIMMUNOMODULATORY COMPOUNDTM; Celgene Corporation)、泊马度胺(也称为ACTIMMUNOMODULATORY COMPOUNDTM或POMALYSTTM (Celgene Corporation))、CC-1088、CDC-501和CDC-801,以及在美国专利号5,712,291、7,320,991和8,716,315;美国申请号2016/0313300;以及PCT公开号W0 2002/068414和W0 2008/154252中所披露的化合物。

[0530] 在一些实施方案中,所述药剂是被苯并环中的氨基取代的1-氧代-和1,3-二氧代-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吡啶啉,如美国专利号5,635,517中所述,将所述专利通过引用并入本文。

[0531] 在一些实施方案中,所述药剂是属于以下专利中所披露的一类异吡啶啉免疫调节化合物的化合物:美国专利号7,091,353、美国专利公开号2003/0045552和国际申请号PCT/US01/50401(国际公开号W002/059106),将所述专利中的每一篇通过引用并入本文。例如,在一些实施方案中,所述药剂是[2-(2,6-二氧代-哌啶-3-基)-1,3-二氧代-2,3-二氢-1H-异吡啶啉-4-基甲基]-酰胺;2-(2,6-二氧代-哌啶-3-基)-1,3-二氧代-2,3-二氢-1H-异吡啶啉-4-基甲基)-氨基甲酸叔丁酯;4-(氨基甲基)-2-(2,6-二氧代(3-哌啶基))-异吡啶啉-1,3-二酮;N-(2-(2,6-二氧代-哌啶-3-基)-1,3-二氧代-2,3-二氢-1H-异吡啶啉-4-基甲基)-乙酰胺;N-{(2-(2,6-二氧代(3-哌啶基))-1,3-二氧代异吡啶啉-4-基)甲基}环丙基-甲酰胺;2-氯-N-{(2-(2,6-二氧代(3-哌啶基))-1,3-二氧代异吡啶啉-4-基)甲基}乙酰胺;N-(2-(2,6-二氧代(3-哌啶基))-1,3-二氧代异吡啶啉-4-基)-3-吡啶基甲酰胺;3-{1-氧代-4-(苄基氨基)异吡啶啉-2-基}哌啶-2,6-二酮;2-(2,6-二氧代(3-哌啶基))-4-(苄氨基)异吡啶啉-1,3-二酮;N-{(2-(2,6-二氧代(3-哌啶基))-1,3-二氧代异吡啶啉-4-基)甲基}丙酰胺;N-{(2-(2,6-二氧代(3-哌啶基))-1,3-二氧代异吡啶啉-4-基)甲基}-3-吡啶基甲酰胺;N-{(2-(2,6-二氧代(3-哌啶基))-1,3-二氧代异吡啶啉-4-基)甲基}庚酰胺;N-{(2-(2,6-二氧代(3-哌啶基))-1,3-二氧代异吡啶啉-4-基)甲基}-2-呋喃甲酰胺;{N-(2-(2,6-二氧代(3-哌啶基))-1,3-二氧代异吡啶啉-4-基)氨基甲酰基}乙酸甲酯;N-(2-(2,6-二氧代(3-哌啶基))-1,3-二氧代异吡啶啉-4-基)戊酰胺;N-(2-(2,6-二氧代(3-哌啶基))-1,3-二氧代异吡啶啉-4-基)-2-噻吩基甲酰胺;N-{[2-(2,6-二氧代(3-哌啶基))-1,3-二氧代异吡啶啉-4-基]甲基}(丁基氨基)甲酰胺;N-{[2-(2,6-二氧代(3-哌啶基))-1,3-二氧代异吡啶啉-4-基]甲基}(辛基氨基)甲酰胺;或N-{[2-(2,6-二氧代(3-哌啶基))-1,3-二氧代异吡啶啉-4-基]甲基}(苄氨基)甲酰胺。

[0532] 在一些实施方案中,所述药剂是来那度胺,泊马度胺,阿伐度胺,来那度胺、泊马度胺、阿伐度胺的立体异构体,或其药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物、共晶、包合物或多晶型物。在一些实施方案中,免疫调节化合物是来那度胺,来那度胺的立体异构体,或它们的药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物、共晶、包合物或多晶型。在一些实施方案中,免疫调节化合物是来那度胺或((RS)-3-(4-氨基-1-氧代-1,3-二氢-2H-异吡啶啉-2-基)哌啶-2,6-二酮)。

[0533] 在一些实施方案中,所述方法包括使表达重组受体的细胞与抑制抑制性细胞表面受体(例如转化生长因子 β 受体(TGF β R))的药剂接触。在一些实施方案中,所给予的细胞(例如重组受体表达细胞)可以被工程化以抵抗可以抑制其效应子功能的免疫抑制性细胞因子的效应(参见,例如,Foster等人,J Immunother. (2008) 31:500-505;Bollard等人,Molecular Therapy. (2012) 20:S22;Bendle等人,J. Immunol. (2013) 191(6):3232-3239)。在一些实施方案中,另外的药剂是抗TGF β 抗体或抗TGF β R抗体(参见,例如,WO 2011/109789)。

[0534] 在一些实施方案中,另外的药剂调节免疫抑制因子(例如腺苷)的代谢、信号传导和/或转运。在一些实施方案中,另外的药剂是细胞外腺苷或腺苷受体的抑制剂,或引起细

胞外腺苷水平降低或减小的药剂,例如防止细胞外腺苷形成、降解细胞外腺苷,使细胞外腺苷失活和/或减少细胞外腺苷的药剂。在一些实施方案中,另外的药剂是腺苷受体拮抗剂,例如A2a、A2b和/或A3受体。在一些实施方案中,拮抗剂是肽或拟肽,其结合腺苷受体,但不会触发G1蛋白依赖性细胞内途径。示例性腺苷受体拮抗剂描述于以下文献中:美国专利号5,565,566;5,545,627;5,981,524;5861405;6066642;6326390;5670501;6117998;6,232,297;5786360;5424297;6,313,131;5,504,090;和6,322,771;以及Jacobson和Gao,Nat Rev Drug Discov. (2006) 5 (3):247-264.

[0535] 在一些实施方案中,所述药剂是A2受体(A2R)拮抗剂,例如A2a拮抗剂。示例性的A2R拮抗剂包括KW6002(伊曲茶碱(istradefyline))、SCH58261、咖啡因、副黄嘌呤、3,7-二甲基-1-呋丙基黄嘌呤(DMPX)、8-(间氯苯乙烯基)咖啡因(CSC)、MSX-2、MSX-3、MSX-4、CGS-15943、ZM-241385、SCH-442416、瑞德南特(preladenant)、韦帕南特(vipadenant)(BII014)、V2006、ST-1535、SYN-115、PSB-1115、ZM241365、FSPTP和靶向A2R表达的抑制性核酸(例如,sRNA或shRNA)或靶向A2R的任何抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,所述药剂是描述于例如以下文献中的A2R拮抗剂:Ohta等人,Proc Natl Acad Sci U S A (2006) 103:13132-13137;Jin等人,Cancer Res. (2010) 70 (6):2245-2255;Leone等人,Computational and Structural Biotechnology Journal (2015) 13:265-272;Beavis等人,Proc Natl Acad Sci U S A (2013) 110:14711-14716;和Pinna,A.,Expert Opin Investig Drugs (2009) 18:1619-1631;Sitkovsky等人,Cancer Immunol Res (2014) 2 (7):598-605;US 8,080,554;US 8,716,301;US 20140056922;WO 2008/147482;US 8,883,500;US 20140377240;WO 02/055083;US 7,141,575;US 7,405,219;US 8,883,500;US 8,450,329和US 8,987,279。

[0536] 在一些实施方案中,所述方法包括给予具有免疫刺激性的另外的药剂。在一些实施方案中,另外的药剂通常可以促进免疫细胞的增殖、扩增、存活、效力和/或功效。在一些实施方案中,另外的药剂可以特异性地促进所给予细胞,例如重组受体表达细胞。在一些实施方案中,另外的药剂是细胞因子。在一些实施方案中,另外的药剂是配体。

[0537] 在一些实施方案中,另外的药剂是免疫刺激性配体,例如CD40L。在一些实施方案中,另外的药剂是细胞因子,例如IL-2、IL-3、IL-6、IL-11、IL-7、IL-12、IL-15、IL-21、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、 α 、 β 或 γ 干扰素(IFN)和促红细胞生成素(EPO)。在一些实施方案中,所述药剂是细胞因子。在一些实施方案中,免疫调节剂是细胞因子或者是诱导肿瘤微环境中的细胞因子表达增加的药剂。细胞因子具有与T细胞扩增、分化、存活和稳态有关的重要功能。可以给予至接受本文所提供的细胞和/或组合物的受试者的细胞因子包括IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15、IL-18和IL-21中的一种或多种。在一些实施方案中,所给予的细胞因子是IL-7、IL-15或IL-21或其组合。在一些实施方案中,将细胞因子给予至对工程化细胞(例如CAR表达细胞)的给予具有次最佳反应的受试者改善所给予细胞(例如CAR表达细胞)的效力和/或功效和/或抗肿瘤活性。

[0538] 在一些实施方案中,所述药剂是缺氧诱导因子1 α (HIF-1 α)信号传导的抑制剂。HIF-1 α 的示例性抑制剂包括地高辛(digoxin)、吡啶黄素(acriflavine)、瑟土因-7(sirtuin-7)和加特司匹(ganetespib)。

[0539] 在一些实施方案中,所述药剂包括蛋白酪氨酸磷酸酶抑制剂,例如本文所述的蛋

白酪氨酸磷酸酶抑制剂。在一些实施方案中,所述蛋白酪氨酸磷酸酶抑制剂是SHP-1抑制剂,例如本文所述的SHP-1抑制剂,如例如,葡萄糖酸锑钠。在一些实施方案中,所述蛋白酪氨酸磷酸酶抑制剂是SHP-2抑制剂,例如本文所述的SHP-2抑制剂。

[0540] 在一些方面,所述方法导致例如受试者的血清、血浆、血液或组织(例如肿瘤样品)中,每微克DNA中编码重组受体(例如CAR)的核酸的拷贝数增加至少2倍、至少4倍、至少10倍或至少20倍。(从原部分移到调节部分的方法)。

[0541] 在一些方面,所述方法导致所给予的细胞的高体内增殖,例如通过流式细胞术所测量的。在一些方面,检测细胞的高峰比例。例如,在一些实施方案中,在给予T细胞(例如,表达CAR的T细胞)之后,在受试者的血液或疾病部位或其白细胞级分(例如,PBMC级分或T细胞级分)中的水平或浓度峰值或最大值下,至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%或至少约90%的细胞表达重组受体,例如CAR。

[0542] 在一些实施方案中,所述方法在受试者的血液或血清或其他体液或器官或组织中产生如下最大浓度:至少100、500、1000、1500、2000、5000、10,000或15,000拷贝的编码受体(例如CAR)的核酸/微克DNA,或每个外周血单核细胞(PBMC)总数、单核细胞总数、T细胞总数或受试者的血液或血清或其他体液或器官或组织的微升总数至少0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8或0.9个受体表达细胞(例如,表达CAR的细胞)。在一些实施方案中,表达受体的细胞被检测为受试者血液中总PBMC的至少10%、20%、30%、40%、50%或60%,和/或在T细胞(例如,表达CAR的T细胞)后在这个水平下保持至少1周、2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、11周、12周、24周、36周、48或52周,或在这种给予后保持1年、2年、3年、4或5年或更长时间。

[0543] 2. 用于减少细胞扩增的药剂

[0544] 在一些实施方案中,所提供的方法和制品可以与一种或多种能够调节(例如,增加或减少)CAR⁺ T细胞扩增、增殖和/或活性的药剂或治疗结合使用,或涉及或包括所述药剂或治疗。在一些实施方案中,所述药剂能够降低、减少和/或减弱CAR⁺ T细胞的扩增和/或增殖。在一些实施方案中,高于某一阈值的CAR⁺ T细胞的扩增和/或增殖或某些生物标记(例如炎性标记)的高表达可能与降低的反应和/或降低的持久反应相关。在一些实施方案中,如果确定受试者中所给予细胞具有极高或过度扩增,或者如果确定受试者表达与极高扩增或过度扩增相关的生物标记,则可以确定受试者不太可能实现反应和/或持久反应。在一些实施方案中,极高扩增或过度扩增还与高肿瘤负荷和炎性细胞因子产生有关。在一些实施方案中,可以向此类受试者给予可以降低、减少和/或减弱CAR⁺ T细胞扩增和/或增殖的药剂。

[0545] 在一些背景下,所给予细胞疗法(例如CAR⁺ T细胞疗法)的最佳功效可取决于所给予细胞的以下能力:被激活、扩增、发挥各种效应功能、持续(包括长期)、分化、转换或参与重编程为某些表型状态(如长期记忆、低分化和效应子状态)、避免或减少疾病局部微环境中的免疫抑制条件,在清除并重新暴露于靶配体或抗原后提供有效且稳健的回忆反应、以及避免或减少消耗、无反应性、外周耐受、终末分化和/或分化为抑制状态。在一些方面,所给予的T细胞的过度或非常高的扩增或增殖可能导致消耗、无反应性、外周耐受、终末分化和/或分化为抑制状态。在一些方面,可以降低、减少和/或减弱CAR⁺ T细胞扩增和/或增殖

的药剂可以防止或减少这种消耗或分化。

[0546] 在一些实施方案中,给予所述药剂能够降低、减少和/或减弱CAR⁺ T细胞的扩增和/或增殖,例如类固醇,可以导致所给予CAR⁺ T细胞的扩增降低。在一些实施方案中,给予所述药剂可以导致参数变化,例如体积量度(例如SPD)减小,或炎性标记(例如LDH)的表达降低。

[0547] 在一些实施方案中,能够降低、减少和/或减弱CAR⁺ T细胞扩增和/或增殖的药剂是类固醇,是细胞因子受体(如IL-6受体、CD122受体(IL-2R β 受体)或CCR2)的拮抗剂或抑制剂,或者是细胞因子(例如IL-6、MCP-1、IL-10、IFN- γ 、IL-8或IL-18)的抑制剂。在一些实施方案中,所述药剂是细胞因子受体和/或细胞因子(如TGF- β)的激动剂。在一些实施方案中,所述药剂(例如,激动剂、拮抗剂或抑制剂)是抗体或抗原结合片段、小分子、蛋白质或肽或核酸。

[0548] 在一些实施方案中,能够降低、减少和/或减弱CAR⁺ T细胞扩增和/或增殖的药剂是类固醇,例如皮质类固醇。皮质类固醇通常包括糖皮质激素和盐皮质激素。

[0549] 任何皮质类固醇(例如,糖皮质激素)可以用于本文提供的方法中。在一些实施方案中,糖皮质激素包括合成和非合成的糖皮质激素。示例性糖皮质激素包括但不限于:阿氯米松(alclomethasone)、阿尔孕酮(algestone)、倍氯米松(beclomethasone)(例如二丙酸倍氯米松)、倍他米松(betamethasone)(例如倍他米松17-戊酸酯、倍他米松醋酸钠、倍他米松磷酸钠、倍他米松戊酸酯)、布地奈德(budesonide)、氯倍他索(clobetasol)(例如丙酸氯倍他索)、氯倍他松(clobetasone)、氯可托龙(clocortolone)(例如氯可托龙新戊酸酯)、氯泼尼醇(cloprednol)、皮质酮、可的松(cortisone)和氢化可的松(hydrocortisone)(例如醋酸氢化可的松)、可的伐唑(cortivazol)、地夫可特(deflazacort)、地奈德(desonide)、去羟米松(desoximethasone)、地塞米松(dexamethasone)(例如地塞米松21-磷酸酯、醋酸地塞米松、地塞米松磷酸钠)、二氟拉松(diflorasone)(例如二氟拉松二醋酸酯)、二氟可龙(diflucortolone)、二氟泼尼酯(difluprednate)、甘草次酸(enoxolone)、氟扎可特(fluzacort)、氟氯奈德(flucoronide)、氟氢可的松(fludrocortisone)(例如醋酸氟氢可的松)、氟米松(flumethasone)(例如特戊酸氟米松)、氟尼缩松(flunisolid)、氟轻松(flucinolone)(例如丙酮化氟轻松)、醋酸氟轻松(flucinonide)、氟可丁(flucortin)、氟可龙(flucortolone)、氟米龙(fluorometholone)(例如醋酸氟米龙)、氟培龙(fluperolone)(例如醋酸氟培龙)、氟泼尼定(fluprednidene)、氟泼尼龙(fluprednisolone)、丙酮缩氟氢羟龙(flurandrenolide)、氟替卡松(fluticasone)(例如丙酸氟替卡松)、福莫可他(formocortal)、氯氟舒松(halcinonide)、卤倍他索(halobetasol)、卤米松(halometasone)、卤泼尼松(halopredone)、氢可他酯(hydrocortamate)、氢化可的松(例如氢化可的松21-丁酸酯、氢化可的松醋丙酯、醋酸氢化可的松、氢化可的松丁丙酸酯、丁酸氢化可的松、氢化可的松环戊丙酸酯、氢化可的松半琥珀酸酯、氢化可的松丙丁酸酯、氢化可的松磷酸钠、氢化可的松琥珀酸钠、戊酸氢化可的松)、依碳酸氯替泼诺(loteprednol etabonate)、马泼尼酮(mazipredone)、甲羟松(medrysone)、甲泼尼松(meprednisone)、甲基泼尼松龙(乙丙酸甲基泼尼松龙、醋酸甲基泼尼松龙、半琥珀酸甲基泼尼松龙、甲基泼尼松龙琥珀酸钠)、莫米松(mometasone)(如糠酸莫米松)、帕拉米松(如醋酸帕拉米松)、泼尼卡酯(prednicarbate)、泼尼松龙(prednisolone)

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

[0550] 在一些实施方案中,在免疫疗法和/或细胞疗法(如采用本文所述的工程化细胞组合物的细胞疗法)的给予之前、同时和/或之后,给予类固醇。在一些实施方案中,在给予免疫疗法和/或细胞疗法或其第一次给予或剂量之后,或在开始前述任一项之后,给予类固醇。在一些实施方案中,在给予免疫疗法和/或细胞疗法或其第一次给予或剂量之后,或在开始前述任一项之后,在或在约或为约12、18、24、36或48小时,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14天或更长时间,或2、3、4、5、6、7、8、9、10周或更长时间内,给予类固醇。在一些实施方案中,在给予免疫疗法和/或细胞疗法或其第一次给予或剂量之后,或在开始前述任一项之后,在或在约12、24、36或48小时,或在或在约2、3或4天内,给予类固醇。

[0551] 在一些实施方案中,将类固醇(例如皮质类固醇)在一定时间段内以多次剂量给予。在一些方面,可以在超过或超过约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14天或更长时间,或超过或超过约2、3、4、5、6、7、8、9、10周或更长时间,或在或在大约由任何前述值限定的范围内的时间段内,给予类固醇(例如皮质类固醇)。在一些方面,可以在超过或超过约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39或40天或更长时间,或在或在大约由任何前述值限定的范围内的时间段内,给予类固醇(例如皮质类固醇)。在一些实施方案中,可以在约6、12、18、24小时或更长时间,或2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14天或更长时间,或2、3、4、5、6、7、8、9、10周或更长时间,或在或在大约由任何前述值限定的范围内的总持续时间期间,以多次或重复剂量给予类固醇(例如皮质类固醇)。在一些实施方案中,可以将类固醇(例如皮质类固醇)每天一次、每天两次、或每天三次或更多次给予。在一些实施方案中,可以将类固醇(例如皮质类固醇)至少或至少约每1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、18、24、36、48小时,或每3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14天,或每2、3、4、5、6、7、8、9或10周或更长时间,或在或在大约由任何前述值限定的范围内给予一次。在一些方面,可以在超过或超过约一天的时间段内,如在两天内、在3天内、或在4天或更多天内,以多个或重复剂量给予类固醇(例如糖皮质激素)。在一些实施方案中,可以将类固醇(例如皮质类固醇或糖皮质激素)给予6、12、18、24小时或2、3、4、5、6、7、8、9或10天或更长时间,或在或在大约由任何前述值限定的范围内的总持续时间。在一些实施方案中,可以将皮质类固醇每天一次、每天两次、或每天三次或四次或更多次给予。在一些实施方案中,可以将皮质类固醇至少或至少约每1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、18、24、36、48小时或更长时间,或在或在大约由任何前述值限定的范围内给予一次。

[0552] 在一些实施方案中,类固醇是地塞米松,并且将地塞米松在一段时间内以多个剂量给予。在一些方面,可以在超过或超过约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14天或更长时

间,或超过或超过约2、3、4、5、6、7、8、9、10周或更长时间,或在或在大约由任何上述值限定的范围内的时间段内,给予地塞米松。在一些实施方案中,在约6、12、18、24小时或更长时间,或2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14天或更长时间,或2、3、4、5、6、7、8、9、10周或更长时间,或在或在大约由任何前述值限定的范围内的总持续时间期间,以多个或重复剂量给予地塞米松。在一些实施方案中,可以将所述地塞米松每天给予一次、每天给予两次或者每天给予三次或更多次。在一些实施方案中,每天给予地塞米松,持续多达2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39或40天或更长时间,或在或在大约由任何前述值限定的范围内。

[0553] 在一些实施方案中,将类固醇(例如地塞米松)在免疫治疗和/或细胞疗法开始之后首次给予,随后在一段时间内以多个剂量给予。在一些实施方案中,类固醇(例如地塞米松)的初始给予是在给予免疫疗法和/或细胞疗法或其第一次给予或剂量之后,或在开始前述任一项之后,在或在或在约12、18、24、36或48小时,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14天或更长时间,或2、3、4、5、6、7、8、9、10周或更长时间内。在一些实施方案中,在给予免疫疗法和/或细胞疗法或其第一次给予或剂量之后,或在开始前述任一项之后,在或在约12、24、36或48小时,或在或在约2、3或4天内,首次给予类固醇(例如地塞米松)。随后类固醇(例如地塞米松)的给予是在超过或超过约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14天或更长时间,或超过或超过约2、3、4、5、6、7、8、9、10周或更长时间,或在或在大约由任何前述值限定的范围内的时间段内给予。例如,可以将类固醇(例如地塞米松)在初始给予细胞疗法之后在或在约12、24、36或48小时或在或在约2、3或4天内开始给予,并且以多个或重复剂量给予直到初始给予细胞疗法之后约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14天或更长时间,或2、3、4、5、6、7、8、9、10周或更长时间。在一些实施方案中,可以将类固醇(例如地塞米松)在给予时间段期间每天给予一次、每天给予两次或每天给予三次或更多次。在一些实施方案中,类固醇(例如地塞米松)可以在初始给予细胞疗法之后第1、2、3、4或5天开始给予,并且在初始给予细胞疗法后第6、7、8、9、10、11、12、13、14天或第2、3或4周结束。

[0554] 在一些例子中,所述糖皮质激素选自可的松、地塞米松、氢化可的松、甲基泼尼松龙、泼尼松龙和泼尼在特定例子中,所述糖皮质激素是地塞米松。

[0555] 在一些实施方案中,所述药剂是皮质类固醇并且是以降低、减少和/或减弱CAR⁺ T细胞扩增和/或增殖的治疗有效量来给予。在一些实施方案中,改善或成功治疗的指示物包括确定药代动力学参数,例如本文所述的任何参数,例如峰值CAR⁺ T细胞浓度和/或AUC。

[0556] 在一些方面,所述皮质类固醇是以治疗有效剂量提供。治疗有效浓度可以通过在已知的体外或体内(例如动物模型)系统中进行测试,凭经验确定。另外,可以采用动物模型来帮助确定最佳剂量范围。可以凭经验确定的精确剂量可以取决于具体的治疗制剂、方案和给药时间表、给予途径和疾病的严重性。

[0557] 可以将皮质类固醇以有效降低、减少和/或减弱CAR⁺ T细胞扩增和/或增殖的任何量给予。可以将皮质类固醇(例如糖皮质激素)以例如如下量给予至70kg成人受试者:每剂量在或在约0.1与或与约100mg、在或在约0.1与或与约80mg、在或在约0.1与或与约60mg、在或在约0.1与或与约40mg、在或在约0.1与或与约30mg、在或在约0.1与或与约20mg、在或在约0.1与或与约15mg、在或在约0.1与或与约10mg、在或在约0.1与或与约5mg、在或在约0.2与或与约40mg、在或在约0.2与或与约30mg、在或在约0.2与或与约20mg、在或在约0.2与或

与约15mg、在或在约0.2与或约10mg、在或在约0.2与或约5mg、在或在约0.4与或约40mg、在或在约0.4与或约30mg、在或在约0.4与或约20mg、在或在约0.4与或约15mg、在或在约0.4与或约10mg、在或在约0.4与或约5mg、在或在约0.4与或约4mg、在或在约1与或约20mg、在或在约1与或约15mg或1与或约10mg之间。通常,将所述皮质类固醇(如糖皮质激素)按以下量给予普通成人受试者:每剂(或其等效物)在或在约0.4与或约20mg之间,例如为或为约0.4mg、0.5mg、0.6mg、0.7mg、0.75mg、0.8mg、0.9mg、1mg、2mg、3mg、4mg、5mg、6mg、7mg、8mg、9mg、10mg、11mg、12mg、13mg、14mg、15mg、16mg、17mg、18mg、19mg或20mg。在一些实施方案中,将皮质类固醇(如糖皮质激素)按以下量给予至普通成人受试者:每剂量(或其等效物)在或在约10与或约80mg之间,例如为或为约10mg、15mg、20mg、25mg、30mg、35mg、40mg、45mg、50mg、55mg、60mg、65mg、70mg、75mg或80mg。

[0558] 在一些实施方案中,可以将皮质类固醇(例如糖皮质激素)以为或为约例如,为或为约如下量给予至成人受试者:在或在约0.1与或约100mg/天、在或在约0.1与或约80mg/天、在或在约0.1与或约60mg/天、在或在约0.1与或约40mg/天、在或在约0.1与或约30mg/天、在或在约0.1与或约20mg/天、在或在约0.1与或约15mg/天、在或在约0.1与或约10mg/天、在或在约0.1与或约5mg/天、在或在约0.2与或约80mg/天、在或在约0.2与或约60mg/天、在或在约0.2与或约40mg/天、在或在约0.2与或约30mg/天、在或在约0.2与或约20mg/天、在或在约0.2与或约15mg/天、在或在约0.2与或约10mg/天、在或在约0.2与或约5mg/天、在或在约0.4与或约40mg/天、在或在约0.4与或约30mg/天、在或在约0.4与或约20mg/天、在或在约0.4与或约15mg/天、在或在约0.4与或约10mg/天、在或在约0.4与或约5mg/天、在或在约0.4与或约4mg/天、在或在约1与或约20mg/天、在或在约1与或约15mg/天或在或在约1与或约10mg/天(或其等效物)之间。在一些实施方案中,将皮质类固醇(如糖皮质激素)按以下量给予至普通成人受试者:在或在约0.4与或约20mg/天之间,例如为或为约0.4mg/天、0.5mg/天、0.6mg/天、0.7mg/天、0.75mg/天、0.8mg/天、0.9mg/天、1mg/天、2mg/天、3mg/天、4mg/天、5mg/天、6mg/天、7mg/天、8mg/天、9mg/天、10mg/天、11mg/天、12mg/天、13mg/天、14mg/天、15mg/天、16mg/天、17mg/天、18mg/天、19mg/天或20mg/天(或其等效物)。在一些实施方案中,将皮质类固醇(如糖皮质激素)按以下量给予至普通成人受试者:在或在约10与或约80mg/天之间,例如为或为约10mg/天、15mg/天、20mg/天、25mg/天、30mg/天、35mg/天、40mg/天、45mg/天、50mg/天、55mg/天、60mg/天、65mg/天、70mg/天、75mg/天或80mg/天(或其等效物)。

[0559] 在一些实施方案中,皮质类固醇是地塞米松。可以给予至70kg成人受试者的地塞米松的示例性剂量包括如下量:每剂量在或在约0.1与或约100mg、0.1与80mg、0.1与60mg、0.1与40mg、0.1与30mg、0.1与20mg、0.1与15mg、0.1与10mg、0.1与5mg、0.2与40mg、0.2与30mg、0.2与20mg、0.2与15mg、0.2与10mg、0.2与5mg、0.4与40mg、0.4与30mg、0.4与20mg、0.4与15mg、0.4与10mg、0.4与5mg、0.4与4mg、1与20mg、1与15mg或1与10mg之间。在一些实施方案中,将地塞米松按以下量给予至普通成人受试者:每剂量在或在约0.4与或约20mg之间,例如为或为约0.4mg、0.5mg、0.6mg、0.7mg、0.75mg、0.8mg、0.9mg、1mg、2mg、3mg、4mg、5mg、6mg、7mg、8mg、9mg、10mg、11mg、12mg、13mg、14mg、15mg、16mg、17mg、18mg、19mg或20mg。在一些实施方案中,将地塞米松按以下量给予至普通成人受试者:每剂量在或在约10与或约40mg之间,例如为或为约10mg、15mg、20mg、25mg、30mg、35mg或40mg。

[0560] 在一些实施方案中,可以将地塞米松例如按以下量给予至成人受试者:在或在约0.1与或约100mg/天、0.1与80mg/天、0.1与60mg/天、0.1与40mg/天、0.1与30mg/天、0.1与20mg/天、0.1与15mg/天、0.1与10mg/天、0.1与5mg/天、0.2与80mg/天、0.2与60mg/天、0.2与40mg/天、0.2与30mg/天、0.2与20mg/天、0.2与15mg/天、0.2与10mg/天、0.2与5mg/天、0.4与40mg/天、0.4与30mg/天、0.4与20mg/天、0.4与15mg/天、0.4与10mg/天、0.4与5mg/天、0.4与4mg/天、1与20mg/天、1与15mg/天或1与10mg/天之间。在一些实施方案中,将地塞米松按以下量给予至普通成人受试者:在或在约0.4与或约20mg/天之间,例如为或为约0.4mg/天、0.5mg/天、0.6mg/天、0.7mg/天、0.75mg/天、0.8mg/天、0.9mg/天、1mg/天、2mg/天、3mg/天、4mg/天、5mg/天、6mg/天、7mg/天、8mg/天、9mg/天、10mg/天、11mg/天、12mg/天、13mg/天、14mg/天、15mg/天、16mg/天、17mg/天、18mg/天、19mg/天或20mg/天。在一些实施方案中,将地塞米松以高剂量给予至普通成人受试者,所述高剂量是例如如下量:在或在约10与或约40mg/天之间,例如为或为约10mg/天、15mg/天、20mg/天、25mg/天、30mg/天、35mg/天或40mg/天。在一些实施方案中,可以给予高剂量的地塞米松。示例性高剂量地塞米松包括对于普通成人受试者的如下剂量量:为或为约20mg、25mg、30mg、35mg、40mg、45mg、50mg、55mg、60mg、65mg、70mg、75mg或80mg地塞米松或其等效物,或由任何前述值限定的范围,每个都包含端值。示例性高剂量地塞米松包括对于普通成人受试者的如下剂量:20mg/天、25mg/天、30mg/天、35mg/天、40mg/天、45mg/天、50mg/天、55mg/天、60mg/天、65mg/天、70mg/天、75mg/天或80mg/天,或由任何前述值限定的范围,每个都包含端值。

[0561] 在一些实施方案中,可以将所述皮质类固醇例如按以下剂量给予通常体重为约70kg至75kg的普通成人受试者:为或为约0.001mg/kg(受试者)、0.002mg/kg、0.003mg/kg、0.004mg/kg、0.005mg/kg、0.006mg/kg、0.007mg/kg、0.008mg/kg、0.009mg/kg、0.01mg/kg、0.015mg/kg、0.02mg/kg、0.025mg/kg、0.03mg/kg、0.035mg/kg、0.04mg/kg、0.045mg/kg、0.05mg/kg、0.055mg/kg、0.06mg/kg、0.065mg/kg、0.07mg/kg、0.075mg/kg、0.08mg/kg、0.085mg/kg、0.09mg/kg、0.095mg/kg、0.1mg/kg、0.15mg/kg、0.2mg/kg、0.25mg/kg、0.30mg/kg、0.35mg/kg、0.40mg/kg、0.45mg/kg、0.50mg/kg、0.55mg/kg、0.60mg/kg、0.65mg/kg、0.70mg/kg、0.75mg/kg、0.80mg/kg、0.85mg/kg、0.90mg/kg、0.95mg/kg、1mg/kg、1.05mg/kg、1.1mg/kg、1.15mg/kg、1.20mg/kg、1.25mg/kg、1.3mg/kg、1.35mg/kg或1.4mg/kg。

[0562] 可以将所述皮质类固醇或糖皮质激素(例如地塞米松)按以下途径给予:口服(片剂、液体或液体浓缩物)(PO)、静脉内(IV)、肌肉内或通过任何其他已知途径或本文所述的途径(例如,关于药物配制品)。在一些方面,将所述皮质类固醇作为推注给予,并且在其他方面,可以将其在一定时间段内给予。在一些方面,将皮质类固醇以推注形式给予,并且在其他方面,可以将其在一定时间段内给予,例如,在1分钟、2分钟、3分钟、4分钟、5分钟、6分钟、7分钟、8分钟、9分钟、10分钟、15分钟、20分钟、30分钟、40分钟、50分钟、60分钟、70分钟、80分钟、90分钟、120分钟、180分钟、240分钟、360分钟、480分钟或720分钟或更长时间内,或由任两个前述值限定的范围。

[0563] 在一些方面,可以将所述糖皮质激素在超过一天的时间段内给予,如在两天内、在3天内或者在4天或更多天内。在一些实施方案中,可以将所述皮质类固醇每天一次、每天两次或者每天三次或更多次给予。例如,在一些例子中,可以将所述皮质类固醇(例如,地塞米松)每天两次以10mg(或等效量)IV给予,持续三天。

[0564] 在一些实施方案中,可以将类固醇(例如皮质类固醇或糖皮质激素)每天以给定剂量(例如每天特定剂量)给予。在一些实施方案中,示例性每日剂量包括为或为约0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.5、2、3、4、5、6、7、8、9或10mg/kg/天,或由任两个前述值和其等效值限定的范围。在一些实施方案中,可以将类固醇(例如皮质类固醇或糖皮质激素)按以下剂量给予:为或为约0.25、0.5、0.75、1、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0、11.0、12.0、13.0、14.0、15.0、16.0、17.0、18.0、19.0、20.0、25.0、50.0或100.0mg/kg/天,或由任两个前述值和其等效值限定的范围。在一些实施方案中,示例性每日剂量包括5、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150或200mg/天,或任两个前述值和其等效值限定的范围。在一些实施方案中,可以将类固醇(例如皮质类固醇或糖皮质激素)按以下量给予:为或为约5、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150或200mg/天,或任两个前述值和其等效值限定的范围。

[0565] 在一些实施方案中,可以将类固醇(如皮质类固醇,例如地塞米松)在一些例子中按以下方式给予:在或在约5mg与约40mg,如静脉内约10mg与约20mg(或等效物)或静脉内约20mg与约40mg(或等效物)之间,以每天一次、两次、三次或四次的频率,持续2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39或40天的持续时间。在一些实施方案中,可以将类固醇(如皮质类固醇,例如地塞米松)在一些例子中按以下方式给予:在或在约5mg与约40mg,如静脉内约10mg与约20mg(或等效物)或静脉内约20mg与约40mg(或等效物)之间,以每天一次、两次、三次或四次的频率,持续2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39或40天的持续时间。可以将皮质类固醇(例如地塞米松)在一些例子中按以下方式给予:以或以约40mg(或等效物)静脉内每天四次、以或以约40mg(或等效物)静脉内每天三次、以或以约40mg(或等效物)静脉内每天两次、或以约40mg(或等效物)静脉内每天一次、以20mg(或等效物)静脉内每天四次、以或以约20mg(或等效物)静脉内每天三次、以或以约20mg(或等效物)静脉内每天两次、或以约20mg(或等效物)静脉内每天一次、或约10mg(或等效物)静脉内每天四次、以或以约10mg(或等效物)静脉内每天三次、以或以约10mg(或等效物)静脉内每天两次、或以或以约10mg(或等效物)静脉内每天一次。

[0566] 在一些实施方案中,可以将类固醇(如糖皮质激素,例如甲基泼尼松龙)在一些例子中按以下量给予:在或在约0.5mg/kg与或约5mg/kg之间,如为或为约1mg/kg、2mg/kg、3mg/kg、4mg/kg或5mg/kg(或等效物)。在一些实施方案中,将糖皮质激素(例如甲基泼尼松龙)每天给予一次、两次、三次或四次,持续2、3、4或5天。在一些实施方案中,将糖皮质激素(例如甲基泼尼松龙)以多个剂量(包括负荷剂量和后续剂量)给予。在一些实施方案中,将糖皮质激素(例如甲基泼尼松龙)以在约1与约3mg/kg之间如2mg/kg(或等效物)的负荷剂量,接着在或在约1与或约3mg/kg之间如2mg/kg(或等效物)的后续剂量给予,所述后续剂量分成在一天内1、2、3、4或5次。

[0567] 在一些实施方案中,将皮质类固醇(例如,糖皮质激素)的剂量以每次治疗连续降低的剂量给予。因此,在一些此类治疗方案中,皮质类固醇的剂量是逐渐减少的,例如,随着时间的推移逐渐减少。例如,可以将所述皮质类固醇以4mg的初始剂量(或等效剂量,如关于地塞米松)给予,并且在每次连续给予时可以降低剂量,使得下一次给予的剂量为3mg,下一

次给予为2mg,并且下一次给予为1mg。在一些实施方案中,可以将皮质类固醇(例如地塞米松)以4mg/天的初始剂量(或等效剂量,如关于地塞米松)给予,并且在一些连续给予后可以降低剂量。在一些实施方案中,示例性逐渐减少的剂量可以包括对于接下来的一次给予为3mg,对于一些后续给予为2mg以及对于一些后续给予为1mg。在一些实施方案中,可以将皮质类固醇(例如地塞米松)以为或为约40mg/天的初始剂量(或等效剂量,如关于地塞米松)给予,并且在一些连续给予后可以降低剂量。在一些实施方案中,示例性逐渐减少的剂量可以包括对于接下来的一次给予为或为约30mg,对于一些后续给予为或为约20mg,以及对于一些后续给予为10mg。

[0568] 通常,所给予的皮质类固醇的剂量取决于特定的皮质类固醇,因为不同皮质类固醇之间存在效力差异。通常应理解,药物的效力不同,并且剂量可以因此而变化,以获得同等的效果。表6显示根据各种糖皮质激素和给予途径的效力的当量。临床给药中的等效效力是熟知的。有关等效类固醇给药(以非时间治疗方式)的信息可以参见1999年3月的British National Formulary (BNF) 37。

表6: 糖皮质激素给予		
糖皮质激素 (途径)		等效效力
[0569]	氢化可的松 (IV或PO)	20
	泼尼松	5
	泼尼松龙 (IV或PO)	5
[0570]	甲基泼尼松龙琥珀酸钠 (IV)	4
	地塞米松 (IV或PO)	0.5-0.75

[0571] 因此,在一些实施方案中,将类固醇按以下等效剂量量给予:从或从约1.0mg至或至约20mg地塞米松/天,如从或从约1.0mg至或至约15mg地塞米松/天、从或从约1.0mg至或至约10mg地塞米松/天、从或从约2.0mg至或至约8mg地塞米松/天或从或从约2.0mg至或至约6.0mg地塞米松/天,每个都包含端值。在一些情况下,将所述类固醇以为或为约4mg或者为或为约8mg地塞米松/天的等效剂量给予。

[0572] 在一些实施方案中,如果在用托珠单抗治疗后持续发热,则给予所述类固醇。例如,在一些实施方案中,在继续发热的情况下,将地塞米松以最多每6-12小时5-10mg的剂量口服或静脉内给予。在一些实施方案中,将托珠单抗与补氧同时给予或在补氧后给予。

[0573] 在一些实施方案中,能够降低、减少和/或减弱CAR+ T细胞扩增和/或增殖的药剂是小神经胶质细胞活性的抑制剂。在一些实施方案中,所述抑制剂的给予调节小神经胶质细胞的活性。在一些实施方案中,所述抑制剂是抑制小神经胶质细胞中的信号传导通路的活性的拮抗剂。在一些实施方案中,所述小神经胶质细胞抑制剂影响小神经胶质细胞的体内平衡、存活和/或增殖。在一些实施方案中,所述抑制剂靶向CSF1R信号传导通路。在一些实施方案中,所述抑制剂是CSF1R的抑制剂。在一些实施方案中,所述抑制剂是小分子。在一些情况下,所述抑制剂是抗体。

[0574] 在一些方面,给予所述抑制剂产生一种或多种选自以下的效应:小神经胶质细胞体内平衡和活力的改变、小胶质细胞增殖的减少或阻断、小胶质细胞的减少或消除、小神经胶质细胞激活的降低、来自小神经胶质细胞的一氧化氮产生的减少、小神经胶质细胞中一氧化氮合酶活性的降低、或受小神经胶质细胞激活影响的对运动神经元的保护。在一些实

施方案中,与即将开始给予所述抑制剂之前相比,所述药剂改变CSF1R抑制的血清或血液生物标记的水平,或者降低尿液胶原蛋白1型交联N-端肽 (NTX) 的水平。在一些实施方案中,给予所述药剂短暂抑制小神经胶质细胞活性的活性,和/或其中对小神经胶质细胞活性的抑制不是永久性的。在一些实施方案中,给予所述药剂短暂抑制CSF1R的活性,和/或其中对CSF1R活性的抑制不是永久性的。

[0575] 在一些实施方案中,能够降低、减少和/或减弱CAR⁺ T细胞扩增和/或增殖的药剂选自抗炎剂、NADPH氧化酶 (NOX2) 的抑制剂、钙通道阻断剂、钠通道阻断剂;抑制GM-CSF,抑制CSF1R,特异性结合CSF-1,特异性结合IL-34,抑制核因子 κ B (NF- κ B) 激活,激活CB2受体和/或是CB2激动剂、磷酸二酯酶抑制剂,抑制微小RNA-155 (miR-155),上调微小RNA-124 (miR-124),抑制小神经胶质细胞中的一氧化氮产生,抑制一氧化氮合酶,或激活转录因子NRF2 (也称为核因子 (红系细胞衍生的2) 样2或NFE2L2)。

[0576] 在一些实施方案中,能够降低、减少和/或减弱CAR⁺ T细胞扩增和/或增殖的药剂是靶向细胞因子的药剂,例如是细胞因子的拮抗剂或抑制剂,所述细胞因子例如转化生长因子 β (TGF β)、白细胞介素6 (IL-6)、白细胞介素10 (IL-10)、IL-2、MIP1 β (CCL4)、TNF α 、IL-1、干扰素 γ (IFN- γ) 或单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1)。在一些实施方案中,能够降低、减少和/或减弱CAR⁺ T细胞扩增和/或增殖的药剂是靶向 (例如抑制或是其拮抗剂) 细胞因子受体的药剂,所述细胞因子受体例如IL-6受体 (IL-6R)、IL-2受体 (IL-2R/CD25)、MCP-1 (CCL2) 受体 (CCR2或CCR4)、TGF- β 受体 (TGF- β I、II或III)、IFN- γ 受体 (IFNGR)、MIP1 β 受体 (例如,CCR5)、TNF α 受体 (例如,TNFR1)、IL-1受体 (IL1-R α /IL-1R β) 或IL-10受体 (IL-10R)。

[0577] 能够降低、减少和/或减弱CAR⁺ T细胞扩增和/或增殖的所选药剂的量可以通过标准临床技术来确定。示例性的不良事件包括但不限于丙氨酸转氨酶的增加、天冬氨酸转氨酶的增加、寒战、发热型嗜中性粒细胞减少症、头痛、低血压、左心室功能不全、脑病、脑积水、癫痫和/或震颤。

[0578] 在一些实施方案中,将所述药剂按以下剂量量给予:从或从约30mg至或至约5000mg,如从或从约50mg至或至约1000mg、从或从约50mg至或至约500mg、从或从约50mg至或至约200mg、从或从约50mg至或至约100mg、从或从约100mg至或至约1000mg、从或从约100mg至或至约500mg、从或从约100mg至或至约200mg、从或从约200mg至或至约1000mg、从或从约200mg至或至约500mg或从或从约500mg至或至约1000mg。

[0579] 在一些实施方案中,将所述药剂按以下量给予:从或从约0.5mg/kg至或至约100mg/kg,如从或从约1mg/kg至或至约从或从约50mg/kg、从或从约1mg/kg至或至约25mg/kg、从或从约1mg/kg至或至约10mg/kg、从或从约1mg/kg至或至约5mg/kg、从或从约5mg/kg至或至约100mg/kg、从或从约5mg/kg至或至约50mg/kg、从或从约5mg/kg至或至约25mg/kg、从或从约5mg/kg至或至约10mg/kg、从或从约10mg/kg至或至约100mg/kg、从或从约10mg/kg至或至约50mg/kg、从或从约10mg/kg至或至约25mg/kg、从或从约25mg/kg至或至约100mg/kg、从或从约25mg/kg至或至约50mg/kg至或至约50mg/kg至或至约100mg/kg。在一些实施方案中,将所述药剂按以下剂量量给予:从或从约1mg/kg至或至约10mg/kg、从或从约2mg/kg至或至约8mg/kg、从或从约2mg/kg至或至约6mg/kg、从或从约2mg/kg至或至约4mg/kg或6mg/kg至或至约8mg/kg,每个都包含为或为约端值。在一些方面,将所述药剂按以下剂量量来给予:至少或至少约或约1mg/kg、2mg/kg、4mg/kg、6mg/kg、8mg/kg、10mg/kg或更多。在一

些实施方案中,将所述药剂以4mg/kg或8mg/kg的剂量给予。在一些实施方案中,将所述药剂按以下剂量量给予:从或从约1mg/kg至或至约20mg/kg、从或从约2mg/kg至或至约19mg/kg、从或从约4mg/kg至或至约16mg/kg、从或从约6mg/kg至或至约14mg/kg或从或从约8mg/kg至或至约12mg/kg,每个都包含端值。在一些方面,将所述药剂按以下剂量量给予:至少或至少约或约1mg/kg、2mg/kg、4mg/kg、6mg/kg、8mg/kg、10mg/kg、12mg/kg、14mg/kg、16mg/kg、18mg/kg、20mg/kg或更多。在一些实施方案中,将所述药剂按以下剂量量给予:在约8mg/kg与或约12mg/kg之间,如为或为约8mg/kg、9mg/kg、10mg/kg、11mg/kg或12mg/kg。

[0580] 在一些实施方案中,将所述药剂按以下总剂量/天给予:从或从约30mg/天至或至约从或从约5000mg/天,如从或从约50mg/天至或至约1000mg/天、从或从约50mg/天至或至约500mg/天、从或从约50mg/天至或至约200mg/天、从或从约50mg/天至或至约100mg/天、从或从约100mg/天至或至约1000mg/天、从或从约100mg/天至或至约500mg/天、从或从约100mg/天至或至约200mg/天、从或从约200mg/天至或至约1000mg/天、从或从约200mg/天至或至约500mg/天或500mg/天至或至约1000mg/天。

[0581] 在一些实施方案中,将所述药剂以总剂量/天给予:从或从约1mg/kg/天至或至约20mg/kg/天、从或从约2mg/kg/天至或至约19mg/kg/天、从或从约4mg/kg/天至或至约16mg/kg/天、从或从约6mg/kg/天至或至约14mg/kg/天或从或从约8mg/kg/天至或至约12mg/kg/天,每个都包含端值。在一些方面,将所述药剂按以下剂量量给予:至少或至少约或约1mg/kg/天、2mg/kg/天、4mg/kg/天、6mg/kg/天、8mg/kg/天、10mg/kg/天、12mg/kg/天、14mg/kg/天、16mg/kg/天、18mg/kg/天、20mg/kg/天或更多。在一些实施方案中,将所述药剂按以下剂量给予:在或在约8mg/kg/天与或约12mg/kg/天之间,如为或为约8mg/kg/天、9mg/kg/天、10mg/kg/天、11mg/kg/天或12mg/kg/天。

[0582] 在一些实施方案中,所述药剂是通过注射来给予,例如静脉内或皮下注射、眼内注射、眼周注射、视网膜下注射、玻璃体内注射、经中隔注射、巩膜下注射、脉络膜内注射、前房内注射、结膜下注射(subconjunctival injection)、结膜下注射(subconjunctival injection)、眼球筋膜囊下(sub-Tenon)注射、眼球后注射、眼球周注射或后近巩膜(posterior juxtасcleral)递送。在一些实施方案中,它们通过肠胃外、肺内和鼻内给予以及(如果需要用于局部治疗的话)病灶内给予。肠胃外输注包括肌肉内、静脉内、动脉内、腹膜内或皮下给予。

[0583] 在一些实施方案中,将所述药剂经由静脉内递送给予。在一些方面,将所述药剂经由静脉内递送在一段时间内,例如在1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、120、180、240、360、480或720分钟或更长时间内,或在由任两个前述值限定的范围内给予。

[0584] 在一些实施方案中,将所述药剂的量以约或大约每天两次、每天、每隔一天、每周三次、每周、每隔一周或每个月一次给予。

[0585] 在一些实施方案中,将所述药剂以多个或重复剂量(例如,多于一个剂量)给予。在一些实施方案中,将所述药剂以重复剂量给予,直到观察到或可能观察到所需扩增,和/或发生毒性的抑制或与毒性相关的症状的抑制,和/或发生毒性的风险已经过去。在一些实施方案中,将药剂以总共2、3、4、5、6、7、8、9、10个或更多个剂量给予。

[0586] 在一些实施方案中,将所述药剂在一段时间内以多个剂量给予。在一些方面,可以

将所述药剂在超过或超过约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14天或更长时间,或超过2、3、4、5、6、7、8、9、10周或更长时间的时间段内给予。在一些实施方案中,可以将所述药剂在约6、12、18、24小时或更长时间,或2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14天或更长时间,或2、3、4、5、6、7、8、9、10周或更长时间的总持续时间期间,以多次或重复剂量给予。在一些实施方案中,可以将所述药剂每天一次、每天两次或者每天三次或更多次给予。在一些实施方案中,可以将所述药剂以至少或至少约每1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、18、24、36、48小时,或每3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14天,或每2、3、4、5、6、7、8、9或10周或更长时间给予一次。

[0587] 在一些实施方案中,将所述药剂作为组合物或配制品(例如如下文所述的药物组合物或配制品)的一部分给予。因此,在一些情况下,如下所述给予包含所述药剂的组合物。在其他方面,将所述药剂单独给予,并且例如关于组合物和配制品,可以通过任何已知的可接受的给予途径或通过本文所述的途径来给予。

[0588] 在一些实施方案中,所述药剂是小分子、肽、蛋白质、抗体或其抗原结合片段、抗体模拟物、适体或核酸分子。在一些实施方案中,所述方法涉及给予小神经胶质细胞活性的抑制剂。在一些实施方案中,所述药剂是抑制小神经胶质细胞中信号传导通路的活性的拮抗剂。在一些实施方案中,所述药剂影响小神经胶质细胞的体内平衡、存活和/或增殖。

[0589] 在一些实施方案中,能够降低、减少和/或减弱CAR⁺ T细胞扩增和/或增殖的药剂是抗体或抗原结合片段。在一些实施方案中,所述药剂是托珠单抗、司妥昔单抗、萨瑞鲁单抗、奥洛吉珠单抗(CDP6038)、伊西莫单抗、ALD518/BMS-945429、司卢库单抗(CNT0 136)、CPSI-2634、ARGX-109、FE301或FM101。

[0590] 在一些实施方案中,所述药剂是IL-6或IL-6受体(IL-6R)的拮抗剂或抑制剂。在一些方面,所述药剂是中和IL-6活性的抗体,如与IL-6或IL-6R结合的抗体或抗原结合片段。例如,在一些实施方案中,所述药剂是或包含抗IL-6R抗体托珠单抗(阿特利珠单抗(atlizumab))或萨瑞鲁单抗。在一些实施方案中,所述药剂是美国专利号8,562,991中描述的抗IL-6R抗体。在一些情况下,靶向IL-6的所述药剂是抗IL-6抗体,如司妥昔单抗、伊西莫单抗、ALD518/BMS-945429、司卢库单抗(CNT0 136)、CPSI-2634、ARGX-109、FE301、FM101或奥洛吉珠单抗(CDP6038)。在一些方面,所述药剂可以通过抑制配体-受体相互作用来中和IL-6活性。这种通用型途径的可行性已经用针对白细胞介素-1的天然存在的受体拮抗剂来证明。参见Harmurn, C.H.等人, Nature (1990) 343:336-340。在一些方面,IL-6/IL-6R拮抗剂或抑制剂是IL-6突变蛋白,如美国专利号5591827中描述的IL-6突变蛋白。在一些实施方案中,作为IL-6/IL-6R的拮抗剂或抑制剂的药剂是小分子、蛋白质或肽、或核酸。

[0591] 在一些实施方案中,所述药剂是托珠单抗。在一些实施方案中,将托珠单抗按以下剂量根据所提供的方法作为早期干预来给予,和/或与所提供的制品或组合物一起给予:从或从约1mg/kg至或至约12mg/kg,如为或为约4mg/kg、8mg/kg或10mg/kg。在一些实施方案中,将托珠单抗通过静脉内输注来给予。在一些实施方案中,给予托珠单抗用于持续10小时的高于39℃的持续发热,所述发热对于对乙酰氨基酚无反应。在一些实施方案中,如果在初始剂量48小时后症状复发,则提供托珠单抗的第二次给予。在一些实施方案中,将托珠单抗根据所提供的方法按以下剂量给予:从或从约1mg/kg至约20mg/kg,如从或从约8mg/kg至或至约12mg/kg。在一些实施方案中,将托珠单抗通过静脉内输注来给予。在一些实施方案中,

将托珠单抗通过经约1小时的静脉内输注以约4-12mg/kg,例如为或为约8mg/kg的剂量或剂量量给予。在一些实施方案中,将托珠单抗以多个或重复剂量,例如至少或至少约每1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、18、24、36、48小时,或每3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14天,或每2、3、4、5、6、7、8、9或10周或更长时间给予一次。在一些实施方案中,给予一个或多个剂量的托珠单抗。在一些实施方案中,并且将托珠单抗每8、10、12、14、16、18、24或36小时或更长时间,或2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14天或更长时间,或3、4、5、6、7、8、10、11、12周或更长时间给予一次。

[0592] 在一些实施方案中,所述药剂是与IL-6结合的药剂,例如抗IL-6抗体或其抗原结合片段,如司妥昔单抗、克拉吉珠单抗(clazakizumab)、伊西莫单抗、ALD518/BMS-945429、司卢库单抗(CNT0 136)、CPSI-2634、ARGX-109、FE301、FM101或奥洛吉珠单抗(CDP6038)或其抗原结合片段。在一些方面,所述药剂可以通过抑制配体-受体相互作用来中和IL-6活性。这种通用型途径的可行性已经用针对白细胞介素-1的天然存在的受体拮抗剂来证明。参见Harmurn, C.H.等人, Nature (1990) 343:336-340。在一些方面,IL-6/IL-6R拮抗剂或抑制剂是IL-6突变蛋白或修饰的IL-6蛋白或其部分,如美国专利号5591827中描述的一种。在一些实施方案中,作为IL-6/IL-6R的拮抗剂或抑制剂的药剂是小分子、蛋白质或肽、或核酸。在一些实施方案中,所述药剂是司妥昔单抗。

[0593] 在一些实施方案中,将司妥昔单抗根据所提供的方法按以下剂量给予:从或从约1mg/kg至约20mg/kg,如从或从约8mg/kg至或至约12mg/kg。在一些实施方案中,将司妥昔单抗通过静脉内输注来给予。在一些实施方案中,将司妥昔单抗通过经约1小时的静脉内输注以约11mg/kg的剂量给予。在一些实施方案中,将司妥昔单抗以多个或重复剂量,例如至少或至少约每1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、18、24、36、48小时,或每3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14天,或每2、3、4、5、6、7、8、9或10周,或在由任两个前述值限定的范围内给予一次。在一些实施方案中,给予一个或多个剂量的司妥昔单抗。在一些实施方案中,并且将司妥昔单抗每8、10、12、14、16、18、24或36小时或更长时间,或2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14天或更长时间,或3、4、5、6、7、8、10、11、12周或更长时间或在由任两个前述值限定的范围内给予一次。在一些实施方案中,所述药剂是TGF- β 或TGF- β 受体(例如,TGF- β 受体I、II或III)的激动剂或刺激剂。在一些方面,所述药剂是增加TGF- β 活性的抗体,如与TGF- β 或其一种受体结合的抗体或抗原结合片段。在一些实施方案中,作为TGF- β 和/或其受体的激动剂或刺激剂的所述药剂是小分子、蛋白质或肽或核酸。

[0594] 在一些实施方案中,所述药剂是MCP-1 (CCL2) 或MCP-1受体(例如,MCP-1受体CCR2或CCR4)的拮抗剂或抑制剂。在一些方面,所述药剂是中和MCP-1活性的抗体,如结合MCP-1或其一种受体(CCR2或CCR4)的抗体或抗原结合片段。在一些实施方案中,MCP-1拮抗剂或抑制剂是在Gong等人J Exp Med.1997年7月7日;186(1):131-137或Shahrara等人J Immunol 2008;180:3447-3456中描述的任何一种。在一些实施方案中,作为MCP-1和/或其受体(CCR2或CCR4)的拮抗剂或抑制剂的所述药剂是小分子、蛋白质或肽、或核酸。

[0595] 在一些实施方案中,所述药剂是IFN- γ 或IFN- γ 受体(IFNGR)的拮抗剂或抑制剂。在一些方面,所述药剂是中和IFN- γ 活性的抗体,如与IFN- γ 或其受体(IFNGR)结合的抗体或抗原结合片段。在一些方面,IFN- γ 中和抗体是在Dobber等人Cell Immunol.1995年2月;160(2):185-92或Ozmen等人J Immunol.1993年4月1日;150(7):2698-705中描述的任何一

种。在一些实施方案中,作为IFN- γ /IFNGR的拮抗剂或抑制剂的所述药剂是小分子、蛋白质或肽、或核酸。

[0596] 在一些实施方案中,所述药剂是IL-10或IL-10受体(IL-10R)的拮抗剂或抑制剂。在一些方面,所述药剂是中和IL-10活性的抗体,如与IL-10或IL-10R结合的抗体或抗原结合片段。在一些方面,IL-10中和抗体是描述于以下文献中的任一种:Dobber等人Cell Immunol.1995年2月;160(2):185-92或Hunter等。J Immunol.2005年6月1日;174(11):7368-75。在一些实施方案中,作为IL-10/IL-10R的拮抗剂或抑制剂的药剂是小分子、蛋白质或肽、或核酸。

[0597] 在一些实施方案中,所述药剂是IL-1或IL-1受体(IL-1R)的拮抗剂或抑制剂。在一些方面,所述药剂是IL-1受体拮抗剂,其是IL-1R的修饰形式,如阿那白滞素(anakinra)(参见例如,Fleischmann等人,(2006)Annals of the rheumatic diseases.65(8):1006-12)。在一些方面,所述药剂是中和IL-1活性的抗体,如与IL-1或IL-1R结合的抗体或抗原结合片段,如卡那单抗(canakinumab)(还参见EP 2277543)。在一些实施方案中,作为IL-1/IL-1R的拮抗剂或抑制剂的药剂是小分子、蛋白质或肽、或核酸。

[0598] 在一些实施方案中,所述药剂是肿瘤坏死因子(TNF)或肿瘤坏死因子受体(TNFR)的拮抗剂或抑制剂。在一些方面,所述药剂是阻断TNF活性的抗体,如与TNF(如TNF α)或其受体(TNFR,例如,TNFRp55或TNFRp75)结合的抗体或抗原结合片段。在一些方面,所述药剂选自英利昔单抗、阿达木单抗、培赛利珠单抗(certolizumab pegol)、戈利木单抗和依那西普。在一些实施方案中,作为TNF/TNFR的拮抗剂或抑制剂的所述药剂是小分子、蛋白质或肽、或核酸。

[0599] 在一些实施方案中,所述药剂是通过Janus激酶(JAK)和两个信号转导子和转录激活子(STAT)信号传导级联进行的信号传导的拮抗剂或抑制剂。JAK/STAT蛋白是细胞因子和细胞因子受体信号传导的常见组分。在一些实施方案中,所述药剂是JAK/STAT的拮抗剂或抑制剂,如鲁索替尼(参见例如,Mesa等人(2012)Nature Reviews Drug Discovery.11(2):103-104)、托法替尼(也称为托法替布、Jakvinus托法替尼和CP-690550)、巴瑞替尼(也称为LY-3009104、INCB-28050)、菲戈替尼(G-146034、GLPG-0634)、甘多替尼(LY-2784544)、来他替尼(CEP-701)、莫美罗替尼(GS-0387、CYT-387)、帕克替尼(SB1518)和乌帕替尼(ABT-494)。在一些实施方案中,所述药剂是小分子、蛋白质或肽、或核酸。

[0600] 在一些实施方案中,所述药剂是激酶抑制剂。激酶抑制剂(例如CDK4激酶抑制剂、BTK激酶抑制剂、MNK激酶抑制剂或DGK激酶抑制剂)可以调节存在于肿瘤细胞中的组成型活性存活途径和/或调节免疫细胞的功能。在一些实施方案中,激酶抑制剂是布鲁顿酪氨酸激酶(BTK)抑制剂,例如,依鲁替尼。在一些实施方案中,激酶抑制剂是磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸酯3-激酶(PI3K)抑制剂。在一些实施方案中,激酶抑制剂是CDK4抑制剂,例如,CDK4/6抑制剂。在一些实施方案中,激酶抑制剂是mTOR抑制剂,例如雷帕霉素、雷帕霉素类似物、OSI-027。mTOR抑制剂可以是例如mTORC1抑制剂和/或mTORC2抑制剂,例如mTORC1抑制剂和/或mTORC2抑制剂。在一些实施方案中,激酶抑制剂是MNK抑制剂或双重PI3K/mTOR抑制剂。在一些实施方案中,其他示例性激酶抑制剂包括AKT抑制剂哌立福辛(perifosine)、mTOR抑制剂坦罗莫司(temsirolimus)、Src激酶抑制剂达沙替尼(dasatinib)和福他替尼(fostamatinib)、JAK2抑制剂帕克替尼和鲁索替尼、PKCB抑制剂恩扎妥林(enzastaurin)和

苔藓抑素,以及AAK抑制剂阿立塞替(alisertib)。

[0601] 在一些实施方案中,所述激酶抑制剂是选自以下的BTK抑制剂:依鲁替尼(PCI-32765);GDC-0834;RN-486;CGI-560;CGI-1764;HM-71224;CC-292;ON0-4059;CNX-774;和LFM-A13。在一些实施方案中,所述BTK抑制剂不会降低或抑制白细胞介素-2诱导型激酶(ITK)的激酶活性,并且选自GDC-0834;RN-486;CGI-560;CGI-1764;HM-71224;CC-292;ON0-4059;CNX-774;和LFM-A13。

[0602] 在一些实施方案中,所述激酶抑制剂是BTK抑制剂,例如,依鲁替尼(1-[(3R)-3-[4-氨基-3-(4-苯氧基苯基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基]哌啶-1-基]丙-2-烯-1-酮;也称为PCI-32765)。在一些实施方案中,激酶抑制剂是BTK抑制剂,例如依鲁替尼(PCI-32765)。在一些实施方案中,给予1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个周期的依鲁替尼。在一些实施方案中,所述BTK抑制剂是国际申请WO 2015/079417中描述的BTK抑制剂。

[0603] 在一些实施方案中,所述激酶抑制剂是PI3K抑制剂。PI3K是参与细胞周期调节和淋巴瘤存活的PI3K/Akt/mTOR途径的核心。示例性PI3K抑制剂包括艾代拉利司(idelalisib)(PI3K δ 抑制剂)。在一些实施方案中,所述药剂是艾代拉利司和利妥昔单抗。

[0604] 在一些实施方案中,所述药剂是雷帕霉素(mTOR)的哺乳动物靶标的抑制剂。在一些实施方案中,所述激酶抑制剂是选自以下的mTOR抑制剂:坦罗莫司;利罗莫司(ridaforolimus)(也称为AP23573和MK8669);依维莫司(RAD001);雷帕霉素(AY22989);simapimod;AZD8055;PF04691502;SF1126;和XL765。在一些实施方案中,所述药剂是丝裂原激活蛋白激酶(MAPK)的抑制剂,例如维拉非尼(vemurafenib)、达拉非尼(dabrafenib)和曲美替尼(trametinib)。

[0605] 在一些实施方案中,可以使用装置(如使用血液或血浆过滤的吸收性树脂技术)降低细胞因子的水平。在一些实施方案中,用于降低细胞因子水平的所述装置是物理细胞因子吸收器,如体外细胞因子吸收器。在一些实施方案中,物理细胞因子吸收器可以用于以离体的体外方式从血流消除细胞因子。在一些实施方案中,所述药剂是多孔聚合物。在一些实施方案中,所述药剂是CytoSorb(参见,例如,Basu等人Indian J Crit Care Med. (2014) 18 (12):822-824)。

[0606] V. 治疗或改善毒性症状的方法

[0607] 在一些实施方案中,提供了用于治疗、改善或减少与细胞疗法相关的毒性的方法。在一些实施方案中,还提供了治疗方案,例如包括可改善或治疗毒性的体征或症状的药剂的评估、给药和/或给予时机。在一些实施方案中,方法包括用于治疗、预防、延迟或减弱毒性发生的一种或多种药剂或治疗的给予。在一些例子中,在给予包含所述基因工程化细胞的治疗性细胞组合物之前和/或与其同时给予能够治疗、预防、延迟或减弱毒性发生的所述药剂或其他治疗。

[0608] 在一些实施方案中,所述药剂是类固醇。在一些实施方案中,所述药剂是能够结合白细胞介素-6受体(IL-6R)的药剂。在一些实施方案中,所述药剂是能够结合白细胞介素-6(IL-6)的药剂。在一些实施方案中,可以根据上文章节IV.E中描述的任何剂量、频率、递送途径和/或给予时机来给予所述药剂。在一些实施方案中,所述药剂是或包括能够调节细胞疗法的扩增和/或活性的任何药剂,如上文章节IV.E中描述的任何一种。在一些实施方案中,可以组合给予一种或多种药剂(如本文所述的任何一种),例如以用于调节细胞扩增或

活性和/或治疗、改善或减少毒性。在一些实施方案中,可以根据本文提供的方法给予一个或多个剂量(如多个剂量)的任何一种药剂。在一些实施方案中,一个或多个剂量的药剂的剂量、频率、递送途径和/或给予时机包括本文所述的那些的任何一种。

[0609] 在一些实施方案中,将所述药剂与用于调节细胞扩增或活性和/或治疗、改善或减少毒性的一种或多种其他药剂(如类固醇和/或抗IL-6受体(IL-6R)抗体)组合给予。在一些实施方案中,所示方法包括向受试者给予能够调节细胞扩增或活性和/或治疗、预防、延迟或/或减弱毒性发生的一种或多种另外的或其他的药剂、干预和/或治疗。在一些实施方案中,给予多个剂量或重复剂量的所述一种或多种其他药剂。

[0610] 在一些实施方案中,将所述药剂与所述一种或多种其他药剂同时或几乎同时给予,如在给予所述药剂的多达1、2、3、4、5、6、7或8小时内给予。在一些实施方案中,在给予所述一种或多种其他药剂之前和/或之后给予所述药剂。在一些实施方案中,将所述药剂作为一线疗法给予,以调节细胞的扩增或持久性和/或治疗、预防、减少和/或改善细胞疗法的毒性症状。在一些实施方案中,将所述一种或多种其他药剂作为二线、三线或四线或后续疗法给予。在一些实施方案中,将药剂和所述一种或多种其他药剂的组合作为一线疗法给予。在一些实施方案中,将所述一种或多种其他药剂作为一线疗法给予。在一些实施方案中,将所述药剂作为二线、三线或四线或后续疗法给予。在一些实施方案中,可以将所述药剂和/或一种或多种其他药剂以多个剂量给予。在一些实施方案中,取决于毒性或潜在毒性(例如CRS或神经毒性)的症状的等级、进展和/或表现和/或基于生物标记的评估(例如本文描述的和/或根据本文所述示例性方法和/或程序的任何一种),可以以多个或重复剂量给予每种药剂和/或一种或多种其他药剂。

[0611] 在一些实施方案中,将药剂在有或没有同时给予其他药剂的情况下作为一线疗法给予以治疗、改善或减少毒性。在一些实施方案中,将其他药剂在有或没有所述药剂和/或不同的其他药剂(例如类固醇)的情况下作为一线疗法以治疗、改善或减少毒性。在一些实施方案中,在给予免疫疗法和/或细胞疗法的等于或约24、36、48、72、96或120小时内给予第一剂量的所述药剂。在一些实施方案中,在所述药剂的第一或初始剂量或先前剂量的等于或约6、12、18、24、36、48、72、96或120小时内给予另外剂量的所述药剂。在一些实施方案中,可以将一个或多个剂量的一种或多种其他药剂与第一剂量的所述药剂同时给予和/或在第一剂量的所述药剂之后给予。在一些实施方案中,可以在所述药剂的第一或初始剂量或先前剂量的等于或约6、12、18、24、36、48、72、96或120小时内,或在所述其他药剂的第一或初始剂量或先前剂量的等于或约6、12、18、24、36、48、72、96或120小时内,给予一个或多个剂量的所述一种或多种其他药剂。在一些实施方案中,如果毒性的体征和/或症状未消退或改善,则可以给予作为二线、三线或四线或后续疗法的不同的其他药剂,例如不同的类固醇。

[0612] 在一些实施方案中,将其他药剂(例如抗IL-6R抗体和/或类固醇)在有或没有同时给予所述药剂和/或不同的其他药剂的情况下作为一线疗法给予以治疗、改善或减少毒性。在一些实施方案中,在所述其他药剂的第一或初始剂量或先前剂量的等于或约6、12、18、24、36、48、72、96或120小时内给予另外剂量的所述其他药剂。在一些实施方案中,可以在所述其他药剂(例如抗IL-6R抗体和/或类固醇)的第一或初始剂量或先前剂量的等于或约6、12、18、24、36、48、72、96或120小时内,或在所述药剂的第一或初始剂量或先前剂量的等于或约6、12、18、24、36、48、72、96或120小时内,给予一个或多个剂量的所述药剂或不同的其

他药剂。

[0613] 在一些实施方案中,如果毒性的体征和/或症状未消退或改善,则可以给予作为二线、三线或四线或后续疗法的所述药剂。

[0614] 在一些实施方案中,在给予免疫疗法或细胞疗法或其开始之前给予一个或多个剂量的所述药剂和/或一种或多种其他药剂。在一些实施方案中,在给予免疫疗法或细胞疗法或其开始之后给予一个或多个剂量的所述药剂和/或一种或多种其他药剂。在一些实施方案中,将一个或多个剂量的所述药剂和/或一种或多种其他药剂与免疫疗法或细胞疗法的给予或其开始同时给予。在一些实施方案中,在给予免疫疗法或细胞疗法之后给予所述药剂和所述其他药剂中之一或两者的另外的剂量。在一些情况下,将所述一种或多种其他药剂单独给予,或作为组合物或配制品(例如药物组合物或配制品)的一部分给予,如本文所述。

[0615] 还提供了改善毒性(例如,细胞因子释放综合征(CRS))的方法,所述方法包括向展现一种或多种毒性身体体征或症状的受试者给予能够减轻和/或改善所述一种或多种与所述毒性相关的身体体征或症状的一种或多种药剂,所述受试者已经被给予一定剂量的包含表达重组受体的T细胞的基因工程化细胞。在一些方面,将所述一种或多种药剂按治疗方案给予。

[0616] 在一些方面,在给予所述剂量的包含表达重组受体的T细胞的基因工程化细胞之后,监测受试者的一种或多种毒性(例如CRS)身体体征或症状的表现。在一些方面,在给予所述剂量的包含表达重组受体的T细胞的基因工程化细胞之后,监测受试者的发热的发生。在一些实施方案中,发热是等于或高于38℃或100.4°F的发热。在一些实施方案中,监测受试者的指示1级、2级、3级或4级或更高级CRS的一种或多种身体体征或症状,例如本文所述的体征或症状。在一些实施方案中,在给予免疫疗法或细胞疗法过程中和/或之后监测受试者的CRS的体征或症状。在一些实施方案中,监测受试者是否在给予免疫疗法或细胞疗法后超过或等于72小时发热高于或等于38℃或100.4°F。在此类实施方案中,如果被监测的受试者展现出CRS的临床进展和/或在发热等于或高于38℃或100.4°F之后迅速恶化,则可以将他们转移至一线或后续疗法。在一些实施方案中,在如下情况下治疗方案包括给予一种或多种药剂:在接受所述剂量的基因工程化细胞之后等于或大于72小时,受试者展现出发热,并展现一种或多种与毒性(例如细胞因子释放综合征(CRS))相关的身体体征或症状,展现出CRS的临床进展和/或展现出与毒性相关的身体体征或症状的快速进展;或在接受所述剂量的基因工程化细胞之后48或72小时内,受试者展现出发热和/或一种或多种与2级或更高级CRS相关的身体体征或症状。在一些实施方案中,将所述一种或多种药剂作为一线疗法或一线治疗来给予以改善毒性。

[0617] 在一些实施方案中,在如下情况下治疗方案包括给予一种或多种药剂:在给予以上任何一种或多种药剂(例如一线疗法)之后24、48或72小时内,受试者没有展现出发热和/或所述一种或多种与毒性相关的身体体征或症状的改善和/或展现出与毒性相关的身体体征或症状的快速进展,所述一种或多种药剂任选地不同于以上给予的任何一种或多种药剂和/或是以与以上给予的任何一种或多种药剂(例如一线疗法)相同或更高的剂量和/或频率给予。在一些实施方案中,将所述一种或多种药剂作为二线疗法或二线治疗给予以改善毒性。

[0618] 在一些实施方案中,在如下情况下治疗方案包括给予一种或多种药剂:在给予以上任何一种或多种药剂(例如二线疗法)之后24、48或72小时内,受试者没有展现出发热和/或所述一种或多种与毒性相关的身体体征或症状的改善和/或展现出与毒性相关的身体体征或症状的快速进展,所述一种或多种药剂任选地不同于以上给予的任何一种或多种药剂和/或是以与以上给予的任何一种或多种药剂(例如一线或二线疗法)相同或更高的剂量和/或频率给予。在一些实施方案中,将所述一种或多种药剂作为三线疗法或三线治疗来给予以改善毒性。

[0619] 在一些实施方案中,在如下情况下治疗方案包括给予一种或多种药剂:在给予以上任何一种或多种药剂(例如三线疗法)之后,受试者没有展现出发热和/或所述一种或多种与毒性相关的身体体征或症状的改善,所述一种或多种药剂任选地不同于以上给予的任何一种或多种药剂和/或是以与以上给予的任何一种或多种药剂(例如一线、二线或三线疗法)相同或更高的剂量和/或频率给予。在一些实施方案中,将所述一种或多种药剂作为四线疗法或四线治疗给予以改善毒性。

[0620] 在一些实施方案中,所述一种或多种药剂选自能够结合白细胞介素-6受体(IL-6R)的药剂或一种或多种类固醇、任选一个或多个剂量的所述一种或多种类固醇。

[0621] 还提供了用于改善毒性(例如任选神经毒性(NT))的方法,所述方法包括向展现一种或多种毒性身体体征或症状的受试者给予能够减轻和/或改善所述一种或多种与所述毒性相关的身体体征或症状的一种或多种药剂,所述受试者已经被给予一定剂量的包含表达重组受体的T细胞的基因工程化细胞,在一些方面,将所述一种或多种药剂按治疗方案给予。

[0622] 在一些方面,在给予所述剂量的包含表达重组受体的T细胞的基因工程化细胞之后,监测受试者的一种或多种毒性(例如NT)身体体征或症状的表现。在一些实施方案中,监测受试者的指示1级、2级、3级或4级或更高级NT的一种或多种身体体征或症状,例如本文所述的体征或症状。

[0623] 在一些实施方案中,治疗方案包括在如下情况下给予一种或多种药剂:在接受所述剂量的基因工程化细胞的给予之后等于或大于72小时,受试者展现一种或多种与毒性(任选神经毒性(NT))相关的身体体征或症状;或在接受所述剂量的基因工程化细胞的给予之后等于或约48或72小时内,受试者展现一种或多种与毒性相关的身体体征或症状。在一些实施方案中,将所述一种或多种药剂作为一线疗法或一线治疗来给予以改善毒性。

[0624] 在一些实施方案中,在如下情况下治疗方案包括给予一种或多种药剂:在给予以上任何一种或多种药剂(例如一线疗法)之后等于或约24、48或72小时内,受试者没有展现出所述一种或多种与毒性相关的身体体征或症状的改善和/或展现出与毒性相关的身体体征或症状的进展,所述一种或多种药剂任选地不同于以上给予的任何一种或多种药剂和/或是以与以上给予的任何一种或多种药剂(例如一线疗法)相同或更高的剂量和/或频率给予。在一些实施方案中,将所述一种或多种药剂作为二线疗法或二线治疗给予以改善毒性。

[0625] 在一些实施方案中,在如下情况下治疗方案包括给予一种或多种药剂:在给予以上任何一种或多种药剂之后等于或约24、48或72小时内,受试者没有展现出所述一种或多种与毒性相关的身体体征或症状的改善和/或展现出与毒性相关的身体体征或症状的快速进展,所述一种或多种药剂任选地不同于以上给予的任何一种或多种药剂和/或是以与以

上给予的任何一种或多种药剂(例如一线或二线疗法)相同或更高的剂量和/或频率给予。在一些实施方案中,将所述一种或多种药剂作为三线疗法或三线治疗来给予以改善毒性。

[0626] 在一些实施方案中,所述一种或多种药剂是一种或多种类固醇、任选一个或多个剂量的所述一种或多种类固醇。

[0627] 在一些实施方案中,用于一线疗法的药剂是类固醇。在一些实施方案中,用于一线疗法的药剂是能够结合IL-6受体的药剂,例如抗IL-6R抗体。在一些实施方案中,用于一线疗法的药剂是类固醇和抗IL-6R抗体的组合。

[0628] 在一些实施方案中,用于二线疗法的药剂是类固醇。在一些实施方案中,用于二线疗法的药剂是能够结合IL-6受体的药剂,例如抗IL-6R抗体。在一些实施方案中,用于二线疗法的药剂是类固醇和抗IL-6R抗体的组合。在一些实施方案中,用于二线疗法的药剂不同于用于一线疗法的药剂。在一些实施方案中,一种或多种其他药剂用于二线疗法。在一些实施方案中,用于二线疗法的药剂与用于一线疗法的药剂相同。在一些实施方案中,将用于二线疗法的一种或多种药剂以与一线疗法相同或更高的剂量和/或频率给予。

[0629] 在一些实施方案中,用于三线疗法的药剂是类固醇。在一些实施方案中,用于三线疗法的药剂是能够结合IL-6受体的药剂,例如抗IL-6R抗体。在一些实施方案中,用于三线疗法的药剂是类固醇和抗IL-6R抗体的组合。在一些实施方案中,用于三线疗法的药剂不同于用于二线疗法的药剂。在一些实施方案中,一种或多种其他药剂用于三线疗法。在一些实施方案中,用于三线疗法的药剂与用于一线或二线疗法的药剂相同。在一些实施方案中,将用于三线疗法的一种或多种药剂以与一线或二线疗法相同或更高的剂量和/或频率给予。

[0630] 在一些实施方案中,用于四线疗法或后续疗法的药剂是类固醇。在一些实施方案中,用于四线疗法或后续疗法的药剂是能够结合IL-6受体的药剂,例如抗IL-6R抗体。在一些实施方案中,用于四线疗法或后续疗法的药剂是类固醇和抗IL-6R抗体的组合。在一些实施方案中,用于四线疗法或后续疗法的药剂不同于用于一线、二线或三线疗法的药剂。在一些实施方案中,一种或多种其他药剂用于四线疗法或后续疗法。在一些实施方案中,将用于四线疗法或后续疗法的一种或多种药剂以与一线、二线或三线疗法相同或更高的剂量和/或频率给予。

[0631] 在一些实施方案中,可以将章节IV.E.2中描述的任何一种或多种药剂或其组合(如一种或多种类固醇和/或抗IL-6R抗体和/或抗IL-6抗体)作为能够减少和/或改善一种或多种与毒性相关的身体体征或症状的一种或多种药剂来给予。在一些实施方案中,给予的剂量和/或频率与描述的相同,可以是章节IV.E.2中描述的每种药剂的剂量和/或频率。

[0632] 在一些实施方案中,所述药剂是类固醇,例如地塞米松或甲基泼尼松龙。在一些实施方案中,所述其他药剂是抗IL-6R抗体,例如托珠单抗。在一些实施方案中,所述药剂是抗IL-6R抗体,例如托珠单抗。在一些实施方案中,所述其他药剂是类固醇,例如地塞米松或甲基泼尼松龙。

[0633] 在一些实施方案中,所述类固醇是地塞米松或甲基泼尼松龙。在一些实施方案中,所述类固醇是地塞米松。在一些实施方案中,所述类固醇是地塞米松,并且将地塞米松在给予抗IL-6抗体之后给予。在一些实施方案中,所述类固醇是地塞米松,并且将地塞米松在给予抗IL-6抗体之前给予。

[0634] 在一些实施方案中,在开始给予免疫疗法和/或细胞疗法之后,向受试者给予所述

[0639] ^bCTCAE v4.03。

[0640] 给予所述药剂或疗法或干预的其他非限制性例子描述于表8中。在一些实施方案中,所述干预包括托珠单抗或所描述的其他药剂,其可以在所述受试者有高于或高于约38℃或者高于或高于约39℃的持续或持久发热时。在一些实施方案中,在干预之前,所述受试者发热持续超过10小时、超过12小时、超过16小时或超过24小时。

[0641]	表8.用于给予调节细胞疗法的药剂的示例性指南	
	症状或体征	建议的干预
[0642]	≥ 38.3℃的发热	对乙酰氨基酚 (12.5 mg/kg) PO/IV, 最多每四小时
	≥ 39℃持续10小时的持续发热,其对于对乙酰氨基酚无反应	托珠单抗 (8-12 mg/kg) IV
	托珠单抗后≥ 39℃的持续发热	地塞米松5-10 mg IV/PO, 在继续发热的情况下, 最多每6-12小时
	初始剂量的托珠单抗后48小时症状复发	托珠单抗 (8-12 mg/kg) IV
	低血压	流体推注, 目标血细胞比容> 24%
	初次流体推注后持续/复发性低血压(6小时内)	托珠单抗 (8-12 mg/kg) IV
	使用低剂量的加压药治疗低血压超过12小时	地塞米松5-10 mg IV/PO, 最多每6小时, 同时继续使用加压药
	开始较高剂量的加压药或添加第二加压药治疗低血压	地塞米松5-10 mg IV/PO, 最多每6小时, 同时继续使用加压药
	补氧的起始	托珠单抗 (8-12 mg/kg) IV
	增加呼吸支持, 考虑即将插管	地塞米松5-10 mg IV/PO, 最多每6小时, 同时继续使用加压药
	给予初试剂量后≥ 48小时给予托珠单抗的症状复发/持续	托珠单抗 (8-12 mg/kg) IV

[0643] 给予所述药剂或疗法或干预的其他非限制性例子描述于以下表9中。

[0644]	表9.毒性管理算法		
	管理		
	CRS ^a	托珠单抗	地塞米松
	1级 在CAR+ T细胞给予之后 < 72 小时发作	每24小时8 mg/kg	任选每24小时10 mg
	2级 在CAR+ T细胞给予之后 < 72 小时发作	每12-24小时8 mg/kg	每12-24小时10 mg
	2级 在CAR+ T细胞给予之后 ≥ 72 小时发作	每12-24小时8 mg/kg	任选每24小时10 mg
	3级	每12小时8 mg/kg	每12小时10 mg
	4级	每6小时8 mg/kg	每6小时10 mg

[0645] ^a根据Lee等人, Blood. 2014; 124 (2) : 188-95进行分级。

[0646] 给予所述药剂或疗法或干预的其他非限制性例子描述于以下表10 (CRS) 和表11 (NT) 中。

[0647]

表10.用于给予调节针对细胞因子释放综合征（CRS）的细胞疗法的药剂的示例性指南	
在CAR+ T细胞给予之后	监测： • 使用神经病学评价监测CRS症状（发热、血流动力学不稳定、缺氧） • 关注血清CRP、铁蛋白和凝血参数 • 考虑住院进行密切监测
如果在CAR+ T细胞给予后 ≥ 72小时，发作发热 ≥	监测： • 检查嗜中性粒细胞绝对计数（ANC），评价发热，排

[0648]

38°C/100.4°F:	除感染（监视培养物） • 允许/继续密切监测心脏和器官功能，包括常规神经病学检查 • 关注血清C反应蛋白（CRP）、铁蛋白和凝血参数（国际标准化比率（INR）、部分凝血活酶时间（PTT）、纤维蛋白原） • 对症支持（例如退热剂、镇痛药）、抗生素（根据机构指南）（发热性嗜中性粒细胞减少症）
如果CRS体征或症状快速发作（定义为在CAR+ T细胞给予后 < 72小时观察到发热 $\geq 38.5^{\circ}\text{C}/101.3^{\circ}\text{F}$，或者定义CRS ≥ 2 级的任何体征或症状）； 或 如果当在发热发作之后监测时出现CRS的临床进展或快速恶化，则开始一线治疗	一线治疗： <u>1级：</u> • 如果缓慢发作（$\geq 72\text{h}$），则对症治疗 • 如果快速发作（$< 72\text{h}$），则考虑静脉内托珠单抗8 mg/kg $\pm$ 地塞米松10 mg q24h <u>2级：</u> • 如果缓慢发作（$\geq 72\text{h}$），则在需要时给予静脉内托珠单抗8 mg/kg $\pm$ 静脉内地塞米松10 mg q12-24h • 如果快速发作（$< 72\text{h}$），则给予静脉内托珠单抗8 mg/kg和静脉内地塞米松10 mg q12-24h <u>3级：</u> • 给予静脉内托珠单抗8 mg/kg和静脉内地塞米松10 mg q12h <u>4级：</u> • 给予静脉内托珠单抗8 mg/kg和静脉内地塞米松20 mg q6
如果使用一线治疗在24小时内没有改善或CRS快速进展，则开始二线治疗	二线治疗： • 给予第二剂量的静脉内托珠单抗8 mg/kg和静脉内地塞米松20 mg q6-12h • 考虑临床恶化的其他病因（例如败血症、肾上腺功能不全）
如果使用二线治疗在24小时内没有改善或CRS快速进展，则开始三线治疗	三线治疗： • 甲基泼尼松龙2 mg/kg，接着2 mg/kg每天分成4次（在7天内逐渐减少） • 考虑其他抗IL-6药剂
如果在先前疗法的情况下仍持续存在CRS，则开始四线治疗	四线治疗： • 考虑抗T细胞疗法，如环磷酰胺（$1.5\text{ mg}/\text{m}^2$）或其他
其他注意事项： • 开始地塞米松后，给予最少3个剂量或直到CRS和任何相关的神经系统症状消退为止 • 1级：考虑预防癫痫（例如左乙拉西坦） • 2级：频繁住院监测，直到发热和症状消退，包括神经病学评价和对症支持（补充氧气、积极补充电解质的静脉输液、退热剂、低剂量血管加压药支持）；开始预防癫痫（例如左乙拉西坦）并考虑脑电图（EEG），从而监测是否存在神经毒性（NT）；还参见以下表11的NT管理指南 • ≥ 3级：ICU级监测和对症、血流动力学和呼吸支持，包括神经病学检查；开始预防癫痫（例如左乙拉西坦），并且在同时存在NT时考虑EEG监测；还参见以下表11的NT管理指南	

表11.用于给予调节针对神经毒性（NT）的细胞疗法的药剂的示例性指南	
在CAR+ T细胞给予之后	监测： - 监测NT症状（失语、意识模糊、精神状态改变） - 对于NT高风险的患者，考虑预防癫痫（例如左乙拉西坦）
早发性NT（事件发作 < 72 小时）：	一线治疗： - 开始预防癫痫 <u>1级</u>：考虑地塞米松10 mg q8-12h <u>2级</u>：地塞米松10 mg q8-12h <u>3级</u>：地塞米松20 mg q6-8h <u>4级</u>：地塞米松20 mg q6h
迟发性NT（事件发作 ≥ 72 小时）	一线治疗： - 开始预防癫痫 <u>1级</u>：观察 <u>2级</u>：考虑地塞米松10 mg q12-24h <u>3级</u>：给予地塞米松10-20 mg q8-12h；对于失语或意识模糊使用较低的剂量/较长的间隔，并且对于导致意识水平低下的事件使用较高的剂量/较长的间隔。不建议高剂量皮质类固醇用于孤立性3级头痛 <u>4级</u>：给予地塞米松10-20 mg q6-8h；对于需要呼吸支持的事件或癫痫使用较高的剂量/较短的间隔
[0649] 如果使用一线治疗在24小时内没有改善或NT加重，则开始二线治疗	二线治疗： - 增加地塞米松的剂量和/或频率 - 如果出现危及生命的并发症（需要呼吸支持或如果出现癫痫），则考虑甲基泼尼松龙（2 mg/kg 负荷剂量，接着2 mg/kg每天分成4次（在7天内逐渐减少））。
如果使用二线治疗在24小时内没有改善或症状快速进展，则开始三线治疗	三线治疗： - 进一步增加地塞米松的剂量和/或频率 - 如果地塞米松为最大剂量则给予甲基泼尼松龙
如果发生脑水肿	脑水肿： 给予高剂量甲基泼尼松龙（1-2 g，在需要时重复q24）。如临床上所示逐渐减少。考虑过度换气和高渗疗法
其他注意事项： - 如果受试者在时间开始时为门诊病人则住院进行监测；开始神经病学会诊 - 如果同时存在CRS，则除了NT建议外，还按照CRS管理指南（例如，如上表10所示）治疗CRS；使用两个指南之间建议的最积极的干预 - 考虑神经症状的其他病因（例如感染、代谢综合征、疾病进展、药物） - 类固醇可以持续最少48小时；对于更高等级或持久/复发病状，考虑更长的疗程，其中在总共5至7天内潜在逐渐减少 - 应进行成像（磁共振成像（MRI）或计算机断层摄影（CT）扫描）、脑电图（EEG）和腰椎穿刺（LP），并且如果没有临床改善则重复成像；应考虑通过EEG连续监测 - 对于患有癫痫或癫痫样活动的受试者，建议使用抗癫痫药物；多种或难治性癫痫活动可能需要抗癫痫药物组合 - 可能需要重症监护病房（ICU）监测；可能指示使用机械通气以保护气道	

[0650] 在一些实施方案中，生物标记如CRP、铁蛋白和血清细胞因子水平（例如，本文章节IV.B.中描述的那些）可能与发生CRS的较高风险相关，但是CRS症状的管理在一些情况下基

于对受试者的密切观察而始终被考虑用于治疗或管理CRS。

[0651] 在一些实施方案中,所述药剂或疗法或干预是液体推注或使用具有血液或血浆过滤的吸收性树脂技术。在一些情况下,所述干预包括透析、血浆置换或类似技术。在一些实施方案中,可以使用血管加压药(vassopressor)或对乙酰氨基酚。

[0652] 在一些方面,可以(在一些情况下在医院环境或门诊环境中)评估或监测与毒性(如CRS或神经毒性)相关的任何体征、症状、因素或参数,包括本文中(例如在章节II.A节中)所述的任何一种。在一些情况下,可以提供针对CRS的对症支持,包括给予退热剂、镇痛药和/或抗生素。在一些方面,对于具有发生神经毒性的高风险的受试者,可以给予癫痫预防(例如左乙拉西坦)。

[0653] VI. 工程化细胞

[0654] 在一些实施方案中,所提供的方法与细胞疗法的给予相关,例如用于治疗包括各种肿瘤的疾病或病症。在一些实施方案中,根据所提供的方法使用的T细胞疗法包括给予表达重组受体的工程化细胞,所述重组受体被设计用于识别和/或特异性结合至与疾病或病症相关的分子并引起应答,例如在与此类分子结合后针对此类分子的免疫应答。所述受体可包括嵌合受体,例如嵌合抗原受体(CAR),和其他转基因抗原受体,包括转基因T细胞受体(TCR)或嵌合自身抗体受体(CAAR)。

[0655] 在一些实施方案中,所述细胞含有或经工程化以含有工程化受体(例如工程化抗原受体,如嵌合抗原受体(CAR))或T细胞受体(TCR)。还提供了此类细胞群、含有此类细胞和/或富集此类细胞的组合物,如其中富集或选择某种类型的细胞如T细胞或CD8+或CD4+细胞。所述组合物包括用于给予(如用于过继细胞疗法)的药物组合物和配制品。还提供用于向受试者(例如患者)给予细胞和组合物的治疗方法。

[0656] 因此,在一些实施方案中,所述细胞包括经由基因工程引入的一种或多种核酸,从而表达此类核酸的重组或基因工程化产物。在一些实施方案中,通过以下方式完成基因转移:首先刺激细胞,如通过将其与诱导应答(如增殖、存活和/或激活,例如通过细胞因子或激活标记的表达测量的)的刺激物进行组合,然后转导激活的细胞,并且在培养中扩增至足以用于临床应用的数目。

[0657] A. 重组受体

[0658] 所述细胞通常表达重组受体如抗原受体(包括功能性非TCR抗原受体,例如嵌合抗原受体(CAR))和其他抗原结合受体如转基因T细胞受体(TCR)。所述受体还包括其他嵌合受体,例如嵌合自身抗体受体(CAAR)。

[0659] 1. 嵌合抗原受体(CAR)

[0660] 在一些实施方案中,重组受体包括嵌合抗原受体(CAR)。在一些实施方案中,CAR对特定抗原(或标记或配体,例如在特定细胞类型的表面上表达的抗原)具有特异性。在一些实施方案中,所述抗原是多肽。在一些实施方案中,它是碳水化合物或其他分子。在一些实施方案中,与正常或非靶向细胞或组织相比,抗原在疾病或病症的细胞(例如,肿瘤或致病细胞)上选择性地表达或过表达。在其他实施方案中,抗原在正常细胞上表达和/或在工程化细胞上表达。

[0661] 在特定实施方案中,重组受体(如嵌合受体)含有细胞内信号传导区,所述细胞内信号传导区包括胞质信号传导结构域(也可互换地称为细胞内信号传导结构域),如能够在

T细胞中诱导初级激活信号的胞质(细胞内)区域,例如T细胞受体(TCR)组分的胞质信号传导结构域(例如CD3-zeta(CD3 ζ)链的 ζ 链的胞质信号传导结构域或其功能变体或信号传导部分);和/或所述细胞内信号传导区包含基于免疫受体酪氨酸的激活基序(ITAM)。

[0662] 在一些实施方案中,嵌合受体还含有与抗原(或配体)特异性结合的细胞外结合结构域。在一些实施方案中,嵌合受体是CAR,其含有与抗原特异性地结合的细胞外抗原识别结构域。在一些实施方案中,抗原(或配体)是在细胞表面上表达的蛋白质。在一些实施方案中,CAR是TCR样CAR,并且抗原是加工过的肽抗原,如细胞内蛋白的肽抗原,其与TCR一样在主要组织相容性复合物(MHC)分子的背景下在细胞表面上被识别。

[0663] 示例性抗原受体(包括CAR)和用于将此类受体工程化和引入至细胞中的方法包括例如在以下文献中描述的那些:国际专利申请公开号WO 200014257、WO 2013126726、WO 2012/129514、WO 2014031687、WO 2013/166321、WO 2013/071154、WO 2013/123061,美国专利申请公开号US 2002131960、US 2013287748、US 20130149337,美国专利号:6,451,995、7,446,190、8,252,592、8,339,645、8,398,282、7,446,179、6,410,319、7,070,995、7,265,209、7,354,762、7,446,191、8,324,353、和8,479,118,以及欧洲专利申请号EP 2537416;和/或以下文献所述的那些:Sadelain等人,Cancer Discov.,3(4):388-398(2013);Davila等人PLoS ONE 8(4):e61338(2013);Turtle等人,Curr.Opin.Immunol.,24(5):633-39(2012);Wu等人,Cancer,18(2):160-75(2012)。在一些方面,抗原受体包括如美国专利号:7,446,190中所述的CAR,以及国际专利申请公开号:WO/2014055668A1中所述的那些。CAR的例子包括如在以下文献中的任何一个中披露的CAR:前述出版物,如WO 2014031687、US 8,339,645、US 7,446,179、US 2013/0149337、美国专利号:7,446,190、美国专利号:8,389,282、Kochenderfer等人,Nature Reviews Clinical Oncology,10,267-276(2013);Wang等人,J.Immunother.35(9):689-701(2012);以及Brentjens等人,Sci Transl Med,.5(177)(2013)。还参见WO 2014031687,US 8,339,645,US 7,446,179,US 2013/0149337、美国专利号:7,446,190以及美国专利号:8,389,282。嵌合受体(如CAR)通常包括细胞外抗原结合结构域,如抗体分子的一部分,通常是抗体的可变重(V_H)链区域和/或可变轻(V_L)链区域,例如scFv抗体片段。

[0664] 在一些实施方案中,所述受体所靶向的抗原是多肽。在一些实施方案中,它是碳水化合物或其他分子。在一些实施方案中,与正常或非靶向细胞或组织相比,抗原在疾病或病症的细胞(例如,肿瘤或致病细胞)上选择性地表达或过表达。在其他实施方案中,抗原在正常细胞上表达和/或在工程化细胞上表达。

[0665] 在一些实施方案中,CAR被构建为具有对特定抗原(或标记或配体)的特异性,所述特定抗原是例如在过继疗法靶向的特定细胞类型中表达的抗原(例如,癌症标记)和/或旨在诱导衰减反应的抗原(如在正常或未患病细胞类型上表达的抗原)。因此,CAR通常在其细胞外部分中包括一种或多种抗原结合分子,如一种或多种抗原结合片段、结构域或部分,或者一种或多种抗体可变结构域,和/或抗体分子。在一些实施方案中,CAR包括抗体分子的一个或多个抗原结合部分,如源自单克隆抗体(mAb)的可变重链(V_H)和可变轻链(V_L)的单链抗体片段(scFv)。

[0666] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合部分作为重组受体(如抗原受体)的一部分在细胞上表达。所述抗原受体包括功能性非TCR抗原受体,如嵌合抗原受体(CAR)。通常,含

有针对肽-MHC复合物展现出TCR样特异性的抗体或抗原结合片段的CAR也可以称为TCR样CAR。在一些实施方案中,在一些方面,对TCR样CAR的MHC-肽复合物具特异性的细胞外抗原结合结构域通过接头和/或一个或多个跨膜结构域与一种或多种细胞内信号传导组分连接。在一些实施方案中,此类分子通常可以通过天然抗原受体(如TCR)模拟或接近信号,并且任选地通过这种受体与共刺激受体组合模拟或接近信号。

[0667] 在一些实施方案中,重组受体(如嵌合受体(例如CAR))包括与抗原(或配体)结合(如特异性地结合)的配体结合结构域。嵌合受体靶向的抗原包括在经由过继细胞疗法靶向的疾病、病症或细胞类型的背景下表达的那些抗原。所述疾病和病症包括增殖性、肿瘤性和恶性疾病和障碍,包括癌症和肿瘤,包括血液癌、免疫系统癌症,如淋巴瘤、白血病和/或骨髓瘤,如B型白血病、T型白血病和髓性白血病、淋巴瘤和多发性骨髓瘤。

[0668] 在一些实施方案中,抗原(或配体)是多肽。在一些实施方案中,它是碳水化合物或其他分子。在一些实施方案中,与正常或非靶向细胞或组织相比,抗原(或配体)在疾病或病症的细胞(例如,肿瘤或致病细胞)上选择性地表达或过表达。

[0669] 在一些实施方案中,CAR含有抗体或抗原结合片段(例如scFv),其特异性地识别在细胞表面上表达的抗原(如完整抗原)。

[0670] 在一些实施方案中,由所述受体靶向的抗原是或包括 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素($\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素)、B细胞成熟抗原(BCMA)、B7-H3、B7-H6、碳酸酐酶9(CA9,也称为CAIX或G250)、癌症-睾丸抗原、癌症/睾丸抗原1B(CTAG,也称为NY-ESO-1和LAGE-2)、癌胚抗原(CEA)、细胞周期蛋白、细胞周期蛋白A2、C-C基序趋化因子配体1(CCL-1)、CD19、CD20、CD22、CD23、CD24、CD30、CD33、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD123、CD133、CD138、CD171、硫酸软骨素蛋白聚糖4(CSPG4)、表皮生长因子蛋白(EGFR)、表皮生长因子受体III型突变体(EGFR vIII)、上皮糖蛋白2(EPG-2)、上皮糖蛋白40(EPG-40)、肝配蛋白B2、肝配蛋白受体A2(EPha2)、雌激素受体、Fc受体样蛋白5(FCRL5;也称为Fc受体同源物5或FCRH5)、胎儿乙酰胆碱受体(胎儿AChR)、叶酸结合蛋白(FBP)、叶酸受体 α 、神经节苷脂GD2、O-乙酰化GD2(OGD2)、神经节苷脂GD3、糖蛋白100(gp100)、磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(GPC3)、G蛋白偶联受体5D(GPRC5D)、Her2/neu(受体酪氨酸激酶erb-B2)、Her3(erb-B3)、Her4(erb-B4)、erbB二聚体、人高分子量黑色素瘤相关抗原(HMW-MAA)、乙型肝炎表面抗原、人白细胞抗原A1(HLA-A1)、人白细胞抗原A2(HLA-A2)、IL-22受体 α (IL-22R α)、IL-13受体 $\alpha 2$ (IL-13R $\alpha 2$)、激酶插入结构域受体(kdr)、 κ 轻链、L1细胞粘附分子(L1-CAM)、L1-CAM的CE7表位、含有富亮氨酸重复序列的蛋白8家族成员A(LRRC8A)、路易斯Y、黑色素瘤相关抗原(MAGE)-A1、MAGE-A3、MAGE-A6、MAGE-A10、间皮素(MSLN)、c-Met、鼠类巨细胞病毒(CMV)、粘蛋白1(MUC1)、MUC16、自然杀伤细胞2族成员D(NKG2D)配体、黑色素A(MART-1)、神经细胞粘附分子(NCAM)、癌胚胎抗原、黑色素瘤优先表达抗原(PRAME)、孕酮受体、前列腺特异性抗原、前列腺干细胞抗原(PSCA)、前列腺特异性膜抗原(PSMA)、受体酪氨酸激酶样孤儿受体1(ROR1)、存活蛋白、滋养层糖蛋白(TPBG,也称为5T4)、肿瘤相关糖蛋白72(TAG72)、酪氨酸酶相关蛋白1(TRP1,也称为TYRP1或gp75)、酪氨酸酶相关蛋白2(TRP2,也称为多巴色素互变异构酶、多巴色素 δ 异构酶或DCT)、血管内皮生长因子受体(VEGFR)、血管内皮生长因子受体2(VEGFR2)、Wilms肿瘤1(WT-1)、病原体特异性或病原体表达的抗原、或与通用标签相关的抗原、和/或生物素化分子、和/或由HIV、HCV、HBV或其他病原体表达的分子。在一些实施方案中,受体靶向的抗原包括与B细胞恶性肿瘤相关的抗

原,如许多已知B细胞标记中的任何一种。在一些实施方案中,所述抗原是或包括CD20、CD19、CD22、ROR1、CD45、CD21、CD5、CD33、Ig κ 、Ig λ 、CD79a、CD79b或CD30。

[0671] 在一些实施方案中,受体靶向的抗原是或包括孤儿酪氨酸激酶受体ROR1、Her2、L1-CAM、CD19、CD20、CD22、间皮素、CEA、和乙型肝炎表面抗原、抗叶酸受体、CD23、CD24、CD30、CD33、CD38、CD44、EGFR、EGP-2、EGP-4、EPHa2、ErbB2、3或4、FBP、胎儿乙酰胆碱e受体、GD2、GD3、HMW-MAA、IL-22R- α 、IL-13R- α 2、kdr、 κ 轻链、路易斯Y、L1细胞粘附分子、MAGE-A1、间皮素、MUC1、MUC16、PSCA、NKG2D配体、NY-ESO-1、MART-1、gp100、癌胚胎抗原、ROR1、TAG72、VEGF-R2、癌胚抗原(CEA)、前列腺特异性抗原、PSMA、Her2/neu、雌激素受体、孕酮受体、肝配蛋白B2、CD123、c-Met、GD-2和MAGE A3、CE7、Wilms肿瘤1(WT-1)、细胞周期蛋白(如细胞周期蛋白A1(CCNA1))和/或生物素化分子、和/或由HIV、HCV、HBV表达的分子或其他病原体。在一些实施方案中,CAR结合病原体特异性抗原或病原体表达的抗原。在一些实施方案中,CAR对病毒抗原(如HIV、HCV、HBV等)、细菌抗原和/或寄生虫抗原具特异性。

[0672] 在一些实施方案中,CAR含有TCR样抗体,如抗体或抗原结合片段(例如scFv),其特异性地识别作为MHC-肽复合物存在于细胞表面上的细胞内抗原(如肿瘤相关抗原)。在一些实施方案中,识别MHC-肽复合物的抗体或其抗原结合部分可以作为重组受体(如抗原受体)的一部分在细胞上表达。所述抗原受体包括功能性非TCR抗原受体,如嵌合抗原受体(CAR)。通常,含有针对肽-MHC复合物展现出TCR样特异性的抗体或抗原结合片段的CAR也可以称为TCR样CAR。

[0673] 提及“主要组织相容性复合物”(MHC)是指含有多态性肽结合位点或结合沟的蛋白质,通常是糖蛋白,在一些情况下,所述蛋白质可以与多肽的肽抗原(包括由细胞机器加工的肽抗原)复合。在一些情况下,MHC分子可以在细胞表面上展示或表达,包括作为与肽的复合物,即MHC-肽复合物,用于呈递具有T细胞上的抗原受体(如TCR或TCR样抗体)可识别的构象的抗原。通常,MHC I类分子是异二聚体,其具有跨越 α 链的膜,在一些情况下具有三个 α 结构域和非共价缔合的 β 2微球蛋白。通常,MHC II类分子由两种跨膜糖蛋白 α 和 β 构成,两者通常都跨越膜。MHC分子可以包括MHC的有效部分,其含有抗原结合位点或用于结合肽的位点以及由适当抗原受体识别所必需的序列。在一些实施方案中,MHC I类分子将源自胞质溶胶的肽递送至细胞表面,其中MHC-肽复合物由T细胞(如通常是CD8⁺ T细胞,但是在一些情况下是CD4⁺ T细胞)识别。在一些实施方案中,MHC II类分子将源自囊泡系统的肽递送至细胞表面,其中所述肽通常由CD4⁺ T细胞识别。通常,MHC分子由一组连锁基因座编码,其在小鼠中统称为H-2并且在人中统称为人白细胞抗原(HLA)。因此,通常人MHC也可以称为人白细胞抗原(HLA)。

[0674] 术语“MHC-肽复合物”或“肽-MHC复合物”或其变体是指肽抗原与MHC分子的复合物或缔合物,例如通常通过所述肽在MHC分子的结合沟或裂缝中的非共价相互作用来形成。在一些实施方案中,MHC-肽复合物存在或展示于细胞表面上。在一些实施方案中,MHC-肽复合物可以由抗原受体(如TCR、TCR样CAR或其抗原结合部分)特异性地识别。

[0675] 在一些实施方案中,多肽的肽(如肽抗原或表位)可以与MHC分子缔合,例如用于由抗原受体识别。通常,肽源自或基于较长生物分子(如多肽或蛋白质)的片段。在一些实施方案中,肽的长度通常为约8至约24个氨基酸。在一些实施方案中,肽的长度为从或从约9至22个氨基酸,用于在MHC II类复合物中识别。在一些实施方案中,肽的长度为从或从约8至13

个氨基酸,用于在MHC I类复合物中识别。在一些实施方案中,在识别MHC分子(如MHC-肽复合物)背景下的肽后,抗原受体(如TCR或TCR样CAR)产生或触发激活信号至T细胞,从而诱导T细胞反应,如T细胞增殖、细胞因子产生、细胞毒性T细胞反应或其他反应。

[0676] 在一些实施方案中,TCR样抗体或抗原结合部分是已知的或可通过已知方法产生(参见例如美国公开申请号US 2002/0150914;US 2003/0223994;US 2004/0191260;US 2006/0034850;US 2007/00992530;US 20090226474;US 20090304679;和国际PCT公开号WO 03/068201)。

[0677] 在一些实施方案中,与MHC-肽复合物特异性地结合的抗体或其抗原结合部分可以通过用有效量的含有特定MHC-肽复合物的免疫原对宿主进行免疫来产生。在一些情况下,MHC-肽复合物的肽是能够与MHC结合的抗原的表位,所述抗原是例如肿瘤抗原,例如通用肿瘤抗原、骨髓瘤抗原或如下文所述的其他抗原。在一些实施方案中,然后向宿主给予有效量的免疫原以用于引发免疫应答,其中免疫原保持其三维形式持续足以引发针对所述肽在MHC分子的结合沟中的三维呈现的免疫应答的时间段。然后测定从宿主中收集的血清以确定是否产生了识别MHC分子结合沟中的肽的三维呈现的所需抗体。在一些实施方案中,可以评估所产生的抗体以确认所述抗体可以区分MHC-肽复合物与单独的MHC分子、单独的目标肽以及MHC与无关肽的复合物。然后可以分离所需抗体。

[0678] 在一些实施方案中,与MHC-肽复合物特异性地结合的抗体或其抗原结合部分可以通过采用抗体文库展示方法(如噬菌体抗体文库)来产生。在一些实施方案中,可以产生突变型Fab、scFv或其他抗体形式的噬菌体展示文库,例如,其中所述文库的成员在一个或多个CDR的一个或多个残基处发生突变。参见例如美国公开申请号US 20020150914、US 2014/0294841;和Cohen CJ.等人(2003) J Mol. Recogn. 16:324-332。

[0679] 本文中的术语“抗体”在最广泛的意义上使用,并且包括多克隆和单克隆抗体,包括完整抗体和功能性(抗原结合)抗体片段,包括片段抗原结合(Fab)片段、F(ab')₂片段、Fab'片段、Fv片段、重组IgG(rIgG)片段、能够特异性地结合抗原的可变重链(V_H)区、单链抗体片段(包括单链可变片段(scFv))以及单结构域抗体(例如,sdAb、sdFv、纳米抗体)片段。所述术语涵盖免疫球蛋白的基因工程化的和/或以其他方式修饰的形式,如胞内抗体、肽体、嵌合抗体、全人抗体、人源化抗体和异缀合抗体、多特异性(例如,双特异性)抗体、双抗体、三抗体和四抗体、串联二-scFv、串联三-scFv。除非另有说明,否则术语“抗体”应当理解为涵盖其功能性抗体片段。所述术语还涵盖完整或全长抗体,包括任何类别或亚类(包括IgG及其亚类、IgM、IgE、IgA和IgD)的抗体。

[0680] 在一些实施方案中,抗原结合蛋白、抗体及其抗原结合片段特异性地识别全长抗体的抗原。在一些实施方案中,抗体的重链和轻链可以是全长的或者可以是抗原结合部分(Fab、F(ab')₂、Fv或单链Fv片段(scFv))。在其他实施方案中,抗体重链恒定区选自例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgD和IgE,特别是选自例如IgG1、IgG2、IgG3和IgG4,更特别是IgG1(例如,人IgG1)。在另一个实施方案中,抗体轻链恒定区选自例如κ或λ,特别是κ。

[0681] 所提供的抗体包括抗体片段。“抗体片段”是指不同于完整抗体的分子,其包含完整抗体的结合完整抗体所结合的抗原的一部分。抗体片段的例子包括但不限于Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂;双抗体;线性抗体;可变重链(V_H)区、单链抗体分子(如scFv)和单结

构域V_H单一抗体;和由抗体片段形成的多特异性抗体。在特定实施方案中,抗体是包含可变重链区和/或可变轻链区的单链抗体片段,如scFv。

[0682] 术语“互补决定区”和“CDR”与“高变区”或“HVR”同义,在一些情况下已知是指抗体可变区内的氨基酸的非连续序列,其赋予抗原特异性和/或结合亲和力。通常,在每个重链可变区中有三个CDR(CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3),并且在每个轻链可变区中有三个CDR(CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3)。“框架区”和“FR”是已知的,在一些情况下是指重链和轻链的可变区的非CDR部分。通常,在每个全长重链可变区中有四个FR(FR-H1、FR-H2、FR-H3和FR-H4),并且在每个全长轻链可变区中有四个FR(FR-L1、FR-L2、FR-L3和FR-L4)。

[0683] 给定CDR或FR的精确氨基酸序列边界可以使用许多熟知方案中的任何一种来容易地确定,所述方案包括以下文献所述的那些:Kabat等人(1991),“Sequences of Proteins of Immunological Interest,”第5版Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD(“Kabat”编号方案);Al-Lazikani等人,(1997) JMB 273,927-948(“Chothia”编号方案);MacCallum等人,J.Mol.Biol.262:732-745(1996),“Antibody-antigen interactions:Contact analysis and binding site topography,”J.Mol.Biol.262,732-745.”(“Contact”编号方案);Lefranc MP等人,“IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains,”Dev Comp Immunol,2003年1月;27(1):55-77(“IMGT”编号方案);Honegger A和Plückthun A,“Yet another numbering scheme for immunoglobulin variable domains:an automatic modeling and analysis tool,”J Mol Biol,2001年6月8日;309(3):657-70, (“Aho”编号方案);以及Martin等人,“Modeling antibody hypervariable loops:a combined algorithm,”PNAS,1989,86(23):9268-9272, (“AbM”编号方案)。

[0684] 给定CDR或FR的边界可能取决于用于鉴定的方案而变化。例如,Kabat方案基于结构比对,而Chothia方案基于结构信息。Kabat和Chothia方案的编号均基于最常见的抗体区域序列长度,其中通过插入字母提供插入(例如“30a”)并且在一些抗体中出现缺失。这两种方案将某些插入和缺失(“插入缺失(indel)”)放在不同的位置,从而产生不同的编号。Contact方案基于对复杂晶体结构的分析,并且在许多方面与Chothia编号方案相似。AbM方案是介于Kabat与Chothia定义之间的折衷,其基于Oxford Molecular的AbM抗体建模软件所使用的方案。

[0685] 以下表12列出了分别通过Kabat、Chothia、AbM和Contact方案鉴定的CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3以及CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3的示例性位置边界。对于CDR-H1,使用Kabat和Chothia两种编号方案列出了残基编号。FR位于CDR之间,例如,其中FR-L1位于CDR-L1之前,FR-L2位于CDR-L1与CDR-L2之间,FR-L3位于CDR-L2与CDR-L3之间,等等。应注意,因为所示的Kabat编号方案在H35A和H35B处放置插入,所以当使用所示的Kabat编号惯例进行编码时Chothia CDR-H1环的末端取决于环的长度而在H32与H34之间变化。

表12.根据各种编号方案的CDR的边界。

CDR	Kabat	Chothia	AbM	Contact
CDR-L1	L24--L34	L24--L34	L24--L34	L30--L36
CDR-L2	L50--L56	L50--L56	L50--L56	L46--L55
CDR-L3	L89--L97	L89--L97	L89--L97	L89--L96
[0686] CDR-H1 (Kabat编号 ¹)	H31--H35B	H26--H32..34	H26--H35B	H30--H35B
CDR-H1 (Chothia编号 ²)	H31--H35	H26--H32	H26--H35	H30--H35
CDR-H2	H50--H65	H52--H56	H50--H58	H47--H58
CDR-H3	H95--H102	H95--H102	H95--H102	H93--H101

[0687] 1-Kabat等人(1991),“Sequences of Proteins of Immunological Interest,”第5版Public Health Service,National Institutes of Health,贝塞斯达,马里兰州2-A1-Lazikani等人,(1997) JMB 273,927-948

[0688] 因此,除非另有规定,否则应当理解给定抗体或其区域(如其可变区)的“CDR”或“互补决定区”或单个指定的CDR(例如,CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3)涵盖如由任何上述方案或其他已知方案所定义的一个(或特定的)互补决定区。例如,在声明特定的CDR(例如,CDR-H3)含有给定V_H或V_L区氨基酸序列中的相应CDR的氨基酸序列的情况下,应理解,这样的CDR具有在可变区内的相应CDR(例如,CDR-H3)的序列,如由任何上述方案或其他已知方案所定义的。在一些实施方案中,指定了特定的CDR序列。使用各种编号方案描述所提供抗体的示例性CDR序列,但应当理解,所提供抗体可以包括如根据任何其他上述编号方案或熟练技术人员已知的其他编号方案所描述的CDR。

[0689] 同样,除非另有规定,否则应当理解给定抗体或其区域(如其可变区)的FR或单独指定的一个或多个FR(例如,FR-H1、FR-H2、FR-H3、FR-H4)涵盖如由任何已知方案所定义的一个(或特定的)框架区。在一些情形下,规定了用于鉴定特定的CDR、FR或者FR或CDR的方案,如通过Kabat、Chothia、AbM或Contact方法或其他已知方案定义的CDR。在其他情况下,给出了CDR或FR的特定氨基酸序列。

[0690] 术语“可变区”或“可变结构域”是指抗体重链或轻链的参与抗体与抗原的结合的结构域。天然抗体的重链和轻链的可变结构域(分别为V_H和V_L)通常具有相似的结构,每个结构域包含四个保守的框架区(FR)和三个CDR。(参见例如Kindt等人Kuby Immunology,第6版,W.H.Freeman and Co.,第91页(2007)。单个V_H或V_L结构域可能足以赋予抗原结合特异性。此外,可以使用来自结合抗原的抗体的V_H或V_L结构域分离结合所述特定抗原的抗体,以分别筛选互补的V_L或V_H结构域的文库。参见例如Portolano等人,J.Immunol.150:880-887(1993);Clarkson等人,Nature 352:624-628(1991)。

[0691] 单结构域抗体是包含抗体的全部或部分重链可变结构域或者全部或部分轻链可变结构域的抗体片段。在某些实施方案中,单结构域抗体是人单结构域抗体。在一些实施方案中,CAR包含特异性地结合抗原的抗体重链结构域,所述抗原例如癌症标记或待靶向的细胞或疾病(例如肿瘤细胞或癌细胞)的细胞表面抗原,例如本文所述或已知的任何靶抗原。

[0692] 抗体片段可以通过各种技术制备,包括但不限于完整抗体的蛋白水解消化以及通过重组宿主细胞产生。在一些实施方案中,抗体是重组产生的片段,如包含天然不存在的排列的片段(如具有通过合成接头(例如,肽接头)连接的两个或更多个抗体区或链的那些),

和/或可以不通过酶消化天然存在的完整抗体产生的片段。在一些实施方案中,抗体片段是 scFv。

[0693] “人源化”抗体是这样的抗体,其中全部或基本上全部CDR氨基酸残基源自非人CDR并且全部或基本上全部FR氨基酸残基源自人FR。人源化抗体任选地可以包括衍生自人抗体的抗体恒定区的至少一部分。非人抗体的“人源化形式”是指非人抗体的变体,其经历人源化以通常降低对人的免疫原性,同时保留亲本非人抗体的特异性和亲和力。在一些实施方案中,人源化抗体中的一些FR残基被来自非人抗体(例如,衍生出CDR残基的抗体)的相应残基取代,例如以恢复或改善抗体特异性或亲和力。

[0694] 因此,在一些实施方案中,嵌合抗原受体(包括TCR样CAR)包括含有抗体或抗体片段的细胞外部分。在一些实施方案中,抗体或片段包括scFv。在一些方面,嵌合抗原受体包括含有抗体或片段的细胞外部分和细胞内信号传导区。在一些实施方案中,细胞内信号传导区包含细胞内信号传导结构域。在一些实施方案中,细胞内信号传导结构域是或包含初级信号传导结构域、能够在T细胞中诱导初级激活信号的信号传导结构域、T细胞受体(TCR)组分的信号传导结构域和/或包含基于免疫受体酪氨酸的激活基序(ITAM)的信号传导结构域。

[0695] 在一些实施方案中,重组受体(例如CAR)(包括重组受体(例如CAR)的抗体部分)还包括免疫球蛋白恒定区的至少一部分,例如铰链区(例如IgG4铰链区)和/或 C_{H1} / C_L 和/或Fc区。在一些实施方案中,重组受体(例如CAR,包括其抗体部分)还包括间隔子,所述间隔子可以是或包括免疫球蛋白恒定区的至少一部分或其变体或经修饰形式,例如铰链区(例如,IgG4铰链区)和/或 C_{H1} / C_L 和/或Fc区。在一些实施方案中,重组受体还包含间隔子和/或铰链区。在一些实施方案中,恒定区或部分是人IgG(如IgG4或IgG1)的。在一些方面,恒定区的所述部分用作抗原识别组分(例如,scFv)与跨膜结构域之间的间隔子区。与不存在间隔子的情况相比,间隔子的长度可以提供在抗原结合后增加的细胞反应性。示例性间隔子(例如,铰链区)包括国际专利申请公开号W0 2014031687中所述的那些。在一些例子中,间隔子的长度为或为约12个氨基酸或者长度不超过12个氨基酸。示例性间隔子包括具有至少约10至229个氨基酸、约10至200个氨基酸、约10至175个氨基酸、约10至150个氨基酸、约10至125个氨基酸、约10至100个氨基酸、约10至75个氨基酸、约10至50个氨基酸,约10至40个氨基酸、约10至30个氨基酸、约10至20个氨基酸或约10至15个氨基酸(并且包括任何列出的范围的端点之间的任何整数)的那些。在一些实施方案中,间隔子区具有约12个或更少的氨基酸、约119个或更少的氨基酸或约229个或更少的氨基酸。示例性间隔子包括单独的IgG4铰链、与 C_{H2} 和 C_{H3} 结构域连接的IgG4铰链或与 C_{H3} 结构域连接的IgG4铰链。示例性间隔子包括但不限于以下文献中所述的那些:Hudecek等人Clin.Cancer Res.,19:3153(2013);国际专利申请公开号W0 2014031687、美国专利号8,822,647或公开的申请号US 2014/0271635。

[0696] 在一些实施方案中,恒定区或部分是人IgG(如IgG4或IgG1)的。在一些实施方案中,间隔子具有序列ESKYGPPCPPCP(SEQ ID NO:1所示),并由SEQ ID NO:2所示的序列编码。在一些实施方案中,间隔子具有SEQ ID NO:3所示的序列。在一些实施方案中,间隔子具有SEQ ID NO:4所示的序列。在一些实施方案中,所述恒定区或部分是人IgD的。在一些实施方案中,间隔子具有SEQ ID NO:5所示的序列。在一些实施方案中,间隔子具有与SEQ ID NO:1、3、4和5中的任何一个展现出至少或至少约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、

93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,间隔子具有SEQ ID NO:26-34所示的序列。在一些实施方案中,间隔子具有与SEQ ID NO:26-34中的任何一个展现出至少或至少约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高序列同一性的氨基酸序列。

[0697] 抗原识别结构域通常与一种或多种细胞内信号传导组分(如通过抗原受体复合物(如TCR复合物)(在CAR的情况下)模拟激活和/或通过另一种细胞表面受体模拟信号的信号传导组分)连接。因此,在一些实施方案中,抗原结合组分(例如,抗体)与一个或多个跨膜和细胞内信号传导结构域或区域连接。在一些实施方案中,跨膜结构域与细胞外结构域融合。在一个实施方案中,使用天然与受体(例如,CAR)中的一个结构域缔合的跨膜结构域。在一些情形下,通过氨基酸取代选择或修饰跨膜结构域,以避免此类结构域与相同或不同表面膜蛋白的跨膜结构域结合,以使与受体复合物的其他成员的相互作用最小化。

[0698] 在一些实施方案中,跨膜结构域源自天然来源或源自合成来源。在来源是天然的情况下,结构域在一些方面源自任何膜结合蛋白或跨膜蛋白。跨膜区包括源自以下的那些(即包含以下的至少一个或多个跨膜区):T细胞受体的 α 、 β 或 ζ 链,CD28,CD3 ϵ ,CD45,CD4,CD5,CD8,CD9,CD16,CD22,CD33,CD37,CD64,CD80,CD86,CD134,CD137,CD154。可替代地,在一些实施方案中,跨膜结构域是合成的。在一些方面,合成跨膜结构域主要包含疏水性残基,如亮氨酸和缬氨酸。在一些方面,将在合成跨膜结构域的每个末端发现苯丙氨酸、色氨酸和缬氨酸的三联体。在一些实施方案中,所述连接是通过接头、间隔子和/或一个或多个跨膜结构域来实现。

[0699] 细胞内信号传导结构域或区域包括模拟或接近以下项的那些:通过天然抗原受体传导的信号,通过与共刺激受体组合的受体传导的信号,和/或仅通过共刺激受体传导的信号。在一些实施方案中,短的寡肽或多肽接头(例如,长度在2与10个之间氨基酸的接头,例如含有甘氨酸和丝氨酸的接头,例如甘氨酸-丝氨酸双联体)存在于CAR的跨膜结构域与胞质信号传导结构域或区域之间,并且形成连接。

[0700] 受体(例如,CAR)通常包括至少一种或多种细胞内信号传导组分。在一些实施方案中,受体包括TCR复合物的细胞内组分,如介导T细胞激活和细胞毒性的TCR CD3链,例如CD3 ζ 链。因此,在一些方面,所述抗原结合部分连接至一种或多种细胞信号传导模块。在一些实施方案中,细胞信号传导模块包括CD3跨膜结构域、CD3细胞内信号传导结构域和/或其他CD跨膜结构域。在一些实施方案中,受体(例如,CAR)还包括一种或多种另外的分子(如Fc受体 γ 、CD8、CD4、CD25或CD16)的一部分。例如,在一些方面,所述CAR或其他嵌合受体包括CD3-zeta(CD3- ζ)或Fc受体 γ 与CD8、CD4、CD25或CD16之间的嵌合分子。

[0701] 在一些实施方案中,在连接CAR或其他嵌合受体后,所述受体的胞质结构域或细胞内信号传导结构域或区域激活免疫细胞(例如,工程化以表达CAR的T细胞)的至少一种正常效应子功能或反应。例如,在一些背景下,CAR诱导T细胞的功能,如细胞溶解活性或T辅助活性,如细胞因子或其他因子的分泌。在一些实施方案中,例如,如果抗原受体组分或共刺激分子的细胞内信号传导结构域或区域的截短部分转导效应子功能信号,则使用所述截短部分代替完整的免疫刺激链。在一些实施方案中,一个或多个细胞内信号传导结构域或区域包括T细胞受体(TCR)的胞质序列,并且在一些方面还包括共受体的那些胞质序列,所述共受体在自然环境中与此类受体协同作用以在抗原受体接合后启动信号转导,和/或此类分

子的任何衍生物或变体,和/或具有相同功能性能的任何合成序列。

[0702] 在天然TCR的背景下,完全激活通常不仅需要通过TCR进行信号传导,还需要共刺激信号。因此,在一些实施方案中,为了促进完全激活,用于产生次级或共刺激信号的组分也被包括在CAR中。在其他实施方案中,CAR不包括用于产生共刺激信号的组分。在一些方面,另外的CAR在同一细胞中表达,并且提供用于产生次级或共刺激信号的组分。

[0703] 在一些方面,将T细胞激活描述为由两个类别的胞质信号传导序列来介导:通过TCR启动抗原依赖性初级激活的那些(初级胞质信号传导序列)以及以抗原非依赖性方式作用以提供次级或共刺激信号的那些(次级胞质信号传导序列)。在一些方面,CAR包括此类信号传导组分之一或两者。

[0704] 在一些方面,CAR包括调节TCR复合物的初级激活的初级胞质信号传导序列。以刺激方式起作用的初级胞质信号传导序列可以含有信号传导基序(其被称为基于免疫受体酪氨酸的激活基序或ITAM)。含有ITAM的初级胞质信号传导序列的例子包括源自以下项的那些:TCR ζ 、FcR γ 、FcR β 、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD8、CD22、CD79a、CD79b和CD66d。在一些实施方案中,CAR中的一种或多种胞质信号传导分子含有源自CD3 ζ 的胞质信号传导结构域或区域或其部分或序列。

[0705] 在一些实施方案中,CAR包括共刺激受体(例如CD28、4-1BB、OX40、DAP10和ICOS)的信号传导结构域或区域和/或跨膜部分。在一些方面,相同的CAR包括激活组分和共刺激组分二者。

[0706] 在一些实施方案中,所述激活结构域包括在一个CAR中,而所述共刺激组分由识别另一种抗原的另一个CAR提供。在一些实施方案中,所述CAR包括激活或刺激CAR、共刺激CAR,它们均在相同细胞上表达(参见W02014/055668)。在一些方面,所述细胞包括一种或多种刺激或激活CAR和/或共刺激CAR。在一些实施方案中,细胞还包含抑制性CAR(iCAR,参见Fedorov等人,Sci.Transl.Medicine,5(215)(2013)),如识别除了与疾病或病症相关和/或对所述疾病或病症具特异性的抗原以外的抗原的CAR,由此通过靶向疾病的CAR递送的激活信号由于抑制性CAR与其配体的结合而有所减小或被抑制,例如以减小脱靶效应。

[0707] 在一些实施方案中,表达重组受体的细胞还包含抑制性CAR(iCAR,参见Fedorov等人,Sci.Transl.Medicine,5(215)(2013)),如识别除了与疾病或病症相关和/或对所述疾病或病症具特异性的抗原以外的抗原的CAR,由此通过靶向疾病的CAR递送的激活信号由于抑制性CAR与其配体的结合而有所减小或被抑制,例如以减小脱靶效应。

[0708] 在一些实施方案中,两种受体分别将激活和抑制信号诱导至细胞,使得一种受体与其抗原的连接激活细胞或诱导应答,但是第二抑制性受体与其抗原的连接诱导了抑制或减弱所述应答的信号。例子是激活CAR与抑制性CAR(iCAR)的组合。例如,这种策略可以用于例如降低在如下背景下的脱靶效应的可能性,在所述背景中激活CAR结合在疾病或病症中表达但也在正常细胞上表达的抗原,并且抑制性受体结合在正常细胞上表达但不在疾病或病症的细胞上表达的单抗原。

[0709] 在一些方面,嵌合受体是或包括抑制性CAR(例如,iCAR),并且包括减弱或抑制免疫应答(例如细胞中ITAM和/或共同刺激促进的应答)的细胞内组分。此类细胞内信号传导组分的示例是在免疫检查点分子(包括PD-1、CTLA4、LAG3、BTLA、OX2R、TIM-3、TIGIT、LAIR-1、PGE2受体、EP2/4腺苷受体(包括A2AR))上发现的那些组分。在一些方面,工程化细胞包括

抑制性CAR,所述抑制性CAR包含这样的抑制性分子的信号传导结构域或源自这样的抑制性分子的信号传导结构域,使得其起到减弱细胞的应答(例如,由激活和/或共刺激性CAR诱导)的作用。

[0710] 在某些实施方案中,细胞内信号传导结构域包含与CD3(例如,CD3- ζ)细胞内结构域连接的CD28跨膜和信号传导结构域。在一些实施方案中,所述细胞内信号传导结构域包含连接至CD3 ζ 细胞内结构域的嵌合CD28和CD137(4-1BB,TNFRSF9)共刺激结构域。

[0711] 在一些实施方案中,CAR涵盖在胞质部分中的一个或多个(例如,两个或更多个)共刺激结构域和激活结构域(例如,初级激活结构域)。示例性CAR包括CD3 ζ 、CD28和4-1BB的细胞内组分。

[0712] 在一些实施方案中,所述CAR或其他抗原受体进一步包括标记,如细胞表面标记,其可以用于确认所述细胞被转导或工程化以表达所述受体,如细胞表面受体的截短形式,如截短的EGFR(tEGFR)。在一些方面,标记包括全部或部分(例如,截短形式)的CD34、NGFR或表皮生长因子受体(例如,tEGFR)。

[0713] 在一些实施方案中,标记是转导标记或替代标记。转导标记或替代标记可以用于检测已经引入多核苷酸(例如,编码重组受体的多核苷酸)的细胞。在一些实施方案中,所述转导标记可以指示或确认对细胞的修饰。在一些实施方案中,所述替代标记是经制备在细胞表面上与所述重组受体(例如,CAR)共表达的蛋白质。在特定实施方案中,这种替代标记是已经修饰以具有极少或无活性的表面蛋白。在某些实施方案中,替代标记由编码重组受体的同一多核苷酸编码。在一些实施方案中,编码所述重组受体的核酸序列与编码标记的核酸序列可操作地连接,任选地通过内部核糖体进入位点(IRES)或编码自切割肽或导致核糖体跳跃的肽(如2A序列,如T2A、P2A、E2A或F2A)的核酸分开。在一些情况下,外在标记基因可以结合工程化细胞以允许检测或选择细胞,并且在一些情况下还允许促进细胞自杀。

[0714] 示例性替代标记可以包括细胞表面多肽的截短形式,如是非功能性的并且不转导或不能转导信号或通常由细胞表面多肽的全长形式转导的信号、和/或不内化或不能内化的截短形式。示例性截短的细胞表面多肽包括截短形式的生长因子或其他受体,如截短的人表皮生长因子受体2(tHER2)、截短的表皮生长因子受体(tEGFR,在SEQ ID NO:7或16中列出的示例性tEGFR序列)或前列腺特异性膜抗原(PSMA)或其修饰形式。tEGFR可以含有被抗体西妥昔单抗(Erbix®)或其他治疗性抗EGFR抗体或结合分子识别的表位,其可以被用于鉴定或选择已经用tEGFR构建体和编码的外源蛋白质工程化的细胞,和/或用于消除或分离表达所编码的外源蛋白质的细胞。参见美国专利号8,802,374和Liu等人,Nature Biotech.2016年4月;34(4):430-434)。在一些方面,标记(例如替代标记)包括全部或部分(例如,截短形式)的CD34、NGFR、CD19或截短的CD19(例如,截短的非人CD19)或表皮生长因子受体(例如,tEGFR)。在一些实施方案中,标记是或包含荧光蛋白,如绿色荧光蛋白(GFP)、增强型绿色荧光蛋白(EGFP)(如超折叠GFP(sfGFP))、红色荧光蛋白(RFP)(如tdTomato、mCherry、mStrawberry、AsRed2、DsRed或DsRed2)、青色荧光蛋白(CFP)、蓝绿色荧光蛋白(BFP)、增强型蓝色荧光蛋白(EBFP)和黄色荧光蛋白(YFP)及其变体,包括荧光蛋白的物种变体、单体变体和密码子优化的和/或增强的变体。在一些实施方案中,标记是或包含酶(如萤光素酶)、来自大肠杆菌(E.coli)的lacZ基因、碱性磷酸酶、分泌型胚胎碱性磷酸酶(SEAP)、氯霉素乙酰转移酶(CAT)。示例性发光报告基因包括萤光素酶(luc)、 β -半乳糖苷

酶、氯霉素乙酰转移酶 (CAT)、 β -葡糖醛酸糖苷酶 (GUS) 或其变体。

[0715] 在一些实施方案中,标记是选择标记。在一些实施方案中,选择标记是或包含赋予对外源药剂或药物的抗性的多肽。在一些实施方案中,选择标记是抗生素抗性基因。在一些实施方案中,选择标记是向哺乳动物细胞赋予抗生素抗性的抗生素抗性基因。在一些实施方案中,选择标记是或包含嘌呤霉素抗性基因、潮霉素抗性基因、杀稻瘟菌素抗性基因、新霉素抗性基因、遗传霉素抗性基因或博来霉素抗性基因或其经修饰形式。

[0716] 在一些实施方案中,编码所述标记的核酸与编码接头序列(如可切割接头序列,例如,T2A)的多核苷酸可操作地连接。例如,标记以及任选地接头序列可以是如公开的专利申请号W0 2014031687中所披露的任一种。例如,标记可以是截短的EGFR (tEGFR),其任选地连接至接头序列,如T2A可切割接头序列。截短的EGFR (例如tEGFR)的示例性多肽包含SEQ ID NO:7或16所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO:7或16展现出至少或至少约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高序列同一性的氨基酸序列。示例性T2A接头序列包含SEQ ID NO:6或17所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO:6或17展现出至少或至少约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高序列同一性的氨基酸序列。

[0717] 在一些实施方案中,标记是并非在T细胞上天然发现或并非在T细胞表面上天然发现的分子(例如细胞表面蛋白)或其部分。在一些实施方案中,所述分子是非自身分子,例如非自身蛋白,即不被宿主的免疫系统识别为“自身”的分子,所述细胞将被过继转移至所述宿主中。

[0718] 在一些实施方案中,标记不起任何治疗作用和/或不产生除了用作基因工程标记(例如,用于选择成功工程化的细胞)以外的作用。在其他实施方案中,所述标记可以是治疗性分子或以其他方式发挥一些所需作用的分子,如在体内将遇到的细胞的配体,如共刺激性或免疫检查点分子,以在过继转移和遇到配体时增强和/或减弱所述细胞的应答。

[0719] 在一些情况下,CAR称为第一代、第二代和/或第三代CAR。在一些方面,第一代CAR是在抗原结合时仅提供CD3链诱导的信号信号的CAR;在一些方面,第二代CAR是提供这种信号和共刺激信号的CAR,如包括来自共刺激受体(如CD28或CD137)的细胞内信号传导结构域的信号;在一些方面,第三代CAR是包括不同共刺激受体的多个共刺激结构域的CAR。

[0720] 在一些实施方案中,所述嵌合抗原受体包括含有抗体或抗体片段的细胞外部分。在一些方面,所述嵌合抗原受体包括含有抗体或片段的细胞外部分和细胞内信号传导结构域。在一些实施方案中,抗体或片段包括scFv,并且细胞内结构域含有ITAM。在一些方面,所述细胞内信号传导结构域包括CD3-zeta (CD3 ζ) 链的 ζ 链的信号传导结构域。在一些实施方案中,嵌合抗原受体包括将细胞外结构域与细胞内信号传导结构域连接的跨膜结构域。在一些方面,跨膜结构域含有CD28的跨膜部分。在一些实施方案中,嵌合抗原受体含有T细胞共刺激分子的细胞内结构域。细胞外结构域和跨膜结构域可以直接或间接连接。在一些实施方案中,细胞外结构域和跨膜通过间隔子(如本文所述的任何间隔子)连接。在一些实施方案中,所述受体含有衍生出跨膜结构域的分子的细胞外部分,如CD28细胞外部分。在一些实施方案中,所述嵌合抗原受体含有衍生自T细胞共刺激分子的细胞内结构域或其功能变体,如位于跨膜结构域与细胞内信号传导结构域之间。在一些方面,T细胞共刺激分子是CD28或4-1BB。

[0721] 在一些实施方案中,抗原或抗原结合结构域是CD19。在一些实施方案中,scFv含有源自对CD19具特异性的抗体或抗体片段的V_H和V_L。在一些实施方案中,结合CD19的抗体或抗体片段是小鼠来源的抗体,如FMC63和SJ25C1。在一些实施方案中,抗体或抗体片段是人抗体,例如如美国专利公开号US 2016/0152723中所述。

[0722] 在一些实施方案中,scFv源自FMC63。FMC63通常是指针对人来源的表达CD19的Nalm-1和Nalm-16细胞产生的小鼠单克隆IgG1抗体(Ling,N.R.等人(1987).Leucocyte typing III.302)。在一些实施方案中,FMC63抗体包含分别在SEQ ID NO:38和39中所示的CDR-H1和CDR-H2,和SEQ ID NO:40或54中所示的CDR-H3;以及SEQ ID NO:35所示的CDR-L1和SEQ ID NO:36或55所示的CDR-L2和SEQ ID NO:37或34所示的CDR-L3。在一些实施方案中,FMC63抗体包含含有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的重链可变区(V_H)和含有SEQ ID NO:42的氨基酸序列的轻链可变区(V_L)。

[0723] 在一些实施方案中,scFv包含SEQ ID NO:35的CDR-L1序列、SEQ ID NO:36的CDR-L2序列和SEQ ID NO:37的CDR-L3序列的可变轻链和/或含有SEQ ID NO:38的CDR-H1序列、SEQ ID NO:39的CDR-H2序列和SEQ ID NO:40的CDR-H3序列的可变重链。在一些实施方案中,scFv包含SEQ ID NO:41所示的可变重链区和SEQ ID NO:42所示的可变轻链区。在一些实施方案中,所述可变重链和可变轻链通过接头连接。在一些实施方案中,接头如SEQ ID NO:56所示。在一些实施方案中,scFv依次包含V_H、接头和V_L。在一些实施方案中,scFv依次包含V_L、接头和V_H。在一些实施方案中,scFv由SEQ ID NO:57所示的核苷酸序列或展现出与SEQ ID NO:57至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的序列编码。在一些实施方案中,scFv包含SEQ ID NO:43所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO:43展现出至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的序列。

[0724] 在一些实施方案中,scFv源自SJ25C1。SJ25C1是针对人来源的表达CD19的Nalm-1和Nalm-16细胞产生的小鼠单克隆IgG1抗体(Ling,N.R.等人(1987).Leucocyte typing III.302)。在一些实施方案中,SJ25C1抗体包含分别在SEQ ID NO:47-49所示的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3,以及分别在SEQ ID NO:44-46所示的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3。在一些实施方案中,SJ25C1抗体包含含有SEQ ID NO:50的氨基酸序列的重链可变区(V_H)和含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的轻链可变区(V_L)。

[0725] 在一些实施方案中,scFv包含SEQ ID NO:44的CDR-L1序列、SEQ ID NO:45的CDR-L2序列和SEQ ID NO:46的CDR-L3序列的可变轻链和/或含有SEQ ID NO:47的CDR-H1序列、SEQ ID NO:48的CDR-H2序列和SEQ ID NO:49的CDR-H3序列的可变重链。在一些实施方案中,scFv包含SEQ ID NO:50所示的可变重链区和SEQ ID NO:51所示的可变轻链区。在一些实施方案中,可变重链和可变轻链通过接头连接。在一些实施方案中,接头如SEQ ID NO:52所示。在一些实施方案中,scFv依次包含V_H、接头和V_L。在一些实施方案中,scFv依次包含V_L、接头和V_H。在一些实施方案中,scFv包含SEQ ID NO:53所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO:53展现出至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的序列。

[0726] 在一些实施方案中,所述抗原是CD20。在一些实施方案中,scFv含有源自对CD20具特异性的抗体或抗体片段的V_H和V_L。在一些实施方案中,结合CD20的抗体或抗体片段是或源

自利妥昔单抗的抗体,例如是利妥昔单抗scFv。

[0727] 在一些实施方案中,所述抗原是CD22。在一些实施方案中,scFv含有源自对CD22具特异性的抗体或抗体片段的V_H和V_L。在一些实施方案中,结合CD22的抗体或抗体片段是或源自m971的抗体,例如是m971 scFv。

[0728] 在一些实施方案中,抗原或抗原结合结构域是BCMA。在一些实施方案中,scFv含有源自对BCMA具特异性的抗体或抗体片段的V_H和V_L。在一些实施方案中,结合BCMA的抗体或抗体片段是或含有来自国际专利申请公开号WO 2016/090327和WO 2016/090320中阐述的抗体或抗体片段的V_H和V_L。

[0729] 在一些实施方案中,抗原或抗原结合结构域是GPCR5D。在一些实施方案中,scFv含有源自对GPCR5D具特异性的抗体或抗体片段的V_H和V_L。在一些实施方案中,结合GPCR5D的抗体或抗体片段是或含有来自国际专利申请公开号WO 2016/090329和WO 2016/090312中阐述的抗体或抗体片段的V_H和V_L。

[0730] 例如,在一些实施方案中,所述CAR含有抗体(例如,抗体片段)、是或含有CD28或其功能变体的跨膜部分的跨膜结构域、以及含有CD28的信号传导部分或其功能变体和CD3 ζ 的信号传导部分或其功能变体的细胞内信号传导结构域。在一些实施方案中,CAR含有抗体(例如,抗体片段)、跨膜结构域(其是或含有CD28的跨膜部分或其功能变体)以及含有4-1BB的信号传导部分或其功能变体和CD3 ζ 的信号传导部分或其功能变体的细胞内信号传导结构域。在一些此类实施方案中,受体还包括含有Ig分子(如人Ig分子)的一部分(如Ig铰链,例如IgG4铰链)的间隔子,如仅铰链间隔子。

[0731] 在一些实施方案中,重组受体(例如CAR)的跨膜结构域是或包括人CD28(例如登录号P01747.1)的跨膜结构域或其变体,如以下跨膜结构域,所述跨膜结构域包含SEQ ID NO:8所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO:8展现出至少或至少约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高序列同一性的氨基酸序列;在一些实施方案中,重组受体中含有跨膜结构域的部分包含SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列或与其具有至少或至少约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高序列同一性的氨基酸序列,或如人CD28的27个氨基酸的跨膜结构域。

[0732] 在一些实施方案中,嵌合抗原受体含有T细胞共刺激分子的细胞内结构域。在一些方面,T细胞共刺激分子是CD28或4-1BB。

[0733] 在一些实施方案中,重组受体(例如,CAR)的一个或多个细胞内信号传导结构域、区域或组分含有人CD28的细胞内共刺激信号传导结构域或其功能变体或部分,例如在天然CD28蛋白的位置186-187具有LL至GG取代的结构域。例如,在一些实施方案中,细胞内信号传导结构域或区域可以包含SEQ ID NO:10或11所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO:10或11展现出至少或至少约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,细胞内结构域或区域包含4-1BB(例如,登录号Q07011.1)的细胞内共刺激信号传导结构域或区域或其功能变体或部分,如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO:12展现出至少或至少约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高序列同一性的氨基酸序列,或如人4-1BB的42个氨基酸的胞质结构域。

[0734] 在一些实施方案中,重组受体(例如,CAR)的细胞内信号传导结构域或区域包含人CD3 ζ 链,任选 ζ 刺激性信号传导结构域或区域或其功能变体,例如人CD3 ζ 的同种型3的112个AA的胞质结构域或区域(登录号:P20963.2)或如美国专利号7,446,190或美国专利号8,911,993中所述的CD3 ζ 信号传导结构域或区域。例如,在一些实施方案中,细胞内信号传导结构域或区域包含如SEQ ID NO:13、14或15所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO:13、14或15展现出至少或至少约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高序列同一性的氨基酸序列。

[0735] 在一些方面,所述间隔子仅含有IgG的铰链区,如仅IgG4或IgG1的铰链,如SEQ ID NO:1所示的仅铰链间隔子。在其他实施方案中,间隔子是或含有Ig铰链,例如,IgG4源铰链,其任选地连接至C_H2和/或C_H3结构域。在一些实施方案中,间隔子是与C_H2和C_H3结构域连接的Ig铰链,例如IgG4铰链,如SEQ ID NO:4所示。在一些实施方案中,间隔子是仅与C_H3结构域连接的Ig铰链,例如IgG4铰链,如SEQ ID NO:3所示。在一些实施方案中,所述间隔子是或包含富甘氨酸-丝氨酸的序列或其他柔性接头,如已知的柔性接头。

[0736] 例如,在一些实施方案中,CAR包括抗体(如抗体片段,包括scFv)、间隔子(如含有免疫球蛋白分子的一部分(如铰链区和/或重链分子的一个或多个恒定区)的间隔子,如含有Ig铰链的间隔子)、含有CD28衍生的跨膜结构域的全部或部分的跨膜结构域、CD28衍生的细胞内信号传导结构域和CD3 ζ 信号传导结构域。在一些实施方案中,CAR包括抗体或片段(如scFv)、间隔子(如任何含有Ig铰链的间隔子)、CD28衍生的跨膜结构域、4-1BB衍生的细胞内信号传导结构域和CD3 ζ 衍生的信号传导结构域。

[0737] 在一些实施方案中,编码此类CAR构建体的核酸分子例如在编码CAR的序列的下游还包括编码T2A核糖体跳跃元件的序列和/或tEGFR序列。在一些实施方案中,所述序列编码SEQ ID NO:6或17所示的T2A核糖体跳跃元件,或与SEQ ID NO:6或17展现出至少或至少约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,还可以产生表达抗原受体(例如CAR)的T细胞以表达作为非免疫原性选择表位的截短EGFR(EGFRt)(例如通过引入编码被T2A核糖体开关隔开的CAR和EGFRt以从相同构建体表达两种蛋白质的构建体),然后所述非免疫原性选择表位可以用作检测此类细胞的标记(参见例如美国专利号8,802,374)。在一些实施方案中,所述序列编码SEQ ID NO:7或16所示的tEGFR序列,或与SEQ ID NO:7或16展现出至少或至少约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高序列同一性的氨基酸序列。

[0738] 由给予至受试者的细胞表达的重组受体(如CAR)通常识别或特异性结合至在所治疗的疾病或病症或其细胞中表达、与所治疗的疾病或病症或其细胞相关和/或为所治疗的疾病或病症或其细胞特有的分子。在与分子例如抗原特异性结合后,受体通常将免疫刺激信号(如ITAM转导的信号)递送到细胞中,从而促进靶向所述疾病或病症的免疫应答。例如,在一些实施方案中,细胞表达CAR,所述CAR特异性地结合至由疾病或病症的细胞或组织表达或与所述疾病或病症相关的抗原。

[0739] 2.T细胞受体(TCR)

[0740] 在一些实施方案中,提供了工程化细胞(如T细胞),其表达识别靶多肽(如肿瘤、病毒或自身免疫蛋白的抗原)的肽表位或T细胞表位的T细胞受体(TCR)或其抗原结合部分。

[0741] 在一些实施方案中,“T细胞受体”或“TCR”是含有可变 α 和 β 链(也分别称为TCR α 和TCR β)或可变 γ 和 δ 链(也分别称为TCR α 和TCR β)的分子或其抗原结合部分,并且所述分子或其抗原结合部分能够与结合至MHC分子的肽特异性地结合。在一些实施方案中,所述TCR呈 $\alpha\beta$ 形式。通常,以 $\alpha\beta$ 和 $\gamma\delta$ 形式存在的TCR在结构上总体上相似,但是表达它们的T细胞可以具有不同的解剖学位置或功能。TCR可以在细胞表面上发现或以可溶形式发现。通常,在T细胞(或T淋巴细胞)的表面上发现TCR,在此处它通常负责识别与主要组织相容性复合物(MHC)分子结合的抗原。

[0742] 除非另有说明,否则术语“TCR”应当理解为涵盖完整的TCR以及其抗原结合部分或抗原结合片段。在一些实施方案中,所述TCR是完整或全长TCR,包括呈 $\alpha\beta$ 形式或 $\gamma\delta$ 形式的TCR。在一些实施方案中,TCR是这样的抗原结合部分,其少于全长TCR但与在MHC分子中结合的特定肽结合,如与MHC-肽复合物结合。在一些情况下,TCR的抗原结合部分或片段可以仅含有全长或完整TCR的结构性结构域的一部分,但是仍能够结合与完整TCR结合的肽表位(如MHC-肽复合物)。在一些情况下,抗原结合部分含有TCR的可变结构域(如TCR的可变 α 链和可变 β 链),足以形成用于与特定MHC-肽复合物结合的结合位点。通常,TCR的可变链含有参与对肽、MHC和/或MHC-肽复合物的识别的互补决定区。

[0743] 在一些实施方案中,TCR的可变结构域含有超变环或互补决定区(CDR),其通常是抗原识别和结合能力和特异性的主要贡献者。在一些实施方案中,TCR的CDR或其组合形成给定TCR分子的全部或基本上全部的抗原结合位点。TCR链的可变区内的各个CDR通常由框架区(FR)隔开,与CDR相比,所述框架区通常在TCR分子之间展示较低可变性(参见例如Jores等人,Proc.Nat'l Acad.Sci.U.S.A.87:9138,1990;Chothia等人,EMBO J.7:3745,1988;还参见Lefranc等人,Dev.Comp.Immunol.27:55,2003)。在一些实施方案中,CDR3是负责抗原结合或特异性的主要CDR,或者在给定TCR可变区上在三个CDR中对于抗原识别和/或对于与肽-MHC复合物的经加工肽部分的相互作用最重要。在一些背景下, α 链的CDR1可以与某些抗原肽的N末端部分相互作用。在一些背景下, β 链的CDR1可以与肽的C末端部分相互作用。在一些背景下,CDR2对与MHC-肽复合物的MHC部分的相互作用或识别具有最强的作用或者是主要的负责CDR。在一些实施方案中, β 链的可变区可以含有其他高变区(CDR4或HVR4),其通常参与超抗原结合而非抗原识别(Kotb(1995)Clinical Microbiology Reviews,8:411-426)。

[0744] 在一些实施方案中,TCR还可以含有恒定结构域、跨膜结构域和/或短胞质尾区(参见例如Janeway等人,Immunobiology:The Immune System in Health and Disease,第3版,Current Biology Publications,p.4:33,1997)。在一些方面,TCR的每条链可以具有一个N末端免疫球蛋白可变结构域、一个免疫球蛋白恒定结构域、跨膜区和位于C末端的短胞质尾。在一些实施方案中,TCR与参与介导信号转导的CD3复合物的不变蛋白质缔合。

[0745] 在一些实施方案中,TCR链含有一个或多个恒定结构域。例如,给定TCR链(例如, α 链或 β 链)的细胞外部分可以含有与细胞膜相邻的两个免疫球蛋白样结构域,例如可变结构域(例如,V α 或V β ;通常基于Kabat编号的氨基酸1至116,Kabat等人,“Sequences of Proteins of Immunological Interest”,US Dept.Health and Human Services,Public Health Service National Institutes of Health,1991,第5版)和恒定结构域(例如, α 链恒定域或C α ,通常基于Kabat编号的位置117至259,或 β 链恒定结构域或C β ,通常基于Kabat

的链的位置117至295)。例如,在一些情况下,由两条链形成的TCR的细胞外部分含有两个膜近端恒定结构域和两个膜远端可变结构域,所述可变结构域各自含有CDR。TCR的恒定结构域可以含有短连接序列,其中半胱氨酸残基形成二硫键,从而连接TCR的两条链。在一些实施方案中,TCR可以在 α 链和 β 链中的每一个中具有另外的半胱氨酸残基,使得TCR在恒定结构域中含有两个二硫键。

[0746] 在一些实施方案中,TCR链含有跨膜结构域。在一些实施方案中,所述跨膜结构域带正电荷。在一些情况下,TCR链含有胞质尾。在一些情况下,所述结构允许TCR与其他分子(像CD3)及其亚基缔合。例如,含有恒定结构域与跨膜区的TCR可以将蛋白质锚定在细胞膜中并与CD3信号传导设备或复合物的不变亚基缔合。CD3信号传导亚基(例如,CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 和CD3 ζ 链)的细胞内尾含有TCR复合物的信号传导能力中所涉及的一个或多个基于免疫受体酪氨酸的激活基序或ITAM。

[0747] 在一些实施方案中,TCR可以是两条链 α 和 β (或者任选地 γ 和 δ)的异二聚体,或者它可以是单链TCR构建体。在一些实施方案中,TCR是含有如通过一个或多个二硫键连接的两条单独链(α 和 β 链或 γ 和 δ 链)的异二聚体。

[0748] 在一些实施方案中,TCR可以从一个或多个已知的TCR序列(如V α 、V β 链的序列)产生,所述一个或多个已知的TCR序列的基本上全长的编码序列是容易获得的。用于从细胞来源获得全长TCR序列(包括V链序列)的方法是熟知的。在一些实施方案中,编码TCR的核酸可以从多种来源获得,如通过一种或多种给定细胞内的或从所述一种或多种给定细胞中分离的编码TCR的核酸的聚合酶链式反应(PCR)扩增获得,或者通过公众可获得的TCR DNA序列的合成获得。

[0749] 在一些实施方案中,TCR是从生物来源获得,如来自细胞(如来自T细胞(例如细胞毒性T细胞))、T细胞杂交瘤或其他公众可获得的来源。在一些实施方案中,T细胞可以从体内分离的细胞获得。在一些实施方案中,TCR是胸腺选择的TCR。在一些实施方案中,TCR是新表位限制性TCR。在一些实施方案中,T细胞可以是经培养的T细胞杂交瘤或克隆。在一些实施方案中,TCR或其抗原结合部分可以从TCR序列的知识合成地产生。

[0750] 在一些实施方案中,TCR是从通过针对靶多肽抗原或其靶T细胞表位筛选候选TCR文库而鉴定或选择的TCR产生的。TCR文库可以通过扩增来自T细胞的V α 和V β 库来产生,所述T细胞是从受试者分离,包括存在于PBMC、脾或其他淋巴器官中的细胞。在一些情况下,T细胞可以从肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)扩增。在一些实施方案中,TCR文库可以从CD4 $^{+}$ 或CD8 $^{+}$ 细胞产生。在一些实施方案中,TCR可以从正常或健康受试者的T细胞来源扩增,即正常TCR文库。在一些实施方案中,TCR可以从患病受试者的T细胞来源扩增,即患病TCR文库。在一些实施方案中,使用简并引物扩增V α 和V β 的基因库,如在从人获得的样品(如T细胞)中通过RT-PCR扩增。在一些实施方案中,scTv文库可以从天然V α 和V β 文库组装,其中经扩增的产物被克隆或组装以通过接头隔开。根据受试者和细胞的来源,所述文库可以是HLA等位基因特异性的。可替代地,在一些实施方案中,TCR文库可以通过亲本或支架TCR分子的诱变或多样化产生。在一些方面,使TCR经历例如 α 或 β 链的定向进化,如通过诱变来进行。在一些方面,TCR的CDR内的特定残基被改变。在一些实施方案中,可以通过亲和力成熟来修饰经选择的TCR。在一些实施方案中,可以如通过筛选以评估针对肽的CTL活性来选择抗原特异性T细胞。在一些方面,可以选择例如存在于抗原特异性T细胞上的TCR,如通过结合活性,例如对抗原的

特定亲和力或亲合力来选择。

[0751] 在一些实施方案中,基因工程化的抗原受体包括从天然存在的T细胞克隆的重组T细胞受体(TCR)和/或TCR。在一些实施方案中,从患者鉴定、分离靶抗原(例如,癌抗原)的高亲和力T细胞克隆,并将其引入细胞中。在一些实施方案中,已经在用人免疫系统基因(例如,人白细胞抗原系统或HLA)工程化的转基因小鼠中产生针对靶抗原的TCR克隆。参见例如肿瘤抗原(参见例如Parkhurst等人(2009) Clin Cancer Res.15:169-180和Cohen等人(2005) J Immunol.175:5799-5808)。在一些实施方案中,使用噬菌体展示来分离针对靶抗原的TCR(参见例如Varela-Rohena等人(2008) Nat Med.14:1390-1395和Li(2005) Nat Biotechnol.23:349-354)。

[0752] 在一些实施方案中,TCR或其抗原结合部分是已修饰或工程化的TCR或其抗原结合部分。在一些实施方案中,使用定向进化方法来产生具有改变的特性(如对特定MHC-肽复合物具有较高亲和力)的TCR。在一些实施方案中,通过展示方法实现定向进化,所述展示方法包括但不限于酵母展示(Holler等人(2003) Nat Immunol,4,55-62;Holler等人(2000) Proc Natl Acad Sci U S A,97,5387-92)、噬菌体展示(Li等人(2005) Nat Biotechnol,23,349-54)或T细胞展示(Chervin等人(2008) J Immunol Methods,339,175-84)。在一些实施方案中,展示途径涉及工程化或修饰已知的亲本或参考TCR。例如,在一些情况下,野生型TCR可以用作模板以用于产生经诱变的TCR,其中CDR的一个或多个残基被突变,并且选择具有所需改变的特性(如对所需靶抗原具有更高的亲和力)的突变体。

[0753] 在一些实施方案中,用于产生或生成目标TCR的靶多肽的肽是已知的或可以由熟练技术人员容易地鉴定。在一些实施方案中,适用于产生TCR或抗原结合部分的肽可以基于目标靶多肽(如下文所述的靶多肽)中HLA限制性基序的存在来确定。在一些实施方案中,使用本领域技术人员已知的计算机预测模型鉴定肽。在一些实施方案中,对于预测MHC I类结合位点,此类模型包括但不限于ProPred1(Singh和Raghava(2001) Bioinformatics 17(12):1236-1237)以及SYFPEITHI(参见Schuler等人(2007) Immunoinformatics Methods in Molecular Biology,409(1):75-93 2007)。在一些实施方案中,MHC限制性表位是HLA-A0201,其在所有高加索人的大约39%-46%中表达,并且因此代表用于制备TCR或其他MHC-肽结合分子的MHC抗原的合适选择。

[0754] 使用计算机预测模型的HLA-A0201结合基序以及蛋白酶体和免疫蛋白酶体的切割位点是本领域技术人员已知的。用于预测MHC I类结合位点的此类模型包括但不限于ProPred1(更详细地描述于Singh和Raghava,ProPred:prediction of HLA-DR binding sites.BIOINFORMATICS 17(12):1236-12372001)和SYFPEITHI(参见Schuler等人SYFPEITHI,Database for Searching and T-Cell Epitope Prediction., Immunoinformatics Methods in Molecular Biology,第409卷(1):75-93 2007)

[0755] 在一些实施方案中,TCR或其抗原结合部分可以是重组产生的天然蛋白或其突变形式,其中一种或多种特性(如结合特征)已发生改变。在一些实施方案中,TCR可以源自多个动物物种之一,如人、小鼠、大鼠或其他哺乳动物。TCR可以是细胞结合的或呈可溶形式。在一些实施方案中,出于所提供的方法的目的,TCR呈在细胞表面上表达的细胞结合形式。

[0756] 在一些实施方案中,TCR是全长TCR。在一些实施方案中,TCR是抗原结合部分。在一些实施方案中,TCR是二聚体TCR(dTCR)。在一些实施方案中,TCR是单链TCR(sc-TCR)。在一

些实施方案中,dTCR或scTCR具有如WO 03/020763、WO 04/033685、WO 2011/044186中所述的结构。

[0757] 在一些实施方案中,TCR含有对应于跨膜序列的序列。在一些实施方案中,TCR确实含有对应于胞质序列的序列。在一些实施方案中,TCR能够形成与CD3的TCR复合物。在一些实施方案中,任何TCR(包括dTCR或scTCR)可以与信号传导结构域连接,从而在T细胞表面上产生活性TCR。在一些实施方案中,TCR在细胞表面上表达。

[0758] 在一些实施方案中,dTCR含有第一多肽(其中对应于TCR α 链可变区序列的序列与对应于TCR α 链恒定区细胞外序列的序列的N末端融合)和第二多肽(其中对应于TCR β 链可变区序列的序列与对应于TCR β 链恒定区细胞外序列的序列的N末端融合),所述第一和第二多肽通过二硫键连接。在一些实施方案中,所述键可以对应于天然二聚体 $\alpha\beta$ TCR中存在的天然链间二硫键。在一些实施方案中,链间二硫键不存在于天然TCR中。例如,在一些实施方案中,可以将一个或多个半胱氨酸掺入dTCR多肽对的恒定区细胞外序列中。在一些情况下,可能需要天然和非天然二硫键两者。在一些实施方案中,TCR含有跨膜序列以锚定至膜。

[0759] 在一些实施方案中,dTCR含有TCR α 链,所述TCR α 链含有可变 α 结构域、恒定 α 结构域和附接于恒定 α 结构域C末端的第一二聚化基序;以及TCR β 链,所述TCR β 链包含可变 β 结构域、恒定 β 结构域和附接于恒定 β 结构域C末端的第一二聚化基序,其中所述第一和第二二聚化基序易于相互作用以在第一二聚化基序的氨基酸与第二二聚化基序的氨基酸之间形成共价键,从而将TCR α 链与TCR β 链连接在一起。

[0760] 在一些实施方案中,TCR是scTCR。通常,可以使用本领域技术人员已知的方法产生scTCR,参见例如Soo Hoo, W.F.等人PNAS (USA) 89, 4759 (1992); Wülfing, C.和Plückthun, A., J.Mol.Biol. 242, 655 (1994); Kurucz, I.等人PNAS (USA) 90 3830 (1993); 国际公开PCT号WO 96/13593、WO 96/18105、WO 99/60120、WO 99/18129、WO 03/020763、WO 2011/044186; 和Schlueter, C.J.等人J.Mol.Biol. 256, 859 (1996)。在一些实施方案中,scTCR含有引入的非天然链间二硫键以促进TCR链的缔合(参见例如,国际公开PCT号WO 03/020763)。在一些实施方案中,scTCR是非二硫键连接的截短的TCR,其中与其C末端融合的异源亮氨酸拉链促进链缔合(参见例如国际公开PCT号WO 99/60120)。在一些实施方案中,scTCR含有通过肽接头与TCR β 可变结构域共价连接的TCR α 可变结构域(参见例如,国际公开PCT号WO 99/18129)。

[0761] 在一些实施方案中,scTCR含有第一区段(其由对应于TCR α 链可变区的氨基酸序列构成)、第二区段(其由与对应于TCR β 链恒定结构域细胞外序列的氨基酸序列的N末端融合的对应该于TCR β 链可变区序列的氨基酸序列构成)和接头序列(其将第一区段的C末端连接至第二区段的N末端)。

[0762] 在一些实施方案中,scTCR含有第一区段(其由与 α 链细胞外恒定结构域序列的N末端融合的 α 链可变区序列构成)和第二区段(其由与序列 β 链细胞外恒定和跨膜序列的N末端融合的 β 链可变区序列构成)以及任选地接头序列(其将第一区段的C末端连接至第二区段的N末端)。

[0763] 在一些实施方案中,scTCR含有第一区段(其由与 β 链细胞外恒定结构域序列的N末端融合的TCR β 链可变区序列构成)和第二区段(其由与序列 α 链细胞外恒定和跨膜序列的N末端融合的 α 链可变区序列构成)以及任选地接头序列(其将第一区段的C末端连接至第二

区段的N末端)。

[0764] 在一些实施方案中,scTCR的连接第一和第二TCR区段的接头可以是能够在保留TCR结合特异性的同时形成单条多肽链的任何接头。在一些实施方案中,接头序列可以例如具有式-P-AA-P-,其中P是脯氨酸并且AA代表氨基酸序列,其中氨基酸是甘氨酸和丝氨酸。在一些实施方案中,第一和第二区段配对,使得其可变区序列定向用于这种结合。因此,在一些情况下,接头具有足够的长度以跨越第一区段的C末端与第二区段的N末端之间的距离,或反之亦然,但是不能太长而阻断或减少scTCR与靶配体的结合。在一些实施方案中,接头可以含有从或从约10至45个氨基酸,如10至30个氨基酸或26至41个氨基酸残基,例如29、30、31或32个氨基酸。在一些实施方案中,所述接头具有式-PGGG-(SGGGG)₅-P-,其中P是脯氨酸,G是甘氨酸,并且S是丝氨酸(SEQ ID NO:22)。在一些实施方案中,所述接头具有序列GSADDAKKDAAKKDGKS(SEQ ID NO:23)

[0765] 在一些实施方案中,scTCR含有共价二硫键,其将 α 链的恒定结构域的免疫球蛋白区域的残基连接至 β 链的恒定结构域的免疫球蛋白区域的残基。在一些实施方案中,天然TCR中不存在链间二硫键。例如,在一些实施方案中,可以将一个或多个半胱氨酸掺入scTCR多肽的第一和第二区段的恒定区细胞外序列中。在一些情况下,可能需要天然和非天然二硫键两者。

[0766] 在dTCR或scTCR含有引入的链间二硫键的一些实施方案中,不存在天然二硫键。在一些实施方案中,形成天然链间二硫键的一个或多个天然半胱氨酸被取代为另一种残基,如丝氨酸或丙氨酸。在一些实施方案中,引入的二硫键可以通过使第一和第二区段上的非半胱氨酸残基突变为半胱氨酸来形成。TCR的示例性非天然二硫键描述于已公开的国际PCT号WO 2006/000830中。

[0767] 在一些实施方案中,TCR或其抗原结合片段对靶抗原以平衡结合常数展现出亲和力,所述平衡结合常数介于或介于约 10^{-5} 与 10^{-12} M之间以及其中的所有单独值和范围。在一些实施方案中,靶抗原是MHC-肽复合物或配体。

[0768] 在一些实施方案中,编码TCR(如 α 和 β 链)的一种或多种核酸可以通过PCR、克隆或其他合适的手段扩增,并且克隆到一种或多种合适的表达载体中。表达载体可以是任何合适的重组表达载体,并且可以用于转化或转染任何合适的宿主。合适的载体包括设计用于繁殖和扩增或用于表达或用于两者的那些,如质粒和病毒。

[0769] 在一些实施方案中,载体可以是以下系列的载体:pUC系列(Fermentas Life Sciences)、pBluescript系列(Stratagene,加利福尼亚州拉霍亚)、pET系列(Novagen,威斯康星州麦迪逊)、pGEX系列(Pharmacia Biotech,瑞典乌普萨拉)或pEX系列(Clontech,加利福尼亚州帕洛阿尔托)。在一些情况下,也可以使用噬菌体载体,如 λ G10、 λ GT11、 λ ZapII(Stratagene)、 λ EMBL4和 λ NM1149。在一些实施方案中,可以使用植物表达载体,并且包括pBI01、pBI101.2、pBI101.3、pBI121和pBIN19(Clontech)。在一些实施方案中,动物表达载体包括pEUK-C1、pMAM和pMAMneo(Clontech)。在一些实施方案中,使用病毒载体,如逆转录病毒载体。

[0770] 在一些实施方案中,重组表达载体可以使用标准的重组DNA技术来制备。在一些实施方案中,载体可以含有调节序列,如转录和翻译起始和终止密码子,其对引入载体的宿主(例如,细菌、真菌,植物或动物)的类型具特异性,酌情并考虑所述载体是基于DNA还是基于

RNA。在一些实施方案中,载体可以含有非天然启动子,其与编码TCR或抗原结合部分(或其他MHC-肽结合分子)的核苷酸序列可操作地连接。在一些实施方案中,启动子可以是非病毒启动子或病毒启动子,如巨细胞病毒(CMV)启动子、SV40启动子、RSV启动子和在鼠干细胞病毒的长末端重复序列中发现的启动子。也考虑了熟练技术人员已知的其他启动子。

[0771] 在一些实施方案中,在获得T细胞克隆后,将TCR α 和 β 链分离并克隆到基因表达载体中。在一些实施方案中,TCR α 和 β 基因通过小核糖核酸病毒2A核糖体跳跃肽连接,使得两条链共表达。在一些实施方案中,TCR的遗传转移是通过逆转录病毒或慢病毒载体或通过转座子完成(参见例如Baum等人(2006) *Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy*.13:1050-1063;Frecha等人(2010) *Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy*.18:1748-1757;和Hackett等人(2010) *Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy*.18:674-683)。

[0772] 在一些实施方案中,为了产生编码TCR的载体,将 α 和 β 链从表达目标TCR的T细胞克隆中分离的总cDNA进行PCR扩增,并且将其克隆到表达载体中。在一些实施方案中,将 α 和 β 链克隆到同一载体中。在一些实施方案中,将 α 和 β 链克隆到不同的载体中。在一些实施方案中,将所产生的 α 和 β 链掺入逆转录病毒(例如,慢病毒)载体中。

[0773] 3. 嵌合自身抗体受体(CAAR)

[0774] 在一些实施方案中,重组受体是嵌合自身抗体受体(CAAR)。在一些实施方案中,CAAR对自身抗体具有特异性。在一些实施方案中,表达CAAR的细胞(如工程化以表达CAAR的T细胞)可以用于特异性地结合并杀伤表达自身抗体的细胞,但不杀伤表达正常抗体的细胞。在一些实施方案中,表达CAAR的细胞可以用于治疗与自身抗原的表达相关的自身免疫性疾病,如自身免疫性疾病。在一些实施方案中,表达CAAR的细胞可以靶向最终产生自身抗体并在其细胞表面上展示自身抗体的B细胞,将这些B细胞标记为用于治疗干预的疾病特异性靶标。在一些实施方案中,表达CAAR的细胞可以用于通过使用抗原特异性嵌合自身抗体受体靶向引起疾病的B细胞,有效靶向和杀伤自身免疫性疾病中的致病性B细胞。在一些实施方案中,重组受体是CAAR,如美国专利申请公开号US 2017/0051035中所述的任何一种。

[0775] 在一些实施方案中,CAAR包含自身抗体结合结构域、跨膜结构域和细胞内信号传导区。在一些实施方案中,细胞内信号传导区包含细胞内信号传导结构域。在一些实施方案中,细胞内信号传导结构域是或包含初级信号传导结构域、能够在T细胞中诱导初级激活信号的信号传导结构域、T细胞受体(TCR)组分的信号传导结构域和/或包含基于免疫受体酪氨酸的激活基序(ITAM)的信号传导结构域。在一些实施方案中,细胞内信号传导区包含次级或共刺激信号传导区(次级细胞内信号传导区)。

[0776] 在一些实施方案中,自身抗体结合结构域包含自身抗原或其片段。自身抗原的选择可以取决于所靶向的自身抗体的类型。例如,可以因为自身抗原识别与特定疾病状态(例如自身免疫性疾病,如自身抗体介导的自身免疫性疾病)相关的靶细胞(如B细胞)上的自身抗体而选择所述自身抗原。在一些实施方案中,自身免疫性疾病包括寻常型天疱疮(PV)。示例性自身抗原包括桥粒芯糖蛋白1(Dsg1)和Dsg3。

[0777] 4. 多靶向

[0778] 在一些实施方案中,所述细胞和方法包括多靶向策略,如在细胞上表达两种或更

多种基因工程化受体,每种受体识别相同或不同的抗原,并且通常各自包括不同的细胞内信号传导组分。此类多靶向策略描述于例如以下文献中:国际专利申请公开号:W0 2014055668A1 (描述激活和共刺激CAR的组合,例如,靶向单独存在于靶(例如正常细胞)上,但仅一起存在于待治疗疾病或病症的细胞上的两种不同抗原)和Fedorov等人, Sci. Transl. Medicine, 5 (215) (2013) (描述了表达激活和抑制性CAR的细胞,例如其中激活CAR结合同时正常或非患病细胞和待治疗疾病或病症的细胞上表达的一种抗原,并且抑制性CAR结合仅在正常细胞或不希望治疗的细胞上表达的另一种抗原的那些细胞)。

[0779] 例如,在一些实施方案中,细胞包括表达第一基因工程化抗原受体(例如,CAR或TCR)的受体,其通常在与由第一受体识别的抗原(例如,第一抗原)特异性地结合后能够诱导激活或刺激信号至所述细胞。在一些实施方案中,细胞还包括第二基因工程化抗原受体(例如,CAR或TCR),例如嵌合共刺激受体,所述受体通常在与由第二受体识别的第二抗原特异性结合后,能够将共刺激信号诱导至免疫细胞。在一些实施方案中,第一抗原与第二抗原相同的。在一些实施方案中,第一抗原与第二抗原是不同的。

[0780] 在一些实施方案中,第一和/或第二基因工程化抗原受体(例如CAR或TCR)能够诱导激活信号至所述细胞。在一些实施方案中,受体包括含有ITAM或ITAM样基序的细胞内信号传导组分。在一些实施方案中,由第一受体诱导的激活涉及信号转导或细胞中蛋白质表达的变化,从而导致免疫应答(如ITAM磷酸化)的起始和/或ITAM介导的信号转导级联的起始、免疫突触的形成和/或所结合受体(例如CD4或CD8等)附近的分子的聚簇、一种或多种转录因子(如NF- κ B和/或AP-1)的激活和/或对诸如细胞因子等因子的基因表达的诱导、增殖和/或存活。

[0781] 在一些实施方案中,第一和/或第二受体包括共刺激受体(如CD28、CD137 (4-1BB)、OX40和/或ICOS)的细胞内信号传导结构域或区域。在一些实施方案中,第一和第二受体包括不同的共刺激受体的细胞内信号传导结构域。在一个实施方案中,第一受体含有CD28共刺激信号传导区,并且第二受体含有4-1BB共刺激信号传导区,或反之亦然。

[0782] 在一些实施方案中,第一和/或第二受体包括含有ITAM或ITAM样基序的细胞内信号传导结构域和共刺激受体的细胞内信号传导结构域两者。

[0783] 在一些实施方案中,第一受体含有包含ITAM或ITAM样基序的细胞内信号传导结构域,并且第二受体含有共刺激受体的细胞内信号传导结构域。与在相同细胞中诱导的激活信号组合的共刺激信号是导致免疫应答的共刺激信号,所述免疫应答是例如稳健且持续的免疫应答,如增加的基因表达、细胞因子和其他因子的分泌、以及T细胞介导的效应子功能(如细胞杀伤)。

[0784] 在一些实施方案中,仅第一受体的连接和仅第二受体的连接都不会诱导稳健的免疫应答。在一些方面,如果仅连接一个受体,则细胞变得耐受抗原或对抗原无应答,或被抑制,和/或不被诱导增殖或分泌因子或实现效应子功能。然而,在一些此类实施方案中,在连接所述多种受体时,如在遇到表达第一和第二抗原的细胞时,实现所需反应,如完全免疫激活或刺激,例如通过一种或多种细胞因子的分泌、增殖、持久性和/或实施免疫效应子功能(如对靶细胞的细胞毒性杀伤)所指示。

[0785] 在一些实施方案中,两种受体分别将激活和抑制信号诱导至细胞,使得一种受体与其抗原的结合激活细胞或诱导应答,但是第二抑制性受体与其抗原的结合诱导了抑制或

减弱所述应答的信号。例子是激活CAR与抑制性CAR或iCAR的组合。例如,可以使用这种策略,其中激活CAR结合在疾病或病症中表达但也在正常细胞上表达的抗原,并且抑制性受体结合至在正常细胞上表达但不在疾病或病症的细胞上表达的单独抗原。

[0786] 在一些实施方案中,多靶向策略用于如下情况,其中与特定疾病或病症相关的抗原是瞬时地(例如,在刺激与基因工程结合后)或永久地在未患病细胞上表达和/或在工程化细胞本身上表达。在此类情况下,通过需要连接两个分开的和单独特异性抗原受体,可以改善特异性、选择性和/或功效。

[0787] 在一些实施方案中,所述多种抗原(例如,第一和第二抗原)在所靶向的细胞、组织或者疾病或病症上(如在癌细胞上)表达。在一些方面,细胞、组织、疾病或病症是多发性骨髓瘤或多发性骨髓瘤细胞。在一些实施方案中,所述多种抗原中的一种或多种通常也在不需要用细胞疗法靶向的细胞(如正常或未患病细胞或组织)和/或工程化细胞本身上表达。在此类实施方案中,通过需要连接多种受体以实现细胞的反应,实现特异性和/或功效。

[0788] B. 用于基因工程的载体和方法

[0789] 用于引入基因工程化组分例如重组受体(例如CAR或TCR)的各种方法是熟知的,并且可以与所提供的方法和组合物一起使用。示例性方法包括用于转移编码受体的核酸的那些,包括通过病毒(如逆转录病毒或慢病毒)、转导、转座子和电穿孔来进行。

[0790] 在一些实施方案中,通过以下方式完成基因转移:首先刺激细胞,如通过将其与诱导应答(如增殖、存活和/或激活,例如如通过细胞因子或激活标记的表达测量的)的刺激物进行组合,然后转导激活的细胞,并且在培养中扩增至足以用于临床应用的数目。

[0791] 在一些实施方案中,使用重组感染性病毒颗粒(例如像源自猿猴病毒40(SV40)、腺病毒、腺相关病毒(AAV)的载体)将重组核酸转移到细胞中。在一些实施方案中,使用重组慢病毒载体或逆转录病毒载体(如 γ -逆转录病毒载体)将重组核酸转移到T细胞中(参见例如Koste等人Gene Therapy doi:10.1038/gt.2014.25(2014);Carlens等人Exp Hematol.,28(10):1137-46(2000);Alonso-Camino等人Mol Ther Nucl Acids,2,e93(2013);Park等人,Trends Biotechnol.,11月29(11):550-557(2011))。

[0792] 在一些实施方案中,逆转录病毒载体具有长末端重复序列(LTR),例如源自莫洛尼鼠白血病病毒(MoMLV)、骨髓增生性肉瘤病毒(MPSV)、鼠胚胎干细胞病毒(MESV)、鼠干细胞病毒(MSCV)、或脾病灶形成病毒(SFFV)的逆转录病毒载体。大多数逆转录病毒载体衍生自鼠逆转录病毒。在一些实施方案中,逆转录病毒包括源自任何禽类或哺乳动物细胞来源的那些。逆转录病毒通常是双嗜性的,这意味着它们能够感染包括人在内的若干种物种的宿主细胞。在一个实施方案中,待表达的基因替代逆转录病毒gag、pol和/或env序列。已经描述了许多示例性逆转录病毒系统(例如,美国专利号5,219,740;6,207,453;5,219,740;Miller和Rosman,BioTechniques,7:980-990(1989);Miller,A.D.Human Gene Therapy,1:5-14(1990);Scarpa等人Virology,180:849-852(1991);Burns等人Proc.Natl.Acad.Sci.USA,90:8033-8037(1993);以及Boris-Lawrie和Temin,Cur.Opin.Genet.Develop.,3:102-109(1993))。

[0793] 慢病毒转导的方法是已知的。示例性方法描述于例如以下文献中:Wan g等人,J.Immunother.,35(9):689-701(2012);Cooper等人Blood.101:1637-1644(2003);Verhoeven等人,Methods Mol Biol.,506:97-114(2009);和C avalieri等人,Blood.,102

(2):497-505 (2003)。

[0794] 在一些实施方案中,通过电穿孔将重组核酸转移到T细胞中(参见例如Chicaybam等人,PLoS ONE 8(3):e60298(2013)和Van Tedeloo等人Gene Therapy 7(16):1431-1437(2000))。在一些实施方案中,通过转座将重组核酸转移到T细胞中(参见例如Manuri等人Hum Gene Ther 21(4):427-437(2010);Sharma等人Molec Ther Nucl Acids 2,e74(2013);和Huang等人Methods Mol Biol 506:115-126(2009))。在免疫细胞中引入和表达遗传物质的其他方法包括磷酸钙转染(例如,如Current Protocols in Molecular Biology,John Wiley&Sons,纽约州纽约市中所述)、原生质体融合、阳离子脂质体介导的转染;钨粒子促进的微粒轰击(Johnston,Nature,346:776-777(1990));和磷酸锆DNA共沉淀(Brash等人,Mol.Cell Biol.,7:2031-2034(1987))。

[0795] 用于转移编码所述重组产物的核酸的其他方法和载体是例如在国际专利申请公开号:WO 2014055668和美国专利号7,446,190中所述的那些。

[0796] 在一些实施方案中,可以在扩增期间或之后例如用T细胞受体(TCR)或嵌合抗原受体(CAR)对细胞(例如,T细胞)进行转染。例如,这种用于引入所需受体的基因的转染可以用任何合适的逆转录病毒载体进行。然后可以使基因修饰的细胞群摆脱初始刺激物(例如CD3/CD28刺激物),并且随后用第二种类型的刺激物例如通过从头引入的受体进行刺激。所述第二种类型的刺激物可以包括肽/MHC分子形式的抗原刺激物、基因引入的受体的同源(交联)配体(例如CAR的天然配体)或在新受体的框架内直接结合(例如通过识别受体内的恒定区)的任何配体(如抗体)。参见例如Cheadle等人,Methods Mol Biol.907:645-66(2012);或Barrett等人,Chimeric Antigen Receptor Therapy for Cancer Annual Review of Medicine,第65卷:333-347(2014)。

[0797] 在一些情况下,可以使用不需要激活细胞(例如,T细胞)的载体。在一些此类情形下,可以在激活之前选择和/或转导细胞。因此,可以在培养细胞之前或之后将细胞工程化,并且在一些情况下在培养的至少一部分的同时或期间将细胞工程化。

[0798] 在一些方面,细胞进一步被工程化以促进细胞因子或其他因子的表达。另外的核酸(例如,用于引入的基因)包括用于改善疗法功效的那些,如通过促进所转移细胞的活力和/或功能;用来提供用于选择和/或评价细胞(如用于评估体内存活或定位)的遗传标记的基因;用于改善安全性的基因,例如通过使细胞对体内阴性选择易感,如以下文献中所述:Lupton S.D.等人,Mol.and Cell Biol.,11:6(1991);和Riddell等人,Human Gene Therapy3:319-338(1992);还参见Lupton等人的PCT/US91/08442和PCT/US94/05601的公开案,所述公开案描述了使用通过将显性的阳性选择标记与阴性选择标记融合而获得的双功能选择融合基因。参见例如,Riddell等人,美国专利号6,040,177,第14-17栏。

[0799] 在一些实施方案中,单一启动子可以指导RNA的表达,所述RNA在单个开放阅读框(ORF)中含有两个或三个基因(例如,编码参与调节代谢途径的分子和编码重组受体),所述基因由编码自切割肽(例如2A序列)或蛋白酶识别位点(例如弗林蛋白酶(furin))的序列彼此分开。因此,所述ORF编码单个多肽,其在翻译期间(在2A的情况下)或翻译后被加工成单个蛋白质。在一些情况下,肽(如T2A)可导致核糖体跳过2A元件C末端处肽键的合成(核糖体跳跃),导致2A序列末端与下游的下一个肽之间分开(参见例如de Felipe.Genetic Vaccines and Ther.2:13(2004)和deFelipe等人Traffic5:616-626(2004))。许多2A元件

是已知的。可用于本文公开的方法和核酸中的2A序列的例子是但不限于来自口蹄疫病毒的2A序列(F2A,例如SEQ ID NO:21)、马鼻炎病毒A(E2A,例如SEQ ID NO:20)、明脉扁刺蛾β四体病毒(Thosea asigna virus,T2A,例如SEQ ID NO:6或17)以及猪捷申病毒1(P2A,例如SEQ ID NO:18或19),如美国专利公开号20070116690中所述。C.用于基因工程的细胞和细胞的制备

[0800] 表达所述受体并且通过所提供的方法给予的细胞包括工程化细胞。基因工程通常涉及将编码重组或工程化组分的核酸如通过逆转录病毒转导、转染或转化而引入含有所述细胞的组合物中。

[0801] 在一些实施方案中,核酸是异源的,即通常不存在于细胞中或从细胞获得的样品中,如从另一种生物或细胞获得的核酸,例如,所述核酸通常不在被工程化的细胞和/或这种细胞所来源的生物中发现。在一些实施方案中,核酸不是天然存在的如自然界中未发现的核酸,包括包含编码来自多种不同细胞类型的各种结构域的核酸的嵌合组合的核酸。

[0802] 细胞通常是真核细胞,如哺乳动物细胞,并且通常是人细胞。在一些实施方案中,细胞源自血液、骨髓、淋巴或淋巴器官,是免疫系统的细胞,如先天免疫或适应性免疫的细胞,例如髓系或淋巴样细胞(包括淋巴细胞,通常是T细胞和/或NK细胞)。其他示例性细胞包括干细胞,如多潜能干细胞和多能干细胞,包括诱导多能干细胞(iPSC)。细胞通常是原代细胞,例如直接从受试者分离和/或从受试者分离并冷冻的那些。在一些实施方案中,细胞包括T细胞或其他细胞类型的一个或多个子集,如整个T细胞群、CD4⁺细胞、CD8⁺细胞及其亚群,如由以下所定义的那些亚群:功能、激活状态、成熟度、分化的可能性、扩增、再循环、定位和/或持久能力、抗原特异性、抗原受体类型、在特定器官或区室中的存在、标记或细胞因子分泌特征和/或分化程度。关于待治疗的受试者,细胞可以是同种异体的和/或自体的。方法包括现成的方法。在一些方面,如对于现成的技术,细胞是多能的和/或多潜能的,如干细胞,如诱导多能干细胞(iPSC)。在一些实施方案中,所述方法包括从受试者分离细胞、制备、加工、培养和/或将它们工程化,并在冷冻保存之前或之后将它们重新引入同一受试者体内。

[0803] T细胞和/或CD4⁺和/或CD8⁺ T细胞的亚型和亚群包括幼稚T(T_N)细胞、效应T细胞(T_{EFF})、记忆T细胞及其亚型(如干细胞记忆T(T_{SCM})、中枢记忆T(T_{CM})、效应记忆T(T_{EM})或终末分化的效应记忆T细胞)、肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)、未成熟T细胞、成熟T细胞、辅助T细胞、细胞毒性T细胞、粘膜相关恒定T(MAIT)细胞、天然存在和适应性调节T(Treg)细胞、辅助T细胞(如TH1细胞、TH2细胞、TH3细胞、TH17细胞、TH9细胞、TH22细胞、滤泡性辅助T细胞)、α/βT细胞以及δ/γ T细胞。

[0804] 在一些实施方案中,细胞是天然杀伤(NK)细胞。在一些实施方案中,所述细胞是单核细胞或粒细胞,例如髓系细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、树突细胞、肥大细胞、嗜酸性粒细胞和/或嗜碱性粒细胞。

[0805] 在一些实施方案中,细胞包括经由基因工程引入的一种或多种核酸,从而表达此类核酸的重组或基因工程化产物。在一些实施方案中,核酸是异源的,即通常不存在于细胞或从细胞获得的样品中,如从另一种生物或细胞获得的核酸,例如,所述核酸通常不在被工程化的细胞和/或这种细胞所来源的生物中发现。在一些实施方案中,核酸不是天然存在的如自然界中未发现的核酸,包括包含编码来自多种不同细胞类型的各种结构域的核酸的嵌

合组合的核酸。

[0806] 在一些实施方案中,工程化细胞的制备包括一个或多个培养和/或制备步骤。用于引入编码转基因受体(如CAR)的核酸的细胞可以从样品(如生物样品,例如,从受试者获得或衍生的生物样品)分离。在一些实施方案中,分离出所述细胞的受试者是患有疾病或病症或需要细胞疗法或将给予细胞疗法的受试者。在一些实施方案中,受试者是需要特定治疗性干预(如所分离、加工和/或工程化的细胞所用于的过继细胞疗法)的人。

[0807] 因此,在一些实施方案中,细胞是原代细胞,例如原代人细胞。样品包括直接取自受试者的组织、流体和其他样品,以及来自一个或多个加工步骤(如分离、离心、基因工程(例如用病毒载体转导)、洗涤和/或孵育)的样品。生物样品可以是直接从生物来源获得的样品或经过加工的样品。生物样品包括但不限于体液(如血液、血浆、血清、脑脊液、滑液、尿液和汗液)、组织和器官样品,包括由其衍生的加工样品。

[0808] 在一些方面,衍生出或分离出细胞的样品是血液或血液衍生的样品,或者是或源自单采术或白细胞单采术产物。示例性样品包括全血、外周血单核细胞(PBMC)、白细胞、骨髓、胸腺、组织活检、肿瘤、白血病、淋巴瘤、淋巴结、肠相关淋巴组织、黏膜相关淋巴组织、脾、其他淋巴组织、肝、肺、胃、肠、结肠、肾、胰腺、乳房、骨、前列腺、子宫颈、睾丸、卵巢、扁桃体或其他器官和/或由其衍生的细胞。在细胞疗法(例如,过继细胞疗法)的背景下,样品包括来自自体 and 同种异体来源的样品。

[0809] 在一些实施方案中,细胞源自细胞系,例如T细胞系。在一些实施方案中,所述细胞获得自异种来源,例如获得自小鼠、大鼠、非人灵长类动物和猪。

[0810] 在一些实施方案中,细胞的分离包括一个或多个制备步骤和/或非基于亲和力的细胞分离步骤。在一些例子中,将细胞在存在一种或多种试剂的情况下洗涤、离心和/或孵育,例如以去除不需要的组分、针对所需组分进行富集、裂解或去除对特定试剂敏感的细胞。在一些例子中,基于一种或多种特性(如密度、粘附特性、大小、对特定组分的敏感性和/或抗性)分离细胞。

[0811] 在一些例子中,来自受试者的循环血液的细胞例如通过单采术或白细胞单采术获得。在一些方面,样品含有淋巴细胞,包括T细胞、单核细胞、粒细胞、B细胞、其他有核白细胞、红细胞和/或血小板,并且在一些方面含有除红细胞和血小板之外的细胞。

[0812] 在一些实施方案中,洗涤从受试者收集的血细胞,例如以去除血浆级分并将细胞置于适当的缓冲液或介质中以用于随后的加工步骤。在一些实施方案中,用磷酸盐缓冲盐水(PBS)洗涤细胞。在一些实施方案中,洗涤溶液缺乏钙和/或镁和/或许多或全部二价阳离子。在一些方面,根据制造商的说明书,通过半自动“流通”离心机(例如,Cobe 2991细胞加工器,Baxter)完成洗涤步骤。在一些方面,洗涤步骤是通过切向流过滤(TFF)根据制造商的说明书完成的。在一些实施方案中,洗涤后将所述细胞重悬于多种生物相容性缓冲液(例如像不含Ca⁺⁺/Mg⁺⁺的PBS)中。在某些实施方案中,去除血细胞样品的组分并将细胞直接重悬于培养基中。

[0813] 在一些实施方案中,方法包括基于密度的细胞分离方法,如通过溶解红细胞并通过Percoll或Ficoll梯度进行离心来从外周血制备白细胞。

[0814] 在一些实施方案中,分离方法包括基于细胞中一种或多种特定分子(如表面标记(例如,表面蛋白)、细胞内标记或核酸)的表达或存在来分离不同细胞类型。在一些实施方

案中,可以使用任何已知的基于此类标记的用于分离的方法。在一些实施方案中,分离是基于亲和力或基于免疫亲和力的分离。例如,在一些方面,分离包括基于一种或多种标记(通常是细胞表面标记)在细胞中的表达或表达水平来分离细胞和细胞群,例如通过与和此类标记特异性结合的抗体或结合配偶体一起孵育,之后通常进行洗涤步骤并将已结合所述抗体或结合配偶体的细胞与尚未结合至所述抗体或结合配偶体的那些细胞分离。

[0815] 此类分离步骤可以基于阳性选择(其中保留已结合试剂的细胞以供进一步使用)和/或阴性选择(其中保留尚未结合至抗体或结合配偶体的细胞)。在一些例子中,保留两种级分以供进一步使用。在一些方面,在无法获得专门鉴定异质性群体中的细胞类型的抗体,使得最好基于除了所需群体以外的细胞表达的标记来进行分离的情况下,阴性选择可以特别有用。

[0816] 分离不需要导致100%富集或去除特定细胞群体或表达特定标记的细胞。例如,针对特定类型的细胞(如表达标记的那些)的阳性选择或富集是指增加此类细胞的数量或百分比,但不需要导致不表达该标记的细胞的完全不存在。同样,特定类型的细胞(如表达标记的那些)的阴性选择、去除或耗尽是指减少此类细胞的数量或百分比,但不需要导致全部此类细胞的完全去除。

[0817] 在一些例子中,进行多轮分离步骤,其中使来自一个步骤的阳性或阴性选择的级分经历另一个分离步骤,如后续阳性或阴性选择。在一些例子中,单个分离步骤可以同时耗尽表达多种标记的细胞,如通过将细胞与多种抗体或结合配偶体(每种抗体或结合配偶体对被靶向用于阴性选择的标记具特异性)一起孵育。同样,通过将细胞与在各种细胞类型上表达的多种抗体或结合配偶体一起孵育,可以同时阳性选择多种细胞类型。

[0818] 例如,在一些方面,T细胞的特定亚群,如对一种或多种表面标记呈阳性或高水平表达的细胞(例如CD28⁺、CD62L⁺、CCR7⁺、CD27⁺、CD127⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD45RA⁺和/或CD45RO⁺T细胞)通过阳性或阴性选择技术来分离。

[0819] 例如,可以使用抗CD3/抗CD28缀合的磁珠(例如,DYNABEADS® M-450CD3/CD28 T Cell Expander)阳性选择CD3⁺、CD28⁺ T细胞。

[0820] 在一些实施方案中,通过经由阳性选择富集特定细胞群,或经由阴性选择耗尽特定细胞群来进行分离。在一些实施方案中,阳性或阴性选择是通过将细胞与一种或多种抗体或其他结合剂一起孵育完成的,所述一种或多种抗体或其他结合剂与分别在阳性或阴性选择的细胞上表达(标记⁺)或以相对较高水平表达(标记^高)的一种或多种表面标记特异性结合。

[0821] 在一些实施方案中,通过阴性选择非T细胞(如B细胞、单核细胞或其他白细胞)上表达的标记(如CD14),将T细胞与PBMC样品分离。在一些方面,CD4⁺或CD8⁺选择步骤用于分离CD4⁺辅助细胞和CD8⁺细胞毒性T细胞。通过对在一种或多种幼稚、记忆和/或效应T细胞亚群上表达或以相对较高程度表达的标记的阳性或阴性选择,可以将此类CD4⁺和CD8⁺群体进一步分类成亚群。

[0822] 在一些实施方案中,如通过基于与相应亚群相关的表面抗原进行阳性或阴性选择,将CD8⁺细胞针对幼稚、中枢记忆、效应记忆和/或中枢记忆干细胞进一步富集或耗尽。在一些实施方案中,针对中枢记忆T(T_{CM})细胞进行富集以增加功效,如以改善给予后的长期存活、扩增和/或移植,这在一些方面在此类亚群中特别稳健。参见Terakura等人Blood.1:72-

82 (2012); Wang等人J Immunother. 35 (9):689-701 (2012)。在一些实施方案中,组合富含TCM的CD8⁺ T细胞与CD4⁺ T细胞进一步增强功效。

[0823] 在实施方案中,记忆T细胞存在于CD8⁺外周血淋巴细胞的CD62L⁺和CD62L⁻两个子集中。可以例如使用抗CD8和抗CD62L抗体将PBMC针对CD62L⁻CD8⁺和/或CD62L⁺CD8⁺级分进行富集或耗尽。

[0824] 在一些实施方案中,中枢记忆T (T_{CM}) 细胞的富集基于CD45R0、CD62L、CCR7、CD28、CD3和/或CD127的阳性或高表面表达;在一些方面,它基于对表达或高度表达CD45RA和/或颗粒酶B的细胞的阴性选择。在一些方面,通过表达CD4、CD14、CD45RA的细胞的耗尽和表达CD62L的细胞的阳性选择或富集来进行富含TCM细胞的CD8⁺群体的分离。在一个方面,中枢记忆T (TCM) 细胞的富集从基于CD4表达所选择的阴性细胞级分开始进行,对所述阴性细胞级分基于CD14和CD45RA的表达进行阴性选择且基于CD62L进行阳性选择。在一些方面,此类选择是同时进行的,并且在其他方面,是以任何顺序依序进行的。在一些方面,用于制备CD8⁺细胞群或亚群的相同的基于CD4表达的选择步骤也用于产生CD4⁺细胞群或亚群,使得来自基于CD4的分离的阳性和阴性级分被保留并用于所述方法的后续步骤中,任选地在一个或多个其他阳性或阴性选择步骤之后。

[0825] 在特定例子中,使PBMC样品或其他白细胞样品经历CD4⁺细胞的选择,其中保留了阴性和阳性两种级分。然后使阴性级分经历基于CD14和CD45RA或CD19的表达的阴性选择,以及基于中枢记忆T细胞特有的标记(如CD62L或CCR7)的阳性选择,其中阳性和阴性选择是以任一顺序来进行。

[0826] 通过鉴定具有细胞表面抗原的细胞群,将CD4⁺ T辅助细胞分类为幼稚、中枢记忆和效应细胞。CD4⁺淋巴细胞可通过标准方法获得。在一些实施方案中,幼稚CD4⁺ T淋巴细胞是CD45R0⁻、CD45RA⁺、CD62L⁺、CD4⁺ T细胞。在一些实施方案中,中枢记忆CD4⁺细胞是CD62L⁺和CD45R0⁺。在一些实施方案中,效应CD4⁺细胞是CD62L⁻和CD45R0⁻。

[0827] 在一个例子中,为了通过阴性选择富集CD4⁺细胞,单克隆抗体混合剂通常包括针对CD14、CD20、CD11b、CD16、HLA-DR和CD8的抗体。在一些实施方案中,所述抗体或结合配偶体与固体支持物或基质(如磁珠或顺磁珠)结合,以允许细胞分离以用于阳性和/或阴性选择。例如,在一些实施方案中,使用免疫磁性(或亲和磁性)分离技术(综述于文献中: Methods in Molecular Medicine,第58卷:Metastasis Research Protocols,第2卷:Cell Behavior In Vitro and In Vivo,第17-25页编辑:S.A.Brooks和U.Schumacher©Humana Press Inc.,新泽西州托托瓦)分离或分开细胞和细胞群体。

[0828] 在一些方面,将待分离的细胞的样品或组合物与小的可磁化或磁响应材料(如磁响应颗粒或微粒,如顺磁珠(例如像Dynabeads或MACS珠))一起孵育。磁响应材料(例如,颗粒)通常直接或间接地附着于结合配偶体(例如,抗体),所述结合配偶体与希望分离(例如,希望阴性地或阳性地选择)的一个细胞、多个细胞或细胞群上存在的分子(例如,表面标记)特异性结合。

[0829] 在一些实施方案中,磁粒或磁珠包含与特异性结合成员(如抗体或其他结合配偶体)结合的磁响应材料。存在许多用于磁分离方法的熟知的磁响应材料。合适的磁粒包括在Molday,美国专利号4,452,773和欧洲专利说明书EP452342B中所述的那些,将所述专利通过引用特此并入。胶体大小的颗粒(如在Owen美国专利号4,795,698和Liberti等人,美国专

利号5,200,084中所述的那些)是其他的例子。

[0830] 孵育通常在这样的条件下进行,由此抗体或结合配偶体或者与附着于磁粒或磁珠的此类抗体或结合配偶体特异性结合的分子(如二抗或其他试剂)与细胞表面分子(如果存在于样品内的细胞上的话)特异性结合。

[0831] 在一些方面,将样品置于磁场中,并且具有附着于其上的磁响应或可磁化颗粒的那些细胞将被吸引至磁体并与未标记的细胞分离。对于阳性选择,保留被吸引至磁体的细胞;对于阴性选择,保留未被吸引的细胞(未标记的细胞)。在一些方面,在同一选择步骤期间进行阳性与阴性选择的组合,其中保留阳性和阴性级分并进一步加工或使其经历进一步的分离步骤。

[0832] 在某些实施方案中,磁响应颗粒被包被在一抗或其他结合配偶体、二抗、凝集素、酶或链霉亲和素中。在某些实施方案中,磁粒经由对一种或多种标记具特异性的一抗的包被而附着于细胞。在某些实施方案中,用一抗或结合配偶体标记细胞而不是珠,然后添加细胞类型特异性二抗或其他结合配偶体(例如,链霉亲和素)包被的磁粒。在某些实施方案中,链霉亲和素包被的磁粒是与生物素化的一抗或二抗结合使用的。

[0833] 在一些实施方案中,磁响应颗粒保持附着于细胞,所述细胞随后被孵育、培养和/或工程化;在一些方面,颗粒保持附着于细胞以用于给予患者。在一些实施方案中,从所述细胞中去除可磁化或磁响应颗粒。从细胞中去除可磁化颗粒的方法是已知的,并且包括例如使用竞争性非标记抗体和与可切割接头缀合的可磁化颗粒或抗体。在一些实施方案中,所述可磁化颗粒是可生物降解的。

[0834] 在一些实施方案中,基于亲和力的选择是经由磁激活的细胞分选(MACS)(Miltenyi Biotech,Auburn,CA)进行的。磁激活细胞分选(MACS)系统能够高纯度选择具有附着于其上的磁化颗粒的细胞。在某些实施方案中,MACS以这样的模式操作,其中在施加外部磁场之后依序洗脱非靶种类和靶种类。也就是说,附着于磁化颗粒的细胞被保持在适当的位置,而未附着的种类被洗脱。然后,在完成这个第一洗脱步骤之后,以某种方式释放被捕获在磁场中并被阻止洗脱的种类,使得它们可以被洗脱和回收。在某些实施方案中,标记非靶细胞并将其从异质性细胞群耗尽。

[0835] 在某些实施方案中,使用这样的系统、装置或设备进行分离或分开,所述系统、装置或设备进行所述方法的分离、细胞制备、分开、加工、孵育、培养和/或配制步骤中的一个或多个。在一些方面,将系统用于在封闭或无菌环境中进行这些步骤中的每一个,例如以最小化错误、用户操作和/或污染。在一个例子中,系统是如国际专利申请公开号W0 2009/072003、或US20110003380A1中所述的系统。

[0836] 在一些实施方案中,系统或设备在集成或独立系统中和/或以自动或可编程方式进行分离、加工、工程化和配制步骤中的一个或多个(例如,全部)。在一些方面,所述系统或装置包括与所述系统或装置通信的计算机和/或计算机程序,其允许用户对加工、分离、工程化和配制步骤的各个方面进行编程、控制、评估其结果和/或调整。

[0837] 在一些方面,分离和/或其他步骤是使用CliniMACS系统(MiltenyiBiotec)来进行的,例如用于在封闭且无菌的系统以临床规模水平自动化分离细胞。部件可以包括集成微计算机、磁分离单元、蠕动泵和各种夹管阀。在一些方面,集成计算机控制仪器的全部部件并指示所述系统以标准化顺序执行重复程序。在一些方面,磁分离单元包括可移动的永

磁体和用于选择柱的支架。蠕动泵控制整个管组的流速,并且与夹紧阀一起确保经过所述系统的缓冲液的受控流动和细胞的连续悬浮。

[0838] 在一些方面,CliniMACS系统使用抗体偶联的可磁化颗粒,其在无菌、无热原的溶液中提供。在一些实施方案中,在用磁粒标记细胞之后,洗涤细胞以去除过量的颗粒。然后将细胞制备袋连接到管组,所述管组又连接到含有缓冲液的袋和细胞收集袋。管组由预装配的无菌管路(包括预柱和分离柱)组成,并且仅供一次性使用。在启动分离程序后,系统将细胞样品自动施加到分离柱上。标记的细胞保留在柱内,而未标记的细胞通过一系列洗涤步骤去除。在一些实施方案中,用于与本文所述的方法一起使用的细胞群未被标记并且不保留在柱中。在一些实施方案中,用于与本文所述的方法一起使用的细胞群被标记并保留在柱中。在一些实施方案中,用于与本文所述方法一起使用的细胞群在去除磁场之后从柱中洗脱,并收集在细胞收集袋内。

[0839] 在某些实施方案中,使用CliniMACS Prodigy系统(Miltenyi Biotec)进行分离和/或其他步骤。在一些方面,CliniMACS Prodigy系统配备有细胞加工联合体,其允许通过离心自动化洗涤和分级细胞。CliniMACS Prodigy系统还可以包括机载相机和图像识别软件,其通过辨识源细胞产品的宏观层来确定最佳细胞分级终点。例如,将外周血自动分离为红细胞、白细胞和血浆层。所述CliniMACS Prodigy系统还可以包括集成的细胞培育室,其实现细胞培养方案,例如细胞分化和扩增、抗原加载和长期细胞培养。输入端口可以允许无菌移除和补充培养基,并且可以使用集成显微镜监测细胞。参见例如Klebanoff等人J Immunother.35(9):651-660(2012),Terakura等人Blood.1:72-82(2012),和Wang等人J Immunother.35(9):689-701(2012)。

[0840] 在一些实施方案中,经由流式细胞术收集并富集(或耗尽)本文所述的细胞群,其中针对多种细胞表面标记染色的细胞携带于流体流中。在一些实施方案中,经由制备规模(FACS)分选来收集并富集(或耗尽)本文所述的细胞群。在某些实施方案中,通过使用微机电系统(MEMS)芯片结合基于FACS的检测系统来收集和富集(或耗尽)本文所述的细胞群(参见例如WO 2010/033140,Cho等人Lab Chip 10,1567-1573(2010);和Godin等人J Biophoton.1(5):355-376(2008)。在两种情况下,可以用多种标记来标记细胞,从而允许以高纯度分离明确限定的T细胞子集。

[0841] 在一些实施方案中,用一种或多种可检测标记来标记抗体或结合配偶体,以促进分离供阳性和/或阴性选择。例如,分离可以基于与荧光标记的抗体的结合。在一些例子中,基于对一种或多种细胞表面标记具有特异性的抗体或其他结合配偶体的结合来分离细胞是在流体流中载携,如通过荧光激活细胞分选(FACS),包括制备规模(FACS)和/或微机电系统(MEMS)芯片,例如与流式细胞检测系统组合。此类方法允许基于多种标记同时进行阳性和阴性选择。

[0842] 在一些实施方案中,制备方法包括在分离、孵育和/或工程化之前或之后冷冻(例如,冷冻保存)细胞的步骤。在一些实施方案中,所述冷冻和后续解冻步骤去除所述细胞群中的粒细胞,并且在一定程度上去除单核细胞。在一些实施方案中,例如在洗涤步骤后将细胞悬浮在冷冻溶液中以去除血浆和血小板。在一些方面,可以使用多种已知的冷冻溶液和参数中的任一种。一个例子涉及使用含有20%DMSO和8%人血清白蛋白(HSA)的PBS,或其他合适的细胞冷冻培养基。然后用培养基将其1:1稀释,使得DMSO和HSA的最终浓度分别为

10%和4%。然后通常将所述细胞以1°/分钟的速率冷冻至-80℃并储存在液氮储罐的气相中。

[0843] 在一些实施方案中,在基因工程之前或与基因工程结合孵育和/或培养细胞。所述孵育步骤可以包括培养、培育、刺激、激活和/或繁殖。孵育和/或工程化可以在培养器皿中进行,所述培养器皿是如单元、室、孔、柱、管、管组、阀、小瓶、培养皿、袋或其他用于培养或培育细胞的容器。在一些实施方案中,在刺激条件或刺激剂的存在下孵育组合物或细胞。此类条件包括针对以下而设计的那些条件:诱导群体中的细胞的增殖、扩增、激活和/或存活,模拟抗原暴露,和/或引发细胞用于基因工程(如用于引入重组抗原受体)。

[0844] 条件可以包括以下中的一种或多种:特定培养基、温度、氧含量、二氧化碳含量、时间、药剂(例如,营养素、氨基酸、抗生素、离子和/或刺激因子(如细胞因子、趋化因子、抗原、结合配偶体、融合蛋白、重组可溶性受体和任何其他旨在激活细胞的药剂))。

[0845] 在一些实施方案中,刺激条件或刺激剂包括能够刺激或激活TCR复合物的细胞内信号传导结构域的一种或多种药剂(例如,配体)。在一些方面,所述药剂在T细胞中开启或启动TCR/CD3细胞内信号传导级联。此类药剂可以包括抗体,如对TCR具特异性的那些,例如抗CD3。在一些实施方案中,刺激条件包括能够刺激共刺激受体的一种或多种药剂(例如配体),例如抗CD28。在一些实施方案中,此类药剂和/或配体可以与固体支持物(如珠)和/或一种或多种细胞因子结合。任选地,扩增方法还可以包括向培养基中(例如,以至少约0.5ng/ml的浓度)添加抗CD3和/或抗CD28抗体的步骤。在一些实施方案中,刺激剂包括IL-2、IL-15和/或IL-7。在一些方面,IL-2浓度为至少约10单位/mL。

[0846] 在一些方面,根据多种技术进行孵育,例如以下文献中所述的那些:授予Riddell等人的美国专利号6,040,177、Klebanoff等人J Immunother.35(9):651-660(2012), Terakura等人Blood.1:72-82(2012),和/或Wang等人J Immunother.35(9):689-701(2012)。

[0847] 在一些实施方案中,通过以下方式扩增T细胞:向培养起始组合物中添加饲养细胞(如非分裂外周血单核细胞(PBMC))(例如,使得所得细胞群含有至少约5、10、20或40种或更多种PBMC饲养细胞,以使初始群体中的每种T淋巴细胞进行扩增);以及孵育培养物(例如持续足以扩增T细胞数的时间)。在一些方面,非分裂饲养细胞可以包含 γ 辐照的PBMC饲养细胞。在一些实施方案中,用约3000至3600拉德范围内的 γ 射线辐射PBMC以防止细胞分裂。在一些方面,在添加T细胞群之前将饲养细胞添加至培养基中。

[0848] 在一些实施方案中,刺激条件包括适合于人T淋巴细胞生长的温度,例如至少约25摄氏度,通常为至少约30摄氏度,并且通常为或为约37摄氏度。任选地,孵育还可以包括加入非分裂的EBV转化的类淋巴母细胞(LCL)作为饲养细胞。可以用约6000至10,000拉德范围内的 γ 射线辐照LCL。在一些方面,LCL饲养细胞以任何合适的量(如LCL饲养细胞与初始T淋巴细胞的比率为至少约10:1)提供。

[0849] 在实施方案中,通过用抗原刺激幼稚或抗原特异性T淋巴细胞获得抗原特异性T细胞,如抗原特异性CD4⁺和/或CD8⁺ T细胞。例如,可通过从感染的受试者分离T细胞并用相同的抗原在体外刺激细胞,针对巨细胞病毒抗原生成抗原特异性T细胞系或克隆。

[0850] VII. 组合物和配制品

[0851] 在一些实施方案中,所述细胞疗法是作为组合物或配制品来提供,例如药物组合

物或配制品。这种组合物可以根据所提供的方法如在预防或治疗疾病、病症和障碍或检测、诊断和预后方法中使用。

[0852] 术语“药物配制品”是指这样的制剂,其所采取的形式允许其中所含活性成分的生物活性有效,并且其不含对待给予所述配制品的受试者具有不可接受的毒性的另外的组分。

[0853] “药学上可接受的载体”是指药物配制品中除活性成分之外的成分,其对受试者无毒。药学上可接受的载体包括但不限于缓冲液、赋形剂、稳定剂或防腐剂。

[0854] 在一些实施方案中,用药学上可接受的载体配制T细胞疗法(如工程化T细胞(例如,CAR T细胞))。在一些方面,载体的选择部分取决于特定细胞和/或给予方法。因此,存在多种合适的配制品。例如,药物组合物可以含有防腐剂。合适的防腐剂可以包括例如对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、苯甲酸钠和苯扎氯铵。在一些方面,使用两种或更多种防腐剂的混合物。防腐剂或其混合物通常以按总组合物的重量计约0.0001%至约2%的量存在。载体描述于例如Remington's Pharmaceutical Sciences第16版,Osol,A.编辑(1980)中。药学上可接受的载体在所用剂量和浓度下通常对接受者无毒,并且包括但不限于:缓冲液,如磷酸盐、柠檬酸盐和其他有机酸;抗氧化剂,包括抗坏血酸和甲硫氨酸;防腐剂(如十八烷基二甲基苄基氯化铵;六甲氯铵;苯扎氯铵;苄索氯铵;苯酚、丁醇或苄醇;烷基对羟基苯甲酸酯,如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯;儿茶酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇;和间甲酚);低分子量(少于约10个残基)多肽;蛋白质,如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水性聚合物,如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸,如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸;单糖、二糖和其他碳水化合物,包括葡萄糖、甘露糖或糊精;螯合剂,如EDTA;糖类,如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨醇;成盐抗衡离子,如钠;金属络合物(例如锌-蛋白质络合物);和/或非离子表面活性剂,如聚乙二醇(PEG)。

[0855] 在一些方面,组合物中包含缓冲剂。合适的缓冲剂包括例如柠檬酸、柠檬酸钠、磷酸、磷酸钾和各种其他酸和盐。在一些方面,使用两种或更多种缓冲剂的混合物。所述缓冲剂或其混合物通常以按总组合物的重量计约0.001%至约4%的量存在。用于制备可给予的药物组合物的方法是已知的。示例性方法更详细地描述于例如Remington:The Science and Practice of Pharmacy,Lippincott Williams&Wilkins;第21版(2005年5月1日)中。

[0856] 配制品可以包括水溶液。所述配制品或组合物还可含有可用于用细胞预防或治疗的特定适应症、疾病或病症的多于一种活性成分,包括其中活性与细胞互补和/或各自的活性不会互相造成不良影响的一种或多种活性成分。此类活性成分以有效用于既定目的的量合适地组合存在。因此,在一些实施方案中,药物组合物还包括其他药物活性药剂或药物,如化学治疗剂,例如天冬酰胺酶、白消安、卡铂、顺铂、道诺霉素、多柔比星、氟尿嘧啶、吉西他滨、羟基脲、甲氨蝶呤、紫杉醇、利妥昔单抗、长春碱、长春新碱等。

[0857] 在一些实施方案中,药物组合物包含有效治疗或预防疾病或病症的量(例如治疗有效量或预防有效量)的细胞。在一些实施方案中,通过定期评估所治疗的受试者来监测治疗或预防功效。对于数天或更长时间的重复给予,根据病症,重复所述治疗直至出现疾病症状的所需抑制为止。然而,其他剂量方案可能是有用的并且可以被确定。所需剂量可以通过单次推注给予组合物、通过多次推注给予组合物、或通过连续输注给予组合物来递送。

[0858] 可以使用标准给予技术、配制品和/或装置来给予所述细胞。提供了用于储存和给

予所述组合物的配制品和设备(如注射器和小瓶)。关于细胞,给予可以是自体的或异源的。例如,免疫反应性细胞或祖细胞可以从一名受试者获得,并给予同一受试者或不同但相容的受试者。外周血衍生的免疫反应性细胞或其后代(例如,体内、离体或体外衍生的)可以通过局部注射给予,包括导管给予、全身注射、局部注射、静脉内注射或肠胃外给予。在给予治疗组合物(例如,含有基因修饰的免疫反应性细胞的药物组合物)时,通常将其配制成单位剂量可注射形式(溶液、悬浮液、乳液)。

[0859] 配制品包括用于口服、静脉内、腹膜内、皮下、经肺、透皮、肌内、鼻内、经颊、舌下或栓剂给予的那些。在一些实施方案中,肠胃外给予药剂或细胞群。如本文所用,术语“肠胃外”包括静脉内、肌内、皮下、直肠、阴道和腹膜内给予。在一些实施方案中,将所述药剂或细胞群通过静脉内、腹膜内或皮下注射使用外周全身递送给予至受试者。

[0860] 在一些实施方案中,组合物作为无菌液体制剂(例如,等渗水溶液、悬浮液、乳液、分散体或粘性组合物,其在一些方面可以缓冲至所选pH)提供。液体制剂一般比凝胶、其他粘性组合物和固体组合物制备起来更容易。另外地,液体组合物稍微更方便给予,特别是通过注射。另一方面,粘性组合物可以配制在适当的粘度范围内,以提供与特定组织的更长的接触时间。液体或粘性组合物可以包含载体,所述载体可以是溶剂或分散介质,所述溶剂或分散介质含有例如水、盐水、磷酸盐缓冲盐水、多元醇(例如,甘油、丙二醇、液体聚乙二醇)及其合适的混合物。

[0861] 无菌可注射溶液可以通过将细胞掺入溶剂中来制备,如与合适的载体、稀释剂或赋形剂(如无菌水、生理盐水、葡萄糖、右旋糖等)混合。所述组合物也可以是冻干的。组合物可以含有辅助物质,如润湿剂、分散剂或乳化剂(例如,甲基纤维素)、pH缓冲剂、胶凝或粘度增强添加剂、防腐剂、调味剂、颜料等,这取决于所需的给予途径和制剂。在一些方面,可以查阅标准文本来制备合适的制剂。

[0862] 可以添加增强组合物的稳定性和无菌性的各种添加剂,包括抗微生物防腐剂、抗氧化剂、螯合剂和缓冲液。防止微生物的作用可以通过不同的抗细菌和抗真菌剂(例如,对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、抗坏血酸等)来确保。可以通过使用延迟吸收的药剂(例如,单硬脂酸铝和明胶)来实现可注射药物形式的延长吸收。

[0863] 用于体内给予的配制品通常是无菌的。可以例如通过经无菌滤膜过滤容易地实现无菌。

[0864] 对于疾病的预防或治疗,适当的剂量可以取决于待治疗的疾病类型、一种或多种药剂的类型、细胞或重组受体的类型、疾病的严重程度和病程、给予药剂或细胞是用于预防目的还是治疗目的、先前疗法、受试者的临床病史和对药剂或细胞的反应以及主治医师的决断。在一些实施方案中,将所述组合物适当地以一次或在一系列治疗中给予至受试者。

[0865] VIII. 试剂盒和制品

[0866] 还提供了制品或试剂盒,其含有:所提供的基因工程化细胞,和一种或多种用于调节工程化细胞的扩增、增殖和/或活性的药剂,和/或另外的治疗剂和/或包含所述另外的治疗剂的组合物,任选地用于评估和/或测量一个或多个参数(例如药代动力学参数和/或患者属性和/或生物标记的表达)的试剂,以及任选地使用说明书(例如,根据所提供的方法进行给予和/或评估的说明书)。所述制品可以包括容器和在所述容器上或与所述容器相关的标签或包装说明书。合适的容器包括例如瓶子、小瓶、注射器、试管、IV输液袋等。容器可以

由多种材料(如玻璃或塑料)形成。在一些实施方案中,容器具有无菌入口。示例性容器包括静脉输液袋、小瓶,包括具有可被注射针刺穿的塞子的那些。

[0867] 本文所提供的制品含有包装材料。用于包装所提供材料的包装材料是本领域技术人员所熟知的。参见,例如,美国专利号5,323,907、5,052,558和5,033,252,其各自以其整体并入本文。包装材料的例子包括但不限于泡罩包装、瓶子、管子、吸入器、泵、袋子、小瓶、容器、注射器、一次性实验室用品(例如移液管尖端和/或塑料板)或瓶子。所述制品或试剂盒可以包括装置,以便于分配材料或便于以高通量或大规模方式使用,例如以便于在机器人设备中使用。通常,包装不与其中所含的组合物反应。

[0868] 所述制品或试剂盒可以进一步包括包装插页,其指示所述组合物可以用于治疗特定病症如本文所述的病症(例如多发性骨髓瘤)。可替代地或另外,所述制品或试剂盒可还包括另一个或相同的包含药学上可接受的缓冲液的容器。它可以进一步包括其他材料,如其他缓冲液、稀释剂、过滤器、针和/或注射器。

[0869] 在一些实施方案中,所述制品或试剂盒包括一个或多个容器,通常是多个容器、包装材料以及一个或多个容器和/或包装上的或与所述容器或包装关联的标签或包装说明书,通常包括使用说明书,例如,用于核酸组装和/或将组装的核酸分子或核酸分子集引入细胞中(例如转染或转导所提供的方法中使用的细胞,例如T细胞、T细胞系和/或T细胞组合物)的说明书。

[0870] 在一些实施方案中,容器容纳组合物,所述组合物本身或与另一组合物组合含有一种或多种能够调节工程化细胞的扩增、增殖和/或活性的药剂,例如本文所述的任何一种。所述制品或试剂盒可包括一个或多个其中含有组合物的容器,其中所述组合物包括一种或多种能够调节工程化细胞的扩增、增殖和/或活性的药剂,例如本文所述的任何一种;其中所述组合物任选地包括另一治疗剂,并且所述制品或试剂盒还包含标签或包装说明书上的用于以有效量治疗受试者的说明书。

[0871] 在一些实施方案中,所述制品和/或试剂盒进一步包含用于淋巴细胞清除疗法的药剂,并且任选地进一步包括用于给予淋巴细胞清除疗法的说明书。在一些实施方案中,说明书可以作为伴随用于给予的组合物的标签或包装说明书而包含在内。

[0872] 在一些实施方案中,所述制品和/或试剂盒还包括一种或多种用于测定生物样品(例如来自受试者的生物样品,所述受试者是给药的候选者或已经给予所述疗法)的试剂,以及任选地使用所述试剂或测定(例如,评估一种或多种参数,例如药代动力学参数和/或患者属性和/或生物标记的表达)的说明书,以及任选地使用说明书(例如,给予和/或评估的说明书)。在一些实施方案中,所述生物样品是或获得自血液、血浆或血清样品。

[0873] 在一些实施方案中,可以在给予细胞疗法之前或在给予细胞疗法之后使用所述试剂。例如,在一些实施方案中,所述制品和/或试剂盒还含有用于测量与某些药代动力学参数、反应结果和/或毒性相关的特定患者属性和/或炎症标记的水平试剂,以及测量说明书。在一些实施方案中,所述试剂包括用于进行体外测定以测量参数的组分,所述体外测定例如免疫测定、基于适体的测定、组织学或细胞学测定或mRNA表达水平测定。在一些实施方案中,体外测定选自酶联免疫吸附测定(ELISA)、免疫印迹、免疫沉淀、放射免疫测定(RIA)、免疫染色、流式细胞术测定、表面等离子体共振(SPR)、化学发光测定、侧向流免疫测定、抑制测定和亲和力测定。在一些方面,所述试剂是特异性地结合所述生物标记的结合试剂。在

一些情况下,所述结合试剂是抗体或其抗原结合片段、适体或核酸探针。在一些实施方案中,所述制品含有本文所述的用于评估参数的任何试剂。

[0874] 在一些实施方案中,所述制品和/或试剂盒包含能够检测一种或多种参数(例如药代动力学参数和/或患者属性和/或生物标记的表达)的一种或多种试剂,例如,给予和/或评估的说明书,以及使用所述试剂测定来自作为治疗候选者的受试者的生物样品的说明书,其中所述一个或多个参数选自CAR+细胞(例如CD3+、CD4+和/或CD8+CAR+细胞)的数量或水平、CAR+细胞(例如CD3+、CD4+和/或CD8+CAR+细胞)的最大(峰值)血浆浓度(C_{max})、峰值时间(即出现最大血浆浓度(C_{max})的时间; T_{max})、最小血浆浓度(即治疗剂(例如CAR+ T细胞)的剂量之间的最小血浆浓度; C_{min})、消除半衰期($T_{1/2}$)和曲线下面积(即通过标绘时间与治疗剂CAR+ T细胞的血浆浓度产生的曲线下面积;AUC)、肿瘤的体积测量值(例如,直径乘积之和(SPD)、最长肿瘤直径(LD)、最长肿瘤直径之和(SLD)、坏死、肿瘤体积、坏死体积、坏死-肿瘤比率(NTR)、瘤周水肿(PTE)和水肿-肿瘤比率(ETR))、红细胞沉降率(ESR)、白蛋白、 β 2微球蛋白(β 2-M)、C-C基序趋化因子配体13(CCL13)、C反应蛋白(CRP)、C-X-C基序趋化因子10(CXCL10)、IL-2、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-10、IL-15、IL-16、干扰素 γ (IFN- γ)、淋巴毒素- α (LT- α)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、巨噬细胞炎性蛋白1 α (MIP-1 α)、MIP-1 β 、血清淀粉样蛋白A1(SAA-1)、转化生长因子 β (TGF- β)和肿瘤坏死因子 α (TNF- α)。在一些实施方案中,还包括用于测定与分析物和/或参数的阈值水平相比而言受试者中参数的存在或不存在、水平、数量或浓度的说明书。

[0875] IX. 定义

[0876] 除非另外定义,否则本文使用的所有技术术语、符号和其他技术术语和科学术语或用词旨在具有与所要求保护的主体所属领域的普通技术人员通常所理解的相同意义。在一些情况下,为了清楚和/或为了便于引用而在本文中定义具有通常理解的含义的术语,并且本文中包含此类定义不一定应当被解释为代表与本领域通常所理解的含义有实质性差异。

[0877] 如本文所用,“受试者”是哺乳动物,如人或其他动物,并且通常是人。在一些实施方案中,向其给予免疫调节多肽、工程化细胞或组合物的受试者(例如,患者)是哺乳动物,通常是灵长类动物,如人。在一些实施方案中,灵长类动物是猴或猿。受试者可以是雄性或雌性,并且可以是任何合适的年龄,包括婴儿、幼年、青春期、成年和老年受试者。在一些实施方案中,受试者是非灵长类哺乳动物,如啮齿动物。

[0878] 如本文所用,“治疗”(“treatment”)(及其语法变体如“治疗”(“treat”或“treating”))是指疾病或病症或障碍、或者与其相关的症状、不良作用或结果、或表型的完全或部分改善或减轻。所希望的治疗效果包括但不限于预防疾病的发生或复发、症状的缓和、疾病的任何直接或间接病理后果的减少、预防转移、降低疾病进展的速度、减轻或减缓疾病状态以及缓解或改善预后。所述术语并不暗示完全治愈疾病或完全消除任何症状或对所有症状或结果的一种或多种影响。

[0879] 如本文所用,“延迟疾病的发展”意指推迟、阻碍、减缓、延缓、稳定、抑制和/或延期疾病(如癌症)的发展。此延迟可以具有不同的时间长度,这取决于疾病的历史和/或被治疗的个体。对于本领域技术人员清楚的是,足够或显著的延迟实际上可以涵盖预防,因为个体不会患上疾病。例如,可能延迟晚期癌症,如转移的发生。

[0880] 如本文所用,“预防”包括提供关于受试者的疾病的发生或复发的预防,所述受试者可能易患上所述疾病但尚未被诊断患有所述疾病。在一些实施方案中,所提供的细胞和组合物用于延迟疾病的发展或延缓疾病的进展。

[0881] 如本文所用,“抑制”功能或活性是当与除目标条件或参数以外的原本相同的条件相比时,或者可替代地如与另一种条件相比时,降低功能或活性。例如,与不存在所述细胞的情况下的肿瘤生长速率相比,抑制肿瘤生长的细胞降低了肿瘤的生长速率。

[0882] 在给予的背景下,药剂(例如,药物配制品、细胞或组合物)的“有效量”是指在必要的剂量/量下和必要的时间段内有效实现所需结果(如治疗或预防结果)的量。

[0883] 药剂(例如,药物配制品或工程化细胞)的“治疗有效量”是指在必要的剂量下和必要的时间段内有效实现所需治疗结果(如针对治疗疾病、病症或障碍)和/或治疗的药代动力学或药效动力学作用的量。治疗有效量可根据诸如以下等因素而变化:疾病状态、受试者的年龄、性别和体重、以及所给予的免疫调节多肽或工程化细胞。在一些实施方案中,所提供的方法涉及给予有效量(例如,治疗有效量)的免疫调节多肽、工程化细胞或组合物。

[0884] “预防有效量”是指在必要的剂量下和必要的时间段内有效实现所需预防结果的量。通常但不是必须的,因为预防剂量是在疾病之前或早期在受试者体内使用的,所以预防有效量将小于治疗有效量。

[0885] 术语“药物配制品”是指这样的制剂,其所采取的形式允许其中所含活性成分的生物活性有效,并且其不含对待给予所述配制品的受试者具有不可接受的毒性的另外的组分。

[0886] “药学上可接受的载体”是指药物配制品中除活性成分之外的成分,其对受试者无毒。药学上可接受的载体包括但不限于缓冲液、赋形剂、稳定剂或防腐剂。

[0887] 如本文所用,叙述核苷酸或氨基酸位置“对应于”所公开序列中的核苷酸或氨基酸位置(如序列表中所示)是指,在使用标准比对算法(如GAP算法)与所公开序列比对以使同一性最大化之后,所鉴定的核苷酸或氨基酸位置。通过比对序列,本领域技术人员可例如使用保守和相同的氨基酸残基作为指导来鉴别相应残基。通常,为了鉴定对应位置,将氨基酸序列进行比对,以便获得最高顺序匹配(参见例如:Computational Molecular Biology, Lesk, A.M., 编辑, Oxford University Press, 纽约, 1988; Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D.W., 编辑, Academic Press, 纽约, 1993; Computer Analysis of Sequence Data, Part I, Griffin, A.M., 和 Griffin, H.G., 编辑, Humana Press, 新泽西州, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987; 和 Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. 和 Devereux, J., 编辑, M Stockton Press, 纽约, 1991; Carrillo 等人 (1988) SIAM J Applied Math 48:1073)。

[0888] 如本文所用,术语“载体”是指能够传播其所连接的另一核酸分子的核酸分子。所述术语包括作为自我复制核酸结构的载体以及掺入已引入其的宿主细胞基因组中的载体。某些载体能够引导它们可操作地连接的核酸的表达。此类载体在本文中称为“表达载体”。所述载体包括病毒载体,如逆转录病毒(例如, γ 逆转录病毒和慢病毒)载体。

[0889] 术语“宿主细胞”、“宿主细胞系”和“宿主细胞培养物”可互换使用,并且是指已引入外源核酸的细胞,包括此类细胞的后代。宿主细胞包括“转化体”和“转化细胞”,其包括原代转化细胞和源自其的后代,不考虑传代次数。后代在核酸含量上可能与亲代细胞不完全

相同,但可能含有突变。本文包括如在初始转化细胞中所筛选或选择的具有相同功能或生物学活性的突变型后代。

[0890] 如本文所用,细胞或细胞群针对特定标记呈“阳性”的陈述是指,特定标记(通常是表面标记)在细胞上或细胞中的可检测存在。当提及表面标记时,所述术语是指如通过流式细胞术检测到的,表面表达的存在,例如通过用与所述标记特异性结合的抗体进行染色并检测所述抗体,其中所述染色通过流式细胞术按以下水平是可检测的,所述水平基本上高于在其他方面相同的条件下用同种型匹配对照进行相同程序检测到的染色,和/或所述水平基本上与已知对所述标记呈阳性的细胞的水平相似,和/或所述水平基本上高于已知对所述标记呈阴性的细胞的水平。

[0891] 如本文所用,细胞或细胞群对特定标记呈“阴性”的陈述是指,特定标记(通常是表面标记)在细胞上或细胞中不存在基本上可检测的存在。当提及表面标记时,所述术语是指如通过流式细胞术检测到的,表面表达的不存在,例如通过用与所述标记特异性结合的抗体进行染色并检测所述抗体,其中所述染色通过流式细胞术按以下水平没有检测到,所述水平基本上高于在其他方面相同的条件下用同种型匹配对照进行相同程序检测到的染色,和/或所述水平基本上低于已知对所述标记呈阳性的细胞的水平,和/或所述水平与已知对所述标记呈阴性的细胞的水平相比是基本上相似的。

[0892] 如本文所用,在关于氨基酸序列(参考多肽序列)使用时,“氨基酸序列同一性百分比(%)”和“同一性百分比”定义为,在比对序列并在必要时引入空位以实现最大序列同一性百分比并且不将任何保守取代视作序列同一性的一部分之后,候选序列(例如,主题抗体或片段)中与参考多肽序列中的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分比。用于确定氨基酸序列同一性百分比的比对可以以本领域熟知的多种方式来实现,例如,使用公众可获得的计算机软件,如BLAST、BLAST-2、ALIGN或Megalign(DNASTAR)软件。本领域技术人员可以确定用于比对的合适参数,包括在所比较的序列的全长上实现最大比对所需的任何算法。

[0893] 除非上下文另有明确规定,否则如本文所用,单数形式“一种/一个”(“a”)、“一种/一个”(“an”)和“所述”(“the”)包括复数指示物。例如,“一种/个(a或an)”意指“至少一种/个”或“一种/个或多个/个”。应理解,本文所述的方面和变化包括“由方面和变化组成”和/或“本质上由方面和变化组成”。

[0894] 在整个本公开文本中,所要求保护的主题的各个方面以范围形式呈现。应当理解,范围形式的描述仅仅是为了方便和简洁,并且不应被解释为对所要求保护的主题的范围的僵硬限制。因此,应当将范围的描述视为已明确公开所有可能的子范围以及该范围内的单独数值。例如,在提供值的范围的情况下,应理解,该范围的上限与下限之间的每个中间值以及该所陈述范围中的任何其他所陈述值或中间值涵盖在所要求保护的主题内。这些较小范围的上限和下限可以独立地被包括在所述较小范围内,并且也涵盖在所要求保护的主题内,受制于在所陈述范围内任何明确排除的限值。在所陈述范围包括所述限值中的一个或两个的情况下,排除那些所包括限值中的任何一个或两个的范围也被包括在所要求保护的主体内。无论范围的广度如何,这都适用。

[0895] 如本文所用的术语“约”是指本技术领域的技术人员容易知道的相应值的通常误差范围。本文对“约”值或参数的引用包括(并描述)涉及该值或参数本身的实施方案。例如,

提及“约X”的描述包括“X”的描述。

[0896] 如本文所用,组合物是指两种或更多种产物、物质或化合物(包括细胞)的任何混合物。其可以是溶液、悬浮液、液体、粉末、糊剂、水性、非水性或其任何组合。

[0897] 本申请中提及的所有出版物(包括专利文献、科学文章和数据库)出于所有目的通过引用以其全文并入,在程度上如同每个单独的出版物通过引用单独并入。如果本文所述的定义与通过引用并入本文的专利、申请、公开申请和其他出版物中阐述的定义相反或在其他方面不一致,则本文所述的定义优先于通过引用并入本文的定义。

[0898] 本文使用的章节标题仅用于组织目的,而不应解释为限制所描述的主题。

[0899] X. 示例性实施方案

[0900] 本文提供的实施方案包括:

[0901] 1. 一种治疗方法,所述方法包括:

[0902] (a) 向患有疾病或病症的受试者给予一定剂量的包含表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞的基因工程化细胞以治疗所述疾病或病症;

[0903] (b) 在给予所述剂量的基因工程化细胞后,监测所述受试者的血液中的CAR⁺ T细胞以评估所述细胞是否在治疗范围内,并且

[0904] (c) 如果所述基因工程化细胞不在所述治疗范围内,则向所述受试者给予能够在所述受试者中调节、任选增加或减少CAR⁺ T细胞扩增或增殖的药剂,

[0905] 其中所述治疗范围是:

[0906] (i) 基于先前用所述基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3⁺CAR⁺ T细胞或其CD8⁺CAR⁺ T细胞子集的范围,所述范围与大于或大于约65%的估计反应概率和小于或约30%的估计毒性概率相关;或

[0907] (ii) 在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的峰值CD3⁺CAR⁺ T细胞;或

[0908] (iii) 在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的峰值CD8⁺CAR⁺ T细胞。

[0909] 2. 一种治疗方法,所述方法包括:

[0910] (a) 在受试者的血液中监测包含表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞的基因工程化细胞的存在,以评估所述细胞是否在治疗范围内,其中所述受试者先前已经被给予一定剂量的所述基因工程化细胞以便治疗疾病或病症;并且(c) 如果所述基因工程化细胞不在所述治疗范围内,则向所述受试者给予能够在所述受试者中调节、任选增加或减少CAR⁺ T细胞扩增或增殖的药剂,

[0911] 其中所述治疗范围是:

[0912] (i) 基于先前用所述基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3⁺CAR⁺ T细胞或其CD8⁺CAR⁺ T细胞子集的范围,所述范围与大于或大于约65%的估计反应概率和小于或约30%的估计毒性概率相关;或

[0913] (ii) 在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的峰值CD3⁺CAR⁺ T细胞;或

[0914] (iii) 在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的峰值CD8⁺CAR⁺ T细胞。

[0915] 3. 根据实施方案1或实施方案2所述的方法, 其中如果所述受试者血液中CAR⁺ T细胞的峰值数量小于所述治疗范围内峰值CAR⁺ T细胞的最低数量, 则向所述受试者给予能够增加CAR⁺ T细胞扩增或增殖的药剂。

[0916] 4. 根据实施方案3所述的方法, 其中所述药剂能够进行CAR特异性扩增。

[0917] 5. 根据实施方案4所述的方法, 其中所述药剂是对所述CAR具有特异性的抗独特型抗体或其抗原结合片段、免疫检查点抑制剂、代谢途径调节剂、腺苷受体拮抗剂、激酶抑制剂、抗TGF β 抗体或抗TGF β 受体抗体或细胞因子。

[0918] 6. 根据实施方案1或实施方案2所述的方法, 其中如果所述受试者血液中CAR⁺ T细胞的峰值数量大于所述治疗范围内峰值CAR⁺ T细胞的最高数量, 则向所述受试者给予能够减少CAR⁺ T细胞扩增或增殖的药剂。

[0919] 7. 根据实施方案6所述的方法, 其中所述药剂是类固醇。

[0920] 8. 根据实施方案7所述的方法, 其中所述类固醇是皮质类固醇。

[0921] 9. 根据实施方案7或实施方案8所述的方法, 其中所述类固醇是地塞米松或甲基泼尼松龙。

[0922] 10. 根据实施方案7-9中任一项所述的方法, 其中将所述类固醇以一定的量给予, 所述量为在或在约1.0mg与约40mg之间、在或在约1.0mg与约20mg之间、在或在约2.0mg与约20mg之间、在或在约5.0mg与约25.0mg之间、在或在约10mg与约20mg之间的地塞米松或其等效物, 每个都包含端值。

[0923] 11. 根据实施方案7-10中任一项所述的方法, 其中将所述类固醇在等于或大于2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14天或更长时间的时间段内或在由任何前述值限定的范围内以多个剂量给予。

[0924] 12. 根据实施方案7-11中任一项所述的方法, 其中将所述类固醇每天给予一次、每天给予两次或每天给予三次或更多次。

[0925] 13. 根据实施方案7-12中任一项所述的方法, 其中将所述类固醇以一定的量给予, 所述量为每天或每24小时在或在约1.0mg与约80mg之间、在或在约1.0mg与约60mg之间、在或在约1.0mg与约40mg之间、在或在约1.0mg与约20mg之间、在或在约1.0mg与约10mg之间、在或在约2.0mg与约80mg之间、在或在约2.0mg与约60mg之间、在或在约2.0mg与约40mg之间、在或在约2.0mg与约20mg之间、在或在约2.0mg与约10mg之间、在或在约5.0mg与约80mg之间、在或在约5.0mg与约60mg之间、在或在约5.0mg与约40mg之间、在或在约5.0mg与约20mg之间、在或在约5.0mg与约10mg之间、在或在约10mg与约80mg之间、在或在约10mg与约60mg之间、在或在约10mg与约40mg之间、在或在约10mg与约20mg之间的地塞米松或其等效物, 每个都包含端值, 或为每天或每24小时约10mg、20mg、40mg或80mg地塞米松或其等效物。

[0926] 14. 根据实施方案1-13中任一项所述的方法, 其中在开始给予所述基因工程化细胞后至少8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天或21天的时间, 监测所述受试者的血液中的CAR⁺ T细胞。

[0927] 15. 根据实施方案1-14中任一项所述的方法, 其中在开始给予所述基因工程化细胞后在或在约11天至22天、12天至18天或14天至16天之间的时间监测所述受试者的血液中的CAR⁺ T细胞, 所述时间中的每个都包含端值。

[0928] 16. 根据实施方案1-15中任一项所述的方法, 其中将所述药剂在开始给予所述基

因工程化细胞后大于或大于约8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天或21天的时间给予。

[0929] 17. 根据实施方案1-16中任一项所述的方法, 其中将所述药剂在开始给予所述基因工程化细胞后在或在约11天至22天、12天至18天或14天至16天之间的时间给予, 所述时间中的每个都包含端值。

[0930] 18. 一种调节工程化细胞活性的方法, 所述方法包括:

[0931] (a) 选择受试者, 其中来自所述受试者的样品中的肿瘤负荷的体积量度或炎性标记的水平、量或浓度等于或高于阈值水平, 其中所述样品不包含表达嵌合抗原受体 (CAR) 的基因工程化T细胞和/或是在接受表达CAR的基因工程化T细胞的给予之前从所述受试者获得; 并且

[0932] (b) 向所选受试者给予能够减少表达CAR的基因工程化T细胞的扩增或增殖的药剂。

[0933] 19. 一种调节工程化细胞活性的方法, 所述方法包括向受试者给予能够在受试者中减少表达嵌合抗原受体 (CAR) 的基因工程化T细胞的扩增或增殖的药剂, 其中所述受试者是其中在来自所述受试者的样品中肿瘤负荷的体积量度或炎性标记的水平、量或浓度等于或高于阈值水平的受试者。

[0934] 20. 根据实施方案18或实施方案19所述的方法, 其中将所述药剂在开始给予一定剂量的基因工程化细胞之前或同时给予, 所述基因工程化细胞包含表达嵌合抗原受体的T细胞。

[0935] 21. 根据实施方案20所述的方法, 其中所述方法还包括给予一定剂量的所述基因工程化细胞。

[0936] 22. 根据实施方案18-21中任一项所述的方法, 其中所述受试者患有疾病或病症, 并且所述基因工程化细胞用于治疗所述疾病或病症。

[0937] 23. 根据实施方案18-22中任一项所述的方法, 其中在给予所述药剂之前, 所述选择的受试者具有在给予所述基因工程化细胞后发生毒性的风险。

[0938] 24. 根据实施方案17-23中任一项所述的方法, 其中所述药剂的给予足以在所述受试者中、或在大多数通过所述方法如此治疗的选择的受试者中、或在大于75%的通过所述方法如此治疗的所选受试者中, 实现在治疗范围内的峰值CAR⁺ T细胞。

[0939] 25. 根据实施方案24所述的方法, 其中所述治疗范围是:

[0940] (i) 基于先前用所述基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3⁺CAR⁺ T细胞或其CD8⁺CAR⁺ T细胞子集的范围, 所述范围与大于或大于约65%的估计反应概率和小于或约30%的估计毒性概率相关; 或

[0941] (ii) 在给予所述基因工程化细胞之后, 血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的峰值CD3⁺CAR⁺ T细胞; 或

[0942] (iii) 在给予所述基因工程化细胞之后, 血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的峰值CD8⁺CAR⁺ T细胞。

[0943] 26. 根据实施方案18-25中任一项所述的方法, 其中测量肿瘤负荷的体积量度, 并且所述体积量度是直径乘积之和 (SPD)、最长肿瘤直径 (LD)、最长肿瘤直径之和 (SLD)、肿瘤体积、坏死体积、坏死-肿瘤比率 (NTR)、瘤周水肿 (PTE)、以及水肿-肿瘤比率 (ETR)。

- [0944] 27. 根据实施方案18-26中任一项所述的方法, 其中所述体积量度是直径乘积之和 (SPD)。
- [0945] 28. 根据实施方案18-27中任一项所述的方法, 其中使用所述受试者的计算机断层成像 (CT)、正电子发射断层成像 (PET) 和/或磁共振成像 (MRI) 测量所述体积量度。
- [0946] 29. 根据实施方案18-25中任一项所述的方法, 其中测量来自所述受试者的样品中的炎性标记, 并且所述炎性标记是C反应蛋白 (CRP)、红细胞沉降率 (ESR)、白蛋白、铁蛋白、 β 2微球蛋白 (β 2-M)、乳酸脱氢酶 (LDH)、细胞因子或趋化因子。
- [0947] 30. 根据实施方案18-25和29中任一项所述的方法, 其中所述炎性标记是LDH。
- [0948] 31. 根据实施方案18-25和29中任一项所述的方法, 其中所述炎性标记是细胞因子或趋化因子, 所述细胞因子或趋化因子是IL-7、IL15、MIP-1 α 或TNF- α 。
- [0949] 32. 根据实施方案18-25、29和31中任一项所述的方法, 其中所述细胞因子或趋化因子与巨噬细胞或单核细胞激活相关。
- [0950] 33. 根据实施方案18-25和29-32中任一项所述的方法, 其中所述样品是或包含血液样品、血浆样品或血清样品。
- [0951] 34. 根据实施方案18-25和29-33中任一项所述的方法, 其中使用比色测定或免疫测定来评估所述炎性标记。
- [0952] 35. 根据实施方案34所述的方法, 其中使用免疫测定来评估所述炎性标记, 并且所述免疫测定选自酶联免疫吸附测定 (ELISA)、酶免疫测定 (EIA)、放射免疫测定 (RIA)、表面等离子体共振 (SPR)、蛋白质印迹、侧向流测定、免疫组织化学、蛋白质阵列或免疫PCR (iPCR)。
- [0953] 36. 根据实施方案18-35中任一项所述的方法, 其中所述阈值是如下值:
- [0954] i) 在高于所述体积量度或炎性标记的平均值的25%内、20%内、15%内、10%内或5%内和/或在高于多个对照受试者的所述体积量度或所述炎性标记的平均值的标准差内;
- [0955] ii) 高于所述体积量度或炎性标记的最高值, 任选地在高于这个最高倍数变化的50%内、25%内、20%内、15%内、10%内或5%内, 这是在选自多个对照受试者的至少一个受试者中测量的; 和/或
- [0956] iii) 高于所述体积量度或炎性标记的最高值, 如在来自多个对照受试者的超过75%、80%、85%、90%或95%或98%的受试者中所测量的。
- [0957] 37. 根据实施方案36所述的方法, 其中所述多个对照受试者是在接受一定剂量的所述基因工程化细胞之前的受试者组, 其中:
- [0958] 所述组的每个所述对照受试者在血液中展现出比所述治疗范围内的最高峰值CAR+ T细胞高的峰值CAR+ T细胞;
- [0959] 在接受一定剂量的用于治疗相同疾病或病症的所述工程化细胞后, 所述组的每个所述对照受试者继续发生毒性, 任选神经毒性或细胞因子释放综合征 (CRS)、2级或3级或更高级神经毒性或者3级或更高级CRS;
- [0960] 在给予所述剂量的基因工程化细胞后, 所述组的每个所述对照受试者均未发生反应、任选完全反应 (CR) 或部分反应 (PR); 和/或
- [0961] 在给予所述剂量的基因工程化细胞后, 所述组的每个所述对照受试者均未发生任选持续为或约或大于或大于约3个月或者持续为或约或大于或大于约6个月的持久反应。

[0962] 38. 根据实施方案18-37中任一项所述的方法, 其中所述体积量度是SPD, 并且所述阈值为或为约 30cm^2 , 为或为约 40cm^2 , 为或为约 50cm^2 , 为或为约 60cm^2 , 或者为或为约 70cm^2 。

[0963] 39. 根据实施方案18-38中任一项所述的方法, 其中所述炎性标记是LDH, 并且所述阈值为或为约300单位/升, 为或为约400单位/升, 为或为约500单位/升, 或者为或为约600单位/升。

[0964] 40. 根据实施方案18-39中任一项所述的方法, 其中所述药剂是类固醇。

[0965] 41. 根据实施方案40所述的方法, 其中所述类固醇是皮质类固醇。

[0966] 42. 根据实施方案40或实施方案41所述的方法, 其中所述类固醇是地塞米松或甲基泼尼松龙。

[0967] 43. 根据实施方案40-42中任一项所述的方法, 其中将所述类固醇以一定的量给予, 所述量为在或在约1.0mg与约40mg之间、在或在约1.0mg与约20mg之间、在或在约2.0mg与约20mg之间、在或在约5.0mg与约25.0mg之间、在或在约10mg与约20mg之间的地塞米松或其等效物, 每个都包含端值。

[0968] 44. 根据实施方案40-43中任一项所述的方法, 其中将所述类固醇在等于或大于2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14天或更长时间的时间段内或在由任何前述值限定的范围内以多个剂量给予。

[0969] 45. 根据实施方案40-44中任一项所述的方法, 其中将所述类固醇每天给予一次、每天给予两次或每天给予三次或更多次。

[0970] 46. 根据实施方案40-45中任一项所述的方法, 其中将所述类固醇以一定的量给予, 所述量为每天或每24小时在或在约1.0mg与约80mg之间、在或在约1.0mg与约60mg之间、在或在约1.0mg与约40mg之间、在或在约1.0mg与约20mg之间、在或在约1.0mg与约10mg之间、在或在约2.0mg与约80mg之间、在或在约2.0mg与约60mg之间、在或在约2.0mg与约40mg之间、在或在约2.0mg与约20mg之间、在或在约2.0mg与约10mg之间、在或在约5.0mg与约80mg之间、在或在约5.0mg与约60mg之间、在或在约5.0mg与约40mg之间、在或在约5.0mg与约20mg之间、在或在约5.0mg与约10mg之间、在或在约10mg与约80mg之间、在或在约10mg与约60mg之间、在或在约10mg与约40mg之间、在或在约10mg与约20mg之间的地塞米松或其等效物, 每个都包含端值, 或为每天或每24小时约10mg、20mg、40mg或80mg地塞米松或其等效物。

[0971] 47. 根据实施方案18-46中任一项所述的方法, 其中在开始给予所述基因工程化细胞之前1天、2天、3天、4天、6天、8天、12天、16天、20天、24天、28天或更长时间内, 在所述受试者中测量所述体积量度或炎性标记。

[0972] 48. 一种向受试者给药的方法, 所述方法包括向患有疾病或病症的受试者给予一定剂量的包含表达嵌合抗原受体 (CAR) 的T细胞的基因工程化细胞, 其中所述剂量包含的所述基因工程化细胞的数量足以在所述受试者中、或在大多数通过所述方法如此治疗的受试者中、或在超过75%的通过所述方法如此治疗的所述受试者中, 实现在确定的治疗范围内的血液中的峰值CAR+细胞, 其中所述治疗范围是:

[0973] (i) 基于先前用所述基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3+CAR+ T细胞或其CD8+CAR+ T细胞子集的范围, 所述范围与大于或大于约65%的估计反应概率和小于或约30%的估计毒性概率相关; 或

[0974] (ii) 在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的峰值CD3+CAR+ T细胞;或

[0975] (iii) 在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR+ T细胞。

[0976] 49. 根据实施方案1-48中任一项所述的方法,其中所述剂量的基因工程化细胞包含从或从约 1×10^5 至 5×10^8 个总CAR表达T细胞、 1×10^6 至 2.5×10^8 个总CAR表达T细胞、 5×10^6 至 1×10^8 个总CAR表达T细胞、 1×10^7 至 2.5×10^8 个总CAR表达T细胞、 5×10^7 至 1×10^8 个总CAR表达T细胞,每个都包含端值。

[0977] 50. 根据实施方案1-49中任一项所述的方法,其中所述剂量的基因工程化细胞包含至少或至少约 1×10^5 个表达CAR的细胞、至少或至少约 2.5×10^5 个表达CAR的细胞、至少或至少约 5×10^5 个表达CAR的细胞、至少或至少约 1×10^6 个表达CAR的细胞、至少或至少约 2.5×10^6 个表达CAR的细胞、至少或至少约 5×10^6 个表达CAR的细胞、至少或至少约 1×10^7 个表达CAR的细胞、至少或至少约 2.5×10^7 个表达CAR的细胞、至少或至少约 5×10^7 个表达CAR的细胞、至少或至少约 1×10^8 个表达CAR的细胞、至少或至少约 2.5×10^8 个表达CAR的细胞、或者至少或至少约 5×10^8 个表达CAR的细胞。

[0978] 51. 一种向受试者给药的方法,所述方法包括:

[0979] (a) 向患有疾病或病症的受试者给予次最佳剂量的包含用嵌合抗原受体(CAR)工程化的T细胞的基因工程化细胞,其中所述剂量包含的所述基因工程化细胞的数量不足以在所述受试者中、或在大多数通过所述方法如此治疗的受试者中、或在超过75%的通过所述方法如此治疗的所述受试者中,实现在确定的治疗范围内的血液中的峰值CAR+细胞;和

[0980] (b) 在给予所述基因工程化细胞后,给予药剂以增强所述受试者中CAR+细胞的扩增或增殖,以实现在所述治疗范围内的血液中的峰值CAR+ T细胞,其中所述治疗范围是:

[0981] (i) 基于先前用所述基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3+CAR+ T细胞或其CD8+CAR+ T细胞子集的范围,所述范围与大于或大于约65%的估计反应概率和小于或约30%的估计毒性概率相关;或

[0982] (ii) 在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的峰值CD3+CAR+ T细胞;或

[0983] (iii) 在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR+ T细胞。

[0984] 52. 根据实施方案51所述的方法,其中在给予所述剂量的基因工程化细胞后,所述方法包括监测所述受试者的血液中的所述CAR+ T细胞。

[0985] 53. 根据实施方案51或实施方案52所述的方法,其中在给予所述药剂后,所述方法实现:

[0986] 与涉及给予相同剂量的基因工程化细胞但不给予所述药剂的方法相比,在所述受试者中在确定的治疗范围内的血液中峰值CAR+细胞的频率增加;或

[0987] 在所述受试者中、或在大多数通过所述方法如此治疗的受试者中、或在超过75%的通过所述方法如此治疗的所述受试者中,在确定的治疗范围内的血液中的峰值CAR+细胞。

[0988] 54. 根据实施方案51-53中任一项所述的方法,其中基因工程化细胞的所述剂量小

于或小于约 1×10^7 个表达CAR的细胞、小于或小于约 5×10^6 个表达CAR的细胞、小于或小于约 2.5×10^6 个表达CAR的细胞、小于或小于约 1×10^6 个表达CAR的细胞、小于或小于约 5×10^5 个表达CAR的细胞、小于或小于约 2.5×10^5 个表达CAR的细胞、小于或小于约 1×10^5 个表达CAR的细胞。

[0989] 55. 根据实施方案51-54中任一项所述的方法, 其中所述药剂能够增加所述CAR⁺ T细胞的扩增、任选CAR特异性扩增。

[0990] 56. 根据实施方案55所述的方法, 其中所述药剂是对所述CAR具有特异性的抗独特型抗体或其抗原结合片段、免疫检查点抑制剂、代谢途径调节剂、腺苷受体拮抗剂、激酶抑制剂、抗TGF β 抗体或抗TGF β R抗体或细胞因子。

[0991] 57. 根据实施方案1-56中任一项所述的方法, 其中在所治疗的多个受试者中, 与不包括给予所述药剂的方法相比, 所述方法实现了实现持久反应、任选完全反应 (CR) 或客观反应 (OR) 或部分反应 (PR) 的受试者的百分比的增加, 所述持久反应任选在等于或大于3个月或者等于或大于6个月内是持久的。

[0992] 58. 根据实施方案1-57中任一项所述的方法, 其中所述增加为大于或大于约1.2倍、1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍或更多。

[0993] 59. 根据实施方案1-58中任一项所述的方法, 其中:

[0994] 至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%或至少50%的根据所述方法治疗的受试者实现完全反应 (CR), 所述完全反应在等于或大于3个月或等于或大于6个月内是持久的; 和/或

[0995] 至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%或至少70%的根据所述方法治疗的所述受试者实现客观反应 (OR), 所述客观反应在等于或大于3个月或等于或大于6个月内是持久的。

[0996] 60. 根据实施方案1-59中任一项所述的方法, 其中:

[0997] 大于或大于约50%、大于或大于约60%、大于或大于约70%、或者大于或大于约80%的根据所述方法治疗的所述受试者不展现3级或更高级细胞因子释放综合征 (CRS) 和/或不展现2级或更高级或3级或更高级神经毒性; 或

[0998] 大于或大于约40%、大于或大于约50%、或者大于或大于约55%的根据所述方法治疗的所述受试者不展现任何神经毒性或CRS。

[0999] 61. 根据实施方案1-60中任一项所述的方法, 其中将峰值CAR⁺ T细胞确定为所述受试者血液中的CAR⁺ T细胞数量/微升。

[1000] 62. 根据实施方案1-61中任一项所述的方法, 其中所述治疗范围是其中估计毒性概率小于20%、小于15%、小于10%或小于5%并且实现反应的估计概率大于65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多的范围。

[1001] 63. 根据实施方案1-62中任一项所述的方法, 其中所述毒性概率基于选自以下各项的毒性:

[1002] 任何神经毒性或细胞因子释放综合征 (CRS);

[1003] 严重毒性或3级或更高级毒性;

[1004] 严重CRS或3级或更高级CRS; 或

[1005] 严重神经毒性、2级或更高级神经毒性或3级或更高级神经毒性。

[1006] 64. 根据实施方案1-63中任一项所述的方法,其中所述毒性概率基于严重毒性或3级或更高级毒性的概率。

[1007] 65. 根据实施方案63或实施方案64所述的方法,其中所述严重毒性是3-5级神经毒性。

[1008] 66. 根据实施方案1-65中任一项所述的方法,其中所述反应概率基于作为完全反应(CR)、客观反应(OR)或部分反应(PR)的反应,任选地其中所述反应是持久的,任选在等于或至少3个月或者等于或至少6个月内持久的。

[1009] 67. 根据实施方案1-66中任一项所述的方法,其中所述反应是骨髓反应,如基于对所述受试者骨髓中恶性免疫球蛋白重链基因座(IGH)和/或指标克隆的存在的评估所确定的。

[1010] 68. 根据实施方案67所述的方法,其中所述恶性IGH和/或指标克隆是通过流式细胞术或IgH测序来评估。

[1011] 69. 一种评估持久反应的可能性的方法,所述方法包括:

[1012] (a) 在来自受试者的生物样品中检测一种或多种炎性标记的峰值水平和/或包含表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞的基因工程化细胞的峰值水平,其中所述受试者先前已经被给予一定剂量的所述基因工程化细胞以治疗疾病或病症;以及

[1013] (b) 单独地比较所述峰值水平与阈值,从而确定受试者将实现对给予所述基因工程化细胞的持久反应的可能性。

[1014] 70. 根据实施方案69所述的方法,其中:

[1015] 如果所述一种或多种炎性标记的峰值水平低于阈值,则所述受试者可能实现持久反应,并且如果所述一种或多种炎性标记的峰值水平高于阈值,则所述受试者不太可能实现持久反应;或

[1016] 如果所述基因工程化细胞的峰值水平在下限阈值与上限阈值之间的治疗范围内,则所述受试者可能实现持久反应,并且如果所述基因工程化细胞的峰值水平低于所述下限阈值或高于所述上限阈值,则所述受试者不太可能实现持久反应。

[1017] 71. 根据实施方案69或实施方案70所述的方法,如果确定所述受试者不太可能实现持久反应,则还包括选择受试者以用除了所述基因工程化细胞之外的治疗剂或替代性治疗性治疗来治疗。

[1018] 72. 根据实施方案69-71中任一项所述的方法,如果确定所述受试者不太可能实现持久反应,则所述方法还包括给予除了所述基因工程化细胞之外的治疗剂或替代性治疗性治疗。

[1019] 73. 一种治疗方法,其包括:

[1020] (a) 选择已经接受基因工程化细胞的给予的受试者,所述基因工程化细胞包含表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞,其中:

[1021] 来自所述受试者的样品中的一种或多种炎性标记的峰值水平高于阈值;和/或

[1022] 来自所述受试者的样品中的包含嵌合抗原受体(CAR)的T细胞的峰值水平低于下限阈值或高于上限阈值;以及

[1023] (b) 向所述受试者给予除了所述基因工程化细胞之外的治疗剂或替代性治疗性治疗。

[1024] 74. 根据实施方案69-72中任一项所述的方法,其中所述反应是完全反应(CR)、客观反应(OR)或部分反应(PR)。

[1025] 75. 根据实施方案69-72和74中任一项所述的方法,其中所述反应在等于或大于3个月、4个月、5个月或6个月内是持久的。

[1026] 76. 根据实施方案69-75中任一项所述的方法,其中在开始给予所述基因工程化细胞后至少8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天或21天的时间评估所述峰值水平和/或从所述受试者获得所述样品。

[1027] 77. 根据实施方案69-76中任一项所述的方法,其中在开始给予所述基因工程化细胞后在或在约11天至22天、12天至18天或14天至16天之间的时间评估所述峰值水平和/或从所述受试者获得所述样品,所述时间中的每个都包含端值。

[1028] 78. 根据实施方案69-77中任一项所述的方法,其中所述峰值水平是一种或多种炎性标记的峰值水平,并且所述炎性标记选自C反应蛋白(CRP)、IL-2、IL-6、IL-10、IL-15、TNF- α 、MIP-1 α 、MIP-1 β 、MCP-1、CXCL10或CCL13。

[1029] 79. 根据实施方案70-78中任一项所述的方法,其中评估一种或多种炎性标记的峰值水平,并且所述阈值在所述炎性标记的峰值水平的中值或平均值的25%内、20%内、15%内、10%内或5%内和/或在所述炎性标记的峰值水平的中值或平均值的标准差内,如在已经接受所述基因工程化细胞的给予的对照受试者组中所确定的,其中任选地在给予所述基因工程化细胞后等于或大于3个月或6个月,所述组的每个受试者未实现持久反应、任选CR和/或PR。

[1030] 80. 根据实施方案79所述的方法,其中在给予所述基因工程化细胞后,任选在给予所述基因工程化细胞后等于或大于3个月或6个月,所述对照受试者展现出稳定疾病(SD)或进行性疾病(PD)。

[1031] 81. 根据实施方案69-77中任一项所述的方法,其中所述峰值水平是CAR⁺ T细胞或其CD8⁺ T细胞子集的峰值水平。

[1032] 82. 根据实施方案70-77和81中任一项所述的方法,所述下限阈值和上限阈值分别是在先前用所述基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中峰值CD3+CAR⁺ T细胞或其CD8+CAR⁺ T细胞子集的治疗范围的下限和上限,所述治疗范围与大于或大于约65%的估计反应概率和小于或约30%的估计毒性概率相关。

[1033] 83. 根据实施方案70-77、81和82中任一项所述的方法,其中所述治疗范围是其中估计毒性概率小于20%、小于15%、小于10%或小于5%并且实现反应的估计概率大于65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多的范围。

[1034] 84. 根据实施方案82或实施方案83所述的方法,其中所述毒性概率基于选自以下各项的毒性:

[1035] 任何神经毒性或细胞因子释放综合征(CRS);

[1036] 严重毒性或3级或更高级毒性;

[1037] 严重CRS或3级或更高级CRS;或

[1038] 严重神经毒性、2级或更高级神经毒性或3级或更高级神经毒性。

[1039] 85. 根据实施方案82-84中任一项所述的方法,其中所述反应概率基于作为完全反应(CR)、客观反应(OR)或部分反应(PR)的反应,任选地其中所述反应是持久的,任选在等于

或至少3个月或者等于或至少6个月内持久的。

[1040] 86. 根据实施方案70-77和81-85中任一项所述的方法, 其中将峰值CAR+T细胞确定为所述受试者血液中的CAR+ T细胞数量/微升。

[1041] 87. 根据权利要求70-77和81-86中任一项所述的方法, 其中:

[1042] 所述上限阈值在或在约300个细胞/微升与1000个细胞/微升之间、或400个细胞/微升与600个细胞/微升之间、或为约300个细胞/微升、400个细胞/微升、500个细胞/微升、600个细胞/微升、700个细胞/微升、800个细胞/微升、900个细胞/微升、或1000个细胞/微升; 或

[1043] 所述下限阈值小于或小于约10个细胞/微升、9个细胞/微升、8个细胞/微升、7个细胞/微升、6个细胞/微升、5个细胞/微升、4个细胞/微升、3个细胞/微升、2个细胞/微升或1个细胞/微升。

[1044] 88. 根据实施方案69-87中任一项所述的方法, 其中所述样品是血液样品或血浆样品。

[1045] 89. 根据实施方案69-88中任一项所述的方法, 其中所述方法是离体进行的。

[1046] 90. 根据实施方案71-89中任一项所述的方法, CAR+ T细胞的所述峰值水平低于下限阈值, 并且所述治疗剂是能够减少CAR+ T细胞扩增或增殖的药剂。

[1047] 91. 根据实施方案90所述的方法, 其中所述药剂是类固醇。

[1048] 92. 根据实施方案91所述的方法, 其中所述类固醇是皮质类固醇。

[1049] 93. 根据实施方案91或实施方案92所述的方法, 其中所述类固醇是地塞米松或甲基泼尼松龙。

[1050] 94. 根据实施方案91-93中任一项所述的方法, 其中将所述类固醇以一定的量给予, 所述量为在或在约1.0mg与约40mg之间、在或在约1.0mg与约20mg之间、在或在约2.0mg与约20mg之间、在或在约5.0mg与约25.0mg之间、在或在约10mg与约20mg之间的地塞米松或其等效物, 每个都包含端值。

[1051] 95. 根据实施方案91-94中任一项所述的方法, 其中将所述类固醇在等于或大于2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14天或更长时间的时间段内或在由任何前述值限定的范围内以多个剂量给予。

[1052] 96. 根据实施方案91-95中任一项所述的方法, 其中将所述类固醇每天给予一次、每天给予两次或每天给予三次或更多次。

[1053] 97. 根据实施方案91-96中任一项所述的方法, 其中将所述类固醇以一定的量给予, 所述量为每天或每24小时在或在约1.0mg与约80mg之间、在或在约1.0mg与约60mg之间、在或在约1.0mg与约40mg之间、在或在约1.0mg与约20mg之间、在或在约1.0mg与约10mg之间、在或在约2.0mg与约80mg之间、在或在约2.0mg与约60mg之间、在或在约2.0mg与约40mg之间、在或在约2.0mg与约20mg之间、在或在约2.0mg与约10mg之间、在或在约5.0mg与约80mg之间、在或在约5.0mg与约60mg之间、在或在约5.0mg与约40mg之间、在或在约5.0mg与约20mg之间、在或在约5.0mg与约10mg之间、在或在约10mg与约80mg之间、在或在约10mg与约60mg之间、在或在约10mg与约40mg之间、在或在约10mg与约20mg之间的地塞米松或其等效物, 每个都包含端值, 或为每天或每24小时约10mg、20mg、40mg或80mg地塞米松或其等效物。

[1054] 98. 根据实施方案71-89中任一项所述的方法, CAR+ T细胞的所述峰值水平高于所述上限阈值, 并且所述治疗剂是能够增加所述CAR+ T细胞的扩增、任选CAR特异性扩增的药剂。

[1055] 99. 根据实施方案98所述的方法, 其中所述药剂是对所述CAR具有特异性的抗独特型抗体或其抗原结合片段、免疫检查点抑制剂、代谢途径调节剂、腺苷受体拮抗剂、激酶抑制剂、抗TGF β 抗体或抗TGF β R抗体或细胞因子。

[1056] 100. 根据实施方案1-99中任一项所述的方法, 其中所述疾病或病症是癌症。

[1057] 101. 根据实施方案100所述的方法, 其中所述癌症是B细胞恶性肿瘤。

[1058] 102. 根据实施方案101所述的方法, 其中所述癌症选自肉瘤、癌、淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤(NHL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、白血病、CLL、ALL、AML和骨髓瘤。

[1059] 103. 根据实施方案102所述的方法, 其中所述癌症是胰腺癌、膀胱癌、结直肠癌、乳腺癌、前列腺癌、肾癌、肝细胞癌、肺癌、卵巢癌、宫颈癌、胰腺癌、直肠癌、甲状腺癌、子宫癌、胃癌、食道癌、头颈癌、黑色素瘤、神经内分泌癌、CNS癌、脑肿瘤、骨癌或软组织肉瘤。

[1060] 104. 根据实施方案1-103中任一项所述的方法, 其中所述受试者是人。

[1061] 105. 根据实施方案1-104中任一项所述的方法, 其中所述CAR特异性地结合至与疾病或病症相关和/或在与所述疾病或病症相关的细胞中表达的抗原。

[1062] 106. 根据实施方案105所述的方法, 其中所述抗原选自 α v β 6整合素(α v β 6整合素)、B细胞成熟抗原(BCMA)、B7-H3、B7-H6、碳酸酐酶9(CA9, 也称为CAIX或G250)、癌症-睾丸抗原、癌症/睾丸抗原1B(CTAG, 也称为NY-ESO-1和LAGE-2)、癌胚抗原(CEA)、细胞周期蛋白、细胞周期蛋白A2、C-C基序趋化因子配体1(CCL-1)、CD19、CD20、CD22、CD23、CD24、CD30、CD33、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD123、CD138、CD171、表皮生长因子蛋白(EGFR)、表皮生长因子受体III型突变体(EGFR vIII)、上皮糖蛋白2(EPG-2)、上皮糖蛋白40(EPG-40)、肝配蛋白B2、肝配蛋白受体A2(EPHa2)、雌激素受体、Fc受体样蛋白5(FCRL5; 也称为Fc受体同源物5或FCRH5)、胎儿乙酰胆碱受体(胎儿AChR)、叶酸结合蛋白(FBP)、叶酸受体 α 、神经节苷脂GD2、O-乙酰化GD2(OGD2)、神经节苷脂GD3、糖蛋白100(gp100)、G蛋白偶联受体5D(GPRC5D)、Her2/neu(受体酪氨酸激酶erb-B2)、Her3(erb-B3)、Her4(erb-B4)、erbB二聚体、人高分子量黑色素瘤相关抗原(HMW-MAA)、乙型肝炎表面抗原、人白细胞抗原A1(HLA-A1)、人白细胞抗原A2(HLA-A2)、IL-22受体 α (IL-22Ra)、IL-13受体 α 2(IL-13Ra2)、激酶插入结构域受体(kdr)、 κ 轻链、L1细胞粘附分子(L1-CAM)、L1-CAM的CE7表位、含有富亮氨酸重复序列的蛋白8家族成员A(LRRC8A)、路易斯Y、黑色素瘤相关抗原(MAGE)-A1、MAGE-A3、MAGE-A6、间皮素、c-Met、鼠类巨细胞病毒(CMV)、粘蛋白1(MUC1)、MUC16、自然杀伤细胞2族成员D(NKG2D)配体、黑色素A(MART-1)、神经细胞粘附分子(NCAM)、癌胚胎抗原、黑色素瘤优先表达抗原(PRAME)、孕酮受体、前列腺特异性抗原、前列腺干细胞抗原(PSCA)、前列腺特异性膜抗原(PSMA)、受体酪氨酸激酶样孤儿受体1(ROR1)、存活蛋白、滋养层糖蛋白(TPBG, 也称为5T4)、肿瘤相关糖蛋白72(TAG72)、血管内皮生长因子受体(VEGFR)、血管内皮生长因子受体2(VEGFR2)、Wilms肿瘤1(WT-1)、病原体特异性或病原体表达的抗原、或与通用标签相关的抗原、和/或生物素化分子、和/或由HIV、HCV、HBV或其他病原体表达的分子。

[1063] 107. 根据实施方案105或实施方案106的方法, 其中所述抗原选自5T4、8H9、 α v β 6整合素、B7-H6、B细胞成熟抗原(BCMA)、CA9、癌症-睾丸抗原、碳酸酐酶9(CAIX)、CCL-1、CD19、

CD20、CD22、CEA、乙型肝炎表面抗原、CD23、CD24、CD30、CD33、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD123、CD138、CD171、癌胚抗原 (CEA)、CE7、细胞周期蛋白、细胞周期蛋白A2、c-Met、双重抗原、EGFR、上皮糖蛋白2 (EPG-2)、上皮糖蛋白40 (EPG-40)、EPHa2、肝配蛋白B2、erb-B2、erb-B3、erb-B4、erbB二聚体、EGFR vIII、雌激素受体、胎儿AchR、叶酸受体 α 、叶酸结合蛋白 (FBP)、FCRL5、FCRH5、胎儿乙酰胆碱受体、G250/CAIX、GD2、GD3、gp100、Her2/neu (受体酪氨酸激酶erbB2)、HMW-MAA、IL-22R- α 、IL-13受体 α 2 (IL-13Ra2)、激酶插入结构域受体 (kdr)、 κ 轻链、路易斯Y、L1细胞粘附分子 (L1-CAM)、黑色素瘤相关抗原 (MAGE) -A1、MAGE-A3、MAGE-A6、MART-1、间皮素、鼠CMV、粘蛋白1 (MUC1)、MUC16、NCAM、NKG2D、NKG2D配体、NY-ESO-1、O-乙酰化GD2 (OGD2)、癌胚胎抗原、黑色素瘤优先表达抗原 (PRAME)、PSCA、孕酮受体、存活蛋白、ROR1、TAG72、VEGF受体、VEGF-R2、Wilms肿瘤1 (WT-1)、病原体特异性抗原。

[1064] 108. 根据实施方案1-107中任一项所述的方法, 其中所述嵌合抗原受体 (CAR) 包含与所述抗原特异性结合的细胞外抗原识别结构域和包含ITAM的细胞内信号传导结构域。

[1065] 109. 根据实施方案108所述的方法, 其中所述细胞内信号传导结构域包含CD3-zeta (CD3 ζ) 链的细胞内结构域。

[1066] 110. 根据实施方案108或实施方案109所述的方法, 其中所述嵌合抗原受体 (CAR) 还包含共刺激信号传导区。

[1067] 111. 根据实施方案110所述的方法, 其中所述共刺激信号传导区包含CD28或4-1BB的信号传导结构域。

[1068] 112. 根据实施方案110或实施方案111所述的方法, 其中所述共刺激结构域是4-1BB的结构域。

[1069] 113. 根据实施方案1-112中任一项所述的方法, 其中所述细胞是T细胞。

[1070] 114. 根据实施方案113所述的方法, 其中所述T细胞是CD4⁺或CD8⁺。

[1071] 115. 根据实施方案1-114中任一项所述的方法, 其中所述T细胞是从受试者获得的原代T细胞。

[1072] 116. 根据实施方案1-115中任一项所述的方法, 其中所述基因工程化细胞的细胞对于所述受试者是自体的。

[1073] 117. 根据实施方案1-115中任一项所述的方法, 其中所述基因工程化细胞的细胞对于所述受试者是同种异体的。

[1074] 118. 一种试剂盒, 所述试剂盒包含: 组合物, 所述组合物包含含有表达嵌合抗原受体 (CAR) 的T细胞的基因工程化细胞; 以及根据或基于评估峰值CAR⁺ T细胞是否在治疗范围内的结果向受试者给予一定剂量的所述细胞的说明书, 其中所述治疗范围是:

[1075] (i) 基于先前用所述基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3⁺CAR⁺ T细胞或其CD8⁺CAR⁺ T细胞子集的范围, 所述范围与大于或大于约65%的估计反应概率和小于或约30%的估计毒性概率相关; 或

[1076] (ii) 在给予所述基因工程化细胞之后, 血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的峰值CD3⁺CAR⁺ T细胞; 或

[1077] (iii) 在给予所述基因工程化细胞之后, 血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的峰值CD8⁺CAR⁺ T细胞。

[1078] 119. 根据实施方案118所述的试剂盒, 其中所述说明书详细说明, 如果所述基因工

程化细胞不在所述治疗范围内,则向所述受试者给予能够在所述受试者中调节、任选增加或减少CAR⁺ T细胞扩增或增殖的药剂。

[1079] 120.根据实施方案119所述的试剂盒,其中所述试剂盒还包含所述药剂。

[1080] 121.一种试剂盒,所述试剂盒包含:能够在受试者中调节、任选增加或减少包含CAR⁺ T细胞的基因工程化细胞的扩增或增殖的药剂,以及将所述药剂给予至受试者的说明书,已经基于评估峰值CAR⁺ T细胞是否在治疗范围内的结果向所述受试者给予所述基因工程化细胞,其中所述治疗范围是:

[1081] (i) 基于先前用所述基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3+CAR⁺ T细胞或其CD8+CAR⁺ T细胞子集的范围,所述范围与大于或大于约65%的估计反应概率和小于或约30%的估计毒性概率相关;或

[1082] (ii) 在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的峰值CD3+CAR⁺ T细胞;或

[1083] (iii) 在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR⁺ T细胞。

[1084] 122.根据实施方案119-121中任一项所述的试剂盒,其中所述说明书详细说明,如果所述受试者的血液中的CAR⁺ T细胞的峰值数量小于所述治疗范围内峰值CAR⁺ T细胞的最低数量,则向所述受试者给予能够增加CAR⁺ T细胞扩增或增殖的药剂。

[1085] 123.根据实施方案122所述的试剂盒,其中所述药剂能够进行CAR特异性扩增。

[1086] 124.根据实施方案122或实施方案123所述的试剂盒,其中所述药剂是对所述CAR具有特异性的抗独特型抗体或其抗原结合片段、免疫检查点抑制剂、代谢途径调节剂、腺苷受体拮抗剂、激酶抑制剂、抗TGFβ抗体或抗TGFβR抗体或细胞因子。

[1087] 125.根据实施方案119-121中任一项所述的试剂盒,其中如果所述受试者的血液中的CAR⁺ T细胞的峰值数量大于所述治疗范围内峰值CAR⁺ T细胞的最高数量,则向所述受试者给予能够减少CAR⁺ T细胞扩增或增殖的药剂。

[1088] 126.一种试剂盒,所述试剂盒包含能够在受试者中减少包含CAR⁺ T细胞的基因工程化细胞的扩增或增殖的药剂,以及用于以下的说明书:评估所述受试者的来自所述受试者的样品中肿瘤负荷的体积量度或炎性标记的水平、量或浓度,并且如果所述水平、量或浓度等于或高于阈值水平,则向所述受试者给予所述药剂,其中所述样品不包含表达嵌合抗原受体(CAR)的基因工程化T细胞和/或是在接受表达CAR的基因工程化T细胞的给予之前从所述受试者获得。

[1089] 127.根据实施方案126所述的试剂盒,其中所述体积量度是直径乘积之和(SPD)、最长肿瘤直径(LD)、最长肿瘤直径之和(SLD)、肿瘤体积、坏死体积、坏死-肿瘤比率(NTR)、瘤周水肿(PTE)和水肿-肿瘤比率(ETR)。

[1090] 128.根据实施方案126或实施方案127所述的试剂盒,其中所述体积量度是直径乘积之和(SPD)。

[1091] 129.根据实施方案126所述的试剂盒,其中所述炎性标记是C反应蛋白(CRP)、红细胞沉降率(ESR)、白蛋白、铁蛋白、β2微球蛋白(β2-M)、乳酸脱氢酶(LDH)、细胞因子或趋化因子。

[1092] 130.根据实施方案129所述的试剂盒,其中所述炎性标记是LDH。

- [1093] 131. 根据实施方案125-130中任一项所述的试剂盒,其中所述药剂是类固醇。
- [1094] 132. 根据实施方案131所述的试剂盒,其中所述类固醇是皮质类固醇。
- [1095] 133. 根据实施方案131或实施方案132所述的试剂盒,其中所述类固醇是地塞米松或甲基泼尼松龙。
- [1096] 134. 根据实施方案131-133中任一项所述的试剂盒,其中所述类固醇被配制用于以一定的量给予,所述量为在或在约1.0mg与约40mg之间、在或在约1.0mg与约20mg之间、在或在约2.0mg与约20mg之间、在或在约5.0mg与约25.0mg之间、在或在约10mg与约20mg之间的地塞米松或其等效物,每个都包含端值。
- [1097] 135. 根据实施方案118-134中任一项所述的试剂盒,其中所述CAR特异性地结合至与疾病或病症相关和/或在与所述疾病或病症相关的细胞中表达的抗原。
- [1098] 136. 根据实施方案118-135中任一项所述的试剂盒,其中所述基因工程化细胞包含T细胞、任选CD4⁺或CD8⁺ T细胞。
- [1099] 137. 一种制品,所述制品包含实施方案118-136中任一项所述的试剂盒。
- [1100] 138. 一种改善毒性的方法,所述方法包括向展现出毒性体征或症状的受试者给予用于治疗所述毒性的治疗方案,所述受试者已经被给予一定剂量的包含表达重组受体的T细胞的基因工程化细胞,其中所述治疗方案选自:
- [1101] (a) 如果在接受所述剂量的基因工程化细胞后72、96或120小时内,所述受试者展出发热和/或一种或多种与毒性、任选细胞因子释放综合征(CRS)相关的第一身体体征或症状和/或一种或多种与1级CRS相关的身体体征或症状,则给予(i)能够结合白细胞介素-6受体(IL-6R)的药剂,将所述药剂每24小时给予不多于一次,和(ii)一个或多个剂量的类固醇,将所述类固醇大约每12至24小时给予一次;
- [1102] (b) 如果所述受试者在接受一定剂量的所述基因工程化细胞后展现出一种或多种与2级CRS相关的身体体征或症状,则给予(i)能够结合IL-6R的药剂,将所述药剂每24小时给予不多于一次,以及(ii)一个或多个剂量的类固醇,将所述类固醇大约每12至24小时给予一次;
- [1103] (c) 如果所述受试者在接受一定剂量的所述基因工程化细胞后展现出一种或多种与3级CRS相关的身体体征或症状,则给予(i)能够结合IL-6R的药剂,将所述药剂每24小时给予不多于一次,以及(ii)一个或多个剂量的类固醇,将所述类固醇每天给予至少两次、任选至少大约每12小时给予一次;或
- [1104] (d) 如果所述受试者在接受一定剂量的所述基因工程化细胞后展现出一种或多种与4级CRS相关的身体体征或症状,则给予(i)能够结合IL-6R的药剂,将所述药剂每24小时给予不多于一次,以及(ii)一个或多个剂量的类固醇,将所述类固醇每天给予至少两次、任选至少大约每6小时给予一次。
- [1105] 139. 根据实施方案138所述的方法,其中给予多达两个剂量的所述药剂。
- [1106] 140. 一种改善毒性的方法,所述方法包括向展现出毒性体征或症状的受试者给予用于治疗所述毒性的治疗方案,所述受试者已经被给予一定剂量的包含表达重组受体的T细胞的基因工程化细胞,其中所述治疗方案是:如果在给予所述剂量的基因工程化细胞的72、96或120小时内,所述受试者展出发热和/或一种或多种与毒性、任选细胞因子释放综合征(CRS)相关的第一身体体征或症状和/或一种或多种与1级CRS相关的身体体征或症状,

则给予 (i) 能够结合白细胞介素-6受体 (IL-6R) 的药剂和 (ii) 一个或多个剂量的类固醇。

[1107] 141. 一种改善毒性的方法, 所述方法包括向展现出一种或多种毒性身体体征或症状的受试者给予能够减轻和/或改善所述一种或多种与毒性相关的身体体征或症状的一种或多种药剂, 所述受试者已经被给予一定剂量的包含表达重组受体的T细胞的基因工程化细胞, 其中将所述一种或多种药剂按以下治疗方案给予, 所述治疗方案包括:

[1108] (a) 在以下情况下给予一种或多种药剂:

[1109] (i) 在接受所述剂量的基因工程化细胞的给予后等于或大于72小时, 所述受试者展现出发热并展现出一种或多种与所述毒性、任选细胞因子释放综合征 (CRS) 相关的身体体征或症状和/或展现出与所述毒性相关的所述身体体征或症状的迅速进展; 或

[1110] (ii) 在接受所述剂量的基因工程化细胞的给予后48或72小时内, 所述受试者展现出发热和/或一种或多种与2级或更高级CRS相关的身体体征或症状;

[1111] (b) 在以下情况下给予一种或多种药剂: 在 (a) 中所述一种或多种药剂的给予后24、48或72小时内, 所述受试者没有展现出所述发热和/或所述一种或多种与所述毒性相关的身体体征或症状的改善和/或展现出与所述毒性相关的所述身体体征或症状的快速进展, 所述一种或多种药剂任选地不同于在 (a) 中给予的所述一种或多种药剂和/或是以与 (a) 中给予的所述一种或多种药剂相同或更高的剂量和/或频率给予;

[1112] (c) 在以下情况下给予一种或多种药剂: 在 (b) 中所述一种或多种药剂的给予后24、48或72小时内, 所述受试者没有展现出所述发热和/或所述一种或多种与所述毒性相关的身体体征或症状的改善和/或展现出与所述毒性相关的所述身体体征或症状的快速进展, 所述一种或多种药剂任选地不同于在 (a) 或 (b) 中给予的所述一种或多种药剂和/或是以与在 (a) 或 (b) 中给予的所述一种或多种药剂相同或更高的剂量和/或频率给予; 以及

[1113] (d) 在以下情况下给予一种或多种药剂: 在 (c) 中所述一种或多种药剂的给予后, 所述受试者没有展现出所述发热和/或所述一种或多种与所述毒性相关的身体体征或症状的改善, 所述一种或多种药剂任选地不同于在 (a)、(b) 或 (c) 中给予的所述一种或多种药剂和/或是以与在 (a)、(b) 或 (c) 中给予的所述一种或多种药剂相同或更高的剂量和/或频率给予。

[1114] 142. 根据实施方案141所述的方法, 其中所述一种或多种药剂选自能够结合白细胞介素-6受体 (IL-6R) 的药剂或一种或多种类固醇、任选一个或多个剂量的所述一种或多种类固醇。

[1115] 143. 一种改善毒性的方法, 所述方法包括向展现出一种或多种毒性身体体征或症状的受试者给予能够减轻和/或改善所述一种或多种与毒性相关的身体体征或症状的一种或多种药剂, 所述受试者已经被给予一定剂量的包含表达重组受体的T细胞的基因工程化细胞, 其中将所述一种或多种药剂按以下治疗方案给予, 所述治疗方案包括:

[1116] (a) 在以下情况下给予一种或多种药剂:

[1117] (i) 在接受所述剂量的基因工程化细胞的给予后等于或大于72小时, 所述受试者展现出一种或多种与所述毒性、任选神经毒性 (NT) 相关的身体体征或症状; 或

[1118] (ii) 在接受所述剂量的基因工程化细胞的给予后48或72小时内, 所述受试者展现出一种或多种与所述毒性相关的身体体征或症状;

[1119] (b) 在以下情况下给予一种或多种药剂: 在 (a) 中所述一种或多种药剂的给予后

24、48或72小时内,所述受试者没有展现出所述一种或多种与所述毒性相关的身体体征或症状的改善和/或展现出与所述毒性相关的所述身体体征或症状的进展,所述一种或多种药剂任选地不同于在(a)中给予的所述一种或多种药剂和/或是以与(a)中给予的所述一种或多种药剂相同或更高的剂量和/或频率给予;以及

[1120] (c) 在以下情况下给予一种或多种药剂:在(b)中所述一种或多种药剂的给予后24、48或72小时内,所述受试者没有展现出所述一种或多种与所述毒性相关的身体体征或症状的改善和/或展现出与所述毒性相关的所述身体体征或症状的快速进展,所述一种或多种药剂任选地不同于在(a)或(b)中给予的所述一种或多种药剂和/或是以与在(a)或(b)中给予的所述一种或多种药剂相同或更高的剂量和/或频率给予。

[1121] 144.根据实施方案143所述的方法,其中所述一种或多种药剂是一种或多种类固醇、任选一个或多个剂量的所述一种或多种类固醇。

[1122] 145.根据实施方案140或142所述的方法,其中将所述能够结合IL-6R的药剂以一个或多个剂量给予。

[1123] 146.根据实施方案138-145所述的方法,其中将所述能够结合IL-6R的药剂的剂量和类固醇的剂量同时给予,或者将所述类固醇的剂量在所述能够结合IL-6R的药剂的剂量的约1、2、3或4小时内给予。

[1124] 147.根据实施方案138、142、145和146中任一项所述的方法,其中将所述能够结合IL-6R的药剂每10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24小时或更多小时给予不多于一次。

[1125] 148.根据实施方案139-147中任一项所述的方法,其中给予多达两个剂量的所述药剂。

[1126] 149.根据实施方案138-148中任一项所述的方法,其中将所述类固醇每6、9、12、15、18、21、24、36或48小时或由任两个前述值限定的范围内给予一次。

[1127] 150.根据实施方案138-149中任一项所述的方法,其中所述类固醇是或包含皮质类固醇,所述皮质类固醇任选地是糖皮质激素。

[1128] 151.根据实施方案138-150中任一项所述的方法,其中所述类固醇选自可的松、地塞米松、氢化可的松、甲基泼尼松龙、泼尼松龙和泼尼松。

[1129] 152.根据实施方案151所述的方法,其中所述类固醇是或包含地塞米松、泼尼松或甲基泼尼松龙。

[1130] 153.根据实施方案138-152中任一项所述的方法,其中所述类固醇是地塞米松或甲基泼尼松龙。

[1131] 154.根据实施方案138-153中任一项所述的方法,其中所述类固醇用于按以下等效剂量量给予:从或从约1.0mg至或至约40mg、从或从约1.0mg至或至约20mg、从或从约2.0mg至或至约20mg、从或从约5.0mg至或至约25.0mg、或从或从约10mg至或至约20mg地塞米松或其等效物,每个都包含端值。

[1132] 155.根据实施方案138-154中任一项所述的方法,其中将所述类固醇按以下等效剂量量给予:在或在约0.5mg/kg与约5mg/kg之间,或约1mg/kg、2mg/kg、3mg/kg、4mg/kg或5mg/kg的甲基泼尼松龙或其等效物,每个都包含端值。

[1133] 156.根据实施方案138-155中任一项所述的方法,其中给予多个剂量的所述类固

醇。

[1134] 157. 根据实施方案138-156中任一项所述的方法, 其中将所述类固醇在等于或大于2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14天的时间段内或在由任何前述值限定的范围内以多个剂量给予。

[1135] 158. 根据实施方案138-157中任一项所述的方法, 其中将所述类固醇给予2、3、4、5天或更多天。

[1136] 159. 根据实施方案138-158中任一项所述的方法, 其中将所述类固醇每天给予一次、每天给予两次或每天给予三次或更多次。

[1137] 160. 根据实施方案138-159中任一项所述的方法, 其中将所述类固醇按以下等效剂量量给予: 每天或每24小时在或在约1.0mg与约80mg之间、在或在约1.0mg与约60mg之间、在或在约1.0mg与约40mg之间、在或在约1.0mg与约20mg之间、在或在约1.0mg与约10mg之间、在或在约2.0mg与约80mg之间、在或在约2.0mg与约60mg之间、在或在约2.0mg与约40mg之间、在或在约2.0mg与约20mg之间、在或在约2.0mg与约10mg之间、在或在约5.0mg与约80mg之间、在或在约5.0mg与约60mg之间、在或在约5.0mg与约40mg之间、在或在约5.0mg与约20mg之间、在或在约5.0mg与约10mg之间、在或在约10mg与约80mg之间、在或在约10mg与约60mg之间、在或在约10mg与约40mg之间、在或在约10mg与约20mg之间的地塞米松或其等效物, 每个都包含端值, 或每天或每24小时从或从约10mg至约80mg地塞米松或其等效物, 或每天或每24小时约10mg、20mg、40mg或80mg地塞米松或其等效物。

[1138] 161. 根据实施方案156-160中任一项所述的方法, 其中所述多个剂量包含以下初始剂量的类固醇: 在约1与约3mg/kg之间, 如2mg/kg甲基泼尼松龙或其等效物, 接着为以下后续剂量: 在约1与约5mg/kg之间或约1mg/kg、2mg/kg、3mg/kg、4mg/kg或5mg/kg甲基泼尼松龙或其等效物, 在一天内或在24小时内分成1、2、3、4或5次。

[1139] 162. 根据实施方案138-161中任一项所述的方法, 其中所述类固醇被配制用于静脉内或口服给予。

[1140] 163. 根据实施方案162所述的方法, 其中所述能够结合IL-6R的药剂是重组抗IL-6受体抗体或其抗原结合片段或者包含选自托珠单抗或萨瑞鲁单抗或其抗原结合片段的药剂。

[1141] 164. 根据实施方案163所述的方法, 其中所述重组抗IL-6R抗体是或包含托珠单抗或其抗原结合片段。

[1142] 165. 根据实施方案163或实施方案164所述的方法, 其中所述抗IL-6R抗体用于按以下剂量量给予: 从或从约1mg/kg至20mg/kg、2mg/kg至19mg/kg、4mg/kg至16mg/kg、6mg/kg至14mg/kg、或8mg/kg至12mg/kg, 每个都包含端值, 或者所述抗IL-6R抗体是按以下剂量量给予: 至少或至少约或约1mg/kg、2mg/kg、4mg/kg、6mg/kg、8mg/kg、10mg/kg、12mg/kg、14mg/kg、16mg/kg、18mg/kg、20mg/kg。

[1143] 166. 根据实施方案163-165中任一项所述的方法, 其中所述抗IL-6R抗体被配制用于如下量的单一剂量给予: 从或从约30mg至约5000mg、从约50mg至约1000mg、从约50mg至约500mg、从约50mg至约200mg、从约50mg至约100mg、从约100mg至约1000mg、从约100mg至约500mg、从约100mg至约200mg、从约200mg至约1000mg、从约200mg至约500mg、或从约500mg至约1000mg。

[1144] 167. 根据实施方案163-166中任一项所述的方法, 其中所述抗IL-6R抗体被配制用于静脉内给予。

[1145] 168. 根据实施方案138-167中任一项所述的方法, 如果在所述剂量的基因工程化细胞的给予的72小时内, 所述受试者展现出一种或多种与所述毒性相关的第一身体体征或症状、任选CRS, 如果与所述毒性相关的身体体征或症状、任选CRS没有改善, 如果与所述毒性相关的身体体征或症状是严重的或侵袭性的和/或如果毒性的等级、任选CRS变得更严重, 则所述方法还包括给予另外剂量、任选高剂量的类固醇。

[1146] 169. 根据实施方案168所述的方法, 其中所述高剂量的类固醇是如下剂量的甲基泼尼松龙或其等效物: 初始剂量为约1至约4mg/kg, 接着约1至约4mg/kg/天, 每天分成2、3、4、5或6次。

[1147] 170. 根据实施方案169所述的方法, 其中所述高剂量的类固醇是如下剂量量的地塞米松: 为或为约10mg、20mg、25mg、30mg、35mg、40mg、45mg、50mg、55mg、60mg、65mg、70mg、75mg或80mg地塞米松或其等效物, 或由任何前述值限定的范围, 每个都包含端值。

[1148] 171. 根据实施方案138-170中任一项所述的方法, 所述方法还包括在给予所述治疗方案之前向所述受试者给予一定剂量的包含表达重组受体的T细胞的基因工程化细胞以治疗疾病或病症。

[1149] 172. 根据实施方案1-171中任一项所述的方法, 其中所述重组受体是或包含嵌合受体和/或重组抗原受体。

[1150] 173. 根据实施方案1-172中任一项所述的方法, 其中所述重组受体能够与靶抗原结合, 所述靶抗原与疾病、障碍或病症的细胞或组织相关, 为疾病、障碍或病症的细胞或组织所特有, 和/或在疾病、障碍或病症的细胞或组织上表达。

[1151] 174. 根据实施方案173所述的方法, 其中所述疾病、障碍或病症是感染性疾病或障碍、自身免疫性疾病、炎性疾病或者肿瘤或癌症。

[1152] 175. 根据实施方案173或实施方案174所述的方法, 其中所述靶抗原是肿瘤抗原。

[1153] 176. 根据实施方案173-175中任一项所述的方法, 其中所述靶抗原选自 $\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素($\alpha\text{v}\beta 6$ 整合素)、B细胞成熟抗原(BCMA)、B7-H3、B7-H6、碳酸酐酶9(CA9, 也称为CAIX或G250)、癌症-睾丸抗原、癌症/睾丸抗原1B(CTAG, 也称为NY-ESO-1和LAGE-2)、癌胚抗原(CEA)、细胞周期蛋白、细胞周期蛋白A2、C-C基序趋化因子配体1(CCL-1)、CD19、CD20、CD22、CD23、CD24、CD30、CD33、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD123、CD138、CD171、表皮生长因子蛋白(EGFR)、表皮生长因子受体III型突变体(EGFR vIII)、上皮糖蛋白2(EPG-2)、上皮糖蛋白40(EPG-40)、肝配蛋白B2、肝配蛋白受体A2(EPHa2)、雌激素受体、Fc受体样蛋白5(FCRL5; 也称为Fc受体同源物5或FCRH5)、胎儿乙酰胆碱受体(胎儿AChR)、叶酸结合蛋白(FBP)、叶酸受体 α 、神经节苷脂GD2、O-乙酰化GD2(OGD2)、神经节苷脂GD3、糖蛋白100(gp100)、G蛋白偶联受体5D(GPRC5D)、Her2/neu(受体酪氨酸激酶erb-B2)、Her3(erb-B3)、Her4(erb-B4)、erbB二聚体、人高分子量黑色素瘤相关抗原(HMW-MAA)、乙型肝炎表面抗原、人白细胞抗原A1(HLA-A1)、人白细胞抗原A2(HLA-A2)、IL-22受体 α (IL-22Ra)、IL-13受体 $\alpha 2$ (IL-13Ra2)、激酶插入结构域受体(kdr)、 κ 轻链、L1细胞粘附分子(L1-CAM)、L1-CAM的CE7表位、含有富亮氨酸重复序列的蛋白8家族成员A(LRRC8A)、路易斯Y、黑色素瘤相关抗原(MAGE)-A1、MAGE-A3、MAGE-A6、间皮素、c-Met、鼠类巨细胞病毒(CMV)、粘蛋白1(MUC1)、MUC16、自然杀伤细胞2

族成员D (NKG2D) 配体、黑色素A (MART-1)、神经细胞粘附分子 (NCAM)、癌胚胎抗原、黑色素瘤优先表达抗原 (PRAME)、孕酮受体、前列腺特异性抗原、前列腺干细胞抗原 (PSCA)、前列腺特异性膜抗原 (PSMA)、受体酪氨酸激酶样孤儿受体1 (ROR1)、存活蛋白、滋养层糖蛋白 (TPBG, 也称为5T4)、肿瘤相关糖蛋白72 (TAG72)、血管内皮生长因子受体 (VEGFR)、血管内皮生长因子受体2 (VEGFR2)、Wilms肿瘤1 (WT-1)、病原体特异性或病原体表达的抗原、或与通用标签相关的抗原、和/或生物素化分子、和/或由HIV、HCV、HBV或其他病原体表达的分子。

[1154] 177. 根据实施方案173-176中任一项所述的方法, 其中所述重组受体是或包含功能性非TCR抗原受体或TCR或其抗原结合片段。

[1155] 178. 根据实施方案173-177中任一项所述的方法, 其中所述重组受体是嵌合抗原受体 (CAR)。

[1156] 179. 根据实施方案173-178中任一项所述的方法, 其中所述重组受体包含含有抗原结合结构域的细胞外结构域。

[1157] 180. 根据实施方案179所述的方法, 其中所述抗原结合结构域是或包含抗体或其抗体片段, 所述抗体片段任选地是单链片段。

[1158] 181. 根据实施方案180所述的方法, 其中所述片段包含通过柔性接头连接的抗体可变区。

[1159] 182. 根据实施方案180或实施方案181中任一项所述的方法, 其中所述片段包含 scFv。

[1160] 183. 根据实施方案173-182中任一项所述的方法, 其中所述重组受体包含细胞内信号传导区。

[1161] 184. 根据实施方案183所述的方法, 其中所述细胞内信号传导区包含细胞内信号传导结构域。

[1162] 185. 根据实施方案184所述的方法, 其中所述细胞内信号传导结构域是或包含初级信号传导结构域、能够在T细胞中诱导初级激活信号的信号传导结构域、T细胞受体 (TCR) 组分的信号传导结构域和/或包含基于免疫受体酪氨酸的激活基序 (ITAM) 的信号传导结构域。

[1163] 186. 根据实施方案185所述的方法, 其中所述细胞内信号传导结构域是或包含CD3链、任选地CD3-zeta (CD3 ζ) 链的细胞内信号传导结构域或其信号传导部分。

[1164] 187. 根据实施方案179-186中任一项所述的方法, 其中所述重组受体还包含设置在所述细胞外结构域与所述细胞内信号传导区之间的跨膜结构域。

[1165] 188. 根据实施方案173-187中任一项所述的方法, 其中所述细胞内信号传导区还包含共刺激信号传导结构域。

[1166] 189. 根据实施方案188所述的方法, 其中所述共刺激信号传导结构域包含T细胞共刺激分子的细胞内信号传导结构域或其信号传导部分。

[1167] 190. 根据实施方案188或实施方案189所述的方法, 其中所述共刺激信号传导结构域包含CD28、4-1BB或ICOS的细胞内信号传导结构域或其信号传导部分。

[1168] 191. 根据实施方案188-190中任一项所述的方法, 其中所述共刺激信号传导结构域位于所述跨膜结构域与所述细胞内信号传导结构域之间。

[1169] 192. 根据实施方案138-191中任一项所述的方法, 其中所述细胞是T细胞。

[1170] 193.根据实施方案192所述的方法,其中所述T细胞是CD4+或CD8+。

[1171] 194.根据实施方案138-193中任一项所述的方法,其中所述T细胞是从受试者获得的原代T细胞。

[1172] 195.根据实施方案138-194中任一项所述的方法,其中所述基因工程化细胞的细胞对于所述受试者是自体的。

[1173] 196.根据实施方案138-194中任一项所述的方法,其中所述细胞是对于所述受试者同种异体的所述基因工程化细胞的细胞。

[1174] 197.一种治疗方法,所述方法包括:

[1175] (a)向患有疾病或病症的受试者给予一定剂量的包含表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞的基因工程化细胞以治疗所述疾病或病症;

[1176] (b)在给予所述剂量的基因工程化细胞后,监测所述受试者的血液中的CAR+ T细胞以评估所述细胞是否在治疗范围内,并且

[1177] (c)如果所述基因工程化细胞不在所述治疗范围内,则向所述受试者给予能够在所述受试者中调节、任选增加或减少CAR+ T细胞扩增或增殖的药剂,

[1178] 其中所述治疗范围是:

[1179] (i)在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的峰值CD3+CAR+ T细胞;或

[1180] (ii)在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR+ T细胞。

[1181] 198.一种治疗方法,所述方法包括:

[1182] (a)在受试者的血液中监测包含表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞的基因工程化细胞的存在,以评估所述细胞是否在治疗范围内,其中所述受试者先前已经被给予一定剂量的所述基因工程化细胞以便治疗疾病或病症;并且(c)如果所述基因工程化细胞不在所述治疗范围内,则向所述受试者给予能够在所述受试者中调节、任选增加或减少CAR+ T细胞扩增或增殖的药剂,

[1183] 其中所述治疗范围是:

[1184] (i)在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的峰值CD3+CAR+ T细胞;或

[1185] (ii)在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR+ T细胞。

[1186] 199.根据实施方案197-198中任一项所述的方法,其中如果所述受试者血液中CAR+ T细胞的峰值数量小于所述治疗范围内的峰值CAR+ T细胞的最低数量,则向所述受试者给予能够增加CAR+ T细胞扩增或增殖的药剂。

[1187] 200.根据实施方案199所述的方法,其中所述药剂能够增加CAR特异性扩增。

[1188] 201.根据实施方案199或实施方案200所述的方法,其中所述药剂是对所述CAR具有特异性的抗独特型抗体或其抗原结合片段、免疫检查点抑制剂、代谢途径调节剂、腺苷受体拮抗剂、激酶抑制剂、抗TGFβ抗体或抗TGFβR抗体或细胞因子。

[1189] 202.根据实施方案197-198中任一项所述的方法,其中如果所述受试者血液中CAR+ T细胞的峰值数量大于所述治疗范围内的峰值CAR+ T细胞的最高数量,则向所述受试者

给予能够减少CAR⁺ T细胞扩增或增殖的药剂。

[1190] 203.一种治疗方法,所述方法包括:

[1191] (a)向患有疾病或病症的受试者给予一定剂量的包含表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞的基因工程化细胞以治疗所述疾病或病症;

[1192] (b)在给予所述剂量的基因工程化细胞后,监测所述受试者的血液中的CAR⁺ T细胞,并且

[1193] (c)在以下情况下向所述受试者给予能够减少CAR⁺ T细胞扩增或增殖的药剂:

[1194] (i)在给予所述基因工程化细胞后,血液中CD3+CAR⁺ T细胞的量大于或大于约500个细胞/微升;或

[1195] (ii)在给予所述基因工程化细胞后,血液中CD8+CAR⁺ T细胞的量大于或大于约200个细胞/微升。

[1196] 204.一种治疗方法,所述方法包括:

[1197] (a)在受试者的血液中监测包含表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞的基因工程化细胞的存在,其中所述受试者先前已经被给予一定剂量的所述基因工程化细胞以治疗疾病或病症;以及

[1198] (b)在以下情况下向所述受试者给予能够减少CAR⁺ T细胞扩增或增殖的药剂:(i)在给予所述基因工程化细胞后,血液中CD3+CAR⁺ T细胞的量大于或大于约500个细胞/微升;或(ii)在给予所述基因工程化细胞后,血液中CD8+CAR⁺ T细胞的量大于或大于约200个细胞/微升。

[1199] 205.根据实施方案203-204中任一项所述的方法,其中所述药剂是一种或多种类固醇。

[1200] 206.根据实施方案205所述的方法,其中所述类固醇是地塞米松或甲基泼尼松龙。

[1201] 207.根据实施方案205-206中任一项所述的方法,其中将所述类固醇按以下量的地塞米松或其等效物给予:在或在约1.0mg与或与约40mg之间、在或在约1.0mg与或与约20mg之间、在或在约2.0mg与或与约20mg之间、在或在约5.0mg与或与约25.0mg之间、在或在约10mg与或与约20mg之间,每个都包含端值。

[1202] 208.根据实施方案205-207中任一项所述的方法,其中将所述类固醇在等于或大于2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14天或更长时间的时间段内或在由任何前述值限定的范围内以多个剂量给予。

[1203] 209.根据实施方案205-208中任一项所述的方法,其中将所述类固醇每天给予一次、每天给予两次或每天给予三次或更多次。

[1204] 210.根据实施方案205-209中任一项所述的方法,其中将所述类固醇以一定的量给予,所述量为每天或每24小时在或在约1.0mg与或与约80mg之间、在或在约1.0mg与或与约60mg之间、在或在约1.0mg与或与约40mg之间、在或在约1.0mg与或与约20mg之间、在或在约1.0mg与或与约10mg之间、在或在约2.0mg与或与约80mg之间、在或在约2.0mg与或与约60mg之间、在或在约2.0mg与或与约40mg之间、在或在约2.0mg与或与约20mg之间、在或在约2.0mg与或与约10mg之间、在或在约5.0mg与或与约80mg之间、在或在约5.0mg与或与约60mg之间、在或在约5.0mg与或与约40mg之间、在或在约5.0mg与或与约20mg之间、在或在约5.0mg与或与约10mg之间、在或在约10mg与或与约80mg之间、在或在约10mg与或与约60mg之

间、在或在约10mg与或与约40mg之间、在或在约10mg与或与约20mg之间的地塞米松或其等效物,每个都包含端值,或为每天或每24小时约10mg、20mg、40mg或80mg地塞米松或其等效物。

[1205] 211.根据实施方案197-210中任一项所述的方法,其中在开始给予所述基因工程化细胞后至少8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天或21天的时间;或在开始给予所述基因工程化细胞后在或在约11至22天、12至18天或14至16天之间的时间,每个都包含端值,监测所述受试者的血液中的CAR⁺ T细胞。

[1206] 212.根据实施方案197-211中任一项所述的方法,其中将所述药剂在如下时间给予:开始给予所述基因工程化细胞后大于或大于约8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天或21天的时间;或在开始给予所述基因工程化细胞后在或在约11至或至约22天、12至18天或14至16天之间的时间,每个都包含端值。

[1207] 213.一种调节工程化细胞活性的方法,所述方法包括:

[1208] (a) 选择受试者,其中来自所述受试者的样品中的肿瘤负荷的体积量度或炎性标记的水平、量或浓度等于或高于阈值水平,其中所述样品不包含表达嵌合抗原受体(CAR)的基因工程化T细胞和/或是在接受表达CAR的基因工程化T细胞的给予之前从所述受试者获得;并且

[1209] (b) 向所选受试者给予能够减少表达CAR的基因工程化T细胞的扩增或增殖的药剂。

[1210] 214.一种调节工程化细胞活性的方法,所述方法包括向受试者给予能够在受试者中减少表达嵌合抗原受体(CAR)的基因工程化T细胞的扩增或增殖的药剂,其中所述受试者是其中在来自所述受试者的样品中肿瘤负荷的体积量度或炎性标记的水平、量或浓度等于或高于阈值水平的受试者。

[1211] 215.根据实施方案214所述的方法,其中所述样品不包含表达CAR的基因工程化T细胞和/或是在接受表达CAR的基因工程化T细胞的给予之前从所述受试者获得。

[1212] 216.根据实施方案213-215中任一项所述的方法,其中将所述药剂在开始给予一定剂量的基因工程化细胞之前或同时给予,所述基因工程化细胞包含表达CAR的T细胞。

[1213] 217.根据实施方案216所述的方法,其中所述方法还包括给予一定剂量的包含表达CAR的T细胞的所述基因工程化细胞。

[1214] 218.根据实施方案213-217中任一项所述的方法,其中所述受试者患有疾病或病症,并且所述基因工程化细胞用于治疗所述疾病或病症。

[1215] 219.根据实施方案213-218中任一项所述的方法,其中在给予所述药剂之前,在给予所述基因工程化细胞后所选受试者具有发生毒性的风险。

[1216] 220.根据实施方案213-219中任一项所述的方法,其中所述药剂的给予足以在所述受试者中、或在大多数通过所述方法如此治疗的所选受试者中、或在大于75%的通过所述方法如此治疗的所选受试者中实现在治疗范围内的峰值CAR⁺ T细胞。

[1217] 221.根据实施方案220所述的方法,其中所述治疗范围是:

[1218] (i) 基于先前用所述基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中的峰值CD3⁺CAR⁺ T细胞或其CD8⁺CAR⁺ T细胞子集的范围,所述范围与大于或大于约65%的估计反应概率和小于或约30%的估计毒性概率相关;或

[1219] (ii) 在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的峰值CD3+CAR+ T细胞;或

[1220] (iii) 在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的峰值CD8+CAR+ T细胞。

[1221] 222.根据实施方案220所述的方法,其中所述治疗范围是:

[1222] (i) 基于在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约10个细胞/微升与500个细胞/微升之间的CD3+CAR+ T细胞数量或水平;或

[1223] (ii) 基于在给予所述基因工程化细胞之后,血液中的在或在约2个细胞/微升与200个细胞/微升之间的CD8+CAR+ T细胞数量或水平。

[1224] 223.根据实施方案213-222中任一项所述的方法,其中测量肿瘤负荷的体积量度,并且所述体积量度是直径乘积之和 (SPD)、最长肿瘤直径 (LD)、最长肿瘤直径之和 (SLD)、肿瘤体积、坏死体积、坏死-肿瘤比率 (NTR)、瘤周水肿 (PTE)、以及水肿-肿瘤比率 (ETR)。

[1225] 224.根据实施方案213-223中任一项所述的方法,其中所述体积量度是直径乘积之和 (SPD)。

[1226] 225.根据实施方案213-224中任一项所述的方法,其中使用所述受试者的计算机断层成像 (CT)、正电子发射断层成像 (PET) 和/或磁共振成像 (MRI) 测量所述体积量度。

[1227] 226.根据实施方案213-221中任一项所述的方法,其中测量来自所述受试者的样品中的炎性标记,并且所述炎性标记是C反应蛋白 (CRP)、红细胞沉降率 (ESR)、白蛋白、铁蛋白、 β 2微球蛋白 (β 2-M)、乳酸脱氢酶 (LDH)、细胞因子或趋化因子。

[1228] 227.根据实施方案213-221和226中任一项所述的方法,其中所述炎性标记是LDH。

[1229] 228.根据实施方案213-221和226中任一项所述的方法,其中所述炎性标记是细胞因子或趋化因子,所述细胞因子或趋化因子是IL-7、IL15、MIP-1 α 或TNF- α 。

[1230] 229.根据实施方案213-221、226和228中任一项所述的方法,其中所述细胞因子或趋化因子与巨噬细胞或单核细胞激活相关。

[1231] 230.根据实施方案213-221和226-229中任一项所述的方法,其中所述样品是或包含血液样品、血浆样品或血清样品。

[1232] 231.根据实施方案213-230中任一项所述的方法,其中所述阈值是如下值:

[1233] i) 在高于所述体积量度或炎性标记的平均值的25%内、20%内、15%内、10%内或5%内和/或在高于多个对照受试者的所述体积量度或所述炎性标记的平均值的标准差内;

[1234] ii) 高于所述体积量度或炎性标记的最高值,任选地在高于这个最高倍数变化的50%内、25%内、20%内、15%内、10%内或5%内,这是在选自多个对照受试者的至少一个受试者中测量的;和/或

[1235] iii) 高于所述体积量度或炎性标记的最高值,如在来自多个对照受试者的超过75%、80%、85%、90%、95%或98%的受试者中所测量的。

[1236] 232.根据实施方案231所述的方法,其中所述多个对照受试者是在接受一定剂量的所述基因工程化细胞之前的受试者组,其中:

[1237] 所述组的每个所述对照受试者在血液中展现出比所述治疗范围内的最高峰值CAR+ T细胞高的峰值CAR+ T细胞;

[1238] 在接受一定剂量的用于治疗相同疾病或病症的所述工程化细胞后,所述组的每个

所述对照受试者继续发生毒性,任选神经毒性或细胞因子释放综合征(CRS)、2级或3级或更高级神经毒性或者3级或更高级CRS;

[1239] 在给予所述剂量的基因工程化细胞后,所述组的每个所述对照受试者均未发生反应、任选完全反应(CR)或部分反应(PR);和/或

[1240] 在给予所述剂量的基因工程化细胞后,所述组的每个所述对照受试者均未发生任选持续为或约或大于或大于约3个月或者持续为或约或大于或大于约6个月的持久反应。

[1241] 233.根据实施方案213-232中任一项所述的方法,其中所述体积量度是SPD,并且所述阈值为或为约 30cm^2 ,为或为约 40cm^2 ,为或为约 50cm^2 ,为或为约 60cm^2 ,或者为或为约 70cm^2 。

[1242] 234.根据实施方案213-233中任一项所述的方法,其中所述炎性标记是LDH,并且所述阈值为或为约300单位/升,为或为约400单位/升,为或为约500单位/升,或者为或为约600单位/升。

[1243] 235.根据实施方案213-234中任一项所述的方法,其中所述药剂是类固醇。

[1244] 236.根据实施方案235所述的方法,其中所述类固醇是地塞米松或甲基泼尼松龙。

[1245] 237.根据实施方案235-236中任一项所述的方法,其中将所述类固醇以一定的量给予,所述量为在或在约1.0mg与约40mg之间、在或在约1.0mg与约20mg之间、在或在约2.0mg与约20mg之间、在或在约5.0mg与约25.0mg之间、在或在约10mg与约20mg之间的地塞米松或其等效物,每个都包含端值。

[1246] 238.根据实施方案235-237中任一项所述的方法,其中将所述类固醇在等于或大于2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14天或更长时间的时间段内或在由任何前述值限定的范围内以多个剂量给予。

[1247] 239.根据实施方案235-238中任一项所述的方法,其中将所述类固醇每天给予一次、每天给予两次或每天给予三次或更多次。

[1248] 240.根据实施方案235-239中任一项所述的方法,其中将所述类固醇以一定的量给予,所述量为每天或每24小时在或在约1.0mg与或约80mg之间、在或在约1.0mg与或约60mg之间、在或在约1.0mg与或约40mg之间、在或在约1.0mg与或约20mg之间、在或在约1.0mg与或约10mg之间、在或在约2.0mg与或约80mg之间、在或在约2.0mg与或约60mg之间、在或在约2.0mg与或约40mg之间、在或在约2.0mg与或约20mg之间、在或在约2.0mg与或约10mg之间、在或在约5.0mg与或约80mg之间、在或在约5.0mg与或约60mg之间、在或在约5.0mg与或约40mg之间、在或在约5.0mg与或约20mg之间、在或在约5.0mg与或约10mg之间、在或在约10mg与或约80mg之间、在或在约10mg与或约60mg之间、在或在约10mg与或约40mg之间、在或在约10mg与或约20mg之间的地塞米松或其等效物,每个都包含端值,或每天或每24小时从或从约10mg至或至约80mg地塞米松或其等效物,或每天或每24小时等于或等于约10mg、20mg、40mg或80mg地塞米松或其等效物。

[1249] 241.根据实施方案213-240中任一项所述的方法,其中在开始给予所述基因工程化细胞之前1天、2天、3天、4天、6天、8天、12天、16天、20天、24天、28天或更长时间内,在所述受试者中测量所述体积量度或炎性标记。

[1250] 242.根据实施方案197-241中任一项所述的方法,其中所述剂量的基因工程化细胞包含至少或至少约 1×10^5 个CAR表达细胞、至少或至少约 2.5×10^5 个CAR表达细胞、至少或

至少约 5×10^5 个CAR表达细胞、至少或至少约 1×10^6 个CAR表达细胞、至少或至少约 2.5×10^6 个CAR表达细胞、至少或至少约 5×10^6 个CAR表达细胞、至少或至少约 1×10^7 个CAR表达细胞、至少或至少约 2.5×10^7 个CAR表达细胞、至少或至少约 5×10^7 个CAR表达细胞、至少或至少约 1×10^8 个CAR表达细胞、至少或至少约 2.5×10^8 个CAR表达细胞、或至少或至少约 5×10^8 个CAR表达细胞、或从或从约 1×10^5 至或至约 5×10^8 个总CAR表达T细胞、从或从约 1×10^6 至或至约 2.5×10^8 个总CAR表达T细胞、从或从约 5×10^6 至或至约 1×10^8 个总CAR表达T细胞、从或从约 1×10^7 至或至约 2.5×10^8 个总CAR表达T细胞、从或从约 5×10^7 至或至约 1×10^8 个总CAR表达T细胞,每个都包含端值。

[1251] 243. 根据实施方案197-242中任一项所述的方法,其中在所治疗的多个受试者中,与不包括给予所述药剂的方法相比,所述方法实现了实现持久反应、任选完全反应(CR)或客观反应(OR)或部分反应(PR)的受试者的百分比的增加,所述持久反应任选在等于或大于3个月或者等于或大于6个月内是持久的。

[1252] 244. 根据实施方案243所述的方法,其中所述增加大于或大于约1.2倍、1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍或更多。

[1253] 245. 根据实施方案197-244中任一项所述的方法,其中:

[1254] 至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%或至少50%的根据所述方法治疗的受试者实现完全反应(CR),所述完全反应在等于或大于3个月或等于或大于6个月内是持久的;和/或

[1255] 至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%或至少70%的根据所述方法治疗的所述受试者实现客观反应(OR),所述客观反应在等于或大于3个月或等于或大于6个月内是持久的。

[1256] 246. 根据实施方案197-245中任一项所述的方法,其中:

[1257] 大于或大于约50%、大于或大于约60%、大于或大于约70%、或者大于或大于约80%的根据所述方法治疗的所述受试者不展现3级或更高级细胞因子释放综合征(CRS)和/或不展现2级或更高级或3级或更高级神经毒性;或

[1258] 大于或大于约40%、大于或大于约50%、或者大于或大于约55%的根据所述方法治疗的所述受试者不展现任何神经毒性或CRS。

[1259] 247. 根据实施方案197-246中任一项所述的方法,其中将峰值CAR⁺ T细胞的量确定为所述受试者血液中的CAR⁺ T细胞数量/微升。

[1260] 248. 根据实施方案197-247中任一项所述的方法,其中所述治疗范围是其中估计毒性概率小于20%、小于15%、小于10%或小于5%并且反应的估计概率大于65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多的范围。

[1261] 249. 根据实施方案197-248中任一项所述的方法,其中所述毒性概率基于选自以下各项的毒性:

[1262] 任何神经毒性或细胞因子释放综合征(CRS);

[1263] 严重毒性或3级或更高级毒性;

[1264] 严重CRS或3级或更高级CRS;或

[1265] 严重神经毒性、2级或更高级神经毒性或3级或更高级神经毒性。

[1266] 250. 根据实施方案197-249中任一项所述的方法,其中所述毒性概率基于严重毒

性或3级或更高级毒性的概率。

[1267] 251. 根据实施方案249或实施方案250所述的方法, 其中所述严重毒性是3-5级神经毒性。

[1268] 252. 根据实施方案197-251中任一项所述的方法, 其中所述反应概率基于作为完全反应(CR)、客观反应(OR)或部分反应(PR)的反应, 任选地其中所述反应是持久的, 任选在等于或至少3个月或者等于或至少6个月内持久的。

[1269] 253. 根据实施方案197-252中任一项所述的方法, 其中所述反应是骨髓反应, 如基于对所述受试者骨髓中恶性免疫球蛋白重链基因座(IGH)和/或指标克隆的存在的评估所确定的。

[1270] 254. 根据实施方案253所述的方法, 其中所述恶性IGH和/或指标克隆是通过流式细胞术或IgH测序来评估。

[1271] 255. 一种评估持久反应的可能性的方法, 所述方法包括:

[1272] (a) 在来自受试者的生物样品中检测一种或多种炎性标记的峰值水平和/或包含表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞的基因工程化细胞的峰值水平, 其中所述受试者先前已经被给予一定剂量的所述基因工程化细胞以便治疗疾病或病症; 以及

[1273] (b) 单独地比较所述峰值水平与阈值, 从而确定受试者将实现对给予所述基因工程化细胞的持久反应的可能性。

[1274] 256. 根据实施方案255所述的方法, 其中:

[1275] 如果所述一种或多种炎性标记的峰值水平低于阈值, 则所述受试者可能实现持久反应, 并且如果所述一种或多种炎性标记的峰值水平高于阈值, 则所述受试者不太可能实现持久反应; 或

[1276] 如果所述基因工程化细胞的峰值水平在下限阈值与上限阈值之间的治疗范围内, 则所述受试者可能实现持久反应, 并且如果所述基因工程化细胞的峰值水平低于所述下限阈值或高于所述上限阈值, 则所述受试者不太可能实现持久反应。

[1277] 257. 根据实施方案255或实施方案256所述的方法, 如果确定所述受试者不太可能实现持久反应, 则还包括选择受试者以用除了所述基因工程化细胞之外的治疗剂或替代性治疗性治疗来治疗。

[1278] 258. 根据实施方案255-257中任一项所述的方法, 如果确定所述受试者不太可能实现持久反应, 则所述方法还包括给予除了所述基因工程化细胞之外的治疗剂或替代性治疗性治疗。

[1279] 259. 一种治疗方法, 其包括:

[1280] (a) 选择已经接受基因工程化细胞的给予的受试者, 所述基因工程化细胞包含表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞, 其中:

[1281] 来自所述受试者的样品中的一种或多种炎性标记的峰值水平高于阈值; 和/或

[1282] 来自所述受试者的样品中的包含嵌合抗原受体(CAR)的T细胞的峰值水平低于下限阈值或高于上限阈值; 以及

[1283] (b) 向所述受试者给予除了所述基因工程化细胞之外的治疗剂或替代性治疗性治疗。

[1284] 260. 根据实施方案255-258中任一项所述的方法, 其中所述反应是完全反应(CR)、

客观反应 (OR) 或部分反应 (PR)。

[1285] 261. 根据实施方案255-258和260中任一项所述的方法, 其中所述反应在等于或大于3个月、4个月、5个月或6个月内是持久的。

[1286] 262. 根据实施方案255-261中任一项所述的方法, 其中在开始给予所述基因工程化细胞后至少8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天或21天的时间; 或在开始给予所述基因工程化细胞后在或在约11与或与约22天、在或在约12与或与约18天或在或在约14与或与约16天之间的时间, 每个都包含端值, 评估所述峰值水平和/或从所述受试者获得样品。

[1287] 263. 根据实施方案255-262中任一项所述的方法, 其中所述峰值水平是一种或多种炎性标记的峰值水平, 并且所述炎性标记选自C反应蛋白 (CRP)、IL-2、IL-6、IL-10、IL-15、TNF- α 、MIP-1 α 、MIP-1 β 、MCP-1、CXCL10和CCL13。

[1288] 264. 根据实施方案256-263中任一项所述的方法, 其中评估一种或多种炎性标记的峰值水平, 并且所述阈值在所述炎性标记的峰值水平的中值或平均值的25%内、20%内、15%内、10%内或5%内和/或在所述炎性标记的峰值水平的中值或平均值的标准差内, 如在已经接受所述基因工程化细胞的给予的对照受试者组中所确定的, 其中所述组的每个受试者未实现持久反应、任选CR和/或PR, 任选在给予所述基因工程化细胞后等于或大于3个月或6个月内是持久的。

[1289] 265. 根据实施方案264所述的方法, 其中在给予所述基因工程化细胞后, 任选在给予所述基因工程化细胞后等于或大于3个月或6个月, 所述对照受试者展现出稳定疾病 (SD) 或进行性疾病 (PD)。

[1290] 266. 根据实施方案255-262中任一项所述的方法, 其中基因工程化细胞的所述峰值水平是峰值CAR⁺ T细胞或其CD8⁺ T细胞子集。

[1291] 267. 根据实施方案256-262和266中任一项所述的方法, 所述下限阈值和上限阈值分别是在先前用所述基因工程化细胞治疗的一个或多个受试者的血液中峰值CD3⁺CAR⁺ T细胞或其CD8⁺CAR⁺ T细胞子集的治疗范围的下限和上限, 所述治疗范围与大于或大于约65%的估计反应概率和小于或小于约30%的估计毒性概率相关。

[1292] 268. 根据实施方案256-262、266和267中任一项所述的方法, 其中所述治疗范围是其中估计毒性概率小于20%、小于15%、小于10%或小于5%并且反应的估计概率大于65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多的范围。

[1293] 269. 根据实施方案267或实施方案268的方法, 其中所述毒性概率基于选自以下各项的毒性:

[1294] 任何神经毒性或细胞因子释放综合征 (CRS);

[1295] 严重毒性或3级或更高级毒性;

[1296] 严重CRS或3级或更高级CRS; 或

[1297] 严重神经毒性、2级或更高级神经毒性或3级或更高级神经毒性。

[1298] 270. 根据实施方案267-269中任一项所述的方法, 其中所述反应概率基于作为完全反应 (CR)、客观反应 (OR) 或部分反应 (PR) 的反应, 任选地其中所述反应是持久的, 任选在等于或至少3个月或者等于或至少6个月内持久的。

[1299] 271. 根据实施方案255-262和266-270中任一项所述的方法, 其中将基因工程化细

胞的峰值水平确定为所述受试者血液中的CAR⁺ T细胞数量/微升。

[1300] 272. 根据权利要求256-262和266-271中任一项所述的方法, 其中:

[1301] 所述上限阈值在或在约300个细胞/微升与或与约1000个细胞/微升之间、或在或在约400个细胞/微升与或与约600个细胞/微升之间、或为约300个细胞/微升、400个细胞/微升、500个细胞/微升、600个细胞/微升、700个细胞/微升、800个细胞/微升、900个细胞/微升、或1000个细胞/微升; 或

[1302] 所述下限阈值小于或小于约10个细胞/微升、9个细胞/微升、8个细胞/微升、7个细胞/微升、6个细胞/微升、5个细胞/微升、4个细胞/微升、3个细胞/微升、2个细胞/微升或1个细胞/微升。

[1303] 273. 根据实施方案255-272中任一项所述的方法, 其中所述样品是血液样品或血浆样品。

[1304] 274. 根据实施方案255-273中任一项所述的方法, 其中所述方法是离体进行的。

[1305] 275. 根据实施方案257-274中任一项所述的方法, 基因工程化细胞的峰值水平高于所述上限阈值, 并且所述治疗剂是能够减少CAR⁺ T细胞扩增或增殖的药剂。

[1306] 276. 根据实施方案275所述的方法, 其中所述药剂是类固醇。

[1307] 277. 根据实施方案276所述的方法, 其中所述类固醇是地塞米松或甲基泼尼松龙。

[1308] 278. 根据实施方案276-277中任一项所述的方法, 其中将所述类固醇按以下量的地塞米松或其等效物给予: 在或在约1.0mg与或与约40mg之间、在或在约1.0mg与或与约20mg之间、在或在约2.0mg与或与约20mg之间、在或在约5.0mg与或与约25.0mg之间、在或在约10mg与或与约20mg之间, 每个都包含端值。

[1309] 279. 根据实施方案276-278中任一项所述的方法, 其中将所述类固醇在等于或大于2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14天或更长的时间段内或在由任何前述值限定的范围内以多个剂量给予。

[1310] 280. 根据实施方案276-279中任一项所述的方法, 其中将所述类固醇每天给予一次、每天给予两次或每天给予三次或更多次。

[1311] 281. 根据实施方案276-280中任一项所述的方法, 其中将所述类固醇以一定的量给予, 所述量为每天或每24小时在或在约1.0mg与或与约80mg之间、在或在约1.0mg与或与约60mg之间、在或在约1.0mg与或与约40mg之间、在或在约1.0mg与或与约20mg之间、在或在约1.0mg与或与约10mg之间、在或在约2.0mg与或与约80mg之间、在或在约2.0mg与或与约60mg之间、在或在约2.0mg与或与约40mg之间、在或在约2.0mg与或与约20mg之间、在或在约2.0mg与或与约10mg之间、在或在约5.0mg与或与约80mg之间、在或在约5.0mg与或与约60mg之间、在或在约5.0mg与或与约40mg之间、在或在约5.0mg与或与约20mg之间、在或在约5.0mg与或与约10mg之间、在或在约10mg与或与约80mg之间、在或在约10mg与或与约60mg之间、在或在约10mg与或与约40mg之间、在或在约10mg与或与约20mg之间的地塞米松或其等效物, 每个都包含端值, 或每天或每24小时从或从约10mg至或至约80mg地塞米松或其等效物, 或每天或每24小时等于或等于约10mg、20mg、40mg或80mg地塞米松或其等效物。

[1312] 282. 根据实施方案257-274中任一项所述的方法, 基因工程化细胞的所述峰值水平低于所述下限阈值, 并且所述治疗剂是能够增加所述CAR⁺ T细胞的扩增或增殖、任选CAR特异性扩增的药剂。

[1313] 283. 根据实施方案282所述的方法, 其中所述药剂是对所述CAR具有特异性的抗独特型抗体或其抗原结合片段、免疫检查点抑制剂、代谢途径调节剂、腺苷受体拮抗剂、激酶抑制剂、抗TGF β 抗体或抗TGF β R抗体或细胞因子。

[1314] 284. 根据实施方案197-283中任一项所述的方法, 其中所述疾病或病症是癌症。

[1315] 285. 根据实施方案284所述的方法, 其中所述癌症是B细胞恶性肿瘤。

[1316] 286. 根据实施方案285所述的方法, 其中所述癌症选自肉瘤、癌、淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤(NHL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、白血病、CLL、ALL、AML和骨髓瘤。

[1317] 287. 根据实施方案286所述的方法, 其中所述癌症是胰腺癌、膀胱癌、结直肠癌、乳腺癌、前列腺癌、肾癌、肝细胞癌、肺癌、卵巢癌、宫颈癌、胰腺癌、直肠癌、甲状腺癌、子宫癌、胃癌、食道癌、头颈癌、黑色素瘤、神经内分泌癌、CNS癌、脑肿瘤、骨癌或软组织肉瘤。

[1318] 288. 根据实施方案197-287中任一项所述的方法, 其中所述受试者是人。

[1319] 289. 根据实施方案197-288中任一项所述的方法, 其中所述CAR特异性地结合至与疾病或病症相关和/或在与所述疾病或病症相关的细胞中表达的抗原。

[1320] 290. 根据实施方案289所述的方法, 其中所述抗原选自 α v β 6整合素(α v β 6整合素)、B细胞成熟抗原(BCMA)、B7-H3、B7-H6、碳酸酐酶9(CA9, 也称为CAIX或G250)、癌症-睾丸抗原、癌症/睾丸抗原1B(CTAG, 也称为NY-ESO-1和LAGE-2)、癌胚抗原(CEA)、细胞周期蛋白、细胞周期蛋白A2、C-C基序趋化因子配体1(CCL-1)、CD19、CD20、CD22、CD23、CD24、CD30、CD33、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD123、CD138、CD171、表皮生长因子蛋白(EGFR)、表皮生长因子受体III型突变体(EGFR vIII)、上皮糖蛋白2(EPG-2)、上皮糖蛋白40(EPG-40)、肝配蛋白B2、肝配蛋白受体A2(EPha2)、雌激素受体、Fc受体样蛋白5(FCRL5; 也称为Fc受体同源物5或FCRH5)、胎儿乙酰胆碱受体(胎儿AChR)、叶酸结合蛋白(FBP)、叶酸受体 α 、神经节苷脂GD2、O-乙酰化GD2(OGD2)、神经节苷脂GD3、糖蛋白100(gp100)、G蛋白偶联受体5D(GPRC5D)、Her2/neu(受体酪氨酸激酶erb-B2)、Her3(erb-B3)、Her4(erb-B4)、erbB二聚体、人高分子量黑色素瘤相关抗原(HMW-MAA)、乙型肝炎表面抗原、人白细胞抗原A1(HLA-A1)、人白细胞抗原A2(HLA-A2)、IL-22受体 α (IL-22Ra)、IL-13受体 α 2(IL-13Ra2)、激酶插入结构域受体(kdr)、 κ 轻链、L1细胞粘附分子(L1-CAM)、L1-CAM的CE7表位、含有富亮氨酸重复序列的蛋白8家族成员A(LRRC8A)、路易斯Y、黑色素瘤相关抗原(MAGE)-A1、MAGE-A3、MAGE-A6、间皮素、c-Met、鼠类巨细胞病毒(CMV)、粘蛋白1(MUC1)、MUC16、自然杀伤细胞2族成员D(NKG2D)配体、黑色素A(MART-1)、神经细胞粘附分子(NCAM)、癌胚抗原、黑色素瘤优先表达抗原(PRAME)、孕酮受体、前列腺特异性抗原、前列腺干细胞抗原(PSCA)、前列腺特异性膜抗原(PSMA)、受体酪氨酸激酶样孤儿受体1(ROR1)、存活蛋白、滋养层糖蛋白(TPBG, 也称为5T4)、肿瘤相关糖蛋白72(TAG72)、血管内皮生长因子受体(VEGFR)、血管内皮生长因子受体2(VEGFR2)、Wilms肿瘤1(WT-1)、病原体特异性或病原体表达的抗原、或与通用标签相关的抗原、和/或生物素化分子、和/或由HIV、HCV、HBV或其他病原体表达的分子。

[1321] 291. 根据实施方案197-290中任一项所述的方法, 其中所述嵌合抗原受体(CAR)包含与所述抗原特异性结合的细胞外抗原识别结构域和包含ITAM的细胞内信号传导结构域。

[1322] 292. 根据实施方案291所述的方法, 其中所述细胞内信号传导结构域包含CD3-zeta(CD3 ζ)链的细胞内结构域。

[1323] 293. 根据实施方案291或实施方案292所述的方法, 其中所述嵌合抗原受体(CAR)

还包含共刺激信号传导区。

[1324] 294. 根据实施方案293所述的方法, 其中所述共刺激结构域是4-1BB的信号传导结构域。

[1325] 295. 根据实施方案197-294中任一项的方法, 其中所述T细胞是CD4+或CD8+的。

[1326] 296. 根据实施方案197-295中任一项所述的方法, 其中所述T细胞是从受试者获得的原代T细胞。

[1327] 297. 根据实施方案197-296中任一项所述的方法, 其中所述基因工程化细胞的细胞对于所述受试者是自体的。

[1328] 298. 根据实施方案197-296中任一项所述的方法, 其中所述基因工程化细胞的细胞对于所述受试者是同种异体的。

[1329] XI. 实施例

[1330] 以下实施例被包括在内仅用于说明目的, 并不旨在限制本发明的范围。

[1331] 实施例1: 高风险CLL患者中基于峰值CAR T细胞扩增和反应的骨髓反应和神经毒性的概率

[1332] 向患有复发或难治性 (R/R) CD19+慢性淋巴细胞白血病 (CLL) 的二十四 (24) 名成年受试者给予表达对CD19具有特异性的嵌合抗原受体 (CAR) 的自体T细胞, 并如下所述进行评价。

[1333] CAR包括对CD19具有特异性的scFv (呈V_L-接头-V_H取向), 以及源自FMC63的可变区、IgG铰链区、跨膜区和源自人4-1BB和CD3ζ的细胞内信号传导结构域。所述构建体进一步编码截短的EGFR (EGFRt), 其用作CAR表达的替代标记; 通过T2A跳跃序列将EGFRt编码区与CAR序列分隔开。在给予细胞之前, 患者接受白细胞单采术; 通过基于免疫亲和力的富集方法选择CD4+和CD8+群体, 用含有CAR构建体的病毒载体转导, 并在培养物中扩增十五 (15) 天。

[1334] 在CAR+ T细胞输注前至少四十八 (48) 小时 (至最长九十六 (96)) 小时开始, 受试者接受淋巴细胞清除化学疗法, 其用 (a) 含或不含依托泊苷的环磷酰胺 (Cy, 60mg/kg) (2/13受试者) 或 (b) 环磷酰胺 (Cy, 60mg/kg) 与氟达拉滨组合 (flu, 每天25mg/m²持续3-5天) (cy/flu, 11/13受试者)。

[1335] 用于给予的细胞通常是以约1:1的CAR+CD4+ T细胞与CAR+CD8+ T细胞的比率来配制。成功地生产了针对所有受试者的治疗性组合物。对于1/13受试者, 生产了少于目标剂量 (2×10^6 /kg CAR+) 的细胞。

[1336] 以三种不同剂量水平之一 (每公斤 (kg) 受试者体重 2×10^5 (N=4)、 2×10^6 (N=8) 或 2×10^7 (N=1) 个CAR+ T细胞) 向所述受试者输注具有大约1:1比例的CD8+CAR+ T细胞与CD4+CAR-T细胞的组合物。淋巴细胞清除疗法和T细胞输注在门诊基础上给予。

[1337] 细胞因子释放综合征 (CRS) 的发生率和等级是根据以下文献来确定: Lee等人, Blood. 2014; 124 (2): 188-95。在治疗后, 评估和监测受试者的神经毒性 (神经系统并发症, 包括以下症状: 意识模糊、失语、癫痫、惊厥、嗜睡和/或精神状态改变), 使用1-5级量表基于严重程度进行评级 (参见, 例如, Guido Cavaletti & Paola Marmioli Nature Reviews Neurology 6, 657-666 (2010年12月))。3级 (严重症状)、4级 (危及生命的症状) 或5级 (死亡) 指示严重神经毒性。

[1338] 基于血液中CD4+/EGFRt+或CD8+/EGFRt+CAR-T细胞的数量构建反应的估计概率曲

线和发生3-5级神经毒性的估计概率(图1)通常,随着CAR-T细胞数量的增加,反应概率增加,然后到达平台期,同时发生3-5级神经毒性的概率增加。

[1339] 实施例2:向受试者给予表达抗CD19 CAR的细胞

[1340] 向患有复发或难治性(R/R)非霍奇金淋巴瘤(NHL)的二十八名受试者给予表达抗CD19嵌合抗原受体(CAR)的自体T细胞。受试者的人口统计学和基线特征列于表13中。CAR含有源自鼠抗体的抗CD19 scFv、免疫球蛋白衍生的间隔子、源自CD28的跨膜结构域、源自4-1BB的共刺激区域和CD3- ζ 细胞内信号传导结构域。为了产生表达CAR的自体T细胞,通过基于免疫亲和力的富集从来自单独受试者的白细胞单采术样品分离T细胞,用编码抗CD19 CAR的病毒载体激活并转导,然后进行扩增(目标比率为CD4⁺与CD8⁺ CAR⁺ T细胞的约1:1比率)。

表13.人口统计学和基线特征	
特征	N=28
中值年龄, 岁 (范围)	63 (37-79)
≥70岁, n (%)	6 (21)
男/女, n (%)	19/9 (68/32)
[1341] B-NHL亚型, n (%)	
DLBCL NOS型	15 (54)
转化DLBCL	10 (36)
滤泡性, 3B级	1 (4)
MCL	2 (7)
疾病状态, n (%)	
难治性*	24 (86)
化疗难治性 [†]	23 (82)
基线ECOG得分, n (%)	
0	14 (50)
1	10 (36)
2	4 (14)
[1342] 先前治疗线	
中值 (范围)	4 (1-8)
≥5, n (%)	7 (25)
先前造血干细胞移植, n (%)	
任何HSCT	16 (57)
同种异体	4 (14)
自体	13 (46)

[1343] *到最后一次治疗<CR

[1344] †到最后一次含化疗方案的SD或PD或在自体SCT后<12个月复发

[1345] 在给予表达CAR的T细胞之前,将受试者每天用30mg/m²的氟达拉滨治疗3天,并且每天用300mg/m²的环磷酰胺治疗3天。在静脉内给予之前解冻冷冻保存的细胞组合物。通过给予以大约1:1的目标比率给予的经配制CD4+CAR+细胞群和经配制CD8+CAR+群体,将治疗性T细胞剂量作为确定的细胞组合物来给予。然后在d=0时,通过静脉内输注用5x 10⁷ (DL1) 或1x 10⁸ (DL2) 个表达CAR的T细胞的单一剂量或双剂量时间表治疗受试者(每个单一剂量分别通过表达CAR的CD4+ T细胞和表达CAR的CD8+ T细胞的单独输注来给予)。

[1346] 在用CAR-T细胞疗法的各种剂量时间表治疗的受试者中评估各种治疗紧急不良事件的存在或不存在(表14和表15)。如表15中所示,未观察到严重细胞因子释放综合征(sCRS)(3-5级);在36%(10/28)的受试者中观察到细胞因子释放综合征(CRS)。在14%(4/28)的受试者中观察到3-4级神经毒性,并且18%(5/28)的受试者展现出任何等级的神经毒性。对于早发性2级CRS或神经毒性,一名受试者用托珠单抗治疗,并且四名患者接受地塞米松。六名受试者接受预防性抗癫痫药。

[1347]

表14. 治疗紧急不良事件				
	DL1-S N=22	DL1-D N=3	DL2-S N=3	总计 N=28

[1348]

任何TEAE	21 (96)	3 (100)	3 (100)	27 (96)
任何3-5级* TEAE	16 (73)	3 (100)	0	19 (68)
任何相关TEAE	14 (64)	2 (67)	1 (33)	17 (61)
任何相关的3-5级* TEAE	4 (18)	1 (33)	0	5 (18)
在≥15%的患者中报告的所有等级的TEAE 首选项, n (%)				
疲劳	7 (32)	2 (67)	2 (67)	11 (39)
细胞因子释放综合征	8 (36)	2 (67)	0	10 (36)
食欲下降	6 (27)	1 (33)	1 (33)	8 (29)
便秘	5 (23)	1 (33)	1 (33)	7 (25)
呕吐	5 (23)	1 (33)	1 (33)	7 (25)
腹泻	5 (23)	1 (33)	0	6 (21)
头晕	6 (27)	0	0	6 (21)
头痛	4 (18)	1 (33)	0	5 (18)
高血压	4 (18)	1 (33)	0	5 (18)
恶心	3 (14)	1 (33)	1 (33)	5 (18)
外周性水肿	5 (23)	0	0	5 (18)
实验室异常				
贫血	16 (73)	1 (33)	1 (33)	18 (64)
嗜中性粒细胞减少症	22 (100)	3 (100)	2 (67)	27 (96)
血小板减少症	13 (59)	3 (100)	2 (67)	18 (64)

[1349] *1例5级呼吸衰竭,评估为可能与CAR-T细胞疗法相关,出现于有进展并开始后续治疗的MCL患者中

[1350]

表15. 特别关注的治疗紧急不良事件				
首选项, n (%)	DL1-S N=22	DL1-D N=3	DL2-S N=3	总计 N=28
细胞因子释放综合征 (CRS), 任何	8 (36)	2 (67)	0	10 (36)
3-4级	0	0	0	0
神经毒性, 任何*	4 (18)	1 (33)	0	5 (18)
3-4级	3 (14)	1 (33)	0	4 (14)

[1351] *包括:脑病、意识错乱状态、意识水平低下、嗜睡或癫痫

[1352] 针对在单一剂量DL1的最后一次CAR+ T细胞输注后在正在进行的研究中在直至特定时间点的时间段内观察到的最佳总体反应评估所述组中的受试者。总体反应的结果显示在表16中。在弥漫性大B细胞淋巴瘤 (DLBCL) 群组中用单一剂量DL1治疗的20名受试者中,观

观察到总体反应率 (ORR) 为80% (16/20), 并且60% (12/20) 的受试者显示完全缓解 (CR) 的证据。20% (4/20) 的受试者显示部分反应 (PR) 的证据, 并且20% (4/20) 的受试者显示进行性疾病 (PD) 的证据。在CAR⁺ T细胞给予之前已经是化疗难治 (在最后一次含化疗方案后展现出稳定或进展性疾病, 或在自体SCT后不到12个月复发) 的受试者中, 总体反应率为83% (10例ORR, 7例CR、3例PR、2例PD, n=12)。在曾是难治性 (在最后一次治疗后展现出不完全缓解, 但未被视为化疗难治) 的受试者中, 总体反应率为77% (13例ORR, 9例CR、4例PR、4例PD, n=17)。

表16.总体反应			
	DLBCL群组, DL1单一剂量时间表		
	全部 (n=20)	难治性* (n=17)	化疗难治性* (n=12)
[1353] ORR, n (%) [95% CI]	16 (80) [56, 94]	13 (77) [50, 93]	10 (83) [52, 98]
CR, n (%) [95% CI]	12 (60) [36, 81]	9 (53) [28, 77]	7 (58) [28, 85]
PR	4 (20)	4 (24)	3 (25)
PD	4 (20)	4 (24)	2 (17)

[1354] *到最后一次治疗<CR

[1355] †到最后一次含化疗方案的SD或PD或在自体SCT后<12个月复发

[1356] 在评估时已经用两剂量DL1治疗的三名DLBCL受试者中, 两名 (2) 展现出部分反应 (PR) 并且一名 (1) 展现出进行性疾病 (PD)。在评估时已经用单一剂量DL2治疗的2名DLBCL受试者中, 观察到两名受试者均实现CR。在评估时用单一剂量DL1治疗的总共两名受试者的MCL群组中, 观察到1例PR和1例PD。治疗两名具有双打击的受试者、三名具有三打击的受试者和四名患有双表达子DLBCL的受试者, 并且均实现反应 (7例CR、2例PR)。

[1357] 在治疗后的某些时间点, 通过将细胞与转基因特异性试剂一起孵育, 确定外周血中的CAR⁺ T细胞数量。对于依据最佳总体反应分组的用单一剂量DL1治疗的受试者, 在输注后的某些时间点测量的外周血中的CD3⁺/CAR⁺ T细胞数量显示于图2A中。在反应者 (CR/PR) 中观察到高于PD的峰值CD3⁺/CAR⁺ T细胞。图2B-图2D显示在依据在3个月时的持续反应 (CR/PR) 或PD分组的实现反应的受试者中的CD3⁺/CAR⁺ T细胞、CD4⁺/CAR⁺ T和CD8⁺/CAR⁺ T细胞水平 (细胞/μL血液; 平均值±SEM)。

[1358] 确定反应者 (CR/PR) 和PD的C_{max} (CAR⁺细胞/μL血液) 和曲线下面积 (AUC), 并显示于表17中。结果与以下结论一致: 随时间和在峰值扩增时, 持久反应与血液中的较高CD3⁺/CAR⁺ T细胞水平相关。

[1359]

表17.与PD相比，具有CR/PR的患者的C _{max} 和AUC ₀₋₂₈ 较高						
	CD3		CD4		CD8	
	CR/PR (n = 16)	PD (n = 4)	CR/PR (n = 16)	PD (n = 4)	CR/PR (n = 16)	PD (n = 4)
C_{max} (CAR⁺细胞/μL血液)						
平均值(SD)	612 (1919)	2 (1)	220 (754)	1 (0.6)	426 (1314)	0.5 (0.5)
中值 (Min, Max)	33 (1, 7726)	1 (1, 3)	8 (1, 3040)	1 (0, 2)	4 (0, 5238)	0.3 (0, 1)
Q1, Q3	7, 123	0.7, 2	2, 46	0.6, 2	0.8, 104	0.1, 0.9
AUC₀₋₂₈						
平均值(SD)	5883 (18821)	16 (13)	2369 (8388)	10 (7)	3873 (11963)	6 (6)
中值 (Min, Max)	196 (11, 75773)	14 (4, 31)	47 (7, 33740)	9 (3, 17)	23 (1, 47834)	4 (1, 14)
Q1, Q3	52, 781	5, 26	16, 261	4, 16	4, 761	1, 10

[1360] AUC₀₋₂₈ = 在第0天与第28天之间，所指示CAR+细胞群的数量/微升

[1361] 实施例3:向患有复发性和难治性非霍奇金淋巴瘤 (NHL) 的受试者给予表达抗CD19 CAR的细胞

[1362] A. 受试者和治疗

[1363] 将含有表达对CD19具有特异性的嵌合抗原受体 (CAR) 的自体T细胞的治疗性CAR+T细胞组合物给予患有B细胞恶性肿瘤的受试者。结果描述于此实施例中，用于在正在进行的研究中通过特定时间点评价五十五 (55) 名成人受试者的群组 (完整群组)，所述受试者在2个治疗线失败之后患有复发性或难治性 (R/R) 侵袭性非霍奇金淋巴瘤 (NHL)，包括从头或从惰性淋巴瘤转化 (NOS) 的弥漫性大B细胞淋巴瘤 (DLBCL)、高级别B细胞淋巴瘤 (具有MYC和BCL2和/或BCL6重排以及DLBCL组织学 (双/三打击))、从慢性淋巴细胞白血病 (CLL) 或边缘区淋巴瘤 (MZL) 转化的DLBCL、原发性纵隔大b细胞淋巴瘤 (PMBCL) 和3b级滤泡性淋巴瘤 (FL3B)。所治疗的受试者包括东部肿瘤协作组 (ECOG) 得分在0与2之间的那些 (中值随访期为3.2个月)。55名受试者不包括患有套细胞淋巴瘤 (MCL) 的受试者。没有基于先前的同种异体干细胞移植 (SCT) 而排除受试者，并且对于单采术不需要最小绝对淋巴细胞计数 (ALC)。

[1364] 对于55名受试者的核心子集 (受试者不包括患有较差体能状态 (ECOG2)、从边缘区淋巴瘤 (MZL) 和/或慢性淋巴细胞白血病 (CLL, 里希特氏) 转化的DLBCL的那些受试者，以及患有原发性纵隔大b细胞淋巴瘤 (PMBCL) 和3b级滤泡性淋巴瘤 (FL3B) 的受试者 (核心群组))，在此时间点的结果。核心群组包括患有DLBCL NOS型和转化的滤泡性淋巴瘤 (tFL) 或高级别B细胞淋巴瘤 (双/三打击) 或高级别B细胞淋巴瘤 (具有MYC和BCL2和/或BCL6重排以及DLBCL组织学 (双/三打击)) 且东部肿瘤协作组体能状态 (ECOG PS) 为0或1 (核心群组) 的受试者，对这些受试者进行单独评估。

[1365] 完整和核心群组的人口统计学和基线特征示于表18中。

表18.人口统计学和基线特征

特征	完整 N=55	核心 N=44
中值年龄, 岁 (范围)	61 (29-82)	61 (29-82)
≥ 65 岁, n (%)	22 (40)	17 (39)
男/女, n (%)	38/17 (69/31)	28/16 (64/36)
自诊断起的月数, 中值 (范围)	17 (3-259)	20 (8-259)
B-NHL亚型, n (%)		
DLBCL NOS型	40 (73)	35 (80)
转化DLBCL	14 (26)	8 (18)
滤泡性, 3B级	1 (2)	1 (2)
分子亚型, n (%)		
双/三打击	15 (27)	12 (27)
双重表达子	6 (11)	4 (9)
患者特征, n (%)		
化疗难治性 [†]	42 (76)	34 (77)
ECOG 0-1	48 (87)	44 (100)
ECOG 2	7 (13)	0
先前治疗线, 中值 (范围)	3 (1-11)	3 (1-8)
< 5个治疗线	44 (80)	37 (84)
任何HSCT	27 (49)	22 (50)
同种异体	4 (7)	3 (7)
自体	24 (44)	20 (45)

[1366]

[1367]

[1368] *到最后一次含化疗方案的SD或PD或在自体SCT后<12个月复发

[1369] 所给予的治疗性T细胞组合物是通过包括基于免疫亲和力(例如,免疫磁性选择)从来自要治疗的单独受试者的白细胞单采术样品富集CD4⁺和CD8⁺细胞的过程来产生。将分离的CD4⁺和CD8⁺ T细胞单独激活并用编码抗CD19 CAR的病毒载体(例如,慢病毒载体)独立转导,之后以低体积对工程化细胞群进行单独扩增和冷冻保存。所述CAR含有衍生自鼠类抗体的抗CD19 scFv(衍生自FMC63的可变区,V_L-接头-V_H定向)、免疫球蛋白衍生的间隔子、衍生自CD28的跨膜结构域、衍生自4-1BB的共刺激区和CD3-ζ细胞内信号传导结构域。所述病毒载体进一步含有编码截短的受体的序列,所述截短的受体用作CAR表达的替代标记;所述序列通过T2A核糖体跳跃序列与所述CAR序列隔开。

[1370] 在静脉内给予之前解冻冷冻保存的细胞组合物。通过给予以约1:1的目标比率给予的经配制CD4⁺CAR⁺细胞群和经配制CD8⁺CAR⁺群体,将治疗性T细胞剂量作为定义的细胞组合物来给予。向受试者给予表达CAR的T细胞的单一剂量或双剂量(每个单一剂量分别通

过表达CAR的CD4⁺ T细胞和表达CAR的CD8⁺ T细胞的单独输注来给予),如下:含有 5×10^7 个总CAR表达T细胞的剂量水平1 (DL1) 的单一剂量 ($n=30$);DL1的双剂量,其中每个剂量相隔大约十四 (14) 天给予 (在第1天和第14天给予, $n=6$,包括一名由于给药错误而无意中通过二剂量时间表接受两次DL2剂量的受试者);或含有 1×10^8 个总CAR表达T细胞的剂量水平2 (DL-2) 的单一剂量 ($n=18$,在该时间点评估的受试者)。所给予组合物的目标剂量水平和T细胞亚组的数量示于表19中。

[1371]	表19.含有抗CD19 CAR T细胞的细胞组合物的目标剂量水平和T细胞亚组的数量			
	剂量水平	辅助T细胞 (T _H) 剂量 (CD4+CAR+)	细胞毒性T细胞 (T _C) 剂量 (CD8+CAR+)	总T细胞剂量 (CD3+ CAR+)
	1	25×10^6	25×10^6	50×10^6
	2	50×10^6	50×10^6	100×10^6

[1372] 在CAR⁺ T细胞输注之前开始,受试者接受使用氟达拉滨 (flu, 30mg/m²) 和环磷酰胺 (Cy, 300mg/m²) 的淋巴细胞清除化学疗法持续三 (3) 天。所述受试者在淋巴细胞清除后2-7天时接受CAR表达T细胞。

[1373] B. 安全性

[1374] 评估CAR-T细胞疗法的治疗紧急不良事件 (TEAE) 的存在或不存在。图3描绘观察到已经历实验室异常和在 $\geq 20\%$ 的受试者中发生的TEAE的受试者的百分比。除了图3中所示的TEAE外,在3-4级时在 $\geq 5\%$ 的患者中还观察到以下事件术语:白细胞计数减少 (13.6%)、脑病 (12%)、高血压 (7%)。所观察到的毒性程度在剂量水平1与2之间一致。

[1375] 还评估并监测受试者的神经毒性 (神经系统并发症,包括以下症状:意识模糊、失语、脑病、肌阵挛发作、惊厥、嗜睡和/或精神状态改变),根据美国国家癌症研究所一常见毒性标准 (CTCAE) 量表4.03版 (NCI-CTCAE v4.03),按1-5量表评级。常见毒性标准 (CTCAE) 量表4.03版 (NCI-CTCAE v4.03)。参见美国卫生和公众服务部的不良事件通用术语标准 (Common Terminology for Adverse Events,CTCAE) 第4版,发布于:2009年5月28日 (v4.03:2010年6月14日);以及Guido Cavaletti&Paola Marmioli Nature Reviews Neurology 6,657-666 (2010年12月)。还确定并监测细胞因子释放综合征 (CRS),并且基于严重程度进行分级。参见Lee等人,Blood.2014;124 (2):188-95。在一些情况下,在淋巴细胞清除时开始至CAR⁺ T细胞给予后90天,报告并收集不良事件数据。

[1376] 在84%的完整群组受试者中,未观察到严重 (3级或更高的) 细胞因子释放综合征 (CRS) 和严重神经毒性。另外,据观察,完整群组受试者中的60%未产生任何等级的CRS或神经毒性。在剂量水平之间没有观察到CRS、神经毒性 (NT)、sCRS或严重神经毒性 (sNT) 的发生率的差异。表20汇总了在接受至少一个剂量的CAR-T细胞后28天,患者中细胞因子释放综合征 (CRS) 和神经毒性不良事件的发生率。如表20所示,在接受单一剂量DL2或双剂量DL1的任何受试者中均未观察到sCRS (3-4级)。在完整群组受试者中的16% (9/55) 和核心子集受试者中的18% (8/44) 中观察到严重神经毒性或严重CRS (3-4级)。11% ($n=6$) 的受试者接受托珠单抗,24% ($n=13$) 的受试者接受地塞米松。在完整群组内的ECOG2受试者中,所观察到的CRS和神经毒性的比率分别为71%和29%。

[1377]

表20.对CRS和神经毒性不良事件的存在或不存在的评估					
	完整				核心
	所有剂量水平	DL1S	DL2S	DL1D [†]	
安全性, N	55	30	19	6	44
sCRS或sNT, n (%)	9 (16)	6 (20)	2 (11)	1 (17)	8 (18)
CRS或NT, n (%)	22 (40)	12 (40)	7 (37)	3 (50)	15 (34)

[1378]

CRS					
1-2级, n (%)	18 (33)	10 (33)	5 (26)	3 (50)	12 (27)
3-4级, n (%)	1 (2)	1 (3)	0	0	1 (2)
神经毒性					
1-2级, n (%)	3 (6)	1 (3)	2 (11)	0	2 (5)
3-4级, n (%)	9 (16)	6 (20)	2 (11)	1 (17)	8 (18)

[1379] †包括一名由于给药错误而按DL2 2-剂量时间表治疗的患者

[1380] 图4显示描绘所观察到的至CRS和/或神经毒性发作的时间的Kaplan Meier曲线。如图所示,所观察到的到CRS发作和神经毒性发作的中值时间分别为5天和11天,其中在开始给予细胞疗法后不到72小时,仅11%的患者经历CRS发作。到CRS和神经毒性消退至1级或更佳的中值时间分别为5天和7天。到CRS和神经毒性完全消退的中值时间分别为5天和11天。结果与以下结论一致:受试者中任何CRS或神经毒性的早期发作率都较低。

[1381] C. 对治疗的反应

[1382] 监测受试者的反应,包括通过在给予CAR+ T细胞后1、3、6、7、12、18和24个月时评估肿瘤负荷。反应率列于表21中。在受试者群组中观察到高持久反应率,所述群组包括过度预治疗或具有较差预后和/或患有复发性或难治性疾病的受试者。对于核心(n=44)群组中所有剂量的受试者,所观察到的总体反应率(ORR)为86%,并且所观察到的完全反应(CR)率为59%。对于核心群组,在三个月时,总体反应率(ORR)为66%;在核心群组中三个月的CR率为50%。在核心群组中,3个月的ORR在剂量水平1下为58%(11/19),在剂量水平2下为78%;剂量水平1的3个月CR率为42%(8/19),并且剂量水平2的3个月CR率为56%(5/9),与所提出的对治疗结果的剂量反应效应一致。另外,结果符合剂量与反应持久性之间的关系。

[1383]

表21.反应					
	完整				核心
	所有剂量水平	DL1S	DL2S	DL1D ^c	所有剂量水平
最佳总体反应, N ^a	54	30	18	6	44
ORR, % (95% CI)	76 (62, 87)	80 (61, 92)	72 (47, 90)	67 (23, 96)	86 (73, 95)
CR, % (95% CI)	52 (38, 66)	53 (34, 72)	50 (26, 74)	50 (12, 88)	59 (43, 74)

[1384]	≥ 3 个月f/u, n ^b	41	24	11	6	32
	3个月ORR, % (95% CI)	51 (35, 67)	46 (26, 67)	64 (31, 89)	50 (12, 88)	66 (47, 81)
	3个月CR, % (95% CI)	39 (24, 56)	33 (16, 55)	46 (17, 77)	50 (12, 88)	50 (32, 68)

[1385] DL1S:DL1 1-剂量时间表;DL2S:DL2 1-剂量时间表;DL1D:DL1 2-剂量时间表;

[1386] ^a包括具有PD、死亡或28天重分期扫描(restaging scan)事件的患者。不包括在数据快照前<28天治疗的患者。

[1387] ^b分母是在数据快照日期之前(在第3个月进行功效评估或者先前的PD或死

[1388] 亡评估),在 ≥ 3 个月前接受CAR T细胞疗法的患者数量。

[1389] ^c包括一名由于给药错误而按DL2 2-剂量时间表治疗的患者

[1390] 完整和核心群组中各个亚组的受试者之间的总体反应率分别显示于图5A和图5B中。在大风险(poor-risk)DLBCL亚组中,反应率总体上较高。在具有双/三打击分子亚型的患者中,在3个月时观察到大于50%的ORR,所述患者患有原发性难治性或化疗难治性DLBCL或从未实现过CR。在2名患者中观察到由淋巴瘤引起的CNS受累的完全消退。

[1391] 在评价的特定时间点之前六个月或更长时间治疗的受试者中,十(10)名患者在三个月时已经有反应,9名(90%)在六个月时仍有反应。在评价时间点,核心子集中97%已经反应的受试者存活并且处于随访中,中值随访时间为3.2个月。

[1392] 完整和核心群组的受试者的反应持续时间和总存活期的结果(依据最佳总体反应分组(无反应者、CR/PR、CR和/或PR))分别显示于图6A和图6B中。如图所示,在反应者中观察到延长的存活,并且在具有CR的受试者中观察到反应持久性增加。虽然5/6的具有较差体能状态(ECOG 2)的受试者已经死亡,但所有在三个月时有反应的患者在评价时都保持存活。

[1393] C.对血液中的CAR⁺ T细胞的评估

[1394] 进行药代动力学分析以评估在治疗后不同时间点外周血中的CAR⁺ T细胞数。如图7A中所示,在两个所给予的剂量水平下,在整个评估过程中检测CD4⁺和CD8⁺CAR表达细胞,如通过对数标度上标绘的细胞数量/ μ L血液(中值 $\pm$ 四分位数)所测量。

[1395] 与较低剂量水平相比,在给予较高剂量水平的受试者中观察到中值曲线下面积(AUC)(随时间血液中的CD8⁺CAR⁺细胞数)增加,没有观察到毒性增加。在反应者(CR/PR)中观察到高于非反应者(PD)的峰值CD8⁺/CAR⁺ T细胞暴露;即使在疾病已经进展的受试者中,也观察到在评估期间(包括至3个月和6个月时)细胞的持久性(图7B)。结果与以下结论一致:即使在具有较差反应的受试者中,治疗也导致工程化细胞的暴露和持久性延长。在一些实施方案中,在工程化细胞在受试者体内持续存在时(例如,如通过外周血中的细胞水平所测量),例如在复发或疾病进展后,使用组合方法,如给予免疫检查点调节剂或其他免疫调节剂。在一些方面,在给予所述其他药剂或治疗之后,已经持续延长时间的细胞再次扩增或被激活和/或展现出抗肿瘤功能。通常在产生神经毒性的受试者的血液中随时间观察到较高的中值CD4⁺和CD8⁺CAR⁺ T细胞数(图7C)。

[1396] D.血液分析物和神经毒性

[1397] 在给予CAR⁺ T细胞之前,在受试者的血液中测量各种治疗前血液分析物,包括细

胞因子。使用统计学分析评估与产生神经毒性的风险的潜在相关性。图8显示在CAR+ T细胞疗法后未发生神经毒性的受试者与发生神经毒性的受试者中,以单位(LDH,U/L;铁蛋白,ng/mL;CRP,mg/L;细胞因子,pg/mL)表示的所评估分析物的中值水平。观察到某些血液分析物(包括LDH、铁蛋白、CRP、IL-6、IL-8、IL-10、TNF- α 、IFN- α 2、MCP-1和MIP-1 β)的水平与发生神经毒性的风险的水平相关(Wilcoxon p 值 <0.05 ,不进行多重数调整)。具体而言,结果与以下结论一致:LDH(其在一些实施方案中是疾病负荷的替代物)的治疗前水平可用于潜在神经毒性风险评估和/或对某些受试者的治疗的风险适应性给药或调整。此外,在给予CAR-T细胞组合物之前测量的肿瘤负荷与产生神经毒性的风险相关联(Spearman p 值 <0.05)。在一些方面,LDH水平可以单独评估和/或与另一种治疗前参数组合评估,所述另一种治疗前参数是例如疾病负荷的另一种量度或指示物,如肿瘤体积测量值,如尺寸乘积之和(SPD)或疾病负荷的其他基于CT或基于MRI的体积测量值。在一些方面,对指示疾病负荷的一个或多个参数进行评估,并且在一些背景下,所述一个或多个参数可以指示在T细胞疗法后产生神经毒性的风险的存在、不存在或程度。在一些方面,所述一个或多个参数包括LDH和/或体积肿瘤测量值。

[1398] 图9显示标绘完整和核心群组内单独受试者的无进展时间(月)的图。每个条形代表单个患者。阴影指示最佳总体反应(在每种情况下,除非另有指示,否则是在1个月时实现);纹理指示剂量(实心=剂量水平1(DL1),单一剂量;交叉阴影线,剂量水平2(DL2),单一剂量;竖直阴影线=剂量水平1(DL1),双剂量)。水平箭头指示正在进行的反应。某些个体受试者最初(例如,在1个月时)被评估为表现出稳定疾病(SD)或部分反应(PR),并且随后观察到已经实现PR(例如,SD转化为PR)或CR。在此类情况下,如图所示,个体患者条形的阴影指示最佳总体反应,并且沿着每个个体受试者条形的点(与阴影同样对应于所实现的反应)指示在受试者中观察到每例SD、PR和/或CR发生的时间。在两名患者中观察到由淋巴瘤引起的CNS受累的完全消退。观察到一名受试者中的CAR+细胞在复发后在活检后扩增。

[1399] 实施例4:向患有套细胞淋巴瘤(MCL)的受试者给予表达抗CD19 CAR的细胞

[1400] 将含有表达对CD19具有特异性的嵌合抗原受体(CAR)的自体T细胞的治疗性CAR+T细胞组合物(如实施例2中所述来产生)给予四(4)名患有套细胞淋巴瘤(MCL)且1线疗法已经失败的人类受试者。在静脉内给予之前解冻冷冻保存的细胞组合物。将治疗性T细胞组合物作为确定的组合物细胞产物来给予,其具有源自同一受试者的CAR+工程化T细胞的经配制CD4+和CD8+群体,以大约1:1的目标比率来给予。以含有 5×10^7 个表达CAR的T细胞的剂量水平1(DL1)的单一剂量向受试者给予表达CAR的T细胞的剂量(作为表达CAR的CD4+和CD8+T细胞的分割剂量)。在CAR+ T细胞输注前三(3)天开始,受试者接受采用氟达拉滨(flucytosine, 30mg/m²)和环磷酰胺(Cy, 300mg/m²)的淋巴细胞清除化学疗法。

[1401] 如实施例2中所述监测受试者的反应和毒性。在任何受试者中均未观察到CRS或神经毒性。在所治疗的4名受试者中,两(2)名受试者实现PR(非持久),并且两(2)名受试者患有进行性疾病。

[1402] 实施例5:进一步评估在给予抗CD19 CAR表达细胞后,患有复发性和难治性非霍奇金淋巴瘤(NHL)的受试者的反应、安全性、药代动力学、药效学和血液分析物

[1403] 在上文实施例2中所述的临床研究中的后续时间点评估患者的反应结果、安全性结果、药代动力学和药效学参数以及血液分析物。

[1404] A. 受试者和治疗

[1405] 此实施例中呈现的在此时间点的分析基于对已经给予所述抗CD19 CAR表达细胞的完整DLBCL群组中总计91名受试者(88名(65名来自核心群组)针对反应进行评估,且91名(67名来自核心群组)针对安全性进行评估)的评估。所述完整群组包括DLBCL(NOS,从头或从任何惰性淋巴瘤转化), ECOG 0-2;用于分析的所述核心群组包括患有DLBCL(NOS(从头或从滤泡性淋巴瘤(tFL)转化))或高级别B细胞淋巴瘤并具有0或1的东部肿瘤协作组体能状态(ECOG PS)的受试者。核心群组中约90%的被治疗患者具有预测3-6个月的短中值总存活期(OS)的至少1种大风险疾病特征,如双/三打击表达子、原发性难治性疾病、对2个或更多个治疗线的难治性、从未实现过CR、或从未接受过自体干细胞移植(ASCT)。在一些实施方案中,向不包括ECOG得分为2的受试者或已经接受在先造血干细胞移植(HSCT)的受试者在内的患有弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)非特指型(NOS;从头或从滤泡性淋巴瘤tFL转化的)或高级别B细胞淋巴瘤(具有MYC和BCL2和/或BCL6重排以及DLBCL组织学)的受试者群组给予如本文所提供的CAR-T组合物。在一些实施方案中,以DL2的单一剂量(1×10^8 个总CAR表达T细胞)向核心群组的受试者给予抗CD19 CAR+ T细胞。

[1406] 在此时间点,总计140名受试者已进行白细胞单采术,其中10名正在等待制造的组合物,2名在制造前已退出,并且2名的组合物无法利用。在另外18名其产物可利用的受试者中,4名正在等待治疗,4名已经退出,并且10名已经发生进行性疾病或已经死亡。已经给予总计108名受试者所述抗CD19CAR表达细胞,其中6名无法评价并且11名接受不合规的抗CD19 CAR表达细胞(组合物不一定符合某些规范,但被认为对于给予是安全的)。受试者已经接受DL1(n=45)、DL1(n=6)或DL2(n=40)的双剂量。已经向患有套细胞淋巴瘤(MCL)的六(6)名受试者以DL1给予CAR+细胞(五名用合规产物治疗,一名用不合规产物治疗),并且五(5)名已经完成28天的随访。一名MCL受试者已经发生CRS,并且没有受试者接受过托珠单抗或地塞米松。对于DLBCL群组中98%的进行单采术的受试者(126/128),产物是可利用的。

[1407] 在此时间点的受试者包括已经在门诊环境中治疗的5名患者(包括四(4)名以DL1治疗的受试者、一(1)名以DL2治疗;其中四(4)名包括在核心群组中)。对于在门诊环境中治疗的受试者,中值年龄为57岁(范围26-61),3名患有DLBCL NOS型,1名患有tFL,且1名患有PMBCL。所有五(5)名受试者的ECOG得分都为0或1。关于门诊结果的数据包括已经在门诊环境中治疗的三(3)名另外的受试者的结果(总计八(8)名受试者),并且其数据在此实施例中用于分析的时间点之后变得可用。

[1408] 在所述时间点完整和核心群组受试者的人口统计学和基线特征示于表22中。

表22.患者特征：DLBCL群组

特征	完整 (n = 91)	核心 (n = 67)
中值年龄，岁（范围），	61 (20-82)	60 (20-82)
≥ 65岁，n (%)	34 (37)	24 (36)
男/女，n (%)	61/30 (67/33)	46/21 (69/31)
B-NHL亚型，n (%)		
DLBCL NOS型，从头	59 (65)	51 (76)
从FL转化 (tFL)	19 (21)	16 (24)
从MZL (tMZL) /CLL (tCLL) 转化	6 (7) / 4 (4)	0
滤泡性，3B级/PMBCL	1 (1) / 2 (2)	0
分子亚型，n (%)		
双/三打击[高级别B细胞淋巴瘤] ^a	18 (20)	16 (24)
患者特征，n (%)		
化疗难治性 ^b	61 (67)	44 (66)
ECOG PS 0-1 / 2 (LD前)	81 (89) / 10 (11)	67 (100) / 0
IPI 3-5 / 疾病阶段3-4	38 (42) / 70 (77)	24 (36) / 49 (73)
CNS受累	2 (2)	2 (3)
先前治疗线，中值（范围）	3 (1-12)	3 (1-8)
从未实现过CR	47 (52)	34 (51)
任何HSCT	39 (43)	28 (42)
先前自体	36 (40)	28 (42)
先前同种异体	5 (5)	0

[1409]

[1410] HSCT,造血干细胞移植;LD,淋巴细胞清除。

[1411] ^a在试验起始时,包括在DLBCL NOS型组织学中;基于最新的WHO标准 (Swerdlow等人, (2016) Blood 127 (20) :2375-2390), 现在被视为“高级别B细胞淋巴瘤”,其具有MYC和BCL2和/或BCL6重排以及DLBCL组织学(双/三打击)。

[1412] ^b到最后一次含化学疗法方案的SD或PD或在自体SCT后< 12个月复发。

[1413] B. 治疗后的安全性和反应结果

[1414] 如表23中所示。客观反应率 (ORR) 为74%，包括52%的显示完全反应 (CR) 的受试者。任何等级的细胞因子释放综合征 (CRS) 的发生率为35%，有1%严重CRS;并且任何等级的神经毒性 (NT) 的发生率为19%，有1%严重NT。

表23.给予CAR+细胞后的反应和安全性

	完整	核心		
	所有剂量水平	所有剂量水平 ^a	DL1S	DL2S
最佳总体反应 (BOR), n^b	88	65	34	27
ORR, % (95% CI)	74 (63,83)	80(68, 89)	77 (59,89)	82 (62, 94)
CR, % (95% CI)	52 (41,63)	55(43, 68)	47 (30, 65)	63 (42, 81)
安全性, n^c	91	67	34	29
任何CRS, % (95% CI)	35 (25, 46)	36 (24, 48)	41 (25, 59)	24 (10, 44)
sCRS (3-4级), % (95% CI)	1 (0, 6)	1 (0, 8)	38 (0, 15)	0
任何NT, % (95% CI)	19 (11,28)	21 (12, 33)	24 (11, 41)	17 (6, 36)
sNT (3-4级), % (95% CI)	12 (6, 21)	15 (7, 26)	21 (9, 38)	7 (1, 23)

[1415]

[1416] a四名按DL1D(剂量水平1,双剂量时间表)治疗的患者具有相似结果。

[1417] b包括具有PD、死亡或28天重分期扫描的事件的患者。一名患者未能进行重分期扫描。

[1418] c包括所有在数据快照日期前28天已经接受至少一个剂量的表达CAR的合规细胞产物或死亡的受试者。

[1419] 如表24中所示,在完整DLBCL群体中观察到高反应率和低严重毒性。

[1420]

表24.CAR+细胞给予后的反应					
		通过诊断			
	完整	DLBCL NOS型	tFL	tCLL/MZL	FL3B/PMBCL
BOR, n ^a	88	57	19	10	2
ORR, % (95% CI)	74 (63,83)	74 (60, 85)	84 (60, 97)	50 (19, 81)	100 (16, 100)
CR, % (95% CI)	52 (41,63)	51 (37, 64)	63 (38, 84)	30 (7, 65)	100 (16, 100)
安全性, n ^b	91	59	19	10	3
任何CRS, % (95% CI)	35 (25, 46)	34 (22, 47)	42 (20, 67)	20 (3, 56)	67 (9, 99)
sCRS (3-4级), % (95% CI)	1 (0, 6)	2 (0, 9)	0	0	0
任何NT, % (95% CI)	19 (11,28)	20 (11, 33)	21 (6, 46)	10 (0, 45)	0
sNT (3-4级), % (95% CI)	12 (6, 21)	14 (6, 25)	11 (1, 33)	10 (0, 45)	0

[1421] ^a包括具有PD、死亡或28天重分期扫描事件的患者。一名患者未能进行重分期扫描。

[1422] ^b包括所有在数据快照日期前28天已接受至少一个剂量的合规CAR+表达细胞或者死亡的受试者。

[1423] 如表25中所示,在受试者的核心群组中观察到高反应率和剂量依赖性反应。

[1424]

表25.CAR+细胞给予后的持久反应			
	剂量水平 ^a	DL1S	DL2S
BOR, n ^b	65	34	27
ORR (95% CI), %	80(68, 89)	77 (59,89)	82 (62, 94)
CR (95% CI), %	55(43, 68)	47 (30, 65)	63 (42, 81)
≥3个月f/u, n ^c	52	29	19
3个月ORR (95% CI), %	65 (51,78)	59 (39, 77)	74 (49, 91)
3个月CR (95% CI), %	54(40, 68)	41 (24,61)	68 (43, 87)
≥6个月f/u, n ^d	38	20	14
6个月ORR (95% CI), %	47(31, 64)	40 (19, 64)	50 (23, 77)
6个月CR (95% CI), %	42 (26, 59)	30 (12, 54)	50 (23, 77)

[1425] ^a四名以DL1D治疗的患者(核心)具有类似结果。

[1426] ^b包括具有PD、死亡或28天重分期扫描的事件的患者。一名患者未能进行重分期扫描。

[1427] ^c分母是在数据快照日期之前(在第3个月进行功效评估或进行PD或死亡的在先评

估),在 ≥ 3 个月前接受CAR+细胞的患者数量。

[1428] ^d分母是在数据快照日期之前(在第6个月进行功效评估或进行PD或死亡的在先评估),在 ≥ 6 个月前接受CAR+细胞的患者数量。

[1429] 大风险DLBCL亚组(包括核心群组中以所有剂量水平治疗的所有DLBCL患者)中的不同受试者亚组之间的三个月客观反应率(ORR)显示于图24中。结果显示大风险DLBCL亚组中的高持久ORR。

[1430] 完整群组 and 核心群组受试者的反应持续时间(DOR)和总存活期的结果(依据最佳总体反应分组(无反应者、CR/PR、CR和/或PR))显示于图25A-图25D中。结果还显示80%(16/20)的在3个月时具有CR的受试者在6个月时仍处于CR中,并且92%(11/12)的在6个月时具有反应(CR或PR)的受试者继续显示更长期的反应。

[1431] 图26描绘在此时间点被观察到已经经历实验室异常和治疗紧急不良事件(TEAE)的受试者的百分比(不包括5名用合规产品以DL1治疗且随访至少28天的患有MCL的患者的数据)。除了图26中所示的TEAE外,在3-4级时在 $\geq 5\%$ 的患者中观察到以下事件术语:脑病(8%)、全血细胞减少症(5%)和发热性嗜中性粒细胞减少症(7%)。八名患者(9%)具有输注毒性,所述输注毒性被定义为与CAR+细胞给予相关的给予当天的AE,包括潮红、头痛、发热、发烧、寒战、寒颤、呕吐、皮疹、荨麻疹、瘙痒、低血压、喘息、支气管痉挛、呼吸短促、恶心、呕吐、背痛、咳嗽和输注相关反应。事件包括寒战(2)、发烧(5)、潮红(1)、头痛(1)、低血压(1)、输注相关反应(1)、皮疹(1)、瘙痒(1)和呕吐(1),其中有6个1级事件、1个2级(寒战)和1个3级(低血压)事件。核心群组中的TEAE与完整群组中的TEAE没有显著差异。在门诊环境组中治疗的受试者的最常见的相关TEAE是CRS、低血压、呕吐、贫血和呼吸困难。

[1432] 表26示出对于接受DL1S和DL2S的受试者,在完整或核心群组的25%或更多受试者中发生的TEAE和神经毒性。在DLBCL群体中没有观察到明显的剂量-毒性关系。

表26.在完整群组、核心群组和依据剂量水平的核心群组中, TEAE $\geq 25\%$ 。				
事项, n (%)	完整 (N = 91)	核心 ^a (n = 67)	核心DL1S (n = 34)	核心DL2S (n = 29)
	85 (93)	63 (94)	33 (97)	26 (90)
[1433] 贫血 ^b	64 (70)	48 (72)	28 (82)	19 (66)
血小板减少症 ^b	48 (53)	41 (61)	20 (59)	19 (66)
疲劳	34 (37)	25 (37)	11 (32)	12 (41)
CRS	32 (35)	24 (36)	14 (41)	7 (24)
恶心	25 (27)	19 (28)	12 (35)	5 (17)
腹泻	23 (25)	16 (24)	7 (21)	7 (24)

[1434] a包括4名以剂量水平1,双剂量时间表治疗的患者。

[1435] b实验室异常。

[1436] 图27描绘在给予CAR+细胞后的不同时间点被观察到具有CRS和/或NT的受试者的数量和百分比。在这项评估中,观察到至第一个CRS或NT事件发作的中值时间分别为5(范围1-14)或10(范围3-23)天。在CAR+细胞给予后的前72小时内,1名患者具有NT(1级),并且仅14%(91名中的13名)具有CRS(7个1级,6个2级)。CRS或NT的中值持续时间(Q1,Q3)分别为5(4,8)或10.5(7,19)天。在17例中的12例(71%)中,在CRS后发生NT。除了一个1级震颤和2名患者因具有进行中的NT的进行性疾病而死亡以外,所有可评价的NT事件都在分析时消退

(基于所报告事件的安全性数据库,包括在此实施例中所所述的分析时间点之后分析的其他受试者)。

[1437] 在完整群组 (n=91) 中,向具有CRS或NT发作的所选受试者给予使用托珠单抗和/或地塞米松的如下抗细胞因子疗法:单独托珠单抗,4% (n=4);单独地塞米松,9% (n=8);托珠单抗和地塞米松,8% (n=7)。地塞米松剂量的中值数为6 (范围,2-99);并且托珠单抗剂量的中值数为1 (范围,1-3)。

[1438] 表27显示以DL1或DL2接受单一剂量的核心群组中受试者的毒性结果。未发生因CRS或NT所致的死亡。到CRS发作的中值时间为5天 (范围,2-14),并且到NT发作的中值时间为11.5天 (范围,5-23)。在核心群组中,13% (n=9) 接受托珠单抗,并且18% (n=12) 接受地塞米松,以改善毒性。百分之十八的受试者 (67名中的12名) 展现出与脑病一致的神经毒性项,包括脑病 (13%), 6% (67名中的4名) 患有失语,并且3% (67名中的2名) 患有癫痫。在表27中,显示在所有剂量水平下或特定地在给予DL1或DL2的受试者中,展现出所指示毒性结果的受试者的数量或占总受试者的% (括号)。还在括号中显示上和下95%置信区间。

[1439]

表27.接受不同剂量水平的核心群组中的毒性。			
	所有剂量水平 ^a n=67	DL1S n=34	DL2S n=29
CRS, n (%) [95%CI]			
任何等级	24 (36) [24, 48]	14 (41) [25, 59]	7 (24) [10, 44]
1/2级	23 (34) [23, 47]	13 (38) [22, 56]	7 (24) [10, 44]
3/4级 (sCRS)	1 (1) [0, 8]	1 (3) [0, 15]	0
神经毒性^b, n (%) [95% CI]			
任何等级	14 (21) [12, 33]	8 (24) [11, 41]	5 (17) [6, 36]
1/2级	4 (6) [2, 15]	1 (3) [0, 15]	3 (10) [2, 27]
3/4级 (sNT)	10 (15) [7, 26]	7 (21) [9, 38]	2 (7) [1, 23]
任何, n (%) [95%CI]			
CRS或NT, n (%)	28 (42) [30, 54]	15 (44) [27, 62]	10 (34) [18, 54]
sCRS或sNT, n (%)	10 (15) [7, 26]	7 (21) [9, 38]	2 (7) [1, 23]

[1440] ^a四名按DL1D治疗的患者具有类似结果。

[1441] ^b包括意识错乱状态、脑病、失语、共济失调、小脑综合征、谵妄、意识水平下降、头晕、淡漠情感、手眼协调能力受损、记忆缺陷、震颤、激越、注意力障碍、构音困难、精神状态变化、肌无力、癫痫、嗜睡和尿失禁。

[1442] 在十二 (12) 名接受非合规产品的受试者中,10名以DL1给予,2名以DL2给予,都具有28天随访。在33%的受试者 (4/12) 中观察到CRS,并且在任何受试者中都没有观察到NT。两名受试者接受托珠单抗并且3名受试者接受地塞米松。毒性率与在给予合规产品的受试者的较大群组中观察到的那些是可比的。在接受非合规产品的受试者中,药代动力学 (PK) 扩增在具有CRS/NT的受试者、具有高肿瘤负荷或LDH水平的受试者中较高。

[1443] C. 对门诊给予的评估

[1444] 在此时间点评价总计八 (8) 名已在多个临床地点在门诊环境中治疗的受试者的数据 (中值年龄为58.5, ECOG为0或1), 包括3名数据在出于此实施例的目的分析的时间点之后可用的受试者。对于在住院环境中治疗的受试者,平均住院长度为15.6天 (SD 9.6, n=86), 且对于在门诊环境中治疗的受试者,平均住院长度为9.3天 (SD 11.9, n=8)。在门诊环境中

治疗的受试者中,观察到住院长度减少40%。在门诊CAR+ T细胞给予后在住院前的中值天数为5天(范围:4-22)。在门诊给予后,都不需要入住重症监护室(ICU)。

[1445] 在8名在门诊环境中治疗且具有超过28天的给予后随访的那些受试者中,1名在整个剂量限制性毒性阶段的持续期间都留在门诊。七(7)名患者因发热而住院(1名在研究第4天住院,其余在研究 $\geq$ 第5天住院),6名患者因CRS而住院(4名1级,2名2级),并且2名患者具有1级NT。没有患者经历严重CRS或NT。一(1)名患者是用托珠单抗而不用地塞米松针对CRS(2级)进行治疗,并且没有患者是用地塞米松针对CRS或NT进行治疗。一名患者在CAR+ T细胞给予后3天时住院。

[1446] 在91名在住院和门诊环境中治疗的受试者中,11名受试者(12%)需要入住ICU以管理毒性;8名受试者(9%)需要入住ICU以管理CRS或NT;2名受试者(2%)需要入住ICU以管理急性呼吸事件(一名与CAR+ T细胞给予有关,一名无关)。六(6)名受试者(6%)进行插管治疗(基于所报告事件的安全性数据库,包括在此实施例中描述的分析时间点之后分析的其他受试者; $n=94$);7名受试者(7%)接受血管加压药(基于TEAE评估中所报告事件的安全性数据库,限定为在CAR+ T细胞给予后的前28天中展现出低血压);并且2名受试者(2%)经历血液滤过(基于所报告事件的安全性数据库)。结果显示,极少数患者需要ICU水平的护理和相关程序。结果支持门诊给予的可行性,其具有在门诊环境中对毒性的安全管理、适当教育和门诊监测。

[1447] 对门诊给予的评估支持安全门诊给予的可行性。30%的受试者没有再次住院。

[1448] D. 药代动力学评估

[1449] 在DLBCL群组中具有可评估PK的87名受试者中,在给予前(治疗前或淋巴细胞清除化学疗法(LDC)前)的时间点和治疗后的各个时间点(以给予当天为第1天)的外周血和骨髓中的CAR⁺ T细胞数量,其是通过流式细胞术(使用对用作替代标记的截短受体具有特异性的抗体)以及定量聚合酶链式反应(qPCR)(使用对存在于编码嵌合抗原受体(CAR)的载体中的土拨鼠肝炎病毒转录后调节元件(WPRE)具有特异性的引物)来评估。评估标绘在第0天与第28天之间所指示CAR+细胞群的每微升数量的曲线下面积(AUC₀₋₂₈),以及CAR+细胞的最大或峰值血液浓度(C_{max}; CAR+细胞/ μ L血液)。通过流式细胞术,通过用CD19染色评估外周血中的B细胞发育不良。使用多重细胞因子测定来测量细胞因子。对于安全性分析,汇集来自所有接受不同剂量水平的受试者的数据。对于反应分析,将数据按剂量水平分层。统计学分析是双侧的,不进行多重数调整。

[1450] 图10A显示在不同所指示时间点所检测的每微升血液的CAR⁺ T细胞数量,如通过qPCR或流式细胞术所评估。图10B显示在第11+3天每微升血液与每微升骨髓中的CAR+细胞。如图10A中所示,通过基于流式细胞术的测定和基于qPCR的测定二者观察来自受试者的样品中表达CAR的细胞的水平。如图10B中所示,PK结果被评估的所有受试者(对于流式细胞术和qPCR,分别地 $n=86$ 和 85 ,不包括一名不具有可用流式细胞术结果的患者和2名不具有可用qPCR结果的患者)在血液和骨髓中显示可检测的CAR表达细胞数。结果与以下观察结果一致:CAR+ T细胞被相似地输送至骨髓和血液。

[1451] 在以下接受剂量水平1(DL1)的不同患者亚组中比较CD4⁺和CD8⁺CAR表达细胞随时间的水平(如通过AUC₀₋₂₈和C_{max}所评估):从头(DLBCL NOS型)或从滤泡性淋巴瘤转化(tFL)的弥漫性大B细胞淋巴瘤(核心; $N=32$)、从边缘区淋巴瘤或慢性淋巴细胞白血病转化的

DLBCL (tMZL/tCLL;N=4) 或套细胞淋巴瘤 (MCL;N=5), 所述患者已经以DL1接受CAR表达T细胞。如图11A和图11B中所示, AUC_{0-28} 和 C_{max} 在不同疾病亚组中的受试者之间变化, 其中表达CAR的CD4+和CD8+细胞的扩增在非核心子集中趋于较低。PMBCL (n=2) 和FL3B (n=1) 由于患者数量有限而没有显示。在接受DL2的受试者中的扩增与在接受DL1的受试者中类似。

[1452] E. 依据剂量水平的药代动力学评估

[1453] 还在核心群组 (患有DLBCL NOS型或高级别B细胞淋巴瘤 (双/三打击)) 的受试者中比较已经接受剂量水平1 (DL1) 的受试者与已经接受剂量水平2 (DL2) 的受试者的表达CAR的CD3+、CD4+和CD8+细胞的 AUC_{0-28} 和 C_{max} 。如图12A和图12B以及表28中所示, 与已接受DL1的受试者相比, 在接受DL2的受试者中观察到表达CAR的CD3+、CD4+和CD8+细胞的中值 AUC_{0-28} 较高。类似地, 在完整DLBCL群组中观察到, 在已接受DL2的受试者中有较高的扩增趋势。如与已接受DL1的那些受试者相比, 在已接受DL2的受试者中也观察到3个月时较高的反应持久性 (DOR), 而毒性没有增加。在接受DL1与DL2的受试者之间, 到CD4+和CD8+CAR+细胞的 C_{max} 的中值时间 (T_{max}) 是相似的。

[1454] 在DL2中观察到相比于DL1增加的CAR+ T细胞暴露, 对应于DL2受试者中增加的反应持久性而没有增加的毒性。

表28.核心群组中依据剂量水平分组的受试者的药代动力学

	DL1S (n = 32)	DL2S (n = 27)	总数, DL1S和DL2S (n=59)
CD3⁺			
C_{max}, 中值 (细胞/μL)	48.2	96.2	65.8
Q1, Q3	15.6, 151.3	30.2, 219.5	19.0, 204.2
Min, max	0.1, 7726.3	1.1, 1280.9	0.1, 7726.3
T_{max}, 中值 (天)	14.5	15.0	15.0
Q1, Q3	11, 15	11, 15	11, 15
Min, max	9, 24	8, 31	8, 31
AUC₀₋₂₈, 中值 (细胞* 天/μL)	477.7	823.1	542.4
Q1, Q3	165.9, 999.3	155.8, 3628.3	155.8, 3381.9
Min, max	1.8, 142816.7	16.5, 16087.8	1.8, 142816.7
CD4⁺			
C_{max}, 中值 (细胞/μL)	7.0	14.9	7.7
Q1, Q3	2.6, 46.0	2.0, 46.8	2.5, 46.8
Min, max	0.1, 3039.9	0.2, 169.4	0.1, 3039.9
T_{max}, 中值 (天)	14.0	15.0	15.0
Q1, Q3	11, 15	11, 15	11, 15
Min, max	8, 24	8, 31	8, 31
AUC₀₋₂₈, 中值 (细胞* 天/μL)	71.1	166.1	91.5
Q1, Q3	26.4, 274.7	18.1, 679.0	23.9, 368.8
Min, max	1.2, 68990.3	2.9, 4266.8	1.2, 68990.3
CD8⁺			
C_{max}, 中值 (细胞/μL)	26.1	62.8	43.6
Q1, Q3	3.7, 111.2	26.2, 171.7	9.1, 151.6
Min, max	0.0, 5237.6	0.7, 1261.8	0.0, 5237.6
T_{max}, 中值 (天)	15.0	15.0	15.0
Q1, Q3	11, 16	11, 17	11, 16
Min, max	4, 28	8, 31	4, 31
AUC₀₋₂₈, 中值 (细胞* 天/μL)	347.2	606.6	412.2
Q1, Q3	52.1, 871.4	155.7, 2463.4	72.1, 1852.5
Min, max	0.3, 81865.9	4.7, 15570.0	0.3, 81865.9

[1455]

[1456]

[1457] F.持久性

[1458] 分别基于可检测的表达CAR的CD3⁺、CD4⁺或CD8⁺细胞水平和在血液中检测到的CD19⁺ B细胞水平,在已经给予CAR⁺ T细胞的患有DLBCL的可评价受试者中于不同时间点评估表达CAR的细胞和CD19⁺ B细胞发育不良 (CD19⁺ B细胞数量低或不存在的持久性。结果列于表29中。在进展时 (不论BOR的进展时间;n=37) 评价的受试者中,在进展时观察到0.17个CD4+CAR+细胞/μL的中值 (范围,0-65.5个细胞/μL) 和0.15个CD8+CAR+细胞/μL的中值 (范围,0-131.8个细胞/μL)。在复发时 (在实现CR之后进展时) 评价的受试者 (n=12) 中,0.17/μL CD4+CAR表达细胞的中值 (范围,0-35.1个细胞/μL) 和0.20个细胞/μL的中值 (范围,0-

131.8个细胞/ μL)。在复发时观察到表达CAR的CD8+细胞。在12个月时在75%的患有DLBCL的可评价受试者中观察到表达CAR的细胞的长期持久性。还在12个月时在75%的受试者中以及在不论何种复发状态的受试者中观察到B细胞发育不良的长期持久性。结果与以下结论一致:抗CD19 CAR表达细胞在大多数受试者中展现出长期持久性,并且表明即使在复发患者中也有持续进行低水平疾病控制的潜力。

[1459] 在复发的受试者中,91.7% (11/12) 在复发时在血液中具有可检测的CAR表达细胞。这个结果与以下结论一致:在一些实施方案中,组合疗法或其他干预可以用于扩大和/或加强表达CAR的细胞(例如可被消耗的那些)。

[1460]

表29.CAR+细胞长期持久性和CD19发育不良						
	第 3 个月	第 6 个月	第 9 个月	第 12 个月	在进展时	在复发时
可评价患者中的CAR T持久性, n	50	30	18	12	37	12
CD3 ⁺ , %	100	80.0	77.8	75.0	91.9	91.7
CD4 ⁺ , %	88.0	63.3	50.0	41.7	83.8	83.3
CD8 ⁺ , %	90.0	70.0	55.6	50.0	83.8	75.0
CD19 ⁺ B细胞发育不良 (<1个细胞/ μL), %	96.0	93.3	77.8	75.0	97.3	100

[1461] G. 药代动力学评估和毒性

[1462] 还比较具有任何等级(在这项评估中,1-4级中的任一个;没有观察到5级CRS或NT)的细胞因子释放综合征(CRS)或神经毒性(NT)的核心群组中的受试者与未被评估为展现出任何等级的CRS或NT的受试者的CD4⁺和CD8⁺CAR表达细胞的AUC₀₋₂₈和C_{max}。中值CD4⁺CAR⁺AUC₀₋₂₈ (Q1,Q3) 对于无CRS (0级;n=43) 为59 (18,210), 并且对于任何CRS (1-4级;n=20) 为267 (91,1510) (p=0.001); 中值CD8⁺CAR⁺AUC₀₋₂₈ (Q1,Q3) 对于无CRS (0级;n=43) 为310 (36,900), 并且对于任何CRS (1-4级;n=20) 为605 (174,5619) (p=0.021); 中值CD4⁺CAR⁺AUC₀₋₂₈ (Q1,Q3) 对于无NT (0级;n=50) 为71 (23,244), 并且对于任何NT (1-4级;n=13) 为1269 (184,3057) (p=0.003); 中值CD8⁺CAR⁺AUC₀₋₂₈ (Q1,Q3) 对于无NT (0级;n=50) 为304 (43,799), 并且对于任何NT (1-4级;n=13) 为2463 (607,7691) (p=0.004)。如上文所述并且如图13A-图13D中所示,较高的随时间变化的CD4⁺和CD8⁺CAR表达细胞水平与CRS和NT相关。

[1463] H. 药代动力学评估和反应

[1464] 在具有CR、PR或PD或CR、PR或PD的3个月(M3)持久反应的最佳总体反应(BOR)的受试者中,随时间评估峰值CD3⁺CAR⁺细胞数量/ μL (CD3+C_{max})。如图14A和图14B中所示,在具有更高扩增的受试者中观察到朝向更佳BOR的趋势,且在受试者之间具有变化性。

[1465] I. 依据血液分析物和患者参数的药代动力学评估

[1466] 与展现出CAR+CD3+血液C_{max}<500个CAR+ T细胞/ μL 的受试者 (N=7) 中相比,在展现出CAR+CD3+血液C_{max}>500个CAR+ T细胞/ μL 的受试者 (N=55) 中评估CAR+ T细胞治疗前(淋巴细胞清除化学疗法前) 血浆细胞因子水平,所述血浆细胞因子包括白细胞介素-7 (IL-7)、IL-15、巨噬细胞炎性蛋白 (MIP-1 α)。如图15A中所示,观察到升高的CAR+ T细胞治疗前细胞因子血浆水平与CAR+CD3+C_{max}>500个CAR+ T细胞/ μL 相关 (Wilcoxon P值<.05 (不进行多重数调整);除了IL-7,p=0.07)。

[1467] 如与展现出CAR+CD3+血液 $C_{\max}$ <500个CAR+ T细胞/ μ L的受试者(N=9)相比,还在展现出CAR+CD3+血液 $C_{\max}$ >500个CAR+ T细胞/ μ L的受试者(N=68)中评估各种血浆细胞因子(IL-6、IL-10、IL-16、干扰素 γ (IFN- γ)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、MIP-1 α 、MIP-1 β 、单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1)和C-X-C基序趋化因子10 (CXCL10))的峰值水平。如图15B中所示,观察到较高的峰值细胞因子水平与CAR+CD3+ $C_{\max}$ >500个CAR+ T细胞/ μ L相关(Wilcoxon P值<0.05;不进行多重数调整)。

[1468] 评估在CAR+ T细胞治疗前(淋巴细胞清除化疗(LDC)前)体积肿瘤测量值尺寸乘积之和 (SPD) (作为肿瘤负荷的指示物)与CD3⁺CAR+ T细胞的AUC₀₋₂₈ (代表随时间的CAR+ T暴露)之间的关系。如图16中所示,在基线SPD与CD3⁺AUC₀₋₂₈之间观察到正相关性,且Spearman相关系数为0.32且p=0.019。

[1469] J. 治疗前患者参数以及反应和毒性结果

[1470] 比较具有任何等级(此处,1-4级)细胞因子释放综合征(CRS)或神经毒性(NT)的受试者与不具有任何CRS或NT(0级)的CAR+ T细胞治疗前(LDC前)分析物水平,包括细胞因子和炎性标记,如铁蛋白、C反应蛋白(CRP)、D-二聚体(纤维蛋白降解产物)、IL-6、IL-10、IL-15、IL-16、TNF- α 、MIP-1 α 和MIP-1 β 。在这个群组中,在具有1-4级CRS的受试者中,除了一个CRS事件之外的所有CRS事件都被确定为1级或2级。如图17A(CRS)和图17B(NT)中所示,基于单变量分析,观察到较高峰值血浆细胞因子水平和炎性标记水平与CRS和NT相关(除了对于CRS的铁蛋白(p=0.14)和对于CRS的CRP(p=0.09)外,所有分析物的Wilcoxon P值<0.05)。对于CRS,在多变量分析中调整肿瘤负荷后,MIP-1 β 、IL-10和TNF的p<0.05;对于NT,IL-15、IL-6、MIP-1 α 和TNF的p<0.05。

[1471] 在观察到未发生CRS或神经毒性的受试者与观察到已发生CRS或NT的受试者之间比较治疗前(LDC前)患者参数,如乳酸脱氢酶(LDH)水平和作为肿瘤负荷指示物的体积肿瘤测量值,如尺寸乘积之和 (SPD)。如图18中所示,使用单变量统计学分析,具有CRS或NT的受试者展现出较高水平的治疗前患者参数,如SPD(cm^2)和LDH(U/L)水平;观察到此类水平与CRS或NT相关联。所观察到的与CRS和NT相关的其他患者参数包括自诊断以来的较短时间(对于CRS和NT分别为p=0.05和p=0.09)。所观察到与CRS或NT无关的患者参数包括年龄(分别为p=0.19和p=0.54)和先前治疗次数(分别为p=0.67和p=0.59)、疾病阶段0-2与3-4(p=0.79,p=0.51)和患者体重(分别为p=0.35和p=0.44)。

[1472] 图19A显示单独患者中的治疗前SPD和LDH水平(点;单独点的阴影指示单独的患者是否展现出任何等级的神经毒性(左侧图)或者是否展现出任何等级的CRS(右侧图))。在图19A中,y轴和x轴上的虚线分别描绘SPD $\geq 50\text{cm}^2$ 和LDH $\geq 500\text{U/L}$ 。如图19A中所示,观察到约50 cm^2 或更高的SPD和/或约500U/L或更高的LDH与NT和CRS的风险相关。在高于或低于图19A中的虚线所指示的SPD和LDH水平的受试者中发生CRS或NT的的优势比估计值(置信区间(CI)为95%)描绘于图19B和图19C中。超过1的优势比指示发生CRS或NT的概率或可能性增加。如图所示,观察到50 cm^2 或更高的SPD和500U/L或更高的LDH与增加的发生CRS或NT的风险相关。观察到50 cm^2 或更高的SPD和500U/L或更高的LDH与增加约8倍的发生任何等级CRS和NT的风险相关,并且低于50 cm^2 的SPD和低于500U/L的LDH显示降低的任何等级CRS和NT的风险。结果与以下一致:基线患者参数(包括高肿瘤负荷和炎性生物标记)与CAR+ T细胞扩增和增加的CRS和神经毒性的比率。

[1473] 用单变量统计学分析比较在3个月时具有和不具有持久反应的受试者的各种治疗前(LDC前)患者参数,包括与肿瘤负荷相关的标记(SPD)、炎性细胞因子和其他血液分析物,包括LDH、铁蛋白、CRP、D-二聚体、SAA-1、IL-6、IL-10、IL-15、IL-16、TNF- α 、IFN- γ 、MIP-1 α 和CXCL10。如图20中所示,观察到肿瘤负荷的某些标记、炎症的标记或炎性细胞因子在展现出持久反应的受试者中较低(除了SPD($p=0.1274$))之外,所有参数的 p 值 <0.05)。在单独分析时,在接受DL2的受试者中观察到类似结果。观察到基线患者参数(包括高肿瘤负荷和炎性生物标记)与持久反应的负相关性。在一些方面,这种负相关性可能是由于CAR⁺ T细胞的较高扩增和消耗所致。

[1474] 使用基于单变量非参数检验的统计学分析评估患者因素、临床关联和血液分析物与发生某些程度的CRS和NT之间的关系。表30列出了单变量分析的结果。在这项评估中,年龄 <40 岁和无先前HSCT与CRS或NT的发生率相关。没有观察到年龄 <40 岁的受试者具有与更老患者在统计学上不同的较高肿瘤负荷的比率。与ECOG得分为0-1的受试者相比,ECOG得分为2的受试者不具有在统计学上不同的较高肿瘤负荷的比率。不具有先前HSCT或双/三打击或双重表达子的那些与CRS或NT无关。

表30.关键亚组的单变量分析						
变量, n (%)	CRS			NT		
	任何等级	1/2级	3/4级	任何等级	1/2级	3/4级
[1475] 完整群体 (n = 91)						
年龄						
< 40岁 (n = 8)	5 (63)	4 (50)	1 (13)	3 (38)	0	3 (38)
40-64岁 (n = 49)	19 (39)	19 (39)	0	9 (18)	5 (10)	4 (8)
≥ 65 岁 (n = 34)	8 (24)	8 (24)	0	5 (15)	1 (3)	4 (12)
LD前ECOG PS						
0-1 (n = 81)	28 (35)	27 (33)	1 (1)	15 (19)	4 (5)	11 (14)
2 (n = 10)	4 (40)	4 (40)	0	2 (20)	2 (20)	0
双/三打击或双重表达子						
[1476] 是 (n = 30)	12 (40)	12 (40)	0	6 (20)	3 (10)	3 (10)
否 (n = 22)	6 (27)	6 (27)	0	4 (18)	2 (9)	2 (9)
先前HSCT						
是 (n = 39)	10 (26)	10 (26)	0	5 (13)	4 (10)	1 (3)
否 (n = 52)	22 (42)	21 (40)	1 (2)	12 (23)	2 (4)	10 (19)

[1477] K. 峰值血液分析物、反应和毒性

[1478] 比较具有1-4级细胞因子释放综合征(CRS)或神经毒性(NT)的受试者与没有观察到任何CRS或NT的受试者的血液分析物的峰值治疗后血浆水平,所述血液分析物包括细胞因子和炎性标记,如CRP、血清淀粉样蛋白A1(SAA-1)、IL-2、IL-6、IL-10、IL-15、TNF- α 、MIP-1 α 、MIP-1 β 、MCP-1、CXCL10和C-C基序趋化因子配体13(CCL13)。如图21A(CRS; CRS 0级, $n=51$; CRS 1-4级, $n=28$)和图21B(NT; NT 0级, $n=63$; NT 1-4级, $n=16$)中所示,观察到较高峰值血浆细胞因子水平和炎性标记水平与CRS和NT相关(无CRS与任何CRS以及无NT与任何NT的Wilcoxon P 值 <0.001 , IL-15除外(分别为 $P=0.05$ 和 0.006))。

[1479] 与具有稳定疾病(SD)或进行性疾病(PD)的受试者($N=17$)的水平相比,对于具有

完全反应 (CR) 或部分反应 (PR) 的最佳总体反应 (BOR) 的受试者 (N=57); 或与在3个月时展现出CR/PR的受试者 (N=35) 相比, 对于具有3个月SD或PD (SD/PD) 的受试者 (N=31), 评估血液分析物的峰值血浆水平, 所述血液分析物包括细胞因子和炎性标记, 如CRP、SAA-1、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-15、淋巴毒素- α (LT- α)、TNF- α 、IFN- γ 、MIP-1 α 、MIP-1 β 、MCP-1、CXCL10和转化生长因子 β (TGF- β)。如图22A (最佳总体反应 (BOR)) 和图22B (第3个月的反应) 中所示, 观察到较低峰值血浆细胞因子水平和炎性标记水平与较佳的BOR和第3个月的反应相关 (Wilcoxon P值<0.05, 不进行多重数调整)。

[1480] 在这项研究中, 将所述抗CD19 CAR+细胞组合物的给予给予至具有大风险疾病特征的患有复发性/难治性侵袭性非霍奇金淋巴瘤 (NHL) 的受试者。观察到反应 (包括持久反应), 包括在DL2下的81% ORR、63% CR, 且在所有剂量水平下有80% 的在3个月时处于CR中的患者在6个月时仍处于CR中, 在所有剂量水平下治疗的受试者的中值DOR为9.2个月, 且在此实施例中的分析时间点尚未达到CR的中值持续时间。结果也与可管理毒性水平以及有利的安全性概况一致, 所述毒性水平和安全性概况在一些实施方案中可能与门诊给予一致。观察到严重CRS (1%) 和严重神经毒性 (12%) 的低比率, 在前72小时中事件极少。结果与门诊给予的可行性一致。

[1481] 药代动力学评估显示, CAR+ T细胞的较高扩增通常与增加的CRS和NT的比率相关。与接受DL2的受试者相比, 接受DL2的受试者显示较高CAR T暴露, 这通常对应于增加的反应持久性而不增加毒性发生率。在一些方面, 观察到治疗前 (如LDC前) 患者因素 (包括稳态和炎性细胞因子和肿瘤负荷) 与极高扩增和毒性相关和/或驱动极高扩增和毒性。显示所给予的CAR+ T细胞在所有患者的血液和骨髓中扩增, 且在受试者之间和在疾病类型之间存在变化性。所给予的CAR+ T细胞还展现出长期持久性, 有75% (9/12) 的可评价患者在12个月时具有可检测的CAR T细胞。观察到在复发时CAR T细胞和B细胞发育不良仍然存在 (分别是11/12和12/12的患者), 从而支持肿瘤可以逃避CAR T细胞的作用, 并且组合策略可以有效预防复发, 或者扩大、加强或增强消耗的CAR T细胞。通常, 在较高扩增下观察到较高反应的趋势, 且在受试者之间存在变化性, 从而支持其他患者因素和/或疾病特征 (例如, 肿瘤负荷) 可以有助于确定反应。

[1482] 实施例6: 基于峰值CAR T细胞数量的反应、持久反应和毒性的概率

[1483] 在给予表达抗CD19 CAR的细胞后, 在来自上文实施例2-5中所述临床研究的核心DLBCL群体中的可评估受试者中, 基于CAR+表达细胞的峰值数计算反应、持久反应和毒性的概率。受试者包括在实施例5中的时间点分析的那些。

[1484] 基于表达CAR的CD3+、CD4+或CD8+细胞的最大血液浓度 (C_{max} ; 细胞/ μ L血液), 得到反应 (总体反应率, ORR; 包括具有完全反应 (CR) 和部分反应 (PR) 的受试者)、3个月反应 (M3反应; 包括给予后第3个月的CR和PR)、任何NT、任何CRS、3-4级NT、3-5级NT或2-5级CRS的估计概率曲线。对于概率曲线, 使用线性逻辑回归模型拟合, 但CD3+的第3个月的CR/PR和CD8+的第3个月的CR/PR (其中使用二次模型拟合) 除外。

[1485] 如图23A (CD3+)、图23B (CD8+) 和图23C (CD4+) 中所示, 观察到较高的CD3+、CD8+和CD4+扩增与增加的CRS、NT和反应 (ORR) 率相关联。观察到较高CD3+和CD8+扩增在高 C_{max} 下导致持久反应 (3个月时的CR/PR) 的概率降低。

[1486] 所示结果与以下结论一致: 某些治疗前患者特征 (包括高肿瘤负荷和高炎症生物

标记水平)与增加的CRS和神经毒性以及增加的CAR⁺T细胞扩增相关。较低持久反应与CAR⁺细胞数量或扩增的极高水平相关,这与以下观察结果一致:某些高CAR扩增程度可能导致高度扩增的CAR⁺细胞的消耗。

[1487] 在本文所提供的一些实施方案中,CAR⁺T细胞暴露或峰值CAR⁺T细胞水平的治疗范围或窗口是通过所给予的方法或组合物或剂量来靶向和/或实现的,其确实或被设计为使毒性风险最小化和/或使反应可能性和/或反应持久性最大化或最优化。在一些实施方案中,可以向扩增或暴露低于某一水平的受试者给予一种或多种额外的干预,例如以加强CAR-T功能;在一些实施方案中,可例如基于一个或多个所观察参数,向展现出高水平暴露或扩增(例如与毒性风险和/或降低的反应持久性的可能性相关的那些)的受试者给予一种或多种干预,例如早期或预防措施,例如用于减少或限制CAR⁺T细胞扩增和/或降低毒性或改善反应持久性的目的的那些措施。

[1488] 在这项研究中,在这个时间点,相对于DL1,在DL2中观察到增加的CAR⁺T细胞暴露和较高的中值扩增,对应于DL2受试者中有增加的反应持久性(DOR),而没有增加的毒性。所述结果与以下结论一致:增加的CAR⁺细胞扩增在一定范围内与持久反应相关,但是极高扩增程度可能与较高毒性风险和/或较低反应持久性相关。在一些实施方案中,某些患者特异性因素(如基线患者因素,如体内平衡和炎性细胞因子水平以及指示肿瘤负荷的参数)可能与较高扩增程度和增加的毒性风险有关。

[1489] 实施例7:毒性症状的管理

[1490] 在上述临床研究中,图27描绘在给予CAR⁺细胞后的不同时间点被观察到患有细胞因子释放综合征(CRS)和/或神经毒性(NT)的受试者的数量和百分比。在上文实施例2-6中描述的临床研究中描述的时间点进行的评估中,观察到在完整群组(n=91)中到首次发作CRS或NT事件的中值时间分别为5(范围1-14)或10(范围3-23)天。在CAR⁺细胞给予后的前72小时内,1名患者具有NT(1级),并且仅14%(91名中的13名)具有CRS(7个1级,6个2级)。CRS或NT的中值持续时间(Q1,Q3)分别为5(4,8)或10.5(7,19)天。在17例中的12例(71%)中,在CRS后发生NT。除了一个1级震颤和2名患者因具有进行中的NT的进行性疾病而死亡以外,所有可评价的NT事件都在分析时消退(基于所报告事件的安全性数据库,包括在上文实施例2-6中所述的分析时间点之后分析的其他受试者)。在完整群组(n=91)中,向具有CRS或NT发作的特定受试者给予使用托珠单抗和/或地塞米松的如下抗细胞因子疗法:单独托珠单抗,4%(n=4);单独地塞米松,9%(n=8);托珠单抗和地塞米松,8%(n=7)。地塞米松剂量的中值数为6(范围,2-99);并且托珠单抗剂量的中值数为1(范围,1-3)。

[1491] 在完整群组(n=67)中,到CRS发作的中值时间为5天(范围,2-14),并且到NT发作的中值时间为11.5天(范围,5-23)。13%(n=9)接受托珠单抗,并且18%(n=12)接受地塞米松,以改善毒性。百分之十八的受试者(67名中的12名)展现出与脑病一致的神经毒性项,包括脑病(13%),6%(67名中的4名)患有失语,并且3%(67名中的2名)展现出患有癫痫。

[1492] 在一些情况下,根据下表31中所述的毒性管理算法对显示CRS或NT体征或症状的受试者进行治疗。

[1493]

表31.毒性管理算法		
	管理	
CRS ^a	托珠单抗	地塞米松
任何等级		
入院观察，进行感染性检查；根据机构指南使用抗生素；对症支持；建议预防癫痫（例如左乙拉西坦）		
1级	无	无
CAR+ T细胞给予之后 ≥ 96小时		
1级	每24小时8 mg/kg x 1-2个剂量	每12-24小时10 mg ≥ 3天
CAR+ T细胞给予之后 ≤ 96小时		
2级	每24小时8 mg/kg x 1-2个剂量	每12-24小时10 mg ≥ 3天
3级	每24小时8 mg/kg x 1-2个剂量	每12小时10-20 mg ≥ 3天
4级	每24小时8 mg/kg x 1-2个剂量	每6小时20 mg ≥ 3天
	管理	
神经毒性 ^b		
1级		
轻度症状	入院观察： 排除神经症状的其他病因	

[1494]

	开始抗癫痫药（例如左乙拉西坦）以预防癫痫
2级	
中度症状和/或年龄限制的工具性ADL	- 考虑每12-24小时静脉内地塞米松10 mg - 继续使用地塞米松，直到事件 ≤ 1级，然后在必要时在3天内逐渐减少
3级	
严重或医学上显著的和/或自我护理能力有限性ADL	- 每12小时静脉内给予地塞米松10 mg - 继续使用地塞米松，直到事件 ≤ 1级，然后在至少3天内逐渐减少
4级	
危及生命的症状	- 每6-12小时静脉内给予地塞米松10-20 mg - 继续使用地塞米松，直到事件 ≤ 1级，然后在至少3天内逐渐减少
任何等级的CRS或NT：在很早发作（< 72小时）和/或快速进展的情况下，建议采用高剂量类固醇（每6-12小时20 mg或甲基泼尼松龙）进行积极干预	

[1495] ^a根据Lee等人，Blood. 2014;124(2):188-95进行分级。

[1496] ^bCTCAE v4.03。

[1497] 实施例8：在给予抗CD19CAR表达细胞后，在患有复发性和难治性非霍奇金淋巴瘤(NHL)的受试者中对反应和安全性结果的进一步评估

[1498] 在上文实施例2-6中描述的临床研究中的后续时间点在患者中评估反应和安全性结果。

[1499] A. 受试者和治疗

[1500] 此实施例中呈现的在此时间点进行的分析基于对已经给予抗CD19 CAR表达细胞的完整群组中总计102名受试者(73名在核心群组中)的评估。所述完整群组包括如下受试者:在2个治疗线后患有DLBCL(DLBCL NOS型;从头或从滤泡性淋巴瘤转化的);高级别B细胞淋巴瘤(双/三打击);从CLL或MZL转化的DLBCL;PMBCL;和FL3B, ECOG 0-2;用于分析的所述核心群组包括如下受试者:患有DLBCL(NOS(从头或从滤泡性淋巴瘤转化(tFL))或高级别B细胞淋巴瘤(双/三打击)且东部肿瘤协作组体能状态(ECOG PS)为0或1。完整和核心群组中约90%的所治疗患者具有预测3-6个月的短中值总存活期(OS)的至少一种大风险疾病特征(参见Crump等人, Blood (2017) 130:1800-1808;和Van de Neste等人, Bone Marrow Transplant. (2016) 51 (1):51-7), 如双/三打击表达子、原发性难治性疾病、对2个或更多个治疗线的难治性、从未实现过CR、从未接受过自体干细胞移植(ASCT)或ECOG PS为2。

[1501] 在此时间点, 总计134名受试者已进行白细胞单采术, 其中2名受试者的组合物无法利用。对于DLBCL群组中99%的进行单采术的受试者(132/134), 产物是可利用的。在另外18名产物可利用的受试者中, 5名已经退出, 并且13名已经发生进行性疾病或已经死亡。已经向总计114名受试者给予抗CD19CAR表达细胞, 其中12名接受非合规抗CD19 CAR表达细胞(组合物不一定符合某些规范, 但被认为对于给予是安全的)。受试者已经接受DL1(n=45)、DL1(n=6)或DL2(n=51)的双剂量。已经向患有套细胞淋巴瘤(MCL)七(7)名受试者以DL1给予CAR⁺细胞。在此时间点, 在门诊环境中治疗八(8)名受试者。

[1502] 在所述时间点的完整和核心群组受试者的人口统计学和基线特征示于表32中。

表32.患者特征: DLBCL群组		
特征	完整 (n = 102)	核心 (n = 73)
中值年龄 (范围), 岁	61 (20-82)	60 (20-82)
≥0 (20-82) (范围)	37 (36)	24 (33)
B-NHL亚型, n (%)		
DLBCL NOS型, 从头	63 (62)	53 (73)
从FL转化 (tFL)	23 (23)	20 (27)
从MZL (tMZL) /CLL (tCLL) 转化	6 (6)/6 (6)	0
滤泡性, 3B级/PMBCL	1 (1)/3 (3)	0
分子亚型, n (%)		
[1503] 双/三打击 ^a	19 (19)	16 (22)
患者特征, n (%)		
ECOG PS 0-1	93 (91)	73 (100)
IPI 3-5	43 (42)	26 (36)
CNS受累	2 (2)	1 (1)
化疗难治性 ^b	71 (70)	49 (67)
先前治疗线, 中值 (范围)	3 (1-8)	3 (2-8)
从未实现过CR	49 (48)	36 (49)
任何HSCT	41 (40)	28 (38)
先前自体	38 (37)	28 (38)
先前同种异体	5 (5)	0

[1504] HSCT, 造血干细胞移植。IPI, 国际预后指数; SD, 稳定疾病; WHO, 世界卫生组织。^a 在试验起始时, 包括在DLBCL NOS型组织学中; 基于最新的WHO标准 (Swerdlow等人, (2016) Blood 127 (20):2375-2390), 现在被视为高级别B细胞淋巴瘤, 其具有myc和bc12和/或bc16重排以及DLBCL组织学(双/三打击)。

[1505] ^b 到最后一次含有化学疗法的方案的SD或PD或在自体SCT后< 12个月复发。

[1506] B. 治疗后的安全性和反应结果

[1507] 表33显示完整和核心群组的安全性结果。如图所示,没有观察到因CRS或NT所致的死亡。在完整群组中,到CRS发作的中值时间为5天(范围,2-12天),并且到NT发作的中值时间为10天(范围,3-23天)。在完整群组中,17%(n=17)接受托珠单抗,并且21%(n=21)接受皮质类固醇,作为毒性干预。在核心群组中,与DL1相比,在DL2下没有观察到CRS或NT增加。在完整群组中,有19名(19%)受试者患有1级CRS,18名(18%)受试者患有2级CRS,0名(0%)受试者患有3级CRS,以及1名(1%)受试者患有4级CRS。

[1508]

表33.在CAR ⁺ 细胞给予后的安全性结果				
	完整	核心		
	所有剂量水平 n = 102	所有剂量水平 ^a n = 73	DL1S n = 33	DL2S n = 37
CRS, n (%)				
任何等级	38 (37)	27 (37)	14 (42)	11 (30)
1/2级	37 (36)	26 (36)	13 (39)	11 (30)
3/4级 (sCRS)	1 (1)	1 (1)	1 (3)	0
神经毒性, n (%)				
任何等级	23 (23)	18 (25)	8 (24)	9 (24)
1/2级	10 (10)	7 (10)	1 (3)	6 (16)
3/4级 (sNT)	13 (13)	11 (15)	7 (21)	3 (8)
任何, n (%)				
CRS或NT	44 (43)	32 (44)	15 (45)	15 (41)
sCRS或sNT	13 (13)	11 (15)	7 (21)	3 (8)

[1509] ^a三名按DL1D(剂量水平1,双剂量时间表)治疗的患者具有类似结果。

[1510] 图28描绘在此时间点完整群组(n=102)中被观察到已经经历实验室异常和治疗紧急不良事件(TEAE)的受试者的百分比(不包括用合规产品以DL1治疗且随访至少28天的6名患有MCL的受试者的数据;显示在20%或更多受试者中发生的TEAE和实验室异常)。

[1511] 如表34中所示,在患有复发性或难治性(R/R)DLBCL的受试者中观察到高反应率。结果与核心群组中对治疗结果的剂量反应作用一致。肿瘤负荷高于阈值(如大于50cm²的尺寸乘积之和(SPD)的体积肿瘤测量值所指示)的受试者在接受DL1和DL2的受试者之间类似地分布(每组中受试者的约1/3)。

[1512]

表34.CAR ⁺ 细胞给予后的反应				
	完整	核心		
	所有剂量水平 (n=102)	所有剂量水平 ^a (n=73)	DL1S(n=33)	DL2S(n=37)
ORR (95% CI), %	75 (65-83)	80 (68-88)	79 (61-91)	78 (62-90)
CR (95% CI), %	55 (45-65)	59 (47-70)	55 (36-72)	62 (45-78)
3个月ORR (95% CI), %	51 (41-61)	59 (47-70)	52 (34-69)	65 (48-80)
3个月CR (95% CI), %	38 (29-48)	45 (34-57)	36 (20-55)	51 (34-68)
6个月ORR (95% CI), %	40 (31-50)	47 (35-59)	42 (26-61)	49 (32-66)
6个月CR (95% CI), %	34 (25-44)	41 (30-53)	33 (18-52)	46 (30-63)

[1513]

[1514] ^a三名按DL1D(剂量水平1,双剂量时间表)治疗的患者具有类似结果。

[1515] 包括核心群组中以所有剂量水平治疗的所有DLBCL患者的大风险DLBCL亚组中不同受试者亚组之间的六个月客观反应率(ORR)显示于图29中。结果显示大风险DLBCL亚组对抗CD19 CAR+ T细胞给予的高持久ORR。

[1516] 完整群组 and 核心群组受试者的反应持续时间(DOR, 中值随访期为8个月)和总存活期(依据最佳总体反应分组(无反应者、CR/PR、CR和/或PR), 中值随访期为12个月)的结果显示于图30A-图30D中。结果显示, 在核心群组中, 88%的在3个月时具有CR的受试者在6个月时继续显示CR, 并且93%的在6个月时展现出CR的受试者继续显示更长期的反应。

[1517] 结果与以下观察结果一致: 含有精确且一致剂量的CD4⁺和CD8⁺CAR+ T细胞的抗CD19 CAR+细胞组合物的给予导致患有R/R侵袭性NHL且预后不良和/或预处理难消化的受试者产生持久反应。结果在核心群组中显示有利的持久反应率, 在6个月时具有49%ORR和46%CR率, 且93%的在6个月时处于CR中的受试者(在所有剂量水平下)在此时间点仍处于反应中。结果也与可管理毒性和有利的安全性概况一致, 包括低严重CRS(1%)和严重神经毒性(13%)比率, 这在一些方面支持门诊给予。

[1518] 实施例9: 用高剂量类固醇早期干预来管理神经毒性

[1519] 向总共38名受试者给予用于治疗成人ALL的含有表达抗CD19嵌合抗原受体(CAR)的自体T细胞的T细胞组合物。在治疗开始时, 在38名受试者中有三十二名(32名)展现出骨髓中的疾病的形态学证据(至少5%的原始细胞), 并且通过PCR得出有六名(6名)展现出可分子检测的疾病。所给予的治疗性T细胞组合物通过如下过程生成, 所述过程包括从来自单独受试者的白细胞单采术样品对T细胞(包括CD4⁺和CD8⁺细胞)进行基于免疫亲和力的选择, 随后用编码抗CD19 CAR的病毒载体的激活和转导、扩增和冷冻保存。CAR含有衍生自鼠类抗体的抗CD19 scFv; 包括细胞外区域、跨膜结构域和共刺激区域的CD28区域; 以及CD3- ζ 细胞内信号传导结构域。在静脉内给予之前在床边解冻冷冻保存的细胞组合物。

[1520] 将细胞以约 1.0×10^6 个CD3+CAR+细胞/kg(受试者体重)的第一目标剂量给予, 接着在约14-28天后给予约 3.0×10^6 个CD3+CAR+细胞/kg(受试者体重)的第二剂量。

[1521] 在给予自体CAR表达细胞之前, 已经向受试者给予预处理的淋巴细胞清除化学疗法, 其仅含有单一剂量的环磷酰胺(约1-3g/m²)或含有环磷酰胺(30-60mg/kg)和氟达拉滨(25mg/m²-30 mg/m², 经三天每天给予)。

[1522] 监测受试者的反应和其他结果, 包括检查骨髓、外周血和脑脊液(CSF)。还评估并监测受试者的神经毒性(神经系统并发症, 包括以下症状: 意识模糊、失语、脑病、肌阵挛癫痫、惊厥、嗜睡和/或精神状态改变), 根据国家癌症研究所—常见毒性标准(CTCAE)量表4.03版(NCI-CTCAE v4.03), 按1-5量表评级。常见毒性标准(CTCAE)量表4.03版(NCI-CTCAE v4.03)。参见美国卫生和公众服务部的不良事件通用术语标准(Common Terminology for Adverse Events, CTCAE)第4版, 发布于: 2009年5月28日(v4.03: 2010年6月14日); 以及Guido Cavaletti & Paola Marmioli Nature Reviews Neurology 6, 657-666 (2010年12月)。还确定并监测细胞因子释放综合征(CRS), 并且基于严重程度进行分级。

[1523] 通过流式细胞术分析样品的药代动力学参数, 包括血液中CD3+CAR表达细胞的存在和数量、CD3+CAR+细胞的最大(峰值)血浆浓度(C_{max})和实现C_{max}的时间点(T_{max}), 所述样品源自在每个剂量之前(第1天)和在给予第一剂量(在第一剂量之后第2、4、7和14天)和第二剂量之后的不同时间点(在第二剂量之后第21和28天以及第2、3、6和12个月)获得的受试者

血液。

[1524] 总共34名受试者在给予细胞之后在血液中具有可检测的CD3+CAR+ T细胞,并且34名受试者中的29名在首次给予之后展现出CD3+CAR+ T细胞的最大细胞扩增(C_{max})。五名受试者中的四名在第二次给予之后具有最大扩增,展现出低于2级的神经毒性。

[1525] 在第二剂量之后具有最大扩增的一名受试者展现出严重的神经毒性(延长的3级神经毒性,如通过观察到的症状的10天或更长时间的持续时间所确定)。在给予CAR+ T细胞之前,此受试者展现出形态学疾病,并且已经接受2个先前治疗线。受试者接受高剂量氟达拉滨/环磷酰胺淋巴细胞清除化疗和1.1x 10⁶个CD3+细胞/kg的第一剂量。受试者对第一剂量的CAR+ T细胞给予无反应,如通过在给予第一剂量之后第14天的肿瘤负荷(30%原始细胞)所示,此时受试者未展现出神经毒性或严重的细胞因子释放症状综合征(CRS)的症状。然后受试者接受氟达拉滨/高剂量环磷酰胺淋巴细胞清除疗法和3.3x10⁶个细胞/kg的第二剂量。

[1526] 在给予第二剂量之后第7天,受试者展现出CAR+ T细胞水平的快速增加(参见图31),其水平类似于在给予CAR+ T细胞的第一剂量之后具有延长的3级和5级神经毒性的受试者中观察到的水平。在给予第二剂量之后2天受试者展现出2级细胞因子释放综合征(CRS),并展现出39℃的发热。观察到的其他毒性包括3级意识模糊(持续时间:11天)、3级表达性失语(持续时间:6天)和3级脑病(持续时间:4天)。观察到此受试者的CD3+CAR+的c_{max}为75.3个细胞/μL,并且T_{max}是在给予第二剂量之后第29天。

[1527] 作为管理细胞因子释放综合征(CRS)和神经毒性(NT)症状的早期干预,在给予第二剂量之后的不同日期,以在每天10mg至40mg范围内的剂量给予地塞米松,如图31中所示。给予高剂量(每天最多40mg)地塞米松并维持地塞米松的给予直到第14天与随后的CAR+ T细胞扩增减弱相关(参见图31)。地塞米松逐渐减少并在第14天后停药,并且在逐渐减少地塞米松之后观察到CAR+ T细胞扩增的增加。受试者的严重神经毒性完全消退,并且没有发生脑水肿。

[1528] 结果与以下观察结果一致:采用高剂量地塞米松的早期干预可以减少所给予的CAR+ T细胞的过度扩增,并且可以预防某些毒性,如致命的脑水肿。

[1529] 实施例10:包括细胞因子释放综合征和神经毒性在内的毒性的症状管理

[1530] 以上在实施例8中描述的临床研究中,细胞因子释放综合征(CRS)的管理在一些情况下通常如下表35所述进行处理。

表35.毒性管理算法			
		管理	
CRS ^a		托珠单抗	地塞米松
[1531]	1级 在CAR+ T细胞给予之后 < 72 小时发作	每24小时8 mg/kg	任选每24小时10 mg
	2级 在CAR+ T细胞给予之后 < 72 小时发作	每12-24小时8 mg/kg	每12-24小时10 mg
	2级 在CAR+ T细胞给予之后 ≥ 72 小时发作	每12-24小时8 mg/kg	任选每24小时10 mg
[1532]	3级	每12小时8 mg/kg	每12小时10 mg
	4级	每6小时8 mg/kg	每6小时10 mg

[1533] ^a根据Lee等人,Blood.2014;124(2):188-95进行分级。

[1534] 在一些情况下,通常根据以下表36(CRS)和表37(NT)中所述的示例性毒性管理算法来处理CRS和神经毒性(NT)的管理。

表36.用于给予调节针对细胞因子释放综合征(CRS)的细胞疗法的药剂的示例性指南	
在CAR+ T细胞给予之后	监测: • 使用神经病学评价监测CRS症状(发热、血流动力学不稳定、缺氧) • 关注血清CRP、铁蛋白和凝血参数 • 考虑住院进行密切监测
如果在CAR+ T细胞给予后 ≥ 72 小时, 发作发热 ≥ 38°C/100.4°F:	监测: • 检查嗜中性粒细胞绝对计数(ANC), 评价发热, 排除感染(监视培养物) • 允许/继续密切监测心脏和器官功能, 包括常规神经病学检查 • 关注血清C反应蛋白(CRP)、铁蛋白和凝血参数(国际标准化比率(INR)、部分凝血活酶时间(PTT)、纤维蛋白原) • 对症支持(例如退热剂、镇痛药)、抗生素(根据机构指南)(发热性嗜中性粒细胞减少症)
[1535] 如果CRS体征或症状快速发作(定义为在CAR+ T细胞给予后 < 72小时观察到发热 ≥ 38.5°C/101.3°F, 或者定义CRS ≥ 2级的任何体征或症状); 或 如果当在发热发作之后监测时出现CRS的临床进展或快速恶化, 则开始一线治疗	一线治疗: 1级: • 如果缓慢发作(≥ 72h), 则对症治疗 • 如果快速发作(< 72h), 则考虑静脉内托珠单抗8 mg/kg ± 地塞米松10 mg q24h 2级: • 如果缓慢发作(≥ 72h), 则在需要时给予静脉内托珠单抗8 mg/kg ± 静脉内地塞米松10 mg q12-24h • 如果快速发作(< 72h), 则给予静脉内托珠单抗8 mg/kg和静脉内地塞米松10 mg q12-24h 3级: • 给予静脉内托珠单抗8 mg/kg和静脉内地塞米松10 mg q12h 4级: • 给予静脉内托珠单抗8 mg/kg和静脉内地塞米松20 mg q6
如果使用一线治疗在24小时内没有改善或CRS快速进展, 则开始二线治疗	二线治疗: • 给予第二剂量的静脉内托珠单抗8 mg/kg和静脉内地塞米松20 mg q6-12h • 考虑临床恶化的其他病因(例如败血症、肾上腺功能不全)
如果使用二线治疗在24小时内没有改善或CRS快速	三线治疗: • 甲基泼尼松龙2 mg/kg, 接着2 mg/kg每天分成4次(在7

[1536]

进展, 则开始三线治疗	天内逐渐减少) • 考虑其他抗IL-6药剂
如果在先前疗法的情况下仍持续存在CRS, 则开始四线治疗	四线治疗: • 考虑抗T细胞疗法, 如环磷酰胺 (1.5 mg/m ²) 或其他
其他注意事项: • 开始地塞米松后, 给予最少3个剂量或直到CRS和任何相关的神经系统症状消退为止 • 1级: 考虑预防癫痫 (例如左乙拉西坦) • 2级: 频繁住院监测, 直到发热和症状消退, 包括神经病学评价和对症支持 (补充氧气、积极补充电解质的静脉输液、退热剂、低剂量血管加压药支持); 开始预防癫痫 (例如左乙拉西坦) 并考虑脑电图 (EEG), 从而监测是否存在神经毒性 (NT); 还参见以下表37的NT管理算法 • ≥3级: ICU级监测和对症、血流动力学和呼吸支持, 包括神经病学检查; 开始预防癫痫 (例如左乙拉西坦), 并且在同时存在NT时考虑EEG监测; 还参见以下表37的NT管理算法	

[1537]

表37. 用于给予调节针对神经毒性 (NT) 的细胞疗法的药剂的示例性指南	
在CAR+ T细胞给予之后	监测: • 监测NT症状 (失语、意识模糊、精神状态改变) • 对于NT高风险的患者, 考虑预防癫痫 (例如左乙拉西坦)
早发性NT (事件发作 < 72 小时):	一线治疗: • 开始预防癫痫 • 1级: 考虑地塞米松10 mg q8-12h • 2级: 地塞米松10 mg q8-12h • 3级: 地塞米松20 mg q6-8h • 4级: 地塞米松20 mg q6h
迟发性NT (事件发作 ≥ 72 小时)	一线治疗: • 开始预防癫痫 • 1级: 观察 • 2级: 考虑地塞米松10 mg q12-24h • 3级: 给予地塞米松10-20 mg q8-12h; 对于失语或意识模糊使用较低的剂量/较长的间隔, 并且对于导致意识水平低下的事件使用较高的剂量/较长的间隔。不建议高剂量皮质类固醇用于孤立性3级头痛 • 4级: 给予地塞米松10-20 mg q6-8h; 对于需要呼吸支持的事件或癫痫使用较高的剂量/较短的间隔
如果使用一线治疗在24小时内没有改善或NT加重, 则开始二线治疗	二线治疗: • 增加地塞米松的剂量和/或频率 • 如果出现危及生命的并发症 (需要呼吸支持或如果出现癫痫), 则考虑甲基泼尼松龙 (2 mg/kg 负荷剂量, 接着2 mg/kg 每天分成4次 (在7天内逐渐减少))。
如果使用二线治疗在24小时内没有改善或症状快速进展, 则开始三线治疗	三线治疗: • 进一步增加地塞米松的剂量和/或频率 • 如果地塞米松为最大剂量则给予甲基泼尼松龙
如果发生脑水肿	脑水肿:

	• 给予高剂量甲基泼尼松龙（1-2 g，在需要时重复q24）。如临床上所示逐渐减少。考虑过度换气和高渗疗法
[1538]	其他注意事项： • 如果受试者在时间开始时为门诊病人则住院进行监测；开始神经病学会诊 • 如果同时存在CRS，则除了NT建议外，还按照CRS管理算法（例如，如上表36所示）治疗CRS；使用两个算法之间建议的最积极的干预 • 考虑神经症状的其他病因（例如感染、代谢综合征、疾病进展、药物） • 类固醇可以持续最少48小时；对于更高等级或持久/复发病状，考虑更长的疗程，其中在总共5至7天内潜在逐渐减少 • 应进行成像（磁共振成像（MRI）或计算机断层摄影（CT）扫描）、脑电图（EEG）和腰椎穿刺（LP），并且如果没有临床改善则重复成像；应考虑通过EEG连续监测 • 对于患有癫痫或癫痫样活动的受试者，建议使用抗癫痫药物；多种或难治性癫痫活动可能需要抗癫痫药物组合 • 可能需要重症监护病房（ICU）监测；可能指示使用机械通气以保护气道

[1539] 本发明并不旨在限于具体公开的实施方案的范围，所提供的实施例例如是为了说明本发明的各个方面。根据本文的描述和传授，对所描述的组合物和方法的各种修改将变得清楚。可以在不背离本公开文本的真实范围和精神的情况下实践此类变化，并且此类变化旨在落入本公开文本的范围内。

[1540] 序列

[1541]

SEQ ID NO.	序列	描述
1	ESKYGPPCPPCP	间隔子 (IgG4 铰链) (aa) 智人
2	GAATCTAAGTACGGACCGCCCTGCCCCCTTGCCCT	间隔子 (IgG4 铰链) (nt) 智人
3	ESKYGPPCPPCPGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK	铰链-CH3 间隔子 智人
4	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVHLQDNLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK	铰链-CH2-CH3 间隔子 智人
5	RWPESPKAQASSVPTAQPPQAEGSLAKATTAPATTRNTGRGGEEKKEKEKEEQEERETKTPECPSTQPLGVYLLTPAVQDLWLRDKATFTCFVVGSDLKDAHLTWEVAGKVPTGGVEEGLLERHSNGSQSQHSRLTLPRSLWNAGTSVTCTLNHPSLPPQRLMALREPAAQAPVKLSLNLASSDPPEAASWLLCEVSGFSPPNILLMWLEDQREVENTSGFAPARPPPQPGSTTFWAWSVLRVPAPPSPQPATYTCVVSHEDSRTLLNASRSLEVSIVTDH	IgD-铰链-Fc 智人
6	LEGGGEGRGSLLTCGDVEENPGPR	T2A 人工
7	MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIIPKVCNGIGIGEFKDSLSINATNIKHFKNCTSIISGDLHILPVAFRGDSFTHTPPLDPQELDILKTVEKITGFLLIQAWPENRTDLHAFENLEIIRGRTKQHGQFSLAVVSLNITSLGLRSLKEISDGDVIIISGNKNCYANTINWKKLFGTSGQKTKIISNRGENSCKATGQVCHALCSPEGCWGPEPRDCVSCRNVSRGRECVDKCNLLEGEPRFVENSECIQCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIQCAHYIDGPHCVKTCPAGVMGENNTLVWKYADAGHVCHLCHPNCTYGCTGPGLEGCPNGPKIPSIATGMVGALLLLLVVALGIGLFM	tEGFR 人工
8	FWVLVVVGVLACYSLLVTVAFIIFWV	CD28 (登录号 P10747 的氨基酸 153-179) 智人
9	IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLPFGPSKPFWLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV	CD28 (登录号 P10747 的氨基酸 114-179) 智人
10	RSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS	CD28 (P10747 的氨基酸 180-220) 智人

[1542]

11	RSKRSRGGHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS	CD28 (LL 至 GG) 智人
12	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCEL	4-1BB (Q07011.1 的 氨基酸 214-255) 智人
13	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGH DGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	CD3ζ 智人
14	RVKFSRSAEPPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGH DGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	CD3ζ 智人
15	RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGH DGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	CD3ζ 智人
16	RKVCNGIGIGEFKDSLSINATNIKHFNCTSIISGDLHILPVAF RGDSFTHTPPLDPQELDILKTVEITGFLLIQAWPENRTDLHA FENLEIIRGRTKQHGFSLAVVSLNITSLGLRSLKEISDGDVI ISGNKLCYANTINWKKLFGTSGQKTKIISNRGENSCKATGQV CHALCSPEGCWGPEPRDCVSCRNVSRGECVDKCNLLEGEPRE FVENSECIQCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIQCAHYIDGPHC VKTCPAGVMGENNTLVWKYADAGHVCHLCHPNCTYGCTGPGLE GCPTNGPKIPIATGMVGALLLLVVALGIGLFM	tEGFR 人工
17	EGRGSLLTCDGVEENPGP	T2A 人工
18	GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP	P2A
19	ATNFSLLKQAGDVEENPGP	P2A
20	QCTNYALLKLAGDVESNPGP	E2A
21	VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP	F2A
22	PGGG-(SGGG) ₅ -P-, 其中P是脯氨酸, G是甘氨酸并且S是丝氨酸	接头
23	GSADDAKKDAAKKDGS	接头
24	GSTSGSGKPGSGEGSTKG	接头
25	gacatccagatgacccagaccacctccagcctgagcgccagcc tgggcgaccgggtgaccatcagctgccgggcccagccaggacat cagcaagtacctgaactggtatcagcagaagcccagcgccacc gtcaagctgctgatctaccacaccagccggctgcacagcggcg tgcccagccggttttagcggcagcggtccggcaccgactacag cctgaccatctccaacctggaacaggaagatatcgccacctac ttttgccagcagggcaacacactgccctacacctttggcggcg gaacaaagctggaaatcaccggcagcacctccggcagcgggcaa gcctggcagcgggcgagggcagcaccaggggcgaggtgaagctg caggaaagcgccctggcctggtggccccagccagagcctga gcgtgacctgcaccgtgagcggtgagcctgcccgactacgg cgtgagctggatccggcagccccaggaagggcctggaatgg ctgggcgtgatctggggcagcgagaccacctactacaacagcg ccctgaagagccggctgaccatcatcaaggacaacagcaagag ccaggtgttctgaagatgaacagcctgcagaccgacgacacc gccatctactactgcgccaaagcactactactacggcggcgagct acgccatggactactggggccagggcaccagcgtgaccgtgag	编码scFv的序列

[1543]

	cagc	
26	X ₁ PPX ₂ P X ₁ 是甘氨酸、半胱氨酸或精氨酸 X ₂ 是半胱氨酸或苏氨酸	铰链
27	Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro	铰链
28	Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro	铰链
29	ELKTPLGDTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCP RCPEPKSCDTPPPCPRCP	铰链
30	Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro	铰链
31	Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro	铰链
32	Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro	铰链
33	Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro	铰链
34	Glu Val Val Val Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro	铰链
35	RASQDISKYLN	CDR L1
36	SRLHSGV	CDR L2
37	GNTLPYTFG	CDR L3
38	DYGVS	CDR H1
39	VIWGSETTYNSALKS	CDR H2
40	YAMDYWG	CDR H3
41	EVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRK GLEWLGVIWGSETTYNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQ TDDTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSTVTSS	VH
42	DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWDYQQKPDGT VKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATY FCQQGNTLPYTFGGGKLEIT	VL
43	DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWDYQQKPDGT VKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATY FCQQGNTLPYTFGGGKLEITGSTSGSGKPGSGEGSTKGEVKL QESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEW LGVIWGSETTYNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTD DTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSTVTSS	scFv
44	KASQNVGTNVA	CDR L1
45	SATYRNS	CDR L2
46	QQYNRYPYT	CDR L3
47	SYWMN	CDR H1
48	QIYPGDGDTNYNGKFKG	CDR H2
49	KTISSVDFYFDY	CDR H3
50	EVKLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPQG GLEWIGQIYPGDGDTNYNGKFKGQATLTADKSSSTAYMQLSGL TSEDSAVYFCARKTISSVDFYFDYWGQGTSTVTSS	VH
51	DIELTQSPKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNVAWYQQKPGQS PKPLIYSATYRNSGVPDRFTGSGSGTDFTLTITNVQSKDLADY FCQQYNRYPYTSGGGKLEIKR	VL
52	GGGGSGGGSGGGGS	接头
53	EVKLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPQG GLEWIGQIYPGDGDTNYNGKFKGQATLTADKSSSTAYMQLSGL TSEDSAVYFCARKTISSVDFYFDYWGQGTSTVTSSGGGGSGG GGSGGGGSDIELTQSPKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNVAW YQQKPGQSPKPLIYSATYRNSGVPDRFTGSGSGTDFTLTITNV	scFv

[1544]

	QSKDLADYFCQQYNRYPYTSGGGTKLEIKR	
54	HYYYGGSYAMDY	CDR H3
55	HTSRLHS	CDR L2
56	QQGNTLPYT	CDR L3
57	ACACGGCCTCGTGTATTACTGT	IGH引物
58	ACCTGAGGAGACGGTGACC	IGH引物

序列表

- <110> 朱诺治疗学股份有限公司
T·艾伯森
M·D·海佩尔
H·李
C·L·萨瑟兰
M·J·吉伯
N·S·特雷德
J·R·加西亚
J·哈斯卡尔
- <120> 基因工程化细胞的给药和调节方法
- <130> 735042015240
- <140> 尚未分配
- <141> 与此一起
- <150> 62/593,878
- <151> 2017-12-01
- <150> 62/596,773
- <151> 2017-12-08
- <150> 62/633,599
- <151> 2018-02-21
- <150> 62/679,763
- <151> 2018-06-01
- <150> 62/679,764
- <151> 2018-06-01
- <160> 58
- <170> Windows 4.0版的FastSEQ
- <210> 1
- <211> 12
- <212> PRT
- <213> 智人(Homo sapiens)
- <220>
- <223> 间隔子 (IgG4铰链)
- <400> 1
- Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro
- 1 5 10
- <210> 2
- <211> 36
- <212> DNA

<213> 智人

<220>

<223> 间隔子 (IgG4铰链)

<400> 2

gaatctaagt acggaccgcc ctgccccct tgccct

36

<210> 3

<211> 119

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 铰链-CH3 间隔子

<400> 3

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Gly Gln Pro Arg

1 5 10 15

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys

20 25 30

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

35 40 45

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

50 55 60

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

65 70 75 80

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser

85 90 95

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

100 105 110

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

115

<210> 4

<211> 229

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 铰链-CH2-CH3 间隔子

<400> 4

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe

1 5 10 15

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr

20 25 30

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val		
35	40	45
Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val		
50	55	60
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser		
65	70	75
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu		
85	90	95
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser		
100	105	110
Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro		
115	120	125
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln		
130	135	140
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala		
145	150	155
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr		
165	170	175
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu		
180	185	190
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser		
195	200	205
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser		
210	215	220
Leu Ser Leu Gly Lys		
225		
<210> 5		
<211> 282		
<212> PRT		
<213> 智人		
<220>		
<223> IgD-铰链-Fc		
<400> 5		
Arg Trp Pro Glu Ser Pro Lys Ala Gln Ala Ser Ser Val Pro Thr Ala		
1	5	10
Gln Pro Gln Ala Glu Gly Ser Leu Ala Lys Ala Thr Thr Ala Pro Ala		
20	25	30
Thr Thr Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys Glu Lys		
35	40	45

Glu	Lys	Glu	Glu	Gln	Glu	Glu	Arg	Glu	Thr	Lys	Thr	Pro	Glu	Cys	Pro
50							55					60			
Ser	His	Thr	Gln	Pro	Leu	Gly	Val	Tyr	Leu	Leu	Thr	Pro	Ala	Val	Gln
65					70				75					80	
Asp	Leu	Trp	Leu	Arg	Asp	Lys	Ala	Thr	Phe	Thr	Cys	Phe	Val	Val	Gly
				85					90					95	
Ser	Asp	Leu	Lys	Asp	Ala	His	Leu	Thr	Trp	Glu	Val	Ala	Gly	Lys	Val
			100					105					110		
Pro	Thr	Gly	Gly	Val	Glu	Glu	Gly	Leu	Leu	Glu	Arg	His	Ser	Asn	Gly
		115					120					125			
Ser	Gln	Ser	Gln	His	Ser	Arg	Leu	Thr	Leu	Pro	Arg	Ser	Leu	Trp	Asn
		130				135					140				
Ala	Gly	Thr	Ser	Val	Thr	Cys	Thr	Leu	Asn	His	Pro	Ser	Leu	Pro	Pro
145					150					155					160
Gln	Arg	Leu	Met	Ala	Leu	Arg	Glu	Pro	Ala	Ala	Gln	Ala	Pro	Val	Lys
				165					170					175	
Leu	Ser	Leu	Asn	Leu	Leu	Ala	Ser	Ser	Asp	Pro	Pro	Glu	Ala	Ala	Ser
			180						185				190		
Trp	Leu	Leu	Cys	Glu	Val	Ser	Gly	Phe	Ser	Pro	Pro	Asn	Ile	Leu	Leu
		195					200					205			
Met	Trp	Leu	Glu	Asp	Gln	Arg	Glu	Val	Asn	Thr	Ser	Gly	Phe	Ala	Pro
		210				215					220				
Ala	Arg	Pro	Pro	Pro	Gln	Pro	Gly	Ser	Thr	Thr	Phe	Trp	Ala	Trp	Ser
225					230					235					240
Val	Leu	Arg	Val	Pro	Ala	Pro	Pro	Ser	Pro	Gln	Pro	Ala	Thr	Tyr	Thr
				245					250					255	
Cys	Val	Val	Ser	His	Glu	Asp	Ser	Arg	Thr	Leu	Leu	Asn	Ala	Ser	Arg
			260					265					270		
Ser	Leu	Glu	Val	Ser	Tyr	Val	Thr	Asp	His						
		275					280								

<210> 6
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> T2A
 <400> 6

Leu	Glu	Gly	Gly	Gly	Glu	Gly	Arg	Gly	Ser	Leu	Leu	Thr	Cys	Gly	Asp
1				5					10					15	

Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Arg

20

<210> 7

<211> 357

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> tEGFR

<400> 7

Met Leu Leu Leu Val Thr Ser Leu Leu Leu Cys Glu Leu Pro His Pro

1 5 10 15

Ala Phe Leu Leu Ile Pro Arg Lys Val Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly

20 25 30

Glu Phe Lys Asp Ser Leu Ser Ile Asn Ala Thr Asn Ile Lys His Phe

35 40 45

Lys Asn Cys Thr Ser Ile Ser Gly Asp Leu His Ile Leu Pro Val Ala

50 55 60

Phe Arg Gly Asp Ser Phe Thr His Thr Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu

65 70 75 80

Leu Asp Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile

85 90 95

Gln Ala Trp Pro Glu Asn Arg Thr Asp Leu His Ala Phe Glu Asn Leu

100 105 110

Glu Ile Ile Arg Gly Arg Thr Lys Gln His Gly Gln Phe Ser Leu Ala

115 120 125

Val Val Ser Leu Asn Ile Thr Ser Leu Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu

130 135 140

Ile Ser Asp Gly Asp Val Ile Ile Ser Gly Asn Lys Asn Leu Cys Tyr

145 150 155 160

Ala Asn Thr Ile Asn Trp Lys Lys Leu Phe Gly Thr Ser Gly Gln Lys

165 170 175

Thr Lys Ile Ile Ser Asn Arg Gly Glu Asn Ser Cys Lys Ala Thr Gly

180 185 190

Gln Val Cys His Ala Leu Cys Ser Pro Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu

195 200 205

Pro Arg Asp Cys Val Ser Cys Arg Asn Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys

210 215 220

Val Asp Lys Cys Asn Leu Leu Glu Gly Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu

225 230 235 240

Asn Ser Glu Cys Ile Gln Cys His Pro Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met
245 250 255
Asn Ile Thr Cys Thr Gly Arg Gly Pro Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala
260 265 270
His Tyr Ile Asp Gly Pro His Cys Val Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val
275 280 285
Met Gly Glu Asn Asn Thr Leu Val Trp Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His
290 295 300
Val Cys His Leu Cys His Pro Asn Cys Thr Tyr Gly Cys Thr Gly Pro
305 310 315 320
Gly Leu Glu Gly Cys Pro Thr Asn Gly Pro Lys Ile Pro Ser Ile Ala
325 330 335
Thr Gly Met Val Gly Ala Leu Leu Leu Leu Val Val Ala Leu Gly
340 345 350
Ile Gly Leu Phe Met
355

<210> 8

<211> 27

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> CD28

<300>

<308> UniProt P10747

<309> 1989-07-01

<400> 8

Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu
1 5 10 15

Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val
20 25

<210> 9

<211> 66

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> CD28

<300>

<308> UniProt P10747

<309> 1989-07-01

<400> 9

Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn

1 5 10 15

Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu

20 25 30

Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly

35 40 45

Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe

50 55 60

Trp Val

65

<210> 10

<211> 41

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> CD28

<300>

<308> UniProt P10747

<309> 1989-07-01

<400> 10

Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr

1 5 10 15

Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro

20 25 30

Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

35 40

<210> 11

<211> 41

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> CD28

<400> 11

Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr

1 5 10 15

Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro

20 25 30

Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

35 40

<210> 12

<211> 42

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 4-1BB

<300>

<308> UniProt Q07011.1

<309> 1995-02-01

<400> 12

Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
1 5 10 15
Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
20 25 30
Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
35 40

<210> 13

<211> 112

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> CD3ζ

<400> 13

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
1 5 10 15
Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
20 25 30
Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
35 40 45
Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
50 55 60
Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
65 70 75 80
Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
85 90 95
Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
100 105 110

<210> 14

<211> 112

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> CD3ζ

<400> 14

Arg	Val	Lys	Phe	Ser	Arg	Ser	Ala	Glu	Pro	Pro	Ala	Tyr	Gln	Gln	Gly
1				5					10					15	
Gln	Asn	Gln	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Asn	Leu	Gly	Arg	Arg	Glu	Glu	Tyr
			20					25					30		
Asp	Val	Leu	Asp	Lys	Arg	Arg	Gly	Arg	Asp	Pro	Glu	Met	Gly	Gly	Lys
		35					40					45			
Pro	Arg	Arg	Lys	Asn	Pro	Gln	Glu	Gly	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Gln	Lys
	50					55					60				
Asp	Lys	Met	Ala	Glu	Ala	Tyr	Ser	Glu	Ile	Gly	Met	Lys	Gly	Glu	Arg
65					70					75					80
Arg	Arg	Gly	Lys	Gly	His	Asp	Gly	Leu	Tyr	Gln	Gly	Leu	Ser	Thr	Ala
				85					90					95	
Thr	Lys	Asp	Thr	Tyr	Asp	Ala	Leu	His	Met	Gln	Ala	Leu	Pro	Pro	Arg
			100					105					110		

<210> 15

<211> 112

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> CD3ζ

<400> 15

Arg	Val	Lys	Phe	Ser	Arg	Ser	Ala	Asp	Ala	Pro	Ala	Tyr	Lys	Gln	Gly
1				5					10					15	
Gln	Asn	Gln	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Asn	Leu	Gly	Arg	Arg	Glu	Glu	Tyr
			20					25					30		
Asp	Val	Leu	Asp	Lys	Arg	Arg	Gly	Arg	Asp	Pro	Glu	Met	Gly	Gly	Lys
		35					40					45			
Pro	Arg	Arg	Lys	Asn	Pro	Gln	Glu	Gly	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Gln	Lys
	50					55					60				
Asp	Lys	Met	Ala	Glu	Ala	Tyr	Ser	Glu	Ile	Gly	Met	Lys	Gly	Glu	Arg
65					70					75					80
Arg	Arg	Gly	Lys	Gly	His	Asp	Gly	Leu	Tyr	Gln	Gly	Leu	Ser	Thr	Ala
				85					90					95	

Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 100 105 110
 <210> 16
 <211> 335
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> tEGFR
 <400> 16
 Arg Lys Val Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Ser Leu
 1 5 10 15
 Ser Ile Asn Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr Ser Ile
 20 25 30
 Ser Gly Asp Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp Ser Phe
 35 40 45
 Thr His Thr Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu Leu Asp Ile Leu Lys Thr
 50 55 60
 Val Lys Glu Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro Glu Asn
 65 70 75 80
 Arg Thr Asp Leu His Ala Phe Glu Asn Leu Glu Ile Ile Arg Gly Arg
 85 90 95
 Thr Lys Gln His Gly Gln Phe Ser Leu Ala Val Val Ser Leu Asn Ile
 100 105 110
 Thr Ser Leu Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu Ile Ser Asp Gly Asp Val
 115 120 125
 Ile Ile Ser Gly Asn Lys Asn Leu Cys Tyr Ala Asn Thr Ile Asn Trp
 130 135 140
 Lys Lys Leu Phe Gly Thr Ser Gly Gln Lys Thr Lys Ile Ile Ser Asn
 145 150 155 160
 Arg Gly Glu Asn Ser Cys Lys Ala Thr Gly Gln Val Cys His Ala Leu
 165 170 175
 Cys Ser Pro Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu Pro Arg Asp Cys Val Ser
 180 185 190
 Cys Arg Asn Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys Val Asp Lys Cys Asn Leu
 195 200 205
 Leu Glu Gly Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys Ile Gln
 210 215 220
 Cys His Pro Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys Thr Gly
 225 230 235 240

Arg Gly Pro Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly Pro
245 250 255
His Cys Val Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val Met Gly Glu Asn Asn Thr
260 265 270
Leu Val Trp Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His Val Cys His Leu Cys His
275 280 285
Pro Asn Cys Thr Tyr Gly Cys Thr Gly Pro Gly Leu Glu Gly Cys Pro
290 295 300
Thr Asn Gly Pro Lys Ile Pro Ser Ile Ala Thr Gly Met Val Gly Ala
305 310 315 320
Leu Leu Leu Leu Leu Val Val Ala Leu Gly Ile Gly Leu Phe Met
325 330 335

<210> 17

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> T2A

<400> 17

Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro
1 5 10 15

Gly Pro

<210> 18

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> P2A

<400> 18

Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val
1 5 10 15

Glu Glu Asn Pro Gly Pro
20

<210> 19

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> P2A

<400> 19

Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn

1

5

10

15

Pro Gly Pro

<210> 20

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> E2A

<400> 20

Gln Cys Thr Asn Tyr Ala Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser

1

5

10

15

Asn Pro Gly Pro

20

<210> 21

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> F2A

<400> 21

Val Lys Gln Thr Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val

1

5

10

15

Glu Ser Asn Pro Gly Pro

20

<210> 22

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 接头

<220>

<221> 重复序列

<222> (5) ... (9)

<223> SGGGG重复5次

<400> 22

Pro Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

1

5

<210> 23

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 接头

<400> 23

Gly Ser Ala Asp Asp Ala Lys Lys Asp Ala Ala Lys Lys Asp Gly Lys

1 5 10 15

Ser

<210> 24

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 接头

<400> 24

Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr

1 5 10 15

Lys Gly

<210> 25

<211> 735

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> scFv

<400> 25

gacatccaga tgacccagac cacctccagc ctgagcgcca gcctgggcca ccgggtgacc 60
atcagctgcc gggccagcca ggacatcagc aagtacctga actggtatca gcagaagccc 120
gacggcaccg tcaagctgct gatctaccac accagccggc tgcacagcgg cgtgcccagc 180
cggtttagcg gcagcggctc cggcaccgac tacagcctga ccatctccaa cctggaacag 240
gaagatatcg ccacctactt ttgccagcag ggcaacacac tgccctacac ctttggcggc 300
ggaacaaagc tggaaatcac cggcagcacc tccggcagcg gcaagcctgg cagcggcgag 360
ggcagcacca agggcgaggt gaagctgcag gaaagcggcc ctggcctggt ggcccccagc 420
cagagcctga gcgtgacctg caccgtgagc ggcgtagacc tgcccgacta cggcgtagac 480
tggatccggc agccccccag gaagggcctg gaatggctgg gcgtgatctg gggcagcgag 540
accacctact acaacagcgc cctgaagagc cggctgacca tcatcaagga caacagcaag 600
agccaggtgt tcctgaagat gaacagcctg cagaccgacg acaccgcat ctactactgc 660
gccaagcact actactacgg cggcagctac gccatggact actggggcca gggcaccagc 720

gtgaccgtga gcagc

735

<210> 26

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 铰链

<220>

<221> VARIANT

<222> (1) ... (1)

<223> Xaa1 = 甘氨酸、半胱氨酸或精氨酸

<220>

<221> VARIANT

<222> (4) ... (4)

<223> Xaa4 = 半胱氨酸或苏氨酸

<400> 26

Xaa Pro Pro Xaa Pro

1 5

<210> 27

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 铰链

<400> 27

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10 15

<210> 28

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 铰链

<400> 28

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10

<210> 29

<211> 61

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 铰链

<400> 29

Glu	Leu	Lys	Thr	Pro	Leu	Gly	Asp	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Arg	Cys	Pro
1				5					10					15	
Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Thr	Pro	Pro	Pro	Cys	Pro	Arg	Cys	Pro	Glu
			20					25					30		
Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Thr	Pro	Pro	Pro	Cys	Pro	Arg	Cys	Pro	Glu	Pro
			35					40					45		
Lys	Ser	Cys	Asp	Thr	Pro	Pro	Pro	Cys	Pro	Arg	Cys	Pro			
			50				55				60				

<210> 30

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 铰链

<400> 30

Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Ser	Cys	Pro
1				5					10		

<210> 31

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 铰链

<400> 31

Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro
1				5					10		

<210> 32

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 铰链

<400> 32

Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro
1				5				

<210> 33

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 铰链

<400> 33

Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10

<210> 34

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 铰链

<400> 34

Glu Val Val Val Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10

<210> 35

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR L1

<400> 35

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 36

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR L2

<400> 36

Ser Arg Leu His Ser Gly Val

1 5

<210> 37

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR L3

<400> 37

Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Phe Gly

1 5

<210> 38

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR H1

<400> 38

Asp Tyr Gly Val Ser

1 5

<210> 39

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR H2

<400> 39

Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 40

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR H3

<400> 40

Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly

1 5

<210> 41

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VH

<400> 41

Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr
 20 25 30
 Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu
 35 40 45
 Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys
 50 55 60
 Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu
 65 70 75 80
 Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 42

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 42

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
 20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
 65 70 75 80
 Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr
 100 105

<210> 43

<211> 245

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> scFv

<400> 43

```

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1           5           10           15
Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
          20           25           30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
          35           40           45
Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
          50           55           60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
65           70           75           80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr
          85           90           95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Ser Thr Ser Gly
          100          105          110
Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr Lys Gly Glu Val Lys
          115          120          125
Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser
          130          135          140
Val Thr Cys Thr Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser
145          150          155          160
Trp Ile Arg Gln Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile
          165          170          175
Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu
          180          185          190
Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn
          195          200          205
Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr
          210          215          220
Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser
225          230          235          240
Val Thr Val Ser Ser
          245

```

<210> 44

<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR L1
<400> 44
Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala
1 5 10
<210> 45
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR L2
<400> 45
Ser Ala Thr Tyr Arg Asn Ser
1 5
<210> 46
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR L3
<400> 46
Gln Gln Tyr Asn Arg Tyr Pro Tyr Thr
1 5
<210> 47
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR H1
<400> 47
Ser Tyr Trp Met Asn
1 5
<210> 48
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> CDR H2

<400> 48

Gln Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 49

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR H3

<400> 49

Lys Thr Ile Ser Ser Val Val Asp Phe Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 50

<211> 122

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VH

<400> 50

Glu Val Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Gln Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Gln Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Gly Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys

85 90 95

Ala Arg Lys Thr Ile Ser Ser Val Val Asp Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 51

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VL

<400> 51

```

Asp Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1           5           10           15
Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn
           20           25           30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Pro Leu Ile
           35           40           45
Tyr Ser Ala Thr Tyr Arg Asn Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
           50           55           60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Asn Val Gln Ser
65           70           75           80
Lys Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Arg Tyr Pro Tyr
           85           90           95
Thr Ser Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
           100          105

```

<210> 52

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 接头

<400> 52

```

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1           5           10           15

```

<210> 53

<211> 245

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> scFv

<400> 53

```

Glu Val Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ser
1           5           10           15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Ser Tyr

```

20	25	30
Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile		
35	40	45
Gly Gln Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe		
50	55	60
Lys Gly Gln Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr		
65	70	75
Met Gln Leu Ser Gly Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys		
85	90	95
Ala Arg Lys Thr Ile Ser Ser Val Val Asp Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp		
100	105	110
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly		
115	120	125
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Glu Leu Thr Gln Ser		
130	135	140
Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Ser Val Thr Cys		
145	150	155
Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys		
165	170	175
Pro Gly Gln Ser Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Ser Ala Thr Tyr Arg Asn		
180	185	190
Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe		
195	200	205
Thr Leu Thr Ile Thr Asn Val Gln Ser Lys Asp Leu Ala Asp Tyr Phe		
210	215	220
Cys Gln Gln Tyr Asn Arg Tyr Pro Tyr Thr Ser Gly Gly Gly Thr Lys		
225	230	235
Leu Glu Ile Lys Arg		
245		

<210> 54

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR H3

<400> 54

His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr

1

5

10

<210> 55

<211> 7	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> CDR L2	
<400> 55	
His Thr Ser Arg Leu His Ser	
1 5	
<210> 56	
<211> 9	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> CDR L3	
<400> 56	
Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr	
1 5	
<210> 57	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> IGH 引物	
<400> 57	
acacggcctc gtgtattact gt	22
<210> 58	
<211> 19	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> IGH 引物	
<400> 58	
acctgaggag acggtgacc	19

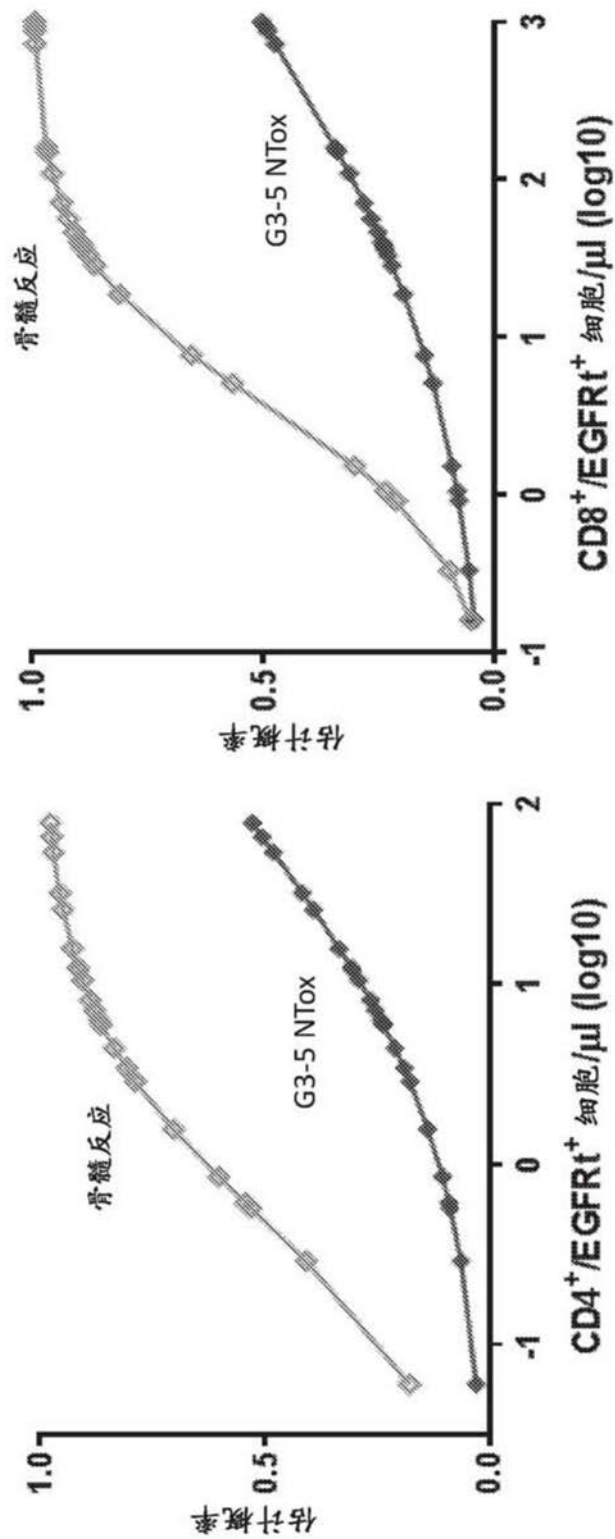


图1

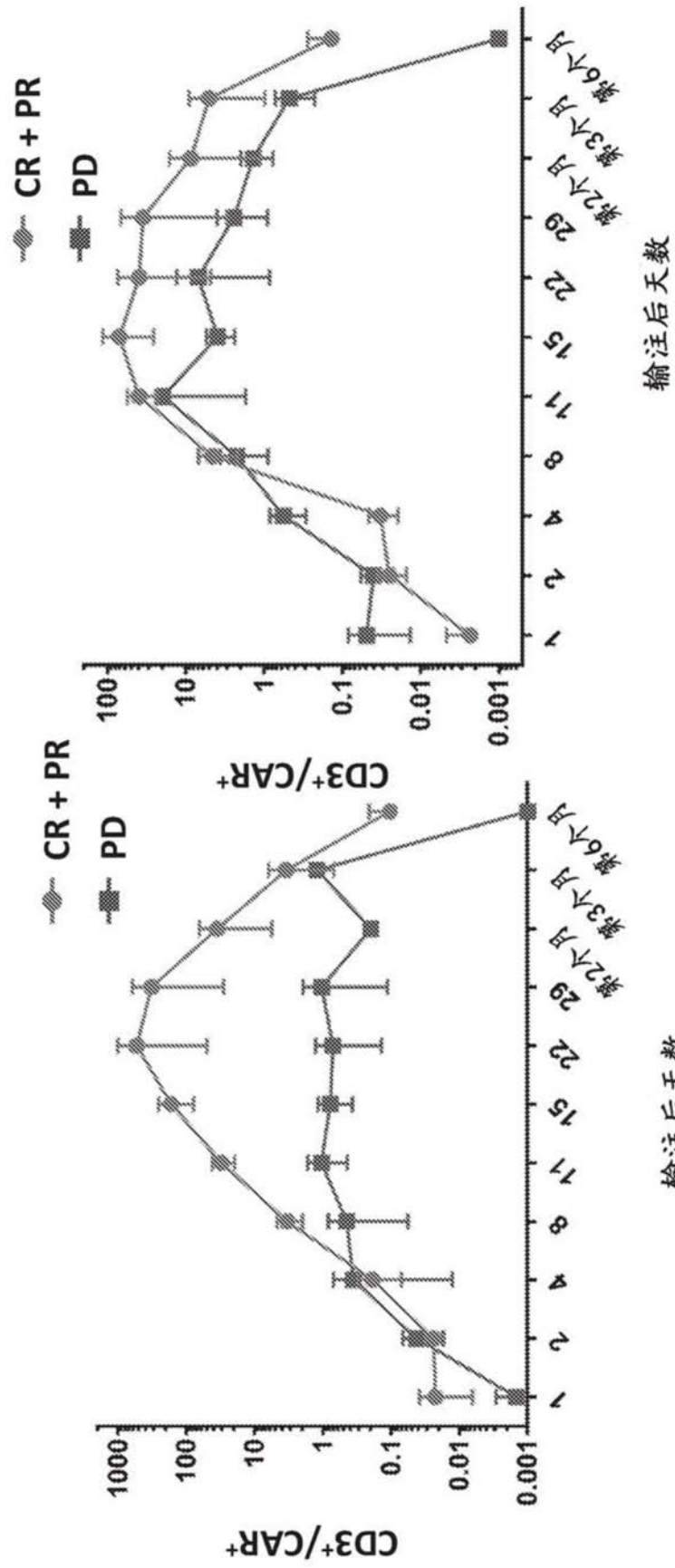


图2B

图2A

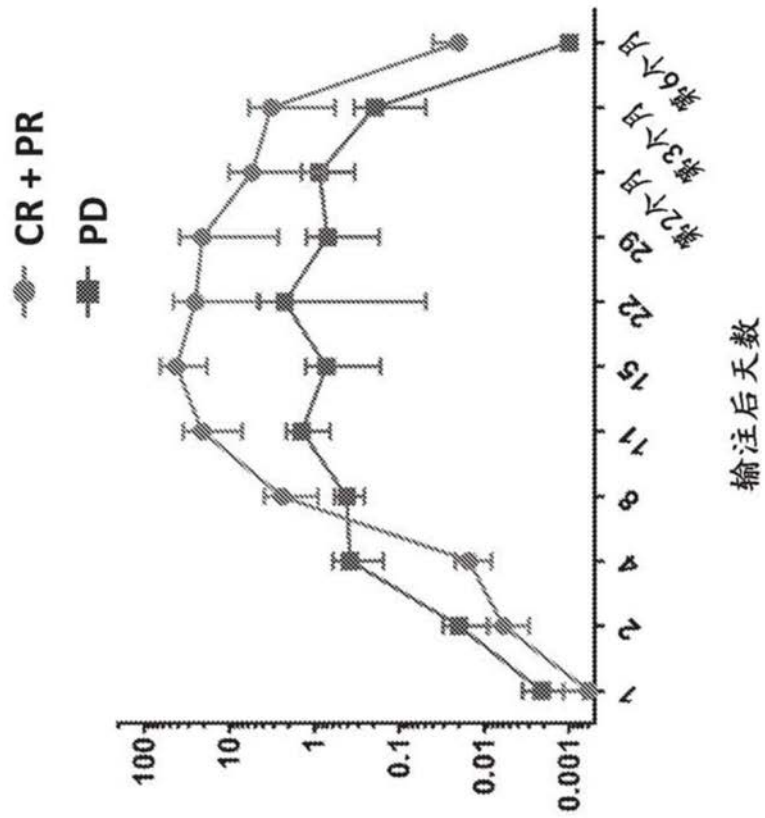


图2D

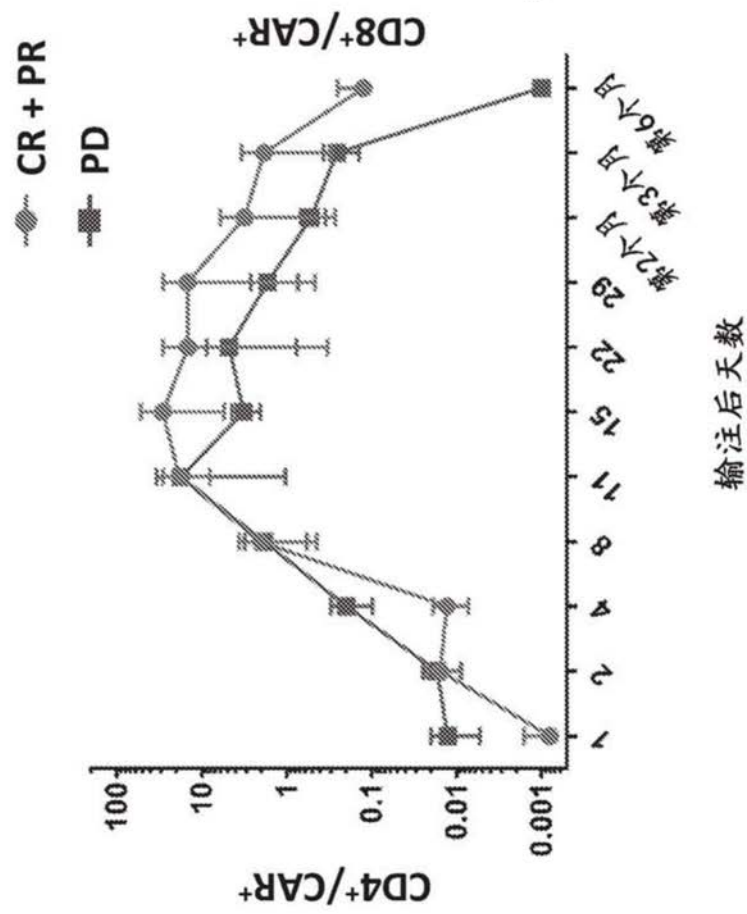


图2C

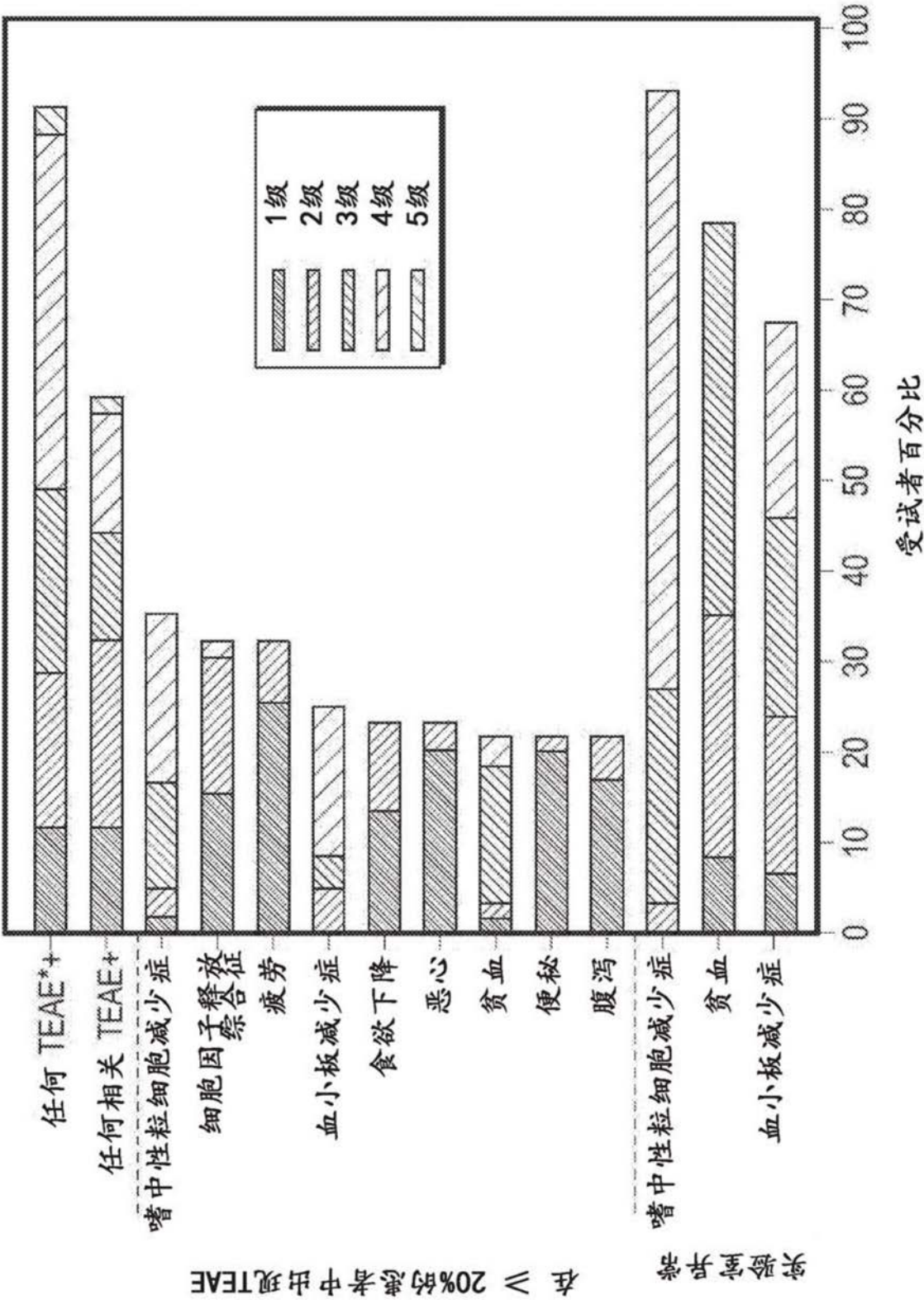


图3

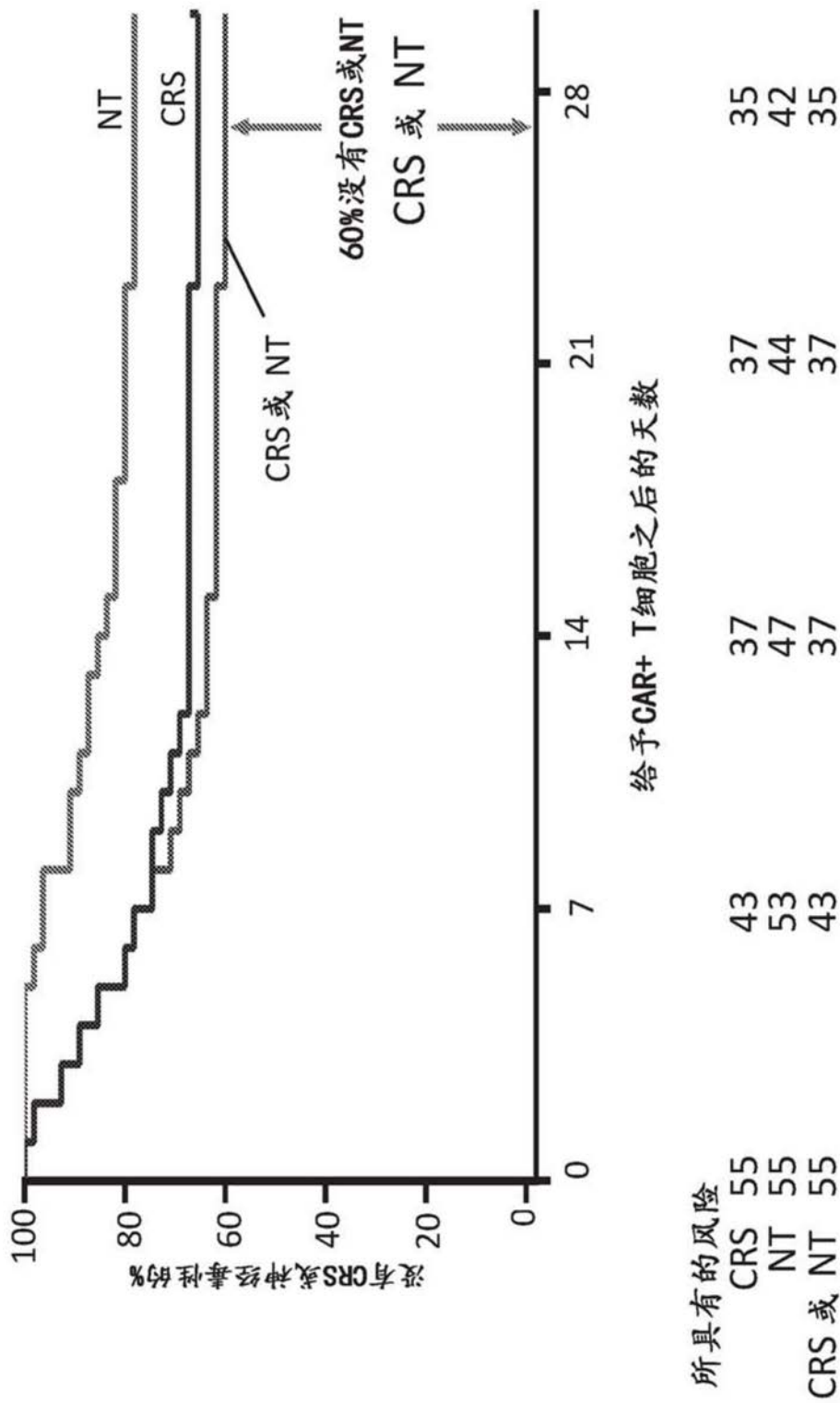


图4

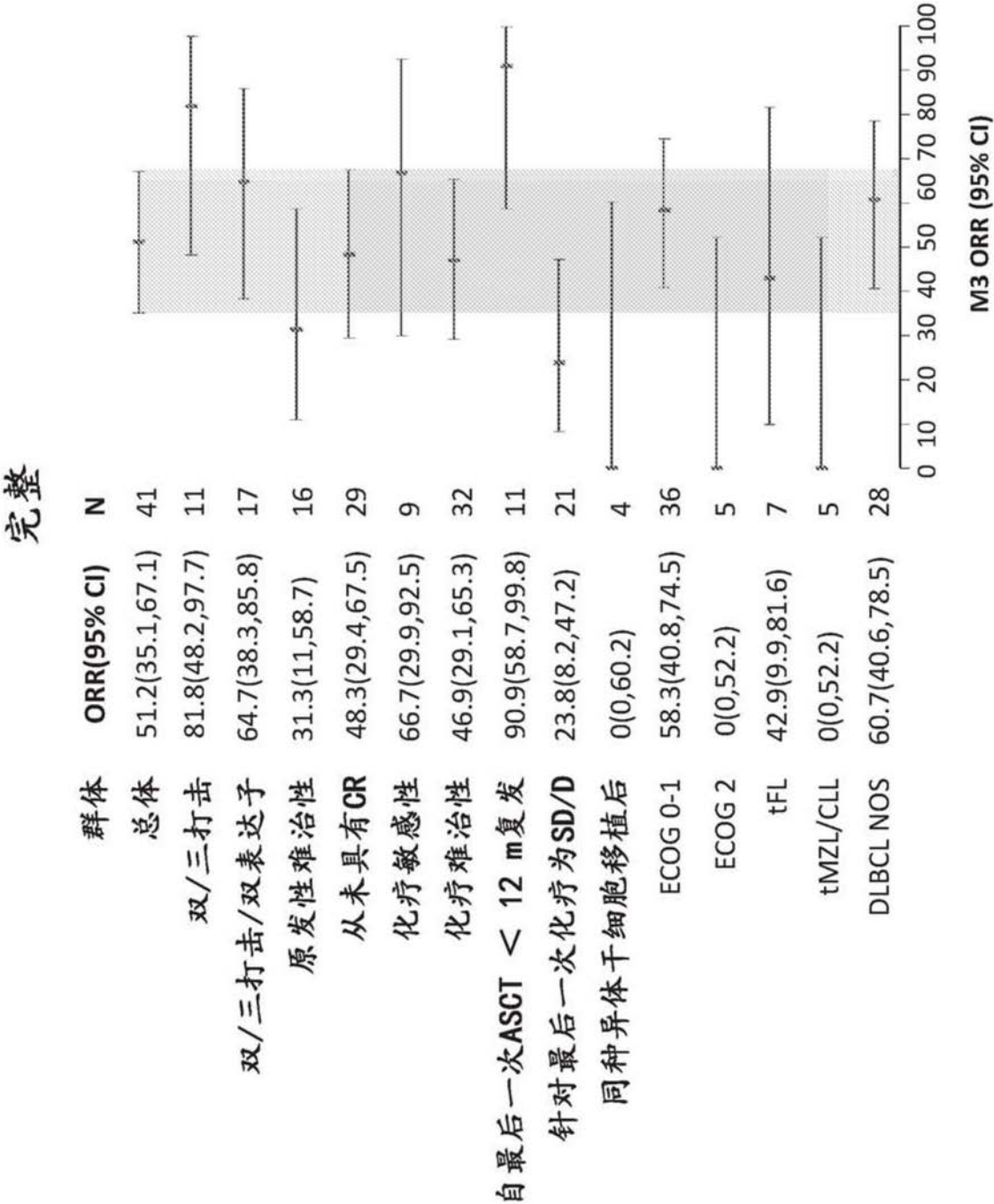


图5A

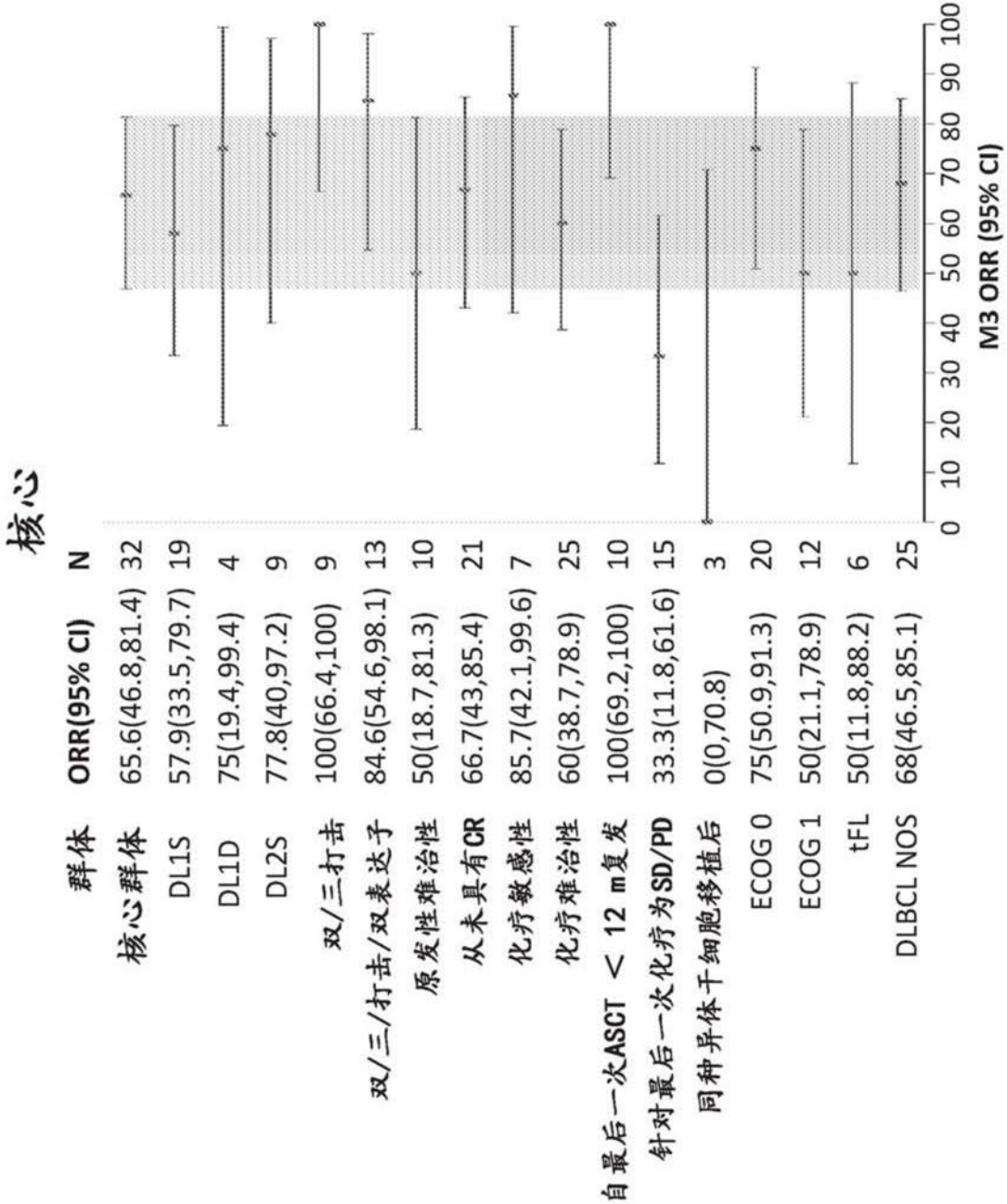


图5B

完整

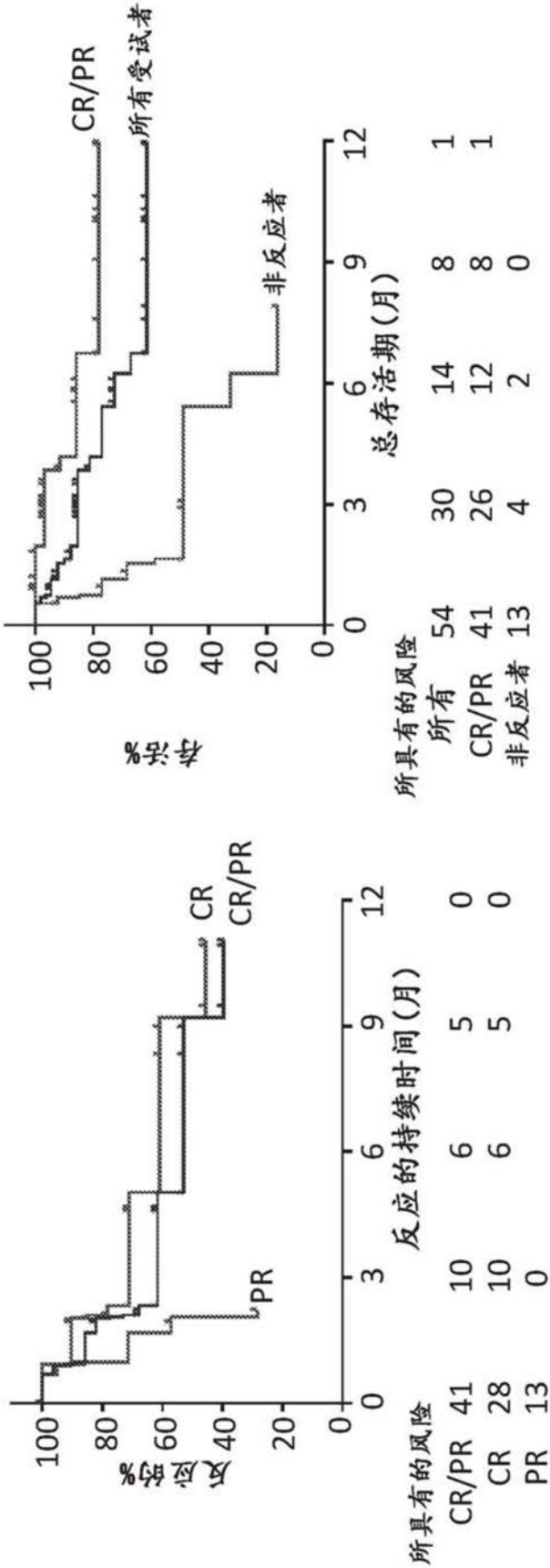


图6A

核心

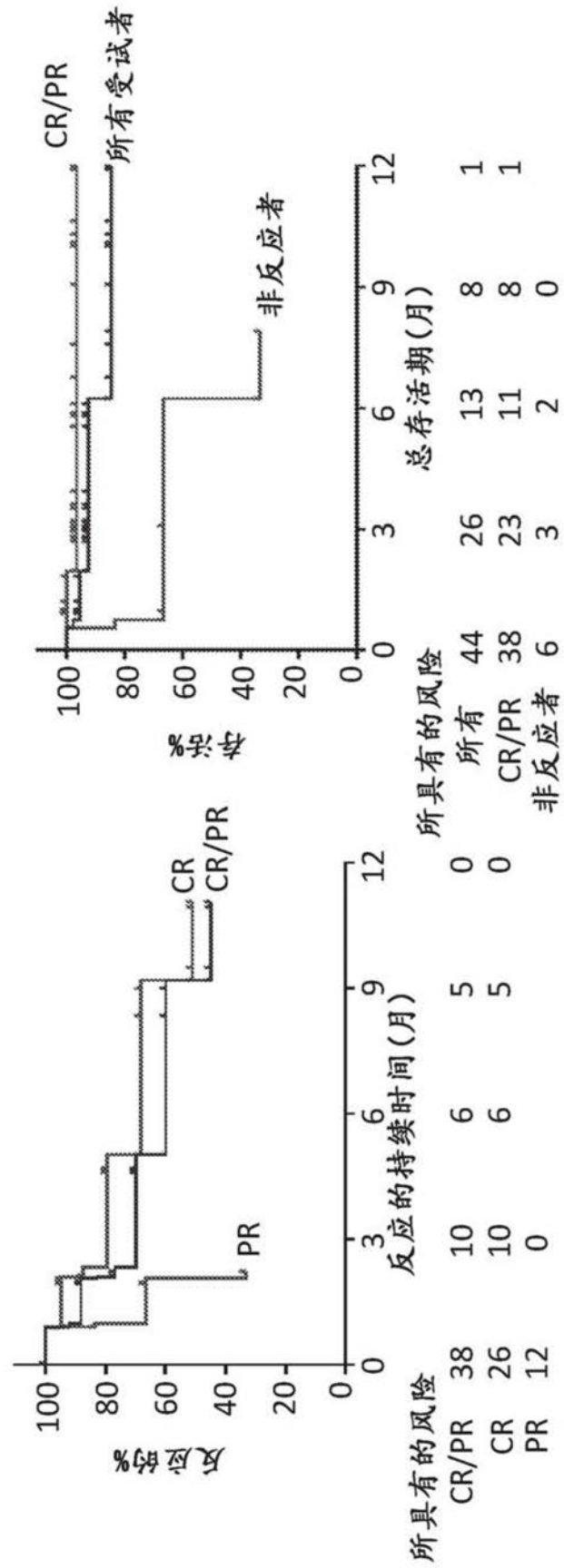
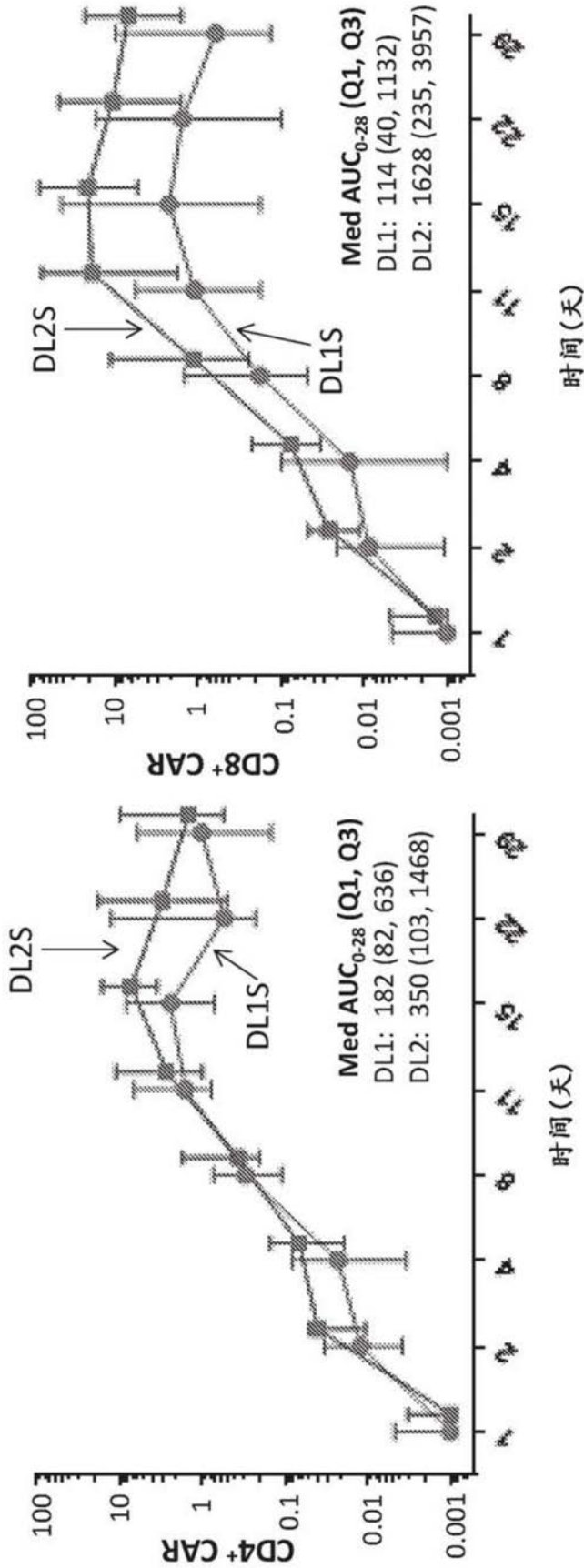


图6B

剂量水平



剂量水平
DL1S (n=29) DL2S (n=18)

图7A

第3个月的反应

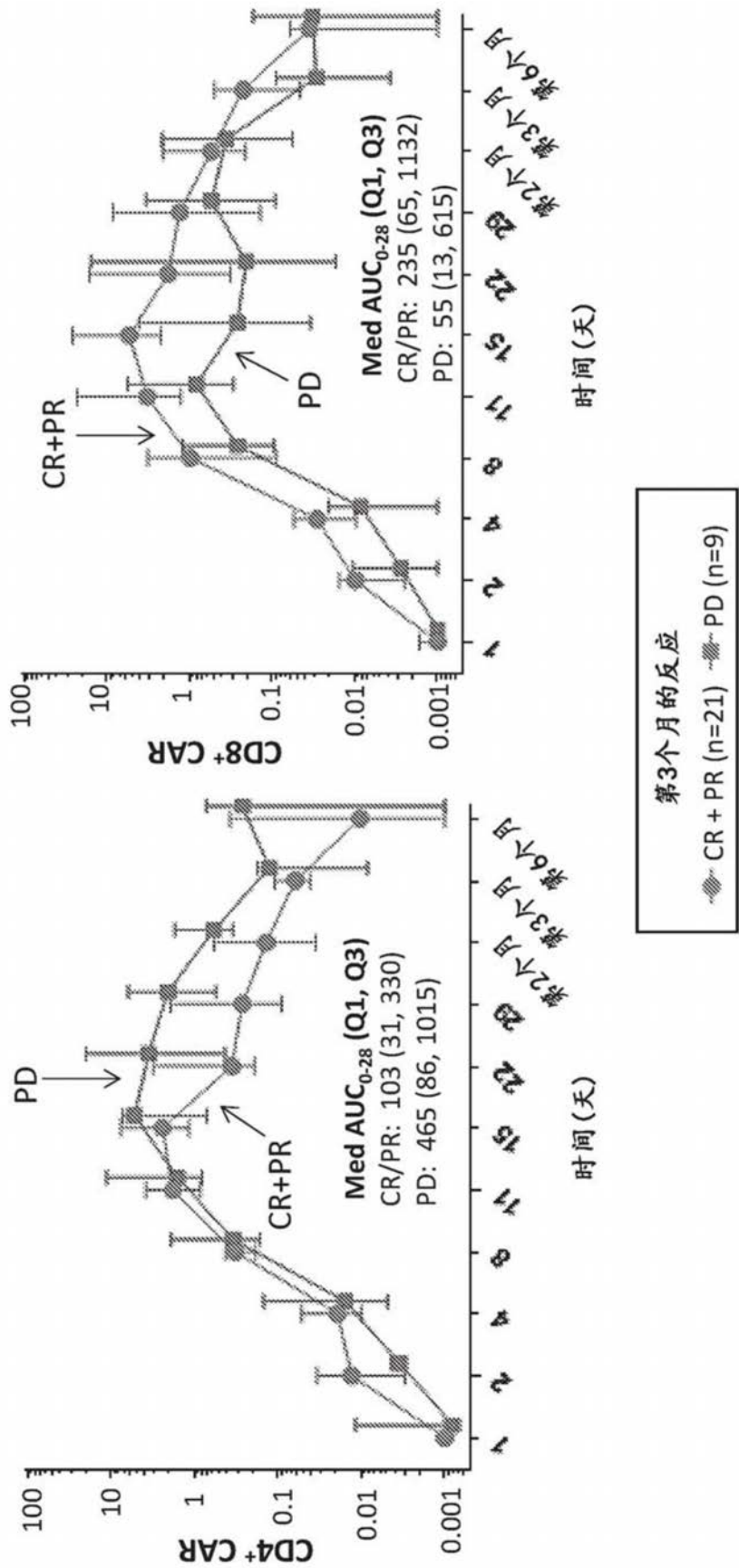


图7B

神经毒性

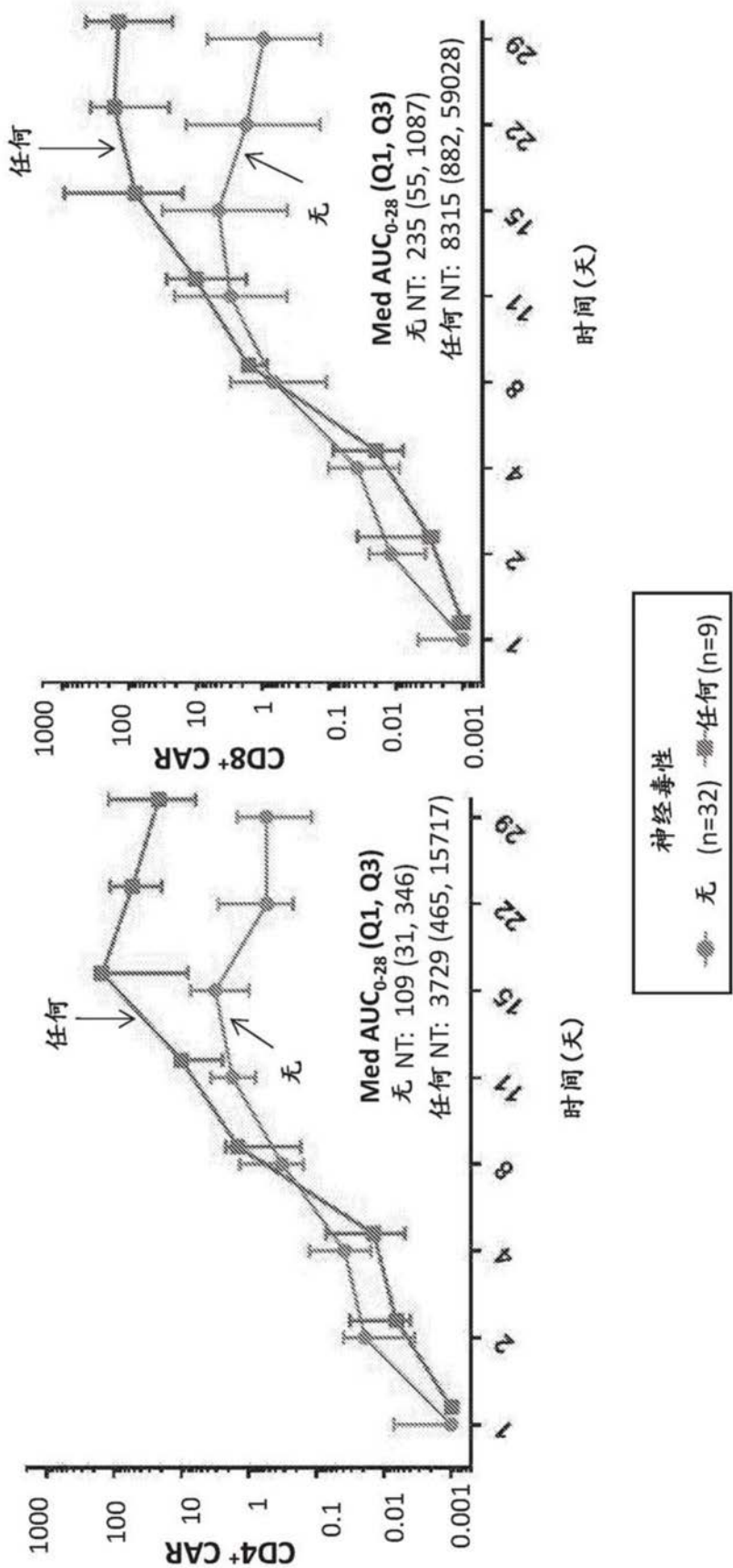


图7C

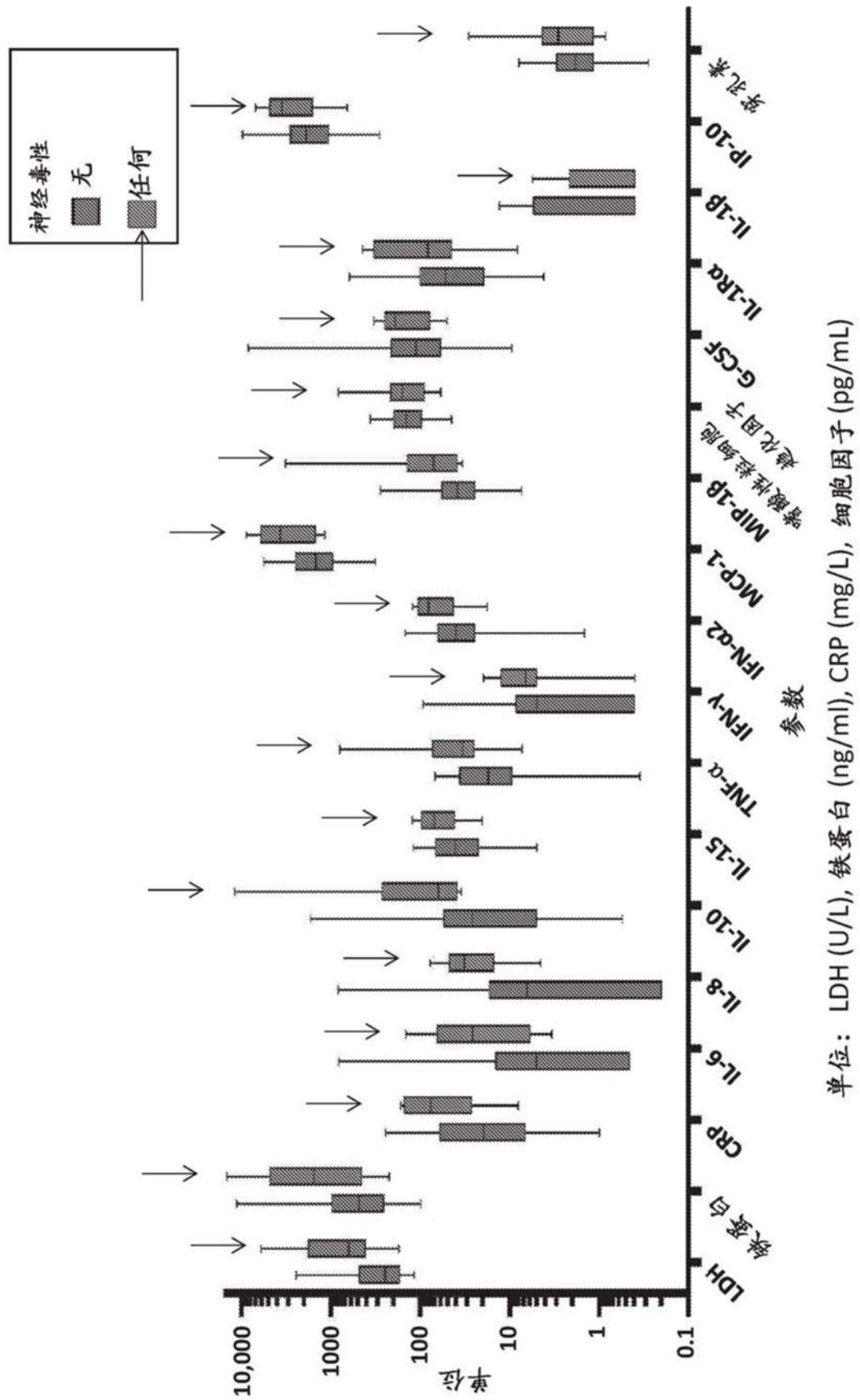


图8

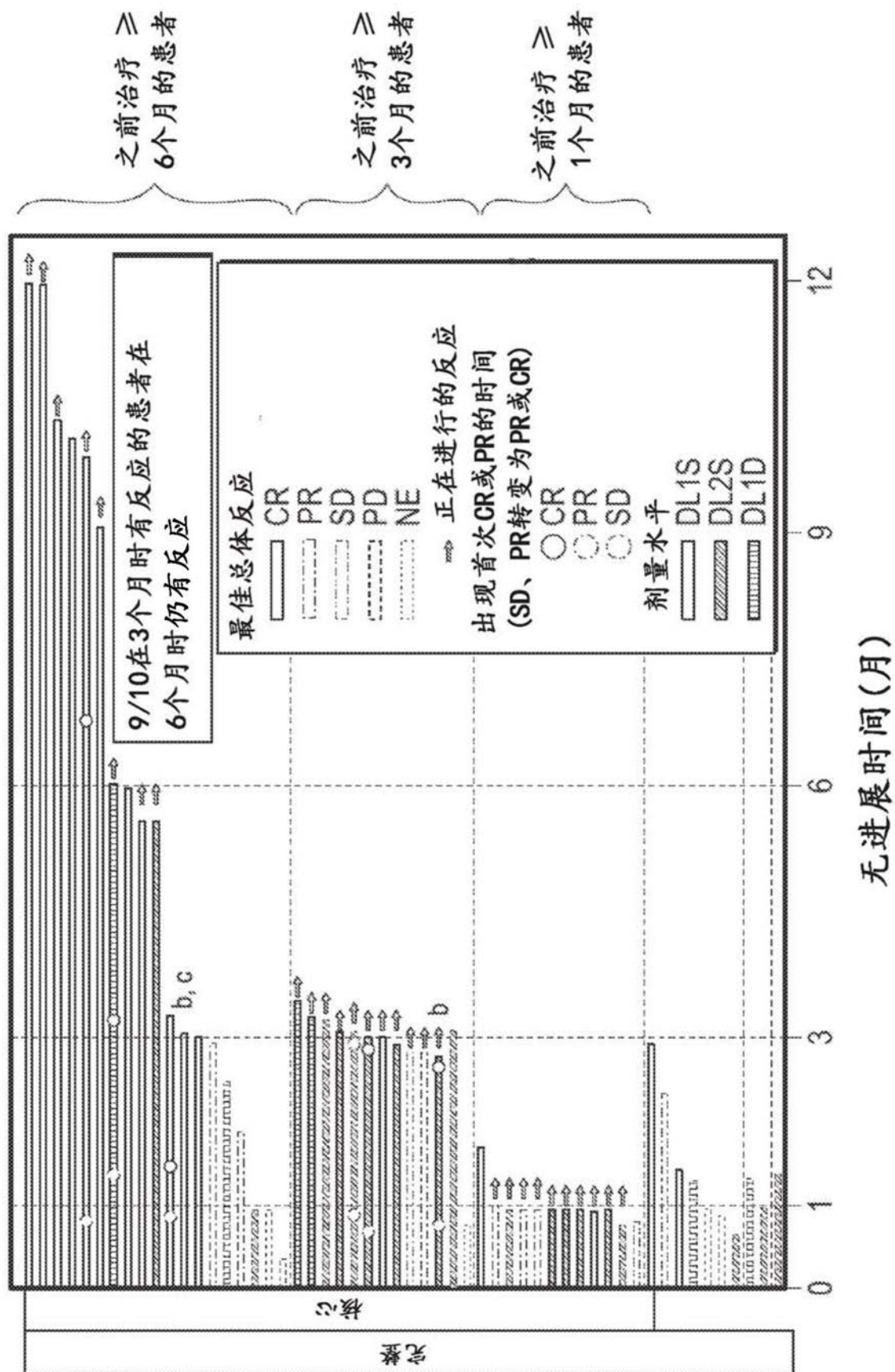


图9

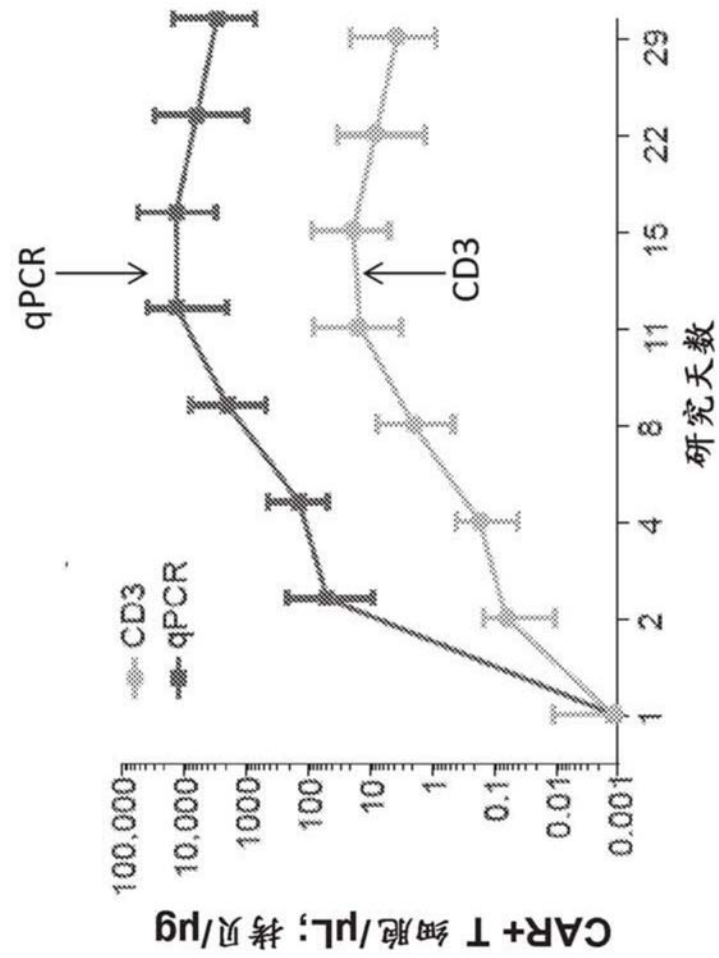


图10A

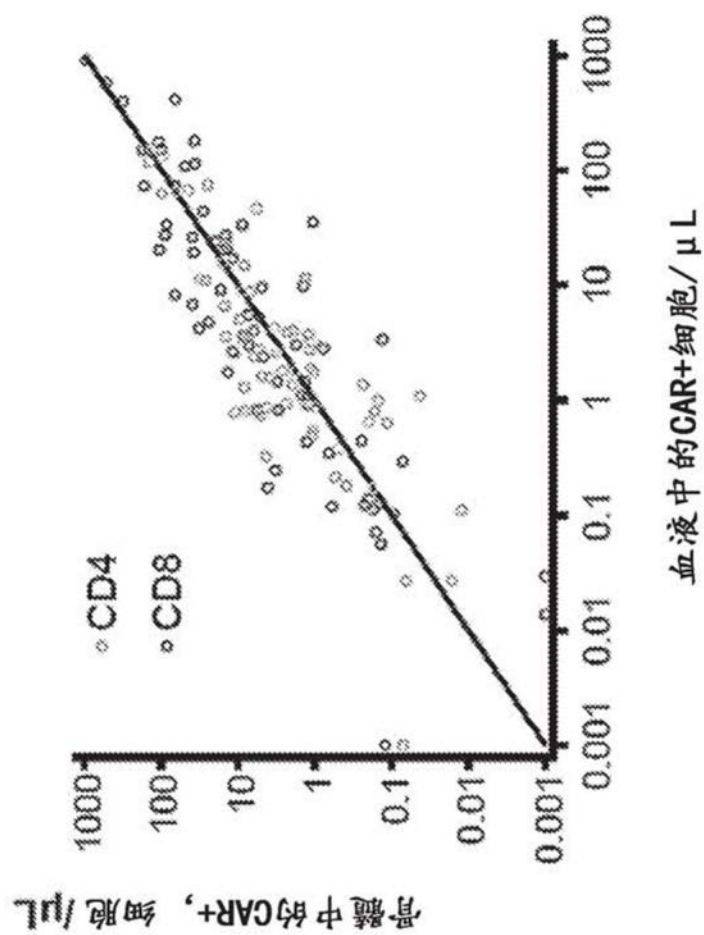


图10B

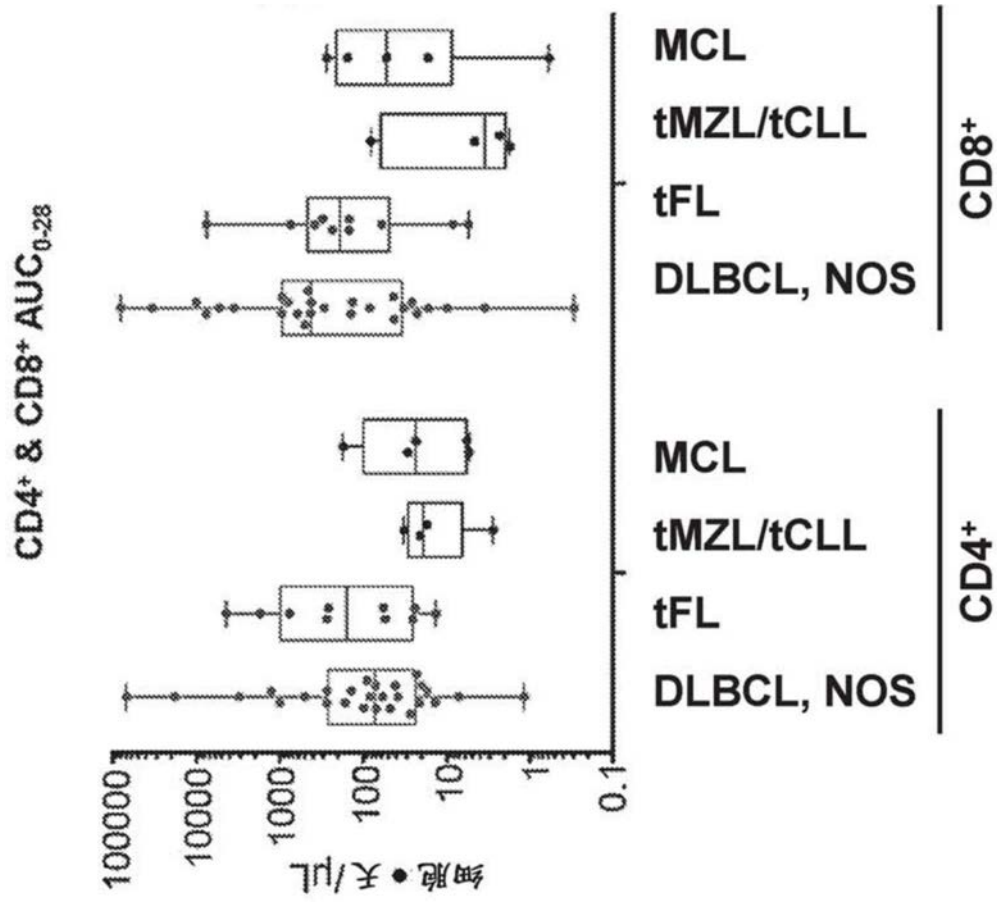


图11A

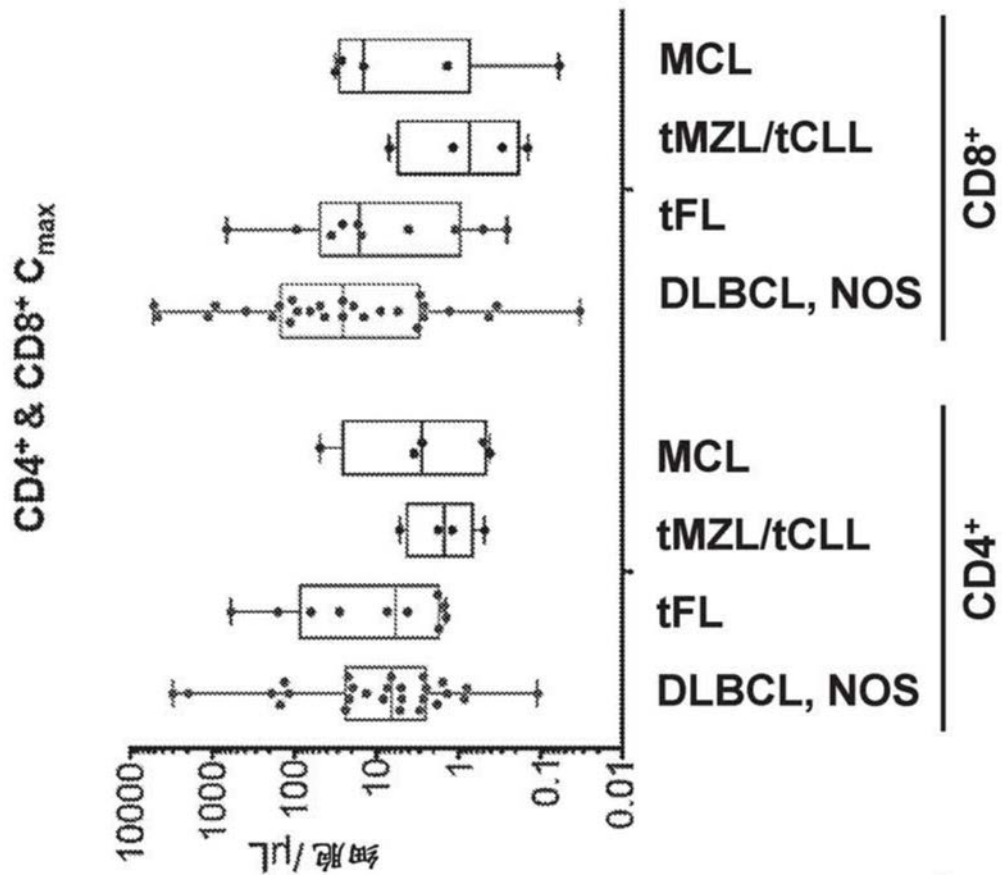


图11B

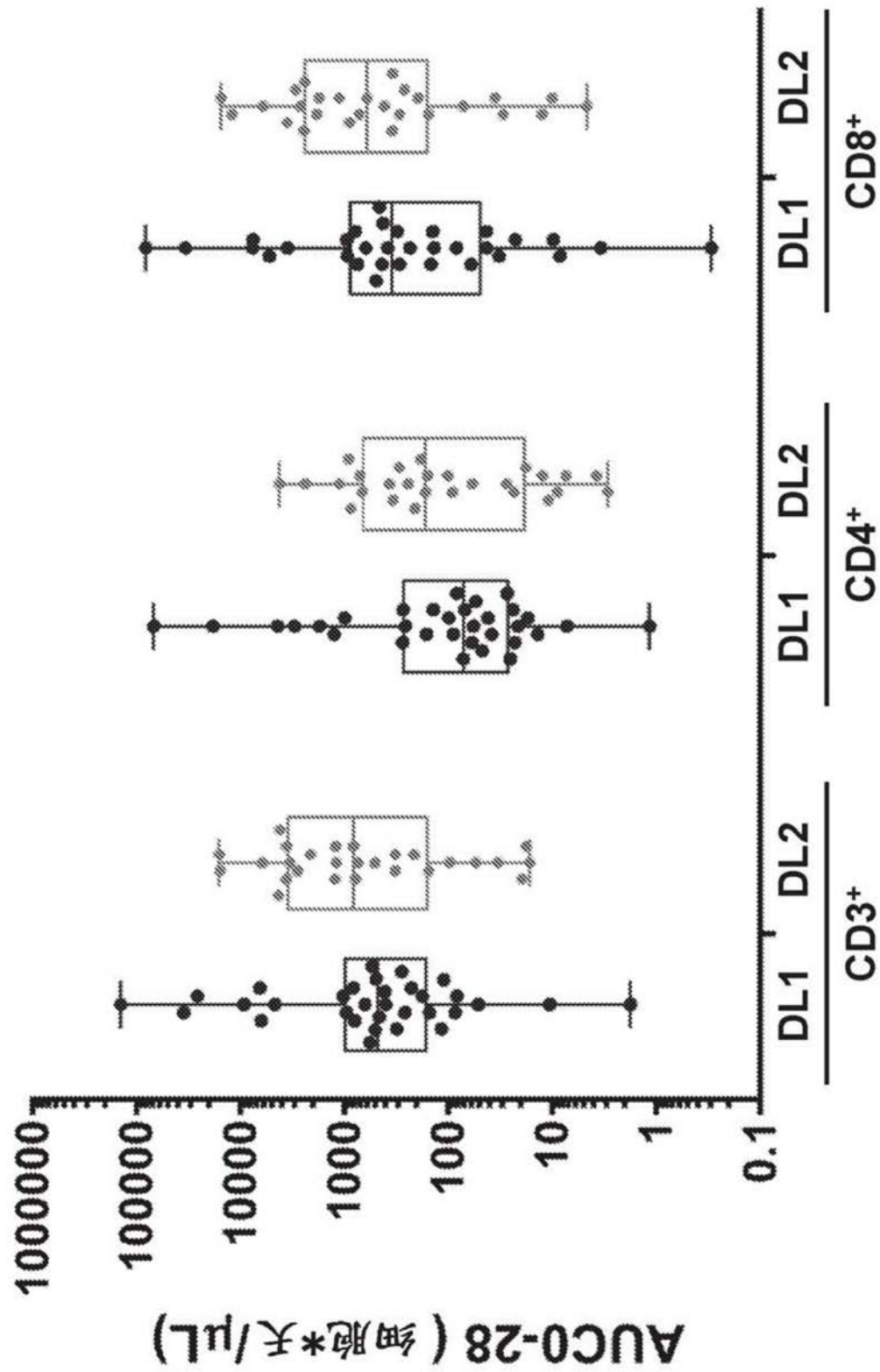


图12A

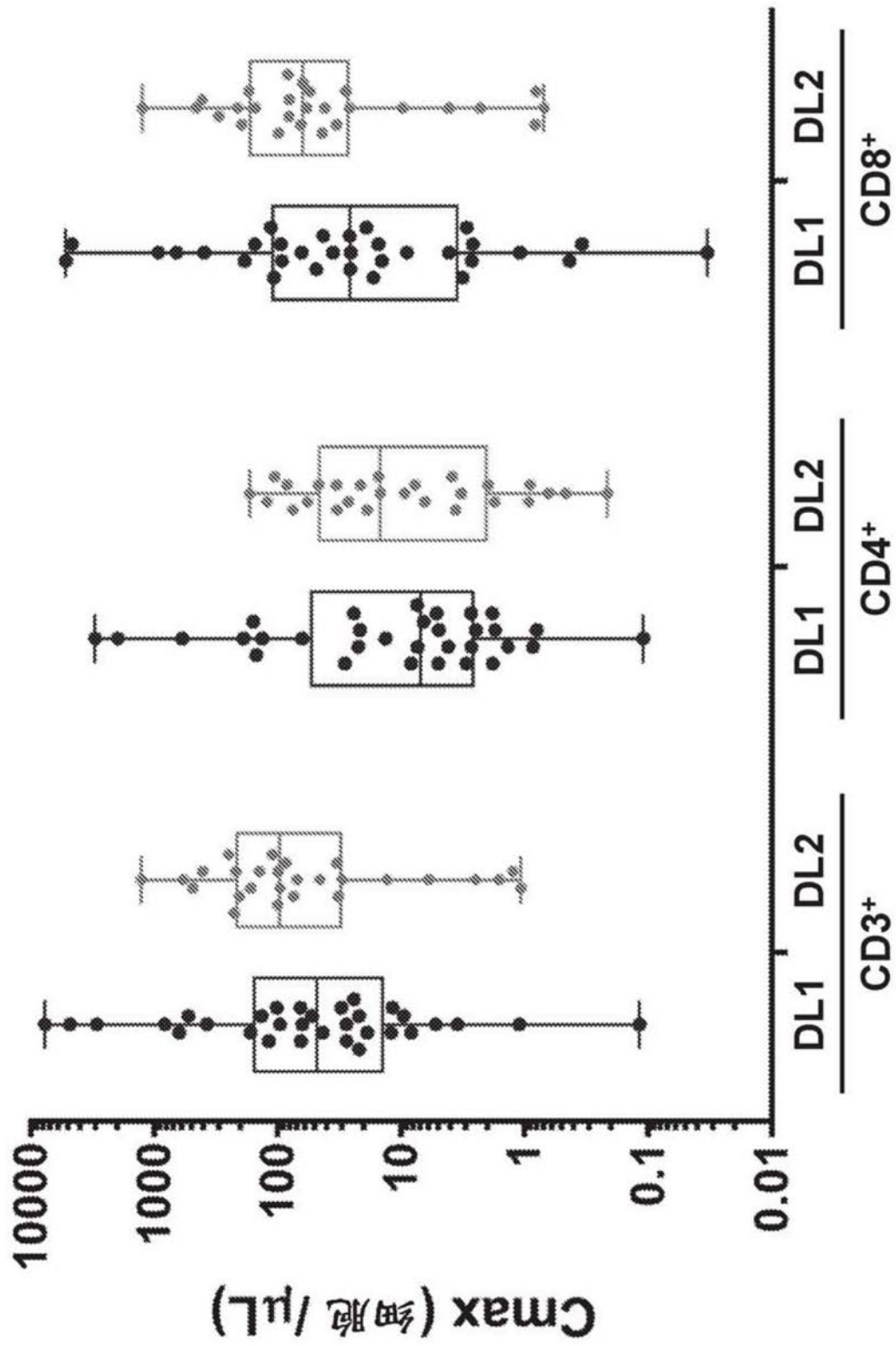


图12B

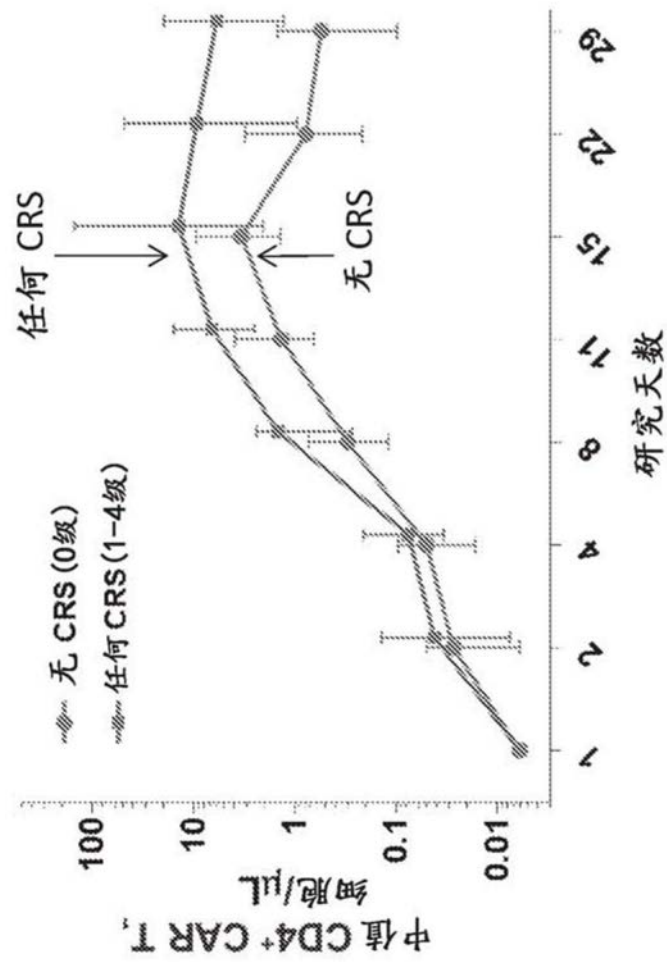


图13A

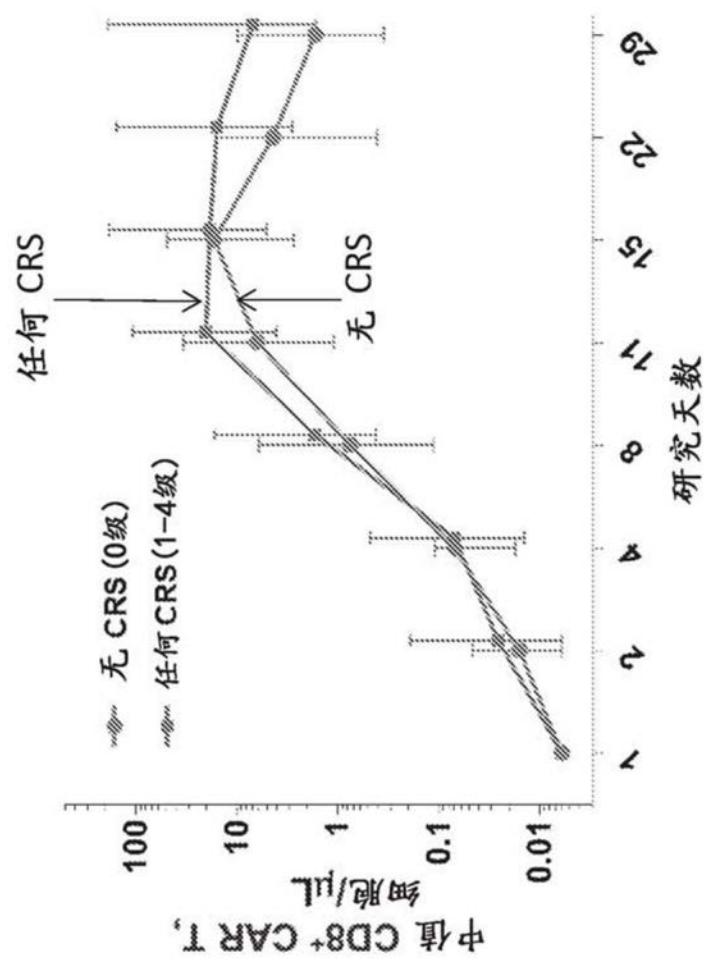


图13B

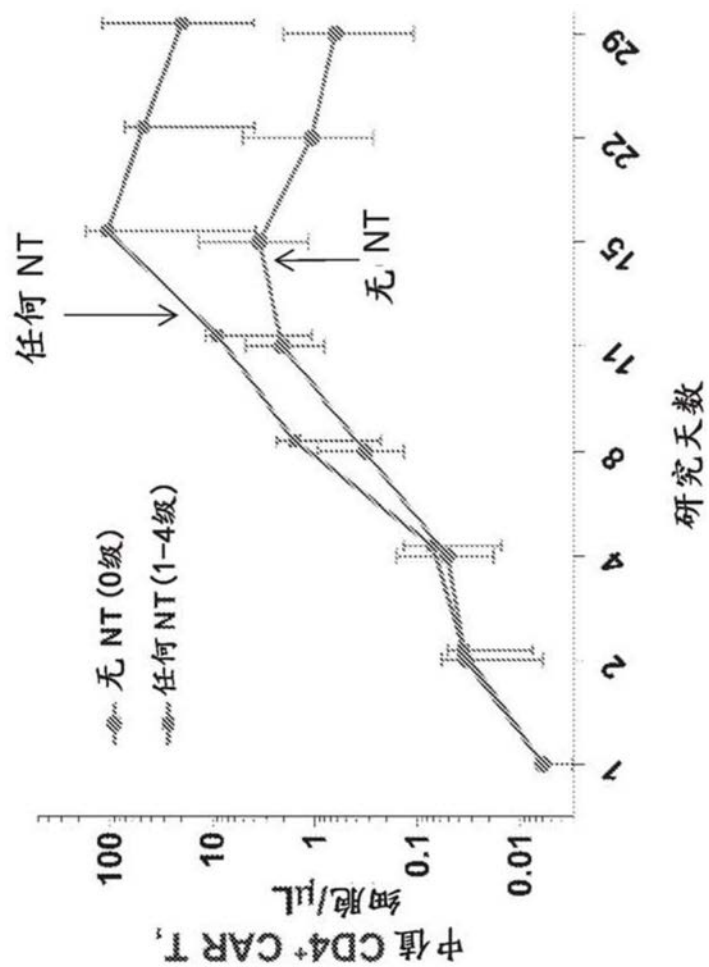


图13C

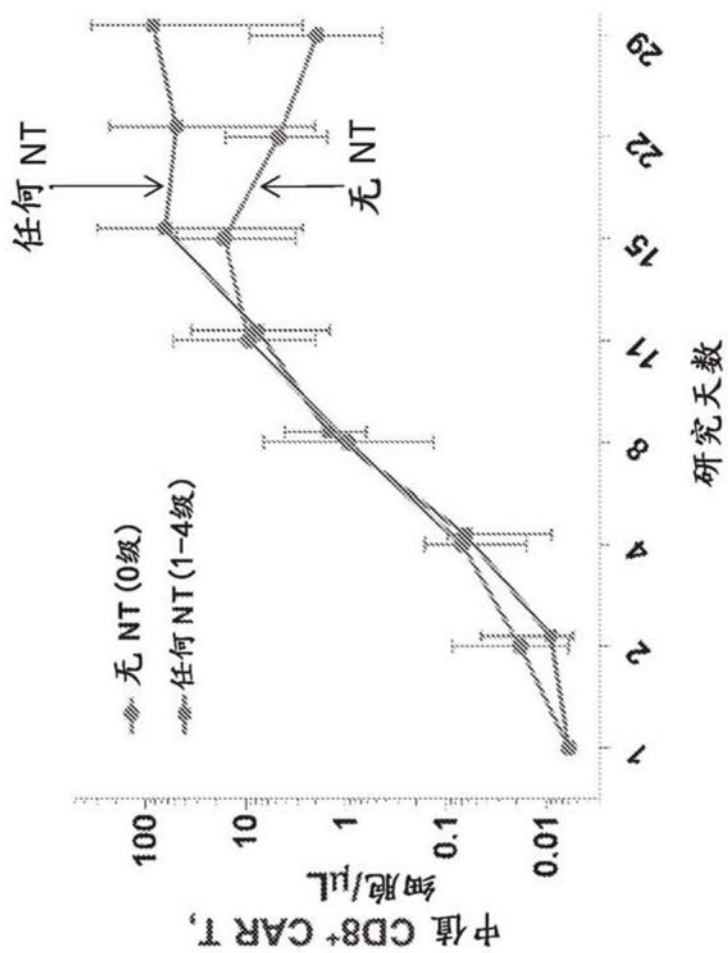


图13D

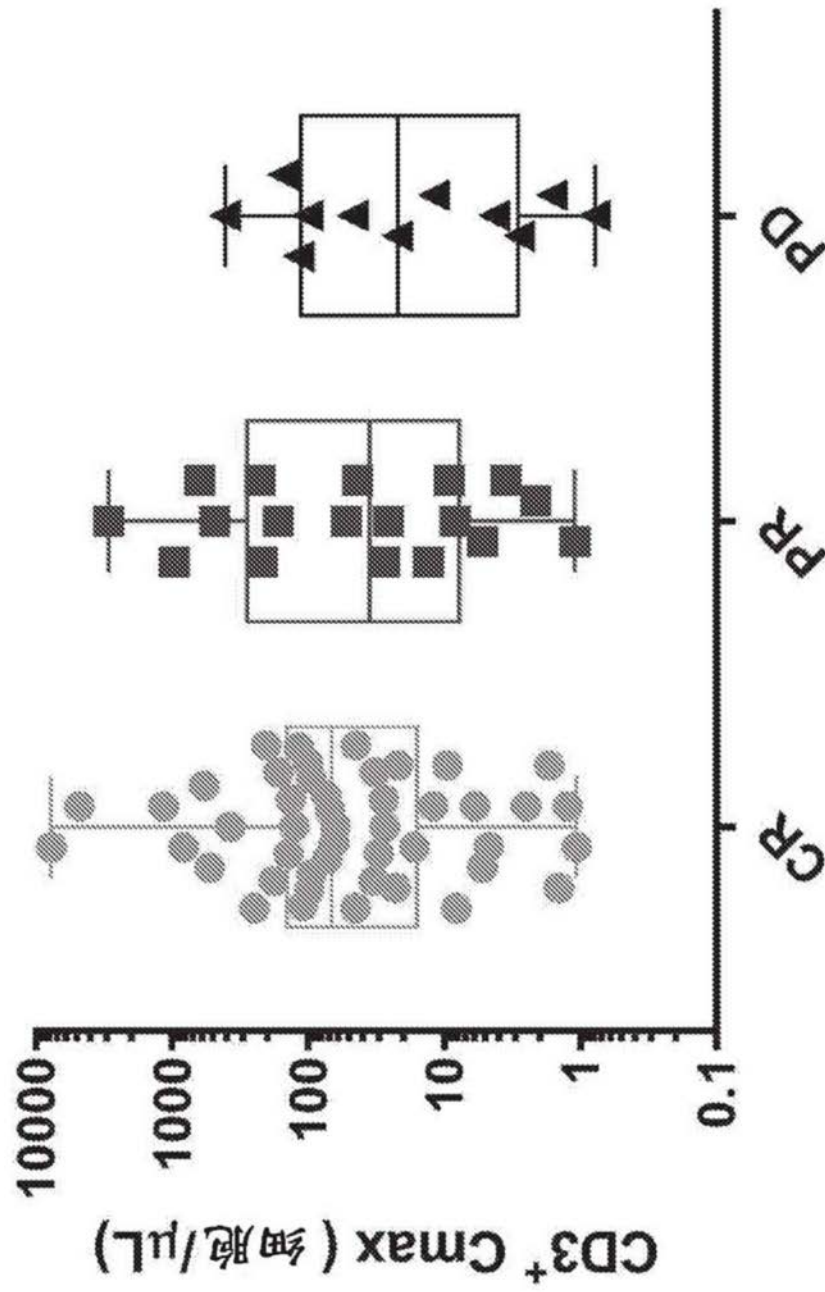


图14A

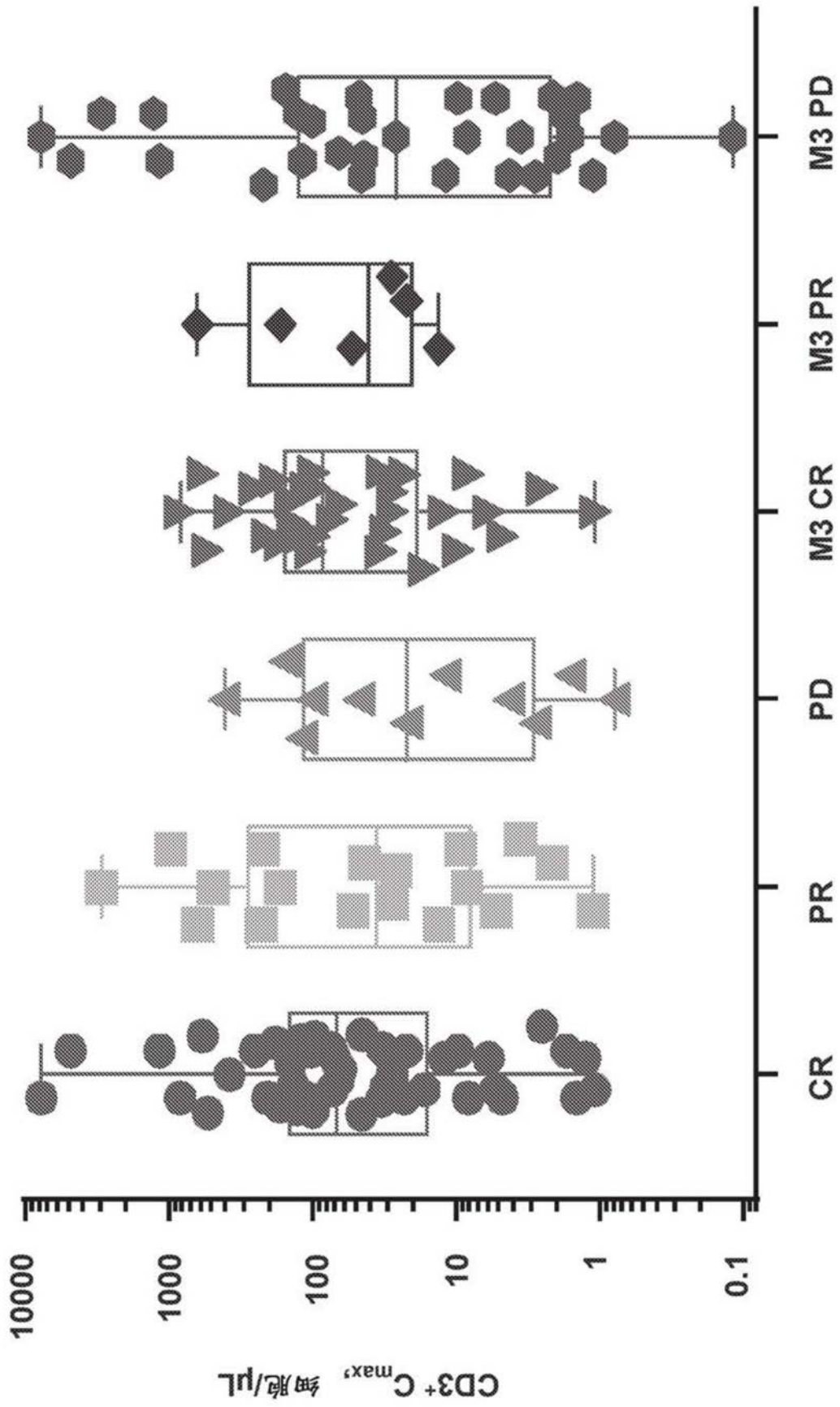


图14B

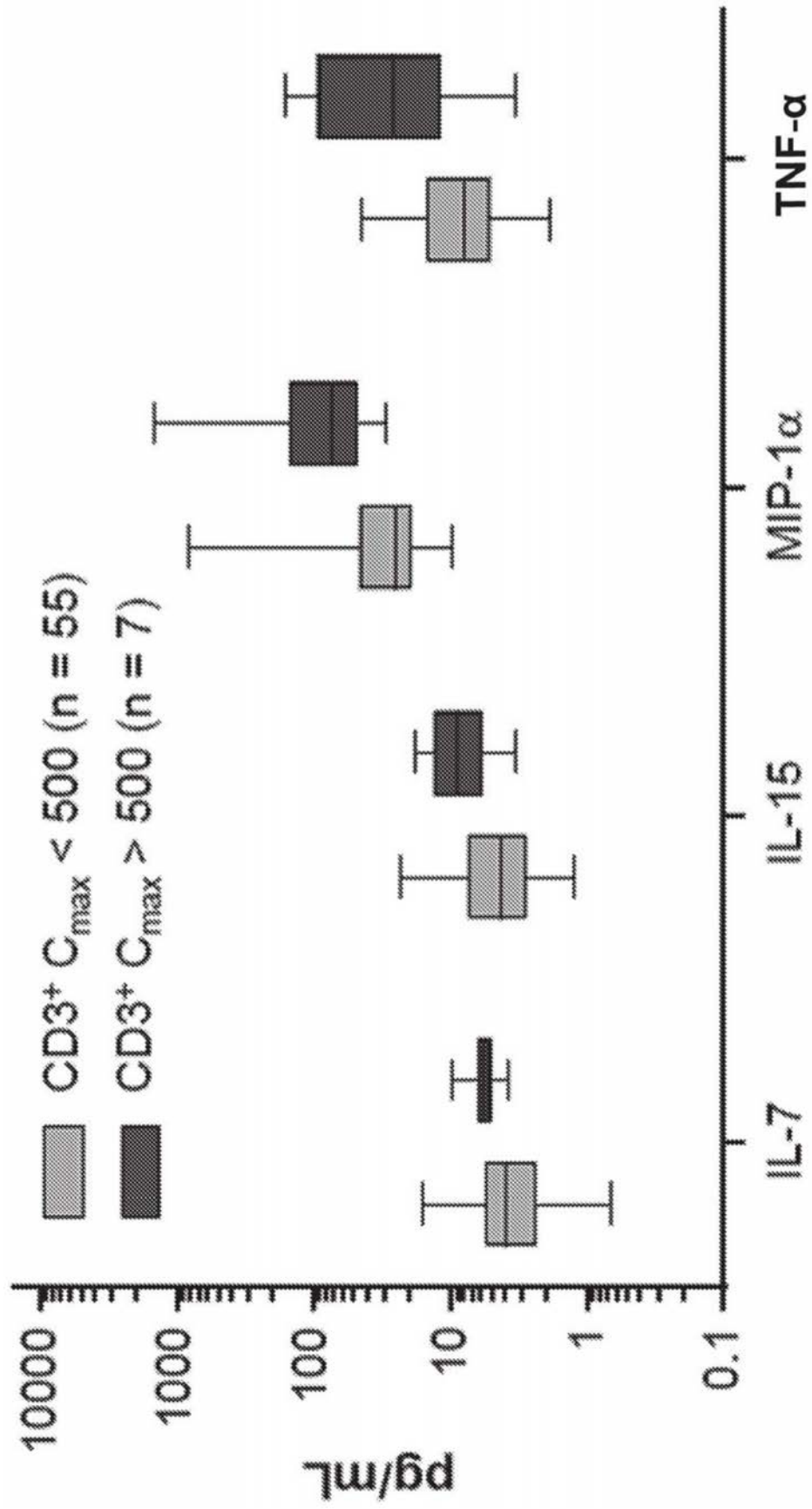


图15A

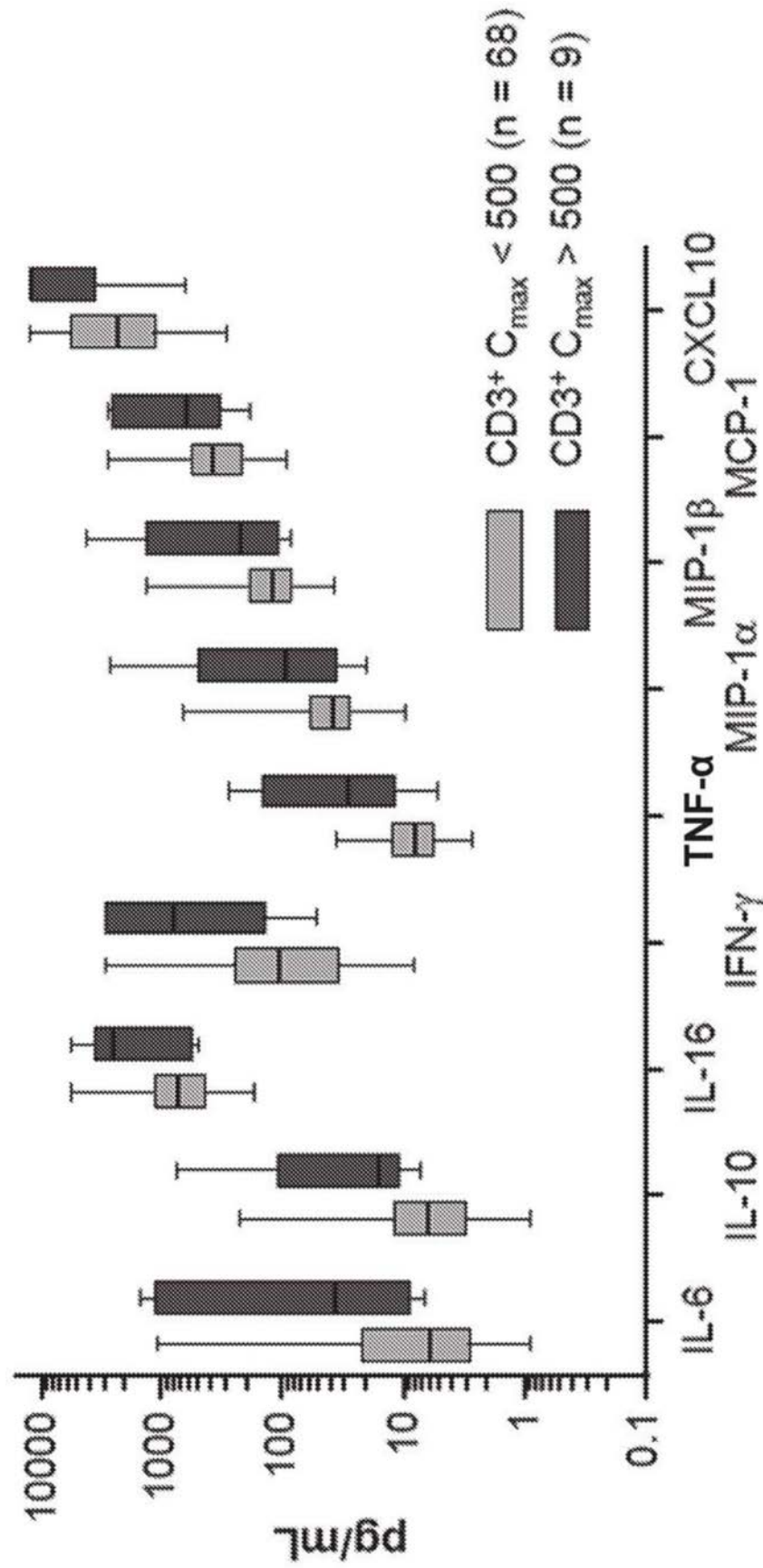


图15B

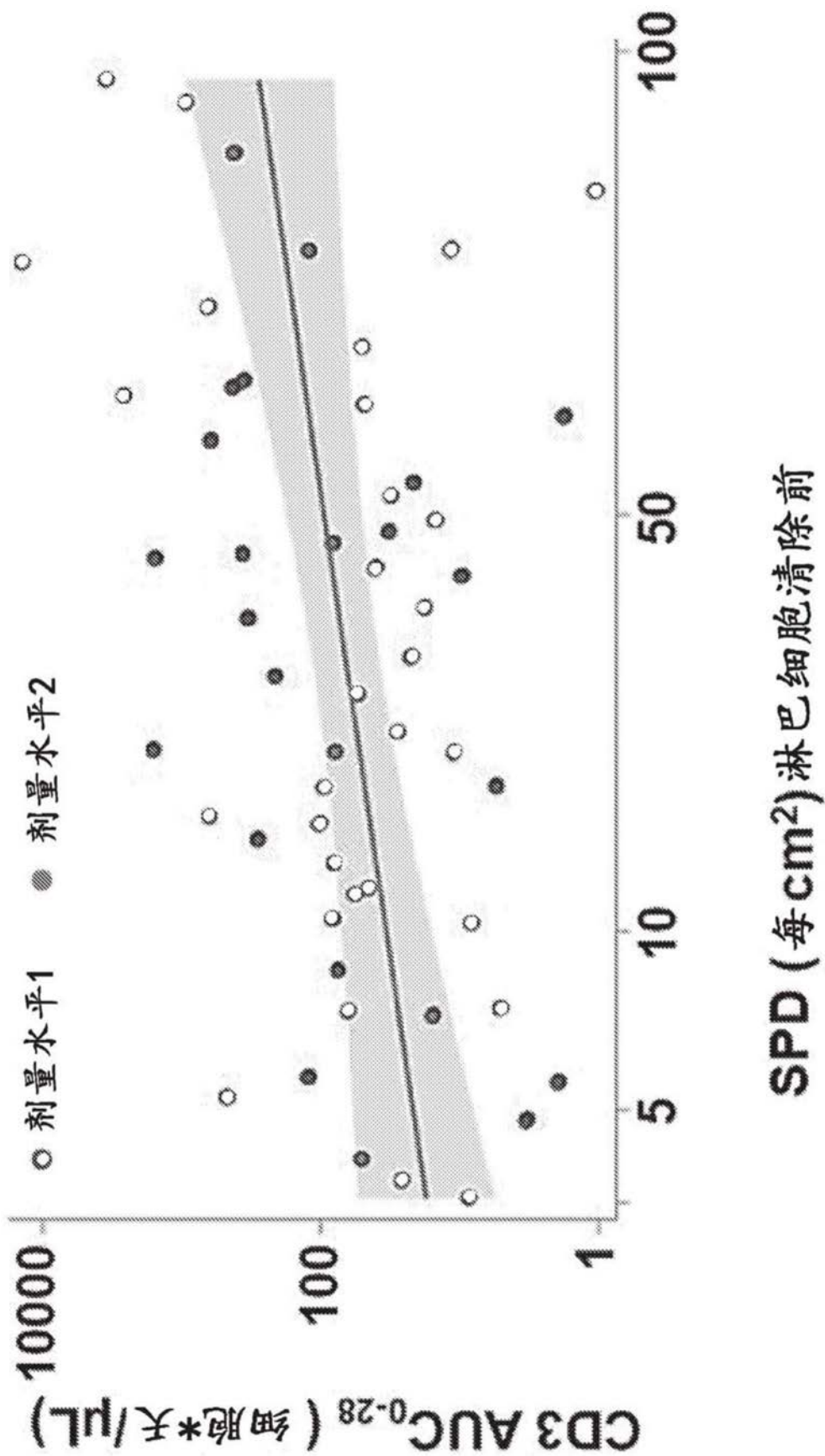


图16

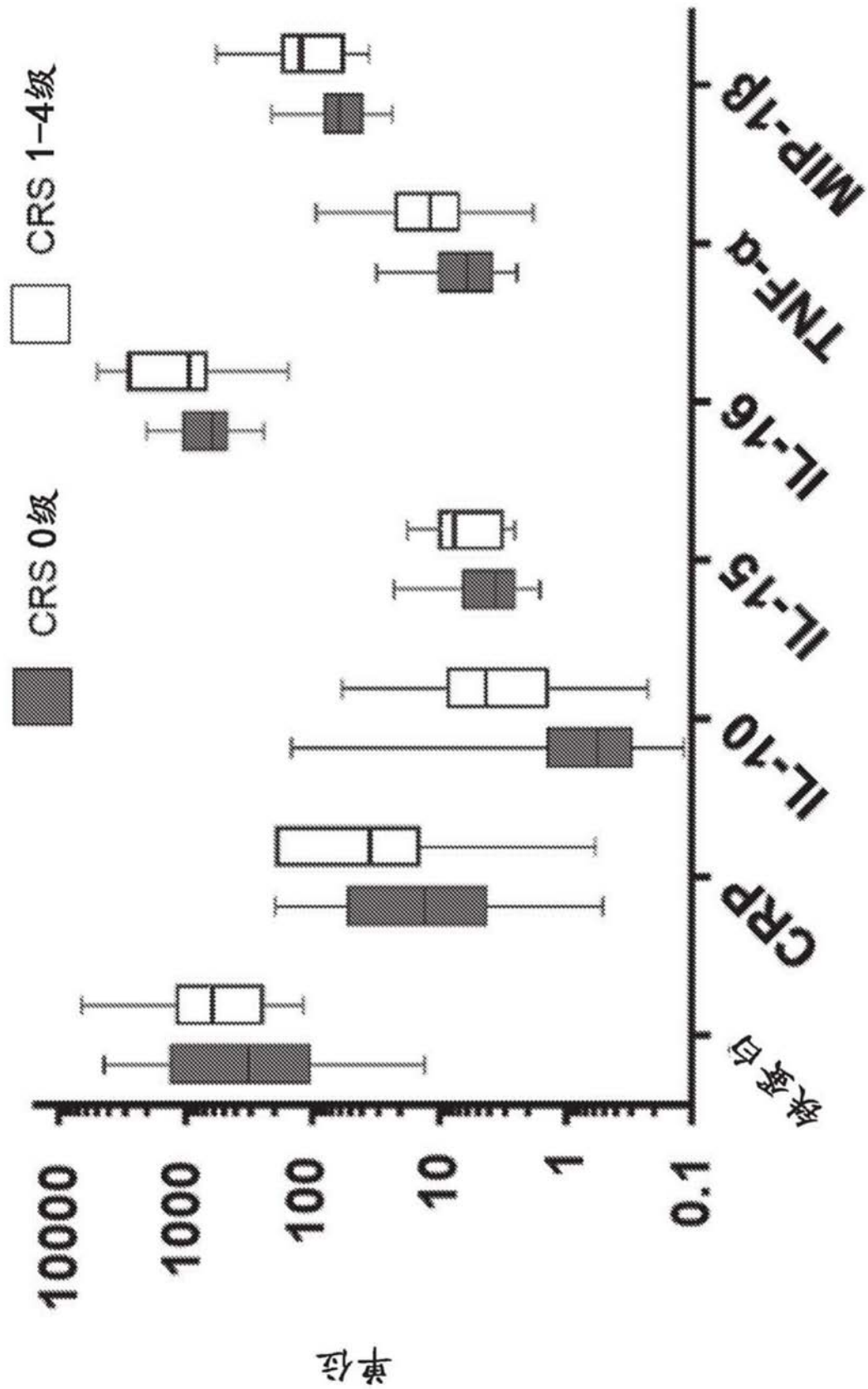


图17A

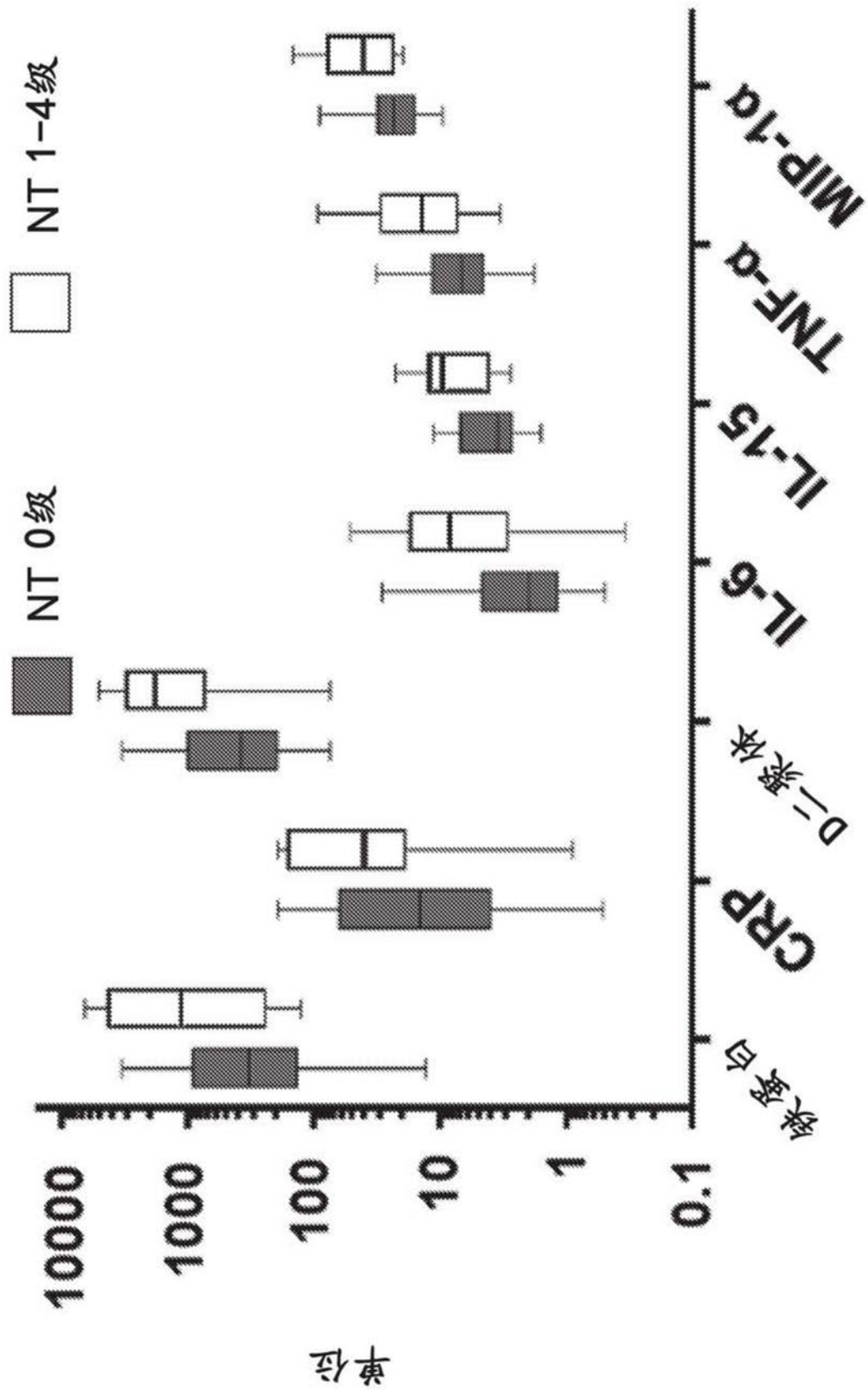


图17B

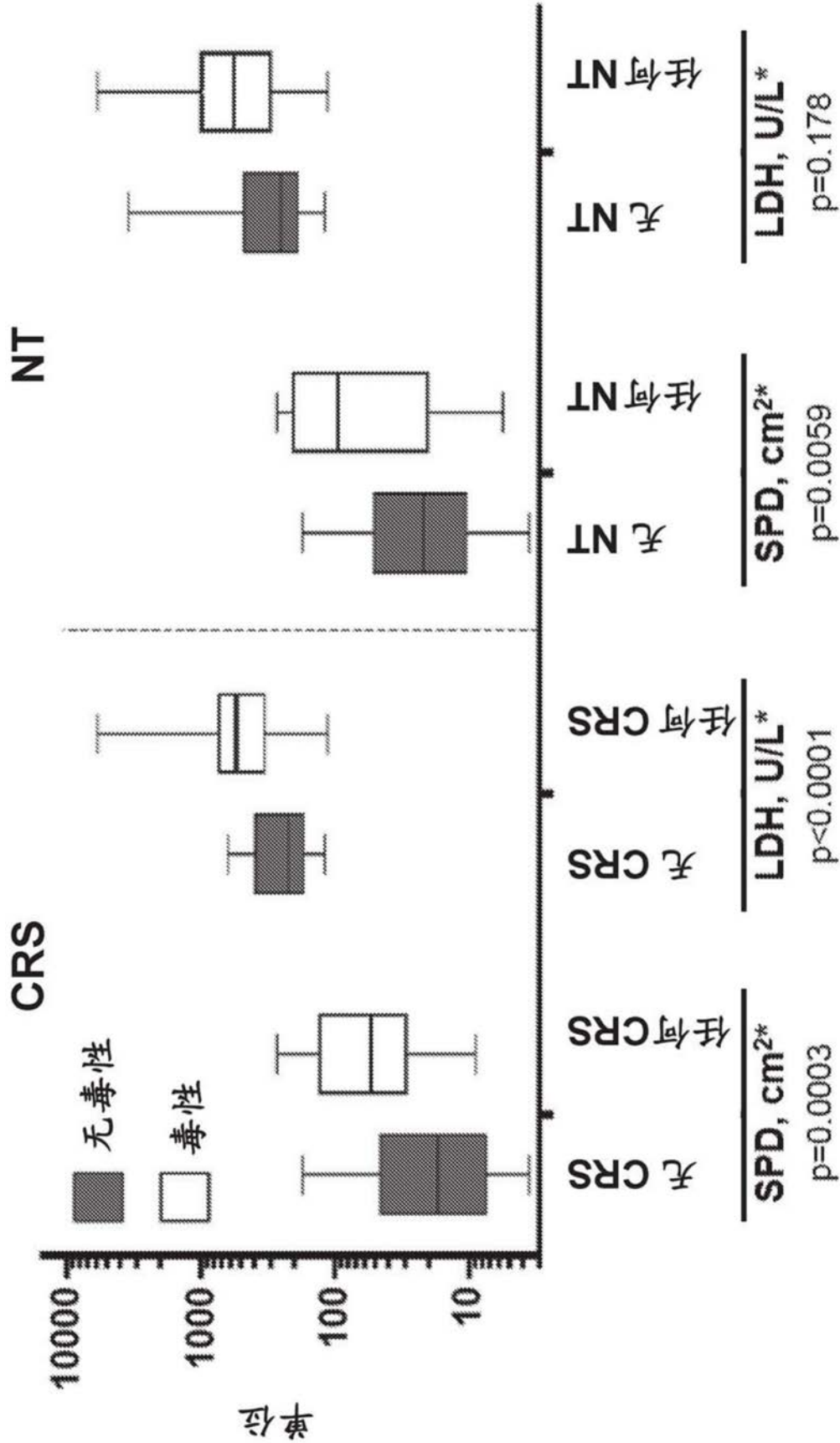


图18

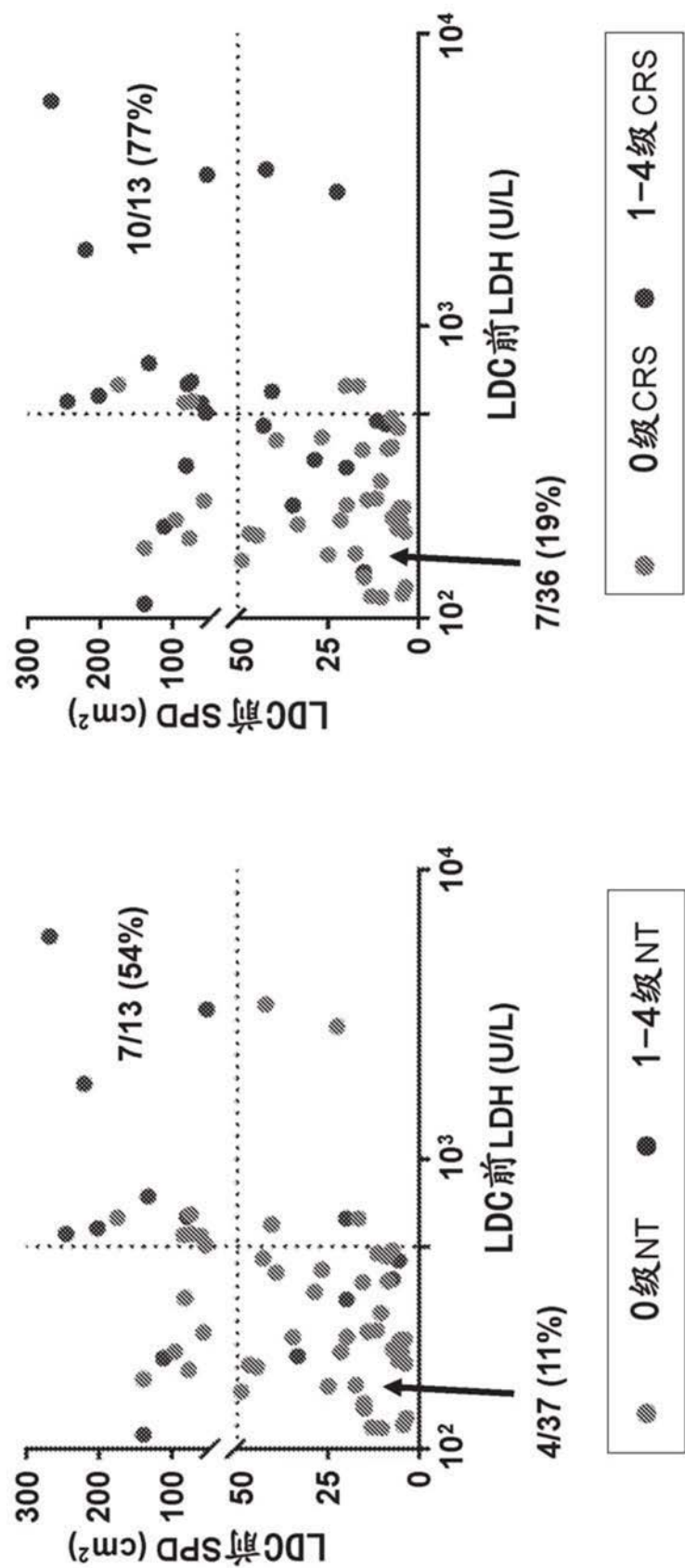


图19A

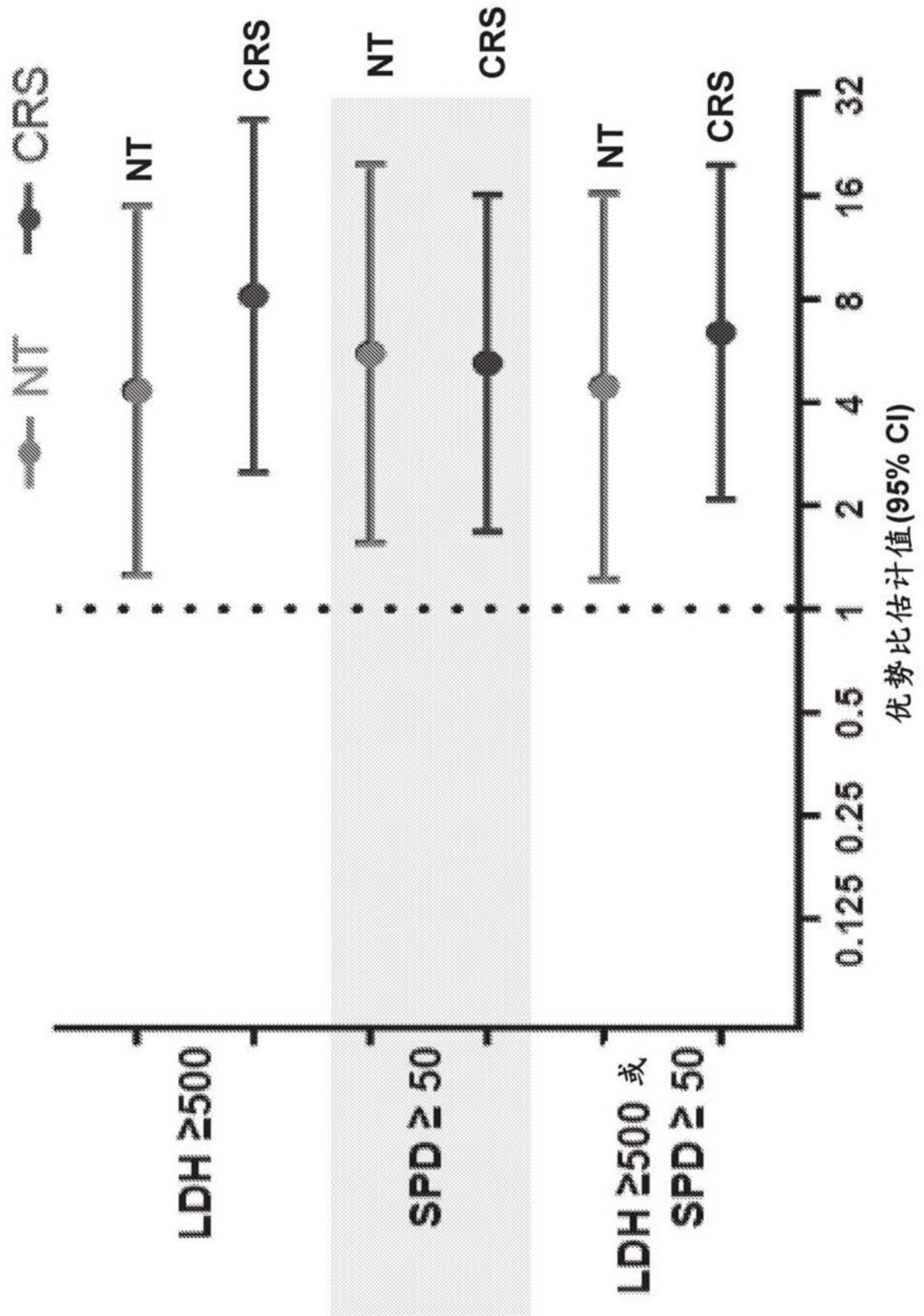


图19B

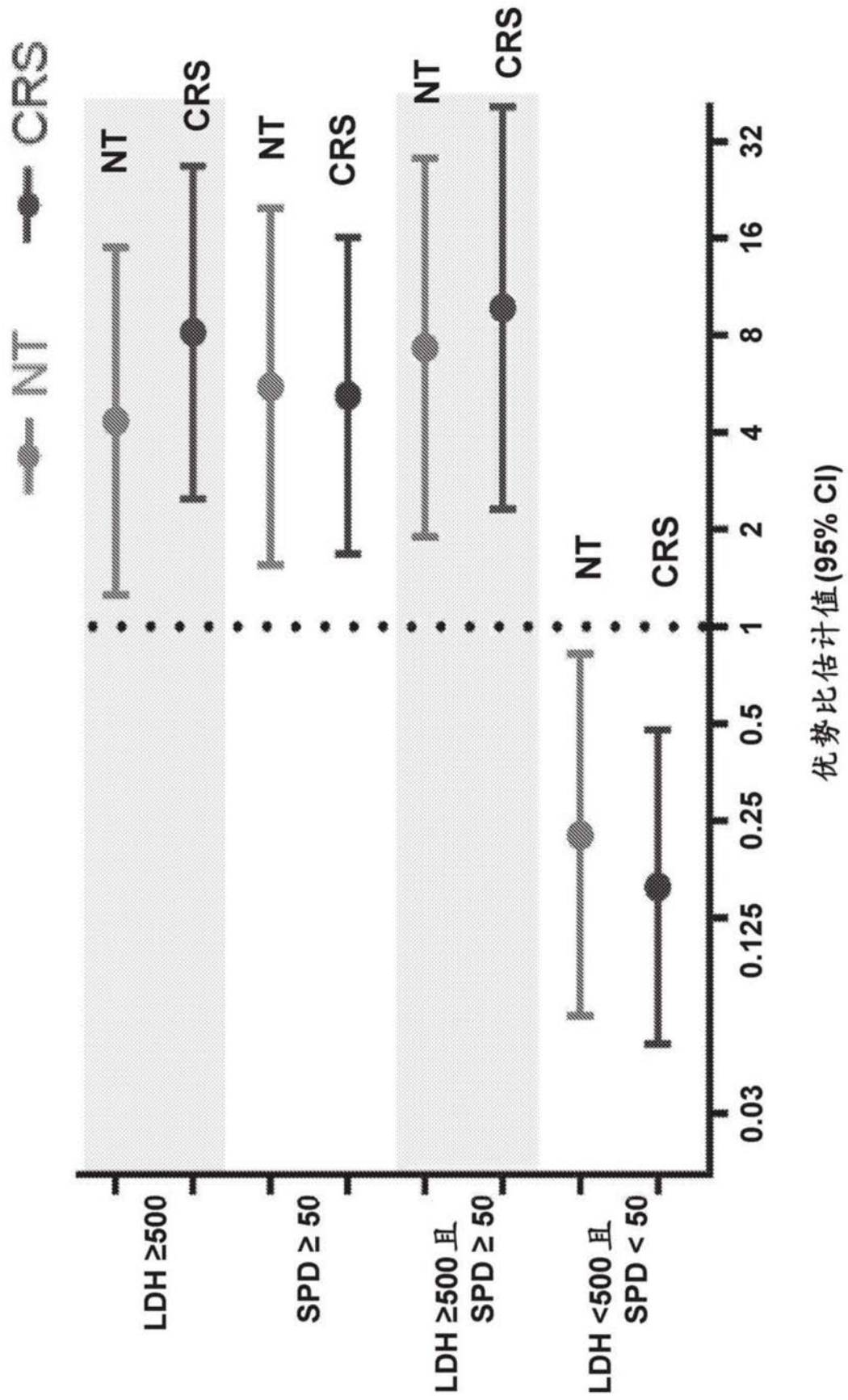


图19C

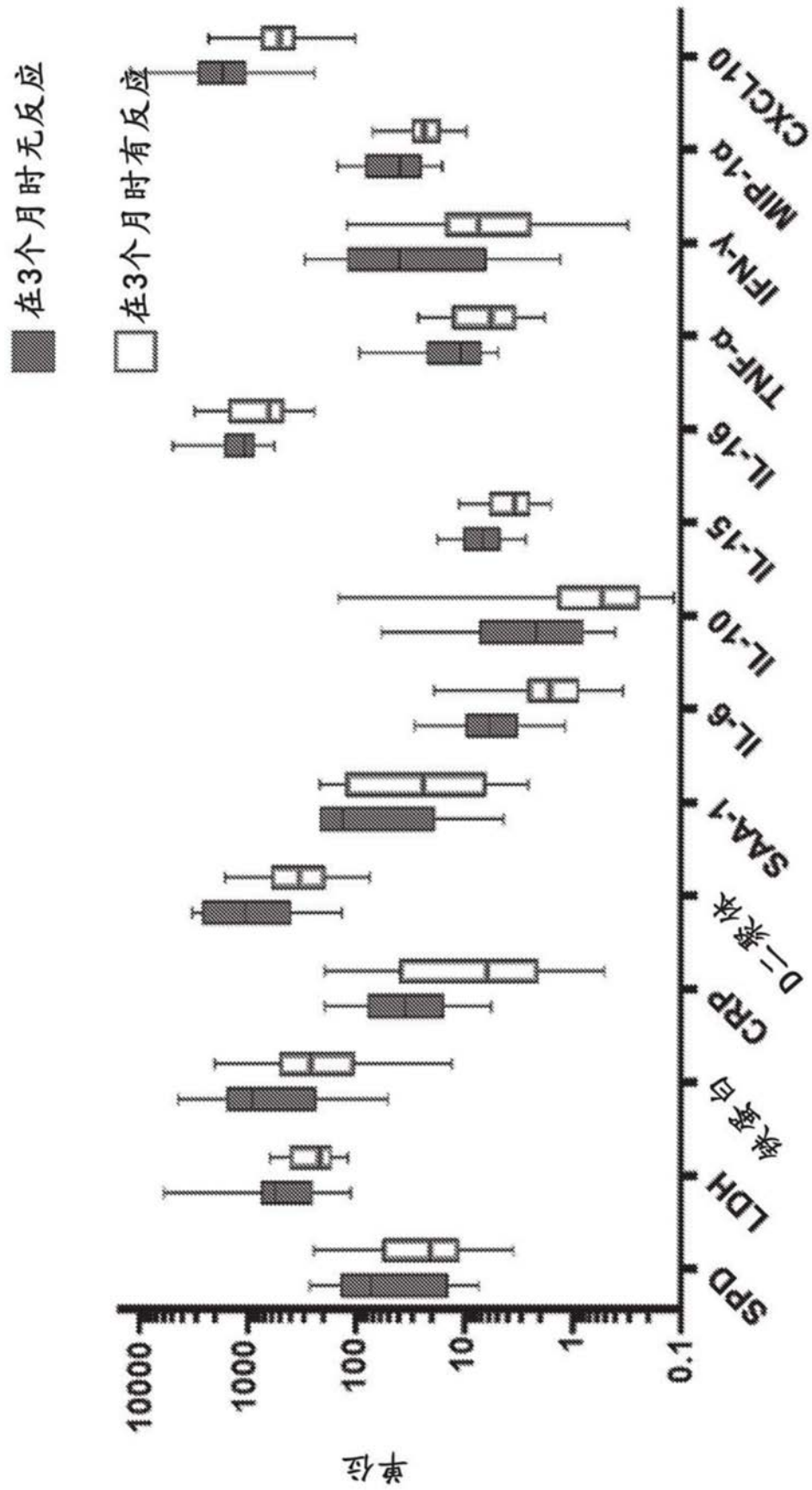


图20

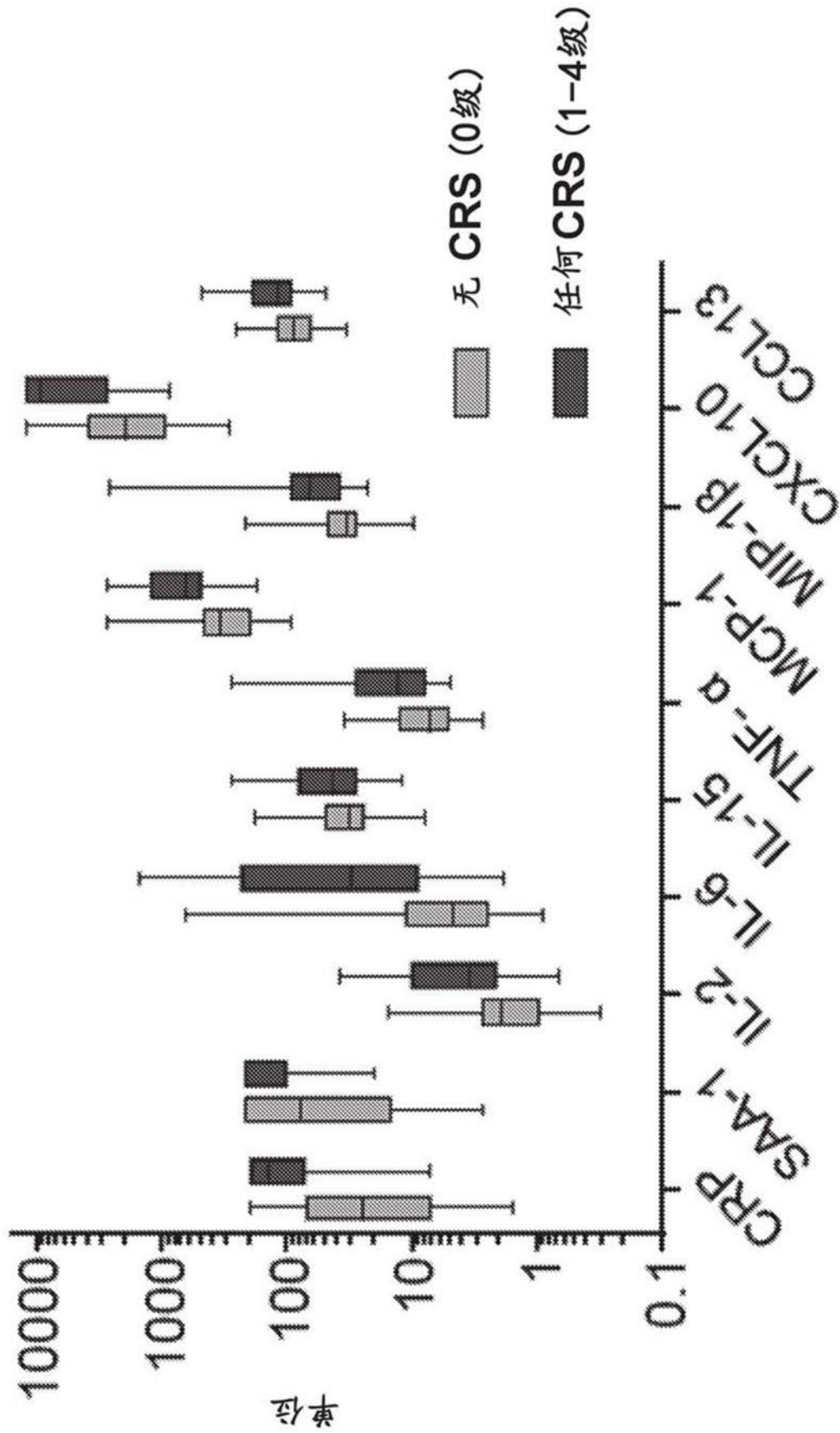


图21A

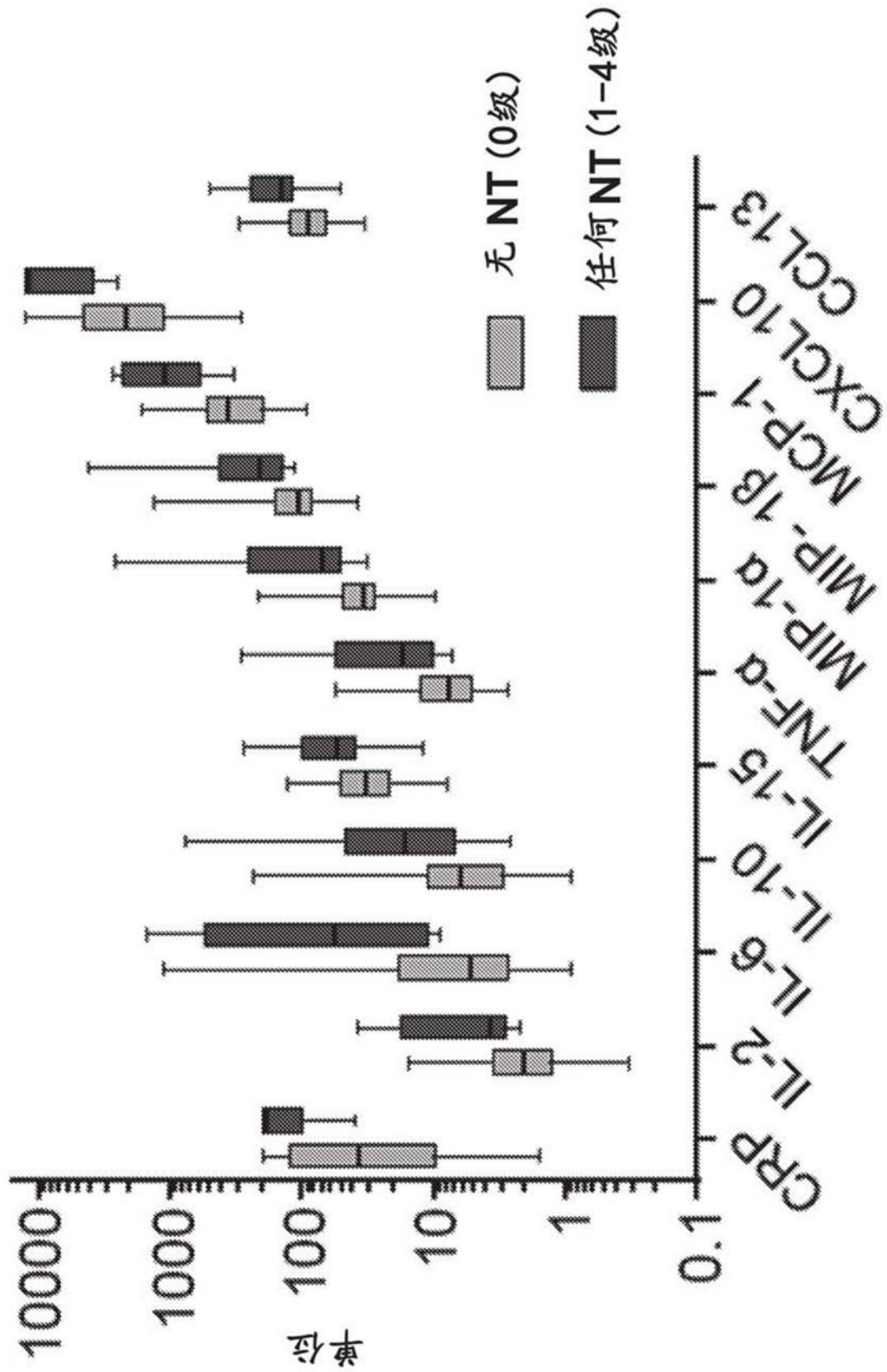


图21B

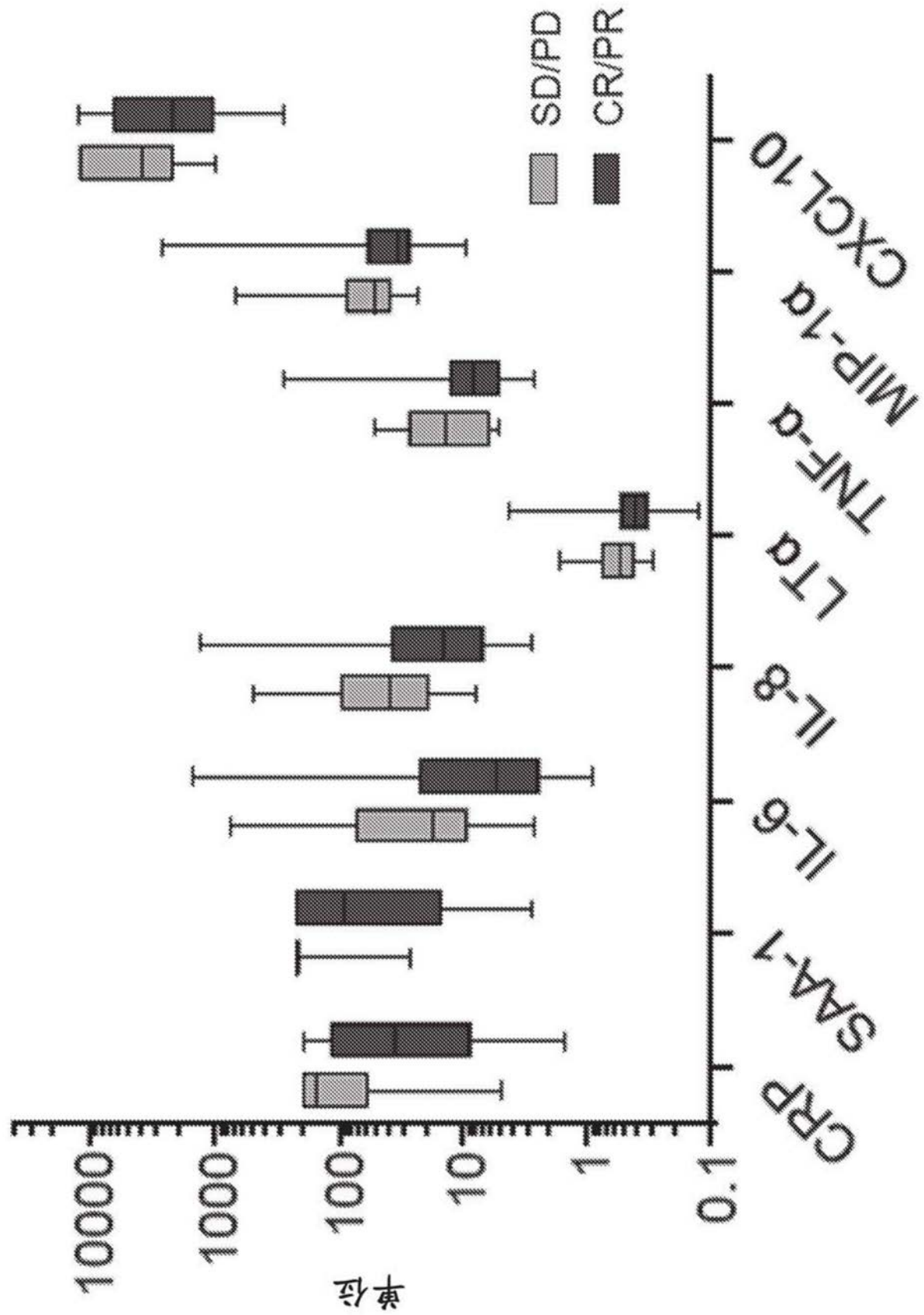


图22A

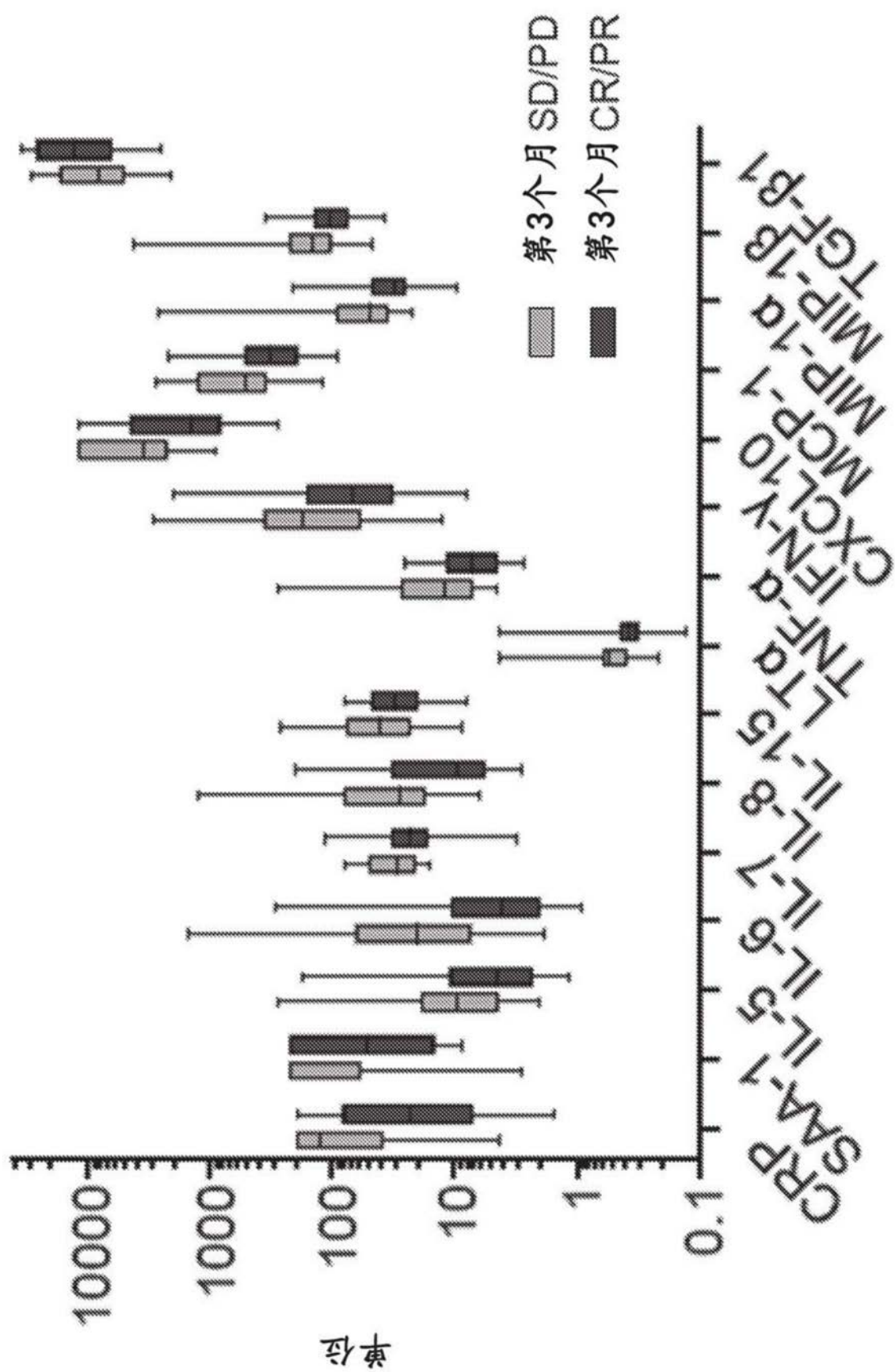


图22B

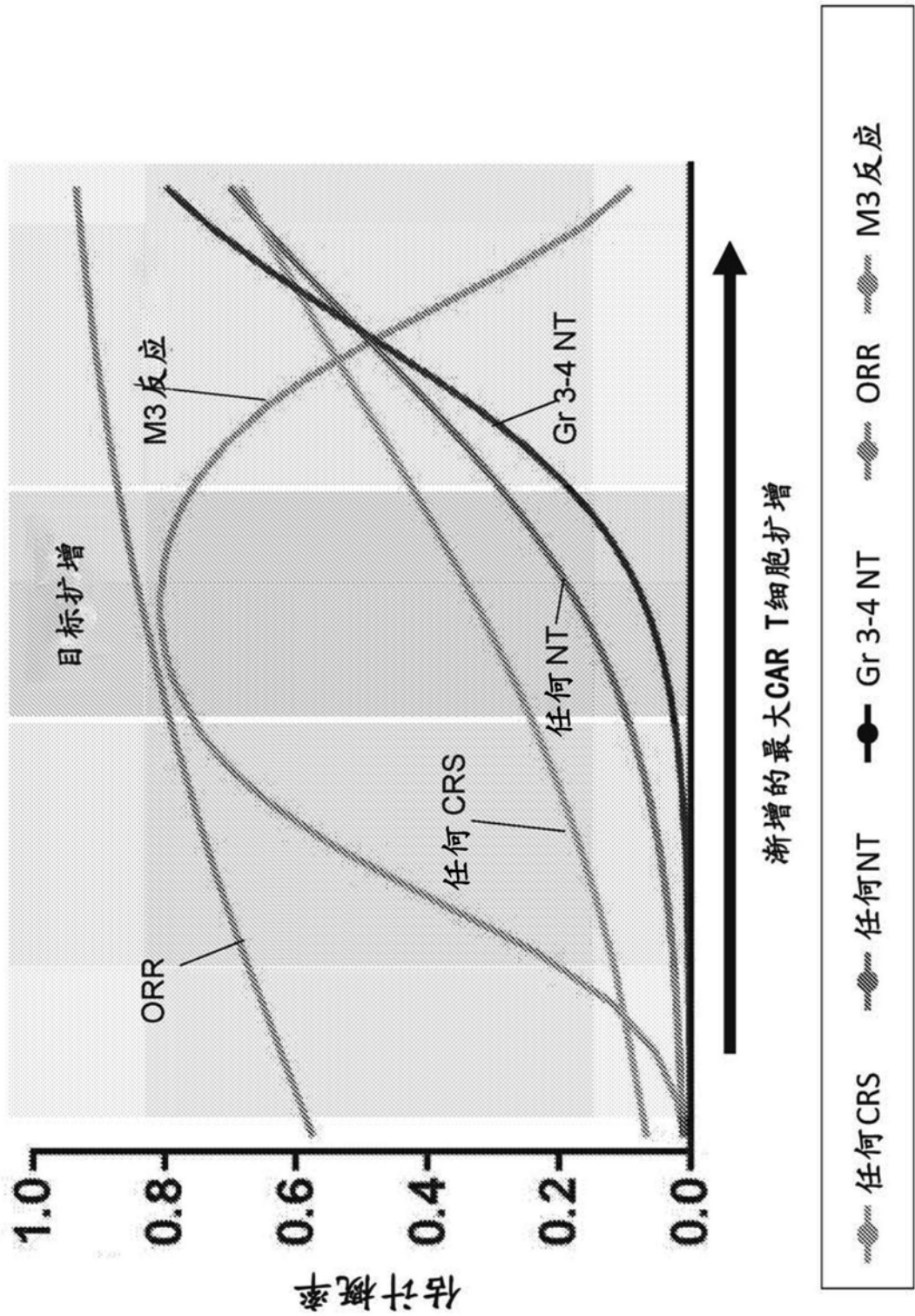


图23A

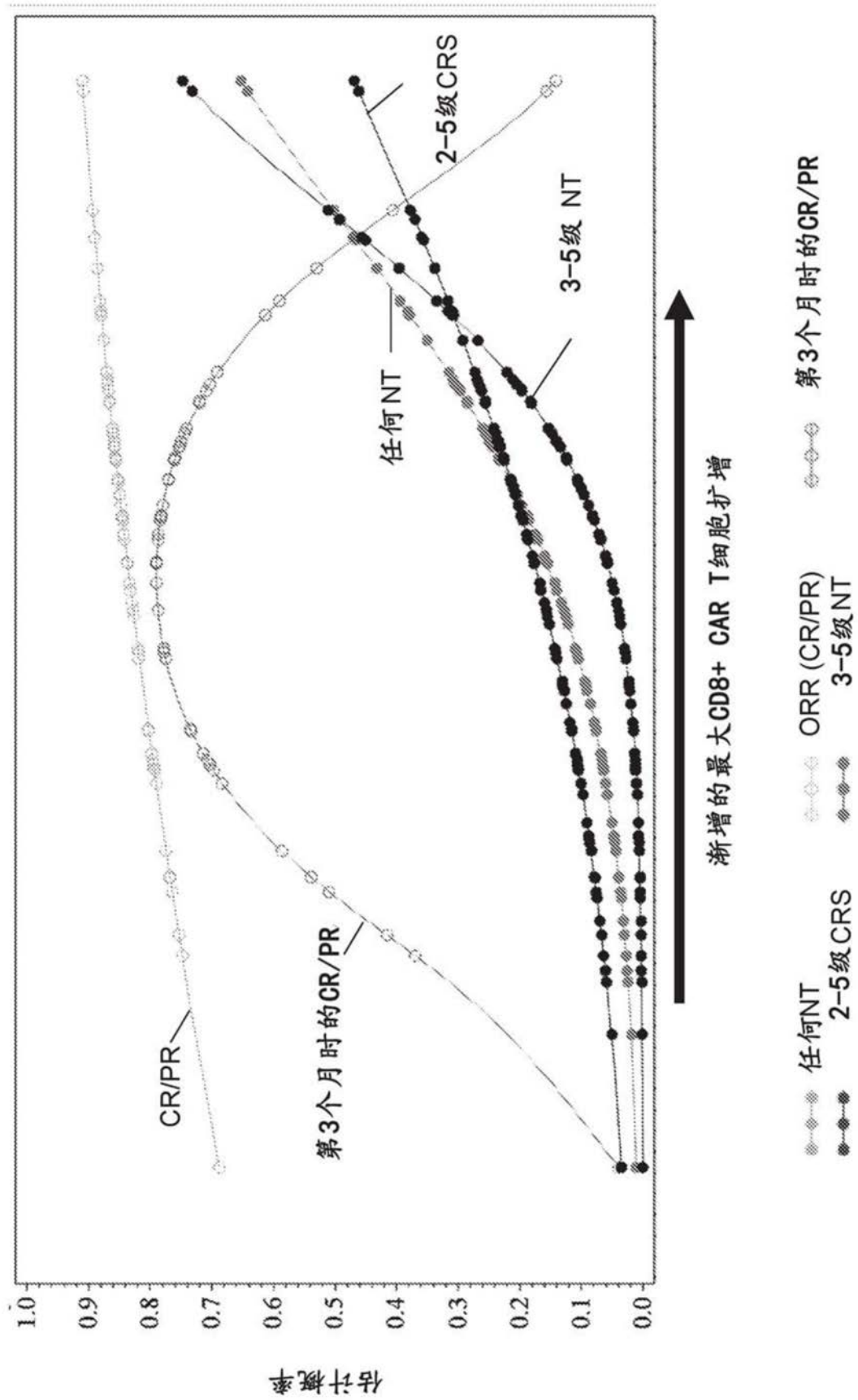


图23B

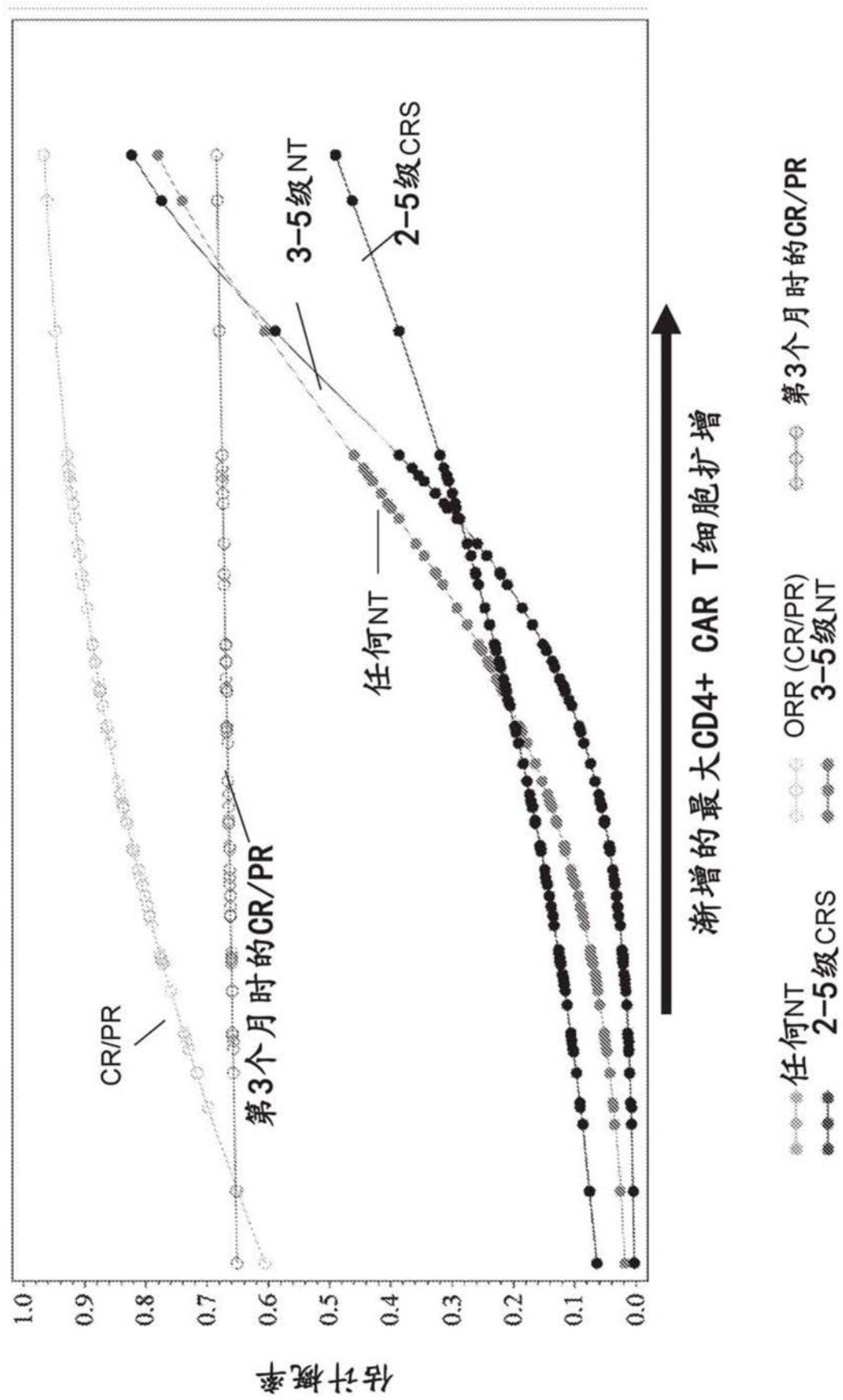


图23C

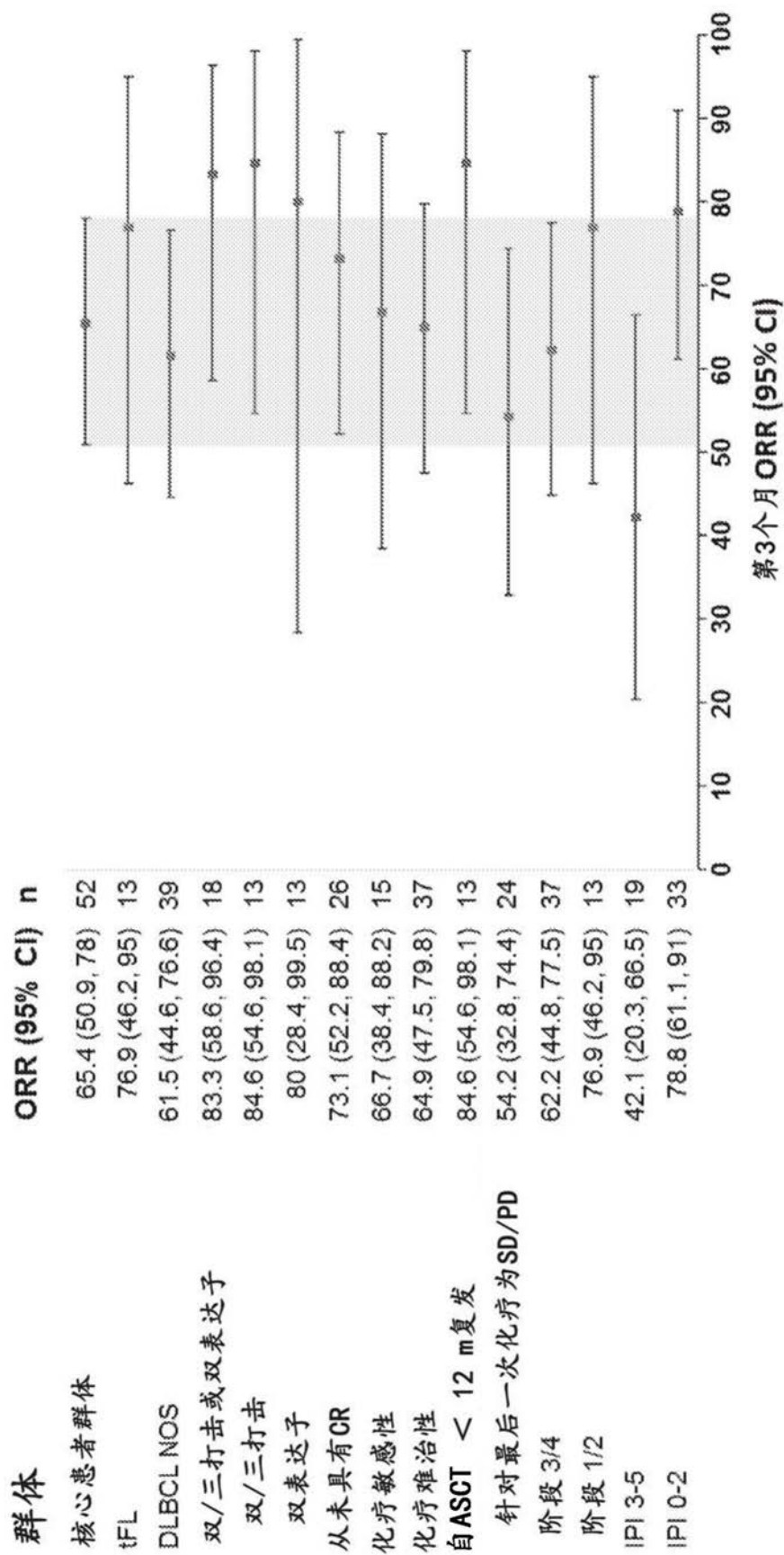


图24

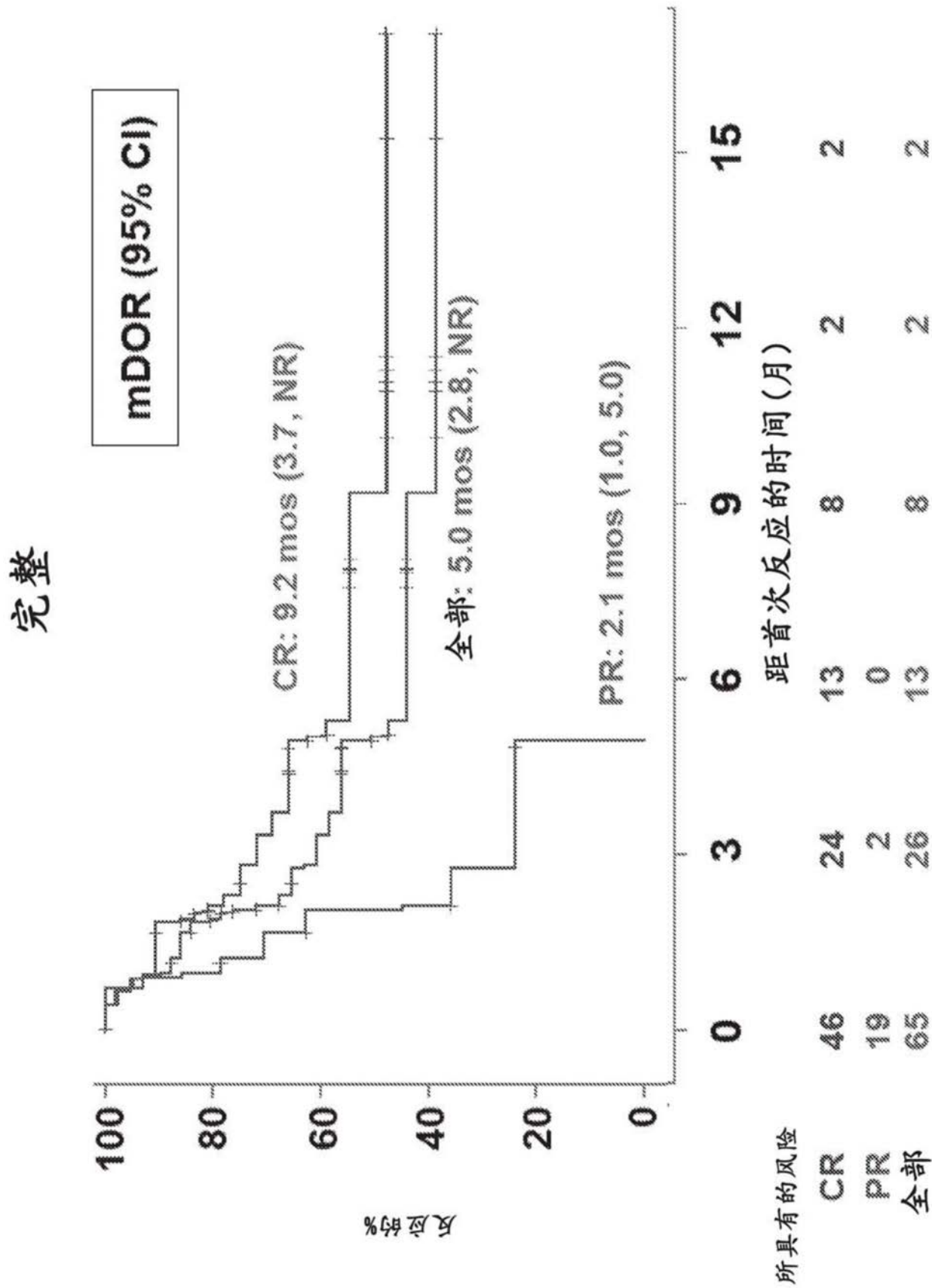


图25A

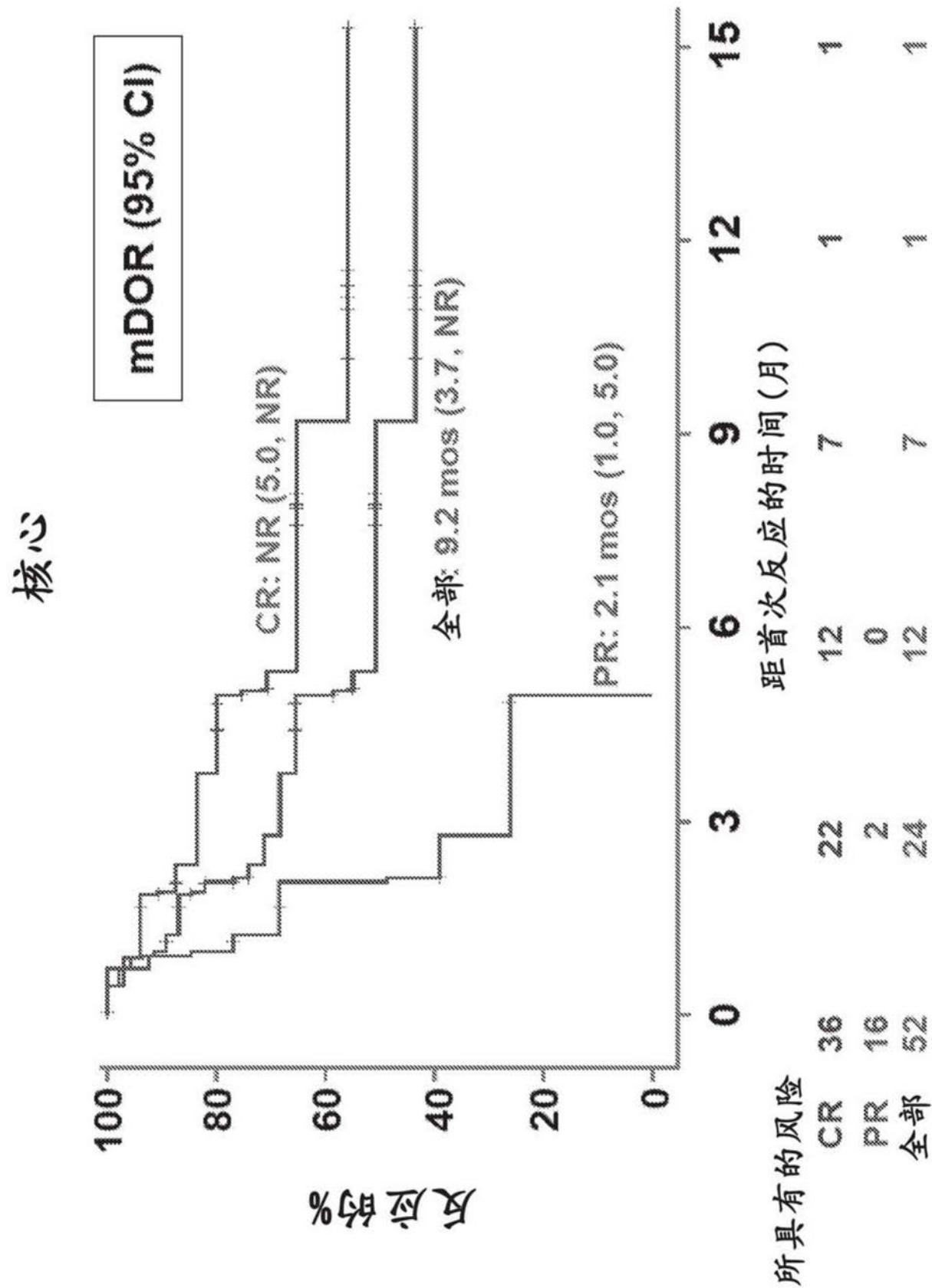


图25B

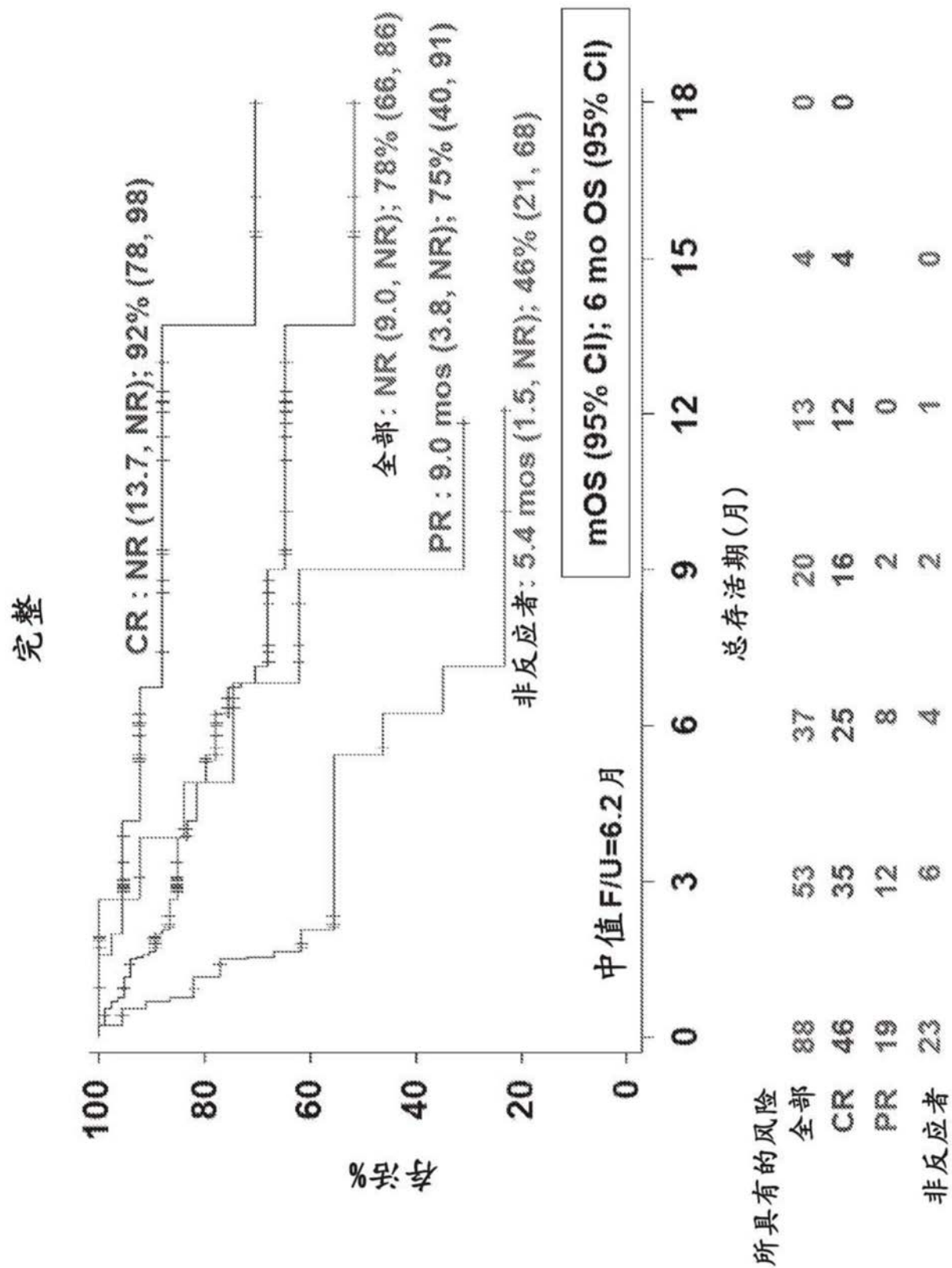


图25C

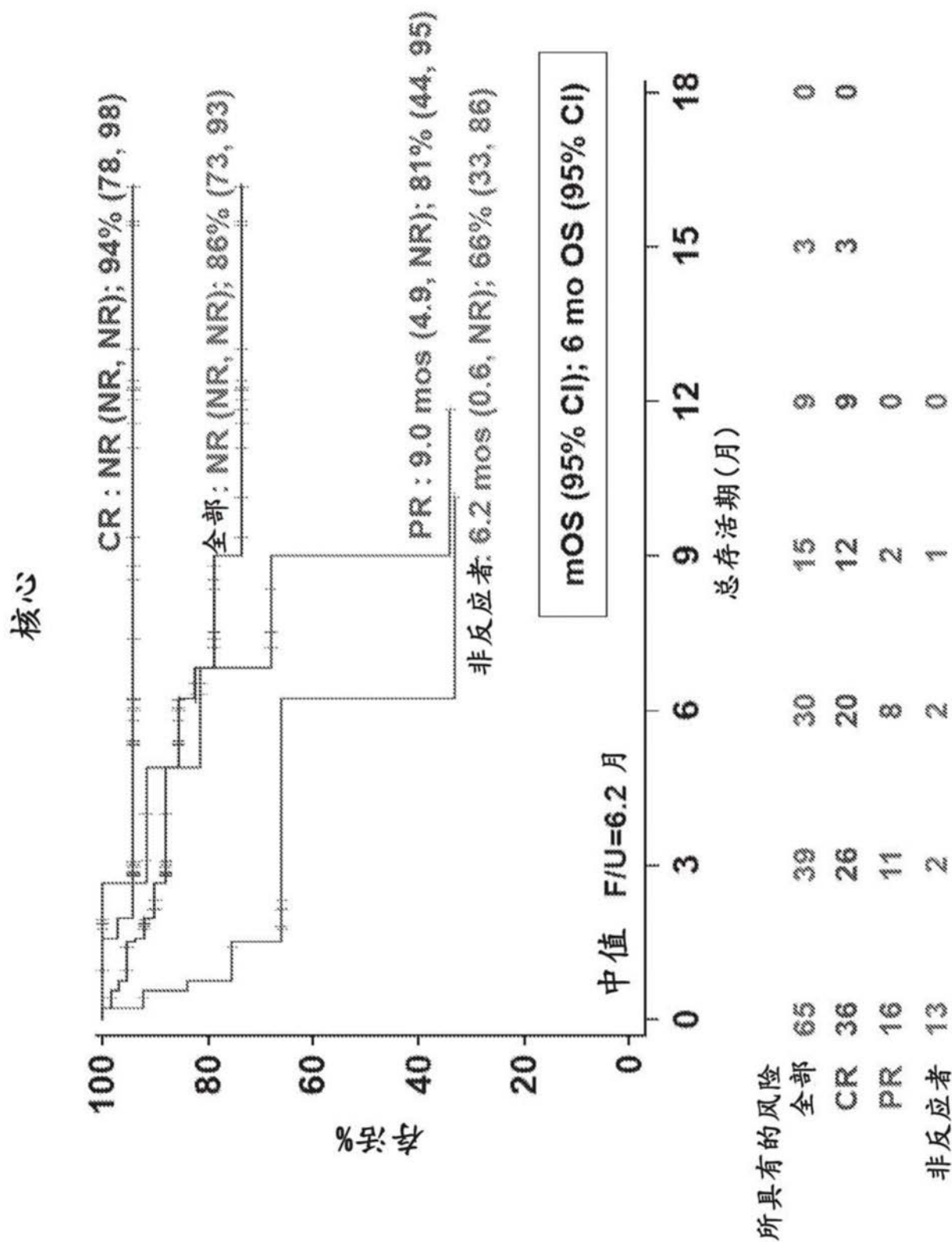


图25D

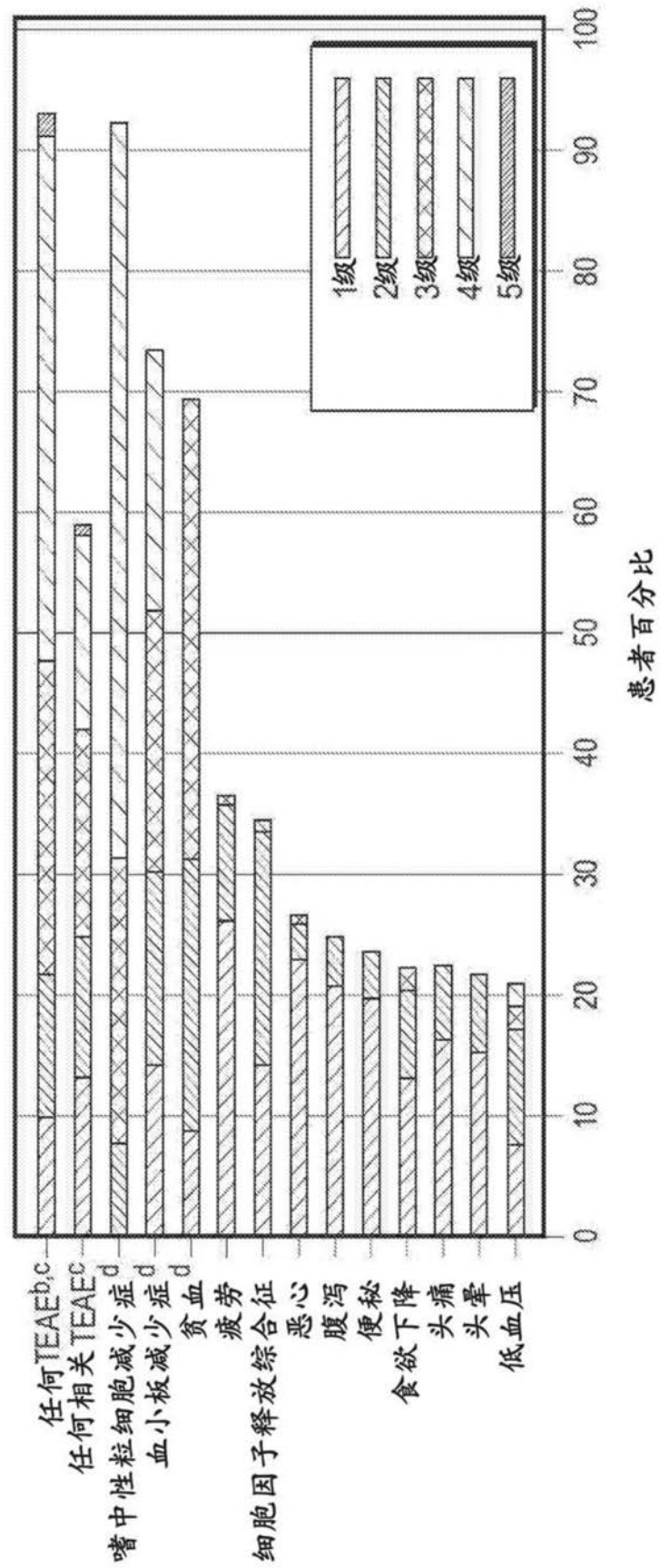


图26

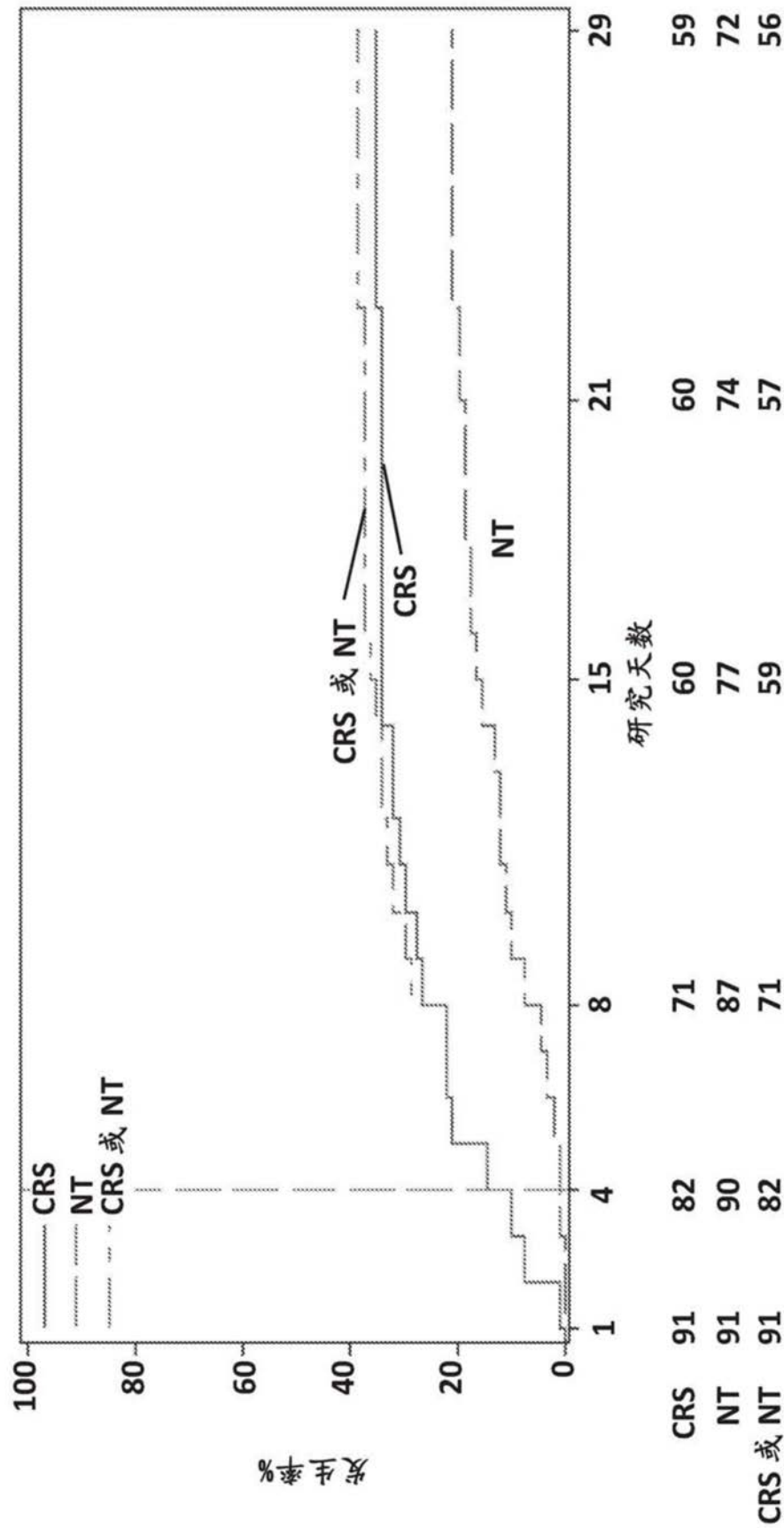


图27

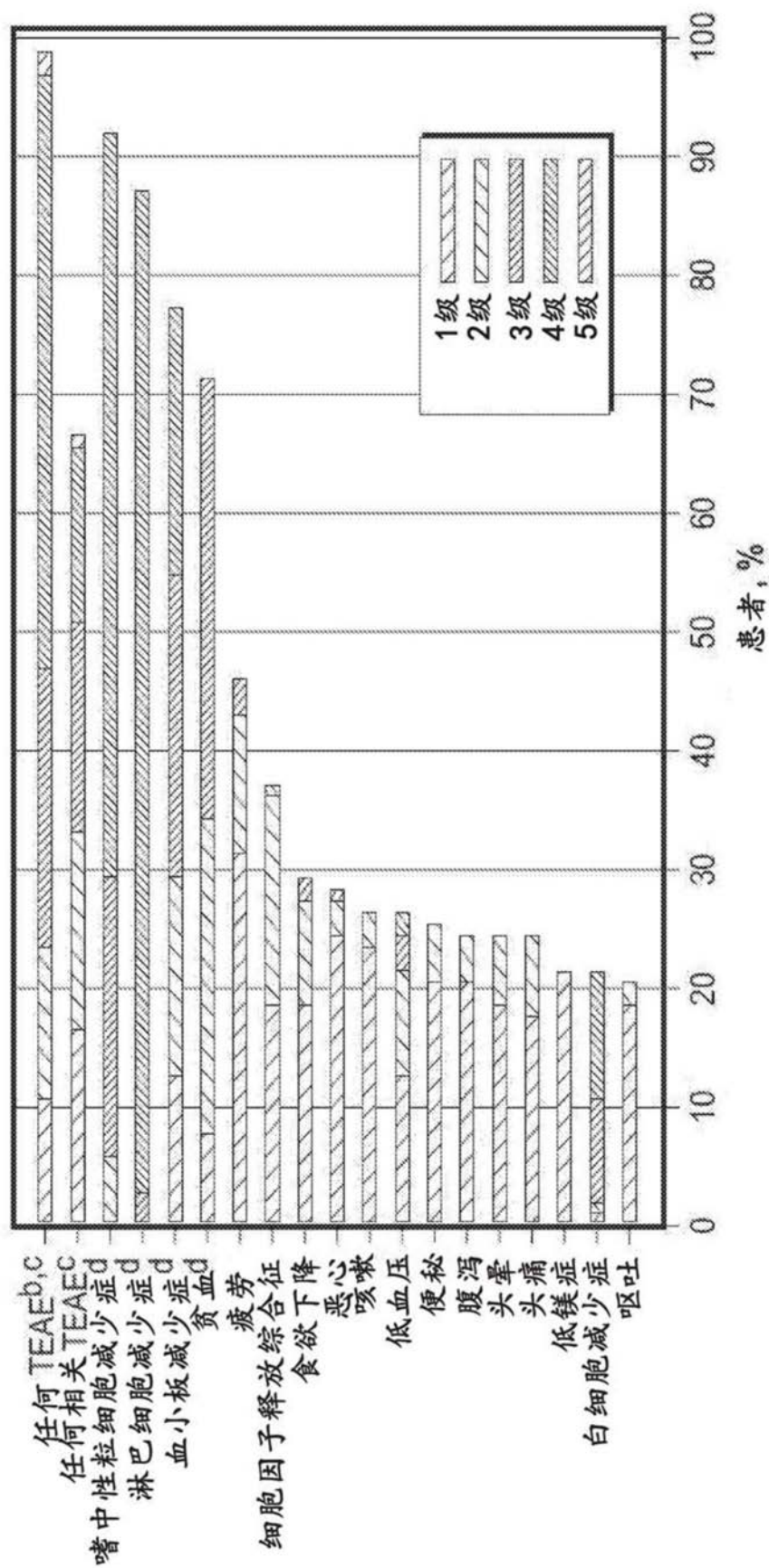


图28

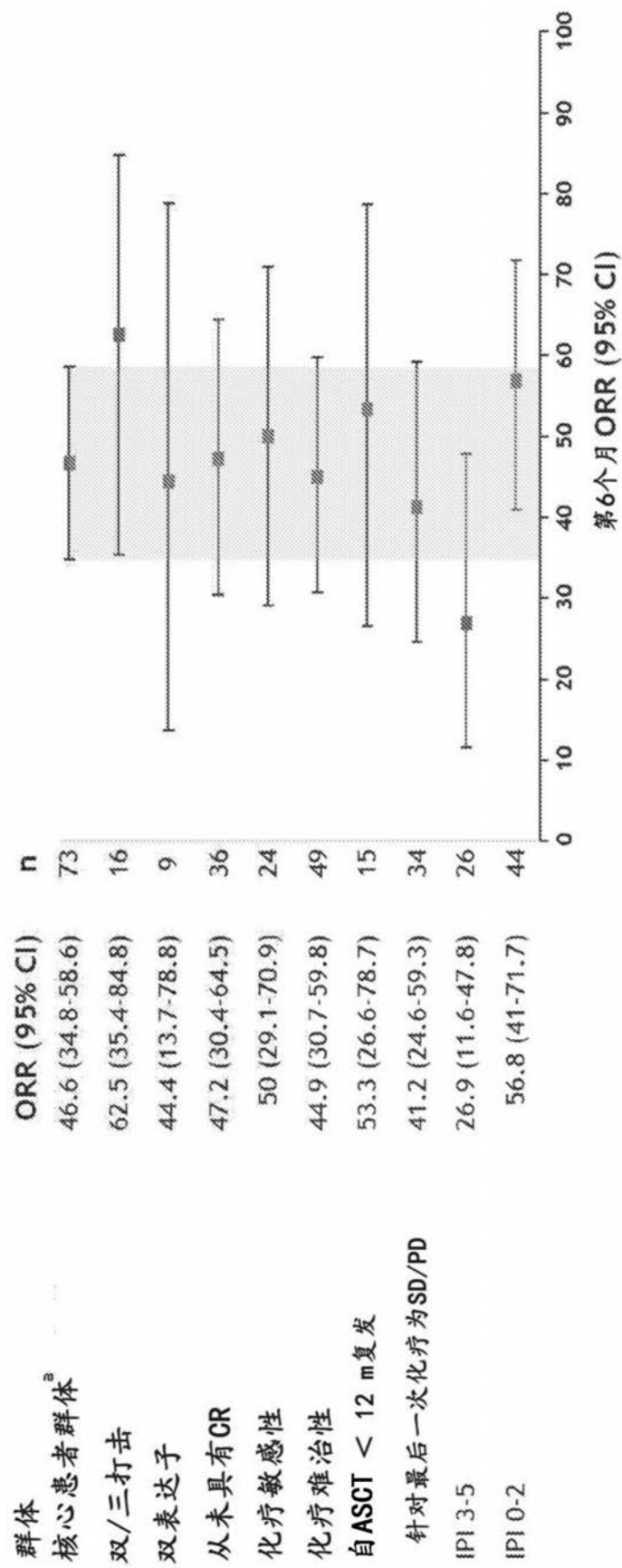


图29

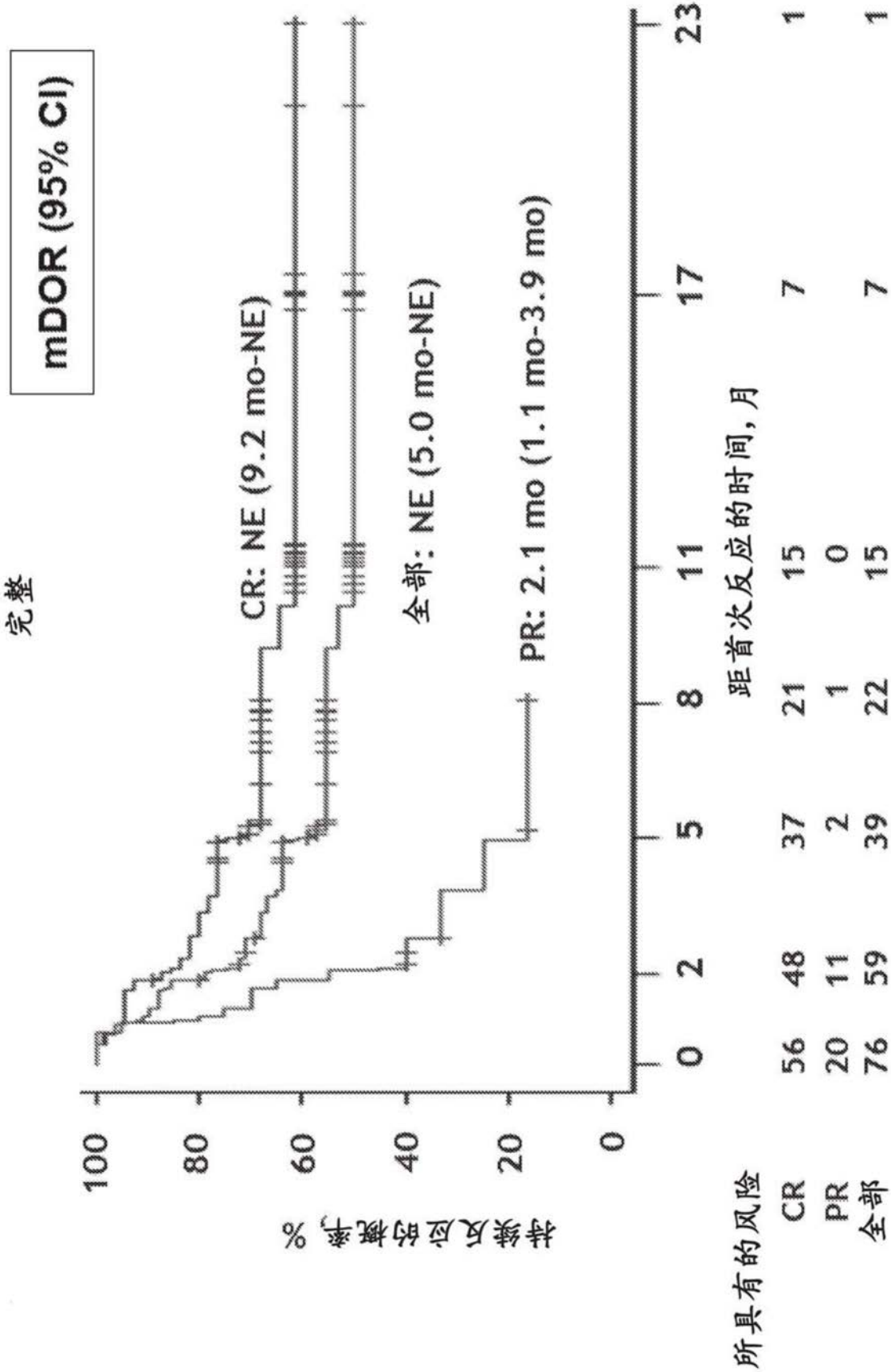


图30A

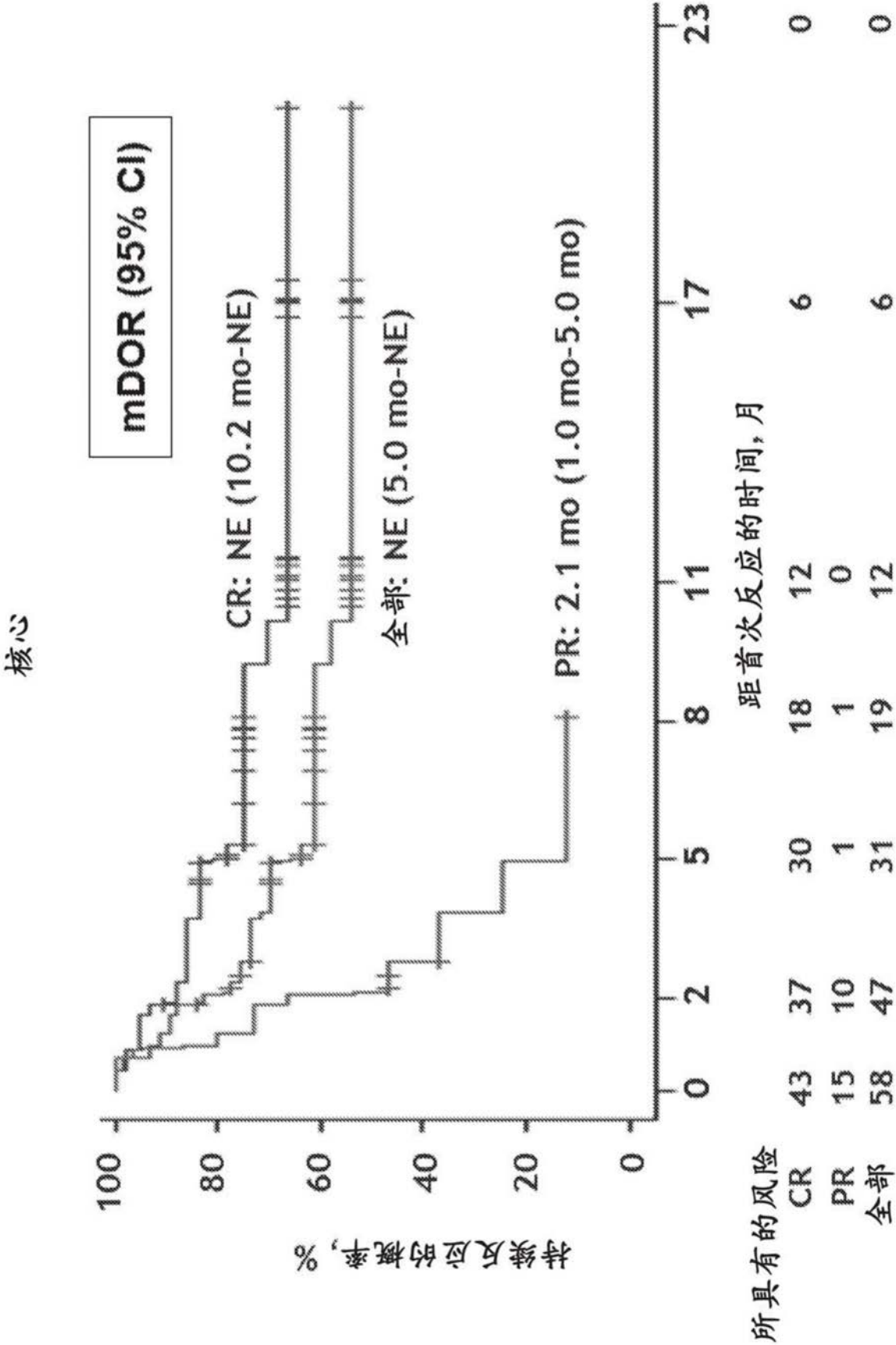


图30B

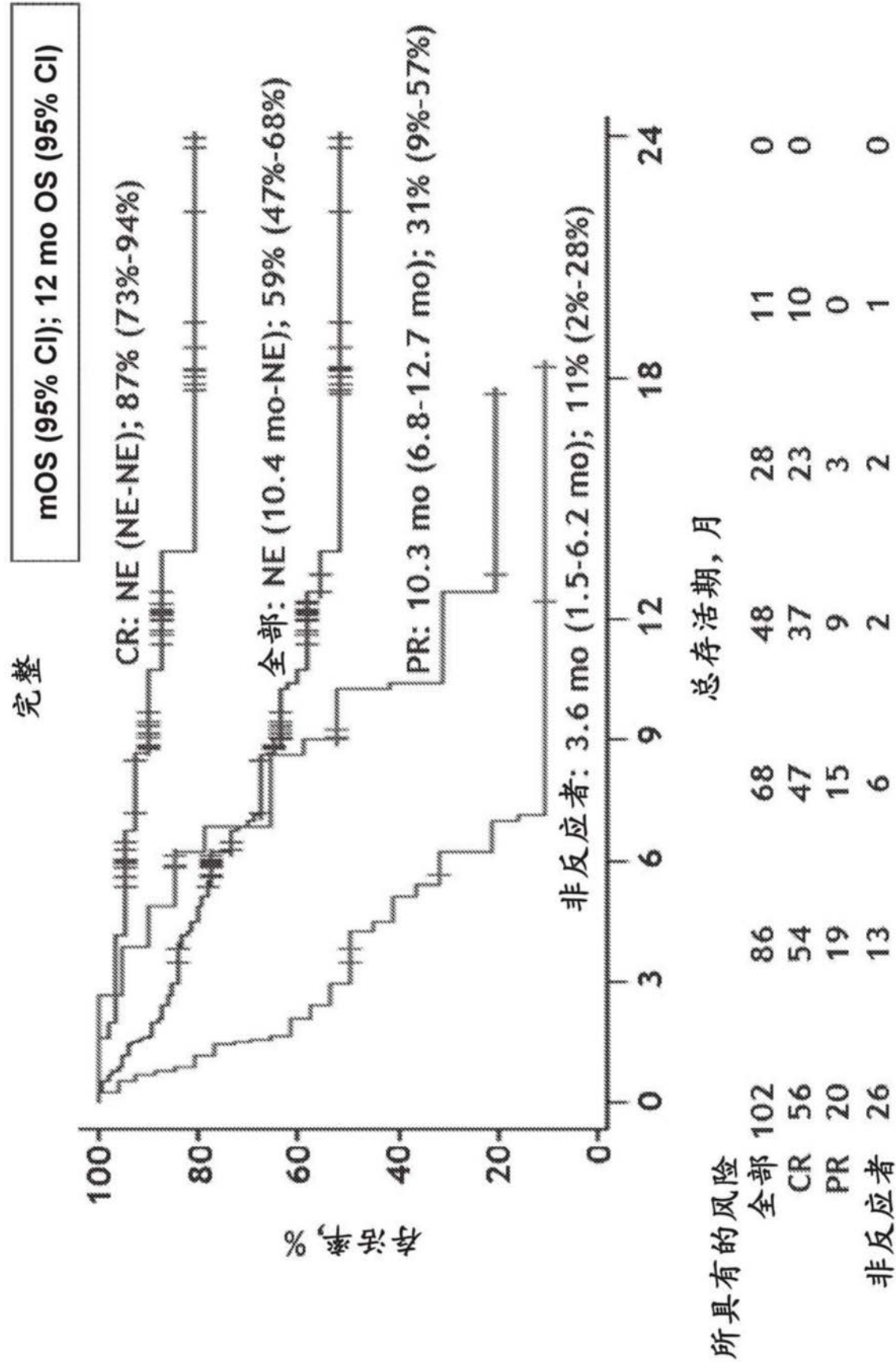


图30C

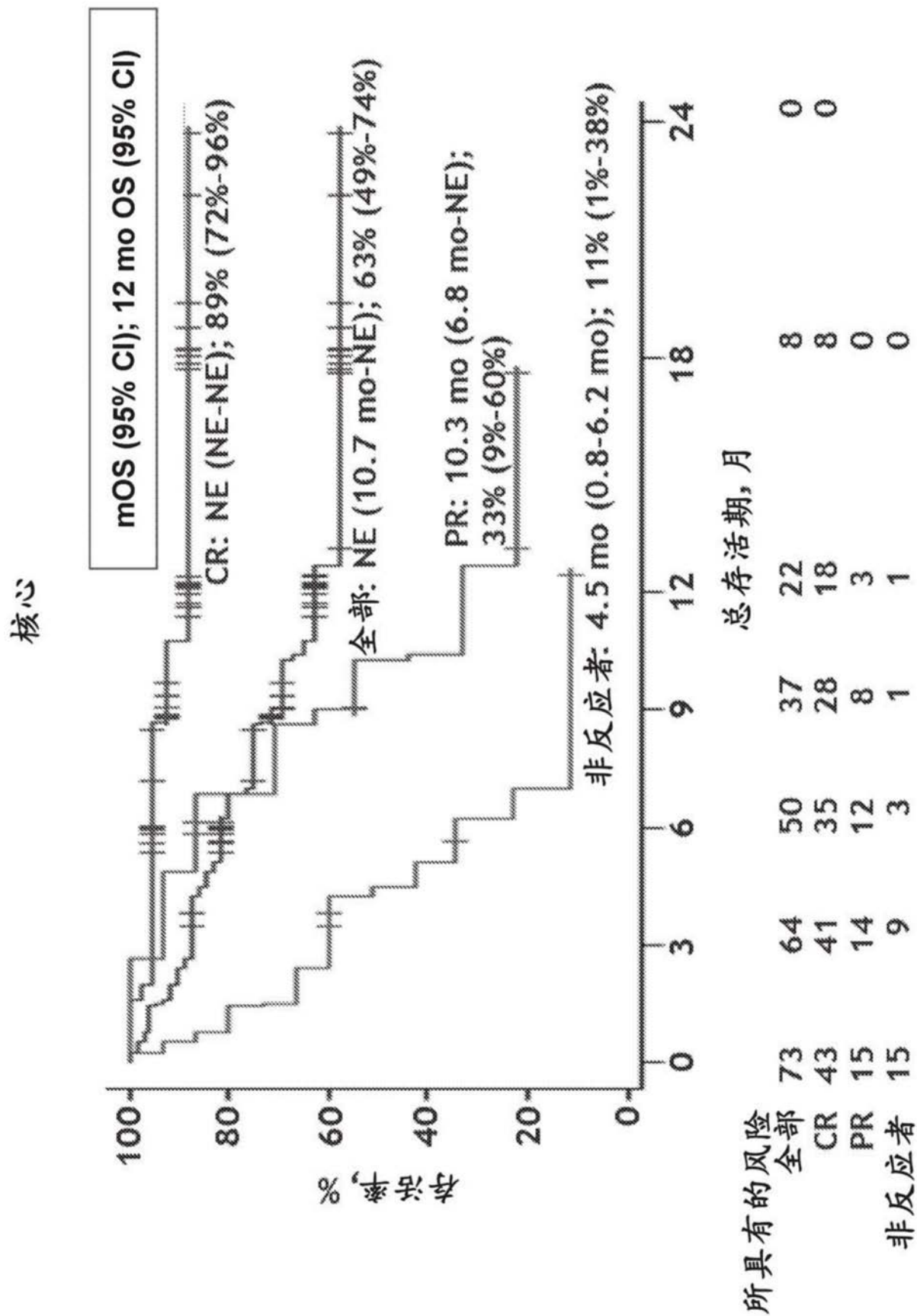


图30D

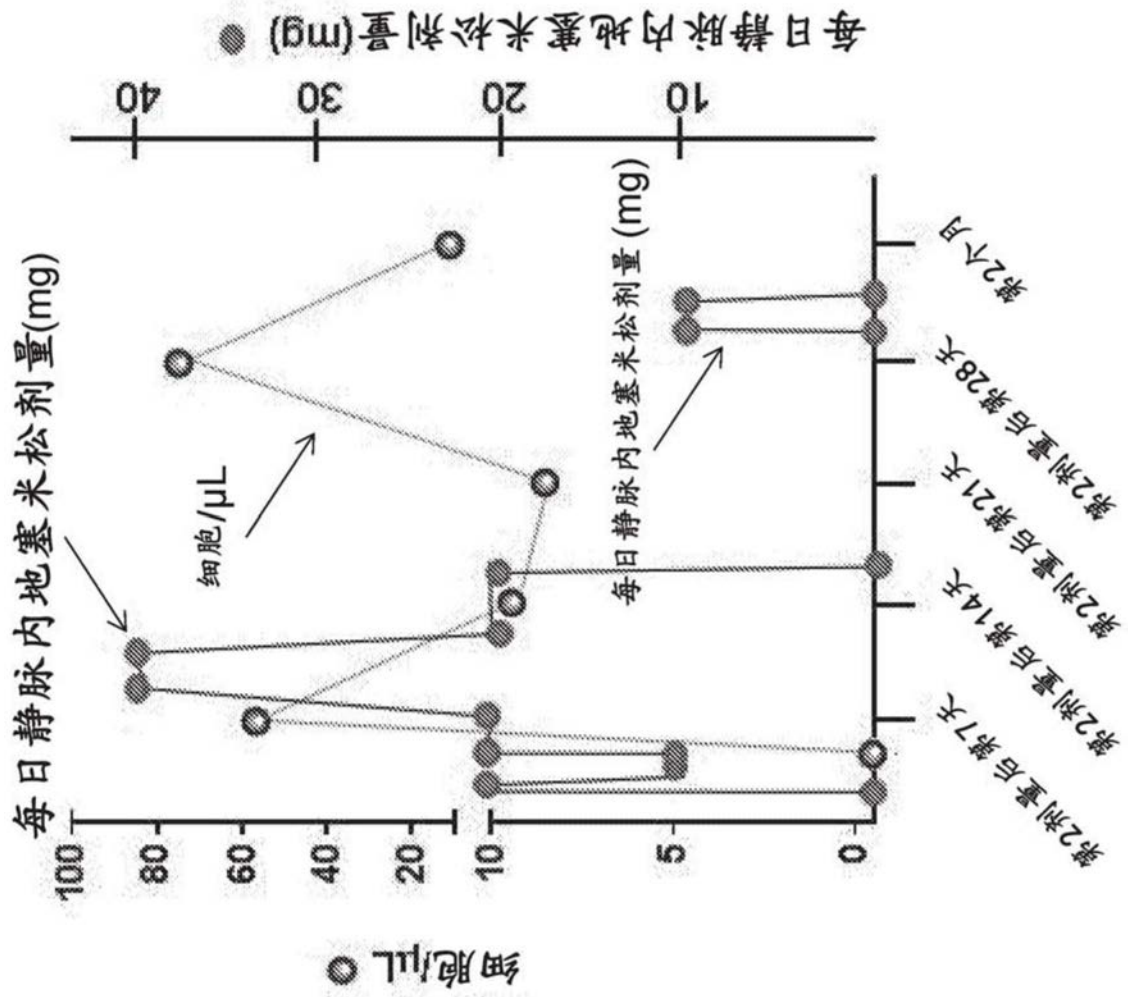


图31