(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 202191444 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.02.08

(22) Дата подачи заявки
2019.11.29

(51) Int. Cl. ***A61K 35/17*** (2015.01)
A61K 39/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ С ПРИМЕНЕНИЕМ АДОПТИВНОЙ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ

(31) **62/774,164; 62/776,415; 62/847,926; 62/854,945; 62/890,600; 62/931,204**
(32) **2018.11.30; 2018.12.06; 2019.05.14; 2019.05.30; 2019.08.22; 2019.11.05**
(33) **US**
(86) **PCT/US2019/063889**
(87) **WO 2020/113194 2020.06.04**
(88) **2020.07.23**

(71) Заявитель:
ДЖУНО ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Альбертсон Тина, Гарсия Джейкоб Рэндольф, Гилберт Марк, Ли Хе, Сазерлэнд Клэр, Треде Николаус Себастиан (US)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Представлена адоптивная клеточная терапия, включающая введение доз клеток для лечения субъектов с заболеванием и состоянием, таким как определенные злокачественные образования из В-клеток, и родственные способы, композиции, применения и готовые изделия. Клетки обычно экспрессируют рекомбинантные рецепторы, такие как химерные антигенные рецепторы (CAR). В некоторых вариантах осуществления заболеванием или состоянием является В-крупноклеточная лимфома, такая как диффузная В-крупноклеточная лимфома (DLBCL). Также представлены способы оценки риска развития токсичности, связанные с клеточной терапией и способами идентификации субъектов и способов лечения субъектов на основе оценки рисков.

202191444 A1

202191444 A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-569007EA/032

СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ С ПРИМЕНЕНИЕМ АДОПТИВНОЙ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ

Перекрестная ссылка на родственные заявки

По данной заявке испрашивается приоритет Предварительной заявки США № 62/774,164, поданной 30 ноября 2018, озаглавленной «METHODS FOR TREATMENT USING ADOPTIVE CELL THERAPY», Предварительной заявки США № 62/776,415, поданной 6 декабря 2018, озаглавленной «METHODS FOR TREATMENT USING ADOPTIVE CELL THERAPY», Предварительной заявки США № 62/847,926, поданной 14 мая 2019, озаглавленной «METHODS FOR TREATMENT USING ADOPTIVE CELL THERAPY», Предварительной заявки США № 62/854,945, поданной 30 мая 2019, озаглавленной «METHODS FOR TREATMENT USING ADOPTIVE CELL THERAPY», Предварительной заявки США № 62/890,600, поданной 22 августа 2019, озаглавленной «METHODS FOR TREATMENT USING ADOPTIVE CELL THERAPY», и Предварительной заявки США № 62/931,204, поданной 5 ноября 2019, озаглавленной «METHODS FOR TREATMENT USING ADOPTIVE CELL THERAPY» содержание которых включено посредством ссылки полностью.

Включение посредством ссылки списка последовательностей

Настоящая заявка подана со Списком последовательностей в электронном формате. Список последовательностей представлен в виде файла, озаглавленного 735042019640SeqList.txt, созданного 29 ноября 2019, который имеет размер 34,2 килобайта. Информация в электронном формате, относящаяся к Списку последовательностей, включена посредством ссылки полностью.

Область техники

Настоящее изобретение относится в некоторых аспектах к адоптивной клеточной терапии, включающей введение доз клеток для лечения субъектов с заболевание и состояниями, такими как определенные злокачественные образования из В-клеток, и родственным способам, композициям, применения и готовым изделиям. Клетки в общем экспрессируют рекомбинантные рецепторы, такие как химерные антигенные рецепторы (CAR). В некоторых вариантах осуществления, заболеванием или состоянием является В-крупноклеточная лимфома, такая как диффузная В-крупноклеточная лимфома (DLBCL). Также представлены способы оценки риска развития токсичности, связанной с клеточной терапией, и способы идентификации субъектов и способы лечения субъектов на основе оценки рисков.

Уровень техники

Разные способы иммунотерапии и/или клеточной терапии доступны для лечения заболеваний и состояний. Например, адоптивные клеточные терапии (включая такие, которые включают введение клеток, экспрессирующих химерные рецепторы, специфические к заболеванию или расстройству, представляющему интерес, такие как

химерные антигенные рецепторы (CAR) и/или другие рекомбинантные антигенные рецепторы, а также другие адоптивные иммунные клеточные и адоптивные Т-клеточные терапии) могут быть благоприятны для лечения рака или других заболеваний или расстройств. Необходимы улучшенные подходы. Представлены способы, применением и готовые изделия, которые отвечают этим нуждам.

Сущность

Представлены способы лечения субъекта, имеющего или подозревающегося в наличии заболевания или состояния рецидивирующей или рефрактерной В-крупноклеточной лимфомы (r/r LBCL). В некоторых из представленных вариантов осуществления, способ включает введение субъекту дозы $CD4^+$ и $CD8^+$ Т клеток, где Т клетки каждой дозы содержат химерный антигенный рецептор (CAR), который специфически связываются с CD19, где: доза Т клеток содержит от точно или примерно 1×10^7 CAR-экспрессирующих Т клеток до точно или примерно 2×10^8 CAR-экспрессирующих Т клеток, включительно; доза Т клеток имеет отношение приблизительно 1:1 $CD4^+$ Т клеток, экспрессирующих CAR, к $CD8^+$ Т клеткам, экспрессирующим CAR; и введение включает введение множества отдельных композиций, где множество отдельных композиций содержит первую композицию, содержащую $CD8^+$ Т клетки, и вторую композицию, содержащую $CD8^+$ Т клетки.

Также представлены способы лечения субъекта, имеющего или подозревающегося в наличии заболевания или состояния, где способ включает введение субъекту дозы $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток, где каждые из $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток, по отдельности, содержат рецептор, который специфически связывается с антигеном, например, антигеном-мишенью, экспрессированным заболеванием или состоянием или его клеткой или тканью и/или который ассоциируется с заболеванием или состоянием, где введение включает введение множества отдельных композиций, где множество отдельных композиций содержит первую композицию, содержащую $CD8^+$ Т-клетки и вторую композицию, содержащую $CD4^+$ Т-клетки.

Также представлены способы лечения субъекта, имеющего или подозревающегося в наличии заболевания или состояния, которое является злокачественным образованием из В-клеток, где способ включает введение субъекту дозы $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток, где Т клетки каждой дозы содержит рекомбинантный рецептор, который специфически связывается с антигеном, например, антигеном-мишенью, экспрессированным заболеванием или состоянием или его клеткой или тканью и/или который ассоциирован с заболеванием или состоянием, где введение включает введение множества отдельных композиций, где множество отдельных композиций содержит первую композицию, содержащую $CD8^+$ Т-клетки и вторую композицию, содержащую $CD4^+$ Т-клетки.

Также представлены способы лечения субъекта, имеющего или подозревающегося в наличии заболевания или состояния, которым является В-крупноклеточная лимфома, где способ включает введение субъекту дозы $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток, где Т-клетки каждой дозы содержат рекомбинантный рецептор, который специфически связывается с антигеном,

например, антигеном-мишенью, экспрессированным заболеванием или состоянием или его клеткой или тканью и/или который ассоциирован с заболеванием или состоянием, где введение включает введение множества отдельных композиций, множество отдельных композиций содержит первую композицию, содержащую $CD8^+$ Т-клетки и вторую композицию, содержащую $CD4^+$ Т-клетки.

В настоящем документе представлены способы лечения субъекта, имеющего или подозревающегося в наличии заболевания или состояния, которым является неходжкинская лимфома (NHL) или В-крупноклеточная лимфома, способ включает введение субъекту дозы Т клеток, содержащей Т клетки, экспрессирующие химерный антигенный рецептор (CAR), который специфически связывается с антигеном, например, антигеном-мишенью, экспрессированным NHL или В-крупноклеточной лимфомой, где: доза Т клеток содержит от точно или примерно 1×10^7 CAR-экспрессирующих Т клеток до точно или примерно 2×10^8 CAR-экспрессирующих Т клеток, включительно; и доза Т клеток содержит $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клетки, где каждые из $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток, по отдельности, содержат рецептор, который специфически связывается с антигеном, например, антигеном-мишенью, экспрессированным заболеванием или состоянием или его клеткой или тканью, и/или который ассоциирован с заболеванием или состоянием, где введение включает введение множества отдельных композиций, где множество отдельных композиций содержит первую композицию, содержащую $CD8^+$ Т-клетки и вторую композицию, содержащую $CD4^+$ Т-клетки.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, доза Т клеток содержит определенное отношение $CD4^+$ клеток, экспресиирующих CAR к $CD8^+$ клеткам, экспрессирующим CAR и/или $CD4^+$ клеток к $CD8^+$ клеткам, где отношение составляет приблизительно 1:1 или составляет от приблизительно 1:3 до приблизительно 3:1.

В настоящем документе представлены способы лечения субъекта, имеющего заболевание или состояние, которым является неходжкинская лимфома (NHL) или В-крупноклеточная лимфома, способы включают введение субъекту дозы Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный антигенный рецептор (CAR), который специфически связывается с антигеном, например, антигеном-мишенью, экспрессированным NHL или В-крупноклеточной лимфомой, где доза Т клеток содержит определенное отношение $CD4^+$ клеток, экспрессирующих CAR к $CD8^+$ клеткам, экспрессирующим CAR и/или $CD4^+$ клеток к $CD8^+$ клеткам, где отношение составляет приблизительно или составляет 1:1, где введение включает введение множества отдельных композиций, множество отдельных композиций содержит первую композицию, содержащую $CD8^+$ Т-клетки и вторую композицию, содержащую $CD4^+$ Т-клетки.

Также представлены в настоящем документе способы лечения субъекта, имеющего заболевание или состояние, которым является неходжкинская лимфома (NHL) или В-крупноклеточная лимфома, включающих введение субъекту дозы Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный антигенный рецептор (CAR), который специфически связывается с антигеном, например, антигеном-мишенью, экспрессированным NHL или В-

крупноклеточной лимфомой, где: доза Т клеток содержит от точно или примерно 5×10^7 экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т клеток до точно или примерно $1,5\times10^8$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т клеток, включительно, где указанная доза содержит определенное отношение $CD4^+$ клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор к $CD8^+$ клеткам, экспрессирующим рекомбинантный рецептор и/или $CD4^+$ клеток к $CD8^+$ клеткам, где отношение составляет приблизительно или составляет 1:1; и способ дает (1) полный ответ (CR) у, по меньшей мере, 35%, по меньшей мере, 40% или, по меньшей мере, 50% подвергутых лечению субъектов и/или объективный ответ (OR) у, по меньшей мере, 50%, по меньшей мере, 60% или, по меньшей мере, 70% подвергутых лечению субъектов и (2) дает не более 50% субъектов, демонстрирующих синдром выделения цитокина (CRS) выше, чем степень 2 и/или нейротоксичность выше, чем степень 2, где введение включает введение множества отдельных композиций, где множество отдельных композиций содержит первую композицию, содержащую $CD8^+$ Т-клетки и вторую композицию, содержащую $CD4^+$ Т-клетки.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, способ включает введение субъекту, который имеет заболевание или состояние, которым является лимфома, дозу Т клеток, содержащих Т клетки, экспрессирующие химерный антигенный рецептор (CAR), который специфически связывается с антигеном, например, антигеном-мишенью, экспрессированным лимфомой, где лимфома у субъекта ассоциирована с или включает вовлечение центральной нервной системы (ЦНС); и доза Т клеток содержит $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клетки, где Т-клетки каждой дозы содержат рецептор, который специфически связывается с антигеном, например, антигеном-мишенью, экспрессированным заболеванием или состоянием или его клеткой или тканью и/или который ассоциирован с заболеванием или состоянием, где введение включает введение множества отдельных композиций, где множество отдельных композиций содержит первую композицию, содержащую $CD4^+$ Т-клетки и вторую композицию, содержащую $CD8^+$ Т-клетки. В некоторых из представленных вариантов осуществления, во время или до введения дозы клеток, субъект имеет поражение головного мозга, такое как поражение височной доли головного мозга. В некоторых из таких вариантов осуществления, лимфома является злокачественным образованием из В-клеток. В некоторых из таких вариантов осуществления, лимфомой является неходжкинская лимфома (NHL) или В-крупноклеточная лимфома.

В настоящем документе представлен способ лечения, включающий (a) выбор субъекта, который имеет фолликулярную лимфому (FL) для лечения; (b) введение субъекту дозы Т клеток, содержащей Т клетки, экспрессирующие рекомбинантный рецептор, который специфически связывается с антигеном, например, антигеном-мишенью, экспрессированным FL или ее клеткой или тканью и/или который ассоциирован с FL.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, В-крупноклеточная лимфома выбрана из агрессивной неходжкинской лифомы (NHL), диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL), необязательно NOS (de novo или

трансформированной из вялотекущей), В-клеточной лимфомы высокой степени злокачественности (HGBCL), двойной/тройной лимфомы, первичной В-крупноклеточной лимфомы средостения (PMBCL), мантийноклеточной лимфомы (MCL), трансформированной фолликулярной лимфомы (tFL), и/или фолликулярной лимфомы (FL), необязательно, фолликулярной лимфомы степени 3В (FL3B). В некоторых из любых вариантов осуществления, В-крупноклеточной лимфомой является диффузная В-крупноклеточная лимфома (DLBCL). В некоторых из любых вариантов осуществления, DLBCL является DLBCL NOS, de novo DLBCL или DLBCL трансформированной из вялотекущей лимфомы. В некоторых из любых вариантов осуществления, DLBCL является de novo DLBCL. В некоторых из любых вариантов осуществления, DLBCL является DLBCL трансформированной из вялотекущих лимфом, отличных от FL. В некоторых из любых вариантов осуществления, DLBCL является DLBCL трансформированной из лимфомы маргинальной зоны (tMZL) или DLBCL трансформированной из хронического лимфоцитарного лейкоза (tCLL; Рихтер). В некоторых из любых вариантов осуществления, В-крупноклеточная лимфома является В-клеточной лимфомой высокой степени злокачественности (HGBCL). В некоторых из любых вариантов осуществления, HGBCL имеет MYC и BCL2 и/или BCL6 перестройки. В некоторых из любых вариантов осуществления, HGBCL имеет DLBCL гистологию. В некоторых из любых вариантов осуществления, В-крупноклеточная лимфома является двойной/тройной лимфомой. В некоторых из любых вариантов осуществления, В-крупноклеточная лимфома является первичной В-клеточной лимфомой стредостения (PMBCL). В некоторых из любых вариантов осуществления, В-крупноклеточная лимфома является мантийноклеточной лимфомой (MCL). В некоторых из любых вариантов осуществления, В-крупноклеточная лимфома не является первичной лимфомой центральной нервной системы (PCNSL). В некоторых из любых вариантов осуществления, В-крупноклеточная лимфома является трансформированной фолликулярной лимфомой (tFL). В некоторых из любых вариантов осуществления, В-крупноклеточная лимфома является фолликулярной лимфомой (FL). В некоторых из любых вариантов осуществления, FL ассоциирована с коэкспрессией CD10, BCL6 и BCL2 в фолликулах, и/или t(14;18)/(q32;q21)(IGH-BCL2) и/или BCL6 перестройками. В некоторых из любых вариантов осуществления, В-крупноклеточная лимфома является фолликулярной лимфомой степени 3В (FL3B).

В некоторых из любых вариантов осуществления, доза Т клеток обогащена $CD3^+$ Т клетками, $CD4^+$ Т клетками, $CD8^+$ Т клетками или $CD4^+$ Т клетками и $CD8^+$ Т клетками. В некоторых из любых вариантов осуществления, более чем точно или примерно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 98% клеток в дозе Т клеток являются $CD3^+$ Т клетками, $CD4^+$ Т клетками, $CD8^+$ Т клетками или $CD4^+$ Т клетками и $CD8^+$ Т клетками. В некоторых из любых вариантов осуществления, доза Т клеток содержит определенное отношение $CD4^+$ клеток, экспрессирующих рецептор к $CD8^+$ клеткам, экспрессирующим рецептор и/или $CD4^+$ Т клеток к $CD8^+$ Т клеткам, где отношение составляет приблизительно 1:1 или составляет от приблизительно 1:3 до приблизительно 3:1. В некоторых из любых вариантов

осуществления, определенное отношение составляет или составляет приблизительно 1:1. В некоторых из любых вариантов осуществления, доза Т клеток содержит дозу $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток, где Т-клетки каждой дозы содержат рекомбинантный рецептор, который специфически связывается с антигеном, например, антигеном-мишенью, экспрессированным FL или его клеткой или тканью и/или который ассоциирован с FL, где введение включает введение множества отдельных композиций, множество отдельных композиций содержит первую композицию, содержащую $CD8^+$ Т-клетки и вторую композицию, содержащую $CD4^+$ Т-клетки.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, первую композицию начинают вводить до начала введения второй композиции. В некоторых из представленных вариантов осуществления, введение первой композиции и введение второй композиции осуществляют с разницей не более 48 часов. В некоторых из представленных вариантов осуществления, введение первой композиции и введение второй композиции осуществляют с разницей не более 36 часов, не более 24 часов, не более 12 часов, не более 6 часов, не более 4 часов, не более 2 часов, не более 1 часа или не более 30 минут. В некоторых из представленных вариантов осуществления, введение первой композиции и введение второй композиции осуществляют с разницей от точно или примерно 0 до точно или примерно 48 часов, от точно или примерно 0 до точно или примерно 36 часов, от точно или примерно 0 до точно или примерно 24 часов, от точно или примерно 0 до точно или примерно 12 часов, от точно или примерно 0 до точно или примерно 6 часов, от точно или примерно 0 до точно или примерно 2 часов, от точно или примерно 0 до точно или примерно 1 часов, от точно или примерно 0 до точно или примерно 30 минут, от точно или примерно 30 минут до точно или примерно 48 часов, от точно или примерно 30 минут до точно или примерно 36 часов, от точно или примерно 30 минут до точно или примерно 24 часов, от точно или примерно 30 минут до точно или примерно 12 часов, от точно или примерно 30 минут до точно или примерно 6 часов, от точно или примерно 30 минут до точно или примерно 4 часов, от точно или примерно 30 минут до точно или примерно 2 часов, от точно или примерно 30 минут до точно или примерно 1 часа, от точно или примерно 1 часов до точно или примерно 48 часов, от точно или примерно 1 часа до точно или примерно 36.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, введение первой композиции и введение второй композиции осуществляют в тот же день, осуществляют с разницей от примерно 0 до примерно 12 часов, от примерно 0 до примерно 6 часов или от примерно 0 до 2 часов; или начало введения первой композиции, и начало введения второй композиции осуществляют с разницей от примерно 1 минуты до примерно 1 часа или от примерно 5 минут до примерно 30 минут. В некоторых из представленных вариантов осуществления, первую композицию и вторую композицию вводят с разницей не более 2 часов, не более 1 часа, не более 30 минут, не более 15 минут, не более 10 минут или не более 5 минут.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, рецептор, содержащийся $CD4^+$ Т-клетками и/или рецептор, содержащийся $CD8^+$ Т-клетками включает

рекомбинантный рецептор, который является одним и тем же и/или где $CD4^+$ Т-клетки и/или $CD8^+$ Т-клетки генетически сконструированы для экспрессии рекомбинантного рецептора, который является одним и тем же.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит определенное отношение $CD4^+$ клеток экспрессирующих рекомбинантный рецептор к $CD8^+$ клеткам, экспрессирующим рекомбинантный рецептор и/или $CD4^+$ клеток к $CD8^+$ клеткам, которое составляет или составляет приблизительно 1:1 или составляет от приблизительно 1:3 до приблизительно 3:1; и/или $CD4^+$ Т-клетки, содержащие рецептор в одной из первой и второй композиций и $CD8^+$ Т-клетки, содержащие рецептор в другой из первой и второй композиций присутствуют в определенном отношении, которое составляет или составляет приблизительно 1:1 или составляет от приблизительно 1:3 до приблизительно 3:1; и/или $CD4^+$ Т-клетки, содержащие рецептор и $CD8^+$ Т-клетки, содержащие рецептор, вводимые в первой и второй композициях присутствуют в определенном отношении, где отношение составляет или составляет приблизительно 1:1 или составляет от приблизительно 1:3 до приблизительно 3:1. В некоторых из представленных вариантов осуществления, определенное отношение составляет или составляет приблизительно 1:1.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит: от точно или примерно 1×10^7 до точно или примерно 2×10^8 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т клеток, включительно; от точно или примерно $2{,}5\times10^7$ до точно или примерно $1{,}5\times10^8$ всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток, включительно; от точно или примерно 5×10^7 до точно или примерно 1×10^8 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток, включительно; точно или примерно 5×10^7 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток; точно или примерно 1×10^8 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток; или точно или примерно $1{,}5\times10^8$ всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток. В некоторых из таких вариантов осуществления, доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит точно или примерно 5×10^7 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток. В некоторых из таких вариантов осуществления, доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит точно или примерно 1×10^8 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток. В некоторых из таких вариантов осуществления, доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит точно или примерно $1{,}5\times10^8$ всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит: от точно или примерно 1×10^7 до точно или примерно 1×10^8 экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток, включительно; от точно или примерно $1{,}25\times10^7$ до точно или примерно $7{,}5\times10^7$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток, включительно; от точно или примерно $2{,}5\times10^7$ до точно или примерно 5×10^7 экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток, включительно; точно или примерно $2{,}5\times10^7$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток; точно или примерно 5×10^7 экспрессирующих рекомбинантный рецептор

$CD8^+$ Т-клеток; или точно или примерно $7,5\times10^7$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток. В некоторых из таких вариантов осуществления, доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит точно или примерно $2,5\times10^7$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток. В некоторых из таких вариантов осуществления, доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит точно или примерно 5×10^7 экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток. В некоторых из таких вариантов осуществления, доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит точно или примерно $7,5\times10^7$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, рекомбинантный рецептор специфически связывается с антигеном, ассоциированным с заболеванием или состоянием или экспрессируется в окружающей среде поражения, ассоциированного с заболеванием или состоянием.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, заболеванием или состоянием является рак. В некоторых из таких вариантов осуществления, заболевание или состояние является злокачественным образованием из В-клеток. В некоторых из таких вариантов осуществления, заболевание или состояние является миеломой, лейкозом или лимфомой. В некоторых из представленных вариантов осуществления, заболевание или состояние является злокачественным образованием из В-клеток и/или является острым лимфобластным лейкозом (ALL), ALL взрослых, хроническим лимфобластным лейкозом (CLL), неходжкинской лимфомой (NHL) или В-крупноклеточной лимфомой. В некоторых из представленных вариантов осуществления, заболевание или состояние является В-крупноклеточной лимфомой. В некоторых из представленных вариантов осуществления, заболеванием или состоянием, таким как В-крупноклеточная лимфома, является диффузная В-крупноклеточная лимфома (DLBCL). В некоторых из представленных вариантов осуществления, DLBCL является DLBCL, не определенной иным образом (NOS), de novo DLBCL или DLBCL трансформированной из вялотекущей лимфомы. В некоторых из представленных вариантов осуществления, DLBCL является de novo DLBCL. В некоторых из представленных вариантов осуществления, DLBCL является DLBCL, трансформированной из фолликулярной лимфомы (tFL). В некоторых из представленных вариантов осуществления, DLBCL является DLBCL, трансформированной из лимфомы маргинальной зоны (tMZL) или DLBCL, трансформированной из хронического лимфоцитарного лейкоза (tCLL; Рихтер). В некоторых из представленных вариантов осуществления, заболевание или состояние является первичной В-клеточной лимфомой стредостения (PMBCL) или фолликулярной лимфомой (FL), такой как фолликулярная лимфома степени 3B (FL3B). В некоторых из любых вариантов осуществления, заболевание или состояние является фолликулярной лимфомой (FL). В некоторых из представленных вариантов осуществления, NHL или В-крупноклеточная лимфома выбрана из группы, состоящей из агрессивной NHL, диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL), NOS (de novo или трансформированной из вялотекущей), первичной В-крупноклеточной лимфомы средостения (PMBCL), мантийноклеточной лимфомы (MCL) и/или

фолликулярной лимфомы (FL), такой как фолликулярная лимфома степени 3B (FL3B). В некоторых из любых вариантов осуществления, заболевание или состояние является фолликулярной лимфомой (FL). В некоторых из любых вариантов осуществления, где FL ассоциирована с коэкспрессией CD10, BCL6 и BCL2 в фолликулах, и/или BCL2 и/или BCL6 перестройкой. В некоторых из любых вариантов осуществления, заболевание или состояние является мантийноклеточной лимфомой (MCL).

В некоторых из таких вариантов осуществления, антигеном-мишенью является B клеточный антиген. В некоторых из представленных вариантов осуществления, антиген является CD19.

В некоторых из любых вариантов осуществления, в момент или непосредственно перед введением дозы клеток, субъект имеет рецидив после ремиссии после лечения, или является рефрактерным к двум, трем, четырем или более терапиям заболевания или состояния, отличным т другой дозы клеток, экспрессирующих CAR.

В некоторых из любых вариантов осуществления, предшествующая терапия включает антрациклин и CD20-таргетный агент. В некоторых из любых вариантов осуществления, один или несколько CD20-таргетных агентов содержат ритуксимаб. В некоторых из любых вариантов осуществления, один или несколько CD20-таргетных агентов содержит R-CHOP (ритуксимаб, циклофосфамид, доксорубицин гидрохлорид (гилроксидауномицин), винкристин сульфат (онковин) и преднизон).

В некоторых из любых вариантов осуществления, предшествующая терапия включает трансплантацию аллогенных или аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (HSCT). В некоторых из любых вариантов осуществления, субъект имеет рецидив через 1 год или менее чем через 1 год после получения HSCT.

В некоторых из любых вариантов осуществления, субъект не достигает полной ремиссии (CR) в ответ на предшествующую терапию.

В некоторых из любых вариантов осуществления, в момент или до введения дозы клеток, субъект идентифицирован как имеющий агрессивное заболевание или высокий риск заболевания или плохой прогноз.

В некоторых из любых вариантов осуществления, в момент или до введения дозы клеток, субъект идентифицирован как имеющий химиорефрактерное заболеваний или имеющий трудноизлечимое или рецидивирующее заболевание после химиотерапии. В некоторых из любых вариантов осуществления, в момент или до введения дозы клеток, субъект идентифицирован как имеющий химиорефрактерную лимфому, необязательно химиорефрактерную DLBCL.

В некоторых из любых вариантов осуществления, в момент или до введения дозы клеток, субъект идентифицирован как имеющий а лимфому, ассоциированную с или включающую вовлечение центральной нервной системы (ЦНС) или вторичную лимфому ЦНС. В некоторых из любых вариантов осуществления: в момент или до введения дозы клеток, субъект имеет или идентифицирован как имеющий лимфому, ассоциированную с или включающую вовлечение центральной нервной системы (ЦНС) или вторичную ЦНС

лимфому; и/или, по меньшей мере, 70%, по меньшей мере, 80%, по меньшей мере, 90% или, по меньшей мере, 95% подвергутых лечению субъектов согласно способу, которые, в момент или до введения дозы клеток демонстрируют или идентифицированы как демонстрирующие лимфому с вовлечением ЦНС или вторичную лимфому ЦНС, достигли излечения заболевания ЦНС.

В некоторых из любых вариантов осуществления, субъект имеет возраст 65 лет или старше. В некоторых из любых вариантов осуществления, среди подвергутых лечению субъектов, более чем точно или примерно 35%, более чем точно или примерно 40%, более чем точно или примерно 45% или более чем точно или примерно 50%, или любое значение в пределах вышеперечисленных, имеют возраст 65 лет или старше. В некоторых из любых вариантов осуществления, субъект имеет возраст 70 лет или старше.

В некоторых из любых вариантов осуществления, в момент или до введения дозы клеток, субъект имеет или идентифицирован как имеющий ухудшенную сердечную функцию, необязательно с фракцией выброса левого желудочка (LVEF) менее чем точно или примерно 50%. В некоторых из любых вариантов осуществления, в момент или до введения дозы клеток, субъект имеет или идентифицирован как имеющий ухудшенную почечную функцию, необязательно с расчетным клиренсом креатинина менее чем точно или примерно 60 мл/мин. В некоторых из любых вариантов осуществления, в момент или до введения дозы клеток, субъект имеет или идентифицирован как имеющий ухудшенную легочную функцию, необязательно с диффузионной способностью легких по монооксиду углерода (DLCO) точно или примерно 60% или менее. В некоторых из любых вариантов осуществления, в момент или до введения дозы клеток, субъект имеет или идентифицирован как имеющий ухудшенную печеночную функцию, необязательно с аспартатаминотрансферазой (AST) и аланинаминотрансферазой (ALT) более чем точно или примерно в два раза превышающей предел нормы (ULN).

В некоторых из любых вариантов осуществления, в момент или до введения дозы клеток, субъект получает переходную терапию между временем лейкафереза для получения дозы $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток и введением дозы $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток. В некоторых из любых вариантов осуществления, в момент или до введения дозы клеток, субъект получает переходную терапию для контроля заболевания после предшествующей терапии. В некоторых из любых вариантов осуществления, переходная терапия выбрана из одного или нескольких из: Ритуксимаб-гемцитабин плюс оксалиплатин, Дексаметазон, радиотерапия, Ритуксимаб, Преднизон, BR, Леналидомид, гемцитабин плюс оксалиплатин, Брентуксимаб ведотин, Ибрутиниб, Бендамустин и/или Гемцитабин+ритуксимаб.

В некоторых из любых вариантов осуществления, субъект имеет или идентифицирован как имеющий статус Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status (ECOG PS) 0, 1 или 2. В некоторых из любых вариантов осуществления, субъект имеет или идентифицирован как имеющий статус Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status (ECOG PS) 0 или 1. В некоторых из любых вариантов осуществления, субъект имеет или идентифицирован как имеющий статус Eastern Cooperative Oncology

Group Performance Status (ECOG PS) 2.

В некоторых из любых вариантов осуществления, до введения дозы клеток, субъект имеет или идентифицирован как имеющий а сумму произведений измерений (SPD) опухоли у субъекта, составляющую точно или примерно 50 $см^2$ или больше.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, рекомбинантным рецептором является химерный антигенный рецептор (CAR). В некоторых из представленных вариантов осуществления, CAR содержит внеклеточный антигенраспознающий домен, который специфически связывается с антигеном и внутриклеточным сигнальным доменом, содержащим CD3-дзета (CD3ζ) цепь, и костимулирующей сигнальной областью, которая является сигнальным доменом CD28 или 4-1BB.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, Т клетками являются первичные Т клетки, полученные у субъекта. В некоторых из представленных вариантов осуществления, Т клетки являются аутологичными субъекту.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, по меньшей мере, 40%, по меньшей мере, 50%, по меньшей мере, 60%, по меньшей мере, 70% субъектов, которые, в момент или до введения дозы клеток имели или были идентифицированы как имеющие двойную/тройную лимфому или рецидив после трансплантации аутологичных стволовых клеток (ASCT), достигли OR или OR, который является устойчивым в течение или более 3 месяцев или в течение или более 6 месяцев.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, по меньшей мере, 35%, по меньшей мере, 40% или, по меньшей мере, 50% подвергутых лечению субъектов согласно способу достигли полного ответа (CR): по меньшей мере, 60%, 70%, 80%, 90% или 95% субъектов достигших CR, демонстрируют CR, который является устойчивым в течение или более чем 3 месяцев или в течение или более чем 6 месяцев; и/или, по меньшей мере, 60%, 70%, 80%, 90% или 95% субъектов, достигших CR, в течение одного месяца и/или 3 месяцев сохраняют ответ, сохраняют CR, и/или выживают или выживают без прогрессирования, в течение или более чем 3 месяцев и/или в течение или более чем 6 месяцев и/или в течение более 9 месяцев после достижения CR; и/или, по меньшей мере, 50%, по меньшей мере, 60% или, по меньшей мере, 70% субъектов, подвергутых лечению способом, достигли объективного ответа (OR); по меньшей мере, 60%, 70%, 80%, 90% или 95% субъектов, достигших OR, демонстрируют OR, который является устойчивым в течение или более чем 3 месяцев или в течение или более чем 6 месяцев; и/или, по меньшей мере, 35%, по меньшей мере, 40% или, по меньшей мере, 50% субъектов, достигших OR, сохраняют ответ или выживают в течение или более чем 3 месяцев и/или в течение или более чем 6 месяцев после достижения OR; и/или, по меньшей мере, 40%, по меньшей мере, 50%, по меньшей мере, 60%, по меньшей мере, 70% субъектов, которые, в момент или до введения дозы клеток, имели или были идентифицированы как имеющие двойную/тройную лимфому или рецидив, после введения трансплантации аутологичных стволовых клеток (ASCT), достигли OR или OR, который является устойчивым в течение или более чем 3

месяцев или в течение или более чем 6 месяцев.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, клетки являются аутологичными субъекту, и никакого минимального абсолютного содержания лимфоцитов (ALC) для афереза требуется и/или определено для получения терапии; и/или клетки получают способом, который, для, по меньшей мере, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% субъектов, имеющих заболевание или состояние, или для выбранной популяции субъектов, способен создавать клеточный продукт для введения согласно способу.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, более чем или более чем примерно 50%, примерно 60%, примерно 70% или примерно 80% субъектов, подвергутых лечению способом, не демонстрируют степень 3 или более синдрома выделения цитокина (CRS) и/или не демонстрируют степень 3 или более нейротоксичности и/или более чем 40% или 50% или 55% не демонстрируют какой-либо нейротоксичности или CRS.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, CR или OR является устойчивым в течение более чем 3 месяцев или более чем 6 месяцев; и/или, по меньшей мере, 20%, по меньшей мере, 25%, по меньшей мере, 35%, по меньшей мере, 40% или, по меньшей мере, 50% подвергутых лечению субъектов согласно способу достигают CR, который является устойчивым в течение более чем 3 месяцев или более чем 6 месяцев; и/или, по меньшей мере, 60%, 70%, 80%, 90% или 95% подвергутых лечению способом субъектов и которые достигают CR, сохраняют CR или сохраняют ответ или выживают в течение или более чем 3 месяцев или в течение или более чем 6 месяцев или в течение или более чем 9 месяцев; и/или, по меньшей мере, 60%, 70%, 80%, 90% или 95% подвергутых лечению способом субъектов которые достигают CR в течение одного месяца и/или 3 месяцев, сохраняют ответ, сохраняют CR и/или выживают или выживают без прогрессирования, в течение более в течение или более чем 3 месяцев и/или в течение или более чем 6 месяцев и/или в течение более 9 месяцев; и/или, по меньшей мере, 50%, по меньшей мере, 60% или, по меньшей мере, 70% субъектов подвергутых лечению способом, достигают объективного ответа (OR); по меньшей мере, 60%, 70%, 80%, 90% или 95% субъектов достигают OR, который является устойчивым в течение или более чем 3 месяцев или в течение или более чем 6 месяцев; и/или, по меньшей мере, по меньшей мере, 35%, по меньшей мере, 40% или, по меньшей мере, 50% подвергутых лечению способом субъектов и достигнув OR, сохраняют ответ или выживают в течение или более чем 3 месяцев и/или в течение или более чем 6 месяцев.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, в момент или до введения дозы клеток, субъект имеет или идентифицирован как имеющий лимфому, ассоциированную с или включающую вовлечение центральной нервной системы (ЦНС); и/или, по меньшей мере, 70%, по меньшей мере, 80%, по меньшей мере, 90% или, по меньшей мере, 95% подвергутых лечению субъектов согласно способу которые, в момент или до введения дозы клеток, демонстрируют или были идентифицированы как демонстрирующие лимфому с вовлечением ЦНС, достигли излечения заболевания ЦНС.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, введение первой композиции и введение второй композиции осуществляют с разницей не более 48 часов. В некоторых из представленных вариантов осуществления, введение первой композиции и введение второй композиции осуществляют с разницей не более 36 часов, не более 24 часов, не более 12 часов, не более 6 часов, не более 4 часов, не более 2 часов, не более 1 часа или не более 30 минут.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, введение первой композиции и введение второй композиции осуществляют от точно или примерно 0 до точно или примерно 48 часов, от точно или примерно 0 до точно или примерно 36 часов, от точно или примерно 0 до точно или примерно 24 часов, от точно или примерно 0 до точно или примерно 12 часов, от точно или примерно 0 до точно или примерно 6 часов, от точно или примерно 0 до точно или примерно 2 часов, от точно или примерно 0 до точно или примерно 1 часов, от точно или примерно 0 до точно или примерно 30 минут, от точно или примерно 30 минут до точно или примерно 48 часов, от точно или примерно 30 минут до точно или примерно 36 часов, от точно или примерно 30 минут до точно или примерно 24 часов, от точно или примерно 30 минут до точно или примерно 12 часов, от точно или примерно 30 минут до точно или примерно 6 часов, от точно или примерно 30 минут до точно или примерно 4 часов, от точно или примерно 30 минут до точно или примерно 2 часов, от точно или примерно 30 минут до точно или примерно 1 часа, от точно или примерно 1 часов до точно или примерно 48 часов, от точно или примерно 1 часа до точно или примерно 36 часов, от точно или примерно 1 часа до точно или примерно 24 часов, от точно или примерно 1 часа до точно или примерно 12 часов, от точно или примерно 1 часа до точно или примерно.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, введение первой композиции и введение второй композиции осуществляют в тот же день, осуществляют с разницей от примерно 0 до примерно 12 часов, от примерно 0 до примерно 6 часов или от примерно 0 до 2 часов; или начало введения первой композиции и начало введения второй композиции осуществляют с разницей от примерно 1 минуты до примерно 1 часа или от примерно 5 минут до примерно 30 минут.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, первую композицию и вторую композиции вводят с разницей не более 2 часов, не более 1 часа, не более 30 минут, не более 15 минут, не более 10 минут или не более 5 минут.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, рецептор, который содержат $CD4^+$ Т-клетки и/или рецептор, который содержат $CD8^+$ Т-клетки содержит рекомбинантный рецептор, который является одним и тем же и/или где $CD4^+$ Т-клетки и/или $CD8^+$ Т-клетки генетически сконструированы для экспрессии рекомбинантного рецептора, который является одним и тем же.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, лимфома является злокачественным образованием из В-клеток. В некоторых из представленных вариантов осуществления, лимфомой является неходжкинская лимфома (NHL).

В некоторых из представленных вариантов осуществления, по меньшей мере, 35%, по меньшей мере, 40% или, по меньшей мере, 50% подвергутых лечению субъектов согласно способу достигли полного ответа (CR) или ремиссии заболевания ЦНС; по меньшей мере, 60%, 70%, 80%, 90% или 95% субъектов которые достигают CR сохраняют CR в течение или более чем 3 месяцев или в течение или более чем 6 месяцев; и/или, по меньшей мере, 60%, 70%, 80%, 90% или 95% субъектов достигают CR или ремиссии заболевания ЦНС в течение одного месяца и/или 3 месяцев сохраняют ответ, сохраняют CR, и/или выживают или выживают без прогрессирования, в течение более в течение или более чем 3 месяцев и/или в течение или более чем 6 месяцев и/или в течение более 9 месяцев; и/или, по меньшей мере, 50%, по меньшей мере, 60% или, по меньшей мере, 70% субъектов подвергутых лечению способом, достигают объективного ответа (OR) или ремиссии заболевания ЦНС; по меньшей мере, 60%, 70%, 80%, 90% или 95% субъектов достигших OR, в течение или более чем 3 месяцев или в течение или более чем 6 месяцев; и/или, по меньшей мере, 60%, 70%, 80%, 90% или 95% субъектов достигших OR или ремиссии заболевания ЦНС, сохраняют ответ или выживают в течение или более чем 3 месяцев и/или в течение или более чем 6 месяцев; и/или поражение головного мозга снижается по размеру или объему на более чем или более чем примерно 25%, 50%, 75% или более; и/или снижение или ремиссия или клиренс заболевания ЦНС достигается у, по меньшей мере, 35%, по меньшей мере, 40% или, по меньшей мере, 50% подвергутых лечению субъектов согласно способу.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, более чем или более чем примерно 30%, 35%, 40% или 50% субъектов, подвергутых лечению способом, не демонстрируют какую-либо степень синдром выделения цитокина (CRS) или нейротоксичности; и/или, по меньшей мере, точно или примерно 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% подвергутых лечению субъектов согласно способу не демонстрируют наступление CRS ранее 3 дней после начала введения и/или не демонстрируют наступление нейротоксичность ранее 5 дней после начала введения; и/или среднее наступление нейротоксичности среди субъектов, подвергутых лечению способом, возникает в момент или после среднего пика или среднего времени излечения CRS у субъектов, подвергутых лечению способом, и/или среднее наступление нейротоксичности среди субъектов подвергутых лечению способом, возникает через более чем точно или примерно 8, 9, 10 или 11 дней.

В некоторых из любых вариантов осуществления, более чем или более чем примерно 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55% или 60% субъектов подвергутых лечению способом, демонстрируют улучшение 10 пунктов или более по версии European Organization for Research and Treatment Core Quality of Life Questionnaire общего состояния здоровья на 6 месяц или 12 месяц после введения по сравнению с оценкой до лечения или через 1 месяц лечения. В некоторых из любых вариантов осуществления, более чем или более чем примерно 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55% или 60% субъектов подвергутых лечению способом, демонстрируют улучшение 10 пунктов или более по физическому

функционированию на 6 месяц или 12 месяц после введения по сравнению с оценкой до лечения или через 1 месяц лечения. В некоторых из любых вариантов осуществления, более чем или более чем примерно 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55% или 60% субъектов, подвергутых лечению способом, демонстрируют улучшение 10 пунктов или более по утомляемости на 6 месяц или 12 месяц после введения по сравнению с оценкой до лечения или через 1 месяц лечения. В некоторых из любых вариантов осуществления, более чем или более чем примерно 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55% или 60% субъектов, подвергутых лечению способом, демонстрируют улучшение 10 пунктов или более по боли на 6 месяц или 12 месяц после введения по сравнению с оценкой до лечения или через 1 месяц лечения. В некоторых из любых вариантов осуществления, более чем или более чем примерно 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55% или 60% субъектов, подвергутых лечению способом, демонстрируют улучшение 10 пунктов или более по боли на 6 месяц или 12 месяц после введения по сравнению с оценкой до лечения или через 1 месяц лечения.

В некоторых из любых вариантов осуществления, средняя 5-уровневая EuroQol-5D (DLBCL) оценка среди субъектов, подвергутых лечению способом, является такой же или больше на 6 месяц или 12 месяц после введения по сравнению с оценкой до лечения или через 1 месяц лечения. В некоторых из любых вариантов осуществления, средняя оценка по EuroQol глобальной визуально-аналоговой шкале (EQ-VAS) среди субъектов, подвергутых лечению способом, является такой же или больше на 6 месяц или 12 месяц после введения по сравнению с оценкой до лечения или через 1 месяц лечения.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, до начала введения дозы клеток, субъекту не вводили агент или лечение, способное лечить, предотвращать, отсрочивать, уменьшать или ослаблять развитие или риск развития токсичности после введения дозы клеток.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, агент является или содержит антитело против IL-6, антитело против рецептора IL-6 или стероид. В некоторых из представленных вариантов осуществления, агент является или содержит тоцилизумаб, силтуксимаб, дексаметазон или метилпреднизолон.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, введение и последующее наблюдение осуществляют в амбулаторных условиях и/или без госпитализации или ночевки в больнице; и если субъект демонстрирует устойчивую лихорадку или лихорадку, которая снизилась или не снизилась или не снизилась более чем на 1°C после лечения жаропонижающим средством, субъекта госпитализируют или помещают в больницу на ночь и/или вводят агент или лечение для лечения, или предотвращения, или уменьшения, или ослабления нейротоксичности и/или синдрома выделения цитокина, или его риска.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, NHL выбрана из группы, состоящей из агрессивной NHL, диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL), NOS (de novo или трансформированной из вялотекущей), первичной В-крупноклеточной лимфомы средостения (PMBCL), мантийноклеточной лимфомы (MCL), и/или фолликулярной лимфомы (FL), такой как фолликулярная лимфома степени 3B (FL3B). В

некоторых из любых вариантов осуществления, субъект имеет фолликулярную лимфому (FL). В некоторых из представленных вариантов осуществления, NHL является DLBCL. В некоторых из представленных вариантов осуществления, DLBCL является DLBCL, не определенной иным образом (NOS), de novo DLBCL или DLBCL, трансформированной из вялотекущей лимфомы. В некоторых из представленных вариантов осуществления, DLBCL является de novo DLBCL. В некоторых из представленных вариантов осуществления, DLBCL является DLBCL, трансформированной из фолликулярной лимфомы (tFL). В некоторых из представленных вариантов осуществления, DLBCL является DLBCL, трансформированной из лимфомы маргинальной зоны (tMZL) или DLBCL, трансформированной из хронического лимфоцитарного лейкоза (tCLL; Рихтер). В некоторых из представленных вариантов осуществления, NHL является первичной В-клеточной лимфомой стредостения (PMBCL) или фолликулярной лимфомой (FL), такой как фолликулярная лимфома степени 3В (FL3B). В некоторых из любых вариантов осуществления, субъект имеет фолликулярную лимфому (FL).

В некоторых из представленных вариантов осуществления, субъект имеет или идентифицирован как имеющий статус Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status (ECOG) 0, 1 или 2. В некоторых из любых вариантов осуществления, субъект имеет или идентифицирован как имеющий статус Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status 0 или 1.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, в момент или непосредственно перед введением дозы клеток субъект имеет рецидив после ремиссии после лечения или стал рефрактерным к, одной или нескольких предшествующих терапий заболевания или состояния, такого как В-крупноклеточная лимфома или NHL. В некоторых вариантах осуществления, одна, две или три предшествующие терапии отличаются от другой дозы клеток, экспрессирующих CAR.

В некоторых из любых вариантов осуществления, в момент или непосредственно перед введением дозы клеток, субъект имеет рецидив после ремиссии после лечения или стал рефрактерным к, одной предшествующей терапии для заболевания или состояния, отличной от другой дозы клеток, экспрессирующих CAR. В некоторых из любых вариантов осуществления, в момент или непосредственно перед введением дозы клеток, субъект имеет рецидив после ремиссии после лечения или стал рефрактерным к, двум или нескольким предшествующим терапиям для заболевания или состояния, отличным от другой дозы клеток, экспрессирующих CAR. В некоторых из любых вариантов осуществления, в момент или непосредственно перед введением дозы клеток, субъект является или был идентифицирован как не соответствующий критериям для химиотерапии в высоких дозах. В некоторых из любых вариантов осуществления, в момент или непосредственно перед введением дозы клеток, субъект является или был идентифицирован как не соответствующий критериям для трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (HSCT). В некоторых из любых вариантов осуществления, в момент или непосредственно перед введением дозы клеток, субъект

является или был идентифицирован как не соответствующий критериям для обеих, химиотерапии в высоких дозах и трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (HSCT).

В некоторых из любых вариантов осуществления, субъект имеет рецидивирующую/рефрактерную NHL, и в момент или непосредственно перед введением дозы клеток, субъект является или был идентифицирован как не соответствующий критериям для обеих, химиотерапии в высоких дозах и трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (HSCT), и субъект имеет рецидив после ремиссии после лечения или стал рефрактерным к, одной предшествующей терапии для заболевания или состояния отличной от другой дозы клеток, экспрессирующих CAR. В некоторых из любых вариантов осуществления, в момент или до введения дозы клеток: субъект имеет или идентифицирован как имеющий рецидивирующую или рефрактерную В-крупноклеточную лимфому; и/или субъекта лечат или лечили антрациклином и одним или несколькими CD20-таргетными агентами; и/или субъект имеет рецидивирующее или рефрактерное заболевание после двух или нескольких линий терапии или после аутологичного HSCT; и/или субъект имеет или идентифицирован как имеющий общее состояние по ECOG 1 или 2; и/или если субъект получает предшествующую CD19-таргетную терапию, биологический образец, полученный от субъекта после предшествующей CD19-таргетной терапии, содержит клетки, экспрессирующие CD19; и введение клеточной дозы проводят амбулаторно.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, в момент или до введения дозы клеток: субъект имеет или идентифицирован как имеющий двойную/тройную лимфому; и/или субъект имеет или идентифицирован как имеющий химиорефрактерную лимфому, такую как химиорефрактерная DLBCL; и/или субъект не достиг полной ремиссии (CR) в ответ на предшествующую терапию; и/или субъект имеет рецидив в течение 1 года или менее 1 года после трансплантации аутологичных стволовых клеток (ASCT).

В некоторых из любых вариантов осуществления, в момент или до введения дозы клеток, субъект имеет позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ)-положительное заболевание.

В некоторых из любых вариантов осуществления, в момент или до введения дозы клеток, субъекта лечат или лечили антрациклином и одним или несколькими CD20-таргетными агентами. В некоторых из любых вариантов осуществления, один или несколько CD20-таргетных агентов содержит ритуксимаб. В некоторых из любых вариантов осуществления, один или несколько CD20-таргетных агентов содержит R-CHOP (ритуксимаб, циклофосфамид, доксорубицин гидрохлорид (гилроксидауномицин), винкристин сульфат (онковин) и преднизон).

В некоторых из любых представленных вариантов осуществления, до введения дозы клеток, идентифицируют или выбирают субъекта для введения дозы клеток, который имеет: двойную/тройную лимфому; химиорефрактерную лимфому, такую как

химиорефрактерная DLBCL; не достиг полной ремиссии (CR) в ответ на предшествующую терапию для лечения заболевания или расстройства, такого как злокачественное образование, такое как NHL или B-крупноклеточная лимфома; и/или имеет рецидив в течение 1 года или менее 1 года после трансплантации аутологичных стволовых клеток (ASCT); и/или имеет лимфому, ассоциированную с или включающую вовлечение центральной нервной системы (ЦНС).

В некоторых из любых вариантов осуществления, до введения дозы клеток, представленные варианты осуществления включают идентификацию или выбор для введения дозы клеток субъекта, который имеет фолликулярную лимфому (FL), такую как FL, которая ассоциирована с коэкспрессией CD10, BCL6 и BCL2 в фолликулах, и/или t(14;18)/(q32;q21) (IGH-BCL2) и/или BCL6 перестройки.

В некоторых из любых вариантов осуществления, в момент или до введения дозы клеток, если субъект получает предшествующую CD19-таргетную терапию, биологический образец, полученный от субъекта после предшествующей CD19-таргетной терапии содержит клетку, экспрессирующую CD19.

В некоторых из любых вариантов осуществления, в момент или до введения дозы клеток: субъект имеет или идентифицирован как имеющий рецидивирующую или рефрактерную B-крупноклеточную лимфому; и/или субъекта лечат или лечили антрациклином и одним или несколькими CD20-таргетными агентами; и/или субъект имеет рецидивирующее или рефрактерное заболевание после двух или нескольких линий терапии или после аутологичного HSCT; и/или субъект имеет или идентифицирован как имеющий общее состояние по ECOG 1 или 2; и/или если субъект получает предшествующую CD19-таргетную терапию, биологический образец, полученный от субъекта после предшествующей CD19-таргетную терапию содержит клетку, экспрессирующую CD19.

В некоторых из любых вариантов осуществления, введение клеточной дозы проводят амбулаторно.

В некоторых из любых вариантов осуществления, в момент или до введения дозы клеток: субъект имеет или идентифицирован как имеющий рецидивирующую или рефрактерную B-крупноклеточную лимфому; и/или субъекта лечат или лечили антрациклином и одним или несколькими CD20-таргетными агентами; и/или субъект имеет рецидивирующее или рефрактерное заболевание после двух или нескольких линий терапии или после аутологичного HSCT; и/или субъект имеет или идентифицирован как имеющий общее состояние по ECOG 1 или 2; и/или если субъект получает предшествующую CD19-таргетную терапию, биологический образец, полученный от субъекта после предшествующей CD19-таргетную терапию содержит клетку, экспрессирующую CD19; и введение клеточной дозы проводят амбулаторно.

В некоторых из любых вариантов осуществления, до введения дозы клеток, идентифицируют или выбирают для введения дозы клеток субъекта, который имеет рецидивирующую/рефрактерную NHL; который является или был идентифицирован как не соответствующий критериям для обеих, химиотерапии в высокой дозе и трансплантации

гемопоэтических стволовых клеток (HSCT); и имеет рецидив после ремиссии после лечения или стал рефрактерным к одной предшествующей терапии для заболевания или состояния отличной от другой дозы клеток, экспрессирующих CAR.

В некоторых из любых вариантов осуществления, до введения дозы клеток, идентифицируют или выбирают для введения дозы клеток субъекта, который является или имеет: возраст 70 лет или старше; и/или общее состояние по ECOG 2; и/или ухудшенную легочную функцию, необязательно с диффузионной способностью легких по монооксиду углерода (DLCO) точно или примерно 60% или менее; и/или ухудшенную сердечную функцию, необязательно с фракцией выброса левого желудочка (LVEF) менее чем точно или примерно 50%; и/или ухудшенную почечную функцию, необязательно с расчетным клиренсом креатинина менее чем точно или примерно 60 мл/мин; и/или ухудшенную печеночную функцию, необязательно с аспартатаминотрансферазой (AST) и аланинаминотрансферазой (ALT) более чем точно или примерно в два раза превышающей предел нормы (ULN).

В некоторых из любых вариантов осуществления, до введения дозы клеток, которую осуществляют амбулаторно, идентифицируют или выбирают для введения дозы клеток субъекта, который является или имеет: рецидивирующую или рефрактерную В-крупноклеточную лимфому; и/или антрациклин и один или несколько CD20-таргетных агентов; и/или рецидивирующее или рефрактерное заболевание после двух или нескольких линий терапии или после аутологичного HSCT; и/или общее состояние по ECOG 1 или 2; и/или если субъект получает предшествующую CD19-таргетную терапию, биологический образец, полученный от субъекта после предшествующей CD19-таргетную терапию содержит клетку, экспрессирующую CD19.

В некоторых из любых вариантов осуществления, до введения, субъекта заранее подготавливают с помощью противолимфомной терапии, включающей введение флударабина и/или циклофосфамида. В некоторых из любых вариантов осуществления, способы также включают непосредственно до введения дозы клеток, введение субъекту противолимфомной терапии, включающей введение флударабина и/или циклофосфамида.

В некоторых из любых вариантов осуществления, введение дозы клеток и/или противолимфомную терапию проводят амбулаторно. В некоторых из любых вариантов осуществления, введение дозы клеток и/или противолимфомную терапию проводят не в медицинском центре с третьим уровнем помощи. В некоторых из любых вариантов осуществления, после введения дозы клеток, субъект находится под амбулаторным наблюдением, необязательно по телефону и/или посредством визита медицинского работника.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, способы дополнительно включают введение субъекту дополнительного терапевтического агента или терапии. В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом или терапией является терапия, отличная от клеточной терапии, например, отличная от CAR^+ Т клеточной терапии.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, CAR содержит внеклеточный антигенсвязывающий домен, специфический к антигену, трансмембранный домен, цитоплазматический сигнальный домен, полученный из костимулирующей молекулы, которая, в некоторых случаях, является 4-1BB, и цитоплазматический сигнальный домен, полученный из первичной сигнальной ITAM-содержащей молекулы, которая, в некоторых случаях, является CD3-дзета; CAR содержит, по порядку, внеклеточный антигенсвязывающий домен специфический к антигену, трансмембранный домен, цитоплазматический сигнальный домен, полученный из костимулирующей молекулы, и цитоплазматический сигнальный домен, полученный из первичной сигнальной ITAM-содержащей молекулы; или CAR содержит внеклеточный антигенраспознающий домен, который специфически связывается с антигеном, и внутриклеточный сигнальный домен, содержащий CD3-дзета (CD3ζ) цепь и костимулирующую сигнальную область, которая является сигнальным доменом CD28 или 4-1BB.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, антигенсвязывающим доменом является scFv. В некоторых из таких вариантов осуществления, scFv содержит аминокислотную последовательность RASQDISKYLN (SEQ ID NO: 35), аминокислотную последовательность SRLHSGV (SEQ ID NO: 36) и/или аминокислотную последовательность GNTLPYTFG (SEQ ID NO: 37) и/или аминокислотную последовательность DYGVS (SEQ ID NO: 38), аминокислотную последовательность VIWGSETTYYNSALKS (SEQ ID NO: 39) и/или аминокислотную последовательность YAMDYWG (SEQ ID NO: 40) или где scFv содержит вариабельную область тяжелой цепи FMC63 и вариабельную область легкой цепи FMC63 и/или CDRL1 последовательность FMC63, CDRL2 последовательность FMC63, а CDRL3 последовательность FMC63, CDRH1 последовательность FMC63, CDRH2 последовательность FMC63 и CDRH3 последовательность FMC63 или связывается с одним и тем же эпитопом, или конкурирует за связывание с любым из вышеперечисленных и, в некоторых случаях, где scFv содержит, по порядку, V_H, линкер, который в некоторых случаях, содержит SEQ ID NO: 24, и V_L, и/или scFv содержит гибкий линкер и/или содержит аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 43.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, костимулирующей сигнальной областью является сигнальный домен CD28 или 4-1BB. В некоторых из таких вариантов осуществления, костимулирующей сигнальной областью является сигнальный домен 4-1BB. В некоторых из таких вариантов осуществления, костимулирующий домен содержит SEQ ID NO: 12 или ее вариант, имеющий, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности к ней.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, первичным сигнальным доменом является CD3-дзета сигнальный домен. В некоторых из таких вариантов осуществления, первичный сигнальный домен содержит SEQ ID NO: 13, 14 или 15 имеющие, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%,

96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности к ней.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, CAR дополнительно содержит спейсер между трансмембранным доменом и scFv. В некоторых из таких вариантов осуществления, спейсером является полипептидный спейсер, который содержит или состоит из всего или части иммуноглобулинового шарнира или его модифицированной версии, в некоторых случаях, IgG4 шарнира или его модифицированной версии.

В некоторых из таких вариантов осуществления, спейсер содержит примерно 15 аминокислот или менее, и не содержит CD28 внеклеточную область или CD8 внеклеточную область. В некоторых из таких вариантов осуществления, спейсер содержит точно или примерно 12 аминокислот в длину. В некоторых из таких вариантов осуществления, спейсер имеет или состоит из последовательности SEQ ID NO: 1, последовательности, кодированной SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34 или варианта любой из вышеуказанных, имеющего, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности к ней; и/или спейсер содержит или состоит из формулы X_1PPX_2P, где X_1 является глицином, цистеином или аргинином, и X_2 является цистеином или треонином.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, CAR содержит scFv, специфический к антигену, трансмембранный домен, цитоплазматический сигнальный домен, полученный из костимулирующей молекулы, который, в некоторых случаях, является или содержит 4-1BB, и цитоплазматический сигнальный домен, полученный из первичной сигнальной ITAM-содержащей молекулы, который, в некоторых случаях, является или содержит CD3 дзета сигнальный домен и, в некоторых случаях, дополнительно содержит спейсер между трансмембранным доменом и scFv; CAR содержит, по порядку, scFv специфический к антигену, трансмембранный домен, цитоплазматический сигнальный домен, полученный из костимулирующей молекулы, который, в некоторых случаях, является или содержит 4-1BB сигнальный домен, и цитоплазматический сигнальный домен, полученный из первичной сигнальной ITAM-содержащей молекулы, который, в некоторых случаях, является CD3-дзета сигнальным доменом; или CAR содержит, по порядку, scFv специфический к антигену, спейсер, трансмембранный домен, цитоплазматический сигнальный домен, полученный из костимулирующей молекулы, который, в некоторых случаях, является 4-1BB сигнальным доменом, и цитоплазматический сигнальный домен, полученный из первичной сигнальной ITAM-содержащей молекулы, который, в некоторых случаях, является или содержит CD3 дзета сигнальный домен; и где: спейсером является полипептидный спейсер, который (a) содержит или состоит из всего или части иммуноглобулинового шарнира или его модифицированной версии или содержит примерно 15 аминокислот или менее, и не содержит CD28 внеклеточную область или CD8 внеклеточную область, (b) содержит или состоит из всего или части иммуноглобулинового шарнира, который, в некоторых случаях, является IgG4 шарниром или его модифицированной версии, и/или содержит примерно 15

аминокислот или менее, и не содержит CD28 внеклеточную область или CD8 внеклеточную область, или (c) имеет точно или примерно 12 аминокислот в длину и/или содержит или состоит из всего или части иммуноглобулинового шарнира, который, в некоторых случаях, является IgG4 или его модифицированной версией; или (d) имеет или состоит из последовательность SEQ ID NO: 1, последовательности, кодированной SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34: или варианта любой из вышеуказанных, имеющего, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности к ней, или (e) содержит или состоит из формулы X_1PPX_2P, где X_1 является глицином, цистеином или аргинином и X_2 является цистеином или треонином; и/или костимулирующий домен содержит SEQ ID NO: 12 или ее вариант, имеющий, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности к ней; и/или первичный сигнальный домен включает SEQ ID NO: 13, 14 или 15, имеющие, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности к ней; и/или scFv содержит аминокислотную последовательность RASQDISKYLN (SEQ ID NO: 35), аминокислотную последовательность SRLHSGV (SEQ ID NO: 36), и/или аминокислотную последовательность GNTLPYTFG (SEQ ID NO: 37) и/или аминокислотную последовательность DYGVS (SEQ ID NO: 38), аминокислотную последовательность VIWGSETTYYNSALKS (SEQ ID NO: 39), и/или аминокислотную последовательность YAMDYWG (SEQ ID NO: 40) или где scFv содержит вариабельную область тяжелой цепи FMC63 и вариабельную область легкой цепи FMC63 и/или CDRL1 последовательность FMC63, CDRL2 последовательность FMC63, а CDRL3 последовательность FMC63, CDRH1 последовательность FMC63, CDRH2 последовательность FMC63 и CDRH3 последовательность FMC63 или связывается с одним и тем же эпитопом, или конкурирует за связывание с любым из вышеперечисленных и, в некоторых случаях, где scFv содержит, по порядку, V_H, линкер, который в некоторых случаях, содержит SEQ ID NO: 24, и V_L, и/или scFv содержит гибкий линкер и/или содержит аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 24.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, антигеном является В клеточный антиген. В некоторых из таких вариантов осуществления, антигеном является CD19. В некоторых из представленных вариантов осуществления, до введения, субъекта заранее подготавливают с помощью противолимфомной терапии, включающей введение флударабина и/или циклофосфамида. В некоторых из представленных вариантов осуществления, непосредственно перед введением, введение субъекту противолимфомной терапии включающей введение флударабина и/или циклофосфамида. В некоторых из представленных вариантов осуществления, введение дозы клеток и/или противолимфомную терапию проводят амбулаторно; и если субъект демонстрирует устойчивую лихорадку или лихорадку, которая снизилась или не снизилась или не снизилась более чем на 1°C после лечения жаропонижающим средством, субъекта

госпитализируют или помещают в больницу на ночь и/или вводят агент или лечение для лечения, или предотвращения, или уменьшения, или ослабления нейротоксичности и/или синдрома выделения цитокина, или его риска.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, дозу клеток вводят парентерально. В некоторых из таких вариантов осуществления, дозу клеток вводят внутривенно. В некоторых из представленных вариантов осуществления, Т-клетками являются первичные Т-клетки, полученные у субъекта. В некоторых из представленных вариантов осуществления, Т-клетки являются аутологичными субъекту. В некоторых из представленных вариантов осуществления, субъектом является человек.

Также в настоящем документе представлены готовые изделия, содержащие композицию, содержащую генетически сконструированные клетки, экспрессирующие рекомбинантный рецептор. В некоторых из таких вариантов осуществления, готовые изделия также содержит инструкции по введению дозы клеток по любому из способов, представленных в настоящем документе.

В настоящем документе представлены способы оценки риска развития токсичности после введения клеточной терапии, включающие: (a) оценку одного или нескольких параметров у субъекта, где один или несколько параметров выбраны из уровня, количества или концентрации LDH, ферритина или С-реактивного белка (CRP) в биологическом образце от субъекта или суммы произведений измерений (SPD) опухоли у субъекта; где субъект является кандидатом для лечения клеточной терапией, указанная клеточная терапия содержит дозу генетически сконструированных клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор; и где оценку проводят до введения клеточной терапии и/или указанный биологический образец или опухоль не содержит рекомбинантный рецептор и/или указанные сконструированные клетки; и (b) идентификацию того, имеет ли субъект риск токсичности, где субъект имеет риск токсичности, если один или несколько параметров превышают пороговый уровень и субъект не имеет риск токсичности, если один или несколько параметров равен или ниже порогового уровня, где: (i) параметром является сумма произведений измерений (SPD), и пороговый уровень составляет выше точно или примерно 30 $см^2$, 40 $см^2$, 50 $см^2$, 60 $см^2$ или 70 $см^2$; (ii) параметром является LDH, и пороговый уровень составляет выше точно или примерно 300 единиц на литр, 400 единиц на литр, 500 единиц на литр или 600 единиц на литр; (iii) параметром является ферритин, и пороговый уровень составляет выше точно или примерно 1000 нанограммов на миллилитр, 2000 нанограммов на миллилитр, 3000 нанограммов на миллилитр, 4000 нанограммов на миллилитр, 5000 нанограммов на миллилитр, 6000 нанограммов на миллилитр, 7000 нанограммов на миллилитр или 8000 нанограммов на миллилитр; и/или (iv) параметром является CRP, и пороговый уровень составляет выше точно или примерно 5 миллиграммов на литр, 10 миллиграммов на литр, 15 миллиграммов на литр, 20 миллиграммов на литр, 25 миллиграммов на литр, 30 миллиграммов на литр, 40 миллиграммов на литр или 50 миллиграммов на литр.

Также представлены способы идентификации субъекта, где способ включает: (a)

оценку одного или нескольких параметров у субъекта, где один или несколько параметров выбраны из уровня, количества или концентрации LDH, ферритина или С-реактивного белка (CRP) в биологическом образце от субъекта или является суммой произведений измерений (SPD) опухоли у субъекта; где субъект является кандидатом для лечения клеточной терапией, указанная клеточная терапия содержит дозу генетически сконструированных клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор; и где оценку проводят до введения клеточной терапии и/или указанный биологический образец или опухоль не содержит рекомбинантный рецептор и/или указанные сконструированные клетки; и (b) идентификации субъекта, который имеет риск развития токсичности после введения клеточной терапии, где субъект имеет риск токсичности, если один или несколько параметров превышают пороговый уровень, и субъект не имеет риск токсичности, если один или несколько параметров равен или ниже порогового уровня, где: (i) параметром является сумма произведений измерений (SPD), и пороговый уровень составляет выше точно или примерно 30 $см^2$, 40 $см^2$, 50 $см^2$, 60 $см^2$ или 70 $см^2$; (ii) параметром является LDH, и пороговый уровень составляет выше точно или примерно 300 единиц на литр, 400 единиц на литр, 500 единиц на литр или 600 единиц на литр; (iii) параметром является ферритин, и пороговый уровень составляет выше точно или примерно 1000 нанограммов на миллилитр, 2000 нанограммов на миллилитр, 3000 нанограммов на миллилитр, 4000 нанограммов на миллилитр, 5000 нанограммов на миллилитр, 6000 нанограммов на миллилитр, 7000 нанограммов на миллилитр или 8000 нанограммов на миллилитр; и/или (iv) параметром является CRP, и пороговый уровень составляет выше точно или примерно 5 миллиграммов на литр, 10 миллиграммов на литр, 15 миллиграммов на литр, 20 миллиграммов на литр, 25 миллиграммов на литр, 30 миллиграммов на литр, 40 миллиграммов на литр или 50 миллиграммов на литр.

Также в настоящем документе представлены способы лечения, включающие: (a) оценку одного или нескольких параметров у субъекта, где один или несколько параметров выбраны из уровня, количества или концентрации LDH, ферритина или С-реактивного белка (CRP) в биологическом образце от субъекта или является суммой произведений измерений (SPD) опухоли у субъекта; где субъект является кандидатом для лечения клеточной терапией, указанная клеточная терапия содержит дозу генетически сконструированных клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор; и где оценку проводят до введения клеточной терапии и/или указанный биологический образец или опухоль не содержит рекомбинантный рецептор и/или указанные сконструированные клетки; и (b) идентификацию того, имеет ли субъект риск токсичности где субъект имеет риск токсичности, если один или несколько параметров превышают пороговый уровень, и субъект не имеет риск токсичности, если один или несколько параметров равен или ниже порогового уровня, где: (i) параметром является сумма произведений измерений (SPD), и пороговый уровень составляет выше точно или примерно 30 $см^2$, 40 $см^2$, 50 $см^2$, 60 $см^2$ или 70 $см^2$; (ii) параметром является LDH, и пороговый уровень составляет выше точно или примерно 300 единиц на литр, 400 единиц на литр, 500 единиц на литр или 600 единиц на

литр; (iii) параметром является ферритин, и пороговый уровень составляет выше точно или примерно 1000 нанограммов на миллилитр, 2000 нанограммов на миллилитр, 3000 нанограммов на миллилитр, 4000 нанограммов на миллилитр, 5000 нанограммов на миллилитр, 6000 нанограммов на миллилитр, 7000 нанограммов на миллилитр или 8000 нанограммов на миллилитр; и/или (iv) параметром является CRP, и пороговый уровень составляет выше точно или примерно 5 миллиграммов на литр, 10 миллиграммов на литр, 15 миллиграммов на литр, 20 миллиграммов на литр, 25 миллиграммов на литр, 30 миллиграммов на литр, 40 миллиграммов на литр или 50 миллиграммов на литр; и (c) после или на основе результатов оценки, введение субъекту клеточной терапии. В некоторых из таких вариантов осуществления, способы также включают введение агента или другого лечения, способного лечить, предотвращать, отсрочивать, уменьшать или ослаблять развитие или риск развития токсичности.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, параметром в представленных способах является SPD, и пороговый уровень составляет 50 $см^2$. В некоторых из представленных вариантов осуществления, параметром в представленных способах является LDH, и пороговый уровень составляет 500 единиц на литр. В некоторых из представленных вариантов осуществления, одним или несколькими параметрами в представленных способах являются SPD и LDH, и пороговым уровнем для SPD является 50 $см^2$ и пороговым уровнем для LDH является 500 единиц на литр. В некоторых из представленных вариантов осуществления, параметром в представленных способах является ферритин, и пороговый уровень составляет 5000 нанограммов на миллилитр. В некоторых из представленных вариантов осуществления, параметром в представленных способах является CRP, и пороговый уровень составляет 10 миллиграммов на литр. В некоторых из представленных вариантов осуществления, одним или несколькими параметрами в способах являются ферритин и CRP, и пороговым уровнем для ферритина является 5000 нанограммов на миллилитр и пороговым уровнем для CRP является 10 миллиграммов на литр.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, биологическим образцом в представленных способах является образец крови или плазмы. В некоторых из представленных вариантов осуществления, SPD в представленных способах измеряют на основе КТ и/или МРТ изображений или других изображений тела. В некоторых из представленных вариантов осуществления, уровень, количество или концентрацию одного или нескольких анализируемого вещества и/или SPD измеряют до лечения, до афереза или до производства клеточного продукта.

Также в настоящем документе представлены способы оценки риска развития токсичности после введения клеточной терапии, где способ включает: (a) оценку пиковой концентрации генетически сконструированных клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор в биологическом образце от субъекта, которому ранее вводили клеточную терапию, содержащую генетически сконструированные клетки; и (b) идентификацию того, имеет ли субъект риск токсичности где субъект имеет риск токсичности, если один или

несколько параметров, таких как пиковая концентрация генетически сконструированных клеток, выше порогового уровня, и субъект не имеет риск токсичности, если пиковая концентрация генетически сконструированных клеток равна или ниже порогового уровня, где: пороговый уровень составляет выше точно или примерно 300 клеток на микролитр, 400 клеток на микролитр, 500 клеток на микролитр, 600 клеток на микролитр, 700 клеток на микролитр, 800 клеток на микролитр, 900 клеток на микролитр или 1000 клеток на микролитр.

Также в настоящем документе представлены способы идентификации субъекта, где способ включает: (a) оценку пиковой концентрации генетически сконструированных клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор в биологическом образце от субъекта, которому ранее вводили клеточную терапию, содержащую генетически сконструированные клетки; и (b) идентификации субъекта, который имеет риск развития токсичности после введения клеточной терапии, где субъект имеет риск токсичности, если один или несколько параметров, таких как пиковая концентрация генетически сконструированные клетки, выше порогового уровня, и субъект не имеет риск токсичности, если пиковая концентрация генетически сконструированные клетки равна или ниже порогового уровня, где: пороговый уровень составляет выше точно или примерно 300 клеток на микролитр, 400 клеток на микролитр, 500 клеток на микролитр, 600 клеток на микролитр, 700 клеток на микролитр, 800 клеток на микролитр, 900 клеток на микролитр или 1000 клеток на микролитр.

Также в настоящем документе представлен способы лечения, включающие: (a) оценку пиковой концентрации генетически сконструированных клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор в биологическом образце от субъекта которому ранее вводили клеточную терапию, содержащую генетически сконструированные клетки; и (b) идентификацию того, имеет ли субъект риск токсичности, где субъект имеет риск токсичности, если один или несколько параметров, таких как пиковая концентрация генетически сконструированные клетки, выше порогового уровня, и субъект не имеет риск токсичности, если пиковая концентрация генетически сконструированные клетки равна или ниже порогового уровня, где: пороговый уровень составляет выше точно или примерно 300 клеток на микролитр, 400 клеток на микролитр, 500 клеток на микролитр, 600 клеток на микролитр, 700 клеток на микролитр, 800 клеток на микролитр, 900 клеток на микролитр или 1000 клеток на микролитр; и (c) после или на основе результатов оценки, введение субъекту клеточной терапии. В некоторых из таких вариантов осуществления, способы также включают введение агента или другого лечения, способного лечить, предотвращать, замедлять, снижать или ослаблять развитие или риск развития токсичности. В некоторых из представленных вариантов осуществления, пороговый уровень в представленных способах составляет 500 клеток на микролитр.

Также в настоящем документе представлены способы, дополнительно включающие отслеживание у субъекта симптомов токсичности, если субъекту вводят клеточную терапию и он идентифицирован как имеющий риск развития токсичности.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, токсичностью является нейротоксичность или CRS. В некоторых из представленных вариантов осуществления, токсичностью является степень 1 или выше нейротоксичности или CRS. В некоторых из представленных вариантов осуществления, токсичностью является тяжелая нейротоксичность или является степень 2 или выше нейротоксичности, степень 3 или выше нейротоксичности или степень 4 или выше нейротоксичности. В некоторых из представленных вариантов осуществления, токсичностью является степень 1 или выше нейротоксичности. В некоторых из представленных вариантов осуществления, токсичностью является тяжелая нейротоксичность или степень 3 или выше нейротоксичности. В некоторых из представленных вариантов осуществления, токсичностью является тяжелая CRS или является степень 2 или выше CRS, степень 3 или выше CRS или степень 4 или выше CRS. В некоторых из представленных вариантов осуществления, токсичностью является степень 1 или выше CRS. В некоторых из представленных вариантов осуществления, токсичностью является тяжелое CRS или степень 3 или выше CRS.

Также в настоящем документе представлены способы лечения, где, если субъект идентифицирован как имеющий риск развития токсичности, субъекту вводят: (a) (1) агент или другое лечение, способное лечить, предотвращать, замедлять, снижать или ослаблять развитие или риск развития токсичности, и (2) клеточную терапию, где ведение агента должно быть осуществлено (i) до, (ii) в течение одного, двух или трех дней от, (iii) одновременно с и/или (iv) при первой лихорадке после, начала введения клеточной терапии субъекту; и/или (b) клеточную терапию в пониженной дозе или в дозе, которая не ассоциирована с риском развития токсичности или тяжелой токсичности или в пониженной дозе или не ассоциирована с риском развития токсичности или тяжелой токсичности у большинства субъектов, и/или у большинства субъектов, имеющих заболевание или состояние, которое субъект имеет или подозревается в наличии, после введения клеточной терапии; и/или (c) субъекту вводят клеточную терапию амбулаторно и/или во время госпитализации в течение одного или нескольких дней. В некоторых из таких вариантов осуществления, клеточная терапия в противном случае должна вводиться субъектам амбулаторно или без госпитализации в течение одного или нескольких дней.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, агентом или другим лечением является антитело против IL-6 или антитело против рецептора IL-6. В некоторых из представленных вариантов осуществления, агент или другое лечение является или содержит агент, выбранный из тоцилизумаба, силтуксимаба, клазакизумаба, сарилумаба, олокизумаба (CDP6038), элсилимомаба, ALD518/BMS-945429, сирукумаба, (CNTO 136), CPSI-2634, ARGX-109, FE301 и FM101. В некоторых из представленных вариантов осуществления, агентом или другим лечением является тоцилизумаб. В некоторых из представленных вариантов осуществления, агент или другое лечение является или содержит один или несколько стероидов. В некоторых из представленных вариантов осуществления, стероидом является дексаметазон или метилпреднизолон. В некоторых из

представленных вариантов осуществления, стероидом является дексаметазон. В некоторых из представленных вариантов осуществления, агент или другое лечение включает введение сосудосуживающего фактора. В некоторых из представленных вариантов осуществления, агент или другое лечение включает интубирование. В некоторых из представленных вариантов осуществления, агент или другое лечение включает диализ.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, рекомбинантный рецептор специфически связывается с антигеном (например, антигеном-мишенью) ассоциированным с заболеванием или состоянием или экспрессируется в окружающей среде поражения, ассоциированного с заболеванием или состоянием. В некоторых из таких вариантов осуществления, антигеном является В клеточный антиген. В некоторых из таких вариантов осуществления, антигеном является CD19. В некоторых из представленных вариантов осуществления, заболеванием или состоянием является рак. В некоторых из представленных вариантов осуществления, заболевание или состояние является миеломой, лейкозом или лимфома. В некоторых из представленных вариантов осуществления, заболевание или состояние является злокачественным образованием из В-клеток и/или является острым лимфобластным лейкозом (ALL), ALL взрослых, хроническим лимфобластным лейкозом (CLL), неходжкинской лимфомой (NHL) или В-крупноклеточной лимфомой. В некоторых из таких вариантов осуществления, заболеванием или состоянием является В-крупноклеточная лимфома. В некоторых из представленных вариантов осуществления, заболеванием или состоянием, таким как В-крупноклеточная лимфома, является диффузная В-крупноклеточная лимфома (DLBCL). В некоторых из представленных вариантов осуществления, DLBCL является DLBCL, не определенная иным образом (NOS), de novo DLBCL или DLBCL, трансформированной из вялотекущей лимфомы. В некоторых из представленных вариантов осуществления, DLBCL является de novo DLBCL. В некоторых из представленных вариантов осуществления, DLBCL является DLBCL, трансформированной из фолликулярной лимфомы (tFL). В некоторых из представленных вариантов осуществления, DLBCL является DLBCL, трансформированной из лимфомы маргинальной зоны (tMZL) или DLBCL, трансформированной из хронического лимфоцитарного лейкоза (tCLL; Рихтер). В некоторых из представленных вариантов осуществления, заболевание или состояние является первичной В-клеточной лимфомой стредостения (PMBCL) или фолликулярной лимфомой (FL), такой как фолликулярная лимфома степени 3В (FL3B). В некоторых из любых вариантов осуществления, заболеванием или состоянием является фолликулярная лимфома (FL). В некоторых из любых вариантов осуществления, заболеванием или состоянием является фолликулярная лимфома (FL). В некоторых из любых вариантов осуществления, FL ассоциирована с коэкспрессией CD10, BCL6 и BCL2 в фолликулах, и/или t(14;18)/(q32;q21) (IGH-BCL2) и/или BCL6 перестройками. В некоторых из любых вариантов осуществления, заболеванием или состоянием является мантийноклеточная лимфома (MCL).

В некоторых из представленных вариантов осуществления, рекомбинантным

рецептором является а химерный антигенный рецептор (CAR). В некоторых из представленных вариантов осуществления, сконструированные клетки содержат Т клетки, такие как $CD4^+$ Т-клетки и/или $CD8^+$ Т-клетки. В некоторых из представленных вариантов осуществления, клеточная терапия включает введение дозы $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток субъекту, где Т-клетки каждой дозы содержат рецептор, который специфически связывается с антигеном, например, антигеном-мишенью, экспрессированным заболеванием или состоянием или его клеткой или тканью и/или который ассоциирован с заболеванием или состоянием, где введение включает введение множества отдельных композиций, множество отдельных композиций содержит первую композицию, содержащую $CD8^+$ Т-клетки и вторую композицию, содержащую $CD4^+$ Т-клетки.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, первую композицию начинают вводить до начала введения второй композиции. В некоторых из представленных вариантов осуществления, введение первой композиции и введение второй композиции осуществляют с разницей не более 48 часов. В некоторых из представленных вариантов осуществления, введение первой композиции и введение второй композиции осуществляют с разницей не более 36 часов, не более 24 часов, не более 12 часов, не более 6 часов, не более 4 часов, не более 2 часов, не более 1 часа или не более 30 минут.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, рецептор, содержащийся $CD4^+$ Т-клетками и/или рецептор, содержащийся $CD8^+$ Т-клетками включает рекомбинантный рецептор который является одним и тем же и/или где $CD4^+$ Т-клетки и/или $CD8^+$ Т-клетки генетически сконструированы для экспрессии рекомбинантного рецептора, который является одним и тем же.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит определенное отношение $CD4^+$ клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор, к $CD8^+$ клеткам, экспрессирующим рекомбинантный рецептор, и/или $CD4^+$ клеток к $CD8^+$ Т-клеткам, которое оставляет или составляет приблизительно 1:1 или составляет от приблизительно 1:3 до приблизительно 3:1; и/или $CD4^+$ Т-клетки, содержащие рецептор в одной из первой и второй композиций, и $CD8^+$ Т-клетки, содержащие рецептор в другой из первой и второй композиций присутствуют в определенном отношении, которое составляет или составляет приблизительно 1:1 или составляет от приблизительно 1:3 до приблизительно 3:1; и/или $CD4^+$ Т-клетки, содержащие рецептор и $CD8^+$ Т-клетки, содержащие рецептор, вводимые в первой и второй композициях, присутствуют в определенном отношении, где отношение составляет или составляет приблизительно 1:1 или составляет от приблизительно 1:3 до приблизительно 3:1. В некоторых из представленных вариантов осуществления, определенное отношение составляет или составляет приблизительно 1:1.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит: от точно или примерно 1×10^7 до точно или примерно 2×10^8 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток, включительно; от точно или примерно $2{,}5\times10^7$ до точно или примерно $1{,}5\times10^8$ всего экспрессирующих рекомбинантный

рецептор Т-клеток, включительно; от точно или примерно 5×10^7 до точно или примерно 1×10^8 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток, включительно; точно или примерно 5×10^7 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток; точно или примерно 1×10^8 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток; или точно или примерно $1,5\times10^8$ всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток. В некоторых из таких вариантов осуществления, доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит точно или примерно 5×10^7 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток. В некоторых из таких вариантов осуществления, доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит точно или примерно 1×10^8 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток. В некоторых из таких вариантов осуществления, доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит точно или примерно $1,5\times10^8$ всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит: от точно или примерно 1×10^7 до точно или примерно 1×10^8 экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток, включительно; от точно или примерно $1,25\times10^7$ до точно или примерно $7,5\times10^7$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток, включительно; от точно или примерно $2,5\times10^7$ до точно или примерно 5×10^7 экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток, включительно; точно или примерно $2,5\times10^7$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток; точно или примерно 5×10^7 экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток; или точно или примерно $7,5\times10^7$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток. В некоторых из таких вариантов осуществления, доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит точно или примерно $2,5\times10^7$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток. В некоторых из таких вариантов осуществления, доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит точно или примерно 5×10^7 экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток. В некоторых из таких вариантов осуществления, доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит точно или примерно $7,5\times10^7$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, Т-клетками являются первичные Т-клетки, полученные у субъекта или являются аутологичными субъекту.

В настоящем документе представлены готовые изделия содержащие композицию, включающую генетически сконструированные клетки, экспрессирующие рекомбинантный рецептор; и инструкции по оценке риска развития токсичности, идентификации субъекта или лечения субъекта по любому из способов в настоящем документе представлен. В некоторых из таких вариантов осуществления, готовые изделия также содержат агент или другое лечение, способное лечить, предотвращать, замедлять, снижать или ослаблять развитие или риск развития токсичности

Краткое описание чертежей

На **ФИГ. 1** показана доля субъектов, у которых выявлены лабораторные аномалии и вызванные лечением подобные эффекты (TEAE), которые возникают у ≥20% субъектов. *: Один класс 5 AE полиорганной недостаточности, не связанной с исследуемым лечением, и

из-за прогрессирования лимфомы; †: Один класс 5 AE диффузного альвеолярного повреждения, оцененного исследователем как связанное с флударабином, циклофосфамидом и CAR T клеточной терапии, возникшего на 23 день у субъекта, который отказался от искусственной вентиляции при прогрессирующей дыхательной недостаточности во время нейтропении, связанной с факторами роста и антибиотиками широкого спектра действия и противогрибковыми агентами.

На **ФИГ. 2** представлена Кривая Каплана-Мейера, показывающая наблюдаемое время наступления CRS и нейротоксичности.

На **ФИГ. 3A** и **ФИГ. 3B** показана 3-месячная суммарная эффективность терапии (ORR) среди подгрупп подвергутых лечению субъектов.

ФИГ. 4A и **ФИГ.4B** показана длительность ответа (CR/PR, CR или PR) и общая выживаемость в полной и основной когорте субъектов.

На **ФИГ. 5A** показана фармакокинетика CAR^+ T клеток в периферической крови в разные моменты времени после лечения при разных уровнях доз. На **ФИГ. 5B** показана фармакокинетика CAR^+ T клеток в периферической крови в разные моменты времени после лечения между пациентами с наличием и отсутствием клинического ответа. На **ФИГ. 5C** показана фармакокинетика клеток в периферической крови в разные моменты времени после лечения у субъектов, у которых развилась или не развилась нейротоксичность.

На **ФИГ. 6A** показано количество $CD3^+/CAR^+$, $CD4^+/CAR^+$, $CD8^+/CAR^+$ T клеток в периферической крови субъекта с химиорефрактерной трансформированной DLBCL, измеренное в определенные моменты времени. На **ФИГ. 6B** показано аксиальное ПЭТ-КТ изображение перед лечением, показывающее внутричерепную аномалию в правой средней черепной ямке и обширную аномалию в подкожных тканях в правой тыльной ушной области. На **ФИГ. 6C** представлено ПЭТ-КТ изображение после лечения, изображающее рассасывание аномалии на ФИГ. 2B после лечения анти-CD19 CAR^+ T клетками. На **ФИГ. 6D** представлена МРТ мозга перед лечением (T_1-взвешенное изображение высокого разрешения с применением контрастного агента; осевая проекция), показывающая гомогенное объемное образование повышенной плотности в правой средней черепной ямке. На **ФИГ. 6E** представлена МРТ мозга после лечения, показывающая практически полное рассасывание объемного образование повышенной плотности. На **ФИГ. 6F** представлено аксиальное ПЭТ-КТ изображение при рецидиве, показывающее рецидив правой тыльной ушной опухоли, связанный с интенсивным поглощением ^{18}F-флуродеоксиглюкозы (стрелка). На **ФИГ. 6G** показано ПЭТ-КТ изображение, показывающее рассасывание тыльной ушной опухоли после инцизионной биопсии и повторного применения CAR^+ T клеток.

На **ФИГ. 7** показаны уровни анализируемых веществ, измеренных в сыворотке субъектов до введения CAR^+ T клеток и корреляция с развитием нейротоксичности.

На **ФИГ. 8** показан график прогрессирования во времени (месяцы) и показывающий наилучший общий ответ и стойкость ответа и индивидуальные клинические результаты, наблюдаемые с течением времени в отдельных субъектов в Полной когорте и Основной

когорте NHL субъектов, подвергутых лечению анти-CD19 клеточной терапией, включающей CAR-T-экспрессирующие $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клетки. [a]: Пациенты, достигшие BOR через 1 месяц, если не указано иное; [b]: Полное устранение вовлечения ЦНС лимфой, наблюдаемое у 2 пациентов; [c]: Олин пациент с повторным ростом после биопсии при прогрессировании заболевания.

На **ФИГ. 9А** изображено среднее (± квартили) количество CAR-экспрессирующих $CD3^+$ Т-клеток/мкл крови, по данным проточной цитометрии с применением антитела, специфического к усеченному рецептору (CD3, круги; N=87); или среднее (± квартили) количество копий интегрированного CAR трансгена/мкг геномной ДНК, по данным количественной полимеразной цепной реакции (кПЦР) с применением праймеров, специфических к пост-транскрипционному регуляторному элементу вируса гепатита сурков (WPRE), присутствующему в векторе, кодирующей CAR (кПЦР, квадраты; N=85) в образцах крови от 87 субъектов, которым вводили анти-CD19 CAR-экспрессирующие клетки. Предельный уровень для определения CAR^+ клеток в проточной цитометрии установлен на ≥ 25 событий в CAR^+ «воротах», и предел определения для кПЦР составляет ≥12,5 копий CAR трансгена на мкг геномной ДНК. На **ФИГ. 9В** изображены относительные количества $CD4^+$ и $CB8^+$ CAR-экспрессирующих клеток/мкл в образцах крови и костного мозга от 67 субъектов, которым вводили анти-CD19 CAR-экспрессирующие клетки, на день 11 ± 3 дня. Линия является линией единства и не является линией регрессии.

На **ФИГ. 10А** и **10В** показана средняя (± квартили) площадь под кривой между днем 0 и 28 ($ППК_{0\text{-}28}$; **ФИГ. 10А**) и максимальная сывороточная концентрация (C_{max}; CAR^+ клетки/мкл крови; **ФИГ. 10В**) $CD4^+$ и $CD8^+$ CAR^+ клеток в подгруппах субъектов с диффузной В-крупноклеточной лимфомой de novo или трансформированной из вялотекущей лимфомы (DLBCL, NOS; N=27), трансформированной фолликулярной лимфомы (tFL; N=10), DLBCL трансформированной из лимфомы маргинальной зоны или хронического лимфоцитарного лейкоза (tMZL/tCLL; N=4) или мантийноклеточной лимфомы (MCL; N-5), которые получали CAR-экспрессирующие Т клетки на DL1.

На **ФИГ. 11А** и **11В** изображена средняя (± квартили) площадь под кривой между днем 0 и 28 ($ППК_{0\text{-}28}$; **ФИГ. 11А**) и максимальная сывороточная концентрация (C_{max}; CAR^+ клетки/мкл крови; **ФИГ. 11В**) $CD3^+$, $CD4^+$ и $CD8^+$ CAR^+ клеток у субъектов, которые получали CAR^+ клетки при DL1 или DL2.

На **ФИГ. 12А-12D** изображено среднее (± квартили) количество CAR-экспрессирующих $CD4^+$ и $CD8^+$ CAR^+ клеток/мкл крови с течением времени, у субъектов, у которых развился синдром выделения цитокина (любой CRS) по сравнению с субъектами, у которых не развился CRS (без CRS) ($CD4^+$: **ФИГ. 12А**; $CD8^+$: **ФИГ. 12В**) или у субъектов, у которых развилась нейротоксичность (любая NT) по сравнению с субъектами у которых не развилась NT (без NT) ($CD4^+$: **ФИГ. 12С**; $CD8^+$: **ФИГ. 12D**).

На ФИГ. 13А и **13В** изображено количество пиков $CD3^+$ CAR^+ клеток/мкл ($CD3^+$ C_{max}) у субъектов, сгруппированных по субъектам с наилучшим общим ответом (BOR) CR, PR или PD или 3-месячным (M3) стойким ответом CR, PR или PD.

На **ФИГ. 14А** изображены уровни анализируемого вещества в крови перед противолимфомной терапией в образцах сыворотки от субъектов, которые демонстрируют высокое размножение CAR^+ клеток ($CD3^+$ C_{max} >500) и субъектов, которые демонстрируют низкое размножение CAR^+ клеток ($CD3^+$ C_{max} <500). На **ФИГ. 14В** изображены пиковые уровни анализируемого вещества в крови в образцах сыворотки от субъектов, которые демонстрируют высокое размножение CAR^+ клеток ($CD3^+$ C_{max} >500) и субъектов, которые демонстрируют низкое размножение CAR^+ клеток ($CD3^+$ C_{max} <500).

На **ФИГ. 15** изображен график, показывающий SPD ($см^2$) перед противолимфомной терапией против $ППК_{0-28}$ (клеток*день/мкл) $CD3^+$ CAR^+ клеток, для отдельных субъектов, которым вводили DL1 или DL2 CAR^+ клеток.

На **ФИГ. 16А** и **16В** изображены уровни анализируемого вещества в крови перед противолимфомной терапией в образцах сыворотки от субъектов у которых развился синдром выделения цитокина (CRS степень 1-4) по сравнению с субъектами у которых не развился CRS (CRS степень 0) (**ФИГ. 16А**) или у субъектов у которых развилась нейротоксичность (NT степень 0) по сравнению с субъектами у которых не развилась NT (NT степень 1-4) (**ФИГ. 16В**). Единицы: Ферритин и D-димер (мкг/л); CRP (мг/л) и цитокины (пг/мл).

На **ФИГ. 17** изображена оценка перед противолимфомной терапией параметра пациента суммы произведений измерений (SPD; $см^2$), являющегося показателем опухолевой нагрузки, и уровень лактатдегидрогеназы (LDH; Ед/л), у субъектов у которых развился синдром выделения цитокина (любой CRS) по сравнению с субъектами у которых не развился CRS (без CRS) ли у субъектов у которых развилась нейротоксичность (любая NT) по сравнению с субъектами у которых не развилась NT (без NT).

На **ФИГ. 18А** представлен график изображающий SPD ($см^2$) перед противолимфомной терапией против уровней LDH (Ед/л) перед противолимфомной терапией, у индивидуумов, у которых развилась нейротоксичность (Степень 1-4 NT) или субъектов, у которых не развилась NT (Степень 0 NT) (левая панель), и у индивидуумов, у которых развился CRS (Степень 1-4 CRS) или субъектов, у которых не развился CRS (Степень 0 CRS) (правая панель). Пунктирные линии представляют уровни SPD (50 $см^2$ или выше) или LDH (500 Ед/л или выше) которые ассоциированы с более высокими степенями CRS или NT. На **ФИГ. 18В** изображено оценки отношения шансов развития CRS или NT на основе уровней SPD (50 $см^2$ или выше) или LDH (500 Ед/л или выше) с 95% доверительными интервалами (CI). На **ФИГ. 18С** изображены оценки отношения шансов развития CRS или NT на основе уровней SPD или LDH, включая оценки отношения шансов для значений ниже пороговых, с 95% доверительными интервалами (CI).

На **ФИГ. 19** изображен параметр опухолевой нагрузки (SPD) перед противолимфомной терапией и уровни анализируемого вещества в крови для субъект, которые имеют устойчивый ответ через 3 месяца против субъектов, которые не имеют ответ через 3 месяца. Единицы: Ферритин и D-димер (мкг/л); CRP и SAA-1 (мг/л) и цитокины (пг/мл).

На **ФИГ. 20A** и **20B** изображены пиковые уровни анализируемого вещества в крови в образцах сыворотки от субъектов у которых развился синдром выделения цитокина (любой CRS) по сравнению с субъектами у которых не развился CRS (без CRS) (**ФИГ. 20A**) или у субъектов у которых развился нейротоксичность (любая NT) по сравнению с субъектами у которых не развился NT (без NT) (**ФИГ. 20B**). Единицы: CRP (мг/л), SAA-1 (мг/л) и цитокины (пг/мл).

На **ФИГ. 21A** изображены пиковые уровни анализируемого вещества в крови в образцах сыворотки от субъектов, которые имеют наилучший общий ответ (BOR) или полный ответ (CR) или частичный ответ (PR) (N=57) по сравнению с уровнями у субъектов, которые имеют стабильное заболевание (SD) или прогрессирующее заболевание (PD) (N=17). На **ФИГ. 21B** изображены пиковые уровни анализируемого вещества в крови в образцах сыворотки от субъектов, которые имели 3-месячный ответ SD/PD (N=31), по сравнению с субъектами, которые имели 3-месячный ответ CR/PR (N=35). Единицы: CRP (мг/л), SAA-1 (мг/л) и цитокины (пг/мл).

На **ФИГ. 22** изображена 3-месячная суммарная эффективность терапии (ORR) среди подгрупп подвергутых лечению субъектов, с 95% доверительным интервалом.

На **ФИГ. 23A** и **23B** изображена длительность ответа (DOR) для полной когорты (**ФИГ. 23A)** и основной когорты (**ФИГ. 23B)**, и на **ФИГ. 23C** и **23D** изображено общее выживание для полной когорты (**ФИГ. 23C)** и основной когорты (**ФИГ. 23D)**, для субъектов, которые достигают CR, PR, всех субъектов, которые показали ответ, пациентов с отсутствием клинического ответа и всех подвергутых лечению субъектов. Средний F/U составляет 6,3 месяца для длительности ответа.

На **ФИГ. 24** показана доля субъектов, которые имеют вызванные лечением побочные явления (TEAE) в полной когорте, возникающие у ≥20% пациентов. Данные для 5 пациентов с MCL, подвергутых лечению соответствующим продуктом при DL1 c, по меньшей мере, 28-дневным периодом наблюдения не включены. [b]: Один класс 5 AE с септическим шоком, не связанным с введением CAR^+ T клеток. [c]: Один класс 5 AE с диффузным альвеолярным повреждением, которое исследователь оценил как связанное с флударабином, циклофосфамидом и CAR^+ T клетками, возникающим на 23 у пациента, который отказался от искусственной вентиляции при прогрессирующей дыхательной недостаточности во время нейтропении, связанной с факторами роста и антибиотиками широкого спектра действия и противогрибковыми агентами. [d]: Лабораторные аномалии.

На **ФИГ. 25** показана доля субъектов, у которых развился CRS или нейротоксичность с течением времени, в полной когорте.

На **ФИГ. 26** показана блочная диаграмма, показывающая чистоту T клеток в композициях T клеток, обогащенных $CD4^+$ и $CD8^+$ T-клетками на разных стадиях процесса создания сконструированных клеток, содержащих CAR T клетки, который описан в Примере 8. Показана частота (% от общих лейкоцитов) $CD4^+$ и $CD8^+$ T-клеток в композициях.

На **ФИГ. 27A-27C** показаны блочные диаграммы, показывающие концентрацию

(**ФИГ. 27A**), жизнеспособность (**ФИГ. 27B**) и частоту каспаза-3 отрицательных (**ФИГ. 27C**) $CD4^+$ и $CD8^+$ CAR^+ Т клеток в терапевтических клеточных композициях с высоким и низким объемом состава.

На **ФИГ. 28A** показано количество $CD3^+$ CAR^+ Т клеток, присутствующих в композициях CAR Т клеток для введения при DL1 и DL2. На **ФИГ. 28B** показано количество $CD4^+CAR^+$ и $CD8^+CAR^+$ клеток, и $CD4^+CAR^+TNF\text{-}\alpha^+$ клеток и $CD8^+CAR^+TNF\text{-}\alpha^+$ клеток, присутствующих в композициях CAR Т клеток для введения при DL1 и DL2.

На **ФИГ. 29** показана доля субъектов, которые имеют вызванные лечение побочные явления (TEAE) в полной когорте, возникающие у ≥20% субъектов в момент исследования, описанный в примере 6. Данные для 6 субъектов с MCL, подвергутых лечению соответствующим продуктом при DL1 с, по меньшей мере, 28-дневным периодом наблюдения не включены. [b]: Один класс 5 AE с септическим шоком, не связанным с введением CAR^+ Т клеток, возникающим при прогрессировании заболевания. [c]: Один класс 5 AE с диффузным альвеолярным повреждением, которое исследователь оценил как связанное с флударабином, циклофосфамидом и CAR^+ Т клетками, возникающим на 23 у пациента, который отказался от искусственной вентиляции при прогрессирующей дыхательной недостаточности во время нейтропении, связанной с факторами роста и антибиотиками широкого спектра действия и противогрибковыми агентами. [d]: Лабораторные аномалии.

На **ФИГ. 30** изображена шести (6)-месячная суммарная эффективность терапии (ORR) среди подгрупп подвергутых лечению субъектов, с 95% доверительным интервалом. [a] Включены все субъекты, леченные на всех уровнях дозирования в Основной когорте.

На **ФИГ. 31A** и **31B** изображена длительность ответа (DOR) для полной когорты (**ФИГ. 31A**) и основной когорты (**ФИГ. 31B**), и на **ФИГ. 31C** и **31D** изображена общая выживаемость для полной когорты (**ФИГ. 31C**) и основной когорты (**ФИГ. 31D**), для субъектов, которые достигли CR, PR, всех субъектов, которые показали ответ, пациентов с отсутствием клинического ответа, and и всех подвергутых лечению субъектов. HO, не оценивается.

На **ФИГ. 32A-32F** показано применение разных параметров ресурса здравоохранения (средние койко-дни, средние дни в палате интенсивной терапии (ICU), % применения тоцилизумаба % сосудосуживающего фактора, применение интубации или диализа, средняя длительность госпитализации) у субъектов по группам: C_{max} равно или ниже 500 клеток/мкл или выше 500 клеток/мкл CAR^+ клеток/мкл (**ФИГ. 32A**); SPD равно или выше 50 $см^2$ или выше 50 $см^2$ (**ФИГ. 32B**); LDH равно или выше 500 единиц/л или выше 500 единиц/л (**ФИГ. 32C**); CRP равно или выше 10 мг/л и ферритин равно или выше 5000 нг/мл или CRP выше 10 мг/л и ферритин выше 5000 нг/мл (**ФИГ. 32D**), и стационарный режим или амбулаторный режим (**ФИГ. 32E-32F**).

На **ФИГ. 33** изображена средняя оценка преимущественно-взвешенного состояния здоровья для субъектов от исходного до 6 месяцев после вливания CAR^+ Т клеточных композиций.

На **ФИГ. 34** изображено среднее изменение от исходного для субъектов от исходного через 6 месяцев после вливания CAR^+ Т клеточных композиций.

На **ФИГ. 35** изображена доля субъектов с клинически значимыми изменениями оценки по Шкале оценки состояния здоровья от исходного через 6 месяцев после вливания CAR^+ Т клеточных композиций.

На **ФИГ. 36A-36E** показана доля пациентов, показывающих умеренные, тяжелые или крайне тяжелые проблемы с подвижностью (**ФИГ. 36A**), самообслуживанием (**ФИГ. 36B**), повседневной активностью **(ФИГ. 36C**), болью/дискомфортом (**ФИГ. 36D**) и тревогой/депрессией (**ФИГ. 36E**) от исходного до 6 месяцев после вливания CAR^+ Т клеточных композиций.

На **ФИГ. 37** показаны средние оценки общего состояния здоровья (EQ-VAS) для субъектов от исходного через 6 месяцев после вливания CAR^+ Т клеточных композиций.

На **ФИГ. 38** показано среднее изменение от исходного в EQ-VAS оценках для субъектов от исходного через 6 месяцев после вливания CAR^+ Т клеточных композиций.

На **ФИГ. 39** показано размножение CAR Т клеток по уровню дозы для уровня дозы 1 (DL1) и уровня дозы 2 (DL2).

На **ФИГ. 40** показаны способы идентификации Использования ресурсов здравоохранения (HRU) в даны наступления и исчезновения CRS и NE.

На **ФИГ. 41** показаны расходы на устройства, лекарственные средства и диагностику для субъектов с рецидивирующей и рефрактерной неходжкинской липомой после введения анти-CD19 CAR-экспрессирующих клеток.

На **ФИГ. 42** показаны дифференциальные профили экспрессии генов в биопсиях опухолей до лечения у субъектов, показывающих полный ответ (CR) или прогрессирующее заболевание (PD) через 3 месяца после лечения.

На **ФИГ. 43** показаны разные обогащенные группы генов с PD через 3 месяцев после лечения, включая гены, экспрессированные на более высоких уровнях в образцах клеточной линии диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL) по сравнению с образцами клеточной линии фолликулярной лимфомы (FL; FL_DLBCL_DN).

На **ФИГ. 44** показана дифференциальная экспрессия гена между биопсиями опухоли FL и биопсиями опухоли DLBCL.

На **ФИГ. 45A-45B** показана дифференциальная экспрессия гена типовых генов EZH2 (**ФИГ. 45A)** и CD3ε (**ФИГ. 45B**) между FL и DLBCL опухолями.

На **ФИГ. 46A** и **46B** показаны оценки анализа представленности групп генов одного образца (ssGSEA) между генами, найденными в повышенных количествах DLBCL (обозначенных «DLBCL группа генов»; **ФИГ. 46A**) в сравнении с FL (обозначенных «FL группа генов»; **ФИГ. 46B**) и субъектов, которые начали проявлять CR, или субъектов, которые начали проявлять PD, и показано, что субъекты, имеющие профили экспрессии опухолевых генов, более похожие на профили экспрессии гена, наблюдаемые при FL, по сравнению с теми, которые наблюдались при DLBCL, с большей вероятностью показали CR через 3 месяца после лечения.

На **ФИГ. 47** показан обзор исследований линий лечения, подтипов заболеваний и субпопуляций рецидивирующей/рефрактерной В-крупноклеточной лимфомы (R/R LBCL). DLBCL, диффузной В-крупноклеточной лимфомы; FL3B, фолликулярной лимфомы степени 3B; PMBCL, первичной В-крупноклеточной лимфомы средостения; RCT, рандомизированного контролируемого исследования; R/R, рецидивирующей/рефрактерной; SCNSL, вторичной лимфомы центральной нервной системы; [a] количество исследований, перечисленных на фигуре, превышает всего 78 из-за указания множества подгрупп в одних и тех же публикациях; [b] «смешанная популяция трансплантата» включает исследования, в которые включены и подходящие для трансплантата и не подходящие для трансплантата пациенты. «Смешанная популяция» включает исследования, где популяция была не определена.

На **ФИГ. 48** показан обзор субъектов, которым был сделан лейкаферез с последующим лечением CAR+ T клеточной терапии, и схему лечения применяли для оценки результата для всех уровней дозы DL1, DL1D, DL2 и DL3.

На **ФИГ. 49A-49C** изображена эффективность и результат ответа среди субъектов, у которых оценивали ответ, включая средний DOR (**ФИГ. 49A)**, средний PFS среди субъектов с CR **(ФИГ. 49B**), и средний OS среди субъектов достигших CR (**ФИГ. 49C).**

На **ФИГ. 50A-50B** изображены ответы, наблюдаемые среди подгрупп для всех оцениваемых субъектов и субъектов с ответом, включая долю пациентов с объективным ответом (**ФИГ. 50A**) и долю пациентов с полным объективным ответом (**ФИГ. 50B**).

На **ФИГ. 51A-51F** изображена длительность ответа среди подгрупп относительно выживания без прогрессирования (**FIG 51A**), по гистологической подгруппе (**ФИГ. 51B**), по переходной терапии (**ФИГ. 51C**), по чувствительному к химиотерапии против рефрактерного к химиотерапии статусу (**ФИГ. 51D**), по пре-LDC SPD статусу (**ФИГ. 51E**), по возрастной группе (**ФИГ. 51F**) и длительности ответа у субъектов с и без сопутствующих заболеваний (**ФИГ. 51G**).

На **ФИГ. 52A-52B** изображены ответы, оцениваемые как среднее (SE) изменение от исходного в общем состоянии здоровья(**ФИГ. 52A**) и физическом функционировании (**ФИГ. 52B**).

На **ФИГ. 53A-53B** изображены ответы, оцениваемые как среднее (SE) изменение от исходного в утомляемости (**ФИГ. 53A**) и боли (**ФИГ. 53B**).

На **ФИГ. 54A-54D** изображены результаты субъектов, оцениваемые для EORTC QLQ-C30 опросника, которые имеют клинически значимое улучшение, отсутствие изменения или ухудшения статуса, в областях, включающий общее состояние здоровья (**ФИГ. 54A**), физическое функционирование (**ФИГ. 54B**; за исключением 1 месяца), утомляемость (**ФИГ. 54C**) и боль (**ФИГ. 54D**).

На **ФИГ. 55A-55B** изображены ответы субъектов, оцениваемые для EORTC QLQ-C30 опросника, оцениваемые как среднее (SE) изменение от исходного для оценки показателя состояния здоровья (**ФИГ. 55A**) и EQ-VAS (**ФИГ. 55B**).

На **ФИГ. 56** изображены результаты для индивидуальных субъектов,

отслеживаемых стационарно и амбулаторно, оцениваемых на эффективность и объективный ответ.

На **ФИГ. 57** изображена доля субъектов с CRS, NE или обоими CRS и NE, которые получали тоцилизумаб, тоцилизумаб и стероиды, сосудосуживающее факторы или только стероиды.

На **ФИГ. 58** изображена вероятность продолжительного ответа и длительность ответа среди субъектов, оцениваемых на ответ среди пациентов с полным клиническим ответом (CR) и пациентов с частичным клиническим ответом (PR) с прежним периодом наблюдения вплоть до (95% CI) 12 месяцев (интервал 11.2-16,7).

На **ФИГ. 59** изображена доля пациентов с объективным ответом (ORR) и полным ответом (CR), с 95% доверительным интервалом, среди субъектов с разными клиническими характеристиками, включая возраст, подтип LBCL, применение промежуточной терапии, присутствия высокого беремени болезней, предшествующей HSCT и вторичной лимфомы ЦНС.

На **ФИГ. 60** изображена вероятность выживания без прогрессирования (PFS) для субъектов, оцениваемых по объективному ответу, включая пациентов с полным клиническим ответом (CR), пациентов с частичным клиническим ответом (PR), пациентов с отсутствием клинического ответа, и общего среднего.

На **ФИГ. 61** изображена вероятность общего выживания (OS) для субъектов, оцениваемых по объективному ответу, включая пациентов с полным клиническим ответом (CR), пациентов с частичным клиническим ответом (PR), пациентов с отсутствием клинического ответа, и общего среднего.

На **ФИГ. 62** изображено выживание без прогрессирования (PFS) по гистологическому подтипу, включая HGL, tFL, PMBCL, tiNHL и DLBCL, NOS.

На **ФИГ. 63** изображены клеточные кинетические параметры для CAR+ T клеток (CD19+ B клеток, CD3+ усеченного рецептора и трансгена), проанализированные кПЦР и проточной цитометрией к CD19+ B клеткам для 261 субъектов в день исследования.

На **ФИГ. 64** изображены клеточные кинетические параметры для CAR+ T клеток (CD3+, CD4+ и CD8+ усеченный рецептор +), апроанализированные в день исследования проточной цитометрией.

Подробное описание

I. СПОСОБЫ И ПРИМЕНЕНИЯ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ ГЕНЕТИЧЕСКИ СКОНСТРУИРОВАННЫМИ КЛЕТКАМИ

Представлены способы и применение сконструированных клеток (например, T клеток) и/или их композиций, для лечения субъектов, имеющих заболевание или состояние, которым обычно является или включает рак или опухоль, такая как лейкоз или лимфома, более конкретно, злокачественное образование из B-клеток или неходжкинская лимфома (NHL). В конкретных вариантах осуществления любого из представленных способов, T клетки сконструированы с химерным антигенным рецептором (CAR), который направлен против CD19. В некоторых аспектах, заболеванием или состоянием является B-клеточная

лимфома. В некоторых аспектах, заболевание или состояние является В-крупноклеточная лимфома. В некоторых аспектах, заболеванием или состоянием является диффузная В-крупноклеточная лимфома (DLBCL) или ее подтип. В некоторых аспектах, способы и применения представлены для получения улучшенного ответа и/или более стойких ответов или эффективности и/или пониженного риска токсичности или других побочных эффектов, например, в конкретных группах подвергутых лечению субъектов, по сравнению с определенными альтернативными способами. В некоторых вариантах осуществления, способы являются выгодными благодаря введению определенного количества или относительного количества сконструированных клеток, введению определенных соотношений определенных типов клеток, лечению определенных популяций пациентов, таких как группы с определенным профилем риска, стадиями и/или анамнезом предшествующего лечения и/или их комбинации.

Также представлены способы, которые включают оценку конкретных параметров, например, экспрессии определенных биомаркеров или анализируемых веществ, которая может коррелировать с развитием токсичности, и способами лечения, например, экспериментальной терапией, для профилактики и/или облегчения токсичности. Также представлены способы, которые включают оценку конкретных параметров, например, экспрессии определенных биомаркеров или анализируемых веществ, которая может коррелировать с результатом, таким как терапевтический результат, включая ответ, такой как полный ответ (CR) или частичный ответ (PR), который, в некоторых случаях, является устойчивым ответом, таким как ответ, который сохраняется в течение, по меньшей мере, 3 месяцев, 6 месяцев или более; или результатом по безопасности, таким как развитие токсичности, например, нейротоксичности или CRS, после введения иммунотерапии и/или клеточной терапии. Также представлены способы оценки вероятности ответа и/или вероятности риска токсичности, на основе оценки параметров, таких как экспрессия биомаркеров или анализируемых веществ. Также представлены композиции для применения в клеточной терапии. Также представлены готовые изделия и наборы, например, для применения в способах, представленных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления, готовые изделия и наборы также содержат инструкции по применению, согласно способам, представленным в настоящем документе.

В некоторых вариантах осуществления, способы и применения включают введение субъекту клеток, экспрессирующих генетически сконструированные (рекомбинантные) рецепторы клеточной поверхности, в адоптивной клеточной терапии, которые обычно являются химерными рецепторами, такими как химерные антигенные рецепторы (CAR), распознающие антиген, экспрессированный, ассоциированный с и/или специфический к лейкозу или лимфоме и/или типу клеток, из которого он получен. Клетки обычно вводят в композиции, составленной для введения; способы обычно включают введение одной или нескольких доз клеток субъекту, где доза(ы) могут включают конкретное количество или относительное количество клеток или сконструированных клеток, и/или определенное отношение или композиции двух или нескольких подтипов в композиции, например, CD4

и CD8 Т клеток.

В некоторых вариантах осуществления, клетки, популяции и композиции вводят субъекту, имеющему конкретное заболевание или состояние, подлежащее лечению, например, через адоптивную клеточную терапию, такую как адоптивная Т клеточная терапия. В некоторых вариантах осуществления, способы включают лечение субъекта, имеющего лимфому или лейкоз или злокачественное образование из В-клеток, такое как В-крупноклеточная лимфома или неходжкинская лимфома (NHL), дозой экспрессирующих антигенный рецептор клеток (например, CAR-экспрессирующих клеток).

В некоторых вариантах осуществления, представленные способы включают лечение определенной группы или подмножества субъектов, например, субъектов, идентифицированных как имеющие высокий риск NHL или высокий риск В-крупноклеточной лимфомы. В некоторых аспектах, способы лечат субъектов, имеющих форму агрессивной и/или В-клеточной неходжкинской лимфомы (NHL) с неблагоприятным прогнозом, такой как NHL, которая показала рецидив или является рефрактерной (R/R) к стандартной терапии и/или имеет неблагоприятный прогноз. В некоторых аспектах, способы лечат субъектов, которые имеют В-крупноклеточную лимфому, которая является рецидивирующей или рефрактерной (R/R) к стандартной терапии. В некоторых случаях, суммарная эффективность терапии (ORR; также известная в некоторых случаях как частота объективного ответа) для доступных терапий, для стандарта лечения (SOC) или для эталонной терапии для заболевания и/или популяции пациентов, которым назначена терапия, составляет менее чем 40%, и/или полный ответ (CR; также известный в некоторых случаях как полная ремиссия) составляет менее 20%. В некоторых вариантах осуществления, при химиорефрактерной DLBCL, ORR для эталонного или доступного лечения или стандартного лечения составляет примерно 26% и CR составляет примерно 8% (Crump et al. Outcomes in refractory aggressive diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): Results from the international SCHOLAR study. ASCO 2016 [Abstract 7516]). В некоторых аспектах, представленные способы, композиции, применения и готовые изделия дают улучшенные и превосходные ответы на доступные терапии. В некоторых вариантах осуществления, улучшенные или превосходные ответы дает текущий стандарт лечения (SOC). В некоторых вариантах осуществления, текущий SOC для лечения злокачественных образований из В клеток, таких как В-клеточная NHL, неходжкинская лимфома (NHL), включают вплоть до 3 циклов любых из ритуксимаба, дексаметазона, цитарабина (AraC) и цисплатина (R-DHAP), ритуксимаба, ифосфамида, карбоплатина и этопозида (R-ICE), или ритуксимаба, гемцитабина, дексаметазона и цисплатина (R-GDP), затем кармустина, этопозида, цитарабина и мелфалана (BEAM) в качестве высокодозной химиотерапии и трансплантат гемопоэтических стволовых клеток (HSCT) у отвечающих субъектов (см., например, Crump et al., J Clin Oncol. 2014; 32(31):3490-6; Gisselbrecht, et al., J Clin Oncol. 2010;28(27):4184-90; van Imhoff et al., J Clin Oncol. 2017;35(5):544-51).

В-крупноклеточная лимфома (LBCL) является наиболее частым типом неходжкинской лимфомы (NHL). Начальное лечение является вылечивающим у

приблизительно 60% субъектов; однако, приблизительно 30% субъектов имеют рецидив, и приблизительно 10% являются рефрактерными к начальному лечению. Лечение для субъектов с рецидивирующим/рефрактерным (R/R) заболеванием, особенно в качестве терапии третьей линии или более (3L+), преимущественно включают резервные химиотерапии (CT). Два Т клеточных продукта химерного антигенного рецептора (CAR) и конъюгат антитело-лекарственное средство были одобрены как терапия третьей линии. Неудовлетворенные медицинские потребности в терапии второй линии и более (2L+) или 3L+ для R/R LBCL идентифицированы на основе систематического обзора литературы (SLR) с доказательствами по клиническим результатам у субъектов с LBCL, включая новые терапии, перечисленные выше.

На основе типового SLR, проведенного в соответствии с Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions and European Union Health Technology Assessment требованиями к скринингу 8683 записей баз данных и дополнительных источников, были идентифицированы 103 публикации, покрывающие 78 уникальных исследований. Обзор идентифицированных рандомизированных и не рандомизированных/обзорных исследований для R/R LBCL, включая диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL), фолликулярную лимфому степени 3В (FL3B), первичную В-крупноклеточную лимфому средостения (PMBCL), DLBCL трансформированную из вялотекущих лимфом, и R/R DLBCL с вторичным вовлечением центральной нервной системы (SCNS). Проверенные источники включают EMBASE, MEDLINE, The Cochrane Library и клинические конференции (ASCO, ESMO, EHA, ASH, ICML, AACR и EORTC). Типовая схема, представляющая SLR, изображена на **ФИГ. 47**. Идентифицированные исследования были охарактеризованы по линии лечения и подтипу R/R LBCL. Были описаны OS, PFS, DOR, OR и безопасность, наблюдаемые в идентифицированных исследованиях. Подтипы заболевания, критерии включения субъектов в исследование и длительность периода наблюдения значительно варьировалась в разных исследованиях.

На основе типового SLR, в исследовании 3L+ популяции, 11 резервных CT и 2 CAR T клеточных терапий были показаны результаты выживания. При резервной CT, описанный ORR по исследованиям варьировался от 0% до 54%, в то время как CR варьировался 5,6%-31%. Средний OS (mOS) варьировался 3-9 месяцев, при этом в одном отдаленном исследовании указывался mOS 20 месяцев. Средний PFS (mPFS), описанный для исследований резервной CT, варьировался 2-6 месяцев. Среди CAR T клеточных терапий, субъекты, леченные анти-CD19 CAR T клеточной терапией (n=101), показали частоту CR 58% и средний DOR (mDOR) составлял 11,1 месяцев после среднего периода наблюдения вплоть до 27,1 месяцев. mPFS составляет 5,9 месяцев и mOS не достигается. При среднем периоде наблюдения 19,3 месяцев, субъекты, леченные другой анти-CD19 CAR T клеточной терапией (n=115) имели CR 40%, но mDOR не достигался. mOS составлял 11,1 месяцев для всех пациентов, получивших инфузию.

В 2L+ популяции, соответствующей критериям трансплантации (36 исследований), субъекты, которые получали высокодозную CT+HSCT, достигали mOS от 9 месяцев до 5

лет. В не соответствующей критериям трансплантации популяции, 16 исследований показали mOS 3-20 месяцев. Исследования, включающие смешанные популяции, соответствующие и не соответствующие критериям трансплантации (30 исследований), показали mOS 1-17 месяцев.

Было обнаружено, что несколько исследований с ограниченными размерами образца, показали результаты в подтипах LBCL (например, PMBCL, SЦНС лимфоме, DLBCL трансформированной из не-FL вялотекущей лимфоме, FL3B). Для параметра 3L+, 1 исследование показало, что mOS не достигался после середины 6,6 месяцев. Для параметра 2L+, 4 исследования показали mPFS и mOS результаты, варьирующиеся между 2-9 месяцев и 10-16 месяцев, соответственно.

Среди исследований, оценивающих безопасность резервной химиотерапии при R/R LBCL, нейтропения, лейкоцитопения, тромбоцитопения и инфекции были наиболее частыми нежелательными событиями (AE), причем нейтропения была наиболее часто сообщаемой. Среди 3 исследований, сообщающих о результатах безопасности CAR T-клеточной терапии, данные показали, что чаще всего сообщается о гематологических AE (возможно, связанных с противолимфомной CT), синдромом выделения цитокина и нейротоксичностью.

На основе типовых исследований, менее 50% пациентов с рецидивирующей/рефрактерной B-крупноклеточной лимфомой (LBCL) достигали ответа на третью линию или последующее лечение (Van Den Neste et al. Bone Marrow Transplant. 2016;51:51-7; Gonzalez-Barca E et al. Bone Marrow Transplant 2019). Высокодозная химиотерапия аутологичным трансплантатом гемопоэтических стволовых клеток (HSCT) остается стандартным лечением при первом рецидиве у пациентов, соответствующих критериям трансплантации, с чувствительным к химиотерапии заболеванием (National Comprehensive Cancer Network Clinical Practice Guidelines in Oncology. March 6, 2019), но большинство пациентов не вылечивались при этом подходе (Van Den Neste et al. Bone Marrow Transplant. 2016;51:51-7; Gonzalez-Barca E et al. Bone Marrow Transplant 2019, National Comprehensive Cancer Network Clinical Practice Guidelines in Oncology. March 6, 2019, Gisselbrecht C et al. J Clin Oncol. 2010; 28:4184-90). В некоторых исследованиях, результаты были хуже у субъектов с рефрактерным к химиотерапии заболеванием, с частотой полного ответа (CR) га обычное лечение 7% и общим выживанием (OS) 6 месяцев. (Crump et al. Blood. 2017;130:1800-8). Побочные эффекты были ассоциированы со старшим возрастом, вовлечением центральной нервной системы (ЦНС) (Thanarajasingam et al. Br J Haematol. 2018;183:149-52; Nabhan et al. J Clin Oncol. 2018; 36:7545) и сопутствующими заболеваниями (Pfreundschuh Blood. 2010;116:5103-10).

Определенные CD19-направленные CAR-T клеточные терапии доступны для лечения B-клеточной лимфомы, включая аксикабтаген цитотейцел (axi-cel) и трисагенлеклейцел. В одном типовом исследовании, субъекты, леченные axi-cel, достигали частоты CR (на исследователя) 54%, с 40% в устойчивой ремиссии (средний период наблюдения, 15,4 месяцев) (Neelapu et al. N Engl Med. 2017. 377;2531-44). У большинства

субъектов развился CRS (93%) и NE (64%), при среднем времени до наступления от 2 до 5 дней, соответственно, и CRS степени ≥3 (критерии классификации Ли (Lee et al. Blood. 2014;124:188-95)) и NE возникали у 13% и 28%, соответственно, и 43% получали тоцилизумаб (27% получали кортикостероиды). В другом типовом исследовании, приблизительно треть пациентов, которые получали трисагенлеклейцел, сохраняли стойкую ремиссию в течение 1 года (Schuster et al. N Engl J Med. 2019. 380:45-56). У большинства субъект (58%) развился CRS, и 21% имели NE. CRS степени ≥3 (критерии классификации Пенна, Porter et al. J Hematol Oncol. 2018;11:35) и NE сообщались у 22% и 12% пациентов, соответственно (Schuster et al. N Engl J Med. 2019. 380:45-56). Кроме того, эти терапии не включают лечение определенных пациентов с высоким риском, включая пациентов с PMBCL, DLBCL, трансформированной из вялотекущей лимфомы, отличной от FL, FL3B, и пациентов с определенными характеристиками высокого риска, такими как вторичная ЦНС лимфома, умеренные почечные/сердечные сопутствующие заболевания и потребность в промежуточной терапии.

SLR и изучение имеющихся доказательств продемонстрировали важную и высокую неудовлетворенную потребность в дополнительных терапевтических вариантах, которые обеспечивают благоприятное соотношение польза/риск и устойчивый ответ, которая не удовлетворяется доступными терапиями для субъектов с 2L+ и 3L+ LBCL. Кроме того, ограниченные данные были доступны для более редких подтипов LBCL. Эти открытия выявили важные пробелы в лечении R/R LBCL, которые необходимо устранить, а также необходимость улучшения существующих способов лечения. В настоящем документе представлены варианты осуществления, которые могут удовлетворить такие потребности.

В некоторых вариантах осуществления способы, применения и готовые изделия включают, или используются для лечения субъектов включая, выбор или идентификацию конкретной группы или подгруппы субъектов, например, на основе конкретных типов заболевания, диагностических критериев, предшествующего лечения и/или ответа на предшествующее лечение. В некоторых вариантах осуществления, способы включают лечение субъекта, имеющего рецидив после ремиссии после лечения, или ставшего рефрактерным к одной или нескольким предшествующим терапиям; или субъекта, который имеет рецидив или является рефрактерным (R/R) к одной или нескольким предшествующим терапиям, например, одной или нескольким линиям стандартной терапии.

В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет злокачественное образование из В-клеток, такое как В-клеточная лимфома и/или неходжкинская лимфома (NHL). В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет злокачественное образование из В-клеток, такое как В-крупноклеточная лимфома, например, рецидивирующая/рефрактерная (R/R) В-крупноклеточная лимфома. В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет В-крупноклеточную лимфому, такую как диффузная В-крупноклеточная лимфома (DLBCL) (например, DLBCL не определенная иным образом (NOS; de novo или трансформированная из вялотекущей) ли другая DLBCL). В некоторых вариантах

осуществления, субъект имеет первичную В-клеточную лимфому стредостения (PMBCL) или фолликулярную лимфому, такую как фолликулярная лимфома степени 3B (FL3B). В некоторых аспектах, В-клеточная лимфома является или включает диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL), фолликулярную лимфому или PBMCL. В некоторых аспектах, субъект имеет DLBCL, которая является DLBCL, не определенной иным образом (NOS). В некоторых вариантах осуществления, лимфома, такая как DLBCL, является de novo. В некоторых вариантах осуществления, лимфома, такая как DLBCL, является трансформированной из другой вялотекущей лимфомы. В некоторых вариантах осуществления, лимфома, такая как DLBCL, является трансформированной из фолликулярной лимфомы (tFL). В некоторых из любых вариантов осуществления, субъект имеет фолликулярную лимфому (FL).

В конкретных вариантах осуществления, способы, представленные в настоящем документе, основаны на введении CD19-направленной CAR T клеточной терапии, в которой CAR содержит CD19-направленный scFv антигенсвязывающий домен (например, из FMC63). CAR дополнительно содержит внутриклеточный сигнальный домен, содержащий сигнальный домен из CD3дзета, а также включает 4-1BB костимулирующий домен, который ассоциирован с низким количеством случаев CRS и NE по сравнению с CD28-содержащими конструкциями (Lu et al. J Clin Oncol. 2018;36:3041). В некоторых вариантах осуществления, способы, представленные в настоящем документе, включают подмножества CD8+ и CD4+ Т-клеток, которые трансдуцируют и размножают по отдельности in vitro, и вводят в равных (примерно 1:1) таргетных дозах. В некоторых вариантах осуществления, существует низкая вариабельность во вводимых дозах общих и CD8+ CAR+ Т-клеток, два параметра, ассоциированные с повышенной токсичностью в предыдущих исследованиях (Neelapu et al. N Engl Med. 2017. 377;2531-44; Turtle et al. Sci Transl Med. 2016;8:355ra116; Hay et al. Blood. 2017;130:2295-306).

В конкретных вариантах осуществления, представленные способы могут применяться для лечения конкретных подптипов LBCL или групп высокого риска, таких как пожилые пациенты, и таких, у которых имеются сопутствующие заболевания или вовлечение ЦНС, у которых доступные методы лечения ограничены. Например, существующие CAR T клеточные терапии ассоциированы с тяжелой токсичностью, связанной с CAR Т-клетками, включая синдром выделения цитокина (CRS) и неврологические события (NE), которая может ограничивать введение в специализированном центре лечения (Yescarta Risk Evaluation and Mitigation Strategy (REMS). Gilead Pharma September 10, 2019; Kymriah Risk Evaluation and Mitigation Strategy (REMS) Novartis September 10, 2019) и влияет на применение у трудноизлечимых пациентов. CAR Т-клеточные терапии с благоприятным отношением польза/риск, особенно с высокой эффективностью и низким числом тяжелых CRS и NE, могут позволить расширить включение подгрупп субъектов и амбулаторное введение/отслеживание.

В конкретных вариантах осуществления, представленные способы дают благоприятные результаты у субъектов с LBCL, включая определенных субъектов, которых

ранее исключали из лечения другими терапиями, включая другие анти-CD19 CAR-T клеточные терапии. Лечение CD19-направленными CAR T клетками у субъектов с LBCL в группе субъектов, показанной в настоящем документе, дает устойчивые ответы, включая ответы, ассоциированные с повышенным размножением CAR T-клеток in vivo, и CAR T клетками, сохраняющимися длительное время после инфузии. В некоторых вариантах осуществления, представленные способы демонстрируют благоприятные результаты у тяжело предварительно подвергутых лечению пациентов с агрессивным заболеванием с высокой степенью риска, включая пациентов, которые были рефрактерными к химиотерапии или требовали немедленного лечения для контроля заболевания промежуточной терапией. Наблюдения в настоящем документе поддерживают лечение субъектов с агрессивным заболеванием с высокой степенью риска CD19-направленной CAR T клеточной терапией в соответствии с представленными способами. Например, субъекты с PMBCL, DLBCL, трансформированной из вялотекущей лимфомы, отличной от FL, FL3B, и пациенты с определенными признаками высокого риска, такими как вторичная ЦНС лимфома, умеренные почечные/сердечные сопутствующие заболевания, и необходимость в промежуточной терапии, могут быть лечены в соответствии с представленными способами. В некоторых вариантах осуществления, представленные способы могут применяться для лечения субъектов, которые тяжело лечились (например, двумя, тремя или более предшествующими терапиями для лечения заболевания). Среди подгрупп, которые могут быть лечены представленными способами, также находятся более старшие подгруппы в возрасте более чем или равном 65 лет, включая возраст >75 лет. Наблюдения в настоящем документе демонстрируют, что ORR и CR, включая устойчивые ответы, наблюдались во всех подгруппах при низком количестве случаев тяжелых CRS и NE.

В некоторых вариантах осуществления, менее чем у половины всех субъектов, подвергутых лечению способами, представленными в настоящем документе, развивается CRS или NE. В некоторых вариантах осуществления, количество случаев CRS степени ≥3 и NE является низким (2% и 10%, соответственно), и никаких фатальных CRS или NE не возникало в группе подвергутых лечению субъектов, как описано в Примерах. В некоторых вариантах осуществления, низкое общее количество случаев и тяжесть CRS и NE, вместе с их поздним наступлением (в среднем, 5 и 9 дней, соответственно), поддерживают амбулаторное введение/отслеживание у выбранных субъектов. В некоторых вариантах осуществления, результаты безопасности и эффективности у субъектов, которые получали CAR T клеточные композиции в амбулаторном режиме, были аналогичными для всей леченной популяции. В некоторых вариантах осуществления, Т клеточная терапия с химерным антигенным рецептором (CAR) в общем была ограничена стационарным лечением в медицинских центрах университета; однако, большинство пациентов в США с рецидивирующей/рефрактерной (R/R) диффузной В-крупноклеточной лимфомой (DLBCL) получали терапию в медицинских центрах, не относящихся к университету, где амбулаторное проведение противораковой терапии является принятым. В некоторых

вариантах осуществления любых способов, представленных в настоящем документе, вливание и управление CAR T клеточными терапиями в амбулаторном режиме приводит к более широкому применению в общинных/не университетских центрах и улучшает доступ.

В некоторых вариантах осуществления, лечение любым из способов, представленных в настоящем документе, приводит к высокому уровню устойчивого CR и низкой частоте тяжелых CRS и NE среди субъектов с агрессивной рецидивирующей/рефрактерной LBCL с высоким риском в этом исследовании. В некоторых вариантах осуществления, клинически значимая активность наблюдается в подгруппах субъектов с неудовлетворенной медицинской потребностью, включая необычные гистологические подтипы LBCL и подтипы с плохими прогностическими характеристиками. В некоторых вариантах осуществления, низкая частота случаев тяжелых CRS и NE и более позднее время начала позволяет осуществлять амбулаторное введение/отслеживание. В некоторых вариантах осуществления, уникальный профиль риск/польза любого из способов, представленных в настоящем документе, может позволить большее включение пациентов и потенциальных участков оказания помощи.

В некоторых вариантах осуществления, способы включают лечение субъекта, который имеет статус Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status (ECOG) 0-1 или 0-2. В некоторых вариантах осуществления, способы лечат популяцию пациентов с плохим прогнозом или субъекта, который обычно плохо реагирует на терапии или конкретные эталонные терапии, такого, который имеет одну или несколько, например, две или три хромосомных транслокаций (так называемая «двойная» или «тройная» лимфома; имеющая транслокации MYC/8q24 локусов, обычно в комбинации с хромосомными транслокациями t(14;18)(q32;q21)bcl-2 гена и/или BCL6/3q27; см., например, Xu et al. (2013) Int J Clin Exp Pathol. 6(4): 788-794), и/или такого, который имеет рецидивирующую, например, рецидивирующую в течение 12 месяцев, после введения трансплантата аутологичных стволовых клеток (ASCT), и/или такого, который считается химиорефрактерным.

В некоторых аспектах, представленные варианты осуществления основаны на наблюдениях, что представленные способы могут применяться для достижения высокой частоты ответа с высокой устойчивостью по сравнению с определенными доступными способами клеточной терапии, без повышенного риска токсичности. В некоторых вариантах осуществления, представленные способы позволяют пролонгированную персистенцию адоптивно перенесенных клеток для клеточной терапии, и/или низкую степень развития токсичности у субъекта. В некоторых вариантах осуществления, способы могут применяться для выбора субъектов для лечения клеточной терапией, который вероятно или более вероятно ответит на терапию, и/или для определения подходящих доз или схемы дозирования для большей частоты ответа и/или более стойкого ответа, при этом минимизируя риск токсичности. В некоторых аспектах, представленные варианты осуществления основаны на наблюдениях, что субъекты, которые демонстрируют улучшенный ответ, такой как полный ответ (CR), демонстрируют уровни экспрессии генов,

которые ассоциированы с уровнями экспрессии генов, которые более похожи на таковые при фолликулярной лимфоме (FL) по сравнению с диффузной В-крупноклеточной лимфомой (DLBCL). Представленные варианты осуществления и такие способы могут использоваться в рациональных стратегиях, способствующих безопасному и эффективному клиническому применению адоптивной клеточной терапии, такой как CAR-T клеточная терапия.

В некоторых аспектах, субъект имеет не соответствующую критериям трансплантации (TNE) лимфому, например, субъект не соответствует критериям высокодозной химиотерапии и трансплантатации гемопоэтических стволовых клеток (HSCT). В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет TNE рецидивирующую/рефрактерную (R/R) агрессивную В-крепноклеточную NHL. В некоторых аспектах, субъекты с R/R агрессивной В-крупноклеточной NHL, у которых не имунохимиотерапия первой линии была неудачной, и которые не соответствуют критериям высокодозной химиотерапии и трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (HSCT), имеют неблагоприятный прогноз. В некоторых аспектах, доступные методы лечения для таких субъектов включают схему на основе платны/гемцитабина или бендамустина в комбинации с ритуксимабом, с или без радиотерапии. Однако, в некоторых аспектах, долговременные результаты доступных терапий остаются плохими из-за отсутствия излечивающей опции. Представленные способы предлагают улучшенное лечение таких субъектов.

В некоторых вариантах осуществления, представленные варианты осуществления предлагают преимущество улучшений качества жизни, связанного с состоянием здоровья (HRQoL), что отмечено субъектами, получающими представленную CAR-экспрессирующую Т клеточную терапию. В некоторых аспектах, в начале курса лечения, например, в течение 1 месяца после введения, субъект все еще может восстанавливаться после введения и неблагоприятных событий (например, токсичности), связанных с введением клеточной терапии. Было замечено, что представленные способы и применения клеточной терапии приводят к заметному улучшению HRQoL, сообщаемому пациентом, особенно в долгосрочной перспективе (через 12 месяцев или после введения клеточной терапии). Представленные способы предлагают улучшенный результат лечения, в том числе улучшенный HRQoL, для различных субъектов.

В некоторых вариантах осуществления, антигенный рецептор (например CAR) специфически связывается с антигеном-мишенью, ассоциированным с заболеванием или состоянием, например, ассоциированным со злокачественным образованием из В-клеток, таким как В-крупноклеточная лимфома или NHL. В некоторых вариантах осуществления, антиген, ассоциированный с заболеванием или расстройством, выбран из CD20, CD19, CD22, ROR1, CD45, CD21, CD5, 3, Igкаппа, Iglямбда, CD79a, CD79b или 0. В некоторых вариантах осуществления, антигеном, ассоциированным с заболеванием или расстройством, таким как злокачественное образование из В-клеток, такое как В-крупноклеточная лимфома, является CD19.

В некоторых вариантах осуществления, способы включают агент или другое лечение, способное лечить, предотвращать, замедлять, снижать или ослаблять развитие или риск развития токсичности для применения в способе снижения токсичности после введения клеточной терапии, где способ содержит (a) оценку одного или нескольких параметров у субъекта, где один или несколько параметров выбраны из уровня, количества или концентрации ферритина или С-реактивного белка (CRP) в биологическом образце от субъекта; где субъект является кандидатом для лечения клеточной терапией, где указанная клеточная терапия содержит дозу генетически сконструированных клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор; и где оценку проводят до введения клеточной терапии и/или указанный биологический образец или опухоль не содержит рекомбинантный рецептор и/или указанные сконструированные клетки; (b) идентификацию того, имеет ли субъект риск токсичности, где субъект имеет риск токсичности, если один или несколько параметров превышают пороговый уровень, и субъект не имеет риск токсичности, если один или несколько параметров равен или ниже порогового уровня, (c) после или на основе результатов оценки, введение субъекту клеточной терапии.

В некоторых вариантах осуществления, способы включают клеточную терапию для применения в способе лечения, где способ включает введение субъекту клеточной терапии, где указанный субъект был идентифицирован как имеющий риск развития токсичности, где идентификация субъекта включает:(a) оценку одного или нескольких параметров у субъекта, где один или несколько параметров выбраны из уровня, количества или концентрации LDH, ферритина или С-реактивного белка (CRP) в биологическом образце от субъекта, опухоли у субъекта; где субъект является кандидатом для лечения клеточной терапией, указанная клеточная терапия содержит дозу генетически сконструированных клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор; и где оценку проводят до введения клеточной терапии и/или указанный биологический образец или опухоль не содержит рекомбинантный рецептор и/или указанные сконструированные клетки; и (b) идентификацию того, имеет ли субъект риск токсичности где субъект имеет риск токсичности, если один или несколько параметров превышают пороговый уровень, и субъект не имеет риск токсичности, если один или несколько параметров равен или ниже порогового уровня, где: (i) параметром является ферритин, и пороговый уровень составляет выше точно или примерно 1000 нанограммов на миллилитр, 2000 нанограммов на миллилитр, 3000 нанограммов на миллилитр, 4000 нанограммов на миллилитр, 5000 нанограммов на миллилитр, 6000 нанограммов на миллилитр, 7000 нанограммов на миллилитр или 8000 нанограммов на миллилитр; и/или (ii) параметром является CRP, и пороговый уровень составляет выше точно или примерно 5 миллиграммов на литр, 10 миллиграммов на литр, 15 миллиграммов на литр, 20 миллиграммов на литр, 25 миллиграммов на литр, 30 миллиграммов на литр, 40 миллиграммов на литр или 50 миллиграммов на литр; и где (c) после или на основе результатов оценки, введение субъекту клеточной терапии, и, необязательно, агента или другого лечения, способного лечить,

предотвращать, замедлять, снижать или ослаблять развитие или риск развития токсичности.

Агент или другое лечение, способное лечить, предотвращать, замедлять, снижать или ослаблять развитие или риск развития токсичности для применения в способе лечения, где способ включает введение субъекту агента или другого лечения, где указанный субъект был идентифицирован как имеющий риск развития токсичности, где идентификация субъекта включает: (a) оценку одного или нескольких параметров у субъекта, где один или несколько параметров выбраны из уровня, количества или концентрации ферритина или С-реактивного белка (CRP) в биологическом образце от субъекта; где субъект является кандидатом для лечения клеточной терапией, указанная клеточная терапия содержит дозу генетически сконструированных клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор; и где оценку проводят до введения клеточной терапии и/или указанный биологический образец или опухоль не содержит рекомбинантный рецептор и/или указанные сконструированные клетки; и (b) идентификацию того, имеет ли субъект риск токсичности где субъект имеет риск токсичности, если один или несколько параметров превышают пороговый уровень, и субъект не имеет риск токсичности, если один или несколько параметров равен или ниже порогового уровня, где: (i) параметром является ферритин, и пороговый уровень составляет выше точно или примерно 1000 нанограммов на миллилитр, 2000 нанограммов на миллилитр, 3000 нанограммов на миллилитр, 4000 нанограммов на миллилитр, 5000 нанограммов на миллилитр, 6000 нанограммов на миллилитр, 7000 нанограммов на миллилитр или 8000 нанограммов на миллилитр; и/или (ii) параметром является CRP, и пороговый уровень составляет выше точно или примерно 5 миллиграммов на литр, 10 миллиграммов на литр, 15 миллиграммов на литр, 20 миллиграммов на литр, 25 миллиграммов на литр, 30 миллиграммов на литр, 40 миллиграммов на литр или 50 миллиграммов на литр; и где (c) после или на основе результатов оценки, введение субъекту клеточной терапии и агента или другого лечения, способного лечить, предотвращать, замедлять, снижать или ослаблять развитие или риск развития токсичности.

Агент или другое лечение, способное лечить, предотвращать, замедлять, снижать или ослаблять развитие или риск развития токсичности для применения в способе снижения токсичности после введения клеточной терапии, где способ содержит: (a) оценку одного или нескольких параметров у субъекта, где один или несколько параметров выбраны из уровня, количества или концентрации ферритина или С-реактивного белка (CRP) в биологическом образце от субъекта; где субъект является кандидатом для лечения клеточной терапией, указанная клеточная терапия содержит дозу генетически сконструированных клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор; и где оценку проводят до введения клеточной терапии и/или указанный биологический образец или опухоль не содержит рекомбинантный рецептор и/или указанные сконструированные клетки; и (b) идентификацию того, имеет ли субъект риск токсичности где субъект имеет риск токсичности, если один или несколько параметров превышают пороговый уровень, и субъект не имеет риск токсичности, если один или несколько параметров равен или ниже порогового уровня, где: (i) параметром является ферритин, и пороговый уровень составляет

выше точно или примерно 1000 нанограммов на миллилитр, 2000 нанограммов на миллилитр, 3000 нанограммов на миллилитр, 4000 нанограммов на миллилитр, 5000 нанограммов на миллилитр, 6000 нанограммов на миллилитр, 7000 нанограммов на миллилитр или 8000 нанограммов на миллилитр; и/или (ii) параметром является CRP, и пороговый уровень составляет выше точно или примерно 5 миллиграммов на литр, 10 миллиграммов на литр, 15 миллиграммов на литр, 20 миллиграммов на литр, 25 миллиграммов на литр, 30 миллиграммов на литр, 40 миллиграммов на литр или 50 миллиграммов на литр; и где (c) после или на основе результатов оценки, введение субъекту клеточной терапии и агента или другого лечения, способного лечить, предотвращать, замедлять, снижать или ослаблять развитие или риск развития токсичности.

В некоторых вариантах осуществления, способы включают введение клеток или композиции, содержащей клетки субъекту, в ткань или клетку, которые имеют, подвержены риску или подозреваются в наличии заболевания, состояния или расстройства. В некоторых вариантах осуществления, субъектом является взрослый субъект. В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет возраст точно или примерно 30, 40, 50, 60 или 70 лет.

В некоторых вариантах осуществления, способы включают введение клеток субъекту, выбранному или идентифицированному как имеющий определенный прогноз или риск злокачественного образования из B-клеток, такого как B-крупноклеточная лимфома (например, DLBCL). В некоторых вариантах осуществления, способы включают введение клеток субъектом, выбранным или идентифицированным как имеющий неходжкинскую лимфому (NHL). Лимфомы, такие как неходжкинская лимфома (NHL) или B-крупноклеточные лимфомы, могут быть вариабельными заболеваниями. Некоторые субъекты с NHL могут выживать без лечения, а другие могут потребовать немедленного вмешательства. В некоторых случаях, субъекты с NHL могут быть классифицированы на группы, которые определять прогноз заболевания и/или рекомендованную стратегию лечения. В некоторых случаях, эти группы могут иметь «низкий риск», «умеренный риск», «высокий риск» и/или «очень высокий риск», и пациенты могут быть классифицированы как таковые в зависимости от количества факторов, включающих но не ограниченных ими, генетические аномалии и/или морфологические или физические характеристики. В некоторых вариантах осуществления, субъекты, леченные способами и/или готовыми изделиями или композициями, классифицированы или идентифицированы на основе риска NHL. В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет высокий риск NHL.

В некоторых вариантах осуществления, субъект ранее получал терапию или терапевтический агент, направленный на заболевание или состояние, например, B-крупноклеточную лимфому или NHL, до введения клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор. В некоторых вариантах осуществления, субъект ранее получал лечение трансплантатом гемопоэтических стволовых клеток (HSCT), например, аллогенным HSCT или аутологичным HSCT. В некоторых вариантах осуществления, субъект имел неблагоприятный прогноз после лечения стандартной терапией и/или имел неудачное лечение одной или несколькими линиями предшествующей терапии. В

некоторых вариантах осуществления, субъект был лечен или ранее получал, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно или примерно 1, 2, 3 или 4 другие терапии для лечения заболевания или расстройства, такого как В-крупноклеточная лимфома или NHL, отличные от противолимфомной терапии и/или дозы клеток, экспрессирующих антигенный рецептор. В некоторых вариантах осуществления, субъект был лечен или ранее получал терапию, которая включает антрациклин, CD20 таргетный агент и/или ибрутиниб.

В некоторых вариантах осуществления, субъекта ранее лечили химиотерапией или радиационной терапией. В некоторых аспектах, субъект является рефрактерным или не восприимчивым к другой терапии или терапевтическому агенту. В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет трудноизлечимое или рецидивирующее заболевание, например, после лечения другой терапией или терапевтическим вмешательством, включая химиотерапию или радиацию.

В некоторых вариантах осуществления, субъектом является такой, который отвечает критериям трансплантации, например, отвечает критериям трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (HSCT), *например*, аллогенного HSCT. В некоторых вариантах осуществления, субъектом является такой, который отвечает критериям трансплантации, например, отвечает критериям трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (HSCT), *например*, аутологичного HSCT. В некоторых таких вариантах осуществления, субъект ранее не получал трансплантат, несмотря на соответствие критериям, до введения сконструированных клеток (например CAR-T клеток) или композиции, содержащей клетки, субъекту, как представлено в настоящем документе.

В некоторых вариантах осуществления, субъектом является такой, который не отвечает критериям трансплантации (также известный как не отвечающий критериям трансплантации, TNE), например, не отвечает критериям трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (HSCT), *например*, аллогенного HSCT. В некоторых вариантах осуществления, такому субъекту вводят сконструированные клетки (например CAR-T клетки) или композицию, содержащую клетки согласно вариантам осуществления, представленным в настоящем документе.

В некоторых вариантах осуществления, субъектом является такой, который не отвечает критериям трансплантации гемопоэтических стволовых клеток из-за того, что субъект отвечает, по меньшей мере, одному из следующих критериев: возраст $\geq$70 лет, ECOG PS 2 и/или ухудшенная легочная (DLCO $\leq$60%, но SaO_2 $\geq$92% при комнатном воздухе и CTCAE $\leq$1 дипноэ), сердечная (LVEF $\geq$40% и <50%), почечная (клиренс креатинина >30 и <60 мл/мин) или печеночная функция (AST/ALT >2 и $\leq$5 x ULN).

В некоторых из любых вариантов осуществления, в момент или непосредственно перед введением дозы клеток, субъект является или был идентифицирован как не соответствующий критериям для химиотерапии в высоких дозах. В некоторых из любых вариантов осуществления, в момент или непосредственно перед введением дозы клеток, субъект является или был идентифицирован как не соответствующий критериям для трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (HSCT). В некоторых из любых

вариантов осуществления, в момент или непосредственно перед введением дозы клеток, субъект является или был идентифицирован как не соответствующий критериям для обеих, химиотерапии в высоких дозах и трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (HSCT).

В некоторых из любых вариантов осуществления, субъект имеет рецидивирующую/рефрактерную NHL, и в момент или непосредственно перед введением дозы клеток, субъект является или был идентифицирован как не соответствующий критериям для обеих, химиотерапии в высоких дозах и трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (HSCT), и субъект имеет рецидив после ремиссии после лечения или стал рефрактерным к, одной предшествующей терапии для заболевания или состояния отличной от другой дозы клеток, экспрессирующих CAR.

В некоторых из любых вариантов осуществления, в момент или до введения дозы клеток субъект является или был идентифицирован как имеющий возраст 70 лет или старше. В некоторых из любых вариантов осуществления, субъект имеет или идентифицирован как имеющий общее состояние по ECOG 2. В некоторых из любых вариантов осуществления, субъект имеет или идентифицирован как имеющий ухудшенную легочную функцию, необязательно с диффузионной способностью легких по монооксиду углерода (DLCO) точно или примерно 60% или менее. В некоторых из любых вариантов осуществления, субъект имеет или идентифицирован как имеющий ухудшенную сердечную функцию, необязательно с фракцией выброса левого желудочка (LVEF) менее чем точно или примерно 50%. В некоторых из любых вариантов осуществления, субъект имеет или идентифицирован как имеющий ухудшенную почечную функцию, необязательно с расчетным клиренсом креатинина менее чем точно или примерно 60 мл/мин. В некоторых из любых вариантов осуществления, субъект имеет или идентифицирован как имеющий ухудшенную печеночную функцию, необязательно с аспартатаминотрансферазой (AST) и аланинаминотрансферазой (ALT) более чем точно или примерно в два раза превышающей предел нормы (ULN).

В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет а лимфому, которая ассоциирована с или включает вовлечение центральной нервной системы (ЦНС), и субъекта ранее лечили противосудорожным агентом, таким как леветирацетам.

В некоторых вариантах осуществления, способы включают введение клеток субъекту, выбранному или идентифицированному как имеющий высокий риск В-крупноклеточной лимфомы или высокий риск NHL. В некоторых вариантах осуществления, субъект демонстрирует одну или несколько цитогенетических аномалий, например, ассоциированных со злокачественным образованием из В-клеток, например, В-клеточной лимфомой высокого риска или NHL высокого риска. В некоторых вариантах осуществления, субъект выбран или идентифицирован на основе наличия заболевания или состояния, характеризованного или определенного как агрессивная NHL, диффузная В-крупноклеточная лимфома (DLBCL), первичная В-крупноклеточная лимфома средостения (PMBCL), Т-клеточная/насыщенная гистоцитами В-крупноклеточная лимфома

(TCHRBCL), лимфома Буркитта (BL), мантийноклеточная лимфома (MCL) и/или фолликулярную лимфома (FL). В конкретных вариантах осуществления, субъект, подлежащий лечению способами, представленными в настоящем документе, включает субъектов с агрессивной В-крупноклеточной лимфомой или агрессивной NHL, в частности, с диффузной В-крупноклеточной лимфомой (DLBCL), не определенной иным образом (NOS; de novo или трансформированная из вялотекущей), первичной В-клеточной лимфомой стредостения (PMBCL) или фолликулярной лимфомой степени 3В (FL3B). В некоторых из любых вариантов осуществления, субъект имеет фолликулярную лимфому (FL).В конкретных вариантах осуществления, субъект, подлежащий лечению с применением способов, представленных в настоящем документе, включает субъектов с DLBCL, которая трансформирована из фолликулярной лимфомы (FL) или другой вялотекущей лимфомы. В конкретных вариантах осуществления, субъект, подлежащий лечению с применением способов, представленных в настоящем документе, включает субъектов с DLBCL, которая трансформирована из вялотекущей гистологии (tDLBCL). В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет DLBCL, трансформированную из лимфомы маргинальной зоны (MZL) или хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL) (например, Рихтер). В некоторых вариантах осуществления, субъект с трансформацией из CLL может демонстрировать синдром Рихтера (RS), определенный как трансформация CLL в агрессивную лимфому, наиболее часто, диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL) (см., например, Parikh et al. Blood 2014 123:1647-1657).

В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет мантийноклеточную лимфому (MCL). В некоторых вариантах осуществления, MCL характеризуется хромосомной транслокацией t(11:14)(q13;132) (Vose JM, et al. Am J Hematol. 2017.; 92:806-813). В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет плохие факторы риска, включая TP53 мутации и/или высокий коэффициент пролиферации (Ki67 >30%). В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет плохие факторы риска, включающие предшествующее вовлечение костного мозга, предшествующие плевральные выпоты и/или заболевание ЦНС. В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет плохие факторы риска, включающие MCL варианты. В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет бластоидный вариант MCL. В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет плейоморфный вариант MCL. В некоторых вариантах осуществления, субъекты имеют мантийноклеточную лимфому (MCL), для которой ≥1 предшествующие линии терапии не были успешными (рецидивирующую/рефрактерную, R/R). В некоторых вариантах осуществления, субъекты имеют мантийноклеточную лимфому (MCL) для которой 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 предшествующие линии терапии не были успешными (рецидивирующую/рефрактерную, R/R). В некоторых вариантах осуществления, ранее получал ибрутиниб и/или венетоклакс. В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет MCL, которая имеет рецидив после получения ибрутиниба и/или венетоклакса. В некоторых вариантах осуществления, субъект получил 1 или несколько предшествующих линий иммунотерапии, содержащих антрациклин и CD20-таргетный агент (например, R-

CHOP). В некоторых вариантах осуществления, субъект получил предшествующую терапию гемопоэтическими стволовыми клетками (HSCT), например, аллогенный HSCT или аутологичный HSCT. В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет MCL с R/R, экспрессирующую циклин D1.

В некоторых из любых вариантов осуществления, в момент или до введения дозы клеток, субъекта лечат или лечили антрациклином и одним или несколькими CD20-таргетных агентов. В некоторых из любых вариантов осуществления, один или несколько CD20-таргетных агентов содержат ритуксимаб. В некоторых из любых вариантов осуществления, один или несколько CD20-таргетных агентов содержат R-CHOP (ритуксимаб, циклофосфамид, доксорубицин гидрохлорид (гилроксидауномицин), винкристин сульфат (онковин) и преднизон).

В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет плохой показатель общего состояния. В некоторых аспектах, популяция, подлежащая лечению, включает субъектов, имеющих показатель общего состояния Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG), который везде равен 0-2. В других аспектах любого из вариантов осуществления, субъекты, подлежащее лечению, включают ECOG 0-1 или не включает субъектов с ECOG 2. В некоторых аспектах любого из вариантов осуществления, субъекты, подлежащее лечению, потерпели неудачу в двух или нескольких терапиях. В некоторых вариантах осуществления, субъект не имеет DLBCL, трансформированную из лимфомы маргинальной зоны (MZL) или хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL) (например, Рихтер). В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет признаки, которые коррелируют с плохим общим выживанием. В некоторых вариантах осуществления, субъект никогда не достигает полного ответа (CR), никогда не получал трансплантацию аутологичных стволовых клеток (ASCT), является рефрактерным к 1 или несколькими терапиями второй линии, имеет первичное рефрактерное заболевание и/или имеет оценку состояния по ECOG 2 или оценку ECOG от 0 до 1. В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет или идентифицирован как имеющий ECOG показатель общего состояния 0 или 1.

В некоторых вариантах осуществления, субъект, подлежащий лечению включает группу субъектов с диффузной В-крупноклеточной лимфомой (DLBCL), de novo или трансформированной из вялотекущей лимфома (не определенной иным образом, NOS), первичной В-крупноклеточной лимфомы средостения (PMBCL) и фолликулярной лимфомой степени 3B (FL3B) после неудачного лечения 2 линиями терапии и оценкой ECOG 0-2, где субъект необязательно ранее получал лечение трансплантацией аллогенных стволовых клеток (SCT). В некоторых из любых вариантов осуществления, субъект, подлежащий лечению, имеет фолликулярную лимфому (FL). В некоторых вариантах осуществления, такая группа субъектов может быть названа «полная когорта». В некоторых вариантах осуществления, субъекта выбирают для лечения адоптивной клеточной терапией, если субъект отвечает указанным критериям. В некоторых вариантах осуществления, в указанной группе («полной когорте») субъекта не выбирают для лечения

или исключают из лечения, если субъект имеет плохой показатель общего состояния (например ECOG 2) и/или имеет DLBCL, трансформированную из лимфомы маргинальной зоны (MZL) или хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL, Рихтер). Таким образом, в некоторых вариантах осуществления, субъекта выбирают для лечения, если субъект является субъектом с диффузной В-крупноклеточной лимфомой (DLBCL), de novo или трансформированной из вялотекущей лимфомы (NOS), первичной В-крупноклеточной лимфомой средостения (PMBCL) и фолликулярной лимфомой степени 3B (FL3B) после неудачного лечения 2 линиями терапии, и оценку ECOG 0 или 1, и субъект необязательно может быть ранее лечен трансплантацией аллогенных стволовых клеток (SCT), но не имеет DLBCL, трансформированную из лимфомы маргинальной зоны (MZL) или хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL, Рихтер). В некоторых вариантах осуществления, субъекта выбирают для лечения, если субъект имеет фолликулярную лимфому (FL).

В некоторых из любых вариантов осуществления, в момент или до введения дозы клеток субъект имеет или идентифицирован как имеющий двойную/тройную лимфому. В некоторых из любых вариантов осуществления, субъект имеет или идентифицирован как имеющий химиорефрактерную лимфому, необязательно химиорефрактерную DLBCL. В некоторых из любых вариантов осуществления, субъект не достиг полной ремиссии (CR) в ответ на предшествующую терапию. В некоторых из любых вариантов осуществления, субъект имеет рецидив в течение 1 года или менее 1 года после трансплантации аутологичных стволовых клеток (ASCT).

В некоторых вариантах осуществления, такая группа субъектов может быть названа «основная когорта». В некоторых вариантах осуществления, субъектом, подлежащим лечению, являются субъекты в «основной когорте». В некоторых аспектах, представленные варианты осуществления основаны на наблюдениях, что определенная популяция субъектов, например, субъекты «основной когорты», которым была введена определенна доза клеточной терапии, показывают суммарную эффективность терапии (ORR) более чем 80%, с частотой полного ответа (CR) более чем 55%, с высокой устойчивостью, например, ответ, который сохраняется в течение более длительного периода времени, например, более 3 месяцев, с 3-мсячным ORR более 65%, и 3-месячным CR приблизительно 50%. В частности, представленные наблюдения показывают, что 3-месячный ORR был высоким у субъектов с двумя или тремя хромосомными транслокациями («двойной» или «тройной» лимфомой; имеющих транслокации MYC/8q24 локусов, обычно в комбинации с хромосомной транслокацией t(14;18)(q32;q21)bcl-2 гена и/или BCL6/3q27; см., например, Xu et al. (2013) Int J Clin Exp Pathol. 6(4): 788-794), первичными рефрактерными лимфомами, химиорефрактерной DLBCL, и субъектов, которые никогда ранее не достигали CR.

В некоторых аспектах, представлены композиции, способы и применения для введения определенной композиции клеточной терапии, в определенных дозах, которые ассоциированы с высокой частотой ответа и/или высокой устойчивостью ответа, и низкими уровнями и/или количеством случаев токсичности. В некоторых вариантах осуществления, вводимой композицией или дозой является базовая и/или фиксированная доза, такая как

точная базовая доза, клеток и/или одной или нескольких клеток, имеющих определенный фенотип, такая как конкретное количество таких клеток или количество, которое находится в определенном диапазоне и/или степени вариабельности или вариантов по сравнению с целевым количеством. В некоторых вариантах осуществления, вводимая композиция или доза содержит определенное отношение $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток (например, 1:1 отношение $CB4^+$:$CB8^+$ CAR^+ Т клеток) и/или содержит отношение, которое находится в пределах определенной степени вариабельности от такого отношения, например, не более ±10%, например, не более ±8%, например, степени вариабельности или вариантов не более ±10%, например, не более ±8%. В некоторых вариантах осуществления, $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клетки составляют и вводят по отдельности. В некоторых вариантах осуществления, введенные клетки демонстрируют последовательную активность и/или функцию, например, продуцирования, апоптоза и/или размножения цитокина. В некоторых вариантах осуществления, представленные композиции демонстрируют высоко последовательную и определенную активность и низкую вариабельность между клетками, например, в том, что касается количества клеток, функции клеток и/или активности клеток, в композиции или между препаратами. В некоторых вариантах осуществления, последовательность в активности и/или функции, например, низкая вариабельность между препаратами композиций, дает улучшенную эффективность и/или безопасность. В некоторых вариантах осуществления, введение определенных композиций дает низкую вариабельность продукта и низкую токсичность, например, CRS или нейротоксичность, по сравнению с введением клеточных композиций с более высокой гетерогенностью. В некоторых вариантах осуществления, Определенные согласующиеся композиции также демонстрируют согласующееся размножение клеток. Такая согласованность может способствовать идентификации дозы, терапевтического окна, оценке ответа на дозу и идентификации факторов у субъекта, которые могут коррелировать с результатами безопасности и токсичности.

В некоторых вариантах осуществления, в определенной когорте субъектов получение одной инфузии с конкретным уровнем дозы, может быть достигнут стойкий ответ через 6 месяцев у более чем 60%. В некоторых вариантах осуществления, субъекты в некоторых когортах могут достигать суммарной эффективности терапии (ORR, в некоторых случаях также известной как частота объективного ответа) более чем 80%, частоты полного ответа (CR) более чем 60% и/или частоты очень стойкого CR в течение 6 месяцев. В некоторых вариантах осуществления, субъекты, получающие определенную дозу, показывают улучшенную безопасность, например, более двух третей субъектов не демонстрирует какие-либо CRS или NT. В некоторых аспектах, количество тяжелого CRS или тяжелой NT является низким. В некоторых вариантах осуществления, более высокое воздействие (например, C_{max} и $ППК_{0-28}$), наблюдаемое для конкретной определенной дозы, может не ассоциироваться в повышенной токсичностью, например, CRS или NT. В некоторых вариантах осуществления, конкретные факторы субъекта, например, определенные биомаркеры, могут применяться для прогнозирования риска токсичности В

некоторых вариантах осуществления, представленные варианты осуществления могут применяться для получения высокой частоты ответа с низкий риск токсичности.

В некоторых вариантах осуществления, не более 25%, не более 20%, не более 15%, не более 10% или не более 5% субъектов, подвергутых лечению с применением представленных композиций, готовых изделий, наборов, способов и применений, вводят агент (например, тоцилизумаб и/или дексаметазон) для облегчения, лечения или профилактики токсичности, либо до, либо после введения клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, субъекту не вводят какое-либо профилактическое лечение до получения сконструированных клеток (например, CAR-T клеток).

В некоторых вариантах осуществления, представленные варианты осуществления представляют преимущества, например, позволят вводить клеточную терапию амбулаторно. CAR T клеточную терапию обычно вводят стационарных режимах, например, в универсистетских медицинских центрах. Однако, многие субъекты с R/R диффузной В-крупноклеточной лимфомой получают терапию в медицинских центрах, где осуществляют амбулаторное введение противораковой терапии. В некоторых аспектах, вливание и управление CAR T клеточными терапиями в амбулаторном режиме может улучшить доступ к таким терапиям, включая более широкое применение амбулаторного лечения в общественных/не университетских центрах. В некоторых вариантах осуществления, введение дозы клеток и/или противолимфомную терапию проводят не в медицинском центре с третьим уровнем помощи. В некоторых вариантах осуществления, введение клеточной терапии, например дозы Т клеток согласно представленным вариантам осуществления, может проводиться амбулаторно или не требует госпитализации субъекта, например, госпитализации, требующей круглосуточного пребывания. В некоторых вариантах осуществления, такое амбулаторное введение позволяет повысить доступность и снизить затраты, при этом сохраняя высокий, устойчивый ответ при низкой токсичности. В некоторых аспектах, амбулаторное лечение может быть предпочтительными для пациентов, которые уже другим образом имеют пониженную иммунную реакцию в результате предшествующих лечений, например, после противолимфомной терапии, и подвержены большому риску заражения при госпитализации или амбулаторно. В некоторых аспектах, амбулаторное лечение также повышает опции для лечения субъектов, которые могут не иметь доступа в стационары или трансплантационные центры, тем самым расширяя доступ к лечению. В некоторых вариантах осуществления, после введения дозы клеток, субъект находится под амбулаторным наблюдением, необязательно по телефону и/или посредством визита медицинского работника.

В некоторых вариантах осуществления, субъекты, леченные амбулаторно с применением представленных композиций, готовых изделий, наборов, способов и применений, остаются в амбулаторных условиях в течение, по меньшей мере, 3 дней, или определенная доля субъектов, например, по меньшей мере, 60%, по меньшей мере, 70%, по меньшей мере, 80%, по меньшей мере, 85%, по меньшей мере, 90% или, по меньшей мере, 95%, субъектов, подвергутых лечению таким образом, остаются в амбулаторных условиях

в течение, по меньшей мере, 3 дней. В некоторых аспектах, субъекты остаются в амбулаторных условиях в течение, по меньшей мере, 4 дней, 5 дней, 6 дней, 7 дней, 8 дней или более. В некоторых вариантах осуществления, субъекты, леченные амбулаторно с применением представленных композиций, готовых изделий, наборов, способов и применений показывают снижение времени пребывания в больнице, например, на, по меньшей мере, 10%, по меньшей мере, 15%, по меньшей мере, 20%, по меньшей мере, 25%, по меньшей мере, 30%, по меньшей мере, 35% или, по меньшей мере, 40%, по сравнению с субъектами леченными другими композициями, готовыми изделиями, наборами, способами и применениями.

В некоторых вариантах осуществления, способы, клетки и композиции могут обеспечивать высокую частоту устойчивых ответов у субъектов для множества характеристик пациента и/или опухолевых нагрузок. В некоторых вариантах осуществления, способы, клетки и композиции могут обеспечивать высокую частоту устойчивого ответа у пациентов с высоким риском и неблагоприятным прогнозом, при пониженном риске побочных эффектов или токсичности. В некоторых вариантах осуществления, способы и применения представлены для или достигают более высокой частоты ответа и/или более устойчивых ответов или эффективности и/или пониженного риска токсичности или других побочных эффектов, которые могут быть ассоциированы с клеточной терапией, таких как нейротоксичность (NT) или синдром выделения цитокина (CRS). В некоторых аспектах, представленные наблюдения показывают низкую степень тяжелой NT (sNT) или тяжелого CRS (sCRS), и высокое количество пациентов без какой-либо токсичности, например, NT или CRS.

В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, 35%, по меньшей мере, 40%, по меньшей мере, 50%, по меньшей мере, 55%, по меньшей мере, 60%, по меньшей мере, 65%, по меньшей мере, 70% или, по меньшей мере, 75% или более субъектов, подвергутых лечению представленными способами, и/или представленными готовыми изделиями или композициями, достигли полного ответа (CR). В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, 50%, по меньшей мере, 60%, по меньшей мере, 70%, по меньшей мере, 80% или, по меньшей мере, 90% субъектов, подвергутых лечению представленными способами, и/или представленными готовыми изделиями или композициями, достигли объективного ответа (OR). В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, 60%, по меньшей мере, 70%, по меньшей мере, 80%, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95% или более субъектов, подвергутых лечению представленными способами, и/или представленными готовыми изделиями или композициями, достигли CR или OR в течение одного месяца, двух месяцев или 3 месяцев.

В некоторых вариантах осуществления, в течение 3 месяцев, четырех месяцев, пяти месяцев, шести месяцев или более после начала введения клеточной терапии, по меньшей мере, 60%, по меньшей мере, 70%, по меньшей мере, 80%, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95% или более субъектов, подвергутых лечению представленными способами, и/или представленными готовыми изделиями или композициями, сохраняют

ответ, например, сохраняют CR или OR. В некоторых вариантах осуществления, такой ответ, например, CR или OR, является устойчивым в течение, по меньшей мере, 3 месяцев, четырех месяцев, пяти месяцев, шести месяцев, семи месяцев, восьми месяцев или 9 месяцев у, например, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 60%, по меньшей мере, 70%, по меньшей мере, 80%, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95% или более субъектов, подвергутых лечению представленными способами или у тех субъектов, которые достигают CR в течение одного месяца или в течение 3 месяцев. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, 60%, по меньшей мере, 70%, по меньшей мере, 80%, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95% или более субъектов, подвергутых лечению представленными способами, и/или представленными готовыми изделиями или композициями или таких субъектов, которые достигают CR в течение одного месяца или в течение 3 месяцев, выживают или выживают без прогрессирования в течение более чем или более чем примерно 3 месяцев, четырех месяцев, пяти месяцев, шести месяцев, семи месяцев, восьми месяцев или 9 месяцев.

В некоторых вариантах осуществления, получаемый ответ, наблюдаемый у таких субъектов при лечении согласно представленным способам, и/или представленными готовыми изделиями или композициями, ассоциированы с или дают низкий риск какой-либо токсичности или низкий риск тяжелой токсичности у большинства подвергутых лечению субъектов. В некоторых вариантах осуществления, более чем или более чем примерно 30%, 35%, 40%, 50%, 55%, 60% или более субъектов, подвергутых лечению представленными способами и/или представленными готовыми изделиями или композициями, не демонстрируют какую-либо степень CRS или какую-либо степень нейротоксичности (NT). В некоторых вариантах осуществления, более чем или более чем примерно 50%, 60%, 70%, 80% или более субъектов, подвергутых лечению представленными способами и/или представленными готовыми изделиями или композициями, не демонстрирует тяжелый CRS или CRS степени 3 или выше. В некоторых вариантах осуществления, более чем или более чем примерно 50%, 60%, 70%, 80% или боле субъектов, подвергутых лечению представленными способами, и/или представленными готовыми изделиями или композициями, не демонстрирует тяжелую нейротоксичность или нейротоксичность степени 3 или выше, например, нейротоксичность степени 4 или 5.

В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, точно или примерно 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% подвергутых лечению субъектов согласно способу и/или представленными готовыми изделиями или композициями не демонстрирует ранее наступление CRS или нейротоксичности и/или не демонстрируют наступление CRS ранее чем 1 день, 2 дней, 3 дней или 4 дней после начала введения. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, точно или примерно 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% субъектов, подвергутых лечению способами и/или представленными готовыми изделиями или композициями, не демонстрируют наступление нейротоксичности ранее 3 дней, 4 дней, 5 дней, шесть дней или 7 дней после начала введения. В некоторых аспектах, среднее наступление нейротоксичности среди

субъектов, подвергутых лечению способами и/или представленными готовыми изделиями или композициями, происходит в момент или после среднего пика или среднего времени излечения CRS у субъектов, подвергутых лечению способом. В некоторых случаях, среднее наступление нейротоксичности среди субъектов, подвергутых лечению способом, составляет более чем точно или примерно 8, 9, 10 или 11 дней.

В некоторых вариантах осуществления, такие результаты наблюдают после введения от или от примерно 5×10^7 до или до примерно $1,5\times10^8$, например, от или от примерно5×10^7 до или до примерно 1×10^8 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток (например CAR+ Т клеток), например, дозы Т клеток, включающей $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клетки, вводимые в определенном отношении, как описано в настоящем документе, например точно или примерно 1:1 отношении, и/или в точном базовом или фиксированном количестве CAR^+ Т клеток, или точном базовом или фиксированном количестве конкретного типа CAR^+ Т клеток, таких как $CD4^+CAR^+$ Т клетки и/или $CB8^+CAR^+$ Т клетки, и/или количества любых из таких клеток, которое находится в пределах определенной степени отклонения, например, не более+или - (плюс или минус, в некоторых случаях указано как ±) 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15% по сравнению с таким точным базовым или фиксированным количеством. В некоторых вариантах осуществления, такое базовое или точное количество клеток составляет точно или примерно $2,5\times10^7$, 5 x 10^7, 10×10^7, 15×10^7 или 20×10^7, например, от всего количестве CAR^+ Т клеток или $CD8^+$ и/или $CD4^+$ CAR^+ Т клеток. В некоторых вариантах осуществления, количество клеток в дозе включает или состоит из или состоит по существу из 5×10^7 $CD4^+CAR^+$ Т клеток (в некоторых случаях $2,5\times10^7$ $CD4^+CAR^+$ Т клеток и $2,5\times10^7$ $CD8^+CAR^+$ Т клеток); в некоторых вариантах осуществления, оно включает или состоит из или состоит по существу из 10×10^7 CAR^+ Т клеток (в некоторых случаях, 5×10^7 $CD4^+CAR^+$ Т клеток и 5×10^7 $CD8^+CAR^+$ Т клеток). В некоторых аспектах, количество введенных клеток находится в пределах определенной степени отклонения таких количеств в вышеуказанных вариантах осуществления, например, в пределах плюс или минус (±) 5, 6, 7, 8, 9 или 10%, например, в пределах плюс или минус 8%, по сравнению с таким количеством клеток. В некоторых аспектах, доза находится в пределах диапазона, в котором наблюдается корреляция (необязательно линейное отношение) между количеством таких клеток (например, всего CAR^+ Т клеток или $CD8^+$ и/или $CD4^+$ CAR^+ Т клеток) и одним или несколькими результатами, показательными для терапевтического ответа или его длительности (например, вероятности достижения ремиссии, полной ремиссии и/или конкретной длительности ремиссии) и/или длительности любого из вышеперечисленных. В некоторых аспектах, быть обнаружено, что более высокая доза вводимых клеток может давать больший ответ с или без существенного влияния или воздействия на количество случаев или риск токсичности (например CRS или нейротоксичности) или количество случаев или риск токсичности у субъекта, например тяжелого CRS или тяжелой нейротоксичности.

В некоторых аспектах, представленные способы могут давать высокую или конкретную частоту ответ (например, частоту ответа в популяции по данным после

определенного периода времени после введения, например, 3 месяцев или шести месяцев), например, ORR (например, 6-месячный или 3-месячный ORR) 40% или более, 45% или более, 50% или более, 55% или более, 60% или более, 65% или более, 70% или более, 75% или 80% или 81%, 82%, 83%, 84% или 85% или более частоту CR (например, 6-месячную или 3-месячную частоту CR) 30% или более, 35% или более, 40% или более, 45% или более, 50% или более, 55% или более, 60% или более, 65% или более, 70% или более, 71%, 72%, 73% или более или приблизительно 75% или более, который также может быть стойким в течение конкретного периода времени или, по меньшей мере, конкретного периода времени, например, длящегося в течение более чем 1, 3 или 6 месяцев или более или 9 месяцев или более после начала терапии. В некоторых вариантах осуществления, такую частоту ответа и устойчивость получают после только одного введения или дозы такой терапии. Лечение таких субъектов представленными способами, и/или представленными готовыми изделиями или композициями, в некоторых вариантах осуществления, также дает у субъектов, достигших высокой частоты ответа, все еще не демонстрирующих высокое количество случаев или развития токсичности, такой как нейротоксичность или CRS, даже при более высокой дозировке клеток. В некоторых вариантах осуществления, у примерно или более чем 50%, 55% или 60% субъектов, достигших таких ответов, не развивается какая-либо степень токсичности, такая как любая степень CRS и/или нейротоксичности.

Таким образом, в некоторых вариантах осуществления, представленные способы, готовые изделия и/или композиции могут давать преимущества в сравнении с доступными способами или решениями или подходами для лечения, например для адоптивной клеточной терапии. В частности, среди представленных вариантов осуществления имеются такие, которые предлагают преимущество для субъектов с NHL с высокой степенью риска, достигших устойчивого ответа с высокой частотой, при пониженном количестве случаев токсичности или побочных эффектов.

A. Способ лечения

В настоящем документе представлены способы лечения, которые включают введение сконструированных клеток или композиций, содержащих сконструированные клетки, такие как сконструированные Т-клетки. Также представлены способы и применения сконструированных клеток (например, Т клеток) и/или их композиций, включая способы лечения субъектов, имеющих заболевание или состояние, такой как лейкоз или лимфома или злокачественное образование из В-клеток, например, диффузная В-крупноклеточная лимфома (DLBCL) или ее подтип, В-крупноклеточная лимфома и/или неходжкинская лимфома (NHL), которые включают введение сконструированных клеток и/или их композиций. В некоторых вариантах осуществления, представленные способы и применения могут давать улучшенный ответ и/или более устойчивые ответы или эффективность и/или пониженный риск токсичности или других побочных эффектов, например, в частности, у групп подвергутых лечению субъектов, по сравнению с определенными альтернативными способами. В некоторых аспектах, также представлены способы введения сконструированных клеток или композиций, содержащих

сконструированные клетки, таких как сконструированные Т-клетки, субъекту, такому как субъект, имеющий заболевание или расстройство. В некоторых аспектах, также представлено применение сконструированных клеток или композиций, содержащих сконструированные клетки, такие как сконструированные Т-клетки для лечения заболевания или расстройства. В некоторых аспектах, также представлено применение сконструированных клеток или композиций, содержащих сконструированные клетки, такие как сконструированные Т-клетки, для производства лекарственного средства для лечения заболевания или расстройства. В некоторых аспектах, также представлены способы введения сконструированных клеток или композиций, содержащих сконструированные клетки, такие как сконструированные Т-клетки, для применения в лечении заболевания или расстройства или для введения субъекту, имеющего заболевание или расстройство. В некоторых аспектах, применение сконструированных клеток или композиций, содержащих сконструированные клетки, такие как сконструированные Т-клетки, происходит по любому из способов, описанных в настоящем документе.

Также представлены способы лечения, включающие выбор субъекта, который имеет заболевание или состояние, такое как любое заболевание или состояние, описанное в настоящем документе; и введение субъекту дозы Т клеток, содержащих Т клетки, экспрессирующие рекомбинантный рецептор, который специфически связывается с антигеном-мишенью, экспрессированным заболеванием или состоянием или его клеткой или тканью, и/или который ассоциирован с заболеванием или состоянием.

Сконструированные клетки, экспрессирующие рекомбинантный рецептор, такой как химерный антигенный рецептор (CAR), или композиции, содержащие их, применяют при множестве терапевтических, диагностических и профилактических показаний. Например, сконструированные клетки или композиции, содержащие сконструированные клетки, применяют для лечения множества заболеваний и расстройств у субъекта. Такие способы и применения включают терапевтические способы и применения, например, включающие введение сконструированных клеток или композиций, содержащих их, субъекту, имеющему заболевание, состояние или расстройство, такое как злокачественное образование из В-клеток, например, В-крупноклеточную лимфому. В некоторых вариантах осуществления, сконструированные клетки или композиции, содержащие их, вводят в эффективном количестве для проведения лечения заболевания или расстройства. Применение включает применение сконструированных клеток или композиций в таких способах и лечении, а также в приготовлении лекарственного средства для осуществления таких терапевтических методов. В некоторых вариантах осуществления, способы осуществляют введением сконструированных клеток или композиции, содержащие их, субъекту, имеющему или подозреваемому в наличии заболевания или состояния. В некоторых вариантах осуществления, способы тем самым лечат заболевание, состояние или расстройство у субъекта.

Общие способы введения клеток для адоптивной клеточной терапии известны и могут применяться в связи с представленными способами и композициями. Например,

способы адоптивной Т клеточной терапии описаны, например, в Публикации заявки на патент США № 2003/0170238 от Gruenberg et al; Патенте США № 4,690,915 от Rosenberg; Rosenberg (2011) Nat Rev Clin Oncol. 8(10):577-85). См., например, Themeli et al. (2013) Nat Biotechnol. 31(10): 928-933; Tsukahara et al. (2013) Biochem Biophys Res Commun 438(1): 84-9; Davila et al. (2013) PLoS ONE 8(4): e61338.

Заболеванием или состоянием, которое лечат, может быть любое, в котором экспрессия антигена ассоциирована с и/или вовлечена в этиологию заболевания, состояния или расстройства, например вызывает, ухудшает или другим образом вовлечена в такие заболевание или расстройство. Типовые заболевания и состояния включают заболевания и состояния, ассоциированные со злокачественностью или превращением клеток (например, раком), аутоиммунное или воспалительное заболевание или инфекционное заболевание, например, вызванное бактериальным, вирусным или другим патогеном. Типовые антигены, которые включают антигены, ассоциированные с разными заболеваниями и состояниями, которые могут быть лечены, описаны выше. В конкретных вариантах осуществления, химерный антигенный рецептор (CAR) или трансгенный TCR специфически связывается с антигеном, ассоциированным с заболеванием или состоянием.

К заболеваниям, состояниям и расстройствам относятся опухоли, включая солидные опухоли, гематологические злокачественные новообразования и меланомы, включая локализованные и метастатические опухоли, инфекционные заболевания, такие как инфекция вирусом или другим патогеном, например, HIV, HCV, HBV, cmV, HPV и паразитарные заболевания, а также аутоиммунные и воспалительные заболевания.

В некоторых вариантах осуществления, заболеванием, расстройством или состоянием, подлежащем лечению, является опухоль, рак, злокачественное новообразование, новообразование или другое пролиферативное заболевание или расстройство. Такие заболевания включают, помимо прочего, лейкоз, лимфому, например, острый миелоидный (или миелогенный) лейкоз (AML), хронический миелоидный (или миелогенный) лейкоз (CML), острый лимфоцитарный (или лимфобластный) лейкоз (ALL), хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), волосатоклеточный лейкоз (HCL), малую лимфоцитарную лимфому (SLL), мантийноклеточную лимфому (MCL), лимфому маргинальной зоны (MZL), лимфому Буркитта (BL), лимфому Ходжкина (HL), неходжкинскую лимфому (NHL), анапластическую крупноклеточную лимфому (ALCL), фолликулярную лимфому (FL), рефрактерную фолликулярную лимфому, диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL) и множественную миелому (MM).

В некоторых вариантах осуществления, заболеванием или состоянием, подлежащим лечению, является злокачественное образование из В-клеток. В некоторых вариантах осуществления, заболеванием или состоянием является злокачественное образование из В-клеток, выбранное из острого лимфобластного лейкоза (ALL), ALL взрослых, хронического лимфобластного лейкоза (CLL), неходжкинской лимфомы (NHL) и диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL). В некоторых вариантах осуществления, заболеванием или состоянием является NHL. В некоторых вариантах осуществления,

заболеванием или состоянием является В-крупноклеточная лимфома. В некоторых вариантах осуществления, заболевание или состояние является DLBCL. В некоторых вариантах осуществления, заболеванием или состоянием является DLBCL, не определенная иным образом (DLBCL, NOS). В некоторых вариантах осуществления, заболеванием или состоянием является NHL, и NHL выбрана из группы, состоящей из агрессивной NHL, диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL), NOS (de novo или трансформированной из вялотекущей), первичной В-крупноклеточной лимфомы средостения (PMBCL), Т клеточной/насыщенной гистоцитами В-крупноклеточной лимфомы (TCHRBCL), лимфомы Буркитта (BL), мантийноклеточной лимфомы (MCL) и/или фолликулярной лимфомы (FL). В некоторых вариантах осуществления, заболеванием или состоянием является фолликулярная лимфома (FL). В некоторых вариантах осуществления, фолликулярной лимфомой является фолликулярная лимфома степени 3В (FL3B). В некоторых вариантах осуществления, заболеванием или состоянием является мантийноклеточная лимфома (MCL).

В некоторых вариантах осуществления, заболеванием или состоянием, подлежащим лечению согласно представленным способам, применениям или готовым изделиям, является DLBCL. В некоторых аспектах, DLBCL является DLBCL, не определенная иным образом (NOS), которая, в некоторых случаях, может характеризоваться как de novo или трансформированная из вялотекущего заболевания.

В некоторых вариантах осуществления, субъект, имеющий DLBCL, NOS, выбранный для лечения и/или которого лечат согласно любому из представленных способов, имеет DLBCL, которая не является DLBCL с преобладающей внеузловой локацией, DLBCL, которая не является крупноклеточной лимфомой терминально дифференцированных В клеток, или DLBCL, которая не является В-клеточным новообразованием с признаками, промежуточными между DLBCL и другими лимфоидными опухолями.

В некоторых вариантах осуществления, субъект, имеющий DLBCL, NOS, выбранный для лечения и/или которого лечат согласно любому из представленных способов, имеет DLBCL, которая не является Т клеточной/насыщенной гистоцитами В-крупноклеточной лимфомой (TCHRBCL), которая не является первичной DLBCL центральной нервной системы (ЦНС), которая не является первичной кожной DLBCL, ножного типа или положительной к вирусу Эпштейн-Барр (EBV) DLBCL (например, EBV-положительной DLBCL пожилых), и, в некоторых случаях, DLBCL, которая не является DLBCL, ассоциированной с хроническим воспалением.

В некоторых вариантах осуществления, субъект, имеющий DLBCL, NOS, выбранный для лечения и/или которого лечат согласно любому из представленных способов, имеет В-клеточную лимфому высокой степени злокачественности которая не является В-лимфобластным лейкозом/лимфомой (B-LBL), В-клеточную лимфому высокой степени злокачественности, которая не является лимфомой Буркитта, или В-клеточную лимфому высокой степени злокачественности, которая не является В-клеточной лимфомой

высокой степени злокачественности с MYC и BCL2 и/или BCL6 перестройками. В некоторых аспектах, DLBCL является DLBCL, NOS, которая, в некоторых случаях, может быть охарактеризована как В-клеточная лимфома высокой степени злокачественности, которая не является В-лимфобластным лейкозом/лимфомой (B-LBL), В-клеточная лимфома высокой степени злокачественности, которая не является лимфомой Буркитта, или В-клеточная лимфома высокой степени злокачественности, которая не является В-клеточной лимфомой высокой степени злокачественности м MYC и BCL2 и/или BCL6 перестройками.

В некоторых вариантах осуществления, субъект, имеющий DLBCL, NOS, выбранный для лечения и/или которого лечат согласно любому из представленных способов, имеет DLBCL, которая является подобной В-клеткам зародышевого центра (GCB) и подобной активированным В-клеткам (ABC) на основе молекулярных и/или цитогенетических признаков происхождения клеток.

В некоторых вариантах осуществления, DLBCL является de novo или первичной DLBCL. В некоторых вариантах осуществления, заболевание или состояние (такое как лимфома, такая как DLBCL) трансформировано из разных подтипов заболевания или состояния, например, трансформировано из вялотекущей лимфомы, такой как фолликулярная лимфома (FL). В некоторых вариантах осуществления, такие другие вялотекущие лимфомы могут включать, например, В-клеточную лимфому маргинальной зоны (MZL) и хронический лимфоцитарный лейкоз/мелкоклеточную лимфоцитарную лимфому (CLL/SLL). В некоторых вариантах осуществления, заболеванием или состоянием является DLBCL, трансформированная из фолликулярной лимфомы (tFL); в некоторых аспектах, им является DLBCL, трансформированная из другой вялотекущей лимфомы. В некоторых вариантах осуществления, субъект подвержен или характеризуется как имеющий трансформированную фолликулярную лимфому (tFL). В некоторых вариантах осуществления, заболеванием или состоянием является DLBCL, трансформированная из FL. В некоторых аспектах, заболеванием или состоянием является DLBCL, трансформированная из вялотекущей лимфомы, отличной от FL.

В некоторых вариантах осуществления, заболеванием или состоянием, подлежащим лечению согласно представленным способам, применениям или готовым изделиям, является DLBCL, которая трансформирована из другой вялотекущей лимфомы, например, трансформирована из лимфомы маргинальной зоны (tMZL) или трансформирована из хронического лимфоцитарного лейкоза (tCLL; Рихтер). В некоторых случаях, заболеванием или состоянием является DLBCL tMZL или DLBCL tCLL. В некоторых вариантах осуществления, им является заболевание или состояние, трансформированное из вялотекущей лимфомы, отличной от FL. В некоторых вариантах осуществления, им является DLBCL или В-крупноклеточная лимфома, такая как DLBCL или В-крупноклеточная лимфома, трансформированная из FL или другой вялотекущей лимфомы. В некоторых вариантах осуществления, субъект характеризуется как имеющий DLBCL, трансформированную из другой вялотекущей лимфомы, такую как DLBCL tMZL или

DLBCL tCLL.

В некоторых вариантах осуществления, заболеванием или состоянием является фолликулярная лимфома (FL). В некоторых вариантах осуществления, субъекта выбирают для лечения, если субъект имеет фолликулярную лимфому (FL). В некоторых вариантах осуществления, FL демонстрирует или ассоциирована с фолликулами новообразования, которые показывают аттенуированные мантийные зоны, потерю поляризации и/или отсутствие заметных макрофагов в теле. В некоторых вариантах осуществления, FL ассоциирована со смесью центроцитов и центробластов. В некоторых вариантах осуществления, FL не ассоциирована с центроцитами. В некоторых вариантах осуществления, FL является FL 3 степени. В некоторых вариантах осуществления, FL 3 степени демонстрирует или ассоциирована с более чем 15 центробластами в поле зрения под большим увеличением (HPF). В некоторых вариантах осуществления, FL ассоциирована с коэкспрессией CD10, BCL6 и BCL2 в фолликулах. В некоторых вариантах осуществления, FL ассоциирована с или характеризуется t(14;18)/IGH-BCL2 и/или BCL6 перестройками. В некоторых вариантах осуществления, FL ассоциирована с t(14;18)(q32;q21) транслокацией. В некоторых аспектах, t(14;18)(q32;q21) транслокация экспрессию BCL2 под контроль энхансера тяжелого локуса иммуноглобулина (Ig) (IGH). В некоторых аспектах, t(14;18) определяется в приблизительно 90% FL со степенями 1 и 2, 60-70% со степенью 3A и 15-30% со степенью 3B случаях FL. В некоторых вариантах осуществления, FL ассоциирована с BCL2 транслокациями t(2;18) и t(18;22). В некоторых вариантах осуществления, FL. ассоциированная с транслокациями t(2;18) и t(18;22), также ассоциирована с BCL2 перестройками. В некоторых из любых вариантов осуществления, FL ассоциирована с коэкспрессией CD10, BCL6 и BCL2 в фолликулах, и/или t(14;18)/(q32;q21)(IGH-BCL2) и/или BCL6 перестройками.

В некоторых вариантах осуществления, FL включает лимфатические узлы и/или селезенку, костный мозг периферическую кровь и другие внеузловые участки. В некоторых вариантах осуществления, FL вовлекает лимфатические узлы. В некоторых аспектах, типовые характеристики, ассоциированные FL, включают такие, которые описаны у Choi et al. (2018) Arch Pathol Lab Med 142:1330-1340; Luminari et al., (2012) *Rev. Brad. Hematol. Hemoter.*, 34:54-59 и Salles (2007) *ASH Education Book*, 2007:216-25. В некоторых аспектах, в случае FL, типовые параметры, применяемые для оценки степени болезненной нагрузки, включают такие параметры, как уровни гемоглобина (например, <12 г/дл или <10 г/дл), скорость оседания эритроцитов (ESR), уровень лактатдегидрогеназы (LDH) и значение β2-микроглобулина (B2M), экспрессию гена, полиморфизмы отдельных нуклеотидов (SNP; например в IL-8, IL-2, Il-12B и IL1RN), экспрессию миРНК и экспрессию белка (например, CD68, STAT1, FOXP3, CD57). (Salles (2007) *ASH Education Book*, 2007:216-25). В случае FL, степень или нагрузка заболевания может оцениваться по системе ранжирования Ann Arbor, опухолевой массе, генерализованной лимфаденопатии, количеству узловых и внеузловых участков болезни, и/или вовлечению костного мозга.

В некоторых аспектах, степень выживания у субъектов, например, субъектов с FL,

основана на системах оценки, разработанных Italian Lymphoma Intergroup (ILI) и/или International Follicular Lymphoma Prognostic Factor Project (IFLPFP). (Luminari et al., (2012) *Rev. Brad. Hematol. Hemoter.*, 34:54-59). В некоторых аспектах, оценка ILI основана на независимой прогностической роли возраста, пола, В симптомов, количества внеузловых участков, скорости оседания эритроцитов (ESR) и лактатдегидрогеназе (LDH). В некоторых аспектах, оценка IFLPFP основана на факторах риска возраста, стадии по Ann Arbor, уровне гемоглобина, количеству областей узловых участков и сывороточных уровнях LDH. В некоторых случаях, оценки IFLPFP могут применяться для характеризации или прогнозирования степени общего выживания субъектов с FL.

В некоторых вариантах осуществления, представленные способы включают выбор субъекта, который имеет фолликулярную лимфому (FL), для лечения; и введение субъекту дозы Т клеток, содержащей Т клетки, экспрессирующие рекомбинантный рецептор, который специфически связывается с антигеном-мишенью, экспрессированным FL или ее клеткой или тканью, и/или который ассоциирован с FL.

В некоторых из любых вариантов осуществления, доза Т клеток содержит дозу $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток, где Т-клетки каждой дозы содержат рекомбинантный рецептор, который специфически связывается с антигеном-мишенью, экспрессированным FL или ее клеткой или тканью, и/или который ассоциирован с FL, где введение включает введение множества отдельных композиций, множество отдельных композиций содержит первую композицию, содержащую $CD8^+$ Т-клетки и вторую композицию, содержащую $CD4^+$ Т-клетки.

В некоторых вариантах осуществления, заболеванием или состоянием является внеузловая неходжкинская В-клеточная лимфома высокой степени. В некоторых вариантах осуществления, внеузловая неходжкинская В-клеточная лимфома высокой степени является первичной ЦНС лимфомой (PCNSL). В некоторых вариантах осуществления, PCNSL вовлекает центральную нервную систему (ЦНС) без присутствия системной лимфомы. В некоторых вариантах осуществления, PCNSL ограничивается головным мозгом, позвоночником, спинномозговой жидкостью (CSF) и глазами. В некоторых вариантах осуществления, PCNSL является диффузной В-крупноклеточной лимфомой (DLBCL). В некоторых вариантах осуществления PCNSL является лимфомой Буркитта, низкой степени или Т-клеточной лимфомой. В некоторых вариантах осуществления PCNSL включает неврологические признаки. В некоторых вариантах осуществления неврологические признаки включают очаговые неврологические нарушения, психический статус и изменения поведения, симптомы повышенного внутричерепного давления и/или судороги. В некоторых вариантах осуществления типичные признаки, ассоциированные с заболеванием или состоянием, включают описанные у Grommes et al. (J. Clin Oncol 2017; 35(21):2410-18).

В некоторых вариантах осуществления, субъект для лечения в соответствии со способами, представленными в настоящем документе, не имеет первичную лимфому центральной нервной системы (PCNSL).

В некоторых вариантах осуществления, заболеванием или состоянием является

вторичная лимфома центральной нервной системы (SCNSL). В некоторых вариантах осуществления, SCNSL страдают пациенты с системной лимфомой. В некоторых вариантах осуществления, SCNSL относится к метастатической лимфоме. В некоторых вариантах осуществления, SCNSL является DLBCL. В некоторых вариантах осуществления, SCNSL является агрессивной лимфомой, которая может вовлекать мозг, оболочки головного мозга, спинной мозг и глаза. В некоторых вариантах осуществления, SCNSL включает лептоменингеальное распространение. В некоторых вариантах осуществления, SCNSL включает паренхиматозную болезнь мозга. В некоторых вариантах осуществления, типовые признаки, ассоциированные с заболеванием или состоянием, включают такие, которые описаны у Malikova et al. (Neurophychiatric Disease and Treatment 2018; 14:733-40.)

В некоторых вариантах осуществления, заболеванием или состоянием является В-клеточная лимфома высокой степени злокачественности с MYC и BCL2 и/или BCL6 перестройками, необязательно с DLBCL гистологией. В некоторых вариантах осуществления, заболеванием или состоянием является DLBCL NOS (de novo или трансформированная из вялотекущей). В некоторых вариантах осуществления, заболеванием или состоянием является первичная В-клеточная лимфома стредостения (PMBCL) или фолликулярная лимфома степени 3B (FL3B). В некоторых вариантах осуществления, заболеванием или состоянием является фолликулярная лимфома (FL). В некоторых вариантах осуществления, им является DLBCL с вовлечением ЦНС. В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет рецидив DLBCL в центральной нервной системе (вторичная ЦНС лимфома). В некоторых вариантах осуществления, вторичная ЦНС лимфома вовлекает паренхиму мозга и/или лептоменинксы. В некоторых вариантах осуществления, субъект был лечен или ранее получал, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно или примерно 1, 2, 3, 4 или 5 другие терапии для лечения заболевания или расстройства. В некоторых вариантах осуществления, субъект ранее получал метотрексат, тиотепа и/или цитарабин. В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет MCL, которая имеет рецидив после получения метотрексата, тиотепа и/или цитарабина. В некоторых вариантах осуществления, субъект ранее получал терапию гемопоэтическими стволовыми клетками (HSCT), например, аллогенными HSCT или аутологичными HSCT.

В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет или идентифицирован как имеющий двойную/тройную лимфому или лимфому с двойными/тройными молекулярными подтипами. В некоторых вариантах осуществления, лимфомой является двойная лимфома, характеризующаяся присутствием MYC (миелоцитоматозный онкоген), BCL2 (В-клеточная лимфома 2) и/или BCL6 (В-клеточная лимфома 6) генными перестройками (например, транслокациями). В некоторых вариантах осуществления, генные перестройки влияют на MYC/8q24 локус в комбинации с другими генными перестройками. Например, другая перестройка генов включает t(14;18)(q32;q21) с вовлечением BCL2. В некоторых вариантах осуществления, перестройка генов влияет на MYC/8q24 локус в комбинации с BCL6/3q27. В некоторых вариантах осуществления,

лимфомой является тройная лимфома, характеризующаяся присутствием MYC, BCL 2 и BCL6 перестройками генов; см., например, Aukema et al., (2011) Blood 117:2319-2331. В некоторых аспектах таких вариантов осуществления, субъект имеет ECOG 0-1 или не имеет или не подозревается в наличии или не характеризуется как имеющий DLBCL, трансформированную из MZL или CLL. В аспектах, терапия показана для таких субъектов и/или инструкции показывают введение субъекту в такой популяции. В некоторых вариантах осуществления, на основе критериев 2016 WHO (Swerdlow et al., (2016) Blood 127(20):2375-2390), двойная/тройная лимфома может считаться В-клеточной лимфомой высокой степени злокачественности, с MYC и BCL2 и/или BCL6 перестройками с DLBCL гистологией (двойная/тройная).

В некоторых вариантах осуществления, NHL может быть ранжирована на основе классификации Lugano (см., например, Cheson et al., (2014) JCO 32(27):3059-3067; Cheson, B.D. (2015) Chin Clin Oncol 4(1):5). В некоторых случаях, стадии описаны римскими цифрами I - IV (1-4), и лимфомы ограниченной стадии (I или II), которые влияют на органы вне лимфатической системы (внеузловые органы) обозначены как E. Стадия I представляет вовлечение одного узла или группы соседних узлов или отдельные внеузловые очаги с узловым вовлечением (IE). Стадия 2 представляет вовлечение двух или нескольких групп узлов на одной и той же стороне диафрагмы, или стадией I или II узловой степени с ограниченным соседним внеузловым вовлечением (IIE). Стадия III представляет вовлечение в узлы на обеих сторонах диафрагмы или узлы выше диафрагмы с вовлечением селезенки. Стадия IV представляет вовлечение дополнительных не соседних экстралимфатических участков. Кроме того, «генерализованная лимфаденопатия» может применяться для описания больших опухолей в груди, в частности, для стадии II. Степень заболевания определяется позитронной эмиссионной томографией (ПЭТ) - компьютерной томографией (КТ) для авидных лимфом, и КТ для не авидных гистологий. В некоторых из любых вариантов осуществления, в момент или до введения дозы клеток, субъект, подлежащий лечению согласно представленным вариантам осуществления, имеет положительное к позитронной эмиссионной томографии (ПЭТ) заболевание.

В некоторых из любых вариантов осуществления, в момент или до введения дозы клеток, если субъект получает предшествующую CD19-таргетную терапию, биологический образец, полученный от субъекта после предшествующей CD19-таргетной терапии содержит клетку, экспрессирующую CD19.

В некоторых вариантах осуществления, Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) показатель общего состояния может применяться для оценки или выбора субъектов для лечения, например, субъектов, которые имеют плохой результат после предшествующих терапий (см., например, Oken et al. (1982) Am J Clin Oncol. 5:649-655). Шкала ECOG Показателя общего состояния описывает уровень функционирования пациента по его способности заботиться о себе, повседневной деятельности и физической способности (например, ходить, работать и т.д.). В некоторых вариантах осуществления, общее состояние по ECOG 0 означает, что субъект может осуществлять нормальную активность.

В некоторых аспектах, субъекты с общим состоянием по ECOG 1 демонстрируют некоторые ограничения в физической активности, но субъект является полностью амбулаторным. В некоторых аспектах, пациенты с общим состоянием по ECOG 2 в более 50% являются амбулаторными. В некоторых случаях, субъект с общим состоянием по ECOG 2 также может быть способен заботиться о себе; см., например, Sørensen et al., (1993) Br J Cancer 67(4) 773-775. Критерии, отражающие ECOG показатель общего состояния, описаны в **Таблице 1** ниже:

Таблица 1. Критерии ECOG Показателя общего состояния

Степень	**ECOG показатель общего состояния**
0	Полностью активен, способен без ограничений выполнять все действия, предшествующие заболеванию
1	Ограничен в физически напряженной деятельности, но передвигается амбулаторно и может выполнять легкую или сидячую работу, например, легкую работа по дому, работу в офисе
2	Амбулаторный и способен к самообслуживанию, но неспособен выполнять какую-либо работу; до примерно более 50% часов бодрствования
3	Способен только к ограниченному уходу за собой; прикован к постели или креслу более 50% часов бодрствования
4	Полный инвалид; не способен к самообслуживанию; полностью прикован к кровати или креслу
5	Мертв

В некоторых из любых вариантов осуществления, в момент или непосредственно перед введением дозы клеток, субъект имеет рецидив после ремиссии после лечения или стал рефрактерным к одной или нескольких предшествующим терапиям заболевания или состояния, отличным от другой дозы клеток, экспрессирующих CAR. В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет рецидив после ремиссии после лечения или стал рефрактерным к одной, двум или трем или более предшествующим терапиям (отличным от другой дозы клеток, экспрессирующих CAR). В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет рецидив после ремиссии после лечения или стал рефрактерным к одной предшествующей терапии (отличной от другой дозы клеток, экспрессирующих CAR), например, такой, где доза клеток является терапией второй линии. В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет рецидив после ремиссии после лечения или стал рефрактерным к, двум или нескольким предшествующим терапиям (отличным от другой дозы клеток, экспрессирующих CAR), например, такой, где доза клеток является терапией третьей линии или более поздней, например, терапией четвертой линии.

В некоторых аспектах, субъекты, подлежащее лечению в соответствии с

представленными вариантами осуществления, включают взрослых субъектов с рецидивирующей или рефрактерной агрессивной В-крупноклеточная лимфома (R/R LBCL). Подходящие по критериям субъекты имеют диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL, не определенную иным образом [NOS]; включая трансформированную DLBCL из вялотекущей гистологии [tDLBCL]), В-клеточную лимфому высокой степени злокачественности с *MYC* и BCL2 и/или BCL6 перестройкой с DLBCL гистологией, первичную В-клеточную лимфому стредостения (PMBCL) или фолликулярную лимфому степени 3В после лечения 2 или более предшествующими терапиями. В некоторых вариантах осуществления, субъекты с вторичной ЦНС лимфомой могут быть лечены в соответствии с представленными вариантами осуществления. В некоторых аспектах, субъекты, которые достигают полного ответа после вливания анти-CD19 CAR, но который имеет рецидив, может быть лечен в соответствии с представленными вариантами осуществления. В некоторых вариантах осуществления, субъекты, которым ранее вводили CAR-экспрессирующую Т клеточную терапию, например, сконструированные Т-клетки, который экспрессируют те же CAR+ Т клетки, которые достигли стабильного заболевания (SD) в качестве наилучшего ответа после первой инфузии, могут быть лечены в соответствии с представленными вариантами осуществления, например, в виде второй инфузии или цикла терапии CAR-экспрессирующими Т клетками.

В некоторых вариантах осуществления, в момент или до введения дозы клеток: субъект имеет или идентифицирован как имеющий рецидивирующую или рефрактерную В-крупноклеточную лимфому; и/или субъекта лечат или лечили антрациклином и одним или несколькими CD20-таргетными агентами; и/или субъект имеет или имел рецидивирующее или рефрактерное заболевание после двух или нескольких линий терапии или после аутологичными HSCT; и/или субъект имеет или идентифицирован как имеющий общее состояние по ECOG 1 или 2; и/или если субъект получает предшествующую CD19-таргетную терапию, биологический образец, полученный от субъекта после предшествующей CD19-таргетной терапии содержит клетку, экспрессирующую CD19. В некоторых вариантах осуществления, введение клеточной дозы проводят амбулаторно.

В некоторых аспектах, субъекты, подлежащее лечению в соответствии с представленными вариантами осуществления, например, в амбулаторном режиме, например, не в центрах специализированных видов медицинской помощи, включают взрослых пациентов с рецидивирующей/рефрактерной В-клеточной NHL. В некоторых аспектах, субъект, подлежащий лечению в соответствии с представленными вариантами осуществления, например в амбулаторном режиме, включает субъектов с диффузной В-крупноклеточной лимфомой (DLBCL), DLBCL, трансформированной из фолликулярной лимфомы (tDLBCL) и В-клеточную лимфому высокой степени злокачественности с MYC и BCL2 и/или BCL6 перестройкой с DLBCL гистологией. В некоторых аспектах, субъект, подлежащий лечению в соответствии с представленными вариантами осуществления, например в амбулаторном режиме, включает субъектов, подвергутых лечению антрациклином и ритуксимабом и имеющих рецидивирующее/рефрактерное заболевания

после 2 или нескольких системных линий терапии DLBCL или после аутологичных HSCT.

В некоторых вариантах осуществления, до введения дозы клеток которое осуществляют амбулаторно, представленные варианты осуществления включают идентификацию или выбор для введения дозы клеток субъекта, который является или имеет: рецидивирующую или рефрактерную В-крупноклеточную лимфому; и/или антрациклин и один или несколько CD20-таргетных агентов; и/или рецидивирующее или рефрактерное заболевание после двух или нескольких линий терапии или после аутологичных HSCT; и/или общее состояние по ECOG 1 или 2; и/или если субъект получает предшествующую CD19-таргетную терапию, биологический образец, полученный от субъекта после предшествующей CD19-таргетную терапию содержит клетку, экспрессирующую CD19.

В некоторых вариантах осуществления, до введения дозы клеток, представленные варианты осуществления включают идентификацию или выбор для введения дозы клеток субъекта, который имеет: двойную/тройную лимфому; химиорефрактерную лимфому, необязательно химиорефрактерную DLBCL; не достиг полной ремиссии (CR) в ответ на предшествующую терапию для лечения злокачественного образования, необязательно, NHL; и/или имеет рецидив в течение 1 года или менее 1 года после трансплантации аутологичных стволовых клеток (ASCT); и/или имеет лимфому, ассоциированную с или включающую вовлечение центральной нервной системы (ЦНС).

В некоторых аспектах, субъекты, подлежащие лечению в соответствии с представленными вариантами осуществления, включают взрослых субъектов, которые имеют рецидив после или являются рефрактерными к одной линии иммунохимиотерапии агрессивной В-клеточной NHL и не соответствуют критериям HSCT. В некоторых аспектах, субъекты, подлежащие лечению в соответствии с представленными вариантами осуществления, включают субъектов, имеющих диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL), не определенную иным образом (NOS; de novo или трансформированную из фолликулярной лимфомы [tFL]), В-клеточную лимфому высокой степени злокачественности с MYC и BCL2 и/или BCL6 перестройкой с DLBCL гистологией (двойную/тройную лимфому [DHL/THL]) и фолликулярную лимфому степени 3В после 1 первой линии иммунохимиотерапии, включающей антрациклин и CD20-таргетный агент. В некоторых аспектах, субъекты, подлежащие лечению в соответствии с представленными вариантами осуществления, включают субъектов с вторичным вовлечением ЦНС. В некоторых аспектах, субъекты, подлежащие лечению в соответствии с представленными вариантами осуществления, включают субъектов, которые считаются не соответствующими критериям для обеих высокодозной химиотерапии и HSCT, и не соответствуют критериям трансплантации (TNE), при этом соответствуя критериям для CAR T клеточной терапии. В некоторых аспектах, субъекты, которые являются TNE, включают субъектов, которые отвечают, по меньшей мере, одному из следующих критериев TNE: (a) возраст ≥70 лет; (b) ECOG показатель общего состояния 2; и/или (c) ухудшенную легочную (диффузионная способность легких по монооксиду углерода

[DLCO] ≤60%, но SaO_2 ≥92% при комнатном воздухе и CTCAE ≤1 одышка), сердечную (фракция выброса левого желудочка [LVEF] ≥40% и <50%), почечную (клиренс креатинина >30 и 60 мл/мин) или печеночную функцию (AST/ALT >2 и ≤5 x ULN). В некоторых аспектах, субъекты, подлежащие лечению в соответствии с представленными вариантами осуществления, включают субъектов, которым ранее вводили CAR-экспрессирующую Т клеточную терапию, например, сконструированные Т-клетки, которые экспрессируют те же CAR+ Т клетки, которые достигли полного ответа (CR) после первой инфузии, но имеют рецидив, например, например, второй инфузией CAR-экспрессирующей Т клеточной терапии.

В некоторых вариантах осуществления, до введения дозы клеток, представленные варианты осуществления включают идентификацию или выбор для введения дозы клеток субъекта, который имеет рецидивирующую/рефрактерную NHL; который является или был идентифицирован как не соответствующий критериям для обеих, химиотерапии в высокой дозе и трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (HSCT); и имеет рецидив после ремиссии после лечения или стал рефрактерным к, одной предшествующей терапии для заболевания или состояния, отличной от другой дозы клеток, экспрессирующих CAR.

В некоторых вариантах осуществления, до введения дозы клеток, представленные варианты осуществления включают идентификацию или выбор для введения дозы клеток субъекта, который является или имеет: возраст 70 лет или старше; и/или общее состояние по ECOG 2; и/или ухудшенную легочную функцию, необязательно с диффузионной способностью легких по монооксиду углерода (DLCO) точно или примерно 60% или менее; и/или ухудшенную сердечную функцию, необязательно с фракцией выброса левого желудочка (LVEF) менее чем точно или примерно 50%; и/или ухудшенную почечную функцию, необязательно с расчетным клиренсом креатинина менее чем точно или примерно 60 мл/мин; и/или ухудшенную печеночную функцию, необязательно с аспартатаминотрансферазой (AST) и аланинаминотрансферазой (ALT) более чем точно или примерно в два раза превышающей предел нормы (ULN).

В некоторых аспектах, субъекты, подлежащие лечению в соответствии с представленными вариантами осуществления, включают субъектов, которые имеют нормально функционирующие органы. В некоторых аспектах, типовые критерии для определения нормального функционирования органов включают: насыщающую концентрацию O_2 SaO_2 ≥92% при комнатном воздухе и) Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) ≤1 диспноэ; LVEF ≥ 40%; расчетный клиренс креатинина (Cockcroft and Gault) >30 мл/мин; AST/ALT ≤5 × ULN; нормальное функционирование костного мозга для получения противолимфомной терапии; и/или общий билирубин <2,0 мг/дл (или <3,0 мг/дл для субъектов с синдромом Жильбера или лимфоматозной инфильтрацией печени).

В некоторых вариантах осуществления, заболевание или состояние является или ассоциировано с инфекционным заболеванием или состоянием, таким как, помимо прочего, вирусные, ретровирусные, бактериальные и протозойные инфекции, иммунодефицит,

цитомегаловирус (CMV), вирус Эпштейн-Барр (EBV), аденовирус, BK полиомавирус. В некоторых вариантах осуществления, заболевание или состояние является аутоиммунным или воспалительным заболеванием или состоянием, таким как артрит, например, ревматоидный артрит (RA), диабет I типа, системная красная волчанка (SLE), воспалительное заболевание кишечника, псориаз, склеродермия, аутоиммунное заболевание щитовидной железы, болезнь Грейвса, болезнь Крона, рассеянный склероз, астма и/или заболевание или состояние, ассоциированное с трансплантатом.

В некоторых вариантах осуществления, антиген, ассоциированный с заболеванием или расстройством, выбрана из αvβ6 интегрина (avb6 интегрина), антигена созревания B клетки (BCMA), B7-H3, B7-H6, карбоновой ангидразы 9 (CA9, также известной как CAIX или G250), раково-тестикулярного антигена, ракового/тестикулярного антигена 1B (CTAG, также известного как NY-ESO-1 и LAGE-2), карциноэмбрионального антигена (CEA), циклина, циклина A2, C-C мотива хемокинового лиганда (CCL-1), CD19, CD20, CD22, CD23, CD24, CD30, CD33, CD38, CD44, CD44v6, CD44v7/8, CD123, CD133, CD138, CD171, хондроитинсульфатный протеогликан 4 (CSPG4), белок эпидермального фактора роста (EGFR), мутация III типа рецептора эпидермального фактора роста (EGFR vIII), эпидермального гликопротеина 2 (EPG-2), эпителиального гликопротеина 40 (EPG-40), эфрина B2, рецептора эфрина A2 (EPHa2), рецептора экстрогена, Fc рецептора подобного 5 (FCRL5; также известного как гомолог Fc рецептора 5 или FCRH5), фетального ацетилхолинового рецептора (фетального AchR), фолат-связывающего белка (FBP), фолатного рецептора альфа, ганглиозида GD2, O-ацетилированного GD2 (OGD2), ганглиозида GD3, гликопротеина 100 (gp100), глипикана-3 (GPC3), сопряженного с G-белком рецептора 5D (GPRC5D), Her2/neu (рецепторной тирозинкиназы erb-B2), Her3 (erb-B3), Her4 (erb-B4), erbB димеров, ассоциированного с высокомолекулярной меланомой человека антигена (HMW-MAA), поверхностного антигена гептатита B, лейкоцитарного антигена человека A1 (HLA-A1), лейкоцитарного антигена человека A2 (HLA-A2), IL-22 рецептора альфа (IL-22Rα), IL-13 рецептора альфа 2 (IL-13Rα2), рецептора со встроенным киназным доменом (kdr), каппа легкой цепи, L1 молекулы клеточной адгезии (L1-CAM), CE7 эпитопа L1-CAM, члена семейства A насыщенного лейцином повтора 8 (LRRC8A), Lewis Y, маланома-ассоциированного антигена (MAGE)-A1, MAGE-A3, MAGE-A6, MAGE-A10, мезотелина (MSLN), c-Met, цитомегаловируса мыши (CMV), муцина 1 (MUC1), MUC16, лигандов члена D естественного киллера группы 2 (NKG2D), мелана A (MART-1), молекулы адгезии нервной клетки (NCAM), онкофетального антигена, преимущественно экспрессированного антигена меланомы (PRAME), рецептора прогестерона, простат-специфического антигена, антигена стволовых клеток простаты (PSCA), простат-специфического мембранного антигена (PSMA), орфанного рецептора типа рецепторной тирозинкиназы 1 (ROR1), сурвивина, Трофобластного гликопротеина (TPBG также известного как 5T4), опухолеассоциированного гликопротеина 72 (TAG72), тирозиназа-родственного белка 1 (TRP1, также известного как TYRP1 или gp75), тирозиназа-родственного белка 2 (TRP2, также известного как допахромтаутомераза,

допахром дельта-изомераза или DCT), рецептора фактора роста сосудистого эндотелия (VEGFR), рецептора 2 фактора роста сосудистого эндотелия (VEGFR2), опухоли Вильмса 1 (WT-1), патоген-специфического или патоген-экспрессированного антигена или антигена, ассоциированного универсальной меткой и/или биотинилированными молекулами, и/или молекулами, экспрессированным HIV, HCV, HBV или другими патогенами. Антигены, таргетированные рецепторами, в некоторых вариантах осуществления включают антигены, ассоциированные со злокачественным образованием из В-клеток, таким как любой из множества известных В-клеточных маркеров. В некоторых вариантах осуществления, антигеном является или включает CD20, CD19, CD22, ROR1, CD45, CD21, CD5, CD33, Igкаппа, Iglямбда, CD79a, CD79b или CD30. В некоторых вариантах осуществления, заболевание или состояние является злокачественным образованием из В-клеток, таким как В-крупноклеточная лимфома (например, DLBCL) и антигеном является CD19.

В некоторых вариантах осуществления, антигеном является или выключает патоген-специфический или патоген-экспрессированный антиген. В некоторых вариантах осуществления, антигеном является вирусный антиген (такой как вирусный антиген из HIV, HCV, HBV, и т.д.), бактериальные антигены и/или паразитарные антигены. В некоторых вариантах осуществления, клеточную терапию, например, адоптивную Т клеточную терапию, проводят аутологичным трансфером, в котором клетки выделяют и/или другим образом получают от субъекта, который получает клеточную терапию, или из образца, полученного от такого субъекта. Таким образом, в некоторых аспектах, клетки получают от субъекта, например, пациента, нуждающегося в лечении, и клетки, после выделения и обработки, вводят тому же субъекту.

В некоторых вариантах осуществления, клеточную терапию, например, адоптивную Т клеточную терапию, осуществляют аллогенным переносом, при котором клетки изолируют и/или иным образом получают от субъекта, отличного от субъекта, который должен получить или который в конечном итоге получает клеточную терапию, например, первого субъекта. В таких вариантах осуществления, клетки затем вводят другому субъекту, например, второму субъекту того же вида. В некоторых вариантах осуществления, первый и второй субъект генетически идентичны. В некоторых вариантах осуществления, первый и второй субъект генетически похожи. В некоторых вариантах осуществления, второй субъект экспрессирует тот же класс или супертип HLA, что и первый субъект.

Клетки могут быть введены любыми подходящими способами, например, болюсной инфузией, инъекцией, например, внутривенными или подкожными инъекциями, внутриглазной инъекцией, периокулярной инъекцией, субретинальной инъекцией, интравитреальной инъекцией, транссептальной инъекцией, субсклеральной инъекцией, интрахориоидальной инъекцией, внутрикамерной инъекцией, субконъюнктивальной инъекцией, субконъюнктивальной инъекцией, субтеноновой инъекцией, ретробульбарной инъекцией, перибульбарной инъекцией или задней околосклеральной доставкой. В некоторых вариантах осуществления, их вводят парентеральным, внутрилегочным и

интраназальным и, если желательно для местного лечения, внутриочаговым введением. Парентеральные инфузии включают внутримышечное, внутривенное, внутриартериальное, внутрибрюшинное или подкожное введение. В некоторых вариантах осуществления, данную дозу вводят однократным болюсным введением клеток. В некоторых вариантах осуществления, ее вводят множественным болюсным введением клеток, например, в течение периода не более 3 дней или непрерывной инфузией клеток. В некоторых вариантах осуществления, введение дозы клеток или любых дополнительных терапий, например, противолимфомной терапии, экспериментальной терапии и/или комбинированной терапии, проводят амбулаторно.

В некоторых вариантах осуществления, введение дозы клеток или любых дополнительных терапий, например, противолимфомной терапии, экспериментальной терапии и/или комбинированной терапии, проводят стационарно. В некоторых аспектах введение дозы клеток или любых дополнительных терапий, например, противолимфомной терапии, экспериментальной терапии и/или комбинированной терапии, проводят амбулаторно, например, в университетских медицинских центрах. В некоторых аспектах, терапию получают в амбулаторном режиме, например, на не университетских медицинских центрах. В некоторых аспектах, введение и управление клеточной терапии или любых дополнительных терапий, например, противолимфомной терапии, экспериментальной терапии и/или комбинированной терапии, в амбулаторном режиме может дать более широкое применение в общественных/не университетских центрах и улучшенный доступ.

Для профилактики или лечения заболевания, подходящая дозировка может зависеть от типа заболевания, подлежащего лечению, типа клеток или рекомбинантных рецепторов, тяжести и течения заболевания, того, вводят ли клетки в профилактических или терапевтических целях, предшествующей терапии, истории болезни субъекта и ответа на клетки, а также на усмотрение лечащего врача. В некоторых вариантах осуществления, композиции и клетки вводят подходящим образом индивидуально за один раз или в течение серии курсов лечения.

В некоторых вариантах осуществления, клетки вводят как часть комбинированной терапии, например, одновременно или последовательно с, в любом порядке, другим или дополнительным терапевтическим вмешательством, таким как антитело или сконструированная клетка или рецептор или агент, такой как цитотоксический или терапевтический агент. В некоторых вариантах осуществления, клетки вводят совместно с одним или несколькими дополнительными терапевтическими агентами или в связи с другим терапевтическим вмешательством одновременно или последовательно в любом порядке. В некоторых вариантах осуществления, дополнительным терапевтическим агентом являются любые вмешательства или агенты, описанные в настоящем документе, такие как любые описанные вмешательства или агенты, которые могут облегчить симптомы токсичности, описанные в настоящем документе, например, в Разделе II. В некоторых контекстах, клетки вводят совместно с другой терапией, достаточно близкой по времени, так что популяции клеток усиливают эффект одного или нескольких

дополнительных терапевтических агентов или наоборот. В некоторых вариантах осуществления, клетки вводят до одного или нескольких дополнительных терапевтических агентов. В некоторых вариантах осуществления, клетки вводят после одного или нескольких дополнительных терапевтических агентов. В некоторых вариантах осуществления, один или несколько дополнительных агентов включают цитокин, такой как IL-2, например, для повышения устойчивости. В некоторых вариантах осуществления, способы включают введение химиотерапевтического агента.

В некоторых вариантах осуществления способы, включают введение химиотерапевтического агента, например, адаптационного химиотерапевтического агента, например, для уменьшения опухолевой массы до введения.

Прекондиционирование субъектов с иммуноистощающими (например, противолимфомными) терапиями в некоторых аспектах может улучшать эффект адоптивной клеточной терапии (АСТ).

Таким образом, в некоторых вариантах осуществления, способы включают введение прекондиционирующего агента, такого как противолимфомный или химиотерапевтический агент, такой как циклофосфамид, флударабин или их комбинации, субъекту до начала клеточной терапии. Например, субъекту может вводиться прекондиционирующий агент, по меньшей мере, за 2 дней дня, например, по меньшей мере, за 3, 4, 5, 6 или 7 дней до начала клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, субъекту вводят прекондиционирующий агент за не более 7 дней до, например, не более 6, 5, 4, 3 или 2 дней до, начала клеточной терапии.

В некоторых вариантах осуществления, субъекта прекондиционируют циклофосфамидом в дозе от или от примерно 20 мг/кг и 100 мг/кг массы тела субъекта, например, от или от примерно 40 мг/кг до 80 мг/кг. В некоторых аспектах, субъекта прекондиционируют или вводят точно или примерно 60 мг/кг циклофосфамида. В некоторых вариантах осуществления, циклофосфамид может вводиться одной дозой или может вводиться множеством доз, например, ежедневно, через день или раз в три дня. В некоторых вариантах осуществления, циклофосфамид вводят один раз ежедневно в течение одного или двух дней. В некоторых вариантах осуществления, если противолимфомный агент содержит циклофосфамид, субъекту вводят циклофосфамид в дозе от или от примерно 100 мг/м^2 до 500 мг/м^2 площади поверхности тела субъекта, например, от или от примерно 200 мг/м^2 до 400 мг/м^2 или от 250 мг/м^2 до 350 мг/м^2, включительно. В некоторых случаях, субъекту вводят примерно 100 мг/м^2 циклофосфамида. В некоторых случаях, субъекту вводят примерно 150 мг/м^2 циклофосфамида. В некоторых случаях, субъекту вводят примерно 200 мг/м^2 циклофосфамида. В некоторых случаях, субъекту вводят примерно 250 мг/м^2 циклофосфамида. В некоторых случаях, субъекту вводят примерно 300 мг/м^2 циклофосфамида. В некоторых вариантах осуществления, циклофосфамид может вводиться одной дозой или может вводиться множеством доз, например, ежедневно, через день или раз в три дня. В некоторых вариантах осуществления, циклофосфамид вводят ежедневно, например, в течение 1-5 дней, например, в течение от 3 до 5 дней. В некоторых

случаях, субъекту вводят примерно 300 мг/м^2 площади поверхности тела субъекта, циклофосфамида, ежедневно, в течение 3 дней, до начала клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, субъекту вводят всего точно или примерно 300 мг/м^2, 400 мг/м^2, 500 мг/м^2, 600 мг/м^2, 700 мг/м^2, 800 мг/м^2, 900 мг/м^2, 1000 мг/м^2, 1200 мг/м^2, 1500 мг/м^2, 1800 мг/м^2, 2000 мг/м^2, 2500 мг/м^2, 2700 мг/м^2, 3000 мг/м^2, 3300 мг/м^2, 3600 мг/м^2, 4000 мг/м^2 или 5000 мг/м^2 циклофосфамида или в диапазоне, определенном любым из вышеперечисленного, до начала клеточной терапии.

В некоторых вариантах осуществления, если противолимфомный агент содержит флударабин, субъекту вводят флударабин в дозе от точно или примерно 1 мг/м^2 до точно или примерно 100 мг/м^2, например, от точно или примерно 10 мг/м^2 до точно или примерно 75 мг/м^2, точно или примерно 15 мг/м^2 до точно или примерно 50 мг/м^2, точно или примерно 20 мг/м^2 до точно или примерно 40 мг/м^2, точно или примерно или 24 мг/м^2 до точно или примерно 35 мг/м^2, включительно. В некоторых случаях, субъекту вводят точно или точно или примерно 10 мг/м^2 флударабина. В некоторых случаях, субъекту вводят точно или примерно 15 мг/м^2 флударабина. В некоторых случаях, субъекту вводят точно или примерно 20 мг/м^2 флударабина. В некоторых случаях, субъекту вводят точно или примерно 25 мг/м^2 флударабина. В некоторых случаях, субъекту вводят точно или примерно 30 мг/м^2 флударабина. В некоторых вариантах осуществления, флударабин может вводиться одной дозой или может вводиться множеством доз, например, ежедневно, через день или раз в три дня. В некоторых вариантах осуществления, флударабин вводят ежедневно, например, в течение 1-5 дней, например, в течение от 3 до 5 дней. В некоторых случаях, субъекту вводят точно или примерно 30 мг/м^2 площади поверхности тела субъекта, флударабина, ежедневно, в течение 3 дней, до начала клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, субъекту вводят всего точно или примерно 10 мг/м^2, 20 мг/м^2, 25 мг/м^2, 30 мг/м^2, 40 мг/м^2, 50 мг/м^2, 60 мг/м^2, 70 мг/м^2, 80 мг/м^2, 90 мг/м^2, 100 мг/м^2, 120 мг/м^2, 150 мг/м^2, 180 мг/м^2, 200 мг/м^2, 250 мг/м^2, 270 мг/м^2, 300 мг/м^2, 330 мг/м^2, 360 мг/м^2, 400 мг/м^2 или 500 мг/м^2 циклофосфамида или в диапазоне, определенном любым из вышеперечисленного, до начала клеточной терапии.

В некоторых вариантах осуществления, противолимфомный агент содержит один агент, такой как циклофосфамид или флударабин. В некоторых вариантах осуществления, субъекту вводят только циклофосфамид, без флударабина или других противолимфомных агентов. В некоторых вариантах осуществления, до введения, субъект получает противолимфомную терапию, включающую введение циклофосфамида точно или примерно 200-400 мг/м^2 площади поверхности тела субъекта, необязательно точно или примерно 300 мг/м^2, ежедневно, в течение 2-4 дней. В некоторых вариантах осуществления, субъекту вводят только флударабин, например, без циклофосфамида или других противолимфомных агентов. В некоторых вариантах осуществления, до введения, субъект получает а противолимфомную терапию, включающую введение флударабина точно или примерно 20-40 мг/м^2 площади поверхности тела субъекта, необязательно точно или примерно 30 мг/м^2, ежедневно, в течение 2-4 дней.

В некоторых вариантах осуществления, противолимфомный агент содержит комбинацию агентов, например, комбинацию циклофосфамида и флударабина. Таким образом, комбинация агентов может включать циклофосфамид в любой дозе или по схеме введения, таким как описаны выше, и флударабин в любой дозе или по схеме введения, таким как описаны выше. Например, в некоторых аспектах, субъекту вводят точно или примерно 60 мг/кг (~2 г/м^2) циклофосфамида и 3-5 доз 25 мг/м^2 флударабина до первой или последующей дозы. Иногда субъекту вводят флударабин (30 мг/м^2/день в течение 3 дней) и циклофосфамид (300 мг/м^2/день в течение 3 дней) (flu/cy) одновременно, внутривенно, до введения клеток. В некоторых вариантах осуществления, субъекту вводят пониженную, замедленную или исключенную дозу одной или нескольких доз противолимфомных агентов.

В некоторых вариантах осуществления после сбора клеток от субъекта (например, лейкаферезом) для конструирования клеток клеточной терапии с рекомбинантным рецептором (например, CAR), как описано в Разделе III.E, и до противолимфомной терапии, субъект может получать промежуточную терапию. В некоторых вариантах осуществления, промежуточной терапией является химиотерапия. Промежуточной терапией может быть любая противоопухолевая терапия для контроля заболевания до получения дозы модифицированных (например, CAR+) Т-клеток. Любая из множества терапий может вводиться в качестве промежуточной терапии на основе суждения квалифицированного практикующего специалиста по лечению конкретного заболевания или состояния, в том числе на основе таких факторов, как возраст пациента, серьезность или степень заболевания, потенциальные побочные эффекты, сроки введения до противолимфомной терапии, предыдущие терапии и другие факторы. Промежуточная терапия может включать радиотерапию или системную терапию. Типовые терапии, которые могут применяться в качестве промежуточных к противолимфомной терапии, включают, но не ограничиваются ими, ритуксимаб, дексаметазон, преднизон, леналидомид, гемцитабин, оксалиплатин, Брентуксимаб ведотин, ибрутиниб или бендамустин или любую комбинацию любых из вышеперечисленных. В некоторых случаях, промежуточной терапией является гемцитабин и оксалиплатин. В некоторых случаях, промежуточной терапией является гемцитабин и ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления, промежуточной терапией является ритуксимаб, гемцитабин и оксалиплатин. Перед приемом противолимфомной терапии субъекта оценивают на предмет статуса болезни, например, с помощью позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ). В некоторых вариантах осуществления, только субъекты, демонстрирующие ПЭТ-положительное заболевание после промежуточной терапии, получают противолимфомную терапию и им вводят доку сконструированных (например, CAR+) Т-клеток. В других вариантах осуществления, если субъект достигает CR после промежуточной терапии, субъекту не вводят противолимфомную терапию или дозу сконструированных (например, CAR+) Т-клеток.

После введения клеток, биологическая активность популяций сконструированных клеток в некоторых вариантах осуществления измеряют, например, любым из множества

известных способов. Параметры для оценки включают специфическое связывание сконструированной или естественной Т-клетки или другой иммунной клетки с антигеном, in vivo, например, с помощью визуализации, или ex vivo, например, с помощью ELISA или проточной цитометрии. В некоторых вариантах осуществления, способность сконструированных клеток разрушать клетки-мишени может быть измерена с использованием любых подходящих известных способов, таких как анализы цитотоксичности, описанные в, например, Kochenderfer et al., J. Immunotherapy, 32(7): 689-702 (2009), b Herman et al. J. Immunological Methods, 285(1): 25-40 (2004). В определенных вариантах осуществления, биологическую активность клеток изменяют оценкой экспрессии и/или секреции одного или нескольких цитокинов, таких как 7a, IFNγ, IL-2 и TNF. В некоторых аспектах, биологическую активность клеток изменяют оценкой клинического результата, такого как снижение опухолевой массы или нагрузки.

В определенных вариантах осуществления, сконструированные клетки дополнительно модифицируют любым количеством способов, так что их терапевтическая или профилактическая эффективность увеличивается. Например, сконструированные CAR или TCR, экспрессированные популяцией, могут быть конъюгированы либо прямо, либо косвенно через линкер с таргетной группой. Практика конъюгирования соединений, например CAR или TCR, с таргетными группами известна. См., например, Wadwa et al., J. Drug Targeting 3: 1 1 1 (1995) и патент США 5,087,616. В некоторых вариантах осуществления, клетки вводят как часть комбинированного лечения, например, одновременно или последовательно с, в любом порядке, другим терапевтическим вмешательством, таким как антитело или сконструированная клетка, или рецептор или агент, такой как цитотоксический или терапевтический агент. В некоторых вариантах осуществления, клетки вводят совместно с одним или несколькими дополнительными терапевтическими агентами или в связи с другим терапевтическим вмешательством, одновременно или последовательно, в любом порядке. В некоторых контекстах, клетки вводят совместно с другой терапией, достаточно близкой по времени, так что популяции клеток усиливают эффект одного или нескольких дополнительных терапевтических агентов или наоборот. В некоторых вариантах осуществления, клетки вводят до одного или нескольких дополнительных терапевтических агентов. В некоторых вариантах осуществления, клетки вводят после одного или нескольких дополнительных терапевтических агентов. В некоторых вариантах осуществления, один или несколько дополнительных агентов включают цитокин, такой как IL-2, например, для повышения стойкости.

В некоторых вариантах осуществления, субъектов подвергают премедикации, например, для минимизации риска инфузионной реакции. В некоторых аспектах, премедикация включает прием обезболивающих и/или антигистаминных препаратов. В некоторых вариантах осуществления, премедикация включает введение ацетаминофена и/или дифенгидрамина или другого H1-антигистамина. В некоторых вариантах осуществления, пациенту дают ацетаминофен (например, 650 мг перорально) и

дифенгидрамин (например, 25-50 мг, внутривенно или перорально) или другой H1-антигистамин, точно или примерно от 30 до 60 минут до лечения клеточной терапией.

B. Дозирование

В некоторых вариантах осуществления, дозу клеток вводят субъектам согласно представленным способам и/или представленным готовым изделиям или композициям. В некоторых вариантах осуществления, размер или время введения доз определяют как функцию конкретного заболевания или состояния у субъекта. В некоторых случаях, размер или время дозирования для конкретного заболевания с учетом предоставленного описания могут быть определены эмпирически.

В некоторых из представленных вариантов осуществления, доза Т клеток, таких как сконструированные Т-клетки, экспрессирующие рекомбинантный рецептор, включает обогащенные или содержит клеточную композицию или клеточную популяцию, которая обогащена $CD3^+$ Т клетками, $CD4^+$ Т клетками, $CD8^+$ Т клетками или $CD4^+$ Т клетками и $CD8^+$ Т клетками. В некоторых из таких вариантов осуществления, более чем точно или примерно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 98% клеток в дозе Т клеток являются $CD3^+$ Т клетками, $CD4^+$ Т клетками, $CD8^+$ Т клетками или $CD4^+$ Т клетками и $CD8^+$ Т клетками. В некоторых из любых вариантов осуществления, доза Т клеток содержит определенное отношение $CD4^+$ клеток, экспрессирующих рецептор к $CD8^+$ клеткам, экспрессирующим рецептор и/или $CD4^+$ Т клеток к $CD8^+$ Т клеткам, где отношение составляет приблизительно 1:1 или составляет от приблизительно 1:3 до приблизительно 3:1. В некоторых из любых вариантов осуществления, определенное отношение составляет или составляет приблизительно 1:1.

В некоторых из любых представленных вариантов осуществления, доза Т клеток содержит дозу $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток, где Т-клетки каждой дозы содержат рекомбинантный рецептор, который специфически связывается с антигеном-мишенью, экспрессированным заболеванием или расстройством, таким как любое, описанное в настоящем документе, или его клеткой или тканью, и/или который ассоциирован с заболеванием или расстройством. В некоторых аспектах, введение включает введение множества отдельных композиций, множество отдельных композиций содержит первую композицию, содержащую $CD8^+$ Т-клетки и вторую композицию, содержащую $CD4^+$ Т-клетки.

В некоторых вариантах осуществления, доза клеток содержит от точно или примерно 2×10^5 клеток/кг до точно или примерно 2×10^6 клеток/кг, например, от точно или примерно 4×10^5 клеток/кг до точно или примерно 1×10^6 клеток/кг или от точно или примерно 6×10^5 клеток/кг до точно или примерно 8×10^5 клеток/кг. В некоторых вариантах осуществления, доза клеток содержит не более 2×10^5 клеток (например антиген-экспрессирующих, например, CAR-экспрессирующих клеток) на килограмм массы тела субъекта (клеток/кг), например, не более точно или примерно 3×10^5 клеток/кг, не более точно или примерно 4×10^5 клеток/кг, не более точно или примерно 5×10^5 клеток/кг, не более точно или примерно 6×10^5 клеток/кг, не более точно или примерно 7×10^5 клеток/кг, не более точно или примерно 8×10^5 клеток/кг, не более точно или примерно 9×10^5

клеток/кг, не более точно или примерно 1×10^6 клеток/кг или не более точно или примерно 2×10^6 клеток/кг. В некоторых вариантах осуществления, доза клеток содержит по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно или точно или примерно 2×10^5 клеток (например антиген-экспрессирующих, например, CAR-экспрессирующих клеток) на килограмм массы тела субъекта (клеток/кг), например, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно или точно или примерно 3×10^5 клеток/кг, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно или точно или примерно 4×10^5 клеток/кг, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно или точно или примерно 5×10^5 клеток/кг, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно или точно или примерно 6×10^5 клеток/кг, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно или точно или примерно 7×10^5 клеток/кг, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно или точно или примерно 8×10^5 клеток/кг, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно или точно или примерно 9×10^5 клеток/кг, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно или точно или примерно 1×10^6 клеток/кг или, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно или точно или примерно 2×10^6 клеток/кг. В некоторых вариантах осуществления, количеством клеток является число таких клеток, которые являются жизнеспособными клетками, например, жизнеспособными Т клетками.

В определенных вариантах осуществления, клетки или отдельные популяции подтипов клеток вводят субъекту в диапазоне от точно или примерно 0,1 миллиона до точно или примерно 100 миллиардов клеток и/или такое количество клеток на килограмм массы тела субъекта, как, *например*, от точно или примерно 0,1 миллиона до точно или примерно 50 миллиардов клеток (*например*, точно или примерно 5 миллионов клеток, точно или примерно 25 миллионов клеток, точно или примерно 500 миллионов клеток, точно или примерно 1 миллиард клеток, точно или примерно 5 миллиардов клеток, точно или примерно 20 миллиардов клеток, точно или примерно 30 миллиардов клеток, точно или примерно 40 миллиардов клеток или интервал, определенный любыми двумя из вышеуказанных значений), от точно или примерно 1 миллиона до точно или примерно 50 миллиардов клеток (*например*, точно или примерно 5 миллионов клеток, точно или примерно 25 миллионов клеток, точно или примерно 500 миллионов клеток, точно или примерно 1 миллиард клеток, точно или примерно 5 миллиардов клеток, точно или примерно 20 миллиардов клеток, точно или примерно 30 миллиардов клеток, точно или примерно 40 миллиардов клеток или интервал, определенный любыми двумя из вышеуказанных значений), например, от точно или примерно 10 миллионов до точно или примерно 100 миллиардов клеток (*например*, точно или примерно 20 миллионов клеток, точно или примерно 30 миллионов клеток, точно или примерно 40 миллионов клеток, точно или примерно 60 миллионов клеток, точно или примерно 70 миллионов клеток, точно или примерно 80 миллионов клеток, точно или примерно 90 миллионов клеток, точно или примерно 10 миллиардов клеток, точно или примерно 25 миллиардов клеток, точно или примерно 50 миллиардов клеток, точно или примерно 75 миллиардов клеток, точно или примерно 90 миллиардов клеток или интервал, определенный любыми двумя из

вышеуказанных значений), и в некоторых случаях, от точно или примерно 100 миллионов клеток до точно или примерно 50 миллиардов клеток (*например*, точно или примерно 120 миллионов клеток, точно или примерно 250 миллионов клеток, точно или примерно 350 миллионов клеток, точно или примерно 650 миллионов клеток, точно или примерно 800 миллионов клеток, точно или примерно 900 миллионов клеток, точно или примерно 3 миллиарда клеток, точно или примерно 30 миллиардов клеток, точно или примерно 45 миллиардов клеток) или любое значение в пределах этих диапазонов и/или на килограмм массы тела субъекта. Дозировки могут варьироваться в зависимости от признаков, связанных с заболеванием, расстройством и/или пациентом и/или другими видами лечения. В некоторых вариантах осуществления, такие значения относятся к количеству экспрессирующих рекомбинантный рецептор клеток; в других вариантах осуществления, они относятся к количеству введенных Т-клеток или PBMC или всего клеток. В некоторых вариантах осуществления количеством клеток является количество таких клеток, которые являются жизнеспособными клетками.

В некоторых вариантах осуществления, дозой клеток является базовая доза клеток или фиксированная доза клеток, такая, что доза клеток не связана или не основана на площади поверхности тела или массы субъекта.

В некоторых вариантах осуществления, доза генетически сконструированных клеток содержит от точно или примерно 1×10^5 до точно или примерно 5×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^5 до точно или примерно $2,5\times10^8$ всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^5 до точно или примерно 1×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^5 до точно или примерно 5×10^7 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^5 до точно или примерно $2,5\times10^7$ всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^5 до точно или примерно 1×10^7 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^5 до точно или примерно 5×10^6 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×105 до точно или примерно $2,5\times10^6$ всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^5 до точно или примерно 1×10^6 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^6 до точно или примерно 5×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^6 до точно или примерно $2,5\times10^8$ всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^6 до точно или примерно 1×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^6 до точно или примерно 5×10^7 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^6 до точно или примерно $2,5\times10^7$ всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^6 до точно или примерно 1×10^7 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^6 до точно или примерно 5×10^6 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^6 до точно или примерно $2,5\times10^6$ всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно $2,5\times10^6$ до точно или примерно 5×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно $2,5\times10^6$ до точно или примерно $2,5\times10^8$ всего CAR-экспрессирующих Т клеток,

от точно или примерно $2,5\times10^6$ до точно или примерно 1×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно $2,5\times10^6$ до точно или примерно 5×10^7 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно $2,5\times10^6$ до точно или примерно $2,5\times10^7$ всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно $2,5\times10^6$ до точно или примерно 1×10^7 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно $2,5\times10^6$ до точно или примерно 5×10^6 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 5×10^6 до точно или примерно 5×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 5×10^6 до точно или примерно $2,5\times10^8$ всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 5×10^6 до точно или примерно 1×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 5×10^6 до точно или примерно 5×10^7 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 5×10^6 до точно или примерно $2,5\times10^7$ всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 5×10^6 до точно или примерно 1×10^7 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^7 до точно или примерно 5×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^7 до точно или примерно $2,5\times10^8$ всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^7 до точно или примерно 1×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^7 до точно или примерно 5×10^7 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^7 до точно или примерно $2,5\times10^7$ всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно $2,5\times10^7$ до точно или примерно 5×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно $2,5\times10^7$ до точно или примерно $2,5\times10^8$ всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно $2,5\times10^7$ до точно или примерно 1×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно $2,5\times10^7$ до точно или примерно 5×10^7 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 5×10^7 до точно или примерно 5×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 5×10^7 до точно или примерно $2,5\times10^8$ всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 5×10^7 до точно или примерно 1×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^8 до точно или примерно 5×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^8 до точно или примерно $2,5\times10^8$ всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно или $2,5\times10^8$ до точно или примерно 5×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток. В некоторых вариантах осуществления, доза генетически сконструированных клеток содержит от или от примерно $2,5\times10^7$ до точно или примерно $1,5\times10^8$ всего CAR-экспрессирующих Т клеток, например, от или от примерно 5×10^7 до или до примерно 1×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток. В некоторых вариантах осуществления, количеством клеток является количество таких клеток, которые являются жизнеспособными клетками, например, жизнеспособными Т-клетками.

В некоторых вариантах осуществления, доза генетически сконструированные клетки содержит, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 1×10^5 CAR-экспрессирующих клеток, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно $2,5\times10^5$ CAR-экспрессирующих клеток, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 5×10^5 CAR-

экспрессирующих клеток, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 1×10^6 CAR-экспрессирующих клеток, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно $2,5\times10^6$ CAR-экспрессирующих клеток, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 5×10^6 CAR-экспрессирующих клеток, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 1×10^7 CAR-экспрессирующих клеток, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно $2,5\times10^7$ CAR-экспрессирующих клеток, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 5×10^7 CAR-экспрессирующих клеток, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 1×10^8 CAR-экспрессирующих клеток, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно $1,5\times10^8$ CAR-экспрессирующих клеток, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно $2,5\times10^8$ CAR-экспрессирующих клеток или, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 5×10^8 CAR-экспрессирующих клеток. В некоторых вариантах осуществления, количеством клеток является количество таких клеток, которые являются жизнеспособными клетками, например, жизнеспособными Т-клетками.

В некоторых вариантах осуществления, клеточная терапия включает введение дозы, содержащей количество клеток от или от примерно 1×10^5до или до примерно 5×10^8 всего клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор, всего Т клеток или всего мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC), от или от примерно 5×10^5до или до примерно 1×10^7 всего клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор, всего Т клеток или всего мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC) или от или от примерно 1×10^6до или до примерно 1×10^7 всего клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор, всего Т клеток или всего мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC), все включительно. В некоторых вариантах осуществления, клеточная терапия включает введение дозы клеток, содержащей количество клеток по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 1×10^5 всего клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор, всего Т клеток или всего мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC), например, по меньшей мере, или, по меньшей мере, 1×10^6, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 1×10^7, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 1×10^8 таких клеток. В некоторых вариантах осуществления, количеством клеток является количество таких клеток, которые являются жизнеспособными клетками, например, жизнеспособными Т-клетками.

В некоторых вариантах осуществления, количество дано со ссылкой на общее количество $CD3^+$, $CD8^+$ или $CD4^+$ и $CD8^+$, в некоторых случаях также экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR^+) клеток. В некоторых вариантах осуществления, количеством клеток является количество таких клеток, которые являются жизнеспособными клетками.

В некоторых вариантах осуществления, клеточная терапия включает введение дозы, содержащей количество клеток от или от примерно 1×10^5 до или до примерно 5×10^8 $CD3^+$, $CD8^+$ или $CD4^+$ и $CD8^+$ всего Т клеток или $CD3^+$, $CD8^+$ или $CD4^+$ и $CD8^+$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) клеток, от или от примерно 5×10^5 до или до примерно 1×10^7 $CD3^+$, $CD8^+$ или $CD4^+$ и $CD8^+$ всего Т клеток или $CD3^+$, $CD8^+$ или $CD4^+$ и

$CD8^+$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) клеток или от или от примерно 1×10^6 до или до примерно 1×10^7 $CD3^+$, $CD8^+$ или $CD4^+$ и $CD8^+$всего Т клеток или $CD3^+$, $CD8^+$ или $CD4^+$ и $CD8^+$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) клеток, все включительно. В некоторых вариантах осуществления, клеточная терапия включает введение дозы, содержащей количество клеток от или от примерно 1×10^5 до или до примерно 5×10^8 всего $CD3^+/CAR^+$, $CD8^+/CAR^+$ или $CD4^+/CD8^+/CAR^+$ клеток, от или от примерно 5×10^5 до или до примерно 1×10^7 всего $CD3^+/CAR^+$, $CD8^+/CAR^+$ или $CD4^+/CD8^+/CAR^+$ клеток или от или от примерно 1×10^6 до или до примерно 1×10^7 всего $CD3^+/CAR^+$, $CD8^+/CAR^+$ или $CD4^+/CD8^+/CAR^+$ клеток, все включительно. В некоторых вариантах осуществления, количеством клеток является количество таких клеток, которые являются жизнеспособными клетками.

В некоторых вариантах осуществления, доза генетически сконструированные клетки содержит по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно $2,5\times10^7$ $CD3^+/CAR^+$, $CD8^+/CAR^+$ или $CD4^+/CD8^+/CAR^+$ Т клеток, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 5×107 $CD3^+/CAR^+$, $CD8^+/CAR^+$ или $CD4^+/CD8^+/CAR^+$ Т клеток или, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 1×10^8 $CD3^+/CAR^+$, $CD8^+/CAR^+$ или $CD4^+/CD8^+/CAR^+$ Т клеток. В некоторых вариантах осуществления, доза генетически сконструированные клетки содержит точно или примерно $2,5\times10^7$ $CD3^+/CAR^+$, $CD8^+/CAR^+$ или $CD4^+/CD8^+/CAR^+$ Т клеток, точно или примерно 5×10^7 $CD3^+/CAR^+$, $CD8^+/CAR^+$ или $CD4^+/CD8^+/CAR^+$ Т клеток или точно или примерно 1×10^8 $CD3^+/CAR^+$, $CD8^+/CAR^+$ или $CD4^+/CD8^+/CAR^+$ Т клеток. В некоторых вариантах осуществления, количеством клеток является количество таких клеток, которые являются жизнеспособными клетками.

В некоторых вариантах осуществления, доза Т клеток содержит: точно или примерно 5×10^7 экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) Т клеток или точно или примерно $2,5\times10^7$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) $CD8^+$ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления, доза Т клеток содержит: точно или примерно 1×10^8 экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) Т клеток или точно или примерно 5×10^7 экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) $CD8^+$ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления, доза Т клеток содержит: точно или примерно $1,5\times10^8$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) Т клеток или точно или примерно $0,75\times10^8$ рекомбинантный рецептор (например CAR) -экспрессирующих $CD8^+$ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления, количеством клеток является количество таких клеток, которые являются жизнеспособными клетками.

В некоторых вариантах осуществления, Т клетки дозы включают $CD4^+$ Т-клеток, $CD8^+$ Т-клеток или $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток.

В некоторых вариантах осуществления, например, если субъектом является человек, $CD8^+$ Т-клетки дозы, включая дозу, содержащую $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клетки, включают от точно или примерно 1×10^6 до точно или примерно 5×10^8 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например, CAR) $CD8^+$ клеток, например, в диапазоне от точно

или примерно 5×10^6 до точно или примерно 1×10^8 таких клеток, например, 1×10^7, $2,5\times10^7$, 5×10^7, $7,5\times10^7$, 1×10^8, $1,5\times10^8$ или 5×10^8 всего таких клеток или интервал между любыми двумя вышеперечисленными значениями. В некоторых вариантах осуществления, пациенту вводят множество дох, и каждая доза или все дозы могут быть в пределах вышеперечисленных значений. В некоторых вариантах осуществления, доза клеток содержит введение от или от примерно 1×10^7 до или до примерно $0,75\times10^8$ всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток, от или от примерно 1×10^7 до или до примерно 5×10^7 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток, от или от примерно 1×10^7 до или до примерно $0,25\times10^8$ всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток, все включительно. В некоторых вариантах осуществления, доза клеток содержит введение точно или примерно 1×10^7, $2,5\times10^7$, 5×10^7, $7,5\times10^7$, 1×10^8, $1,5\times10^8$, $2,5\times10^8$ или 5×10^8 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления, количеством клеток является количество таких клеток, которые являются жизнеспособными клетками.

В некоторых вариантах осуществления, например, если субъектом является человек, доза включает менее чем примерно 5×10^8 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например, CAR) клеток, Т клеток или мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC), например, в диапазоне точно или примерно 1×10^6 до точно или примерно 5×10^8 таких клеток, например, точно или примерно 2×10^6, 5×10^6, 1×10^7, 5×10^7, 1×10^8, $1,5\times10^8$ или 5×10^8 всего таких клеток или интервал между любыми двумя вышеперечисленными значениями. В некоторых вариантах осуществления, количеством клеток является количество таких клеток, которые являются жизнеспособными клетками.

В некоторых вариантах осуществления, пациенту вводят множество доз, и каждая дозы или все дозы могут быть в пределах любого из вышеуказанных значений. В некоторых вариантах осуществления, доза клеток содержит введение от или от примерно 1×10^5 до или до примерно 5×10^8 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) Т клеток или всего Т клеток, от или от примерно 1×10^5 до или до примерно $1,5\times10^8$ всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) Т клеток или всего Т клеток, от или от примерно 1×10^5 до или до примерно 1×10^8 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) Т клеток или всего Т клеток, от или от примерно 5×10^5 до или до примерно 1×10^7 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) Т клеток или всего Т клеток или от или от примерно 1×10^6 до или до примерно 1×10^7 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) Т клеток или всего Т клеток, все включительно.

В некоторых вариантах осуществления, Т клетки дозы включают $CD4^+$ Т-клетки, $CD8^+$ Т-клетки или $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клетки.

В некоторых вариантах осуществления, дозу клеток, например, экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т клеток, вводят субъекту в виде одной дозы или вводят только один раз в течение двух недель, одного месяца, 3 месяцев, шести месяцев, 1 года или более.

В контексте адоптивной клеточной терапии, введение данной «дозы» включает

введение данного количества или числа клеток в виде одной композиции и/или однократного непрерывного введения, например, в виде однократной инъекции или непрерывной инфузии, а также включает введение данного количества или числа клеток в виде дробной дозы или множества композиций, предоставленных в виде нескольких индивидуальных композиций или инфузий в течение определенного периода времени, например, в течение не более 3 дней. Таким образом, в некоторых контекстах, дозой является однократное или непрерывное введение указанного количества клеток, данное или инициированное в один момент времени. В некоторых случаях, однако, дозу вводят в виде нескольких инъекций или инфузий в течение периода не более трех дней, например, один раз в день в течение трех дней или в течение двух дней, или путем множественных вливаний в течение одного дня.

Таким образом, в некоторых аспектах, клетки вводят в одной фармацевтической композиции. В некоторых вариантах осуществления, дозы клеток вводят во множестве композиций, совокупно содержащих дозы клеток.

В некоторых вариантах осуществления термин «разделенная доза» относится к дозе, которая разделена таким образом, что ее вводят в течение более чем одного дня. Этот тип дозирования охватывается настоящими способами и считается разовой дозой.

Таким образом, доза клеток может быть введена в виде разделенной дозы, например, разделенной дозы, введенной с течением времени. Например, в некоторых вариантах осуществления доза может вводиться субъекту в течение 2 дней или более 3 дней. Примеры способов раздельного дозирования включают введение 25% доз в первый день и введение остальных 75% дозы во второй день. В других вариантах осуществления, 33% дозы вводят в первый день, а оставшиеся 67% вводят во второй день. В некоторых аспектах, 10% дозы вводят в первый день, 30% дозы вводят во второй день и 60% дозы вводят в третий день. В некоторых вариантах осуществления, разделенная доза не распространяется более чем на 3 дня.

В некоторых вариантах осуществления, дозы для клеток могут быть введены введением множества композиций или растворов, таких как первый и второй, необязательно больше, каждый из которых содержит несколько доз клеток. В некоторых аспектах, множество композиций, каждая из которых содержит различные популяции и/или подтипы клеток, вводят отдельно или независимо, необязательно в течение определенного периода времени. Например, популяции или подтипы клеток могут включать $CD8^+$ и $CD4^+$ Т-клетки, соответственно, и/или $CD8^+$- и $CD4^+$-насыщенные популяции, соответственно, например, $CD4^+$ и/или $CD8^+$ Т-клетки каждые по отдельности включают клетки, генетически сконструированные для экспрессирования рекомбинантного рецептора. В некоторых вариантах осуществления, введение дозы включает введение первой композиции, содержащей дозу $CD8^+$ Т-клеток или дозу $CD4^+$ Т-клеток и введение второй композиции, содержащей другую дозу $CD4^+$ Т-клеток и $CD8^+$ Т-клеток.

В некоторых вариантах осуществления, введение композиции или дозы, например введение множества клеточных композиций, включает введение клеточных композиций по

отдельности. В некоторых аспектах отдельные введения проводят одновременно или последовательно, в любом порядке. В конкретных вариантах осуществления, отдельные введения осуществляют последовательно путем введения в любом порядке, первой композиции, содержащей дозу $CD8^+$ Т-клеток или дозу $CD4^+$ Т-клеток, и второй композиции, содержащей другую дозу $CD4^+$ Т-клеток и $CD8^+$ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления, доза содержит первую композицию и вторую композицию, и первую композицию и вторую композицию вводят с разницей 48 часов друг от друга, например, не более 36 часов друг от друга или не более 24 часов друг от друга. В некоторых вариантах осуществления, первую композицию и вторую композицию вводят с разницей 0-12 часов, 0-6 часов или 0-2 часов. В некоторых вариантах осуществления, начало введения первой композиции и начало введения второй композиции осуществляют с разницей не более 2 часов, не более 1 часа или не более 30 минут, не более 15 минут, не более 10 минут или не более 5 минут. В некоторых вариантах осуществления, начало и/или завершение введения первой композиции и завершение и/или начало введения второй композиции проводятся интервалом не более 2 часов, не более 1 часа или не более 30 минут, не более 15 минут, не более 10 минут или не более 5 минут.

В некоторых композициях, первая композиция, например первая композиция дозы, содержит $CD4^+$ Т-клетки. В некоторых композициях, первая композиция, например первая композиция дозы, содержит $CD8^+$ Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления, первую композицию вводят до второй композиции. В конкретных вариантах осуществления, $CD8^+$ Т-клетки вводят до $CD4^+$ Т-клеток.

В некоторых вариантах осуществления, доза или композиция клеток включает определенное или целевое отношение $CD4^+$ Т-клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) к $CD8^+$ Т-клеткам, экспрессирующим рекомбинантный рецептор (например CAR) и/или $CD4^+$ клеток к $CD8^+$ клеткам, где отношение необязательно составляет приблизительно 1:1 или составляет от приблизительно 1:3 до приблизительно 3:1, например, приблизительно 1:1. В некоторых аспектах, введение композиции или дозы с целевым или желаемым отношением разных клеточных популяций (например, $CD4^+$:$CD8^+$ отношение или CAR^+CD4^+:CAR^+CD8^+ отношение, например, 1:1) включает введение клеточной композиции, содержащий одну из популяций, и затем введение отдельной клеточной композиции, содержащей другую популяцию, при этом введение осуществляется при или при приблизительно целевом или желаемом соотношении. В некоторых аспектах, введение дозы или композиции клеток в определенном соотношении приводит к улучшенному размножению, сохранению и/или противоопухолевой активности Т-клеточной терапии.

В некоторых вариантах осуществления, доза генетически сконструированных клеток составляет или составляет примерно 5×10^7 CD3+ CAR+ жизнеспособных клеток, которые включают отдельную дозу точно или примерно $2{,}5\times10^7$ CD4+ CAR+ жизнеспособных клеток и точно или примерно $2{,}5\times10^7$ CD8+ CAR+ жизнеспособных клеток. В некоторых вариантах осуществления, доза генетически сконструированных

клеток включает или включает 1×10^8 CD3+CAR+ жизнеспособных клеток, которая включает отдельную дозу точно или примерно 5×10^7 CD4+CAR+ жизнеспособных клеток и точно или примерно 5 $x10^7$ CD8+CAR+ жизнеспособных клеток. В некоторых вариантах осуществления, доза генетически сконструированных клеток содержит или содержит примерно $1,5\times10^8$ CD3+CAR+ жизнеспособных клеток, которая включает отдельную дозу точно или примерно $0,75\times10^8$ CD4+CAR+ жизнеспособных клеток и точно или примерно 0,75 $x10^8$ CD8+CAR+ жизнеспособных клеток.

В некоторых вариантах осуществления, субъект получает множество доз, например, две или несколько доз или множество последовательных доз клеток. В некоторых вариантах осуществления, две дозы вводят субъекту. В некоторых вариантах осуществления, субъект получает последующую дозу, например, вторую дозу, вводимую приблизительно через 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21 дней после первой дозы. В некоторых вариантах осуществления множество последовательных доз вводят после первой дозы, так что дополнительную дозу или дозы вводят после введения последовательной дозы. В некоторых аспектах, количество клеток, вводимых субъекту в дополнительной дозе, такое же или аналогичное первой дозе и/или последующей дозе. В некоторых вариантах осуществления, дополнительная доза или дозы больше, чем предыдущие дозы

В некоторых аспектах размер первой и/или последующей дозы определяется на основании одного или более критериев, таких как ответ на предшествующее лечение, например, химиотерапию, тяжесть заболевания у субъекта, такое как опухолевая нагрузка, объем, размер или степень, распространенность или тип метастаз, стадия и/или вероятность или частота возникновения у субъекта токсических явлений, например, CRS, синдрома активации макрофагов, синдрома лизиса опухоли, нейротоксичности и/или иммунного ответа хозяина на клетки и/или вводимые рекомбинантные рецепторы.

В некоторых аспектах, время между введением первой дозы и введением последующей дозы составляет от примерно 9 до примерно 35 дней, от примерно 14 до примерно 28 дней или 15-27 дней. В некоторых вариантах осуществления, введение последующей дозы осуществляют в момент времени более примерно 14 дней после и менее примерно 28 дней после введения первой дозы. В некоторых аспектах, время между первой и последующей дозой составляет примерно 21 дней. В некоторых вариантах осуществления, дополнительную дозу или дозы, например последующие дозы, вводят после введения последующей дозы. В некоторых аспектах, дополнительную последующую дозу или дозы вводят, по меньшей мере, через примерно 14 и менее чем примерно 28 дней после введения предшествующей дозы. В некоторых вариантах осуществления, дополнительную дозу вводят менее чем примерно через 14 дней после предшествующей дозы, например, через 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или 13 дней после предшествующей дозы. В некоторых вариантах осуществления, никакую дозу не вводят менее чем через примерно 14 дней после предыдущей дозы и/или никакую дозу не вводят более чем примерно через 28 дней после предыдущей дозы.

В некоторых вариантах осуществления, доза клеток, например, клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор, содержит две дозы (например, двойную дозу), включающую первую дозу Т-клеток и последующую дозу Т-клеток, где одна или обе первая доза и вторая доза содержат введение разделенной дозы Т-клеток.

В некоторых вариантах осуществления доза клеток, как правило, достаточно велика, чтобы эффективно снижать бремя болезни.

В некоторых вариантах осуществления, клетки вводят в желаемой дозировке, которая, в некоторых аспектах, включает желаемую дозу или количество клеток или типов клеток и/или желаемое соотношение типов клеток. Таким образом, дозировка клеток в некоторых вариантах осуществления основана на общем количестве клеток (или количестве на кг массы тела) и желаемом соотношении отдельных популяций или подтипов, таком как отношение $CD4^+$ к $CD8^+$. В некоторых вариантах осуществления, дозировка клеток основана на желаемом общем количестве (или количестве на кг массы тела) клеток в отдельных популяциях или отдельных типах клеток. В некоторых вариантах осуществления, дозировка основана на комбинации таких характеристик, как желаемое общее количество клеток, желаемое соотношение и желаемое общее количество клеток в отдельных популяциях.

В некоторых вариантах осуществления, популяции или подтипы клеток, таких как $CD8^+$ и $CD4^+$ Т-клетки, вводят в пределах или в пределах допустимой разницы желаемой дозы общих клеток, например желаемой дозы Т-клеток. В некоторых аспектах, желаемой дозой является желаемое количество клеток или желаемое количество клеток на единицу массы тела субъекта, которому вводят клетки, например, клетки/кг. В некоторых аспектах, желаемая доза равна минимальному количеству клеток или минимальному количеству клеток на единицу массы тела. В некоторых аспектах, среди всех клеток, вводимых в желаемой дозе, отдельные популяции или подтипы присутствуют при желаемом выходном соотношении или близком к нему (таком как отношение $CD4^+$ к $CD8^+$), например, в пределах определенной допустимой разницы или ошибки такого отношения.

В некоторых вариантах осуществления, клетки вводят в пределах или в пределах допустимой разницы желаемой дозы одной или нескольких отдельных популяций или подтипов клеток, например, желаемой дозы $CD4^+$ Т-клеток и/или а желаемой дозы $CD8^+$ Т-клеток. В некоторых аспектах, желаемая доза представляет собой желаемое количество клеток подтипа или популяции или желаемое количество таких клеток на единицу массы тела субъекта, которому вводят клетки, например, клетки/кг. В некоторых аспектах, желаемая доза равна или выше минимального количества клеток популяции или подтипа или минимального количества клеток популяции или подтипа на единицу массы тела.

Таким образом, в некоторых вариантах осуществления, дозировка основана на желаемой фиксированной дозе общих клеток и желаемом отношении, и/или основана на желаемой фиксированной дозе одного или более, например, каждого из отдельных подтипов или субпопуляций. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления, дозировка основана на желаемой фиксированной или минимальной дозе Т-клеток и

желаемом отношении $CD4^+$ к $CD8^+$ Т-клеткам, и/или основана на желаемой фиксированной или минимальной дозе $CD4^+$ и/или $CD8^+$ Т-клеток.

В некоторых вариантах осуществления, клетки вводят в или в пределах допустимого интервала желаемого выходного отношения множества клеточных популяций или подтипов, таких как $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клетки или подтипы. В некоторых аспектах, желаемое отношение может быть конкретным отношением или может быть интервалом отношений. Например, в некоторых вариантах осуществления, желаемое отношение (например, отношение $CD4^+$ к $CD8^+$ Т-клеткам) составляет от точно или примерно 5:1 до точно или примерно 5:1 (или более чем точно или примерно 1:5 и менее чем точно или примерно 5:1) или от точно или примерно 1:3 до точно или примерно 3:1 (или более чем точно или примерно 1:3 и менее чем точно или примерно 3:1), например, от точно или примерно 2:1 до точно или примерно 1:5 (или более чем точно или примерно 1:5 и менее чем точно или примерно 2:1), например, точно или примерно 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 или 1:5. В некоторых аспектах, допустимая разница составляет в пределах примерно 1%, примерно 2%, примерно 3%, примерно 4% примерно 5%, примерно 10%, примерно 15%, примерно 20%, примерно 25%, примерно 30%, примерно 35%, примерно 40%, примерно 45%, примерно 50% от желаемого отношения, включая любое значение в пределах этих диапазонов.

В возможных вариантах осуществления количества и/или концентрации клеток относятся к количеству экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например, CAR) клеток. В других вариантах осуществления количества и/или концентрации клеток относятся к количеству или концентрации всех вводимых клеток, Т-клеток или мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC).

В некоторых аспектах, размер доз определяется на основании одного или нескольких критериев, таких как ответ на предшествующее лечение, например, химиотерапию, тяжесть заболевания у субъекта, такая как опухолевая нагрузка, масса, размер или степень, распространенность или тип метастазов, стадия, и/или вероятность или частота возникновения токсических явлений у субъекта, например, CRS, синдрома активации макрофагов, синдрома лизиса опухоли, нейротоксичности и/или иммунного ответа хозяина против вводимых клеток и/или рекомбинантного рецептора.

В некоторых вариантах осуществления, способы также включают введение одной или более дополнительных доз клеток, экспрессирующих химерный антигенный рецептор (CAR) и/или противолимфомной терапии и/или повторение одного или нескольких этапов способов. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько дополнительных доз является такой же, как начальная доза. В некоторых вариантах осуществления, одна или несколько дополнительных доз отличается от начальной, например, является более высокой, например, точно или примерно в 2 раза, 3 раза, 4 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 или 10 раз или более выше, чем начальная доза, или ниже, например, выше, например, в 2 раза, 3 раза, 4 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 или 10 раз или более ниже начальной дозы. В

некоторых вариантах осуществления, введение одной или нескольких дополнительных доз определяют на основе ответа на предшествующее лечение, например, химиотерапию, тяжести заболевания у субъекта, такой как опухолевая нагрузка, масса, размер или степень, распространенности или типа метастазов, стадии, и/или вероятности или частоты возникновения токсических явлений у субъекта, например, CRS, синдрома активации макрофагов, синдрома лизиса опухоли, нейротоксичности и/или иммунного ответа хозяина против вводимых клеток и/или рекомбинантного рецептора.

C. Ответ, эффективность и выживание

В некоторых вариантах осуществления, введение эффективно лечит субъекта несмотря на то, что субъект стал резистентным к другой терапии. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, 30%, по меньшей мере, 35%, по меньшей мере, 40% или, по меньшей мере, 50% подвергутых лечению субъектов согласно способу достигают полной ремиссии (CR); и/или, по меньшей мере, примерно 40%, по меньшей мере, примерно 50%, по меньшей мере, примерно 60% или, по меньшей мере, примерно 70% субъектов, подвергутых лечению способом, достигают объективного ответа (OR). В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 50% субъектов, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 60% субъектов, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 70% субъектов, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 80% субъектов или, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 90% субъектов, подвергутых лечению способом, достигают CR и/или достигают объективного ответа (OR). В некоторых вариантах осуществления, критерии оценки эффективного лечения включают суммарную эффективность терапии (ORR; также известную в некоторых случаях как частота объективного ответа), полный ответ (CR; также известный в некоторых случаях как полная ремиссия), длительность ответа (DOR), выживание без прогрессирования (PFS), и/или общее выживание (OS).

В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, 40% или, по меньшей мере, 50%, подвергутых лечению субъектов согласно способам, представленным в настоящем документе, достигают полной ремиссии (CR; также известной в некоторых случаях как полный ответ), демонстрируют выживание без прогрессирования (PFS) и/или общее выживания (OS) более чем точно или примерно 3 месяцев, 6 месяцев или 12 месяцев или более чем 13 месяцев или приблизительно 14 месяцев; в среднем, субъекты, леченные способом, демонстрируют среднее PFS или OS более чем точно или примерно 6 месяцев, 12 месяцев или 18 месяцев; и/или субъект демонстрирует PFS или OS после терапии в течение, по меньшей мере, точно или примерно 6, 12, 18 или более месяцев или дольше.

В некоторых аспектах, частота ответа субъектов, таких как субъекты с NHL, основана на критериях Lugano. (Cheson et al., (2014) JCO 32(27):3059-3067; Johnson et al., (2015) Radiology 2:323-338; Cheson, B.D. (2015) Chin Clin Oncol 4(1):5). В некоторых аспектах, оценка ответа включает любые из клинических, гематологических и/или молекулярных способов. В некоторых аспектах, оценка ответа с применением критериев Lugano включает применение позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) - компьютерной

томографии (КТ) и/или КТ подходящим образом. Оценки ПЭТ-КТ могут дополнительно включать применение фтордеоксиглюкозы (FDG) для FDG-авидных лимфом. В некоторых аспектах, где ПЭТ-КТ применяют для оценки ответа в FDG-авидных гистологиях, может применяться 5-балльная шкала. В некоторых отношениях, 5-балльная шкала включает следующие критерии: 1, нет поглощения выше фонового; 2, поглощение ≤ средостение; 3, поглощение > средостение, но ≤ печень; 4, поглощение умеренно > печень; 5, поглощение значительно выше, чем печень и/или новые очаги; X, новые области поглощения, маловероятно связанные с лимфомой.

В некоторых аспектах, полный ответ, описанный с использованием критериев Lugano, включает в себя полный метаболический ответ и полный радиологический ответ на различных измеримых участках. В некоторых аспектах, эти участки включают лимфатические узлы и экстралимфатические участки, где CR описывается как оценка 1, 2 или 3 с остаточной массой или без нее по 5-балльной шкале при использовании ПЭТ-КТ. В некоторых аспектах, в кольце Вальдейера или в внеузловых участках с высоким физиологическим поглощением или с активацией в селезенке или костном мозге (например, при химиотерапии или миелоидных колониестимулирующих факторах) поглощение может быть более чем нормальное средостение и/или печень. В этих обстоятельствах, можно сделать вывод о полном метаболическом ответе, если поглощение в участках первоначального вовлечения не более чем в окружающей нормальной ткани, даже если ткань имеет высокое физиологическое поглощение. В некоторых аспектах, ответ оценивают в лимфатических узлах с помощью КТ, где CR описывается как отсутствие экстралимфатических участков заболевания, а целевые узлы/узловые массы должны регрессировать до ≤ 1,5 см в наибольшем поперечном диаметре поражения (LDi). Другие участки оценки включают костный мозг, где оценка на основе ПЭТ-КТ должна указывать на отсутствие доказательств FDG-авидного заболевания костного мозга, и оценка на основе КТ должна указывать на нормальную морфологию, которая, если она не определена, должна быть IHC отрицательной. Другие участки могут включать оценку увеличения органа, который должен вернуться к норме. В некоторых аспектах, оцениваются неизмеряемые очаги и новые очаги, которые в случае CR должны отсутствовать (Cheson et al., (2014) JCO 32(27):3059-3067; Johnson et al., (2015) Radiology 2:323-338; Cheson, B.D. (2015) Chin Clin Oncol 4(1):5).

В некоторых аспектах частичный ответ (PR; также известный в некоторых случаях как частичная ремиссия), описанный с использованием критериев Lugano, включает частичный метаболический и/или радиологический ответ на различных измеряемых участках. В некоторых аспектах, эти участки включают лимфатические узлы и экстралимфатические участки, где PR описывается как оценка 4 или 5 с уменьшенным поглощением по сравнению с исходным уровнем и остаточной массой любого размера при использовании ПЭТ-КТ. Между тем, такие результаты могут указывать на ответное заболевание. По окончании лечения такие открытия могут указывать на остаточное заболевание. В некоторых аспектах, ответ оценивают в лимфатических узлах с помощью

КТ, где PR описывается как снижение SPD на ≥50% до 6 целевых измеряемых узлов и внеузловых участков. Если поражение слишком мало для измерения на КТ, значение по умолчанию составляет 5 мм × 5 мм; если очаг поражения больше не виден, значение составляет 0 мм × 0 мм; для узла размером > 5 мм × 5 мм, но меньше обычного, для расчета используются фактические измерения. Другие участки оценки включают костный мозг, где оценка на основе ПЭТ-КТ должна указывать на остаточное поглощение выше, чем поглощение в нормальном костном мозге, но уменьшенное по сравнению с исходным уровнем (допускается диффузное поглощение, совместимое с реактивными изменениями от химиотерапии). В некоторых аспектах, если есть труднолечимые очаговые изменения костного мозга в контексте узлового ответа, следует рассмотреть возможность дальнейшего обследования с помощью МРТ или биопсии или интервального сканирования. В некоторых аспектах дополнительные участки могут включать оценку увеличения органа, при котором селезенка должна регрессировать более чем на 50% в длину сверх нормы. В некоторых аспектах, оцениваются неизмеряемые очаги поражения и новые очаги, которые в случае PR должны отсутствовать/быть нормальными, регрессировать, но не увеличиваться. Отсутствие ответа/стабильное заболевание (SD) или прогрессирующее заболевание (PD) также можно измерить с помощью оценок на основе ПЭТ-КТ и/или КТ. (Cheson et al., (2014) JCO 32(27):3059-3067; Johnson et al., (2015) Radiology 2:323-338; Cheson, B.D. (2015) Chin Clin Oncol 4(1):5)

Исследование проводят в соответствии с руководством Declaration of Helsinki, International Conference on Harmonisation Good Clinical Practice, и применяемыми нормативными требованиями.

В некоторых отношениях выживание без прогрессирования (PFS) описывается как период времени во время и после лечения заболевания, такого как рак, в течение которого субъект живет с заболеванием, но не ухудшается. В некоторых аспектах объективный ответ (OR) описывается как измеряемый ответ. В некоторых аспектах, частота объективного ответа (ORR; также известная в некоторых случаях как суммарная эффективность терапии) описывается как доля пациентов, у которых достигнут CR или PR. В некоторых аспектах общего выживания (OS) описывается как период времени с момента постановки диагноза или начала лечения заболевания, например рака, в течение которого субъекты, у которых диагностировано заболевание, остаются живыми. В некоторых аспектах, бессобытийная выживаемость (EFS) описывается как период времени после окончания лечения рака, в течение которого субъект остается свободным от определенных осложнений или событий, для предотвращения или отсрочки которых было предназначено лечение. Эти события могут включать возвращение рака или появление определенных симптомов, таких как боль в костях от рака, который распространился на кости, или смерть.

В некоторых вариантах осуществления, мера продолжительности ответа (DOR) включает время от документирования ответа опухоли до прогрессирования заболевания. В некоторых вариантах осуществления, параметр для оценки ответа может включать устойчивый ответ, например, который сохраняется через определенный период времени от

начала терапии. В некоторых вариантах осуществления, устойчивый ответ обозначен частотой ответа через приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18 или 24 месяца после начала терапии. В некоторых вариантах осуществления, ответ является устойчивым в течение более чем 3 месяцев или более чем 6 месяцев.

В некоторых аспектах, критерии RECIST используют для определения объективного опухолевого ответа; в некоторых аспектах, в солидных опухолях. (В некоторых аспектах, критерии RECIST используют для определения объективного ответа опухоли на поражения-мишени. В некоторых отношениях полный ответ, определяемый с помощью критериев RECIST, описывается как исчезновение всех поражений-мишеней, и любые патологические лимфатические узлы (мишени или не мишени) должны иметь уменьшение по короткой оси до <10 мм. В других аспектах частичный ответ, определенный с использованием критериев RECIST, описывается как, по меньшей мере, 30% уменьшение суммы диаметров поражений-мишеней, принимая в качестве эталона исходную сумму диаметров. В других аспектах, прогрессирующее заболевание (PD) описывается как по меньшей мере, 20% увеличение суммы диаметров поражений-мишеней, принимая в качестве эталона наименьшую сумму в исследовании (включая исходную сумму, если она является наименьшей в исследовании). Помимо относительного увеличения на 20%, сумма должна также демонстрировать абсолютное увеличение, по меньшей мере, 5 мм (в некоторых более аспектах появление одного или нескольких новых очагов также считается прогрессированием). В других аспектах, стабильное заболевание (SD) описывается ни как достаточное сокращение, чтобы претендовать на PR, ни как достаточное увеличение, чтобы претендовать на PD, принимая в качестве эталона наименьшую сумму диаметров во время исследования.

В некоторых вариантах осуществления, степень выживания у субъектов с фолликулярной лимфомой (FL) основано на системах оценки, разработанных Lymphoma Intergroup (ILI) и/или International Follicular Lymphoma Prognostic Factor Project (IFLPFP), в общем, как описано выше (Luminari et al., (2012) Rev. Brad. Hematol. Hemoter., 34:54-59). В некоторых вариантах осуществления, степень заболевания, такого как FL, может быть оценена с помощью системы ранжирования Ann Arbor, опухолевой массе, генерализованной лимфаденопатии, количества узловых или внеузловых участков заболевания и/или вовлечения костного мозга, как описано выше.

В некоторых аспектах, введение согласно представленным способам, и/или представленным готовым изделиям или композициям, как правило, снижает или предотвращает расширение или тяжесть заболевания или состояния у субъекта. Например, когда заболевание или состояние является опухолью, способы обычно уменьшают размер опухоли, объем, метастазирование, долю бластов в костном мозге или молекулярно обнаруживаемом раке и/или улучшают прогноз или выживаемость или другие симптомы, ассоциированные с опухолевой массой.

Тяжесть заболевания может охватывать все количество клеток заболевания у субъекта или в органе, ткани или жидкости тела субъекта, таком как орган или ткань

опухоли или другая локация, например, на которую могут указывать метастазы. Например, опухолевые клетки могут быть обнаружены и/или количественно определены в крови или костном мозге в контексте определенных гематологических злокачественных новообразований. Тяжесть заболевания может включать, в некоторых вариантах осуществления, массу опухоли, количество или распространенность метастазов и/или процент бластных клеток, присутствующих в костном мозге.

В некоторых вариантах осуществления, субъект болен лейкозом. Степень тяжести заболевания можно определить оценкой остаточного лейкоза в крови или костном мозге.

В некоторых аспектах, частота ответа у субъектов, таких как субъекты с CLL, основана на критериях ответа International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia (IWCLL) (Hallek, et al., Blood 2008, Jun 15; 111(12): 5446-5456). В некоторых аспектах, эти критерии описываются следующим образом: полная (CR; также известная в некоторых случаях как полный ответ), которая в некоторых случаях требует отсутствия клональных лимфоцитов периферической крови при иммунофенотипировании, отсутствие лимфаденопатии, отсутствие гепатомегалии спленомегалии, отсутствие конституциональных симптомов и удовлетворительные показатели крови; полная ремиссия с неполным восстановлением костного мозга (CRi), которая в некоторых аспектах описана как CR выше, но без нормальных показателей крови; частичная ремиссия (PR; также известная в некоторых случаях как частичный ответ), которая в некоторых аспектах описывается как снижение количества лимфоцитов ≥50%, уменьшение лимфаденопатии ≥50% или уменьшение печени или селезенки ≥50%, вместе с улучшением показателей периферической крови; прогрессирующее заболевание (PD), которое в некоторых аспектах описывается как увеличение количества лимфоцитов на ≥50% до > 5×10^9/л, ≥50% увеличение лимфаденопатии, ≥50% увеличение размера печени или селезенки, трансформация Рихтера или новые цитопении из-за CLL; и стабильное заболевание, которое в некоторых аспектах описывается как не отвечающее критериям.

В некоторых вариантах осуществления субъект демонстрирует CR или OR если, в течение 1 месяца после введения дозы клеток, размер лимфатических узлов субъекта меньше точно или примерно 20 мм, меньше точно или примерно 10 мм или менее чем точно или примерно 10 мм по размеру.

В некоторых вариантах осуществления, индексный клон CLL не обнаружен в костном мозге субъекта (или в костном мозге более чем 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или более субъектов, подвергутых лечению способами. В некоторых вариантах осуществления, индексный клон CLL оценивается через глубокое секвенирование IgH. В некоторых вариантах осуществления, индексный клон не обнаруживается в момент времени, который составляет точно или примерно или, по меньшей мере, точно или примерно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 18 или 24 месяцев после введения клеток.

В некоторых вариантах осуществления, субъект демонстрирует морфологическое заболевание, если имеется более чем или равно 5% бластов в костном мозге, например, при обнаружении световой микроскопией, например, более чем или равно 10% бластов в

костном мозге, более чем или равно 20% бластов в костном мозге, более чем или равно 30% бластов в костном мозге, более чем или равно 40% бластов в костном мозге или более чем или равно 50% бластов в костном мозге. В некоторых вариантах осуществления, субъект демонстрирует полную или клиническую ремиссию, если в костном мозге меньше 5% бластов.

В некоторых вариантах осуществления, субъект болен лейкозом. Степень тяжести болезни можно определить путем оценки остаточного лейкоза в крови или костном мозге.

В некоторых вариантах осуществления, субъект демонстрирует морфологическое заболевание, если имеется более чем или равно 5% бластов в костном мозге, например, при обнаружении световой микроскопией, например, более чем или равно 10% бластов в костном мозге, более чем или равно 20% бластов в костном мозге, более чем или равно 30% бластов в костном мозге, более чем или равно 40% бластов в костном мозге или более чем или равно 50% бластов в костном мозге. В некоторых вариантах осуществления, субъект демонстрирует полную или клиническую ремиссию, если в костном мозге меньше 5% бластов.

В некоторых вариантах осуществления субъект может демонстрировать полную ремиссию, но присутствует небольшая часть морфологически не обнаруживаемых (методами световой микроскопии) остаточных лейкозных клеток. Говорят, что субъект демонстрирует минимальную остаточную болезнь (MRD), если субъект демонстрирует менее 5% бластов в костном мозге и демонстрирует молекулярно обнаруживаемый рак. В некоторых вариантах осуществления, молекулярно обнаруживаемый рак можно оценить с использованием любого из множества молекулярных методов, которые позволяют чувствительное обнаружение небольшого количества клеток. В некоторых аспектах такие методы включают ПЦР тесты, которые могут определять уникальный Ig/T-клеточный рецептор перестройки генов или слитые транскрипты, продуцируемые хромосомными транслокациями. В некоторых вариантах осуществления, проточная цитометрия может использоваться для идентификации раковых клеток на основе лейкоз-специфических иммунофенотипов. В некоторых вариантах осуществления, молекулярное обнаружение рака позволяет обнаружить всего 1 лейкозную клетку в 100000 нормальных клеток. В некоторых вариантах осуществления субъект демонстрирует MRD, который поддается молекулярному обнаружению, если обнаруживается, по меньшей мере, или более 1 лейкозная клетка в 100000 клеток, например, с помощью ПЦР или проточной цитометрии. В некоторых вариантах осуществления, тяжесть заболевания является молекулярно необнаруживаемой или MRD-, так что, в некоторых случаях, лейкозные клетки не могут быть обнаружены у субъекта с использованием методов ПЦР или проточной цитометрии.

В некоторых вариантах осуществления индексный клон лейкоза, например CLL, не обнаружен в костном мозге (или в костном мозге более чем 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или более субъектов, подвергутых лечению способом). В некоторых вариантах осуществления, индексный клон лейкоза, например CLL, оценивается посредством глубокого секвенирования IGH. В некоторых вариантах осуществления, индексный клон не

обнаруживается в момент времени, который равен точно или примерно или, по меньшей мере, точно или примерно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 18 или 24 месяцев после введения клеток.

В некоторых аспектах MRD определяется проточной цитометрией. Проточная цитометрия может использоваться для мониторинга образцов костного мозга и периферической крови на предмет выявления раковых клеток. В частности, проточную цитометрию используют для обнаружения или мониторинга наличия раковых клеток в костном мозге. В некоторых аспектах, для выявления раковых клеток используют многопараметрическую иммунологическую диагностику проточной цитометрией (см. например, Coustan-Smith et al., (1998) Lancet 351:550-554). В некоторых аспектах, для выявления раковых клеток используют многопараметрическое иммунологическое определение масс-цитометрией. В некоторых примерах 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 или 50 параметров могут применяться для обнаружения раковых клеток. Антигены, используемые для обнаружения, выбираются на основе обнаруживаемого рака (Foon and Todd (1986) *Blood* 68:1-31).

В некоторых примерах костный мозг собирают путем аспирации костного мозга или биопсии костного мозга, b лимфоциты выделяют для анализа. Моноклональные и/или поликлональные антитела, конъюгированные с флуорохромом (*например*, флуоресцеинизотиоцианатом (FITC), фикоэритрином, перидинином, хлорофиллом, белком или биотином) могут применяться для обнаружения эпитопов, таких как концевая дезоксинуклеотидилтрансфераза, (TdT), CD3, CD 10, CDl lc, CD13, CD14, CD33, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD34, CD45, CD56, CD79b, IgM и/или KORSA3544, на изолированных лимфоцитах. Затем меченые клетки могут быть обнаружены с помощью проточной цитометрии, такой как многопараметрическая проточная цитометрия или масс-цитометрия, для обнаружения множественных эпитопов.

Лимфоидные клетки могут быть идентифицированы и гейтированы на основе точечного графика светорассеяния, а затем вторично гейтированы для идентификации клеточных популяций, экспрессирующих иммунофенотипические признаки, представляющие интерес. Типовые эпитопы представлены в **Таблице 2** ниже. Другая иммунологическая классификация лейкозов и лимфом предоставлена у Foon and Todd (Blood (1986) 68(1): 1-31). В некоторых аспектах оценка MRD проточной цитометрией может быть проведена количественным определением живых лимфоцитов, несущих один или несколько иммунофенотипов CLL (например, низкое прямое светорассеяние; $CD3^{neg}$; $CD5^{+}$; $CD14^{neg}$; $CD19^{+}$; $CD23^{+}$; $CD45^{+}$; $CD56^{neg}$).

Таблица 2. типовые иммунофенотипические и цитогенетические характеристики

Заболевание	**Иммунофенотип**	**Цитогенетика**
Хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL)	Pan-B+; CD5+; CD23+; CD79b/CD22 слабый; FMC7-; sIg	Trisomy12 del(13)(q14,3) del 11q22-q23 del 17p13 (p53)

Таблица 2. типовые иммунофенотипические и цитогенетические характеристики		
Заболевание	**Иммунофенотип**	**Цитогенетика**
	слабый	t(11;14)(q13;q32) BCL1/IgH перестройка t(14;19)(q32;q13) IgH делеция (14q32) del(6q) +8q24 +3 +18 del 6q21
Мелкоклеточная лимфоцитарная лимфома (SLL)	Pan-B+; CD5+; CD23+; CD 10-; sIgM+ незначительный	del(6)(q21-23)
Лимфоплазмацитарная лимфома	Pan-B+; CD5-; CD10-; sIgM+	t(9;14)(p13;q32) PAX5/IgH
Лимфома клеток центрального фолликула	Pan-B+; CD 10+/-; CD5-; sIg+	t(14;18)(q32;q21)/BCL2 Перестройка
Диффузная крупноклеточная лимфома	CD19+; CD22+; CD 10-/+; sIg+	t(14;18) и p53 мутации t(3;V)(q27;V)/ BCL6 Перестройка варианты c-MYC Перестройка
Лимфома Буркитта	Pan-B+; TdT-; CD10+; CD5-; sIgM+	t(8;14)(q24;q32) или варианты/c-MYC Перестройка
Буркитт-подобная лимфома	Pan-B+;TdT-;CD10-/+ CD5-; sIg+	t(8;14) или варианты t(8;14)+ t(14;18)
Мантийноклеточная лимфома	Pan-B +; CD5+; CD23-; CD10-/+; sIgM+ яркий	t(11;14)(q13;q32) / BCL1 Перестройка
В-клеточная лимфома маргинальной зоны (MZBCL)	pan-B+; CD5-/+; CD10-; CD23-; CD11c+/-; cyIg + (40% клеток),	t(11;18)(q21;q21)/PI2/MLT слияние: Внеузловая MALT лимфома низкой степени; вялотекущее заболевание t(1;14)(p21;q32): Внеузловая MALT

Таблица 2. типовые иммунофенотипические и цитогенетические характеристики		
Заболевание	**Иммунофенотип**	**Цитогенетика**
	sIgM+ яркий; sIgD-	лимфома del(7)(q22-31): MZBCL селезенки /+3q: узловая, внеузловая и селезеночная MZBCL
+: положительная в >90% случаев +/-: положительная в более чем 50% случаев -/+: положительная в менее чем 50% случаев -: положительная в <10% случаев Pan-B маркеры: например, CD19, CD20, CD79a sIG: поверхностные иммуноглобулины cyIg: цитоплазматические иммуноглобулины		

В некоторых аспектах, глубокое секвенирование локуса тяжелой цепи иммуноглобулина (IGH) собранных B-клеток может быть использовано для выявления минимальной остаточной болезни (MRD). Клональное присутствие конкретной перестройки IgG может быть маркером для обнаружения присутствия злокачественных новообразований B-клеток, таких как CLL или NHL, и/или остаточного присутствия их злокачественных клеток. В некоторых случаях, клетки, такие как популяции, содержащие или предположительно содержащие B-клетки, собирают и выделяют из крови. В некоторых аспектах, клетки собирают и выделяют из костного мозга, например, из аспиратов костного мозга или биопсий костного мозга и/или из других биологических образцов. В некоторых аспектах амплификация помощью полимеразной цепной реакцией (ПЦР) определяющей комплементарность области 3 (CDR3), достигается с использованием праймеров к высококонсервативным последовательностям в V и J областях локуса гена, что может быть использовано для идентификации клональных популяций клеток для цели оценки минимальной остаточной болезни. Могут применяться другие способы обнаружения клональных популяций, такие как подходы к секвенированию отдельных клеток, включая способы, обеспечивающие информацию о количестве клеток определенного происхождения и/или экспрессирующих конкретную вариабельную цепь, такую как вариабельная тяжелая цепь, или ее сайт связывания, такой как клональная популяция. В некоторых аспектах IGH ДНК амплифицируется с использованием вырожденных праймеров или праймеров, распознающих области вариабельных цепей, общих для различных клеточных клонов, таких как распознающие консенсусную V и вырожденную консенсусную J области последовательности IGH. Типовой последовательностью V области является ACACGGCCTCGTGTATTACTGT (SEQ ID NO: 57). Типовой вырожденной консенсусной последовательности J области является ACCTGAGGAGACGGTGACC (SEQ ID NO: 58).

Продукт ПЦР или результат секвенирования в некоторых случаях является специфическим к перестройке измененного аллеля и служит клональным маркером для обнаружения MRD. После ПЦР амплификации CDR3 области, продукты ПЦР могут быть секвенированы для получения пациент-специфических олигонуклеотидов, сконструированных в виде проб для аллель-специфической ПЦР для чувствительного обнаружения MRD после лечения В-клеточных злокачественных новообразований с помощью CAR-T-клеточной терапии, например CD19 CAR-T клеточной терапией. В примерах, где продукт ПЦР не создается с использованием консенсусных праймеров, вместо этого можно использовать праймеры, специфичные для семейства V области, для каркасной области 1.

В некоторых аспектах, жизнестойкость опухолевых клеток, обнаруживаемых с помощью ПЦР, таких как клетки злокачественного образования из В-клеток, такого как NHL или CLL, таких как определяемые последовательности IGH, соответствующие злокачественным или клональным последовательностям IGH, после лечения ассоциирована с повышенным риском рецидива. В некоторых аспектах, пациенты, которые являются отрицательными к злокачественным последовательностям IGH после лечения (в некоторых аспектах, даже в контексте других критериев, указывающих на прогрессирующее заболевание или только частичный ответ, таких как жизнестойкость увеличенных лимфатических узлов, или другие критерии, которые могут в некоторых контекстах быть ассоциированы с заболеванием или отсутствием полного ответа) могут считаться имеющим повышенную вероятность PFS, или вступать в CR, или устойчивый CR, или увеличивать выживаемость, по сравнению с пациентами с трудноизлечимыми злокачественными последовательностями IGH. В некоторых вариантах осуществления такие прогностические и ранжирующие определения особенно актуальны для лечения, при котором клиренс злокачественных клеток наблюдается в течение короткого периода времени после начала терапии, например, по сравнению с исчезновением других клинических симптомов, таких как размер лимфатических узлов или другие критерии ранжирования. Например, в некоторых таких аспектах отсутствие определяемого IGH или минимального остаточного заболевания в образце, таком как костный мозг, может быть предпочтительным считыванием для ответа или вероятности ответа или его стойкости, по сравнению с другими доступными ранжирующими или прогностическими подходами. В некоторых аспектах результаты MRD, например, информация о глубоком секвенировании IGH, могут указывать на дальнейшее вмешательство или его отсутствие. Например, способы и другие предоставленные варианты осуществления в некоторых контекстах предусматривают, что субъект, считающийся отрицательными для злокачественного IGH, может в некоторых аспектах не подвергаться дальнейшему лечению или не получать дополнительную дозу терапии, или то, что субъекту вводят более низкую или пониженную дозу. Наоборот, может быть предусмотрено или указано, что субъект, демонстрирующий MRD при глубоком секвенированим IGH, может быть дополнительно подвергнут лечению, например, терапией, первоначально назначенной в аналогичной или повышенной дозе, или другой

терапией. В некоторых аспектах, заболевание или состояние сохраняется после введения первой дозы, и/или введения первой дозы недостаточно для искоренения заболевания или состояния у субъекта.

В некоторых вариантах осуществления, способ снижает тяжесть заболевания или состояния, например, количество опухолевых клеток, размер опухоли, продолжительность выживаемости пациента или выживаемость без событий, в большей степени и/или в течение более длительного периода времени, по сравнению с уменьшением, которое наблюдалось бы при использовании сопоставимого способа с альтернативной схемой дозирования, например, при котором субъект получает один или несколько альтернативных терапевтических агентов, и/или при котором субъект не получает дозу клеток и/или противолимфомный агент согласно представленным способам и/или представленным готовым изделиям или композициям. В некоторых вариантах осуществления, тяжесть заболевания или состояния у субъекта определяется, оценивается или измеряется. Тяжесть заболевания может быть определена в некоторых аспектах через выявление всего количества заболевания или связанных с заболеванием клеток, например, опухолевых клеток, у субъекта или в органе, ткани или биологической жидкости, например крови или сыворотке. В некоторых аспектах, оценивают выживаемость субъекта, выживаемость в течение определенного периода времени, степень выживаемости, наличие или продолжительность бессобытийной или бессимптомной выживаемости или выживаемость без рецидива. В некоторых вариантах осуществления, оценивают любой симптом заболевания или состояния. В некоторых вариантах осуществления, указана мера тяжести заболевания или состояния.

В некоторых вариантах осуществления, уровень выживания без событий или общего выживания субъекта улучшается с помощью способов по сравнению с другими способами, например, способами, в которых субъект получает один или несколько альтернативных терапевтических агентов и/или в котором субъект не получает дозу клеток и/или противолимфомный агент согласно представленным способам и/или представленным готовым изделиям или композициям. Например, в некоторых вариантах осуществления, частота бессобытийной выживаемости или вероятности для субъектов, подвергутых лечению способами через 6 месяцев после дозы составляет более чем примерно 40%, более чем примерно 50%, более чем примерно 60%, более чем примерно 70%, более чем примерно 80%, более чем примерно 90% или более чем примерно 95%. В некоторых аспектах, частота общего выживания составляет более чем примерно 40%, более чем примерно 50%, более чем примерно 60%, более чем примерно 70%, более чем примерно 80%, более чем примерно 90% или более чем примерно 95%. В некоторых вариантах осуществления, субъекты, леченные способами, демонстрируют бессобытийную выживаемость, безрецидивную выживаемость или выживаемость до, по меньшей мере, 6 месяцев или, по меньшей мере, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 лет. В некоторых вариантах осуществления, время до прогрессирования улучшается, например, время до прогрессирования составляет более чем точно или примерно 6 месяцев или, по меньшей мере, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 лет.

В некоторых вариантах осуществления, после лечения способом, вероятность рецидива снижается по сравнению с другими способами, например, способами, в котором субъект получает один или несколько альтернативных терапевтических агентов и/или в котором субъект не получает дозу клеток и/или противолимфомный агент согласно представленным способам, и/или представленным готовым изделиям или композициям. Например, в некоторых вариантах осуществления, вероятность рецидива через 6 месяцев после первой дозы составляет меньше чем примерно 80%, меньше чем примерно 70%, меньше чем примерно 60%, меньше чем примерно 50%, меньше чем примерно 40%, меньше чем примерно 30%, меньше чем примерно 20%, или меньше чем примерно 10%.

В некоторых случаях, фармакокинетику вводимых клеток, например, адоптивно перенесенных клеток, определяют для оценки доступности, например, биодоступности вводимых клеток. Способы определения фармакокинетики адоптивно перенесенных клеток могут включать сбор периферической крови от субъектов, которым вводили сконструированные клетки, и определение количества или доли сконструированных клеток в периферической крови. Подходы к выбору и/или выделению клеток могут включать использование специфических к химерному антигенному рецептору (CAR) антител (например, Brentjens et al., Sci. Transl. Med. 2013 Mar; 5(177): 177ra38) Protein L (Zheng et al., J. Transl. Med. 2012 Feb; 10:29), эпитопных меток, таких как последовательности Strep-Tag, вводимых непосредственно в определенные участки в CAR, где связывающие реагенты для Strep-Tag применяют для прямого доступа к CAR (Liu et al. (2016) Nature Biotechnology, 34:430; публикация международной заявки на патент № WO2015095895) и моноклональных антител, которые специфически связываются с CAR полипептидом (см. публикацию международной заявки на патент № WO2014190273). Внешние маркерные гены могут в некоторых случаях использоваться в связи с терапией сконструированными клетками для обнаружения или отбора клеток и, в некоторых случаях, также для содействия самоубийству клеток. Усеченный рецептор эпидермального фактора роста (EGFRt) в некоторых случаях может коэкспрессироваться с трансгеном, представляющим интерес (CAR или TCR) в трансдуцированных клетках (см., например, патент США № 8,802,374). EGFRt может содержать эпитоп, распознаваемый антителом цетуксимабом (Erbitux®) или другим терапевтическим анти-EGFR антителом или связывающей молекулой, которая может применяться для идентификации или выбора клеток, которые были сконструированы с EGFRt конструкцией и другим рекомбинантным рецептором, таким как химерный антигенный рецептор (CAR), и/или для исключения или отделения клеток, экспрессирующих рецептор. См. патент США № 8,802,374 и Liu et al., Nature Biotech. 2016 April; 34(4): 430-434).

В некоторых вариантах осуществления, количество CAR^+ Т клеток в биологическом образце, получено от пациента, например, крови, может быть определено в период времени после введения клеточной терапии, например, для определения фармакокинетики клеток. В некоторых вариантах осуществления, количество CAR^+ Т клеток, необязательно CAR^+CD8^+ Т клеток и/или CAR^+CD4^+ Т клеток, определяемое в крови субъекта или у

большинства субъектов, подвергутых лечению способом, составляет более чем 1 клеток на мкл, более чем 5 клеток на мкл или более чем 10 клеток на мкл.

D. Токсичность

В некоторых вариантах осуществления, представленные способы разработаны для или включают признаки, которые дают более низкую частоту и/или более низкую степень токсичности, токсичного результата или симптома, профиль активации токсичности, фактор или свойств, такое как симптом или результат, ассоциированный с или показательный для синдрома выделения цитокина (CRS) или нейротоксичности (NT), например, по сравнению с введением альтернативной клеточной терапии, такой как альтернативная CAR^+ T клеточная композиция, и/или альтернативного дозирования клеток, например дозирования клеток, которые водят в определенном отношении.

В некоторых вариантах осуществления, представленные способы не приводят к высокой частоте или вероятности токсичности или токсических результатов или снижают частоту или вероятность токсичности или токсических результатов, такой как нейротоксичность (NT), синдром выделения цитокина (CRS), например, по сравнению с определенными другими клеточными терапиями. В некоторых вариантах осуществления, способы не вызывают или не повышают риск тяжелой NT (sNT), тяжелого CRS (sCRS), синдром активации макрофагов, синдром лизиса опухоли, лихорадка, по меньшей мере, точно или примерно 38 градусов Цельсия в течение трех или более дней и уровни CRP в плазме, по меньшей мере, точно или примерно 20 мг/дл. В некоторых вариантах осуществления, более чем или более чем примерно 30%, 35%, 40%, 50%, 55%, 60% или более субъектов, подвергутых лечению представленными способами, не демонстрируют какую-либо степень CRS или любую степень нейротоксичности. В некоторых вариантах осуществления, не более 50%, подвергутых лечению субъектов (например по меньшей мере, 60%, по меньшей мере, 70%, по меньшей мере, 80%, по меньшей мере, 90% или более подвергутых лечению субъектов) демонстрируют синдром выделения цитокина (CRS) выше чем степень 2 и/или нейротоксичность выше чем степень 2. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, 50% подвергутых лечению субъектов согласно способу (например по меньшей мере, 60%, по меньшей мере, 70%, по меньшей мере, 80%, по меньшей мере, 90% или более подвергутых лечению субъектов) не демонстрируют тяжелый токсический результат (например тяжелый CRS или тяжелую нейротоксичность), например, не демонстрируют степень 3 или выше нейротоксичности и/или не демонстрируют тяжелый CRS или не делают это в течение определенного периода времени после лечения, например, в течение недели, двух недель или одного месяца после введение клеток. В некоторых вариантах осуществления, параметры, оцениваемые для определения определенной токсичности, включают неблагоприятные события (AE), ограничивающую дозу токсичность (DLT), CRS и NT.

Введение адоптивной T клеточной терапии, такой как лечение T клетками, экспрессирующими химерные антигенные рецепторы, может вызвать токсические эффекты или результаты, такие как синдром выделения цитокина и нейротоксичность. В некоторых

примерах, такие эффекты или результаты параллельны высоким уровня цитокинов в кровотоке, что может подчеркнуть наблюдаемую токсичность.

В некоторых аспектах, токсическим результатом является или ассоциирован с или является показателем синдрома выделения цитокина (CRS) или тяжелого CRS (sCRS). CRS, например, sCRS, может возникать в некоторых случаях после адоптивной Т клеточной терапии и введения субъектам других биологических продуктов. См. Davila et al., Sci Transl Med 6, 224ra25 (2014); Brentjens et al., Sci. Transl. Med. 5, 177ra38 (2013); Grupp et al., N. Engl. J. Med. 368, 1509-1518 (2013); and Kochenderfer et al., Blood 119, 2709-2720 (2012); Xu et al., Cancer Letters 343 (2014) 172-78.

Обычно, CRS вызывается при чрезмерном системном иммунном ответе, опосредованном, например, Т клетками, В клетками, NK клетками, моноцитами и/или макрофагами. Такие клетки могут выделять большое количество воспалительных медиаторов, таких как цитокины и хемокины. Цитокины могут запускать острый воспалительный ответ и/или вызывать повреждение эндотелия органов, что может привести к проницаемости капилляров, сердечной недостаточности или смерти. Тяжелый, угрожающий жизни CRS может привести у легочной инфильтрации и повреждению легких, почечной недостаточности или генерализованному тромбогеморрагическому синдрому. Другие тяжелые, угрожающие жизни токсичности могут включать сердечную токсичность, респираторный дистресс, неврологическую токсичность и/или печеночную недостаточность. В некоторых аспектах, лихорадка, особенно высокая лихорадка ($\geq$38,5°C или $\geq$101,3°F), ассоциирована с CRS или его риском. В некоторых случаях, признаки или симптомы CRS имитируют инфекцию. В некоторых вариантах осуществления, инфекция также рассматривается у субъектов, имеющих симптомы CRS, и может применяться отслеживание культурами и эмпирическая терапия антибиотиками. Другие симптомы, ассоциированные с CRS, могут включать сердечную дисфункцию, респираторный дистресс-синдром взрослых, почечную и/или печеночную недостаточность, коагулопатии, генерализованный тромбогеморрагический синдром и синдром повышенной проницаемости капилляров.

CRS можно лечить с применением противовоспалительной терапии, такой как анти-IL-6 терапия, например, антитело против IL-6, например, тоцилизумаб или антибиотики или другие агенты, как описано. Результаты, признаки и симптомы CRS известны и включают такие, которые описаны в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления, где конкретная схема дозирования или введение влияют или не влияют на данный CRS-ассоциированный результат, признак или симптом, могут быть указаны конкретные результаты, признаки и симптомы и/или их количества или степени.

В контексте введения CAR-экспрессирующих клеток, CRS обычно возникает через 6-20 дней после инфузии клеток, которые экспрессируют CAR. См. Xu et al., Cancer Letters 343 (2014) 172-78. В некоторых случаях, CRS возникает в течение меньше чем 6 дней или более чем 20 дней после инфузии CAR Т клеток. Количество случаев и время CRS может быть связано с базовыми уровнями цитокина или опухолевой массы во время инфузии.

Обычно, CRS включает повышенные уровни в сыворотке интерферона (IFN)-γ, фактора некроза опухоли (TNF)-α и/или интерлейкина (IL)-2. Другие цитокины, которые могут быть быстро вызваны при CRS, включают IL-1β, IL-6, IL-8 и IL-10.

Типовые результаты, ассоциированные с CRS, включают лихорадку, дрожь, озноб, гипотензию, диспноэ, острый респираторный дистресс-синдром (ARDS), энцефалопатию, повышение ALT/AST, почечную недостаточность, сердечные нарушения, гипоксию, неврологические нарушения и смерть. Неврологические осложнения включают делирий, эпилептиформную активность, спутанность сознания, затруднения с подбором слов, афазию и/или заторможенность. Другие связанные с CRS результаты включают утомляемость, тошноту, головную боль, судороги, тахикардию, миалгии, высыпания, острый синдром пропотевания жидкости из сосудов, ухудшение функции печени и почечную недостаточность. В некоторых аспектах, CRS ассоциирован с повышением одного или нескольких факторов, таких как сывороточный ферритин, d-димер, аминотрансферазы, лактатдегидрогеназа и триглицериды, или с гипофибриногенемией и гепатоспленомегалией. Другие типовые признаки или симптомы, ассоциированные с CRS, включают гемодинамическую нестабильность, лихорадочную нейтропению, повышение сывороточного С-реактивного белка (CRP), изменения параметров свертывания крови (например, международный коэффициент нормализации (INR), время свертывания крови (PTI) и/или фибриноген), изменение в функции сердца и других органов и/или абсолютное количество нейтрофилов (ANC).

В некоторых вариантах осуществления, результаты, ассоциированные с CRS, включают один или несколько из: трудноизлечимой лихорадки, например, лихорадки с определенной температурой, например, более чем точно или примерно 38 градусов Цельсия, в течение двух или более, например, трех или более, например, четырех или более дней или в течение, по меньшей мере, трех последовательных дней; лихорадка более чем точно или примерно 38 градусов Цельсия; повышение цитокинов, такое как максимальная кратность изменения, например, по меньшей мере, точно или примерно 75, по сравнению с уровнями до лечения для, по меньшей мере, двух цитокинов (например, по меньшей мере, двух из группы, состоящей из интерферона гамма (IFNγ), GM-CSF, IL-6, IL-10, Flt-3L, фракталкина и IL-5, и/или фактора некроза опухоли альфа (TNFα)) или максимальная кратность изменения, например, по меньшей мере, точно или примерно 250 для, по меньшей мере, одного из таких цитокинов; и/или, по меньшей мере, один клинический признак токсичности, такой как гипотензия (например, по данным, по меньшей мере, одного внутривенного вазоактивного прессора); гипоксия (например, уровни кислорода в плазме (PO_2) менее чем точно или примерно 90%); и/или одно или несколько неврологических расстройств (включая изменение ментального статуса, притупление болевой чувствительности и судороги). В некоторых вариантах осуществления, нейротоксичность (NT) может наблюдаться одновременно с CRS.

Типовые CRS-связанные результаты включают повышенные или высокие сывороточные уровни одного или нескольких факторов, включая цитокины и хемокины и

другие факторы, ассоциированные с CRS. Типовые результаты дополнительно включают повышение синтеза или секреции одного или нескольких таких факторов. Такой синтез или секреция может производиться Т клеткой или клеткой, которая взаимодействует с Т клеткой, такой как врожденная иммунная клетка или В клетка.

В некоторых вариантах осуществления, CRS-ассоциированные сывороточные факторы или CRS-связанные результаты включают воспалительные цитокины и/или хемокины, включая интерферон гамма (IFN-γ), TNF-a, IL-1β, IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, sIL-2Ra, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), макрофагальный воспалительный белок (MIP)-1, фактор некроза опухоли альфа (TNFα), IL-6 и IL-10, IL-1β, IL-8, IL-2, MIP-1, Flt-3L, фракталкин и/или IL-5. В некоторых вариантах осуществления, фактор или результат включает С реактивный белок (CRP). В дополнение к тому, что он является ранним или легко измеряемым факторов риска CRS, CRP также является маркером размножения клеток. В некоторых вариантах осуществления, субъекты, у которых измерены высокие уровни CRP, например, ≥15 мг/дл, имеют CRS. В некоторых вариантах осуществления, субъекты, у которых измерены высокие уровни CRP не имеют CRS. В некоторых вариантах осуществления, измерение CRS включает измерение CRP и другого фактора, показательного для CRS.

В некоторых вариантах осуществления, один или несколько воспалительных цитокинов или хемокинов отслеживают до, во время или после лечения CAR. В некоторых аспектах, один или несколько цитокинов или хемокинов включают IFN-γ, TNF-α, IL-2, IL-1β, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, sIL-2Rα, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF) или макрофагальный воспалительный белок (MIP). В некоторых вариантах осуществления, отслеживают IFN-γ, TNF-α и IL-6.

Были разработаны критерии CRS, которые вероятно коррелируют с наступлением CRS для прогнозирования того, у каких пациентов наиболее вероятно будет иметься риск развития sCRS (см. Davilla et al. Science translational medicine. 2014;6(224):224ra25). Факторы включают лихорадки, гипоксию, гипотензию, неврологические изменения, повышенные сывороточные уровни воспалительных цитокинов, таких как набор из семи цитокинов (IFNγ, IL-5, IL-6, IL-10, Flt-3L, фракталкин и GM-CSF), повышенные которых, вызванное лечение, может коррелировать и с предварительным лечением опухолевой массы, и с симптомами sCRS. Другие руководства по диагностике и управлению CRS известны (см., например, Lee et al, Blood. 2014;124(2):188-95). В некоторых вариантах осуществления, критерии, отражающие степень CRS, включают такие, которые перечислены в **Таблице 3** ниже.

Таблица 3: Типовые критерии ранжирования CRS

Степень	**Описание симптомов**
1 Слабая	Не угрожают жизни, требуют только симптоматического лечения, например, жаропонижающими и противорвотными (например, лихорадка, тошнота, утомляемость, головная боль, миалгия,

	дискомфорт)
2 Умеренная	Требуют и отвечают на умеренное вмешательство: □ Потребность в кислороде <40%, или □ Гипотензия, отвечающая на жидкости или низкую дозу одного сосудосуживающего фактора, или □ Степень 2 токсичности для органов (по CTCAE v4,0)
3 Тяжелая	Требуют и отвечают на агрессивное вмешательство: □ Потребность в кислороде ≥40%, или □ Гипотензия, требующая высокой дозы одного сосудосуживающего фактора (например, норэпинефрина ≥20 мкг/кг/мин, дофамин ≥10 мг/кг/мин, фенилэфрин ≥200 мг/кг/мин или эпинефрин ≥10 мг/кг/мин), или □ Гипотензия, требующая множества сосудосуживающих факторов (например, вазопрессин+один из вышеуказанных агентов или комбинация сосудосуживающих факторов, эквивалентная ≥20 мг/кг/мин норэпинефрина), или Степень 3 токсичности для органов или Степень 4 повышения активности трансаминаз (по CTCAE v4,0)
4 Угрожающая жизни	Угрожают жизни: Требования ИВЛ, поддержки, или Степень 4 токсичности для органов (исключая повышение активности трансаминаз)
5 Фатальная	Смерть

В некоторых вариантах осуществления, критерии, отражающие степень CRS, подробно указаны в **Таблице 4** ниже.

Таблица 4. Типовые критерии ранжирования для CRS

Симптомы/ Признаки	**Степень 1 (слабая)**	**Степень 2 (умеренная)**	**Степень 3 (тяжелая)**	**Степень 4 (угрожающая жизни)**
		CRS степень определена наиболее тяжелым симптомом (исключая лихорадку)		
Температура ≥ 38,5°C/101,3°F	Любая	Любая	Любая	Любая

Систолическое кровяное давление ≤90 мм рт.ст.	Н/Д	Отвечает на жидкость или одну низкую дозу сосудосуживающего фактора	Требует высокой дозы или нескольких сосудосуживающих факторов	Угрожающая жизни
Необходимость в кислороде для достижения SaO_2 >90%	Н/Д	FiO_2 <40%	FiO_2 ≥40%	Требует ИВЛ
Токсичность для органов	Н/Д	Степень 2	Степень 3 или повышение активности трансаминаз	Степень 4 (исключая повышение активности трансаминаз)

В некоторых вариантах осуществления, высокодозная терапия сосудосуживающими факторами включает такую, которая описана в **Таблице 5** ниже.

Таблица 5. Высокие дозы сосудосуживающих факторов (все дозы требуются в течение ≥3 часов)

Сосудосуживающий фактор	**Доза**
Норэпинефрин, монотерапия	≥ 20 мкг/мин
Дофамин, монотерапия	≥ 10 мг/кг/мин
Фенилэфрин, монотерапия	≥ 200 мкг/мин
Эпинефрин, монотерапия	≥ 10 мкг/мин
Если на вазопрессине	Вазопрессин+эквивалент норэпинефрина (NE) ≥ 10 мкг/мин[a]
Если на комбинации сосудосуживающих факторов (не вазопрессина)	Эквивалент норэпинефрина ≥20 мкг/мин[a]
[a] VASST Trial Vasopressor Equivalent Equation: Эквивалентная доза норэпинефрина = [норэпинефрин (мкг/мин)] + [дофамин (мг/кг/мин) ÷ 2] + [эпинефрин (мкг/мин)] + [фенилэфрин (мкг/мин) ÷ 10]	

В некоторых вариантах осуществления, токсическим результатом является тяжелый CRS. В некоторых вариантах осуществления, токсическим результатом является отсутствие тяжелого CRS (например, умеренный или слабый CRS). В некоторых вариантах

осуществления, считается, что у субъекта развился «тяжелый CRS» («sCRS») в ответ на или вторично к введению клеточной терапии или дозы клеток, если, после введения, субъект демонстрирует: (1) лихорадку, по меньшей мере, 38 градусов Цельсия в течение, по меньшей мере, трех дней; (2) повышение цитокина, которое включает либо (a) максимальную кратность изменения, по меньшей мере, 75 у, по меньшей мере, двух из следующей группы из семи цитокинов по сравнению с уровнем сразу после введения: интерферон гамма (IFNγ), GM-CSF, IL-6, IL-10, Flt-3L, фракталкин и IL-5 и/или (b) максимальную кратность изменения, по меньшей мере, 250 для, по меньшей мере, одного из следующей группы из семи цитокинов по сравнению с уровнем сразу после введения: интерферон гамма (IFNγ), GM-CSF, IL-6, IL-10, Flt-3L, фракталкин и IL-5; и (c) по меньшей мере, один клинический признак токсичности, такой как гипотензия (требующая, по меньшей мере, одного внутривенного вазоактивного прессора) или гипоксия (PO_2 <90%) или одно или несколько неврологических расстройств (включая изменения психического состояния, притупление болевой чувствительности и/или судороги). В некоторых вариантах осуществления, тяжелый CRS включает CRS со степенью 3 или более, такой как указан в **Таблице 3** и **Таблице 4**.

В некоторых вариантах осуществления, уровень токсического результата, например CRS-связанного результата, например, сывороточного уровня индикатора CRS, измеряют с применением ELISA. В некоторых вариантах осуществления, могут быть измерены лихорадка и/или уровни С-реактивного белка (CRP). В некоторых вариантах осуществления, субъекты с лихорадкой и CRP ≥15 мг/дл могут считаться имеющими высокий риск развития тяжелого CRS. В некоторых вариантах осуществления, CRS-ассоциированныйе сывороточные факторы или CRS-связанные результаты включают повышение уровня и/или концентрации воспалительных цитокинов и/или хемокинов, включая Flt-3L, фракталкин, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), интерлейкин-1 бета (IL-1β), IL-2, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, интерферон гамма (IFN-γ), макрофагальный воспалительный белок (MIP)-1, MIP-1, sIL-2Rα или фактор некроза опухоли альфа (TNFα). В некоторых вариантах осуществления, фактор или результат включает С реактивный белок (CRP). Кроме того, что он является ранним и легко измеримым фактором риска CRS, CRP также является маркером для размножения клеток. В некоторых вариантах осуществления, субъекты, у которых измерены высокие уровни CRP, например, ≥15 мг/дл, имеют CRS. В некоторых вариантах осуществления, субъекты, у которых измерены высокие уровни CRP, не имеют CRS. В некоторых вариантах осуществления, измерение CRS включает измерение CRP и другого фактора, показательного для CRS.

В некоторых вариантах осуществления, результаты, ассоциированные с тяжелым CRS или степенью 3 CRS или более, например, степенью 4 или более, включают один или несколько из: трудноизлечимой лихорадки, например, лихорадки с определенной температурой, например, более чем точно или примерно 38 градусов Цельсия, в течение двух или более, например, трех или более, например, четырех или более дней или в течение,

по меньшей мере, трех последовательных дней; лихорадка более чем точно или примерно 38 градусов Цельсия; повышение цитокинов, например, максимальная кратность изменения, например, по меньшей мере, точно или примерно 75, по сравнению с уровнями до лечения, по меньшей мере, двух цитокинов (например, по меньшей мере, двух из группы, состоящей из интерферона гамма (IFNγ), GM-CSF, IL-6, IL-10, Flt-3L, фракталкина и IL-5, и/или фактора некроза опухоли альфа (TNFα)) или максимальная кратность изменения, например, по меньшей мере, точно или примерно 250, по меньшей мере, одного из таких цитокинов; и/или, по меньшей мере, один клинический признак токсичности, такой как гипотензия (например, по данным, по меньшей мере, одного внутривенного вазоактивного прессора); гипоксия (например, уровни кислорода в плазме (PO_2) менее чем точно или примерно 90%); и/или одно или несколько неврологических расстройств (включая изменения психического состояния, притупление болевой чувствительности и судороги). В некоторых вариантах осуществления, тяжелый CRS включает CRS, который требует управления или лечения в палате интенсивной терапии (ICU).

В некоторых вариантах осуществления, CRS, такой как тяжелый CRS, охватывает комбинацию (1) трудноизлечимой лихорадки (лихорадка, по меньшей мере, 38 градусов Цельсия в течение, по меньшей мере, трех дней) и (2) сывороточного уровня CRP, по меньшей мере, точно или примерно 20 мг/дл. В некоторых вариантах осуществления, CRS охватывает гипотензию, требующую применения двух или нескольких сосудосуживающих факторов или дыхательной недостаточности, требующей искусственной вентиляции легких. В некоторых вариантах осуществления, дозировку сосудосуживающих факторов повышают при втором или последующем введении.

В некоторых вариантах осуществления, тяжелый CRS или степень 3 CRS охватывает повышение аланинаминотрансферазы, повышения аспартатаминотрансферазы, озноб, лихорадочную нейтропению, головную боль, дисфункцию левого желудочка, энцефалопатию, гидроцефалию и/или тремор.

Способ измерения или определения разных результатов может быть определен.

В некоторых аспектах, токсическим результатом является или он ассоциирован с нейротоксичностью. В некоторых вариантах осуществления, симптомы, ассоциированные с клиническим риском нейротоксичности, включают спутанность сознания, делирий, афазию, экспрессивную афазию, притупление болевой чувствительности, миоклонус, летаргию, измененное состояние сознания, конвульсии, эпилептиформную активность, судороги (необязательно, подтвержденные электроэнцефалограммой (ЭЭГ)), повышенные уровни бета амилоида (Aβ), повышенные уровни глутамата и повышенные уровни кислородных радикалов. В некоторых вариантах осуществления, нейротоксичность ранжируют на основе тяжести (например, с применением 1-5-балльной шкалы (см., например, Guido Cavaletti & Paola Marmiroli *Nature Reviews Neurology* 6, 657-666 (December 2010); National Cancer Institute - Common Toxicity Criteria version 4,03 (NCI-CTCAE v4,03).

В некоторых случаях, неврологические симптомы могут быть самыми ранними симптомами sCRS. В некоторых вариантах осуществления, неврологические симптомы

начинаются в течение 5-7 дней после вливания клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, длительность неврологических изменений может варьироваться от 3 до 19 дней. В некоторых случаях, восстановление неврологических изменений происходит после возвращения к норме других симптомов sCRS. В некоторых вариантах осуществления, время или степень прихода в норму неврологических изменений не ускоряется лечением анти-IL-6 и/или стероидами.

В некоторых вариантах осуществления, считается, что у субъекта развивается «тяжелая нейротоксичность» в ответ на или вторично к введению клеточной терапии или дозы клеток, если, после введения, субъект демонстрирует симптомы, которые ограничивают способность к самообслуживанию (например, мытью, одеванию и раздеванию, питанию, использованию туалета, принятию лекарственных средств), выбранные из: 1) симптомов периферической моторной невропатии, включая воспаление или дегенерацию периферических двигательных нервов; 2) симптомов периферической сенсорной невропатии, включая воспаление или дегенерацию периферических сенсорных нервов, дизестезию, такую как деформация сенсорной чувствительности, что вызывает аномальные и неприятные ощущения, невралгию, такую как интенсивная болевая чувствительность вместе с нервом или группой нервов, и/или парестезия, такая как функциональные нарушения сенсорных нейронов, вызывающие аномальные кожные ощущения покалывания, онемения, давления, холода и теплоты при отсутствии стимула. В некоторых вариантах осуществления, тяжелая нейротоксичность включает нейротоксичность со степенью 3 или более, как указано в **Таблице 6**.

Таблица 6: Типовые критерии ранжирования для нейротоксичности

Степень	**Описание симптомов**
1 Асимптоматическая или слабая	Слабые или асимптоматические симптомы
2 Умеренная	Присутствие симптомов, которые ограничивают инструментальную повседневную активность (ADL), такую как приготовление пищи, покупка продуктов или одежды, использование телефона, управление деньгами
3 Тяжелая	Присутствие симптомов, которые ограничивают самообслуживание ADL, такое как мытье, одевание и раздевание, самостоятельное питание, использование туалета, принятие лекарственных средств
4 Угрожающая жизни	Симптомы, которые угрожают жизни, требующие немедленного вмешательства
5	Смерть

Фатальная	

В некоторых вариантах осуществления, способы снижают симптомы, ассоциированные с CRS или нейротоксичностью, по сравнению с другими способами. В некоторых аспектах, представленные способы снижают симптомы, результаты или факторы, ассоциированные с CRS, включая симптомы, результаты или факторы, ассоциированные с тяжелым CRS или степень. 3 или выше CRS, по сравнению с другими способами. Например, субъекты, леченные настоящими способами, могут не иметь определяемые и/или пониженные симптомы, результаты или факторы CRS, например тяжелый CRS или степень 3 или выше CRS, такие, как описаны, например, в **Таблице 3** и **Таблице 4**. В некоторых вариантах осуществления, субъекты, леченные согласно настоящим способам, могут иметь пониженные симптомы нейротоксичности, такие как слабость в конечностях или онемение конечностей, потеря памяти, зрения и/или интеллекта, неконтролируемое обсессивное и/или компульсивное поведение, бред, головная боль, когнитивные и поведенческие проблемы, включая потерю двигательного контроля, когнитивное ухудшение и дисфункцию автономной нервной системы и половую дисфункцию, по сравнению с субъектами, леченными другими способами. В некоторых вариантах осуществления, субъекты, леченные согласно настоящим способам, могут иметь пониженные симптомы, ассоциированные с периферической моторной невропатией, периферической сенсорной невропатией, дизестезия, невралгия или парестезия.

В некоторых вариантах осуществления, способы снижают результаты, ассоциированные с нейротоксичностью, включая повреждение нервной системы и/или мозга, такие как смерть нейронов. В некоторых аспектах, способы снижают уровень факторов, ассоциированных с нейротоксичностью, таких как бета амилоид (Aβ), глутамат и кислородные радикалы.

В некоторых вариантах осуществления, результатом токсичности является ограничивающая дозу токсичность (DLT). В некоторых вариантах осуществления, токсическим результатом является ограничивающая дозу токсичность. В некоторых вариантах осуществления, токсическим результатом является отсутствие ограничивающей дозу токсичности. В некоторых вариантах осуществления, ограничивающая дозу токсичность (DLT) определена как любая токсичность степени 3 или выше по оценке любыми известными или опубликованными руководствами для оценки конкретной токсичности, такой как описана выше, и включающими National Cancer Institute (NCI) Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE), версия 4,0.

В некоторых вариантах осуществления, низкая степень, риск или вероятность развития токсичности, например CRS, или нейротоксичности, или тяжелого CRS или нейротоксичности, например степени 3 или выше CRS или нейротоксичности, наблюдается при введении дозы Т клеток согласно представленным способами, и/или представленным готовым изделиям или композициям, позволяет вводить клеточную терапию амбулаторно. В некоторых вариантах осуществления, введение клеточной терапии, например дозы Т клеток (например CAR^+ Т клеток) согласно представленным способам, и/или

представленным готовым изделиям или композициям, проводят амбулаторно или не требуют помещения субъекта в больницу, такого, как помещение в больницу, требующее круглосуточного пребывания.

В некоторых аспектах, субъектам, которым вводят клеточную терапию, например, дозу Т клеток (например CAR^+ Т клеток) согласно представленным способам, и/или представленным готовым изделиям или композициям, включая субъектов, подвергутых лечению амбулаторно, не проводят вмешательство для лечения какой-либо токсичности до или одновременно с введением дозы клеток, если или пока субъект не демонстрирует признак или симптом токсичности, такой как нейротоксичности или CRS. Типовые агенты для лечения, задержки, ослабления или облегчения токсичности описаны в Разделе II.

В некоторых вариантах осуществления, если субъект, которому вводят клеточную терапию, например, дозу Т клеток (например CAR^+ Т клеток), включая субъектов, подвергутых лечению амбулаторно, демонстрирует лихорадку, субъекту дают или инструктируют для получения или введения лечения для снижения лихорадки. В некоторых вариантах осуществления, лихорадка у субъекта характеризуется как температура тела субъекта, которая составляет (ли измеряется) точно или выше определенной пороговой температуры или уровня. В некоторых аспектах, пороговой температурой является такая, которая ассоциирована с, по меньшей мере, низкой степенью лихорадки, с, по меньшей мере, умеренной лихорадкой и/или с, по меньшей мере, высокой степенью лихорадки. В некоторых вариантах осуществления, пороговой температурой является конкретная температура или диапазон. Например, пороговая температура может составлять точно или примерно или, по меньшей мере, точно или примерно 38, 39, 40, 41 или 42 градусов Цельсия, и/или может быть в диапазоне от точно или примерно 38 градусов Цельсия до точно или примерно 39 градусов Цельсия, диапазоне от точно или примерно 39 градусов Цельсия до точно или примерно 40 градусов Цельсия, в диапазоне от точно или примерно 40 градусов Цельсия до точно или примерно 41 градусов, или в диапазоне от точно или примерно 41 градусов Цельсия до точно или примерно 42 градусов Цельсия.

В некоторых вариантах осуществления, лечение, разработанное для снижения лихорадки, включает лечение жаропонижающими. Жаропонижающее может включать любой агент, например, соединение, композицию или ингредиент, который снижает лихорадку, например, любой из множества агентов, известных как обладающие жаропонижающими эффектами, таких как NSAID (такие как ибупрофен, напроксен, кетопрофен и нимесулид), салицилаты, такие как аспирин, холинсалицилат, салицилат магния и салицилат натрия, парацетамол, ацетаминофен, Метамизол, Набуметон, Фенаксон, антипирин, фебрифугин. В некоторых вариантах осуществления, жаропонижающим является ацетаминофен. В некоторых вариантах осуществления, ацетаминофен может вводиться в дозе 12,5 мг/кг перорально или внутривенно вплоть до каждые четыре часа. В некоторых вариантах осуществления, он является или содержит ибупрофен или аспирин.

В некоторых вариантах осуществления, если лихорадкой является долговременная

лихорадка, субъекту вводят альтернативное лечение для лечения токсичности, такое, как описано в Разделе II ниже. Для субъектов, подвергутых лечению амбулаторно, субъекту рекомендуют вернуться в больницу, если субъект имеет и/или определен как имеющий долговременную лихорадку. В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет и/или определен как имеющий или считается имеющим долговременную лихорадку, если он или она демонстрирует лихорадку с равной или выше соответствующей пороговой температурой, и если лихорадка или температура тела субъекта не снижается или не снижается на или на более чем определенное количество (например, на более чем 1°C и обычно не изменяется на примерно или на более чем примерно, 0,5°C, 0,4°C, 0,3°C или 0,2°C), после обозначенного лечения, такого как лечение, разработанное для снижения лихорадки, такого как лечение жаропонижающими, например NSAID или салицилатами, например, ибупрофеном, ацетаминофеном или аспирином. Например, считается, что субъект имеет долговременную лихорадку, если он или она демонстрирует или определен как демонстрирующий лихорадку, по меньшей мере, точно или примерно 38 или 39 градусов Цельсия, которая не снижается на или не снижается на более чем точно или примерно 0,5°C, 0,4°C, 0,3°C или 0,2°C или на точно или примерно 1%, 2%, 3%, 4% или 5%, в течение периода 6 часов, в течение периода 8 часов или в течение периода 12 часов или в течение периода 24 часов, даже после лечения жаропонижающим, таким как ацетаминофен. В некоторых вариантах осуществления, дозой жаропонижающего является доза обычно эффективная для такого субъекта для снижения лихорадки или лихорадки конкретного типа, такой как лихорадка, ассоциированная с бактериальной или вирусной инфекцией, например, локализованной или системной инфекцией.

В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет, и/или определен как или считается имеющим долговременную лихорадку, если он или она демонстрирует лихорадку при или выше соответствующей пороговой температуры, и где лихорадка или температура тела субъекта не изменяется на примерно или на более чем примерно, 1°C, и обычно не изменяется на примерно или на более чем примерно, 0,5°C, 0,4°C, 0,3°C или 0,2°C. Такое отсутствие изменения выше или в определенном количестве измеряют в течение данного периода времени (например в течение периода времени 24 часа, 12 часов, 8 часов, 6 часов, 3 часа или 1 час, который может быть измерен от первого признака лихорадки или первой температуры выше указанного порога). Например, в некоторых вариантах осуществления, субъект считается или определен как демонстрирующий продолжительную лихорадку, если он или она демонстрирует лихорадку, по меньшей мере, точно или примерно или, по меньшей мере, точно или примерно 38 или 39 градусов Цельсия, температура которой не изменяется на более чем точно или примерно 0,5°C, 0,4°C, 0,3°C или 0,2°C, в течение периода 6 часов, в течение периода 8 часов или в течение периода 12 часов или в течение периода 24 часа.

В некоторых вариантах осуществления, лихорадкой является продолжительная лихорадка; в некоторых аспектах, субъекта лечат в момент времени, в который субъект был определен как имеющий продолжительную лихорадку, например, в пределах одного, двух,

трех, четырех, пяти, шести или нескольких часов после такого определения или после первого такого определения после начальной терапии, потенциально вызывающей токсичность, такой как клеточная терапия, такая как доза Т клеток, например CAR^+ Т клеток.

В некоторых вариантах осуществления, одно или несколько вмешательств или агентов для лечения токсичности, таких как токсичные таргетные терапии, вводят в момент времени, в который, или сразу же после которого, субъект определен или подтвержден (например, впервые определен или подтвержден) как демонстрирующий продолжительную лихорадку, например, как измерено в любом из вышеуказанных вариантов осуществления. В некоторых вариантах осуществления, одну или несколько токсических таргетных терапий вводят в течение определенного периода времени от такого подтверждения или определения, например, в пределах 30 минут, 1 часа, 2 часов, 3 часов, 4 часов, 6 часов или 8 часов от него.

Е. Состояние здоровья и связанное со здоровьем качество жизни

В некоторых вариантах осуществления, представленные способы разработаны для и включают признаки, которые приводят к повышению у субъекта Связанного со здоровьем качества жизни (HQRL) и воздействию на симптомы после введения дозы CAR+ Т клеток по сравнению с таковым до введения. В некоторых вариантах осуществления, такие признаки могут отслеживаться или оцениваться проведением опроса European Organization for Research and Treatment Core Quality of Life Questionnaire, версии 3,0 (EORTC QLQ-C30) до введения дозы CAR-экспрессирующих клеток (например, на базовом уровне (BL)) в течение одного или нескольких разных моментов времени после введения CAR-экспрессирующих клеток, например каждые две недели, каждый месяц, каждые два месяца, каждые 3 месяца или более. В некоторых вариантах осуществления, оценка может включать измерение силы предпочтений человека к определенному состоянию здоровья по отношению к альтернативным состояниям здоровья. В некоторых аспектах EORTC QLQ-C30 является показателем качества жизни, применимым к лицам с любым диагнозом рака. В некоторых аспектах он включает 30 пунктов, которые касаются общих физических симптомов, физического функционирования, утомляемости и дискомфорта, а также социального и эмоционального функционирования. В некоторых аспектах оценка по субшкале преобразуют в шкалу от 0 до 100, при этом более высокие баллы по функциональным шкалам указывают на лучшую функцию, а более высокие баллы по шкалам симптомов указывают на худшие симптомы. В некоторых вариантах осуществления, шкала полезности присваивает числовые значения по шкале от 0 (смерть) до 1 (оптимальное или «идеальное» здоровье). В некоторых вариантах осуществления, время, проведенное в различных состояниях здоровья, собирают в годы жизни с поправкой на качество.

В некоторых вариантах осуществления, представленные способы разработаны или включают функции, которые приводят к повышению самочувствия и воспринимаемого состояния здоровья у субъектов, например, по данным EuroQol-5D (EQ-5D),

стандартизированного показателя состояния здоровья, разработанного EuroQoL Group как простой общий показатель состояния здоровья для клинической и экономической оценки. В некоторых вариантах осуществления, представленные способы разработаны или включают признаки, которые приводят к повышению самочувствия и воспринимаемого состояния здоровья у субъектов, такие как определяемые оценкой индекса полезности для здоровья и визуальной аналоговой шкалой [VAS] (EQ-5D- 5L). В некоторых вариантах осуществления, EQ-5D-5L (общий, основанный на предпочтении показатель) позволяет оценивать по шкале оценки состояния здоровья (Brooks R. *Health Policy* (1996); 37(1):53-72; The EuroQoL Group. Health Policy (1990); 16(3):199-208; Pickard AS et al. health Qual Life Outcomes (2007); 5:70) В некоторых вариантах осуществления, EQ-5D-5L позволяет оценивать шкалу оценки состояния здоровья для широкого диапазона состояний здоровья. В некоторых вариантах осуществления, EQ-5D-5L включает один сводный индекс (т.е., оценки показателя состояния здоровья) и глобальную визуально-аналоговую шкалу (EQ-VAS). В некоторых вариантах осуществления, оценка состояния здоровья по EQ-5D-5L состоит из 5 измерений здоровья, включая подвижность, самообслуживание, повседневную активность, боль/дискомфорт и тревогу/депрессию. В некоторых вариантах осуществления, EQ-5D-5L ранжируют как один суммарный индекс с применением значения US, установленного по шкале от −0,109 до 1, где оценка 0 означает смерть, 1 означает «полное здоровье» и отрицательные оценки отражают состояния, считающиеся хуже смерти. В некоторых вариантах осуществления, изменение от исходного ≥0,07 в EQ-5D-5L оценке одного суммарного индекса как индикатора клинически значимого изменения (Pickard et al. Health Qual Life Outcomes (2007); 5:70).

В некоторых вариантах осуществления, EQ-VAS ранжируют по шкале 0-100, где 0 представляет наихудшее воображаемое состояние здоровья и 100 представляет наилучшее воображаемое состояние здоровья. В некоторых вариантах осуществления, субъекты оценивают свое здоровье, ставя X на шкале, пронумерованной от 0 до 100 (EQ-5D-5L User Guide. https://euroqol.org/wp-content/uploads/2016/09/EQ-5D-5L_UserGuide_2015.pdf. Доступ от 9 апреля 2019).

В некоторых вариантах осуществления, субъекты определяют свою оценку. В некоторых аспектах, описательная система содержит измерения (подвижность, самообслуживание, повседневная активность, боль/дискомфорт, тревога/депрессия). В некоторых аспектах, каждое измерение имеет 5 уровней (нет проблем, незначительные проблемы, умеренные проблемы, тяжелые проблемы, крайне тяжелые проблемы). Шкала ранжирования VAS является вертикальной 20 см визуальной аналоговой шкалой, где в качестве конечной точки отмечено наилучшее воображаемое состояние здоровья наверху и наихудшее воображаемое состояние здоровья внизу, имеющие численные значения от 100 до 0 соответственно. В некоторых случаях, участника просят указать его/ее состояние галочкой (или крестиком) в рамке напротив наиболее подходящего утверждения в каждом из 5 измерений.

В некоторых аспектах, указанные пациентом результаты (PRO) могут применяться

для измерения опыта пациента в его лечении. В некоторых аспектах, PRO могут быть представлены непосредственно пациентом и без интерпретации медицинским персоналом. В некоторых аспектах, типовые инструменты для проверки HRQoL у пациентов, получающих CAR T клеточную терапию, включают PROMIS, SF-36 и EQ-5D-5L. В некоторых из любых вариантов осуществления, EORTC QLQ-C30 и EQ-5D-5L применяют для оценки качества жизни, связанного с состоянием здоровья. В некоторых аспектах, исследуют и кратковременные, и долговременные эффекты лечения на основе HRQoL пациента.

В некоторых вариантах осуществления, более чем или более чем примерно 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55% или 60% субъектов, подвергутых лечению согласно представленным вариантам осуществления, демонстрируют улучшение по 10 пунктам или более в опроснике European Organization for Research and Treatment Core Quality of Life Questionnaire, версия 3,0 (EORTC QLQ-C30) по общему состоянию здоровья чрез 6 месяцев или 12 месяцев после введения по сравнению с оценкой до лечения или через 1 месяц лечения. В некоторых вариантах осуществления, более чем или более чем примерно 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55% или 60% субъектов, подвергутых лечению согласно представленным вариантам осуществления, демонстрируют улучшение по 10 пунктам или более в EORTC QLQ-C30 по физическому функционированию через 6 месяцев или 12 месяцев после введения по сравнению с оценкой до лечения или через 1 месяц лечения. В некоторых вариантах осуществления, более чем или более чем примерно 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55% или 60% субъектов, подвергутых лечению согласно представленным вариантам осуществления, демонстрируют улучшение по 10 пунктам или более в EORTC QLQ-C30 по утомляемости через 6 месяцев или 12 месяцев после введения по сравнению с оценкой до лечения или через 1 месяц лечения. В некоторых вариантах осуществления, более чем или более чем примерно 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55% или 60% субъектов, подвергутых лечению согласно представленным вариантам осуществления, демонстрируют улучшение по 10 пунктам или более в EORTC QLQ-C30 по боли через 6 месяцев или 12 месяцев после введения по сравнению с оценкой до лечения или через 1 месяц лечения. В некоторых вариантах осуществления, более чем или более чем примерно 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55% или 60% субъектов, подвергутых лечению согласно представленным вариантам осуществления, демонстрируют улучшение по 10 пунктам или более в EORTC QLQ-C30 по боли через 6 месяцев или 12 месяцев после введения по сравнению с оценкой до лечения или через 1 месяц лечения.

В некоторых вариантах осуществления, средняя 5-уровневая EuroQol-5D (EQ-5D-5L) оценка среди субъектов, подвергутых лечению согласно представленным вариантам осуществления, является такой же или больше через 6 месяцев или 12 месяцев после введения по сравнению с оценкой до лечения или через 1 месяц лечения. В некоторых вариантах осуществления, средняя оценка EuroQol по глобальной визуально-аналоговой шкале (EQ-VAS) среди субъектов, подвергутых лечению согласно представленным вариантам осуществления, является такой же или больше через 6 месяцев или 12 месяцев

после введения по сравнению с оценкой до лечения или через 1 месяц лечения.

F. Биомаркеры, анализируемые вещества или параметры

Представленные способы включают способы оценки риска развития токсичности, ассоциированной с клеточной терапией, у субъекта, который включает оценку или определение биомаркеров (*например*, анализируемых веществ) или параметров, которые ассоциированы с токсичностью, *например*, нейротоксичностью, такой как тяжелая нейротоксичность, и/или CRS, такой как тяжелый CRS. Также представленные способы включают способы оценки вероятности ответа на клеточную терапию у субъекта, которая включает оценку или определение биомаркеров (*например*, анализируемых веществ) или параметров, которые ассоциирован с ответом, таким как объективный ответ (OR), включая полный ответ (CR) и частичный ответ (PR). В некоторых вариантах осуществления, ассоциированный ответ включает устойчивый ответ, например, ответ, который является устойчивым в течение 3 месяцев, 6 месяцев, 9 месяцев 12 месяцев или более, после начального ответа.

В некоторых вариантах осуществления, способы включают оценку или определение присутствия или отсутствия одного или панели биомаркеров (например, анализируемых веществ) и/или параметров (например, концентрация, количество, уровень или активность), ассоциированных с одним или панелью биомаркеров (например анализируемых веществ). В некоторых случаях, способы могут включать сравнение одного или нескольких параметров с особенно предпочтительным значением, например, пороговым уровнем (также называемым «пороговое значение» в настоящем документе), *например*, ассоциированным с риском развития токсичности или ассоциированным с конкретным ответом, таким как OR, CR или PR или устойчивый ответ, таким как ответ, устойчивый в течение 3 месяцев, 6 месяцев, 9 месяцев 12 месяцев или более, после начального ответа. В некоторых вариантах осуществления, способы также включают выбор субъектов для лечения клеточной терапией на основе оценки присутствия или отсутствия биомаркера и/или сравнения биомаркеров с эталонным значение пороговым уровнем биомаркера. В некоторых вариантах осуществления, способы также включают введение агента или терапии, которая может лечить, предотвращать, задерживать и/или ослаблять развитие токсичности, *например*, на основе оценки присутствия или отсутствия биомаркера и/или сравнения биомаркеров с эталонным значением или пороговым уровнем биомаркера.

В некоторых вариантах осуществления, способы включают оценку вероятности ответа субъекта или риска развития токсичности после введения клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, способы включают оценку уровня, количества или концентрации одного или нескольких анализируемых веществ в биологическом образце, где биологический образец получен от субъекта, который является кандидатом для лечения клеточной терапией, где указанная клеточная терапия необязательно содержит дозу или композицию генетически сконструированных клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор; и биологический образец получают от субъекта до введения клеточной терапии, и/или указанный биологический образец не содержит рекомбинантный рецептор и/или

указанные сконструированные клетки. В некоторых аспектах, способы включают сравнение, по отдельности, уровня, количества или концентрации анализируемого вещества в образце с пороговым уровнем, тем самым определяя риск развития токсичности после введения клеточной терапии. В некоторых аспектах, сравнение может применяться для определения вероятности ответа субъекта или риска развития токсичности, после введения клеточной терапии.

В некоторых вариантах осуществления, способы также включают выбор субъектов для лечения клеточной терапией, например, конкретной дозой клеточной терапии, включая введения конкретной дозы клеточной терапии, например, описанной в настоящем документе, например, в Разделе I.A и I.B, на основе оценки присутствия или отсутствия биомаркера и/или сравнения биомаркеров с эталонным значением или пороговым уровнем биомаркера. В некоторых вариантах осуществления, способы также включают выбор субъектов для лечения дополнительным агентом, таким как агент или другое лечение, способное лечить, предотвращать, замедлять, снижать или ослаблять развитие или риск развития токсичности, на основе оценки присутствия или отсутствия биомаркера и/или сравнения биомаркеров с эталонным значением или пороговым уровнем биомаркера.

В некоторых вариантах осуществления, параметром является или включая отличительные черты, факторы, характеристики пациента и/или заболевания или состояния. В некоторых вариантах осуществления, параметром является параметр, связанный с опухолевой массой, например, размерами опухолевой массы. В некоторых аспектах, способы также включают дополнительное отслеживание субъекта на возможные симптомы токсичности на основе риска токсичности, определенного оценкой присутствия или отсутствия биомаркера и/или сравнением биомаркеров с эталонным значением или пороговым уровнем биомаркера. В некоторых аспектах, биологический образец, например, образец крови или образец ткани от субъекта, может быть получен для определения присутствия или отсутствия биомаркера (например анализируемого вещества), например, для определения или измерения параметра (*например* концентрации, количества, уровня или активности) биомаркера и/или оценки присутствия биомаркера, для анализа, корреляции и/или определения конкретных результатов и/или токсичностей. В некоторых вариантах осуществления, определенные физиологические или биологические параметры ассоциированы с биомаркером, включая экспрессию биомаркеров и/или клинические и лабораторные параметры, могут оцениваться, из биологического образца, например, крови, от субъектов до или после введения клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, экспрессия биомаркеров или анализируемых веществ и/или клинических и лабораторных параметров, может оцениваться из биологического образца, например, крови, от субъектов до введения клеточной терапии (до лечения). В некоторых вариантах осуществления, экспрессия биомаркеров или анализируемых вещества и/или клинических и лабораторных параметров, может оцениваться из биологического образца, например, крови, от субъектов после введения клеточной терапии (после лечения). В некоторых вариантах осуществления, концентрация, количество, уровень или активность биомаркеров

(например, анализируемых веществ) и/или клинических и лабораторных параметров может оцениваться в один или несколько моментов времени до или после введения клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, пиковая концентрация, количество, уровень или активность биомаркеров (например, анализируемых веществ) и/или клинических и лабораторных параметров во время определенного периода времени также могут быть определены.

В некоторых вариантах осуществления, биомаркер или анализируемое вещество является объективно измеримой характеристикой или молекулой, экспрессированной самим или в биологическом образце, включая клетки, которая может быть показателем или ассоциирована с конкретным состоянием или явлением, таким как биологический процесс, терапевтический результат, фенотип клетки или болезненное состояние. В некоторых аспектах, биомаркер или анализируемое веществе или параметры, ассоциированные с биомаркером или анализируемым веществом, могут быть измерены или определены. Например, присутствие или отсутствие экспрессии биомаркера или анализируемого вещества, может быть определено. В некоторых аспектах, параметры, такие как концентрация, количество, уровень или активность биомаркера или анализируемого вещества, могут быть измерены или определены. В некоторых вариантах осуществления, присутствие, отсутствие экспрессия, концентрация, количество, уровень и/или активность биомаркера могут быть ассоциированы с, коррелировать с, быть показателем и/или прогнозировать конкретные состояния, такие как терапевтические результаты или состояние субъекта. В некоторых аспектах, присутствие, отсутствие, экспрессия, концентрация, количество, уровень и/или активность биомаркера или анализируемого вещества, такие, как описаны в настоящем документе, могут применяться для оценки вероятности конкретного результата или состояния, такого как конкретный терапевтический результат, включая ответ или токсичность. В некоторых вариантах осуществления, типовые биомаркеры включают цитокины, молекулы клеточной поверхности, хемокины, рецепторы, растворимые рецепторы, растворимые сывороточные белки и/или продукты разложения. В некоторых вариантах осуществления, биомаркеры или анализируемые вещества также могут включать конкретные отличительные черты, факторы, характеристики пациента и/или заболевание или состояние или факторы, являющиеся показателями состояния пациента и/или заболевания или состояния пациента (включая тяжесть заболевания), и/или клинические или лабораторные параметры.

В некоторых вариантах осуществления, биомаркеры могут применяться отдельно или в комбинации с другими биомаркерами, такими как панель биомаркеров. В некоторых вариантах осуществления, экспрессия конкретных биомаркеров может коррелировать с конкретными результатами или токсичностью, например, развитием нейротоксичности. В некоторых вариантах осуществления, биомаркеры (например анализируемые вещества), включая их параметры, которые могут оцениваться, включают лактатдегидрогеназу (LDH), ферритин, С-реактивный белок (CRP), интерлейкин-6 (IL-6), IL-7, IL-8, IL-10, IL-15, IL-16, фактор некроза опухоли альфа (TNF-α), интерферон альфа 2 (IFN-α2), моноцитарный

хемоаттрактантный белок-1 (MCP-1), макрофагальный воспалительный белок 1 альфа (MIP-1α), макрофагальный воспалительный белок 1 бета (MIP-1β), Эотаксин, Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF), IL-1 рецептор альфа (IL-1Rα), IL-1β, IFN-γ-Индуцируемый белок 10 (IP-10), перфорин и D-димер (продукт разложения фибрина). В некоторых вариантах осуществления, биомаркеры (например, анализируемые вещества), включая их параметры, включают LDH, ферритин, CRP, IL-6, IL-8, IL-10, TNF-α, IFN-α2, MCP-1 и MIP-1β. В некоторых вариантах осуществления, биомаркеры (например, анализируемые вещества), включая их параметры, включают ферритин, CRP, D-димер, IL-6, IL-15, TNF-α и MIP-1α. В некоторых вариантах осуществления, биомаркеры (например, анализируемые вещества), включая их параметры, включают ферритин, CRP, IL-10, IL-15, IL-16, TNF-α или MIP-1β.

В некоторых вариантах осуществления, способы включают определение присутствия или отсутствия одного или нескольких биомаркеров, таких как параметр (*например* концентрация, количество, уровень или активность), ассоциированный с одним или несколькими биомаркерами, где один или несколько биомаркеров выбирают из лактатдегидрогеназы (LDH), ферритина, С-реактивного белка (CRP), интерлейкина-6 (IL-6), IL-7, IL-8, IL-10, IL-15, IL-16, фактора некроза опухоли альфа (TNF-α), интерферона альфа 2 (IFN-α2), моноцитарного хемоаттрактантного белка-1 (MCP-1), макрофагального воспалительного белка 1 альфа (MIP-1α), макрофагального воспалительного белка 1 бета (MIP-1β), эотаксина, гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (G-CSF), IL-1 рецептора альфа (IL-1Rα), IL-1β, IFN-γ-индуцируемого белка 10 (IP-10), перфорина и D-димера (продукта разложения фибрина).

В некоторых вариантах осуществления, параметр, который оценивают, является или включает отличительные черты, факторы, характеристики пациента и/или заболевание или состояние и/или экспрессию биомаркеров. В некоторых вариантах осуществления, параметр является или включает один или несколько факторов, указывающих на состояние пациента и/или заболевание или состояние пациента. В некоторых вариантах осуществления, параметр является показателем опухолевой массы. В некоторых вариантах осуществления, фактор, показательный для опухолевой массы, является объемным параметром опухоли. В некоторых вариантах осуществления, объемным параметром является мера поражения, такая как размер опухоли, диаметр опухоли, объем опухоли, масса опухоли, опухолевая нагрузка или объемная масса, связанный с опухолью отек, связанный с опухолью некроз и/или количество или распространенность метастазов. В некоторых вариантах осуществления, объемным параметром опухоли является двухмерный показатель. Например, в некоторых вариантах осуществления, площадь поражения рассчитывают как произведение наибольшего диаметра и наибольшего перпендикулярного диаметра всех измеряемых опухолей. В некоторых случаях, объемным параметром опухоли является одноразмерный показатель. В некоторых случаях, размер измеримых поражений оценивают как наибольший диаметр. В некоторых вариантах осуществления, измеряют сумму произведений диаметров (SPD), наибольшие диаметры

опухоли (LD), сумму наибольших диаметров опухоли (SLD), некроз, объем опухоли, объем некроза, отношение некроз-опухоль (NTR), околоопухолевый отек (PTE) и отношение отек-опухоль (ETR).

Типовые способы измерения и оценки опухолевой массы включают такие, которые описаны в, например, Carceller et al., Pediatr Blood Cancer. (2016) 63(8):1400-1406 и Eisenhauer et al., Eur J Cancer. (2009) 45(2):228-247. В некоторых вариантах осуществления, объемной является сумма произведений диаметров (SPD), измеренная через определение суммы произведений наибольших перпендикулярных диаметров всех измеримых опухолей. В некоторых аспектах, опухоль или очаг поражения измеряют в одном направлении с наибольшим диаметром (LD) и/или через определение суммы наибольших диаметров опухолей (SLD) всех измеримых очагов поражения. В некоторых вариантах осуществления, объемным параметром опухоли является объемная количественная оценка некроза опухоли, такая как объем некроза и/или отношение некроз-опухоль (NTR), см. Monsky et al., Anticancer Res. (2012) 32(11): 4951-4961. В некоторых аспектах, объемным параметром опухоли является объемная количественная оценка связанного с опухолью отека, такого как околоопухолевый отек (PTE) и/или отношение отек-опухоль (ETR). В некоторых вариантах осуществления, измерение может проводиться с применением методов, таких как компьютерная томография (CT), позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) и/или магнитно-резонансная томография (MRI) субъекта.

В некоторых вариантах осуществления, объемный параметр опухоли определяют на сессии скрининга, такой как обычная оценка или сбор крови для подтверждения и/или идентификации состояния или заболевания у субъекта.

В некоторых вариантах осуществления, присутствие или отсутствие и/или параметр одного или нескольких биомаркеров (например, анализируемых веществ) оценивают из биологического образца. В некоторых аспектах, биологическим образцом является телесная жидкость или ткань. В некоторых таких вариантах осуществления, биологический образец, *например*, телесная жидкость, является или содержит цельную кровь, сыворотку или плазму.

В некоторых вариантах осуществления, присутствие или отсутствие и/или параметр одного или нескольких биомаркеров (например анализируемых веществ) оценивают до введения клеточной терапии (например, перед инфузией), например, получают вплоть до 2 дней, вплоть до 7 дней, вплоть до 14 дней, вплоть до 21 дней, вплоть до 28 дней, вплоть до 35 дней или вплоть до 40 дней до начала введения сконструированных клеток. В некоторых вариантах осуществления, биологический образец получают от субъекта до введения клеточной терапии (например, перед инфузией), например, получают вплоть до 2 дней, вплоть до 7 дней, вплоть до 14 дней, вплоть до 21 дней, вплоть до 28 дней, вплоть до 35 дней или вплоть до 40 дней до начала введения сконструированных клеток.

В некоторых вариантах осуществления, биологическим образцом является образец афереза или лейкафереза. В некоторых вариантах осуществления, присутствие или отсутствие и/или параметр одного или нескольких биомаркеров (например анализируемых

веществ) оценивают, или биологический образец получают после введения клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, реагенты могут применяться до введения клеточной терапии или после введения клеточной терапии, для диагностических целей, для идентификации субъектов и/или для оценки результатов лечения и/или токсичностей.

В некоторых вариантах осуществления, измерение значения одного или нескольких биомаркеров включает проведение *in vitro* анализа. В некоторых аспектах, *in vitro* анализом является иммуноанализ, анализ на основе аптамера, гистологический или цитологический анализ или анализ уровня экспрессии мРНК. В некоторых вариантах осуществления, значения одного или нескольких биомаркеров измеряют твердофазным иммуносорбентным анализом (ELISA), иммуноблоттингом, иммунопреципитацией, радиоиммуноанализом (RIA), иммуноокрашиванием, анализом проточной цитометрией, поверхностным плазмонным резонансом (SPR), анализом хемолюминесценции, иммунохроматографическим анализом, анализом ингибирования или анализом авидности. В некоторых случаях, значение, по меньшей мере, одного или нескольких биомаркеров определяют с применением связующего реагента, который специфически связывается с, по меньшей мере, одним биомаркером. В некоторых аспектах, связывающим реагентом является антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, аптамер или зонд на основе нуклеиновой кислоты.

В некоторых вариантах осуществления, измерение значения одного или нескольких биомаркеров (*например*, анализируемых веществ) включает контакт реагента, способного прямо или косвенно определять анализируемое вещество с биологическим образцом и определение присутствия или отсутствия, уровня, количества или концентрации анализируемого вещества в биологическом образце. В некоторых вариантах осуществления, одним или несколькими биомаркерами (например, анализируемыми веществами) являются лактатдегидрогеназа (LDH), ферритин, CRP, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-15, IL-16, TNF-альфа, IFN-гамма, MCP-1, MIP-1бета, эотаксин, G-CSF, IL-1Rальфа, IL-1Rбета, IP-10, перфорин и D-димер (продукт разложения фибрина). В некоторых вариантах осуществления, одним или несколькими биомаркерами (например анализируемым веществом) является LDH, ферритин, CRP, IL-6, IL-8, IL-10, TNF-альфа, IFN-альфа2, MCP-1 и MIP-1бета. В некоторых вариантах осуществления, одним или несколькими биомаркерами (например анализируемым веществом) является или включает LDH.

В некоторых аспектах, реагентом является связывающая молекула, которая специфически связывается с анализируемым веществом. Например, в некоторых вариантах осуществления, реагентом является антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления, реагентом является или включает субстрат или партнер связывания анализируемого вещества.

В некоторых вариантах осуществления, присутствие, отсутствие или параметр (например, уровень, количество, концентрация и/или другой параметр) LDH определяют или обнаруживают в образце. Разные способы определения или обнаруживания LDH известны. Например, анализ, в котором измеряют LDH превращение лактата в пируват

через восстановление NAD^+ до NADH может применяться для определения LDH в образце. В некоторых вариантах осуществления, образец контактирует с лактатом в присутствии коэнзима NAD который, как параметр LDH в образце, дает NADH, который затем окисляют в присутствии агента переноса электронов. В некоторых вариантах осуществления, NADH взаимодействует с зондом или предшественником красителя, которые определяется через измерение абсорбции в диапазоне видимого света. В некоторых примерах, диафораза использует NADH для восстановления соли тетразолия (INT) до красного формазанового продукта, и продукт измеряют. Поэтому, в некоторых вариантах осуществления, количество образовавшегося окрашенного продукта прямо пропорционально LDH активности в образце.

В некоторых вариантах осуществления, способы включают сравнение, по отдельности, уровня, количества или концентрации анализируемого вещества в образце с пороговым уровнем, тем самым определяя риск развития токсичности после введения клеточной терапии или тем самым определяя вероятность того, что субъект даст ответ на клеточную терапию. В некоторых аспектах, типовые пороговые уровни могут быть определены на основе средних или медианных значений в пределах диапазона или стандартного отклонении средних или медианных значений уровня, количества или концентрации анализируемого вещества в биологическом образце, полученном от группы субъектов до получении клеточной терапии, где каждый субъект из группы демонстрирует конкретный результат, такой как конкретный терапевтический результат, включая демонстрирующих ответ или не демонстрирующих ответ; или либо развившего токсичность, либо не развившего токсичность. В некоторых вариантах осуществления, конкретные аспекты определения пороговых значений включают такие, которые описаны ниже в Разделах I.E,1 и I.E,2.

1. Типовые биомаркеры, анализируемые вещества или параметры, ассоциированные с ответом

В некоторых вариантах осуществления, анализируемое вещество или биомаркер ассоциирован с, коррелирует с, является показателем и/или прогнозирует конкретный результат, такой как конкретный ответ, такой как объективный ответ (OR), полный ответ (CR) или частичный ответ (PR) или устойчивый ответ, такой как OR или CR или PR, который является устойчивым в течение 3, 6, 9 месяцев или более. В некоторых вариантах осуществления, более низкие или пониженные уровни или повышенные уровни одного или нескольких таких биомаркеров (например, анализируемых веществ), например, по сравнению с эталонным значением, могут быть ассоциированы с ответом, таким как OR, CR или PR или любой ответ, описанный в настоящем документе, например, в Разделе I.C, необязательно, устойчивый ответ, такой как ответ, являющийся устойчивыми в течение, по меньшей мере, 3 месяцев, 6 месяцев или более.

В некоторых вариантах осуществления, анализируемое вещество или биомаркер ассоциирован с, коррелирует с, является показателем и/или прогнозирует конкретный результат, такой как конкретный ответ или устойчивый ответ, у субъекта, которому

вводили клеточную терапию, например, композицию, содержащую генетически сконструированные клетки. В некоторых вариантах осуществления, присутствие, экспрессия, уровень, количество или концентрация одного или нескольких анализируемых веществ в биологическом образце, полученном от субъекта до введения клеточной терапии, может быть ассоциировано с, коррелировать с, являться показателем и/или прогнозировать конкретный результат, такой как конкретный ответ или устойчивый ответ. В некоторых вариантах осуществления, присутствие, экспрессия, уровень, количество или концентрация конкретных биомаркеров может коррелировать с конкретным ответом или устойчивым ответом. В некоторых вариантах осуществления, ответом может быть любой ответ, описанный в настоящем документе, например, в Разделе I.C.

В некоторых вариантах осуществления, способы включают сравнение, по отдельности, уровня, количества или концентрации анализируемого вещества в образце с пороговым уровнем, тем самым определяя вероятность того, что субъект даст ответ на клеточную терапию. В некоторых вариантах осуществления, способы включают выбор субъекта, который с большой вероятностью даст ответ на лечение, основываясь на результатах определения вероятности того, что субъект даст ответ на клеточную терапию, через сравнение, по отдельности, уровня, количества или концентрации анализируемого вещества в образце с пороговым уровнем. В некоторых вариантах осуществления, способы также включают введение клеточной терапии субъекту, выбранному для лечения. В некоторых вариантах осуществления, если определено, что субъект вероятно не даст ответ или устойчивый ответ, дополнительно включают введение дополнительного терапевтического агента субъекту.

В некоторых вариантах осуществления, биомаркеры (например, анализируемые вещества) включают такие, которые ассоциированы с ответом и/или устойчивым ответом. В некоторых вариантах осуществления, биомаркеры (например, анализируемые вещества), включая их параметры, включают LDH, ферритин, CRP, D-димер, сывороточный амилоид A1 (SAA-1), IL-6, IL-10, IL-15, IL-16, TNF-α, IFN-γ, MIP-1α и C-X-C мотив хемокина 10 (CXCL10).

В некоторых аспектах, типовые анализируемые вещества или биомаркеры, которые могут оцениваться или анализироваться для оценки вероятности ответа после введения клеточной терапии, включают одно или несколько анализируемых веществ, выбранных из ферритина, LDH, CXCL10, G-CSF и IL-10. В некоторых вариантах осуществления, для любого из предшествующих анализируемых веществ или биомаркеров, субъект вероятно дает ответ, если уровень, количество или концентрация одного или нескольких анализируемых веществ ниже порогового уровня, и субъект вероятно не даст ответ, если уровень, количество или концентрация одного или нескольких анализируемых веществ выше порогового уровня. В некоторых вариантах осуществления, ответ является или содержит объективный ответ. В некоторых вариантах осуществления, объективный ответ является или содержит полный ответ (CR) или частичный ответ (PR). В некоторых аспектах, пониженные уровни ферритина, LDH, CXCL10, G-CSF и IL-10, в биологическом образце от

субъекта, полученном до введения клеточной терапии (до лечения), могут быть ассоциированы с достижением объективного ответа, включая полный ответ (CR) или частичный ответ (PR).

В некоторых вариантах осуществления, пороговый уровень составляет в пределах 25%, в пределах 20%, в пределах 15%, в пределах 10% или в пределах 5% и/или находится в пределах стандартного отклонения ниже медианного или среднего уровня, количества или концентрации ферритина, LDH, CXCL10, G-CSF или IL-10 в биологическом образце, полученном от группы субъектов до получения клеточной терапии, где каждый субъект из группы продолжает давать ответ после введения экспрессирующей рекомбинантный рецептор терапевтической клеточной композиции для лечения того же заболевания или состояния. В некоторых вариантах осуществления, пороговый уровень составляет в пределах 25%, в пределах 20%, в пределах 15%, в пределах 10% или в пределах 5% и/или находится в пределах стандартного отклонения выше медианного или среднего уровня, количества или концентрации ферритина, LDH, CXCL10, G-CSF или IL-10 в биологическом образце, полученном от группы субъектов до получения клеточной терапии, где каждый субъект из группы продолжает демонстрировать стабильное заболевание (SD) и/или прогрессирующее заболевание (PD) после введения экспрессирующей рекомбинантный рецептор терапевтической клеточной композиции для лечения того же заболевания или состояния.

В некоторых аспектах, типовые анализируемые вещества или биомаркеры, которые могут оцениваться или анализироваться в отношении оценки вероятности устойчивого ответа после введения клеточной терапии, включают одно или несколько анализируемых веществ, выбранных из LDH, ферритина, CRP, D-димера, SAA-1, IL-6, IL-10, IL-15, IL-16, TNF-α, IFN-γ, MIP-1α, CXCL-10, IL-8, MCP-1 и MIP-1β. В некоторых вариантах осуществления, для любого из вышеуказанных анализируемых веществ или биомаркеров, субъект вероятно даст устойчивый ответ, если уровень, количество или концентрация одного или нескольких из анализируемого вещества ниже порогового уровня, и субъект вероятно не даст устойчивый ответ, если уровень, количество или концентрация одного или нескольких из анализируемого вещества выше порогового уровня. В некоторых вариантах осуществления, устойчивый ответ является или содержит полный ответ (CR) или частичный ответ (PR), который является устойчивым в течение точно или более чем 3 месяцев, 4 месяцев, 5 месяцев или 6 месяцев. В некоторых вариантах осуществления, устойчивый ответ является или содержит CR или PR, который является устойчивым в течение, по меньшей мере, 3 месяцев. В некоторых аспектах, пониженные уровни LDH, ферритина, CRP, D-димера, SAA-1, IL-6, IL-10, IL-15, IL-16, TNF-α, IFN-γ, MIP-1α, CXCL-10, IL-8, MCP-1 и MIP-1β, в биологическом образце от субъекта, полученном до введения клеточной терапии (до лечения), могут быть ассоциированы с достижением устойчивого ответа, такого как CR или PR, который является устойчивым в течение, по меньшей мере, 3 месяцев.

В некоторых вариантах осуществления, пороговый уровень составляет в пределах

25%, в пределах 20%, в пределах 15%, в пределах 10% или в пределах 5% и/или находится в пределах стандартного отклонения ниже медианного или среднего уровня, количества или концентрации LDH, ферритина, CRP, D-димера, SAA-1, IL-6, IL-10, IL-15, IL-16, TNF-α, IFN-γ, MIP-1α, CXCL-10, IL-8, MCP-1 или MIP-1β в биологическом образце, полученном от группы субъектов до получения клеточной терапии, где каждый субъект из группы продолжает давать устойчивый ответ после введения экспрессирующей рекомбинантный рецептор терапевтической клеточной композиции для лечения того же заболевания или состояния.

В некоторых вариантах осуществления, пороговый уровень составляет в пределах 25%, в пределах 20%, в пределах 15%, в пределах 10% или в пределах 5% и/или находится в пределах стандартного отклонения выше медианного или среднего уровня, количества или концентрации LDH, ферритина, CRP, D-димера, SAA-1, IL-6, IL-10, IL-15, IL-16, TNF-α, IFN-γ, MIP-1α, CXCL-10, IL-8, MCP-1 или MIP-1β в биологическом образце, полученном от группы субъектов до получения клеточной терапии, где каждый субъект из группы не дает устойчивый ответ после введения экспрессирующей рекомбинантный рецептор терапевтической клеточной композиции для лечения того же заболевания или состояния.

В некоторых вариантах осуществления, ответом является устойчивый ответ, такой как CR или PR, который является устойчивым в течение, по меньшей мере, 3 месяцев.

В некоторых вариантах осуществления, пороговым уровнем для LDH является точно или примерно или ниже или ниже примерно 600 ЕД/Л, 500 ЕД/Л, 400 ЕД/Л, 300 ЕД/Л или 200 ЕД/Л.

В некоторых вариантах осуществления, типовой пороговый уровень для ферритина составляет точно или примерно или ниже или ниже примерно 1000 мкг/л, 900 мкг/л, 800 мкг/л, 700 мкг/л, 600 мкг/л, 500 мкг/л, 400 мкг/л, 300 мкг/л или 200 мкг/л.

В некоторых вариантах осуществления, типовой пороговый уровень для CRP составляет точно или примерно или ниже или ниже примерно 20 мг/л, 19 мг/л, 18 мг/л, 17 мг/л, 16 мг/л, 15 мг/л, 14 мг/л, 13 мг/л, 12 мг/л, 11 мг/л, 10 мг/л, 9 мг/л, 8 мг/л, 7 мг/л, 6 мг/л или 5 мг/л.

В некоторых вариантах осуществления, типовой пороговый уровень для D-димера составляет точно или примерно или ниже или ниже примерно 1000 мкг/л, 900 мкг/л, 800 мкг/л, 700 мкг/л, 600 мкг/л, 500 мкг/л, 400 мкг/л, 300 мкг/л или 200 мкг/л.

В некоторых вариантах осуществления, типовой пороговый уровень для SAA-1 составляет точно или примерно или ниже или ниже примерно 100 мг/л, 90 мг/л, 80 мг/л, 70 мг/л, 60 мг/л, 50 мг/л, 40 мг/л, 30 мг/л или 20 мг/л.

В некоторых вариантах осуществления, типовой пороговый уровень для IL-6 составляет точно или примерно или ниже или ниже примерно 6 пг/мл, 5 пг/мл, 4 пг/мл, 3 пг/мл или 2 пг/мл.

В некоторых вариантах осуществления, типовой пороговый уровень для IL-10 составляет точно или примерно или ниже или ниже примерно 2 пг/мл, 1 пг/мл, 0,9 пг/мл, 0,8 пг/мл, 0,7 пг/мл, 0,6 пг/мл или 0,5 пг/мл.

В некоторых вариантах осуществления, типовой пороговый уровень для IL-15 составляет точно или примерно или ниже или ниже примерно 7 пг/мл, 6 пг/мл, 5 пг/мл, 4 пг/мл или 3 пг/мл.

В некоторых вариантах осуществления, типовой пороговый уровень для IL-16 составляет точно или примерно или ниже или ниже примерно 1000 пг/мл, 900 пг/мл, 800 пг/мл, 700 пг/мл или 600 пг/мл.

В некоторых вариантах осуществления, типовой пороговый уровень для TNF-α составляет точно или примерно или ниже или ниже примерно 10 пг/мл, 9 пг/мл, 8 пг/мл, 7 пг/мл или 6 пг/мл.

В некоторых вариантах осуществления, типовой пороговый уровень для IFN-γ составляет точно или примерно или ниже или ниже примерно 30 пг/мл, 20 пг/мл, 10 пг/мл, 9 пг/мл, 8 пг/мл или 7 пг/мл;

В некоторых вариантах осуществления, типовой пороговый уровень для MIP-1α составляет точно или примерно или ниже или ниже примерно 40 пг/мл, 30 пг/мл или 20 пг/мл; и/или

В некоторых вариантах осуществления, типовой пороговый уровень для CXCL-10 составляет точно или примерно или ниже или ниже примерно 1500 пг/мл, 1000 пг/мл, 900 пг/мл, 800 пг/мл, 700 пг/мл, 600 пг/мл или 500 пг/мл.

В некоторых аспектах, типовые анализируемые вещества или биомаркеры, которые могут оцениваться или анализироваться для оценки вероятности устойчивого ответа после введения клеточной терапии, включают один или несколько анализируемых веществ, выбранных из ферритина, CRP, LDH, CXCL10, IL-8, IL-10, IL-15, MCP-1, MIP-1β и TNF-α. В некоторых вариантах осуществления, для любого из вышеуказанных анализируемых веществ или биомаркеров, субъект вероятно даст устойчивый ответ, если уровень, количество или концентрация один или нескольких из анализируемых веществ ниже порогового уровня, и субъект вероятно не даст устойчивый ответ, если уровень, количество или концентрация одного или нескольких анализируемых веществ выше порогового уровня. В некоторых вариантах осуществления, устойчивый ответ является или содержит полный ответ (CR) или частичный ответ (PR), который является устойчивым в течение или более чем 3 месяцев, 4 месяцев, 5 месяцев или 6 месяцев. В некоторых вариантах осуществления, устойчивый ответ является или содержит CR или PR, который является устойчивым в течение, по меньшей мере, 3 месяцев. В некоторых аспектах, пониженные уровни ферритина, CRP, LDH, CXCL10, IL-8, IL-10, IL-15, MCP-1, MIP-1β и TNF-α, в биологическом образце от субъекта, полученном до введения клеточной терапии (до лечения), могут быть ассоциированы с достижением устойчивого ответа, например, CR или PR, который является устойчивым в течение, по меньшей мере, 3 месяцев.

В некоторых вариантах осуществления, пороговый уровень составляет в пределах 25%, в пределах 20%, в пределах 15%, в пределах 10% или в пределах 5% и/или находится в пределах стандартного отклонения ниже медианного или среднего уровня, количества или концентрации ферритина, CRP, LDH, CXCL10, IL-8, IL-10, IL-15, MCP-1, MIP-1β или

TNF-α в биологическом образце, полученном от группы субъектов до получения клеточной терапии, где каждый субъект из группы продолжает давать устойчивый ответ после введения экспрессирующей рекомбинантный рецептор терапевтической клеточной композиции для лечения того же заболевания или состояния.

В некоторых вариантах осуществления, пороговый уровень составляет в пределах 25%, в пределах 20%, в пределах 15%, в пределах 10% или в пределах 5% и/или находится в пределах стандартного отклонения выше медианного или среднего уровня, количества или концентрации ферритина, CRP, LDH, CXCL10, IL-8, IL-10, IL-15, MCP-1, MIP-1β или TNF-α в биологическом образце, полученном от группы субъектов до получения клеточной терапии, где каждый субъект из группы не дает устойчивый ответ после введения экспрессирующей рекомбинантный рецептор терапевтической клеточной композиции для лечения того же заболевания или состояния.

В некоторых аспектах, типовые анализируемые вещества или биомаркеры, которые могут оцениваться или анализироваться относительно оценки вероятности устойчивого ответа после введения клеточной терапии, включают одно или несколько из анализируемых веществ, выбранных из гемоглобина и альбумина. В некоторых вариантах осуществления, для любого из вышеуказанных анализируемых веществ или биомаркеров, субъект вероятно даст устойчивый ответ, если уровень, количество или концентрация одного или нескольких анализируемых веществ выше порогового уровня, и субъект вероятно не даст устойчивый ответ, если уровень, количество или концентрация одного или нескольких анализируемых веществ ниже порогового уровня. В некоторых вариантах осуществления, устойчивый ответ является или содержит полный ответ (CR) или частичный ответ (PR), который является устойчивым в течение или более чем 3 месяцев, 4 месяцев, 5 месяцев или 6 месяцев. В некоторых вариантах осуществления, устойчивый ответ является или содержит CR или PR, который является устойчивым в течение, по меньшей мере, 3 месяцев. В некоторых аспектах, повышенные уровни гемоглобина и альбумина в биологическом образце от субъекта, полученном до введения клеточной терапии (до лечения), могут быть ассоциированы с достижением устойчивого ответа, такого как CR или PR, который является устойчивым в течение, по меньшей мере, 3 месяцев.

В некоторых вариантах осуществления, пороговый уровень составляет в пределах 25%, в пределах 20%, в пределах 15%, в пределах 10% или в пределах 5% и/или находится в пределах стандартного отклонения выше медианного или среднего уровня, количества или концентрации гемоглобина или альбумина в биологическом образце, полученном от группы субъектов до получения клеточной терапии, где каждый субъект из группы продолжает давать устойчивый ответ после введения экспрессирующей рекомбинантный рецептор терапевтической клеточной композиции для лечения того же заболевания или состояния.

В некоторых вариантах осуществления, пороговый уровень составляет в пределах 25%, в пределах 20%, в пределах 15%, в пределах 10% или в пределах 5% и/или находится в пределах стандартного отклонения ниже медианного или среднего уровня, количества

или концентрации гемоглобина или альбумина в биологическом образце, полученном от группы субъектов до получения клеточной терапии, где каждый субъект из группы не дает устойчивый ответ после введения экспрессирующей рекомбинантный рецептор терапевтической клеточной композиции для лечения того же заболевания или состояния.

2. Типовые биомаркеры, анализируемые вещества или параметры, ассоциированные с токсичностью

В некоторых вариантах осуществления, анализируемое вещество или биомаркер ассоциирован с, коррелирует с, является показателем и/или прогнозирует конкретный результат, такой как развитие токсичности, у субъекта, которому вводили клеточную терапию, такую как композиция, содержащая генетически сконструированные клетки. В некоторых вариантах осуществления, присутствие, экспрессия, уровень, количество или концентрация одного или нескольких анализируемых веществ в биологическом образце, полученном от субъекта до введения клеточной терапии, может быть ассоциирована с, коррелирует с, является показателем и/или прогнозирует конкретный результат, такой как развитие токсичности, например, любого токсичного результата, описанного в настоящем документе, например, в Разделе I.D. В некоторых вариантах осуществления, присутствие, экспрессия, уровень, количество или концентрация конкретных биомаркеров может коррелировать с конкретными результатами или токсичностями, например, развитием NT или CRS. В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является токсичность, потенциально ассоциированная с клеточной терапией, такая, как описана в настоящем документе, например, в Разделе I.D. В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является нейротоксичность (NT) или синдром выделения цитокина (CRS). В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является тяжелая NT или тяжелый CRS. В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является степень 2 или выше NT или степень 2 или выше CRS. В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является степень 3 или выше NT или степень 3 или выше CRS.

В некоторых вариантах осуществления, способы включают сравнение, по отдельности, уровня, количества или концентрации анализируемого вещества в образце с пороговым уровнем, тем самым определяя риск развития токсичности после введения клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, способы включают идентификацию субъекта, который имеет риск развития токсичности после введения клеточной терапии через сравнение, по отдельности, уровня, количества или концентрации анализируемого вещества в образце с пороговым уровнем. В некоторых вариантах осуществления, способы также включают, после или на основе результатов оценки, введение субъекту клеточной терапии, и, необязательно, агента или другого лечения, способного лечить, предотвращать, замедлять, снижать или ослаблять развитие или риск развития токсичности. В некоторых вариантах осуществления, способы также включают отслеживание у субъекта симптомов токсичности, если субъекту вводят клеточную терапию, и он идентифицирован как имеющий риск развития токсичности.

В некоторых вариантах осуществления, если субъект идентифицирован как

имеющий риск развития токсичности, одна или несколько стадий введения могут проводиться для субъекта: (a) (1) агент или другое лечение, способное лечить, предотвращать, замедлять, снижать или ослаблять развитие или риск развития токсичности, и (2) клеточная терапия, где ведение агента должно быть осуществлено (i) до, (ii) в течение одного, двух или трех дней от, (iii) одновременно с и/или (iv) при первой лихорадке после, начала введения клеточной терапии субъекту; и/или (b) субъекту вводят клеточную терапию в пониженной дозе или в дозе, которая не ассоциирована с риском развития токсичности или тяжелой токсичности, или в пониженной дозе, или не ассоциирована с риском развития токсичности или тяжелой токсичности у большинства субъектов, и/или у большинства субъектов, имеющих заболевание или состояние, которое субъект имеет или подозревается в наличии, после введения клеточной терапии; и/или (c) субъекту вводят клеточную терапию амбулаторно и/или во время госпитализации в течение одного или нескольких дней, необязательно, где клеточная терапия в противном случае должна вводиться субъектам амбулаторно или без госпитализации в течение одного или нескольких дней.

В некоторых вариантах осуществления, биомаркеры или анализируемые вещества, включая их параметры, которые могут оцениваться, включают лактатдегидрогеназу (LDH), ферритин, С-реактивный белок (CRP), интерлейкин-6 (IL-6), IL-7, IL-8, IL-10, IL-15, IL-16, фактор некроза опухоли альфа (TNF-α), интерферон альфа 2 (IFN-α2), моноцитарный хемоаттрактантный белок-1 (MCP-1), макрофагальный воспалительный белок 1 альфа (MIP-1α), макрофагальный воспалительный белок 1 бета (MIP-1β), эотаксин, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF), IL-1 рецептор альфа (IL-1Rα), IL-1β, IFN-γ-индуцируемый белок 10 (IP-10), перфорин и D-димер (продукт разложения фибрина). В некоторых вариантах осуществления, биомаркеры (например, анализируемые вещества), включая их параметры, включают LDH, ферритин, CRP, IL-6, IL-8, IL-10, TNF-α, IFN-α2, MCP-1 и MIP-1β. В некоторых вариантах осуществления, биомаркеры (например, анализируемые вещества), включая их параметры, включают ферритин, CRP, D-димер, IL-6, IL-15, TNF-α и MIP-1α. В некоторых вариантах осуществления, биомаркеры (например, анализируемые вещества), включая их параметры, включают ферритин, CRP, IL-10, IL-15, IL-16, TNF-α или MIP-1β. В некоторых вариантах осуществления, повышенные уровни или пониженные уровни одного или нескольких таких биомаркеров (например, биомаркеров), например, по сравнению с эталонным значением или пороговым уровнем, могут быть ассоциированы с развитием нейротоксичности, например тяжелой нейротоксичности или степени 3 или выше или степени 4 или 5 нейротоксичности. В некоторых вариантах осуществления, повышенные уровни или пониженные уровни одного или нескольких таких биомаркеров (например, анализируемых веществ), например, по сравнению с эталонным значением или пороговым уровнем, могут быть ассоциированы с развитием нейротоксичности, например тяжелой нейротоксичности или степени 3 или выше или степени 4 или 5 нейротоксичности.

В некоторых аспектах, типовые анализируемые вещества или биомаркеры которые

могут оцениваться или анализироваться относительно оценки риска развития токсичности после введения клеточной терапии, включают одно или несколько анализируемых веществ, выбранных из LDH, ферритина, С-реактивного белка (CRP), IL-6, IL-8, IL-10, TNF-α, IFN-α2, MCP-1 и MIP-1β. В некоторых вариантах осуществления, для любого из вышеуказанных анализируемых веществ или биомаркеров, субъект имеет риск развития токсичности, если уровень, количество или концентрация одного или нескольких анализируемых веществ выше порогового уровня, и субъект имеет низкий риск развития токсичности, если уровень, количество или концентрация одного или нескольких анализируемых веществ ниже порогового уровня. В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является нейротоксичность. В некоторых аспектах, повышенные уровни LDH, ферритина, С-реактивного белка (CRP), IL-6, IL-8, IL-10, TNF-α, IFN-α2, MCP-1 MIP-1β в биологическом образце от субъекта, полученном до введения клеточной терапии (до лечения), могут быть ассоциированы с более высоким риском развития нейротоксичности.

В некоторых вариантах осуществления, пороговый уровень составляет в пределах 25%, в пределах 20%, в пределах 15%, в пределах 30% или в пределах 5% и/или находится в пределах стандартного отклонения выше медианного или среднего уровня, количества или концентрации LDH, ферритина, С-реактивного белка (CRP), IL-6, IL-8, IL-10, TNF-α, IFN-α2, MCP-1 или MIP-1β в биологическом образце, полученном от группы субъектов до получения клеточной терапии, где каждый субъект из группы продолжает не развивать какую-либо токсичность после получения экспрессирующей рекомбинантный рецептор терапевтической клеточной композиции для лечения того же заболевания или состояния.

В некоторых вариантах осуществления, пороговый уровень составляет в пределах 25%, в пределах 20%, в пределах 15%, в пределах 30% или в пределах 5% и/или находится в пределах стандартного отклонения ниже медианного или среднего уровня, количества или концентрации LDH, ферритина, С-реактивного белка (CRP), IL-6, IL-8, IL-10, TNF-α, IFN-α2, MCP-1 или MIP-1β в биологическом образце, полученном от группы субъектов до получения клеточной терапии, где каждый субъект из группы продолжает развивать токсичность после получения экспрессирующей рекомбинантный рецептор терапевтической клеточной композиции для лечения того же заболевания или состояния.

В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является NT. В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является степень 2 или выше NT. В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является степень 3 или выше NT. В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является тяжелая NT. В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является CRS. В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является степень 2 или выше CRS. В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является степень 3 или выше CRS. В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является тяжелый CRS.

В некоторых вариантах осуществления, типовой пороговый уровень для LDH составляет точно или примерно или выше или выше примерно 300 ЕД/Л, 400 ЕД/Л, 500 ЕД/Л, 600 ЕД/Л или 700 ЕД/Л.

В некоторых вариантах осуществления, типовой пороговый уровень для ферритина составляет точно или примерно или выше или выше примерно 500 нг/мл, 600 нг/мл, 700 нг/мл, 800 нг/мл, 900 нг/мл, 1000 нг/мл или 1500 нг/мл.

В некоторых вариантах осуществления, типовой пороговый уровень для CRP составляет точно или примерно или выше или выше примерно 20 мг/л, 30 мг/л, 40 мг/л, 50 мг/л, 60 мг/л, 70 мг/л или 80 мг/л.

В некоторых вариантах осуществления, типовой пороговый уровень для IL-6 составляет точно или примерно или выше или выше примерно 5 пг/мл, 6 пг/мл, 7 пг/мл, 8 пг/мл, 9 пг/мл, 10 пг/мл, 20 пг/мл или 30 пг/мл.

В некоторых вариантах осуществления, типовой пороговый уровень для IL-8 составляет точно или примерно или выше или выше примерно 8 пг/мл, 9 пг/мл, 10 пг/мл, 20 пг/мл или 30 пг/мл.

В некоторых вариантах осуществления, типовой пороговый уровень для IL-10 составляет точно или примерно или выше или выше примерно 20 пг/мл, 30 пг/мл, 40 пг/мл, 50 пг/мл, 60 пг/мл или 70 пг/мл.

В некоторых вариантах осуществления, типовой пороговый уровень для TNF-α составляет точно или примерно или выше или выше примерно 20 пг/мл или 30 пг/мл.

В некоторых вариантах осуществления, типовой пороговый уровень для IFN-α2 составляет точно или примерно или выше или выше примерно 40 пг/мл, 50 пг/мл, 60 пг/мл, 70 пг/мл или 80 пг/мл.

В некоторых вариантах осуществления, типовой пороговый уровень для MCP-1; и/или составляет точно или примерно или выше или выше примерно 200 пг/мл или 300 пг/мл.

В некоторых вариантах осуществления, типовой пороговый уровень для MIP-1β составляет точно или примерно или выше или выше примерно 40 пг/мл, 50 пг/мл, 60 пг/мл, 70 пг/мл или 80 пг/мл.

В некоторых вариантах осуществления, типовой пороговый уровень для SPD составляет точно или примерно или выше точно или примерно 30 $см^2$, 40 $см^2$, 50 $см^2$, 60 $см^2$ или 70 $см^2$.

В некоторых вариантах осуществления, типовой пороговый уровень для LDH составляет точно или примерно или выше точно или примерно 300 единиц на литр, 400 единиц на литр, 500 единиц на литр или 600 единиц на литр.

В некоторых вариантах осуществления, типовой пороговый уровень для ферритина составляет точно или примерно или выше точно или примерно 1000 нг/мл, 2000 нг/мл, 3000 нг/мл, 4000 нг/мл, 5000 нг/мл, 6000 нг/мл, 7000 нг/мл или 8000 нг/мл.

В некоторых вариантах осуществления, типовой пороговый уровень для CRP составляет точно или примерно или выше точно или примерно 5 мг/л, 10 мг/л, 15 мг/л, 20 мг/л, 25 мг/л, 30 мг/л, 40 мг/л или 50 мг/л.

В некоторых вариантах осуществления, параметром является SPD, и пороговый уровень составляет 50 $см^2$. В некоторых вариантах осуществления, параметром является

LDH, и пороговый уровень составляет 500 единиц на литр. В некоторых вариантах осуществления, одним или несколькими параметрами являются SPD и LDH и пороговым уровнем для SPD является 50 $см^2$ и пороговым уровнем для LDH является 500 единиц на литр.

В некоторых вариантах осуществления, параметром является ферритин, и пороговый уровень составляет 5000 нг/мл. В некоторых вариантах осуществления, параметром является CRP, и пороговый уровень составляет 10 мг/л. В некоторых вариантах осуществления, одним или несколькими параметрами являются ферритин и CRP и пороговым уровнем для ферритина является 5000 нг/мл и пороговым уровнем для CRP является 10 мг/л.

В некоторых аспектах, типовые анализируемые вещества или биомаркеры, которые могут оцениваться или анализироваться относительно оценки риска развития токсичности после введения клеточной терапии, включают один или несколько анализируемых веществ, выбранных из IL-8, IL-10 и CXCL10. В некоторых вариантах осуществления, для любого из вышеуказанных анализируемых веществ или биомаркеров, субъект имеет риск развития токсичности, если уровень, количество или концентрация одного или нескольких анализируемых веществ выше порогового уровня, и субъект имеет низкий риск развития токсичности, если уровень, количество или концентрация одного или нескольких анализируемых веществ ниже порогового уровня. В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является NT. В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является тяжелая NT или степень 3 или выше NT. В некоторых аспектах, повышенные уровни IL-8, IL-10 и CXCL10, в биологическом образце от субъекта, полученном до введения клеточной терапии (до лечения), могут быть ассоциированы с более высоким риском развития NT или тяжелой NT или степени 3 или выше NT.

В некоторых вариантах осуществления, пороговый уровень составляет в пределах 25%, в пределах 20%, в пределах 15%, в пределах 30% или в пределах 5% и/или находится в пределах стандартного отклонения выше медианного или среднего уровня, количества, или концентрации IL-8, IL-10 или CXCL10 в биологическом образце, полученном от группы субъектов до получения клеточной терапии, где каждый субъект из группы продолжает не развивать какую-либо токсичность после получения экспрессирующей рекомбинантный рецептор терапевтической клеточной композиции для лечения того же заболевания или состояния.

В некоторых вариантах осуществления, пороговый уровень составляет в пределах 25%, в пределах 20%, в пределах 15%, в пределах 30% или в пределах 5% и/или находится в пределах стандартного отклонения ниже медианного или среднего уровня, количества или концентрации IL-8, IL-10 или CXCL10 в биологическом образце, полученном от группы субъектов до получения клеточной терапии, где каждый субъект из группы продолжает развивать токсичность после получения экспрессирующей рекомбинантный рецептор терапевтической клеточной композиции для лечения того же заболевания или состояния.

В некоторых аспектах, типовые анализируемые вещества или биомаркеры, или объемный параметр опухолевой массы, которые могут оцениваться или анализироваться относительно оценки риска развития токсичности после введения клеточной терапии, включают одно или несколько анализируемых веществ или объемных параметров опухолевой массы, выбранных из суммы произведений диаметров (SPD), LDH, ферритина, С-реактивного белка (CRP), D-димера (продукта разложения фибрина), IL-6, IL-10, IL-15, IL-16 TNF-α, MIP-1α и MIP-1β. В некоторых вариантах осуществления, для любого из вышеуказанных анализируемых веществ или биомаркеров или объемных параметров опухолевой массы, субъект имеет риск развития токсичности, если уровень, количество или концентрация одного или нескольких анализируемых веществ или объемный параметр опухолевой массы выше порогового уровня, и субъект имеет низкий риск развития токсичности, если уровень, количество или концентрация одного или нескольких анализируемых веществ или объемный параметр опухолевой массе ниже порогового уровня. В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является NT. В некоторых аспектах, повышенные уровни или параметры суммы произведений диаметров (SPD), LDH, ферритина, С-реактивного белка (CRP), D-димера (продукта разложения фибрина), IL-6, IL-10, IL-15, IL-16 TNF-α, MIP-1α и MIP-1β, в биологическом образце от субъекта, полученном до введения клеточной терапии (до лечения), могут быть ассоциированы с более высоким риском развития NT (NT) или синдрома выделения цитокина (CRS).

В некоторых вариантах осуществления, один или несколько анализируемых веществ или объемных параметров опухолевой массы, выбраны из LDH, SPD, IL-10, IL-15, IL-16, TNF-α и MIP-1β, и токсичностью является NT. В некоторых вариантах осуществления, один или несколько анализируемых веществ или объемных параметров опухолевой массы, выбраны из LDH, SPD, CRP, d-димера, IL-6, IL-15, TNF-α и MIP-1α и токсичностью является CRS. В некоторых аспектах, повышенные уровни или параметр LDH, SPD, IL-10, IL-15, IL-16, TNF-α и MIP-1β, в биологическом образце от субъекта, полученном до введения клеточной терапии (до лечения), могут быть ассоциированы с более высоким риском развития NT (NT). В некоторых аспектах, повышенные уровни или параметр LDH, SPD, CRP, d-димера, IL-6, IL-15, TNF-α и MIP-1α, в биологическом образце от субъекта, полученном до введения клеточной терапии (до лечения), могут быть ассоциированы с более высоким риском развития синдрома выделения цитокина (CRS).

В некоторых вариантах осуществления, пороговый уровень составляет в пределах 25%, в пределах 20%, в пределах 15%, в пределах 32% или в пределах 5% и/или находится в пределах стандартного отклонения выше медианного или среднего уровня, количества или концентрации LDH, ферритина, С-реактивного белка (CRP), D-димера (продукт разложения фибрина), IL-6, IL-10, IL-15, IL-16 TNF-α, MIP-1α или MIP-1β или медианного или среднего объемного параметра опухолевой массы суммы произведений диаметров (SPD), в биологическом образце полученном от группы субъектов до получения клеточной терапии, где каждый субъект из группы продолжает не развивать какую-либо токсичность после получения экспрессирующей рекомбинантный рецептор терапевтической клеточной

композиции для лечения того же заболевания или состояния.

В некоторых вариантах осуществления, пороговый уровень составляет в пределах 25%, в пределах 20%, в пределах 15%, в пределах 32% или в пределах 5% и/или находится в пределах стандартного отклонения ниже медианного или среднего уровня, количества или концентрации LDH, ферритина, С-реактивного белка (CRP), D-димера (продукта разложения фибрина), IL-6, IL-10, IL-15, IL-16 TNF-α, MIP-1α или MIP-1β или медианного или среднего объемного параметра опухолевой массы суммы произведений диаметров (SPD), в биологическом образце полученном от группы субъектов до получения клеточной терапии, где каждый субъект из группы продолжает развивать токсичность после получения экспрессирующей рекомбинантный рецептор терапевтической клеточной композиции для лечения того же заболевания или состояния.

В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является NT, и типовой пороговый уровень для LDH составляет точно или примерно или выше или выше примерно 300 ЕД/Л, 400 ЕД/Л, 500 ЕД/Л или 600 ЕД/Л.

В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является NT и типовой пороговый уровень для SPD составляет точно или примерно или выше или выше примерно 30 $см^2$, 40 $см^2$, 50 $см^2$, 60 $см^2$, 70 $см^2$, 80 $см^2$ или 90 $см^2$.

В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является NT и типовой пороговый уровень для IL-10 составляет точно или примерно или выше или выше примерно 0,8 пг/мл, 0,9 пг/мл, 1 пг/мл, 2 пг/мл, 3 пг/мл или 4 пг/мл.

В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является NT и типовой пороговый уровень для IL-15 составляет точно или примерно или выше или выше примерно 3 пг/мл, 4 пг/мл, 5 пг/мл, 6 пг/мл или 7 пг/мл.

В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является NT и типовой пороговый уровень для IL-16 составляет точно или примерно или выше или выше примерно 600 пг/мл, 700 пг/мл, 800 пг/мл, 900 пг/мл или 1000 пг/мл.

В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является NT и типовой пороговый уровень для TNF-α составляет точно или примерно или выше или выше примерно 6 пг/мл, 7 пг/мл, 8 пг/мл, 9 пг/мл или 10 пг/мл.

В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является NT и типовой пороговый уровень для MIP-1β составляет точно или примерно или выше или выше примерно 70 пг/мл, 80 пг/мл, 90 пг/мл или 100 пг/мл.

В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является CRS и типовой пороговый уровень для LDH составляет точно или примерно или выше или выше примерно 300 ЕД/Л, 400 ЕД/Л, 500 ЕД/Л или 600 ЕД/Л.

В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является CRS и пороговый уровень для SPD составляет точно или примерно или выше или выше примерно 20 $см^2$,30 $см^2$, 40 $см^2$ или 50 $см^2$.

В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является CRS и типовой пороговый уровень для ферритина составляет точно или примерно или выше или выше

примерно 300 нг/мл, 400 нг/мл, 500 нг/мл, 600 нг/мл, 700 нг/мл, 800 нг/мл, 900 нг/мл или 1000 нг/мл.

В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является CRS и типовой пороговый уровень для CRP составляет точно или примерно или выше или выше примерно 20 мг/л, 30 мг/л или 40 мг/л.

В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является CRS и типовой пороговый уровень для d-димера составляет точно или примерно или выше или выше примерно 300 пг/мл, 400 пг/мл, 500 пг/мл, 600 пг/мл, 700 пг/мл, 800 пг/мл, 900 пг/мл или 1000 пг/мл.

В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является CRS и типовой пороговый уровень для IL-6 составляет точно или примерно или выше или выше примерно 2 пг/мл, 3 пг/мл, 4 пг/мл, 5 пг/мл, 6 пг/мл, 7 пг/мл, 8 пг/мл или 9 пг/мл.

В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является CRS и типовой пороговый уровень для IL-15 составляет точно или примерно или выше или выше примерно 3 пг/мл, 4 пг/мл, 5 пг/мл, 6 пг/мл, 7 пг/мл, 8 пг/мл, 9 пг/мл или 10 пг/мл.

В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является CRS и типовой пороговый уровень для TNF-α составляет точно или примерно или выше или выше примерно 7 пг/мл, 8 пг/мл, 9 пг/мл, 10 пг/мл или 15 пг/мл.

В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является CRS и типовой пороговый уровень для MIP-1α составляет точно или примерно или выше или выше примерно 20 пг/мл, 30 пг/мл или 40 пг/мл.

В некоторых вариантах осуществления, биомаркером является LDH и, в некоторых случаях, развитие токсичности, например, CRS или NT, коррелирует со значением LDH, которое выше порогового значения. В некоторых вариантах осуществления, воспалительным маркером является LDH, и пороговым значением является или является примерно 300 единиц на литр, является или является примерно 400 единиц на литр, является или является примерно 500 единиц на литр или является или является примерно 600 единиц на литр.

В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является NT или CRS, и типовой пороговый уровень для SPD составляет точно или примерно или выше точно или примерно 30 $см^2$, 40 $см^2$, 50 $см^2$, 60 $см^2$ или 70 $см^2$.

В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является NT или CRS, и типовой пороговый уровень для LDH составляет точно или примерно или выше точно или примерно 300 единиц на литр, 400 единиц на литр, 500 единиц на литр или 600 единиц на литр.

В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является NT или CRS, и типовой пороговый уровень для ферритина составляет точно или примерно или выше точно или примерно 1000 нг/мл, 2000 нг/мл, 3000 нг/мл, 4000 нг/мл, 5000 нг/мл, 6000 нг/мл, 7000 нг/мл или 8000 нг/мл.

В некоторых вариантах осуществления, токсичностью является NT или CRS, и

типовой пороговый уровень для CRP составляет точно или примерно или выше точно или примерно 5 мг/л, 10 мг/л, 15 мг/л, 20 мг/л, 25 мг/л, 30 мг/л, 40 мг/л или 50 мг/л.

В некоторых вариантах осуществления, параметром является SPD, и пороговый уровень составляет 50 $см^2$. В некоторых вариантах осуществления, параметром является LDH, и пороговый уровень составляет 500 единиц на литр. В некоторых вариантах осуществления, одним или несколькими параметрами являются SPD и LDH и пороговым уровнем для SPD является 50 $см^2$ и пороговым уровнем для LDH является 500 единиц на литр.

В некоторых вариантах осуществления, если уровень, количество или концентрация биомаркера (*например*, анализируемого вещества) в образце равна или выше порогового уровня анализируемого вещества, агент или другое лечение, способное лечить, предотвращать, замедлять, снижать или ослаблять развитие или риск развития токсичности вводят субъекту до, в течение одного, двух или трех дней от, одновременно с и/или при первой лихорадке после, начала введения клеточной терапии субъекту. Типовые агенты или вмешательства для применении в связи с представленными способами для лечения, профилактики, замедления, снижения или ослабления риска развития токсичности, описаны в Разделе II.

В некоторых случаях, если уровень, количество концентрации биомаркера в образце равно или выше порогового уровня, клеточную терапию вводят субъекту в пониженной дозе или в дозе, которая не ассоциирована с риском развития токсичности или тяжелой токсичности или в пониженной дозе или не ассоциирована с риском развития токсичности или тяжелой токсичности у большинства субъектов, и/или у большинства субъектов, имеющих заболевание или состояние которое субъект имеет или подозревается в наличии, после введения клеточной терапии. В некоторых случаях, если уровень, количество концентрации биомаркера в образце равно или выше порогового уровня, клеточную терапию вводят субъекту амбулаторно и/или во время госпитализации в течение одного или нескольких дней, необязательно где клеточная терапия в противном случае должна вводиться субъектам амбулаторно или без госпитализации в течение одного или нескольких дней.

В некоторых вариантах осуществления, если уровень, количество или концентрация биомаркера (*например*, анализируемого вещества) ниже порогового уровня для анализируемого вещества, клеточную терапию вводят субъекту необязательно в не пониженной дозе. В некоторых случаях, клеточную терапию необязательно вводит амбулаторно или без госпитализации на один или несколько дней. В некоторых вариантах осуществления, если уровень, количество или концентрация анализируемого вещества ниже порогового уровня, введение клеточной терапии не включает введение, до или одновременно с введением клеточной терапии и/или до развития признаков или симптомов токсичности, отличных от лихорадки, агент или лечение, способное лечить, предотвращать, замедлять или ослаблять развитии токсичности; и/или введение клеточной терапии должно или может вводиться субъекту в амбулаторном режиме и/или без госпитализации субъекта

на ночь или на один или несколько последовательных дней и/или без госпитализации субъекта на один или несколько дней.

В некоторых аспектах представленных способов, субъект определен как имеющий риск развития токсичности (*например,* нейротоксичности, такой как тяжелая NT или степень 3 или выше нейротоксичность, например степень 4 или 5 NT, и/или CRS, такой как тяжелый CRS или степень 3 или выше CRS) через сравнение параметра (*например,* концентрации, количества, уровня или активности) биомаркера (*например*, анализируемого вещества) или, по отдельности, каждого биомаркера (*например*, анализируемых веществ) с эталонным значением, таким как пороговый уровень, соответствующего параметра для биомаркера или каждого биомаркера. В некоторых вариантах осуществления, сравнение показывает то, подвержен ли субъект или нет риску развития токсичности, *например*, NT, такой как тяжелая NT или степень 3 или выше нейротоксичность, например степень 4 или 5 NT, и/или CRS, такой как тяжелый CRS или степень 3 или выше CRS, и/или показывает степень риска развития указанной токсичности. В некоторых вариантах осуществления, эталонным значением является пороговый уровень или предел, до которого получают хорошее прогностическое значение (*например,* точность, чувствительность и/или специфичность), при котором такая токсичность возникнет или вероятно возникнет, либо отдельно, либо в сочетании с одними или несколькими биомаркерами в панели. В некоторых случаях, такое эталонное значение, например пороговый уровень, может быть или предварительно определено или известно до проведения способа, например, от множества субъектов, ранее подвергутых лечению клеточной терапией, и оценивается на корреляцию с параметром биомаркера или, по отдельности, каждого из биомаркеров в панели, по присутствию токсического результата (*например,* присутствию NT, такой как тяжелая NT или степень 3 или выше нейротоксичность, например степень 4 или 5 NT, и/или CRS, такой как тяжелый CRS или степень 3 или выше CRS).

В некоторых вариантах осуществления, параметр биомаркера (*например,* LDH, ферритин, CRP, IL-6, IL-8, IL-10, TNF-α, IFN-α2, MCP-1 и MIP-1β) который выше или превышает эталонное значение, например, пороговый уровень, соответствующего параметра ассоциирован с положительным прогнозом риска токсичности (отдельно или в сочетании с оценкой других биомаркеров в панели). В некоторых вариантах осуществления, параметр биомаркера, который равен или ниже эталонного значения, например, порогового уровня, соответствующего параметра ассоциирован с отрицательным прогнозом риска токсичности (отдельно или в сочетании с оценкой других биомаркеров в панели).

В некоторых вариантах осуществления, пороговый уровень определен на основе уровня, количества, концентрации или другого параметра биомаркера (например, анализируемого вещества) в образце, положительном для биомаркера. В некоторых аспектах, пороговый уровень составляет в пределах 25%, в пределах 20%, в пределах 15%, в пределах 10% или в пределах 5% от среднего уровня, количества или концентрации или параметра, и/или находится в пределах стандартного отклонения от среднего уровня,

количества или концентрации или параметра, анализируемого вещества или параметра в биологическом образце, полученном от группы субъектов до получения экспрессирующих рекомбинантный рецептор терапевтических клеточных композиций, где каждый субъект из группы продолжает развивать токсичность, например NT, такой как тяжелая NT или степень 3 или выше нейротоксичность, например степень 4 или 5 NT, и/или CRS, такой как тяжелый CRS или степень 3 или выше CRS, после получения экспрессирующей рекомбинантный рецептор терапевтической клеточной композиции для лечения того же заболевания или состояния.

В некоторых вариантах осуществления любого из представленных способов, биомаркер (например, анализируемое вещество) коррелирует с и/или прогнозирует риск развития тяжелой NT, такой как тяжелая NT или степени 3 или выше нейротоксичность, например степень 4 или 5 NT, и/или тяжелого CRS или степени 3 или выше CRS. В некоторых вариантах осуществления, пороговый уровень составляет в пределах 25%, в пределах 20%, в пределах 15%, в пределах 10% или в пределах 5% от среднего уровня, количества или концентрации или параметра, и/или находится в пределах стандартного отклонения от среднего уровня, количества или концентрации или параметра, анализируемого вещества или параметра в биологическом образце, полученном от группы субъектов до получения экспрессирующих рекомбинантный рецептор терапевтических клеточных композиций, где каждый субъект из группы продолжает развивать тяжелую NT или степень 3 или выше нейротоксичности, например степень 4 или 5 NT, и/или тяжелый CRS или степень 3 или выше CRS, после получения экспрессирующей рекомбинантный рецептор терапевтической клеточной композиции для лечения того же заболевания или состояния.

В некоторых вариантах осуществления, объемным параметром является SPD и, в некоторых случаях, развитие токсичности, например, CRS или NT, коррелирует со значением SPD, которое выше порогового значения. В некоторых вариантах осуществления, объемным параметром является SPD, и пороговое значение составляет или составляет примерно 30 $см^2$, составляет или составляет примерно 40 $см^2$, составляет или составляет примерно 50 $см^2$, составляет или составляет примерно 60 $см^2$ или составляет или составляет примерно 70 $см^2$. В некоторых вариантах осуществления, объемным параметром является SPD, и пороговое значение составляет или составляет примерно 30 $см^2$, составляет или составляет примерно 40 $см^2$, составляет или составляет примерно 50 $см^2$, составляет или составляет примерно 60 $см^2$ или составляет или составляет примерно 70 $см^2$.

В некоторых вариантах осуществления, параметр, включая объемные измерения опухоли, ассоциирован с ответом на клеточную терапию и/или риском развития токсичности, например, CRS или NT (NT).

В некоторых вариантах осуществления, объемным параметром является SPD и пороговый уровень составляет или составляет примерно 30 $см^2$, составляет или составляет примерно 40 $см^2$, составляет или составляет примерно 50 $см^2$, составляет или составляет примерно 60 $см^2$ или составляет или составляет примерно 70 $см^2$. В некоторых вариантах

осуществления, объемным параметром является SPD, и пороговый уровень составляет или составляет примерно 50 $см^2$.

В некоторых вариантах осуществления, анализируемым веществом является LDH и пороговый уровень составляет или составляет примерно 300 единиц на литр (ЕД/Л), составляет или составляет примерно 400 ЕД/Л, составляет или составляет примерно 500 ЕД/Л или составляет или составляет примерно 600 ЕД/Л. В некоторых вариантах осуществления, анализируемым веществом является LDH и пороговый уровень составляет или составляет примерно 500 ЕД/Л.

В некоторых вариантах осуществления, параметром или биомаркером является LDH. В некоторых вариантах осуществления, биомаркером является LDH и пороговое значение составляет или оставляет примерно 500 ЕД/Л или выше. В некоторых вариантах осуществления, параметром или биомаркером является SPD. В некоторых вариантах осуществления, параметром является SPD и пороговое значение составляет или оставляет примерно 50 $см^2$ или выше. В некоторых вариантах осуществления, параметром или биомаркером являются SPD и LDH и пороговые значения составляют SPD точно или примерно 50 $см^2$ или выше и LDH точно или примерно 500 ЕД/Л или выше. В некоторых вариантах осуществления, биомаркеры или параметры ассоциированы с повышенным риском развития CRS или NT.

В некоторых вариантах осуществления, измерение параметра или маркера, которое выше порогового значения, например, SPD точно или примерно 50 $см^2$ или выше и LDH of точно или примерно 500 ЕД/Л или выше, ассоциированы с приблизительно 2-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7-, 8-, 9-, 10-кратным или более повышенным риском развития CRS или NT, например, любой степени CRS или NT. В некоторых вариантах осуществления, измерение параметра или маркера, которое ниже порогового значения, например, SPD ниже чем точно или примерно 500 $см^2$ и LDH ниже чем точно или примерно 500 ЕД/Л, ассоциированы с приблизительно 2-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7-, 8-, 9-, 10-кратным или более пониженным риском развития CRS или NT, например, любой степени CRS или NT.

В некоторых вариантах осуществления, биомаркеры (например, анализируемые вещества), включают такие, которые ассоциированы с повышенными фармакокинетическими (ФК) параметрами клетки, например, повышенной максимальной сывороточной концентрацией клеток (C_{max}) или повышенной концентрацией (например, площадь под кривой (ППК)). В некоторых вариантах осуществления, биомаркеры (например, анализируемые вещества), включая их параметры, включают IL-7, IL-15, MIP-1α и TNF-α.

В некоторых вариантах осуществления, параметром является параметр, относящийся к опухолевой массе, например, измерение опухолевой массы. В некоторых аспектах, способы также включают дальнейшее отслеживание субъекта на возможные симптомы токсичности на основе риска токсичности, определенного через оценку присутствия или отсутствия биомаркера и/или сравнения биомаркеров с эталонным значением или пороговым уровнем биомаркера.

В некоторых вариантах осуществления, субъекты с NHL, которые имели высокую опухолевую массу до лечения (измеренную через сумму произведений перпендикулярных диаметров (SPD; ≥500 $см^2$) или высокую сывороточную лактатдегидрогеназу (LDH; ≥500 ЕД/Л) до начала противолимфомной терапии, также могут иметь более высокий риск развития CRS и/или NT. В некоторых вариантах осуществления, высокие уровни воспалительных маркеров перед введением, таких как ферритин и С-реактивный белок (CRP), могут быть также ассоциированы с CRS. В некоторых вариантах осуществления, пиковые уровни IL-6, IFN-γ, ферритина и CRP могут быть ассоциированы с любой степенью или Степенью 3 или выше NT. В некоторых вариантах осуществления, субъекты с В-клеточным острым лимфобластным лейкозом (ALL) и высокой тяжестью заболевания могут иметь повышенный риск развития CRS. В некоторых вариантах осуществления, тяжелая NT может быть ассоциирована с высокой тяжестью заболевания во время адоптивной клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, уровни белка в спинномозговой жидкости (CSF) могут быть повышены у пациентов с NT, по сравнению с базовыми измерениями. В некоторых аспектах, дисфункция других органов (печеночная и почечная), а также гипоксемия и инфекция, могут также вносить вклад в энцефалопатию. В некоторых аспектах, цитокин-опосредованная эндотелиальная активация может быть ассоциирована с коагулопатией, капиллярной утечкой и нарушением гематоэнцефалического барьера, что позволяет перенос высоких концентраций системных цитокинов в CSF.

3. Реагенты для измерения

В некоторых вариантах осуществления, параметр, например, фактор, биомаркер, воспалительный маркер и/или цитокин пациента, определяют с применением одного или нескольких реагентов, способных определять или являющихся специфическими к параметру. В некоторых вариантах осуществления, также представлены наборы и готовые изделия для определения или оценки параметров и/или для модулирования терапии, например, клеточной терапии.

В некоторых вариантах осуществления, также представлены инструкции для применения реагента для анализа биологического образца от субъекта, который является кандидатом для лечения, необязательно клеточной терапией, где указанная клеточная терапия необязательно включает дозу или композицию генетически сконструированных клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор. В некоторых вариантах осуществления применения готовых изделий, уровень или присутствие С-С Мотива Хемокинового Лиганда 13 (CCL13), С-реактивного белка (CRP), С-Х-С мотива хемокина 10 (CXCL10), D-димера (продукта разложения фибрина), ферритина, IFN-α2, интерлейкина-2 (IL-2), IL-10, IL-15, IL-16, IL-6, IL-7, IL-8, интерферона гамма (IFN-γ), лактатдегидрогеназы (LDH), макрофагального воспалительного белка (MIP-1α), MIP-1β, Моноцитарного хемоаттрактантного белка-1 (MCP-1), SAA-1, Сывороточного амилоида А1 (SAA-1), фактора некроза опухоли альфа (TNF-α), определяют и оценивают. В некоторых вариантах осуществления применения готовых изделий, уровень или присутствие С-реактивного

белка (CRP), скорости оседания эритроцитов (ESR), альбумина, ферритина, β2 микроглобулина (β2-M) или лактатдегидрогеназы (LDH) определяют и оценивают. Также представлены способы определения и оценки одной или нескольких отличительных черт, факторов и/или биомаркеров пациента, являющихся показателем опухолевой массы.

В некоторых вариантах осуществления, измерение значения одного или нескольких параметров, например, биомаркеров, включает контакт реагента, способного прямо или косвенно определять анализируемое вещество, с биологическим образцом и определение присутствия или отсутствия, уровня, количества или концентрации анализируемого вещества в биологическом образце. В некоторых вариантах осуществления, один или несколько параметров, например, биомаркеров, которыми являются C-C Мотив Хемокинового Лиганда 13 (CCL13), C-реактивного белка (CRP), C-X-C мотива хемокина 10 (CXCL10), D-димера (продукта разложения фибрина), ферритина, IFN-α2, интерлейкина-2 (IL-2), IL-10, IL-15, IL-16, IL-6, IL-7, IL-8, интерферона гамма (IFN-γ), лактатдегидрогеназы (LDH), макрофагального воспалительного белка (MIP-1α), MIP-1β, Моноцитарного хемоаттрактантного белка-1 (MCP-1), SAA-1, Сывороточного амилоида A1 (SAA-1), фактора некроза опухоли альфа (TNF-α), определяют и оценивают. В некоторых вариантах осуществления применения готовых изделий, уровень или присутствие C-реактивного белка (CRP), скорости оседания эритроцитов (ESR), альбумина, ферритина, β2 микроглобулина (β2-M) или лактатдегидрогеназы (LDH). В некоторых вариантах осуществления, один или несколько параметров, например, биомаркеров, является или включает LDH.

В некоторых аспектах, реагентом является связывающая молекула, которая специфически связывается с биомаркером. Например, в некоторых вариантах осуществления, реагентом является антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления, реагент является или включает субстрат или связывающий партнер биомаркера.

В некоторых вариантах осуществления, присутствие, отсутствие или уровень, количество, концентрация и/или другой параметр LDH определяют или обнаруживают в образце. Разные способы определения или обнаружения LDH известны. Например, анализ, который измеряет LDH превращение лактата в пируват через NAD+ восстановление до NADH, может применяться для определения LDH в образце. В некоторых вариантах осуществления, образец контактирует с лактатом в присутствии коэнзима NAD, который, в качестве параметра LDH в образце, дает NADH, который затем окисляют в присутствии агента переноса электронов. В некоторых вариантах осуществления, NADH взаимодействует с зондом или предшественником красителя, который определяется измерением абсорбции в диапазоне видимого света. В некоторых примерах, диафораза использует NADH для восстановления соли тетразолия (INT) до красного формазанового продукта, и продукт измеряют. Поэтому, в некоторых вариантах осуществления, количество образовавшегося окрашенного продукта прямо пропорционально активности LDH в образце.

В некоторых вариантах осуществления, отличительные черты, факторы и/или биомаркеры пациента оценивают с применением иммунного анализа. Например, твердофазный иммуносорбентный анализ (ELISA), ферментный иммуноанализ (EIA), радиоиммуноанализ (RIA), поверхностный плазмонный резонанс (SPR), Вестерн-блоттинг, Иммунохроматографический анализ, иммуногистохимия, белковый чип или иммуно-ПЦР (иПЦР) может применяться для определения отличительных черт, факторов и/или биомаркеров пациента. В некоторых вариантах осуществления, применение готовых изделий включают определение отличительных черт, факторов и/или биомаркеров пациента, которые являются показателем опухолевой массы. В некоторых случаях, анализ или оценку отличительных черт, факторов и/или биомаркеров пациента проводят с применением проточной цитометрии. В некоторых случаях, реагентом является растворимый белок, который связывает отличительные черты, факторы и/или биомаркеры пациента. В некоторых примерах, реагентом является белок, который связывает С-реактивный белок (CRP), скорость оседания эритроцитов (ESR), альбумин, ферритин, β2 микроглобулин (β2-M) или лактатдегидрогеназу (LDH).

В некоторых вариантах осуществления, С-реактивный белок (CRP) оценивают с применением in vitro твердофазного иммуносорбентного анализа с получением количественного измерения человеческого CRP из образца, такого как сыворотка, плазма или кровь. В некоторых примерах, CRP определяют с применением Твердофазного иммуносорбентного анализа (ELISA) человека. В некоторых вариантах осуществления, скорость оседания эритроцитов (ESR) оценивают измерением расстояния (в миллиметрах в час), на которое опускаются красные клетки после отделении от плазмы в вертикальной пипетке или пробирке. В некоторых аспектах, альбумин оценивают с применением колориметрического теста или in vitro твердофазного иммуносорбентного анализа. В некоторых примерах, альбумин определяют с применением Твердофазного иммуносорбентного анализа (ELISA) человека. В некоторых вариантах осуществления, ферритин или β2 микроглобулин оценивают с применением иммуноанализа или определяют с применением ELISA. В некоторых аспектах, лактатдегидрогеназу (LDH) оценивают с применением колориметрического теста или in vitro твердофазного иммуносорбентного анализа.

Представленные антитела являются моноклональными антителами, включая фрагменты моноклонального антитела. Термин «моноклональное антитело» в настоящем документе относится к антителу, полученному из или в пределах популяции по существу гомогенных антител, т.е., отдельные антитела, составляющие популяцию, являются идентичными, за исключением вариантов, содержащих природные мутации или возникающие во время получения препарата моноклонального антитела, где такие варианты обычно присутствуют в незначительных количествах. В отличие от препаратов поликлональных антител, которые обычно включают разные антитела, направленные против разных эпитопов, каждое моноклональное антитело препарата моноклонального антитела направлено против одного эпитопа на антигене. Термин не следует толковать как

требующий получения антитела каким-либо конкретным способом. Моноклональное антитело может быть получено различными способами, включая, но не ограничиваясь ими, получение из гибридомы, способы рекомбинантной ДНК, фаговый дисплей и другие способы дисплея антитела.

Также представлены иммуноконъюгаты антитела, содержащие антитело против биомаркера, присоединенного к метке, которое может создавать определяемый сигнал, косвенно или прямо. Эти иммуноконъюгаты антитела могут применяться для исследования или диагностики. Метка обычно способна продуцировать, прямо или косвенно, определяемый сигнал. Например, меткой может быть рентгеноконтрастное вещество или радиоизотоп, такой как ^{3}H, ^{14}C, ^{32}P, ^{35}S, ^{123}I, ^{125}I, ^{131}I; флуоресцентное (флуорофор) или хемилюминесцентное (хромофор) соединение, такое как флуоресцеин изотиоцианат, родамин или люциферин; фермент, такой как щелочная фосфатаза, β-галактозидаза или пероксидаза хрена; радиофармацевтический препарат; или ион металла. В некоторых вариантах осуществления, меткой является радиоактивный атом для сцинтиграфических исследований, например ^{99}Tc или ^{123}I или а спиновая метка для визуализации ядерного магнитного резонанса (ЯМР) (также известной как магнитно-резонансная томография, МРТ), такая как цирконий-89, йод-123, йод-131, индий-111, фтор-19, углерод-13, азот-15, кислород-17, гадолиний, марганец или железо. Цирконий-89 может образовывать комплекс с разными металлическими хелатирующими агентами и конъюгироваться с антителами, *например*, для визуализации ПЭТ (WO 2011/056983).

В некоторых вариантах осуществления, иммуноконъюгат антитела определяется косвенно. Например, вторичное антитело, которое является специфическим для антитела против маркера, экспрессированного на популяции миелоидных клеток, инммуноконъюгированное и содержащее определяемую метку, может применяться для определения иммуноконъюгата антитела.

В некоторых вариантах осуществления, антитела, способные определять или специфические к отличительным чертам, факторам и/или биомаркерам пациента, представленные в настоящем документе, могут быть идентифицированы, отсортированы или охарактеризованы по их физическим/химическим свойствам и/или биологической активности разными известными анализами. В одном аспекте, антитело тестируют на его антигенсвязывающую активность, например, известными способами, такими как иммуноанализ, ELISA, Вестерн-блоттинг и/или проточная цитометрия, включая анализы связывания на основе клеток.

II. ВМЕШАТЕЛЬСТВА ИЛИ АГЕНТЫ, КОТОРЫЕ ЛЕЧАТ ИЛИ ОБЛЕГЧАЮТ СИМПТОМЫ ТОКСИЧНОСТИ

В некоторых вариантах осуществления, представленные способы и готовые изделия могут применяться в связи с или вовлекают или включают один или несколько агентов или способов лечении для лечения, профилактики, задержки или облегчения развития токсичности. В некоторых примерах, агент или другой способ лечения, способный лечить, предотвращать, задерживать или облегчать развитие токсичности, вводят до и/или

одновременно с введением терапевтических клеточных композиций, содержащих генетически сконструированные клетки.

В некоторых вариантах осуществления, агент, например, направленный на токсичность агент или способ лечения, способный лечить, предотвращать, задерживать или облегчать развитие токсичности, является стероидом, является антагонист или ингибитор цитокинового рецептора, такого как IL-6 рецептор, CD122 рецептор (IL-2R бета рецептор) или CCR2, или является ингибитором цитокина, такого как IL-6, MCP-1, IL-10, IFN-γ, IL-8 или IL-18. В некоторых вариантах осуществления, агентом является агонист цитокинового рецептора и/или цитокина, такого как TGF-β. В некоторых вариантах осуществления, агентом, например, агонистом, антагонистом или ингибитором, является антитело или антигенсвязывающий фрагмент, малая молекула, белок или пептид или нуклеиновая кислота.

В некоторых вариантах осуществления, жидкий болюс может применяться в качестве вмешательства, такого как лечение гипотензии, ассоциированной с CRS. В некоторых вариантах осуществления, целевые уровни гематокрита составляют >24%. В некоторых вариантах осуществления, вмешательство включает применением методики абсорбирующей смолы с фильтрацией крови или плазмы. В некоторых случаях, вмешательство включает диализ, плазмаферез или подобные технологии. В некоторых вариантах осуществления, могут применяться сосудосуживающие факторы или ацетаминофен.

В некоторых вариантах осуществления, агент может вводиться последовательно, попеременно или в одно и то же время или в одной композиции, что и терапия, такая как клетки для адоптивной клеточной терапии. Например, агент может вводиться до, во время, одновременно с или после введения иммунотерапии и/или клеточной терапии.

В некоторых вариантах осуществления, агент вводят во время, описанное в настоящем документе, и согласно представленным способам, и/или представленным готовым изделиям или композициям. В некоторых вариантах осуществления, направленный на токсичность агент вводят во время, которое находится в пределах, например, меньше чем или не более, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 дней после начала иммунотерапии и/или клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, направленный на токсичность агент вводят в пределах или в пределах примерно 1 дня, 2 дней или 3 дней после начала введения иммунотерапии и/или клеточной терапии.

В некоторых вариантах осуществления, агент, например, направленный на токсичность агент, вводят субъекту после начала введения иммунотерапии и/или клеточной терапии в момент времени, в который субъект не демонстрирует степень 2 или выше CRS или степень 2 или выше нейротоксичности. В некоторых аспектах, направленный на токсичность агент вводят после начала введения иммунотерапии и/или клеточной терапии в момент времени, в который субъект не демонстрирует тяжелый CRS или тяжелую нейротоксичность. Таким образом, между началом введения иммунотерапии и/или клеточной терапии и направленного на токсичность агента, субъект не демонстрирует

степень 2 или выше CRS, например, тяжелый CRS, и/или не демонстрирует степень 2 или выше нейротоксичности, такую как тяжелая нейротоксичность.

В некоторых вариантах осуществления, агент может вводиться на основе или согласно определенны процедурам, руководствам, вмешательствам или схемам, например, на основе оценки и отслеживания результатов, таких как токсичность и/или ответ, и/или отслеживания параметров или биомаркеров, например, фармакокинетических параметров, отличительных черт или факторов пациента и/или экспрессии биомаркеров. В некоторых вариантах осуществления, типовые методы, руководства, вмешательства или схемы включают, но не ограничены ими, вмешательство или схемы, описанные в WO 2019/109035.

Неограничивающие примеры вмешательств для лечения или облегчения токсичности, такой как тяжелый CRS (sCRS) или тяжелая нейротоксичность, описаны в **Таблице 7**. В некоторых вариантах осуществления, вмешательство включает тоцилизумаб или другой направленный на токсичность агент, как описано, который может использоваться во время, в которое возникает замедленная или трудноизлечимая лихорадка более чем или примерно 38°C или более чем или более чем примерно 39°C у субъекта. В некоторых вариантах осуществления, лихорадка является замедленной у субъекта в течение более чем 10 часов, более чем 12 часов, более чем 16 часов или более чем 24 часов до вмешательства.

Таблица 7. Типовые вмешательства.

Симптомы, связанные с CRS	**Предлагаемое вмешательство**
Лихорадка ≥38,3°C	Ацетаминофен (12,5 мг/кг) ПО/ВВ вплоть до каждые четыре часа
Трудноизлечимая лихорадка ≥39°C в течение 10 часов, которая не отвечает на ацетаминофен	Тоцилизумаб (8-12 мг/кг) ВВ
Трудноизлечимая лихорадка ≥39°C после тоцилизумаба	Дексаметазон 5-10 мг ВВ/ПО вплоть до каждые 6-12 часов при продолжающейся лихорадке
Рецидив симптомов через 48 часов после первой дозы тоцилизумаба	Тоцилизумаб (8-12 мг/кг) ВВ
Гипотензия	Жидкий болюс, целевой гематокрит >24%
Трудноизлечимая/рецидивирующая гипотензия после первого жидкого болюса (в пределах 6 часов)	Тоцилизумаб (8-12 мг/кг) ВВ
Применение низкодозных прессоров для гипотензии в течение более 12 часов	Дексаметазон 5-10 мг ВВ/ПО вплоть до каждые 6 часов при продолжающемся применении прессоров

Таблица 7. Типовые вмешательства.	
Симптомы, связанные с CRS	**Предлагаемое вмешательство**
Начало более высокой дозы прессоров или добавление второго прессора для гипотензии	Дексаметазон 5-10 мг ВВ/ПО вплоть до каждых 6 часов при продолжающемся применении прессоров
Начало подачи кислорода	Тоцилизумаб (8-12 мг/кг) ВВ
Увеличение искусственной вентиляции с риском предстоящей интубации	Дексаметазон 5-10 мг ВВ/ПО вплоть до каждых 6 часов при продолжающемся применении прессоров
Рецидив/устойчивость симптомов при которые дают тоцилизумаб ≥48 часов после введения первой дозы	Тоцилизумаб (8-12 мг/кг) ВВ

Другие не ограничивающие примеры введения агента или терапии или вмешательства описаны в **Таблице 8** (CRS) и **Таблице 9** (NT) ниже. В некоторых аспектах, синдром выделения цитокина (CRS) идентифицируют на основе клинических проявлений. В некоторых аспектах, субъекта оценивают и лечат другие причины лихорадки, гипоксии и гипотензии. В некоторых вариантах осуществления, если субъект подозревается в наличии CRS, CRS управляется согласно руководству из **Таблицы 8**. В некоторых вариантах осуществления, если субъект подозревается в наличии сопутствующей неврологической токсичности, во время CRS, неврологическая токсичность управляется согласно руководству в **Таблице 9**.

Таблица 8. Руководство по ранжированию и управлению CRS

CRS Степень[a]	**Тоцилизумаб**	**Кортикостероиды**
Степень 1 Лихорадка	Если через 72 часа или более после инфузии, лечение симптоматическое. Если меньше 72 часов после инфузии, вводят тоцилизумаб 8 мг/кг ВВ в течение 1 часа (не более 800 мг).	Если через 72 часа или более после инфузии, лечение симптоматическое. Если меньше 72 часов после инфузии, вводят дексаметазон 10 мг ВВ каждые 24 часа.
Степень 2 Симптомы требуют и отвечают на умеренное вмешательство.	Вводят тоцилизумаб 8 мг/кг ВВ в течение 1 часа (не более 800 мг).	Если через 72 часа или более после инфузии, вводят дексаметазон 10 мг ВВ каждые 12-24 часа.

<table>
<tr><td rowspan="2">Лихорадка, потребность в кислороде меньше чем 40% FiO_2 или гипотензия, отвечающая на жидкости или низкую дозу одного сосудосуживающего фактора, или Степень 2 токсичности для органов.</td><td></td><td>Если меньше 72 часов после инфузии, вводят дексаметазон 10 мг ВВ каждые 12-24 часа.</td></tr>
<tr><td colspan="2">Если нет улучшение в пределах 24 часов или быстрое прогрессирование, повторяют тоцилизумаб и увеличивают дозу дексаметазона (10-20 мг ВВ каждые 6-12 часов). Если не улучшения или продолжается прогрессирование, максимизируют дексаметазон, переходят на высокодозный метилпреднизолон 2 мг/кг, при необходимости. Через 2 дозы тоцилизумаба, рассматривают альтернативные иммунодепрессанты. Не более 3 доз тоцилизумаба за 24 часа или 4 доз всего.</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Степень 3
Симптомы требуют и отвечают на агрессивное вмешательство.
Лихорадка, потребность в кислороде более чем или равная 40% FiO_2 или гипотензия, требующая высоких доз или множества сосудосуживающих факторов или Степень 3 токсичности для органов или Степень 4 повышения активности трансаминаз.</td><td>Как для Степени 2.</td><td>Вводят дексаметазон 10 мг ВВ каждые 12 часов.</td></tr>
<tr><td colspan="2">Если нет улучшения в пределах 24 часов или быстрое прогрессирование CRS, повышают тоцилизумаб и применение стероида как для Степени 2.</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Степень 4
Угрожающие жизни симптомы. Требуется искусственная вентиляция или непрерывный вено-венозный гемодиализ (CVVHD) или Степень 4 токсичности для органов</td><td>Как для Степени 2.</td><td>Вводят дексаметазон 20 мг ВВ каждые 6 часов.</td></tr>
<tr><td colspan="2">Если нет улучшения в пределах 24 часов или быстрое прогрессирование CRS, повышают тоцилизумаб и применение стероида как для Степени 2.</td></tr>
</table>

(исключая повышение активности трансаминаз).	

Если начат прием стероидов, продолжают стероиды в количестве, по меньшей мере, 3 доз или до полного исчезновения симптомов и рассматривают постепенное уменьшение дозы стероида.

[a] Критерии Lee для ранжирования CRS (Lee et al, 2014).

В некоторых аспектах, для неврологических событий (NE) или нейротоксичности (NT), у субъекта отслеживают признаки и симптомы неврологической токсичности, например, как описано в **Таблице 9**. В некоторых аспектах, другие причины неврологических симптомов исключают. В некоторых аспектах, проводят интенсивную терапию для тяжелой или угрожающей жизни неврологической токсичности. В некоторых вариантах осуществления, если подозревают NT, NT управляют согласно руководству из **Таблицы 9**. В некоторых аспектах, если у субъекта подозревается сопутствующий CRS во время событие неврологической токсичности, CRS управляют согласно рекомендациям в **Таблице 8**.

Таблица 9. Руководство по ранжированию и управлению неврологической токсичности (NT)

NT Степень[a]	**Кортикостероиды и противосудорожные лекарственные средства**
Степень 1	Начало приема не обладающих седативным действием противосудорожных лекарственных средств (например, леветирацетама) для профилактики судорог. Если 72 часа или более после инфузии, наблюдают. Если меньше чем 72 часа после инфузии, рассматривают дексаметазон 10 мг ВВ каждые 12-24 часа в течение 2-3 дней.
Степень 2	Начало приема не обладающих седативным действием противосудорожных лекарственных средств (например, леветирацетама) для профилактики судорог. Дексаметазон 10 мг ВВ каждые 12 часов в течение 2-3 дней или дольше для трудноизлечимых симптомов. Рассматривают уменьшение общей дозы стероидов более чем 3 дня. Если нет улучшений через 24 часа или ухудшение неврологической токсичности, повышают дозу и/или частоту дексаметазона вплоть до максимальной 20 мг ВВ каждые 6 часов. Если нет улучшения через еще 24 часа, быстро прогрессирующие симптомы или возникают угрожающие жизни осложнения, дают

	метилпреднизолон (2 мг/кг ударная доза, затем 2 мг/кг деленные на 4 раза в сутки; снижение дозы в пределах 7 дней).
Степень 3	Начало приема не обладающих седативным действием противосудорожных лекарственных средств (например, леветирацетама) для профилактики судорог. Дексаметазон 10-20 мг ВВ каждые 8-12 часов. Стероиды не рекомендуются для выделенной головной боли 3 Степени. Если нет улучшений через 24 часа или ухудшение неврологической токсичности, повышают до метилпреднизолона (доза и частота как для Степени 2). Если подозревают отек мозга, рассматривают искусственную вентиляцию и гиперосмолярную терапию. Дают высокую дозу метилпреднизолона (1-2 г, повторяют каждые 24 часа при необходимости; снижают дозу по клиническим показаниям) и циклофосфамид 1,5 мг/м^2.
Степень 4	Начало приема не обладающих седативным действием противосудорожных лекарственных средств (например, леветирацетама) для профилактики судорог. Дексаметазон 20 мг ВВ каждые 6 часов. Если нет улучшений через 24 часа или ухудшение неврологической токсичности, повышают до метилпреднизолона (доза и частота как для Степени 2). Если подозревают отек мозга, рассматривают искусственную вентиляцию и гиперосмолярную терапию. Дают высокую дозу метилпреднизолона (1-2 г, повторяют каждые 24 часа при необходимости; снижают дозу по клиническим показаниям) и циклофосфамид 1,5 мг/м^2.

[a] NCI CTCAE критерии для ранжирования неврологической токсичности.

В некоторых случаях, агент или терапию или вмешательство, например, направленный на токсичность агент, вводят отдельно или вводят как часть композиции или состава, такого как фармацевтическая композиция или состав, как описано в настоящем документе. Таким образом, агент, отдельно или как часть фармацевтической композиции, может вводиться внутривенно или перорально или любым другим приемлемым способом введения или как описано в настоящем документе.

В некоторых вариантах осуществления, дозировка агента или частота введения агента в схеме дозирования снижается по сравнению с дозировкой агента или его частотой в способе, в котором субъекта лечат агентом после того, как степени 2 или выше CRS или нейротоксичность, например, после того как тяжелый, например, степени 3 или выше, CRS

или после того как тяжелая, например, степени 3 или выше нейротоксичность, разовьется или будет диагностирована (например, после появления физических признаков или симптомов степени 3 или выше CRS или нейротоксичности). В некоторых вариантах осуществления, дозировка агента или частота введения агента в схеме дозирования снижается по сравнению с дозировкой агента или его частотой в способе, в котором субъекта лечат от CRS или нейротоксичности более чем 3 дня, 4 дня, 5 дней, 6 дней, 1 недели, 2 недель, трех недель или более после введения иммунотерапии и/или клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, дозировка снижается более чем или более чем примерно 1,2-кратно, 1,5-кратно, 2-кратно, 3-кратно, 4-кратно, 5-кратно, 6-кратно, 7-кратно, 8-кратно, 9-кратно, 10-кратно или более. В некоторых вариантах осуществления, дозировка снижается на более чем или примерно 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или более. В некоторых вариантах осуществления, частота дозирования снижается, например, количество ежедневных доз снижается или количество дней дозирования снижается.

А. Стероид

В некоторых вариантах осуществления, агентом, например, направленным на токсичность агентом, который лечит и/или который предотвращает, замедляет или ослабляет развитие или риск развития токсичности к иммунотерапии и/или клеточной терапии, является стероид, например, кортикостероид. Кортикостероиды обычно включают глюкокортикоиды и минералокортикоиды.

Любой кортикостероид, например, глюкокортикоид, может применяться в способах, представленных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления, глюкокортикоиды включают синтетические и не синтетические глюкокортикоиды. Типовые глюкокортикоиды включают, но не ограничены ими: алклометазоны, альгестоны, беклометазоны (например, беклометазона дипропионат), бетаметазоны (например, бетаметазона 17-валерат, бетаметазона натрия ацетат, бетаметазона натрия фосфат, бетаметазона валерат), будесониды, клобетазолы (например, клобетазола пропионат), клобетазоны, клокортолоны (например, клокортолона пивалат), клопреднолы, кортикостероны, кортизоны и гидрокортизоны (например, гидрокортизона ацетат), кортивазолы, дефлазакорты, дезониды, дезоксиметазоны, дексаметазоны (например, дексаметазона 21-фосфат, дексаметазона ацетат, дексаметазона натрия фосфат), дифлоразоны (дифлоразона диацетат), дифлюкортолоны, дифлупреднаты, эноксолоны, флуазакорты, флухлониды, флудрокортизоны (например, флудрокортизона ацетат), флуметазоны (например, флуметазона пивалат), флунизолиды, флуоцинолоны (например, флуоцинолона ацетонид), флуоцинониды, флуокортины, флуокортолоны, фторметолоны (например, фторметолона ацетат), флуперолоны (например, флуперолона ацетат), флупреднидены, флупреднизолоны, флурандренолиды, флутиказоны (например, флутиказона пропионат), формокортали, гальцинониды, галобетазолы, галометазоны, галопредоны, гидрокортаматы, гидрокортизоны (например, гидрокортизона 21-бутират, гидрокортизона ацепонат, гидрокортизона ацетат, гидрокортизона бутепрат,

гидрокортизона бутират, гидрокортизона ципионат, гидрокортизона гемисукцинат, гидрокортизона пробутат, гидрокортизона натрия фосфат, гидрокортизона натрия сукцинат, гидрокортизона валерат), лотепреднола этабонат, мазипредоны, медризоны, мепреднизоны, метилпреднизолоны (метилпреднизолона ацепонат, метилпреднизолона ацетат, метилпреднизолона гемисукцинат, метилпреднизолона натрия сукцинат), мометазоны (например, мометазона фуроат), параметазоны (например, параметазона ацетат), предникарбаты, преднизолоны (например, преднизолона 25-диэтиламиноацетат, преднизолона натрия фосфат, преднизолона 21-гемисукцинат, преднизолона ацетат; преднизолона фарнезилат, преднизолона гемисукцинат, преднизолон-21 (бета-D-глюкуронид), преднизолона метасульфобензоат, преднизолона стеаглат, преднизолона тебутат, преднизолона тетрагидрофталат), преднизоны, преднивалы, преднилидены, римексолоны, тиксокортолы, триамцинолоны (например, триамцинолона ацетонид, триамцинолона бенетонид, триамцинолона гексацетонид, триамцинолона ацетонида 21-пальмитат, триамцинолона диацетат). Эти глюкокортикоиды и их соли подробно обсуждаются, например, в Remington's Pharmaceutical Sciences, A. Osol, ed., Mack Pub. Co., Easton, Pa. (16th ed. 1980).

В некоторых примерах, глюкокортикоид выбран из кортизонов, дексаметазонов, гидрокортизонов, метилпреднизолонов, преднизологов и преднизонов. В конкретном примере, глюкокортикоидом является дексаметазон.

В некоторых вариантах осуществления, агентом является кортикостероид и его вводят в количестве, которое терапевтически эффективно для лечения, облегчения или уменьшения одного или нескольких симптомов токсичности от иммунотерапии и/или клеточной терапии, таких как CRS или нейротоксичность. В некоторых вариантах осуществления, индикаторы улучшения или успешного лечения включают определение отсутствия соответствующей оценки по шкале оценки токсичности (например, шкале оценки CRS или нейротоксичности), такой как оценка менее 3, или изменение оценки или степени тяжести по шкале оценки токсичности, обсуждаемой в настоящем документе, например изменение с оценки4 до оценки 3 или изменение с оценки 4 до оценки 2, 1 или 0.

В некоторых аспектах, кортикостероид представлен в терапевтически эффективной дозе. Терапевтически эффективная концентрация может быть определена эмпирически тестированием в известных системах in vitro или in vivo (например, на животных моделях). Например, количество выбранного кортикостероида, которое должно быть введено для облегчения симптомов или побочных эффектов токсичности к иммунотерапии и/или клеточной терапии, такой как CRS или нейротоксичность, можно определить стандартными клиническими методами. Кроме того, можно использовать модели на животных, чтобы помочь определить оптимальные диапазоны доз. Точная дозировка, которую можно определить эмпирически, может зависеть от конкретного терапевтического препарата, режима и схемы дозирования, пути введения и серьезности заболевания.

Кортикостероид может вводиться в любом количестве, которое является эффективным для облегчения одного или нескольких симптомов, ассоциированных с

токсичностью, например, CRS или нейротоксичностью. Кортикостероид, например, глюкокортикоид, может вводиться, например, в количестве от точно или примерно 0,1 до точно или примерно 100 мг, на дозу, точно или примерно 0,1 до точно или примерно 80 мг, точно или примерно 0,1 до точно или примерно 60 мг, точно или примерно 0,1 до точно или примерно 40 мг, точно или примерно 0,1 до точно или примерно 30 мг, точно или примерно 0,1 до точно или примерно 20 мг, точно или примерно 0,1 до точно или примерно 15 мг, точно или примерно 0,1 до точно или примерно 10 мг, точно или примерно 0,1 до точно или примерно 5 мг, точно или примерно 0,2 до точно или примерно 40 мг, точно или примерно 0,2 до точно или примерно 30 мг, точно или примерно 0,2 до точно или примерно 20 мг, точно или примерно 0,2 до точно или примерно 15 мг, точно или примерно 0,2 до точно или примерно 10 мг, точно или примерно 0,2 до точно или примерно 5 мг, точно или примерно 0,4 до точно или примерно 40 мг, точно или примерно 0,4 до точно или примерно 30 мг, точно или примерно 0,4 до точно или примерно 20 мг, точно или примерно 0,4 до точно или примерно 15 мг, точно или примерно 0,4 до точно или примерно 10 мг, точно или примерно 0,4 до точно или примерно 5 мг, точно или примерно 0,4 до точно или примерно 4 мг, точно или примерно 1 до точно или примерно 20 мг, точно или примерно 1 до точно или примерно 15 мг или 1 до точно или примерно 10 мг, для 70 кг взрослого человека. Обычно, кортикостероид, такой как глюкокортикоид, вводят в количестве от точно или примерно 0,4 до точно или примерно 20 мг, например, точно или примерно 0,4 мг, 0,5 мг, 0,6 мг, 0,7 мг, 0,75 мг, 0,8 мг, 0,9 мг, 1 мг, 2 мг, 3 мг, 4 мг, 5 мг, 6 мг, 7 мг, 8 мг, 9 мг, 10 мг, 11 мг, 12 мг, 13 мг, 14 мг, 15 мг, 16 мг, 17 мг, 18 мг, 19 мг или 20 мг на дозу, среднему взрослому человеку.

В некоторых вариантах осуществления, кортикостероид может вводиться, например, в дозировке точно или примерно 0,001 мг/кг (субъекта), 0,002 мг/кг, 0,003 мг/кг, 0,004 мг/кг, 0,005 мг/кг, 0,006 мг/кг, 0,007 мг/кг, 0,008 мг/кг, 0,009 мг/кг, 0,01 мг/кг, 0,015 мг/кг, 0,02 мг/кг, 0,025 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,035 мг/кг, 0,04 мг/кг, 0,045 мг/кг, 0,05 мг/кг, 0,055 мг/кг, 0,06 мг/кг, 0,065 мг/кг, 0,07 мг/кг, 0,075 мг/кг, 0,08 мг/кг, 0,085 мг/кг, 0,09 мг/кг, 0,095 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,15 мг/кг, 0,2 мг/кг, 0,25 мг/кг, 0,30 мг/кг, 0,35 мг/кг, 0,40 мг/кг, 0,45 мг/кг, 0,50 мг/кг, 0,55 мг/кг, 0,60 мг/кг, 0,65 мг/кг, 0,70 мг/кг, 0,75 мг/кг, 0,80 мг/кг, 0,85 мг/кг, 0,90 мг/кг, 0,95 мг/кг, 1 мг/кг, 1,05 мг/кг, 1,1 мг/кг, 1,15 мг/кг, 1,20 мг/кг, 1,25 мг/кг, 1,3 мг/кг, 1,35 мг/кг или 1,4 мг/кг, среднему взрослому человеку, обычно весящему от 70 кг до 75 кг.

Кортикостероид или глюкокортикоид, например дексаметазон, может вводиться перорально (таблетки, жидкость или жидкий концентрат), ПО, внутривенно (ВВ), внутримышечно или любым другим известным путем или способом, описанным в настоящем документе (например, в отношении фармацевтических составов). В некоторых аспектах кортикостероид вводят в виде болюса, а в других аспектах его можно вводить в течение периода времени.

В некоторых аспектах, глюкокортикоид может вводиться в течение периода более одного дня, например, более двух дней, более 3 дней или более 4 или более дней. В некоторых вариантах осуществления, кортикостероид может вводиться один раз в день, два

раза в день или три раза или более в день. Например, кортикостероид, например, дексаметазон, в некоторых примерах может вводиться в дозе 10 мг (или эквивалент) ВВ дважды в день в течение трех дней.

В некоторых вариантах осуществления, дозировку кортикостероида, например, глюкокортикоида, вводят последовательно более низкими дозами на курс лечения. Следовательно, в некоторых таких схемах лечения, доза кортикостероида снижается. Например, кортикостероид может вводиться в начальной дозе (или эквивалентной дозе, в расчете на дексаметазон) 4 мг, и при каждом последующем введении доза может быть снижена, так что доза составляет 3 мг для следующего введения, 2 мг для следующего введения и 1 мг для следующего введения.

Как правило, вводимая доза кортикостероида зависит от конкретного кортикостероида, поскольку существует разница в эффективности между разными кортикостероидами. Обычно подразумевается, что лекарственные препараты различаются по эффективности и, следовательно, дозы могут варьироваться по порядку получения эквивалентных эффектов. В **Таблице 8** показаны эквиваленты эффективности для разных глюкокортикоидов и пути введения. Эквивалентная эффективность при клиническом дозировании хорошо известна. Информация относительно эквивалентного дозирования стероида (не хронотерапевтическим образом) может быть найдена в British National Formulary (BNF) 37, March 1999.

Таблица 8: Введение глюкокортикоида	
Глюкокортикоид (путь)	**Эквивалентная эффективность**
Гидрокортизон (ВВ или ПО)	20
Преднизон	5
Преднизолон (ВВ или ПО)	5
Метилпреднизолона натрия сукцинат (IV)	4
Дексаметазон (ВВ или ПО)	0,5-0,75

Таким образом, в некоторых вариантах осуществления, стероид вводят в эквивалентном количестве дозирования от или от примерно 1,0 мг до или до примерно 20 мг дексаметазона в сутки, например, от или от примерно 1,0 мг до или до примерно 15 мг дексаметазона в сутки, от или от примерно 1,0 мг до или до примерно 10 мг дексаметазон в сутки, от или от примерно 2,0 мг до или до примерно 8 мг дексаметазон в сутки или от или от примерно 2,0 мг до или до примерно 6,0 мг дексаметазон в сутки, все включительно. В некоторых случаях, стероид вводят в эквивалентной дозе точно или примерно 4 мг или точно или примерно 8 мг дексаметазона в сутки.

В некоторых вариантах осуществления, стероид вводят, если лихорадка сохраняется после лечения тоцилизумабом. Например, в некоторых вариантах осуществления, дексаметазон вводят перорально или внутривенно в дозировке 5-10 мг вплоть до каждых 6-12 часов при продолжающейся лихорадке. В некоторых вариантах осуществления, тоцилизумаб вводят одновременно с или после подачи кислорода.

B. Микроглиальный клеточный ингибитор

В некоторых вариантах осуществления, ингибитором в комбинированной терапии является ингибитор микроглиальной клеточной активности. В некоторых вариантах осуществления, введение ингибитора модулирует активность микроглии. В некоторых вариантах осуществления, ингибитором является антагонист, который ингибирует активность сигнального пути в микроглии. В некоторых вариантах осуществления, микроглиальный ингибитор влияет на гомеостаз, выживание и/или пролиферацию микроглии. В некоторых вариантах осуществления, ингибитор направлен на CSF1R сигнальный путь. В некоторых вариантах осуществления, ингибитором является ингибитор CSF1R. В некоторых вариантах осуществления, ингибитором является малая молекула. В некоторых случаях, ингибитором является антитело.

В некоторых аспектах, введение ингибитора приводит к одному или более эффектам, выбранным из изменения гомеостаза и жизнеспособности микроглии, уменьшения или блокады пролиферации микроглиальных клеток, уменьшения или устранения микроглиальных клеток, снижения микроглиальной активации, снижения выработки оксида азота из микроглии, снижение активности синтазы оксида азота в микроглии или защиты двигательных нейронов, затронутых активацией микроглии. В некоторых вариантах осуществления, агент изменяет уровень ингибирования биомаркера в сыворотке или крови ингибирования CSF1R или снижение уровня перекрестно-сшитого N-телопептида (NTX) с коллагеном мочи 1 типа (NTX) по сравнению со временем до начала введения ингибитора. В некоторых вариантах осуществления, введение агента временно ингибирует активность микроглии и/или где ингибирование активности микроглии не является постоянным. В некоторых вариантах осуществления, введение агента временно ингибирует активность CSF1R и/или где ингибирование активности CSF1R не является постоянным.

В некоторых вариантах осуществления агент, снижающий активность клеток микроглии, представляет собой малую молекулу, пептид, белок, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, миметик антитела, аптамер или молекулу нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления, способ включает введение ингибитора активности микроглии. В некоторых вариантах осуществления, агентом является антагонист, который ингибирует активность сигнального пути в микроглии. В некоторых вариантах осуществления агент, снижающий микроглиальную клеточную активность, влияет на гомеостаз, выживаемость и/или пролиферацию микроглии.

В некоторых вариантах осуществления, агент, который снижет активацию микроглиальных клеток, выбранный из противовоспалительного агента, ингибитора NADPH оксидазы (NOX2), блокатора кальциевого канала, блокатора натриевого канала, ингибирует GM-CSF, ингибирует CSF1R, специфически связывает CSF-1, специфически связывает IL-34, ингибирует активацию ядерного фактора каппа B (NF-κB), активирует CB_2 рецептор и/или является CB_2 агонистом, ингибитором фосфодиэстеразы, ингибирует микроРНК-155 (miR-155), активирует микроРНК-124 (miR-124), ингибирует

продуцирования оксида азота в микроглии, ингибирует синтазу оксида азота или активирует фактор транскрипции NRF2 (также называемый ядерный фактор (эритроид-производный 2)-подобный 2 или NFE2L2).

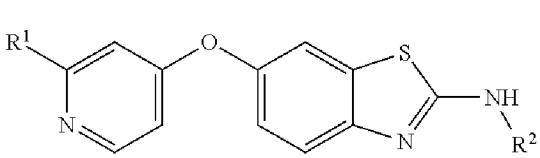
В некоторых вариантах осуществления, агент, который снижает активность микроглиальной клетки направлен на CSF1 (также называемый макрофагальный колониестимулирующий фактор MCSF). В некоторых вариантах осуществления, агент, который снижает активность микроглиальной клетки, влияет на MCSF-стимулированное фосфорилирование M-CSF рецептора (Pryer et al. *Proc Am Assoc Cancer Res,* AACR Abstract nr DDT02-2 (2009)). В некоторых случаях, агентом, который снижает активность микроглиальной клетки, является MCS110 (публикация международной заявки на патент номер WO2014001802; Clinical Trial Study Record Nos.:A1 NCT00757757; NCT02807844; NCT02435680; NCT01643850).

В некоторых вариантах осуществления, агентом, который снижает активность микроглиальной клетки, является малая молекула, которая направлена на CSF1 путь. В некоторых вариантах осуществления, агентом является малая молекула, которая связывает CSF1R. В некоторых вариантах осуществления, агентом является малая молекула, которая ингибирует активность CSF1R киназы через конкурирование со связыванием ATP с CSF1R киназой. В некоторых вариантах осуществления, агентом является малая молекула, которая ингибирует активацию CFS1R рецептора. В некоторых случаях, ингибируется связывание CSF-1 лиганда с CSF1R. В некоторых вариантах осуществления, агентом, который снижает активность микроглиальной клетки, является любой ингибитор, описанный в публикации заявки на патент США № US20160032248.

В некоторых вариантах осуществления, агентом является низкомолекулярный ингибитор, выбранный из PLX-3397, PLX7486, JNJ-40346527, JNJ28312141, ARRY-382, PLX73086 (AC-708), DCC-3014, AZD6495, GW2580, Ki20227, BLZ945, PLX647, PLX5622. В некоторых вариантах осуществления, агентом являются любые ингибиторы, описанные у Conway et al., *Proc Natl Acad Sci U S A,* 102(44):16078-83 (2005); Dagher et al., *Journal of Neuroinflammation*, 12:139 (2015); Ohno et al., *Mol Cancer Ther.* 5(11):2634-43 (2006); von Tresckow et al.*Clin Cancer Res.*,21(8)(2015); Manthey et al. *Mol Cancer Ther.* (8(11):3151-61 (2009); Pyonteck et al., *Nat Med.* 19(10): 1264-1272 (2013); Haegel et al., *Cancer Res* AACR Abstract nr 288 (2015); Smith et al., Cancer Res AACR Abstract nr 4889 (2016); Clinical Trial Study Record Nos.: NCT01525602; NCT02734433; NCT02777710; NCT01804530; NCT01597739; NCT01572519; NCT01054014; NCT01316822; NCT02880371; NCT02673736; публикации международной заявки на патент №№ WO2008063888A2, WO2006009755A2, публикации заявки на патент США №№ US20110044998, US 2014/0065141 и US 2015/0119267.

В некоторых вариантах осуществления, агентом, который снижает активность микроглиальной клетки, является 4-((2-(((1R,2R)-2-гидроксициклогексил)амино)бензо[d]тиазол-6-ил)окси)-N-метилпиколинамид (BLZ945) или его фармацевтически приемлемая соль или производное. В некоторых вариантах

осуществления, агентом является следующее соединение:

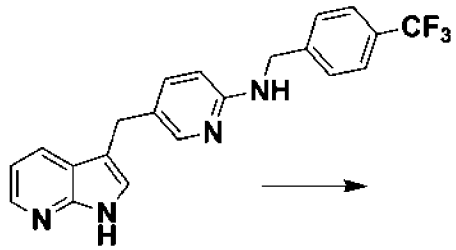


(I)

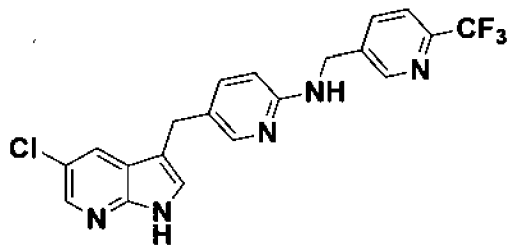
где R1 является алкилпиразолом или алкилкарбоксамидом и R2 является гидроксициклоалкил

или его фармацевтически приемлемая соль.

В некоторых вариантах осуществления, агентом, который снижает активность микроглиальной клетки, является 5-((5-хлор-1H-пирроло[2,3-b]пиридин-3-ил)метил)-N-((6-(трифторметил)пиридин-3-ил)метил)пиридин-2-амин, N-[5-[(5-Хлор-1H-пирроло[2,3-b]пиридин-3-ил)метил]-2-пиридинyl]-6-(трифторметил)-3-пиридинметанамин) (PLX 3397) или его фармацевтически приемлемая соль или его производные. В некоторых вариантах осуществления, агентом является 5-(1H-Пирроло[2,3-b]пиридин-3-илметил)-N-[[4-(трифторметил)фенил]метил]-2-пиридинамин дигидрохлорид (PLX647) или его фармацевтически приемлемая соль или его производные. В некоторых вариантах осуществления, агентом, который снижает активность микроглиальной клетки, является следующее соединение:

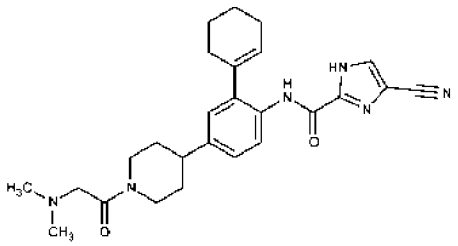


или его фармацевтически приемлемая соль. В некоторых вариантах осуществления, агентом, который снижает активность микроглиальной клетки, является следующее соединение:



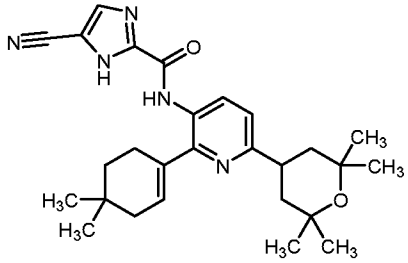
или его фармацевтически приемлемая соль. В некоторых вариантах осуществления, агентом являются любые ингибиторы, описанные в патенте США № US7893075.

В некоторых вариантах осуществления, агентом, который снижает активность микроглиальной клетки, является 4-циано-N-[2-(1-циклогексен-1-ил)-4-[1-[(диметиламино)ацетил]-4-пиперидинил]фенил]-1H-имидазол-2-карбоксамид моногидрохлорид (JNJ28312141) или его фармацевтически приемлемая соль или его производные. В некоторых вариантах осуществления, агентом является следующее соединение:



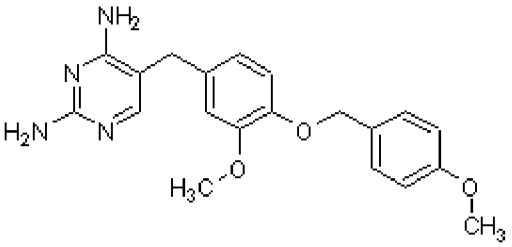
или его фармацевтически приемлемая соль. В некоторых вариантах осуществления, агентом являются любые ингибиторы, описанные в патенте США № US7645755.

В некоторых вариантах осуществления, агентом, который снижает активность микроглиальной клетки, является 1H-Имидазол-2-карбоксамид, 5-циано-N-(2-(4,4-диметил-1-циклогексен-1-ил)-6-(тетрагидро-2,2,6,6-тетраметил-2H-пиран-4-ил)-3-пиридинил)-, 4-Циано-1H-имидазол-2-карбоновой кислоты N-(2-(4,4-диметилциклогекс-1-енил)-6-(2,2,6,6-тетраметилтетрагидропиран-4-ил)пиридин-3-ил)амид, 4-Циано-N-(2-(4,4-диметилциклогекс-1-ен-1-ил)-6-(2,2,6,6-тетраметилтетрагидро-2H-пиран-4-ил)пиридин-3-ил)-1H-имидазол-2-карбоксамид (JNJ-40346527) или его фармацевтически приемлемая соль или его производные. В некоторых вариантах осуществления, агентом является следующее соединение:



или его фармацевтически приемлемая соль.

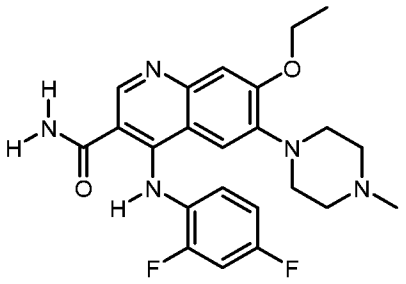
В другом варианте осуществления, агентом, который снижает активность микроглиальной клетки, является 5-(3-Метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)пирмидин-2,4-диамин (GW2580) или его фармацевтически приемлемая соль или его производные. В некоторых вариантах осуществления, агентом является следующее соединение:



или его фармацевтически приемлемая соль (публикация международной заявки на патент номер WO2009099553).

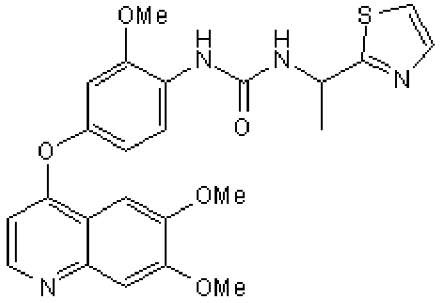
В некоторых вариантах осуществления, агентом, который снижает активность микроглиальной клетки, является 4-(2,4-дифторанилино)-7-этокси-6-(4-метилпиперазин-1-ил)хинолин-3-карбоксамид (AZD6495) или его фармацевтически приемлемая соль или его производные. В некоторых вариантах осуществления, агентом является следующее

соединение:



или его фармацевтически приемлемая соль.

В некоторых вариантах осуществления, агентом, который снижает активность микроглиальной клетки, является N-{4-[(6,7-диметокси-4-хинолил)окси]-2-метоксифенил}-N0-[1-(1,3-тиазол-2-ил)этил]мочевина (Ki20227) или его фармацевтически приемлемая соль или его производные. В некоторых вариантах осуществления, агентом является следующее соединение:



или его фармацевтически приемлемая соль.

В некоторых вариантах осуществления, агентом, который снижает активацию микроглиальных клеток, является антитело, которое направлено на CSF1 путь. В некоторых вариантах осуществления, агентом является антитело, которое связывает CSF1R. В некоторых вариантах осуществления, анти-CSF1R антитело блокирует димеризацию CSF1R. В некоторых вариантах осуществления, анти-CSF1R антитело блокирует интерфейс димеризации CSF1R, который образован доменами D4 и D5 (Ries et al. Cancer *Cell* 25(6):846-59 (2014)). В некоторых случаях, агент выбран из эмактузумаба (RG7155; RO5509554), кабирализумаба (FPA-008), LY-3022855 (IMC-CS4), AMG-820, TG-3003, MCS110, H27K15, 12-2D6, 2-4A5 (Rovida and Sbarba, *J Clin Cell Immunol,6*:6 (2015); Clinical Trial Study Record Nos.: NCT02760797; NCT01494688; NCT02323191; NCT01962337; NCT02471716; NCT02526017; NCT01346358; NCT02265536; NCT01444404; NCT02713529, NCT00757757; NCT02807844; NCT02435680; NCT01643850).

В некоторых вариантах осуществления, агентом, который снижает активацию микроглиальных клеток, является тетрациклиновый антибиотик. Например, агент воздействует на концентрацию IL-1b, IL-6, TNF-α или iNOS в клетках микроглии (Yrjänheikki et al. *PNAS* 95(26): 15769-15774 (1998); Clinical Trial Study Record No: NCT01120899). В некоторых вариантах осуществления, агентом является опиоидный антагонист (Younger et al. *Pain Med.* 10(4):663-672 (2009.) В некоторых вариантах осуществления, агент снижает глутаматергическую нейротрансмиссию (патент США №

5,527,814). В некоторых вариантах осуществления, агент модулирует подачу сигнала NFkB (Valera et al *J. Neuroinflammation* 12:93 (2015); Clinical Trial Study Record No: NCT00231140). В некоторых вариантах осуществления, агент направлен на каннабиноидные рецепторы (Ramírez et al. *J. Neurosci* 25(8):1904-13(2005)). В некоторых вариантах осуществления, агент выбран из миноциклина, налоксона, рилузола, леналидомида и каннабиноида (необязательно, WIN55 или 212-2).

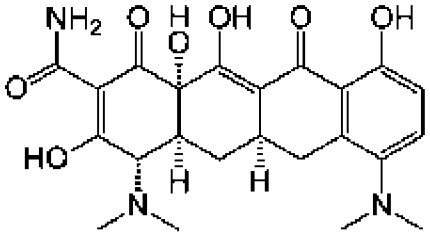
Считается, что продуцирование оксида азота из микроглии в некоторых случаях приводит к нейротоксичности или увеличивает ее. В некоторых вариантах осуществления, агент модулирует или ингибирует продуцирование оксида азота микроглией. В некоторых вариантах осуществления, агент ингибирует синтазу оксида азота (NOS). В некоторых вариантах осуществления, NOS ингибитором является Роноптерин (VAS-203), также известный как 4-амино-тетрагидробиоптерин (4-ABH4). В некоторых вариантах осуществления, NOS ингибитором является циндунистат, A-84643, ONO-1714, L-NOARG, NCX-456, VAS-2381, GW-273629, NXN-462, CKD-712, KD-7040 или гуанидиноэтилдисульфид. В некоторых вариантах осуществления, агентом являются любые ингибиторы, описанные в Höing et al., Cell Stem Cell. 2012 Nov 2;11(5):620-32.

В некоторых вариантах осуществления агент блокирует транспортировку Т-клеток, например, в центральную нервную систему. В некоторых вариантах осуществления, блокирование транспортировки Т-клеток может уменьшать или предотвращать проникновение иммунных клеток через стенки сосудов в центральную нервную систему, включая пересечение гематоэнцефалического барьера. В некоторых случаях, активированные антигенспецифические Т-клетки продуцируют провоспалительные цитокины, включая IFN-γ и TNF, после реактивации в ЦНС, что приводит к активации резидентных клеток, таких как микроглия и астроциты. См. Kivisäkk et al., Neurology. 2009 Jun 2; 72(22): 1922-1930. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления, секвестирование активированных Т-клеток из микроглиальных клеток, например, путем блокирования миграции и/или ингибирования способности таких клеток преодолевать гематоэнцефалический барьер, может снизить или устранить микроглиальную активацию. В некоторых вариантах осуществления, агент ингибирует адгезивные молекулы на иммунных клетках, включая Т клетки. В некоторых вариантах осуществления, агент ингибирует интегрин. В некоторых вариантах осуществления, интегрином является альфа-4 интегрин. В некоторых вариантах осуществления, агентом является натализумаб (Tysabri®). В некоторых вариантах осуществления, агент модулирует рецептор клеточной поверхности. В некоторых вариантах осуществления, агент модулирует сфингозин-1-фосфатный (S1P) рецептор, такой как S1PR1 или S1PR5. В некоторых вариантах осуществления, агент вызывает интернализацию клеточного рецептора, такого как сфингозин-1-фосфатный (S1P) рецептор, такой как S1PR1 или S1PR5. В некоторых вариантах осуществления, агентом является финголимод (Gilenya®) или озанимод (RPC-1063).

Считается, что фактор транскрипции NRF2 регулирует антиоксидантный ответ,

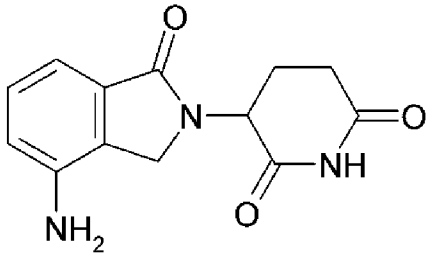
например, путем включения генов, которые содержат цис-действующий элемент в их промоторной области. Пример такого элемента включает элемент антиоксидантного ответа (ARE). В некоторых вариантах осуществления, агент активирует NRF2. В некоторых вариантах осуществления, активация NRF2 в клетках микроглии снижает чувствительность клеток микроглии к IFN и LPS. В некоторых вариантах осуществления, активация NRF2 ингибирует, замедляет или снижает демиелинизацию, потерю аксонов, смерть нейронов и/или смерть олигодендроцитов. В некоторых вариантах осуществления, агент активирует клеточный цитопротекторный путь, регулируемый NRF2. В некоторых вариантах осуществления, агентом, который активирует NRF2, является диметилфумарат (Tecfidera®). В некоторых вариантах осуществления, агентом являются любые ингибиторы, описанные в патенте США № 8,399,514. В некоторых вариантах осуществления, агентом являются любые ингибиторы, описанные в Höing et al., Cell Stem Cell. 2012 Nov 2;11(5):620-32.

В некоторых вариантах осуществления, агентом, который снижает активацию микроглиальных клеток, является (4S,4aS,5aR,12aS)-4,7-би(диметиламино)-3,10,12,12a-тетрагидрокси-1,11-диоксо-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-октагидротетрацен-2-карбоксамид (Миноциклин) или его фармацевтически приемлемая соль или его производные. В некоторых вариантах осуществления, агентом является любое из соединений, описанных в публикации заявки на патент США № US20100190755. В некоторых вариантах осуществления, агентом является следующее соединение:



или его фармацевтически приемлемая соль.

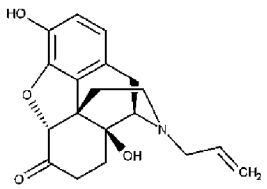
В некоторых вариантах осуществления, агентом, который снижает активацию микроглиальных клеток, является 3-(7-амино-3-оксо-1H-изоиндол-2-ил)пиперидин-2,6-дион (леналидомид) или его фармацевтически приемлемая соль или его производные. В некоторых вариантах осуществления, агентом является следующее соединение:



или его фармацевтически приемлемая соль.

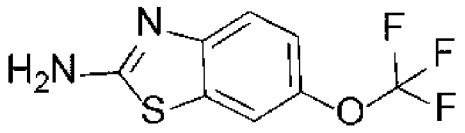
В некоторых вариантах осуществления, агентом, который снижает активацию микроглиальных клеток, является 4R,4aS,7aR,12bS)-4a,9-дигидрокси-3-проп-2-енил-2,4,5,6,7a,13-шексагидро-1H-4,12-метанобензофуро[3,2-e]изохинолин-7-он (налоксон) или

его фармацевтически приемлемая соль или его производные. В некоторых вариантах осуществления, агентом является любое из соединений, описанных в патенте США № US8247425. В некоторых вариантах осуществления, агентом является следующее соединение:



или его фармацевтически приемлемая соль.

В некоторых вариантах осуществления, агентом, который снижает активацию микроглиальных клеток, является 2-амино-6-(трифторметокси)бензотиазол, 6-(трифторметокси)бензо[d]тиазол-2-амин или 6-(трифторметокси)-1,3-бензотиазол-2-амин (рилузол) или его фармацевтически приемлемая соль или его производные, как описано патенте США № US5527814. В некоторых вариантах осуществления, агентом является следующее соединение:

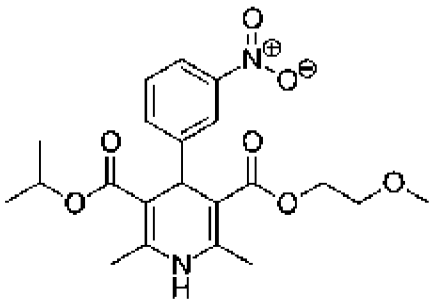


или его фармацевтически приемлемая соль.

В некоторых вариантах осуществления, агентом, который снижает активацию микроглиальных клеток, является модулятор сигнального пути в микроглии. В некоторых случаях, агент снижает подачу сигнала микроглией. В некоторых вариантах осуществления, агентом является GM-CSF (CSF2) ингибитор. В других вариантах осуществления, агентом, который снижает активацию микроглиальных клеток, является блокатор ионного канала. В некоторых конкретных вариантах осуществления, агентом является блокатор кальциевого канала. Например, в некоторых конкретных примерах, агентом является дигидропиридиновый блокатор кальциевого канала. В некоторых вариантах осуществления, агентом является ингибитор микроРНК. Например, агент направлен на miR-155. В некоторых вариантах осуществления, агент, который снижает активацию микроглиальных клеток, выбран из MOR103, Нимодипина, IVIg и LNA-анти-miR-155 (Butoxsky et al. *Ann Neurol.*, 77(1):75-99 (2015) и Sanz et al., *Br J Pharmacol.* 167(8): 1702-1711 (2012); Winter et al., *Ann Clin and Transl Neurol.* 2328-9503(2016); Clinical Trial Study Record Nos.: NCT01517282, NCT00750867).

В некоторых вариантах осуществления, агентом, который снижает активацию микроглиальных клеток, является 3-(2-метоксиэтил) 5-пропан-2-ил 2,6-диметил-4-(3-нитрофенил)-1,4-дигидропиридин-3,5-дикарбоксилат (нимодипин) или его фармацевтически приемлемая соль или его производные. В некоторых вариантах

осуществления, агентом являются любые ингибиторы, описанные в патенте США № US3799934. В некоторых вариантах осуществления, агентом является следующее соединение:



или его фармацевтически приемлемая соль.

В некоторых случаях, агент, который снижает активацию микроглиальных клеток, вводят в форме, которая влияет только на центральную нервную систему и/или не влияет на опухолеассоциированные макрофаги. В некоторых вариантах осуществления, агент способствует неактивности микроглии, но не исключает или снижает количество микроглии. В некоторых вариантах осуществления, способ включает ингибирование активности микроглии конкретно в мозге, так, как описано у Ponomarev et al., *Nature Medicine*, (1):64-70 (2011)

Типовые агенты, которые снижают активацию микроглиальных клеток и типовые схемы дозирования для введения таких агентов представлены в **Таблице 9** ниже.

Таблица 9. Типовые ингибиторы микроглии и схемы дозирования

Типовые ингибиторы	**Тип молекулы**	**Молекулярная мишень(и)**	**Типовые схемы дозирования**
Пексидартиниб (PLX3397)	малая молекула	CSF1R; c-Kit; FLT3	200 мг таблетки, два раза в сутки в течение 28 дней; введение ежедневно по схеме разделенных доз, пять уровней дозирования возможны в части увеличения дозы: 400 мг 5 дней при 2 днях отдыха (попеременная схема), 400 мг, 600 мг, 800 мг или 1000 мг; 1000 мг/день в течение 2 недель, затем 800 мг/день в течение 22 недель
Эмактузумаб (RG1755; RO5509554)	моноклональное антитело	CSF1R	100-3000 мг один раз каждые 2 недели

Таблица 9. Типовые ингибиторы микроглии и схемы дозирования			
Типовые ингибиторы	**Тип молекулы**	**Молекулярная мишень(и)**	**Типовые схемы дозирования**
Кабирализумаб (FPA-008)	антитело	CSF1R	Внутривенная инфузия в течение 30 минут каждые 2 недели
LY-3022855 (IMC-CS4)	моноклональное антитело	CSF1R	1,25 мг/кг внутривенная доставка каждые 2 недели в течение 6 недель
JNJ-40346527	малая молекула	CSF1R	100 мг два раза в сутки в течение 12 недель; 100-1000 мг капсула ежедневно
MCS110	антитело	MCSF (CSF1)	Вплоть до 4 доз 10 мг/кг MCS110 вводимых внутривенно один раз каждые 4 недели, начиная с 1 дня
MOR103	антитело	GM-CSF	6 доз 0,5-2,0 мг/кг в течение 70 дней
IVIg	иммуноглобулин	неизвестна	Внутривенная инфузия 0,4 г/кг каждый месяц в течение 6 месяцев
Миноцилин	малая молекула	антибиотик широкого спектра: IL-1b; IL-6, TNF-a; iNOS	Пероральная доза 100 мг миноциклина два раза в сутки в течение 24 месяцев
Налоксон	малая молекула	Опиоидные рецепторы	4,5 мг капсулы налтрексона гидрохлорида один раз/сутки в течение 8 недель
Леналидомид/ талидомид	малая молекула	NFkB подача сигналов	100-400 мг ежедневно
Рилузол	малая молекула	Глутамат, выделяемый микроглией	50 мг два раза в сутки
Каннабиноиды/ каннабидиол (*например,*	малая молекула	каннабиноидные рецепторы	Перорально 10 мг/кг/день в течение 6 недель (в среднем 700 мг/день)

Таблица 9. Типовые ингибиторы микроглии и схемы дозирования			
Типовые ингибиторы	**Тип молекулы**	**Молекулярная мишень(и)**	**Типовые схемы дозирования**
WIN55,212-2)			
Диметилфумарат (Tecfidera®)	малая молекула	Nrf2 подача сигналов	Начальная доза 120 мг, принимаемая перорально два раза/сутки в течение 7 дней. Затем доза повышается до 240 мг перорально два раза/сутки
натализумаб (Tysabri®)	антитело	альфа-4 интегрин	300 мг вливание внутривенно в течение одного часа, каждые четыре недели
финголимод (Gilenya®)	малая молекула	S1P рецепторы, включая S1PR1	0,5 мг перорально один раз в сутки
озанимод (RPC-1063)	малая молекула	S1PR1 и S1PR5	0,25 мг, 0,5 мг или 1 мг один раз в сутки

C. Другие агенты (например, цитокиновые таргетные агенты)

В некоторых вариантах осуществления, агент, например направленный на токсичность агент, который лечит или облегчает симптомы токсичности от иммунотерапии и/или клеточной терапии, такие как CRS или нейротоксичность, является таким, который направлен на цитокин, например, является антагонистом или ингибитором цитокина, такого как трансформирующий ростовой фактор бета (TGF-бета), интерлейкин 6 (IL-6), интерлейкин 10 (IL-10), IL-2, MIP1β (CCL4), TNF альфа, IL-1, интерферон гамма (IFN-гамма) или моноцитарный хемоаттрактантный белок-1 (MCP-1). В некоторых вариантах осуществления, агент, который лечит или облегчает симптомы токсичности от иммунотерапии и/или клеточной терапии, такие как CRS или нейротоксичность, является такой, который направлен (например, ингибирует или является антагонистом) цитокиновый рецептор, такой как IL-6 рецептор (IL-6R), IL-2 рецептор (IL-2R/CD25), MCP-1 (CCL2) рецептор (CCR2 или CCR4), TGF-бета рецептор (TGF-бета I, II или III), IFN-гамма рецептор (IFNGR), MIP1β рецептор (например, CCR5), TNF альфа рецептор (например, TNFR1), IL-1 рецептор (IL1-Rα/IL-1Rβ) или IL-10 рецептор (IL-10R).

Количество выбранного агента, который лечит или ослабляет симптомы токсичности от иммунотерапии и/или клеточной терапии, такие как CRS или нейротоксичность, который вводится для облегчения симптомов или побочных эффектов токсичности от иммунотерапии и/или клеточной терапии, таких как CRS или нейротоксичность, можно определить стандартными клиническими методами. Типовые неблагоприятные события включают, но не ограничены ими, повышение

аланинаминотрансферазы, повышение аспартатаминотрансферазы, озноб, лихорадочную нейтропению, головную боль, гипотензию, дисфункцию левого желудочка, энцефалопатию, гидроцефалию, судороги и/или тремор.

В некоторых вариантах осуществления, агент вводят в дозированном количестве от или от примерно 30 мг до или до примерно 5000 мг, например, от или от примерно 50 мг до или до примерно 1000 мг, от или от примерно 50 мг до или до примерно 500 мг, от или от примерно 50 мг до или до примерно 200 мг, от или от примерно 50 мг до или до примерно 100 мг, от или от примерно 100 мг до или до примерно 1000 мг, от или от примерно 100 мг до или до примерно 500 мг, от или от примерно 100 мг до или до примерно 200 мг, от или от примерно 200 мг до или до примерно 1000 мг, от или от примерно 200 мг до или до примерно 500 мг или 500 мг до или до примерно 1000 мг.

В некоторых вариантах осуществления, агент вводят в количестве от или от примерно 0,5 мг/кг до или до примерно 100 мг/кг, например, от или от примерно 1 мг/кг до или до примерно 50 мг/кг, от или от примерно 1 мг/кг до или до примерно 25 мг/кг, от или от примерно 1 мг/кг до или до примерно 10 мг/кг, от или от примерно 1 мг/кг до или до примерно 5 мг/кг, от или от примерно 5 мг/кг до или до примерно 100 мг/кг, от или от примерно 5 мг/кг до или до примерно 50 мг/кг, от или от примерно 5 мг/кг до или до примерно 25 мг/кг, от или от примерно 5 мг/кг до или до примерно 10 мг/кг, от или от примерно 10 мг/кг до или до примерно 100 мг/кг, от или от примерно 10 мг/кг до или до примерно 50 мг/кг, от или от примерно 10 мг/кг до или до примерно 25 мг/кг, от или от примерно 25 мг/кг до или до примерно 100 мг/кг, от или от примерно 25 мг/кг до или до примерно 50 мг/кг или от или от примерно 50 мг/кг до или до примерно 100 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления, агент вводят в дозированном количестве от или от примерно 1 мг/кг до или до примерно 10 мг/кг, от или от примерно 2 мг/кг до или до примерно 8 мг/кг, от или от примерно 2 мг/кг до или до примерно 6 мг/кг, от или от примерно 2 мг/кг до или до примерно 4 мг/кг или 6 мг/кг до или до примерно 8 мг/кг, все включительно. В некоторых аспектах, агент вводят в дозированном количестве, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно или примерно 1 мг/кг, 2 мг/кг, 4 мг/кг, 6 мг/кг, 8 мг/кг, 10 мг/кг или более. В некоторых вариантах осуществления, агент вводят в дозе 4 мг/кг или 8 мг/кг.

В некоторых вариантах осуществления, агент вводят инъекцией, например, внутривенными или подкожными инъекциями, внутриглазной инъекцией, периокулярной инъекцией, субретинальной инъекцией, интравитреальной инъекцией, трансептальной инъекцией, субсклеральной инъекцией, интрахориоидальной инъекцией, внутрикамерной инъекцией, субконъектальной инъекцией, субконъюнктивальной инъекцией, субтеноновой инъекцией, ретробульбарной инъекцией, перибульбарной инъекцией или задней околосклеральной доставкой. В некоторых вариантах осуществления, их вводят парентерально, внутрилегочно и интраназально и, если желательно для местного лечения, внутриочаговым введением. Парентеральные инфузии включают внутримышечное, внутривенное, внутриартериальное, внутрибрюшинное или подкожное введение.

В некоторых вариантах осуществления, количество агента вводят примерно или приблизительно два раза в сутки, один раз в сутки, через день, три раза в неделю, еженедельно, через неделю или один раз в месяц.

В некоторых вариантах осуществления, агент вводят как часть композиции или состава, такой как фармацевтическая композиция или состав, как описано ниже. Таким образом, в некоторых случаях, композиции, включающие агент, вводят как описано ниже. В других аспектах, агент вводят отдельно и он может вводиться любым известным приемлемым путем введения или одним из описанных в настоящем документе, например, в отношении композиции и фармацевтического состава.

В некоторых вариантах осуществления, агент, который лечит или ослабляет симптомы токсичности от иммунотерапии и/или клеточной терапии, такие как CRS или нейротоксичность, является антитело или антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления, агентом является тоцилизумаб, силтуксимаб, сарилумаб, олокизумаб (CDP6038), элсилимомаб, ALD518/BMS-945429, сирукумаб (CNTO 136), CPSI-2634, ARGX-109, FE301 или FM101.

В некоторых вариантах осуществления, агентом является антагонист или ингибитор IL-6 или IL-6 рецептора (IL-6R). В некоторых аспектах, агентом является антитело, которое нейтрализует IL-6 активность, такое как антитело или антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с IL-6 или IL-6R. Например, в некоторых вариантах осуществления, агент является или содержит тоцилизумаб (атлизумаб) или сарилумаб, анти-IL-6R антитела. В некоторых вариантах осуществления, агентом является анти-IL-6R антитело, описанное в патенте США №: 8,562,991. В некоторых случаях, агентом, который направлен на IL-6, является антитело против IL-6, такое как силтуксимаб, элсилимомаб, ALD518/BMS-945429, сирукумаб (CNTO 136), CPSI-2634, ARGX-109, FE301, FM101 или олокизумаб (CDP6038). В некоторых аспектах, агент может нейтрализовывать IL-6 активность через ингибирование взаимодействий лиганд-рецептор. Выполнимость этого общего типа подхода была продемонстрирована на природном рецепторном антагонисте для интерлейкина-1. *См.* Harmurn, C. H. et al., Nature (1990) 343:336-340. В некоторых аспектах, IL-6/IL-6R антагонистом или ингибитором является IL-6 мутеин, такой как описан в патенте США № 5591827. В некоторых вариантах осуществления, агентом, который является антагонистом или ингибитором IL-6/IL-6R, является малая молекула, белок или пептид или нуклеиновая кислота.

В некоторых вариантах осуществления, агентом является тоцилизумаб. В некоторых вариантах осуществления, тоцилизумаб вводят в качестве раннего вмешательства согласно представленным способам, и/или представленным готовым изделиям или композициям, в дозировке от или от примерно 1 мг/кг до 12 мг/кг, например, точно или примерно 4 мг/кг, 8 мг/кг или 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления, тоцилизумаб вводят внутривенной инфузией. В некоторых вариантах осуществления, тоцилизумаб вводят для трудноизлечимой лихорадки более чем 39°C, длящейся в течение 10 часов, которая не отвечает на ацетаминофен. В некоторых вариантах осуществления, второе введение

тоцилизумаба проводят, если симптомы рецидивируют через 48 часов после начальной дозы.

В некоторых вариантах осуществления, агентом является агонист или стимулятор TGF-β или TGF-β рецептора (например, TGF-β рецептора I, II или III). В некоторых аспектах, агентом является антитело, которое повышает активность TGF-β, такое как антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с TGF-β или одним из его рецепторов. В некоторых вариантах осуществления, агентом, который является агонистом или стимулятором TGF-β и/или его рецептора, является малая молекула, белок или пептид или нуклеиновая кислота.

В некоторых вариантах осуществления, агентом является антагонист или ингибитор MCP-1 (CCL2) или MCP-1 рецептора (например, MCP-1 рецептора CCR2 или CCR4). В некоторых аспектах, агентом является антитело, которое нейтрализует активность MCP-1, такое как антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с MCP-1 или одним из его рецепторов (CCR2 или CCR4). В некоторых вариантах осуществления, MCP-1 антагонистом или ингибитором является любой, описанный у Gong et al. J Exp Med. 1997 Jul 7; 186(1): 131-137 или Shahrara et al. J Immunol 2008; 180:3447-3456. В некоторых вариантах осуществления, агентом, который является антагонистом или ингибитором MCP-1 и/или его рецептора (CCR2 или CCR4), является малая молекула, белок или пептид или нуклеиновая кислота.

В некоторых вариантах осуществления, агентом является антагонист или ингибитор IFN-γ или IFN-γ рецептора (IFNGR). В некоторых аспектах, агентом является антитело, которое нейтрализует активность IFN-γ, такое как антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с IFN-γ или его рецептором (IFNGR). В некоторых аспектах, IFN-гамма нейтрализующим антителом является любое, описанное в Dobber et al. Cell Immunol. 1995 Feb;160(2):185-92 или Ozmen et al. J Immunol. 1993 Apr 1;150(7):2698-705. В некоторых вариантах осуществления, агентом, который является антагонистом или ингибитором IFN-γ/IFNGR, является малая молекула, белок или пептид или нуклеиновая кислота.

В некоторых вариантах осуществления, агентом является антагонист или ингибитор IL-10 или IL-10 рецептора (IL-10R). В некоторых аспектах, агентом является антитело, которое нейтрализует IL-10 активность, такое как антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с IL-10 или IL-10R. В некоторых аспектах, IL-10 нейтрализующим антителом является любое, описанное в Dobber et al. Cell Immunol. 1995 Feb;160(2):185-92 или Hunter et al. J Immunol. 2005 Jun 1;174(11):7368-75. В некоторых вариантах осуществления, агентом, который является антагонистом или ингибитором IL-10/IL-10R, является малая молекула, белок или пептид или нуклеиновая кислота.

В некоторых вариантах осуществления, агентом является антагонист или ингибитор IL-1 или IL-1 рецептора (IL-1R). В некоторых аспектах, агентом является антагонист IL-1 рецептора, который является модифицированной формой IL-1R, такой как анакинра (см., например, Fleischmann et al., (2006) Annals of the rheumatic diseases. 65(8):1006-12). В

некоторых аспектах, агентом является антитело, которое нейтрализует IL-1 активность, такое как антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с IL-1 или IL-1R, такое как канакинумаб (см. также EP 2277543). В некоторых вариантах осуществления, агентом, который является антагонистом или ингибитором IL-1/IL-1R, является малая молекула, белок или пептид или нуклеиновая кислота.

В некоторых вариантах осуществления, агентом является антагонист или ингибитор фактора некроза опухоли (TNF) или рецептор фактора некроза опухоли (TNFR). В некоторых аспектах, агентом является антитело, которое блокирует TNF активность, такое как антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с TNF, таким как TNFα или его рецептором (TNFR, например, TNFRp55 или TNFRp75). В некоторых аспектах, агент выбран из инфликсимаба, адалимумаба, цертолизумаба пегола, голимумаба и этанерцепта. В некоторых вариантах осуществления, агентом, который является антагонистом или ингибитором TNF/TNFR, является малая молекула, белок или пептид или нуклеиновая кислота. В некоторых вариантах осуществления, агентом является малая молекула, которая влияет на TNF, такая как леналидомид (см., например, Muller et al. (1999) Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 9 (11):1625).

В некоторых вариантах осуществления, агентом является антагонист или ингибитор подачи сигнала через янускиназу (JAK) и сигнального каскада через два преобразователя сигнала и активатор транскрипции (STAT). JAK/STAT белки являются обычными компонентами подачи сигналов цитокина и цитокинового рецептора. В некоторых вариантах осуществления, агентом, который является антагонистом или ингибитором JAK/STAT, таким как руксолитиниб (см., например, Mesa et al. (2012) Nature Reviews Drug Discovery. 11(2):103-104), тофацинииб (также известный как Ксельянц, Яквинус тазрцитиниб и CP-690550), Барицитиниб (также известный как LY-3009104, INCB-28050), Филготиниб (G-146034, GLPG-0634), Гандотиниб (LY-2784544), Лестауртиниб (CEP-701), Момелотиниб (GS-0387, CYT-387), Пакритиниб (SB1518) и Упадацитиниб (ABT-494). В некоторых вариантах осуществления, агентом является малая молекула, белок или пептид или нуклеиновая кислота.

В некоторых вариантах осуществления, агентом является ингибитор киназы. В некоторых вариантах осуществления, агентом является ингибитор тирозинкиназы Брутона (BTK). В некоторых вариантах осуществления, ингибитор является или содержит ибрутиниб или акалабрутиниб (см., например, Barrett et al., ASH 58th Annual Meeting San Diego, CA December 3-6, 2016, Abstract 654; Ruella et al., ASH 58th Annual Meeting San Diego, CA December 3-6, 2016, Abstract 2159). В некоторых вариантах осуществления, агентом является ингибитор, как описано патенте США № 7,514,444; 8,008,309; 8,476,284; 8,497,277; 8,697,711; 8,703,780; 8,735,403; 8,754,090; 8,754,091; 8,957,079; 8,999,999; 9,125,889; 9,181,257; или 9,296,753.

В некоторых вариантах осуществления устройство, такое как технология абсорбирующей смолы с фильтрацией крови или плазмы, может использоваться для снижения уровня цитокина. В некоторых вариантах осуществления, устройством,

используемым для снижения уровня цитокина, является физический абсорбер цитокина, такой как экстракорпоральный абсорбер цитокина. В некоторых вариантах осуществления, физический абсорбер цитокинов можно использовать для удаления цитокинов из потока крови экстракорпоральным способом, *ex vivo*. В некоторых вариантах осуществления, агентом является пористый полимер. В некоторых вариантах осуществления агентом является CytoSorb (см., например, Basu et al. Indian J Crit Care Med. (2014) 18(12): 822-824).

III. РЕКОМБИНАНТНЫЕ АНТИГЕННЫЕ РЕЦЕПТОРЫ, ЭКСПРЕССИРОВАННЫЕ КЛЕТОКАМИ

В некоторых вариантах осуществления, клетки для применения в или вводимые в связи с представленными способами содержит или сконструированы как содержащие сконструированный рецептор, например, сконструированный антигенный рецептор, такой как химерный антигенный рецептор (CAR) или Т-клеточный рецептор (TCR). Также представлены популяции таких клеток, композиции, содержащие такие клетки и/или обогащенные такими клетками, например, клетками определенного типа, такие как обогащенные или селектированные Т клетками или $CD8^+$ или $CD4^+$ Т-клетками. Композициями являются фармацевтические композиции и составы для введения, например, для адоптивной клеточной терапии. Также представлены терапевтические способы введения клеток и композиций субъектам, например, пациентам, согласно представленным способам, и/или представленным готовым изделиям или композициям.

В некоторых вариантах осуществления, клетки включают одну или более нуклеиновых кислот, введенных с помощью генной инженерии, и поэтому экспрессируют рекомбинантные или генетически сконструированные продукты таких нуклеиновых кислот. В некоторых вариантах осуществления, перенос гена осуществляется путем первой стимуляции клеток, например, путем комбинирования их со стимулом, который индуцирует ответ, такой как пролиферация, выживаемость и/или активация, например, по данным экспрессии цитокина или маркера активации, с последующей трансдукцией активированных клеток и размножением в культуре до количества, достаточного для клинического применения.

Клетки обычно экспрессируют рекомбинантные рецепторы, такие как антигенные рецепторы, включая функциональные не-TCR антигенные рецепторы, например, химерные антигенные рецепторы (CAR) и другие антигенсвязывающие рецепторы, такие трансгенные Т-клеточные рецепторы (TCR). Также среди рецепторов есть другие химерные рецепторы.

A. Химерные антигенные рецепторы (CAR)

В некоторых вариантах осуществления представленных способов и применений, химерные рецепторы, такие как химерные антигенные рецепторы, содержит одни или несколько доменов, которые объединяют лигандсвязывающий домен (например, антитело или фрагмент антитела), которое представлено специфически для желаемого антигена (например, опухолевого антигена) с внутриклеточными сигнальными доменами. В некоторых вариантах осуществления, внутриклеточным сигнальным доменом является стимулирующая или активирующая внутриклеточная часть домена, такая как Т-клеточный

стимулирующий или активирующий домен, обеспечивающий первичный сигнал активации или первичный сигнал. В некоторых вариантах осуществления, внутриклеточный сигнальный домен содержит или дополнительно содержит костимулирующий сигнальный домен, усиливающий эффекторные функции. В некоторых вариантах осуществления, химерные рецепторы, будучи генетически сконструированными в иммунных клетках, могут модулировать Т-клеточную активность, и, в некоторых случаях, может модулировать дифференциацию или гомеостаз Т клеток, тем самым давая генетически сконструированные клетки с улучшенной долговечностью, выживанием и/или жизнестойкостью *in vivo*, например, для применения в способах адоптивной клеточной терапии.

Типовые антигенный рецепторы, включая CAR, и способы конструирования и введения таких рецепторов в клетки, включают такие, которые описаны, например, в публикациях международной заявки на патент №№ WO200014257, WO2013126726, WO2012/129514, WO2014031687, WO2013/166321, WO2013/071154, WO2013/123061, публикация заявки на патент США №№ U US2002131960, US2013287748, US20130149337, патентах США №№: 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 и 8,479,118 и заявке на европейский патент № EP2537416, и/или такие, которые описаны у Sadelain et al., Cancer Discov. 2013 April; 3(4): 388-398; Davila et al. (2013) PLoS ONE 8(4): e61338; Turtle et al., Curr. Opin. Immunol., 2012 October; 24(5): 633-39; Wu et al., Cancer, 2012 March 18(2): 160-75. В некоторых аспектах, антигенные рецепторы включают CAR, как описано патенте США №: 7,446,190 и такие, которые описаны в Публикации заявки на международный патент №: WO/2014055668 A1. Примеры CAR включают CAR, описаны в любой из вышеуказанных публикаций, таких как WO2014031687, US 8,339,645, US 7,446,179, US 2013/0149337, патенте США №: 7,446,190, Патенте США №: 8,389,282, Kochenderfer et al., 2013, Nature Reviews Clinical Oncology, 10, 267-276 (2013); Wang et al. (2012) J. Immunother. 35(9): 689-701; и Brentjens et al., Sci Transl Med. 2013 5(177). См. также WO2014031687, US 8,339,645, US 7,446,179, US 2013/0149337, Патент США №: 7,446,190 и Патент США №: 8,389,282.

Химерные рецепторы, такие как CAR, обычно включают внеклеточный антигенсвязывающий домен, такой как часть молекулы антитела, обычно вариабельная область тяжелой цепи (V_H) и/или вариабельная область легкой цепи (V_L) цепь антитела, например, scFv фрагмент антитела.

В некоторых вариантах осуществления, антигеном, таргетированным рецептором, является полипептид. В некоторых вариантах осуществления, он является углеводом или другой молекулой. В некоторых вариантах осуществления, антиген селективно экспрессирован или сверхэкспрессирован на клетках заболевания или состояния, например, опухоли или патогенных клетках, по сравнению с нормальными или не таргетированными клетками или тканями. В других вариантах осуществления, антиген экспрессирован на нормальных клетках и/или экспрессирован на сконструированных клетках.

В некоторых вариантах осуществления CAR сконструирован со специфичностью к конкретному антигену (или маркеру или лиганду), такому как антиген, экспрессируемый в конкретном типе клеток, на который направлена адоптивная терапия, *например*, раковый маркер и/или антиген, предназначенный чтобы вызвать подавляющий ответ, такой как антиген, экспрессируемый на нормальных или здоровых клетках. Таким образом, CAR обычно включает в своей внеклеточной части один или несколько антигенсвязывающих молекул, таких как один или несколько антигенсвязывающих фрагментов, доменов или части или одного или нескольких вариабельных доменов антитела, и/или молекулу антитела. В некоторых вариантах осуществления, CAR включает антигенсвязывающая часть или части молекулы антитела, такая как одноцепочечный фрагмент антитела (scFv), полученный из вариабельной тяжелой цепи (V_H) и вариабельной легкой цепи (V_L) моноклонального антитела (mAb).

В некоторых вариантах осуществления, антитело или его антигенсвязывающая часть экспрессирована на клетках как часть рекомбинантного рецептора, такого как антигенный рецептор. Антигенные рецепторы включают функциональные не-TCR антигенные рецепторы, такие как химерные антигенные рецепторы (CAR). Обычно CAR, содержащий антитело или антигенсвязывающий фрагмент, который демонстрирует TCR-подобную специфичность, направленную против пептид-MHC комплексов, также может называться TCR-подобный CAR. В некоторых вариантах осуществления, внеклеточный антигенсвязывающий домен, специфический к комплексу MHC-пептид TCR-подобного CAR, связан с одним или несколькими внутриклеточными сигнальными компонентами, в некоторых аспектах через линкеры и/или трансмембранный домен(ы). В некоторых вариантах осуществления, такие молекулы могут обычно имитировать или аппроксимировать сигнал через природный антигенный рецептор, такой как TCR, и, необязательно, сигнал через рецептор в комбинации с костимулирующим рецептором.

В некоторых вариантах осуществления, рекомбинантный рецептор, такой как химерный рецептор (например CAR), включает лигандсвязывающий домен, который связывается, например, специфически связывается, с антигеном (или лигандом). Антигенами, таргетированными химерными рецепторами, являются такие, которые экспрессированы в контексте заболевания, состояния или клеточного типа, таргетированного через адоптивную клеточную терапию. Заболевания и состояния и условия являются пролиферативными, неопластическими и злокачественными заболеваниями или расстройствами, включая раки и опухоли, включая гематологические раки, раки иммунной системы, такие как лимфомы, лейкозы и/или миеломы, такие как B, T и миелоидные лейкозы, лимфомы и множественные миеломы.

В некоторых вариантах осуществления, антигеном (или лигандом) является полипептид. В некоторых вариантах осуществления, он является углеводом или другой молекулой. В некоторых вариантах осуществления, антиген (или лиганд) селективно экспрессирован или сверхэкспрессирован на клетках заболевания или состояния, *например*, опухоли или патогенных клеток, по сравнению с нормальными или не-таргетными

клетками или тканями.

В некоторых вариантах осуществления, CAR содержит антитело или антигенсвязывающий фрагмент (*например* scFv) который специфически распознает антиген, такой как интактный антиген, экспрессированный на поверхности клетки.

В некоторых вариантах осуществления, антиген, таргетированный рецептором, является или выбран из αvβ6 интегрина (avb6 интегрина), антигена созревания В клетки (BCMA), B7-H3, B7-H6, карбоновой ангидразы 9 (CA9, также известной как CAIX или G250), раково-тестикулярного антигена, раково/тестикулярного антигена 1B (CTAG, также известного как NY-ESO-1 и LAGE-2), карциноэмбрионного антигена (CEA), циклина, циклина A2, C-C Мотива Хемокинового Лиганда 1 (CCL-1), CD19, CD20, CD22, CD23, CD24, CD30, CD33, CD38, CD44, CD44v6, CD44v7/8, CD123, CD133, CD138, CD171, хондроитин сульфат протеогликана 4 (CSPG4), белка эпидермального фактора роста (EGFR), мутации III типа рецептора эпидермального фактора роста (EGFR vIII), эпителиального гликопротеина 2 (EPG-2), эпителиального гликопротеина 40 (EPG-40), эфрина B2, рецептора эфрина A2 (EPHa2), рецептора эстроген, Fc рецептор-подобного 5 (FCRL5; также известного как гомолога Fc рецептора 5 или FCRH5), фетального ацетилхолинового рецептора (фетального AchR), фолатного связывающего белка (FBP), фолатного рецептора альфа, ганглиозида GD2, O-ацетилированного GD2 (OGD2), ганглиозида GD3, гликопротеина 100 (gp100), глипикана-3 (GPC3), сопряженного с G-белком рецептора 5D (GPRC5D), Her2/neu (рецепторной тирозинкиназы erb-B2), Her3 (erb-B3), Her4 (erb-B4), erbB димеров, высокомолекулярного меланома-ассоциированного антигена человека (HMW-MAA), поверхностного антигена гепатита B, лейкоцитарного антигена A1 человека (HLA-A1), лейкоцитарного антиген A2 человека (HLA-A2), IL-22 рецептора альфа (IL-22Rα), IL-13 рецептора альфа 2 (IL-13Rα2), рецептора со встроенным киназным доменом (kdr), каппа легкой цепи, L1 молекулы клеточной адгезии (L1-CAM), CE7 эпитопа L1-CAM, богатых лейцином повторов, содержащих 8 семейства члена A (LRRC8A), Lewis Y, меланома-ассоциированного антигена (MAGE)-A1, MAGE-A3, MAGE-A6, MAGE-A10, мезотелина (MSLN), c-Met, цитомегаловируса мыши (CMV), муцина 1 (MUC1), MUC16, лигандов натурального киллера группы 2 члена D (NKG2D), мелана A (MART-1), молекулы адгезии нервных клеток (NCAM), онкофетального антигена, преимущественно экспрессированного антигена меланомы (PRAME), рецептора прогестерона, простат-специфического антигена, антигена стволовых клеток простаты (PSCA), простат-специфического мембранного антигена (PSMA), орфанного рецептора типа рецепторной тирозинкиназы 1 (ROR1), сурвивина, трофобластного гликопротеина (TPBG, также известного как 5T4), опухолеассоциированного гликопротеина 72 (TAG72), тирозинкиназа-родственного белка 1 (TRP1, также известного как TYRP1 или gp75), тирозинкиназа-родственного белка 2 (TRP2, также известного как допахромтаутомераза, допахром дельта-изомераза или DCT), рецептора фактора роста сосудистого эндотелия (VEGFR), рецептора 2 фактора роста сосудистого эндотелия (VEGFR2), опухоли Вильмса 1 (WT-1), патоген-специфического или патоген-экспрессированного антигена или антигена,

ассоциированного с универсальной меткой и/или биотинилированными молекулами, и/или молекулами, экспрессированными HIV, HCV, HBV или другими патогенами. Антигены, таргетированные рецепторами в некоторых вариантах осуществления, включают антигены, ассоциированные со злокачественным образованием из В-клеток, такие как любые из множества известных В-клеточных маркеров. В некоторых вариантах осуществления, антигеном, таргетированным рецептором, является или включает CD20, CD19, CD22, ROR1, CD45, CD21, CD5, CD33, Igкаппа, Iglямбда, CD79a, CD79b или CD30. В некоторых вариантах осуществления, заболеванием или состоянием является злокачественное образование из В-клеток, такое как В-крупноклеточная лимфома (например, DLBCL) и антигеном является CD19.

В некоторых вариантах осуществления, антигеном является или включает патоген-специфический или патоген-экспрессированный антиген. В некоторых вариантах осуществления, антигеном является вирусный антиген (такой как вирусный антиген из HIV, HCV, HBV, и т.д.), бактериальные антигены и/или паразитарные антигены.

Ссылка на «главный комплекс гистосовместимости» (MHC) относится к белку, обычно гликопротеину, который содержит сайт связывания или полость связывания полиморфного пептида, который может, в некоторых случаях, образовывать комплекс с пептидными антигенами полипептидов, включая пептидные антигены, обработанные клеточным механизмом. В некоторых случаях, молекулы MHC могут быть представлены или экспрессированы на клеточной поверхности, в том числе в виде комплекса с пептидом, *т.е.* MHC-пептидного комплекса, для презентирования антигена в конформации, распознаваемой антигенным рецептором на Т клетках, таких как TCR или TCR-подобное антитело. Обычно, молекулы MHC I класса являются гетеродимерами, имеющими трансмембранную α цепь, в некоторых случаях с тремя α доменами, и нековалентно ассоциированный β2 микроглобулин. В общем, молекулы MHC II класса состоят из двух трансмембранных гликопротеинов, α и β, оба которых обычно перекрывают мембрану. Молекула MHC может включать эффективную часть MHC, которая содержит антигенсвязывающий сайт или сайты для связывания пептида и последовательности, необходимые для распознавания подходящим антигенным рецептором. В некоторых вариантах осуществления, молекулы MHC I класса доставляют пептиды, возникающие в цитозоле, на клеточную поверхность, где MHC-пептидный комплекс распознается Т клетками, обычно, $CD8^+$ Т-клетками, но в некоторых случаях $CD4^+$ Т-клетками. В некоторых вариантах осуществления, молекулы MHC II класса доставляют пептиды, возникающие в везикулярной системе, на клеточную поверхность, где они обычно распознаются $CD4^+$ Т-клетками. Обычно, молекулы MHC кодированы группой связанных локусов, которые вместе называют H-2 в лейкоцитарном антигене мыши и человека (HLA) у людей. Следовательно, обычно MHC человека также может быть назван лейкоцитарный антиген человека (HLA).

Термин «MHC-пептидный комплекс» или «пептид-MHC комплекс» или их вариации относятся к комплексу или ассоциации пептидного антигена и молекулы MHC, например,

обычно, через нековалентные взаимодействия пептида в полости связывания или углубление молекулы MHC. В некоторых вариантах осуществления, MHC-пептидный комплекс присутствует или представлен на поверхности клеток. В некоторых вариантах осуществления, MHC-пептидный комплекс может специфически распознаваться антигенным рецептором, таким как TCR, TCR-подобный CAR или его антигенсвязывающие части.

В некоторых вариантах осуществления, пептид, такой как пептидный антиген или эпитоп, полипептида может ассоциировать с молекулой MHC, например, для распознавания антигенным рецептором. Обычно, пептид получен из или основан на фрагменте большей биологической молекулы, такой как полипептид или белок. В некоторых вариантах осуществления, пептид обычно имеет от примерно 8 до примерно 24 аминокислот в длину. В некоторых вариантах осуществления, пептид имеет длину от или от примерно 9 до 22 аминокислот для распознавания в комплексе MHC II класса. В некоторых вариантах осуществления, пептид имеет длину от или от примерно 8 до 13 аминокислот для распознавания в комплексе MHC I класса. В некоторых вариантах осуществления, при распознавании пептида в контексте MHC молекулы, такой как MHC-пептидный комплекс, антигенный рецептор, такой как TCR или TCR-подобный CAR, продуцирует или запускает сигнал активации в Т клетку, который вызывает ответ Т клетки, такой как пролиферация Т клетки, продуцирование цитокина, цитотоксический ответ Т клетки или другой ответ.

В некоторых вариантах осуществления, TCR-подобное антитело или антигенсвязывающая часть известны или могут быть получены известными способами (см. например, опубликованные заявки США №№ US 2002/0150914; US 2003/0223994; US 2004/0191260; US 2006/0034850; US 2007/00992530; US20090226474; US20090304679; и международную публикацию PCT № WO 03/068201).

В некоторых вариантах осуществления, антитело или его антигенсвязывающая часть, которая специфически связывается с MHC-пептидным комплексом, может быть получено иммунизацией хозяина эффективным количеством иммуногена, содержащего специфический MHC-пептидный комплекс. В некоторых случаях, пептидом MHC-пептидного комплекса является эпитоп антигена, способный связываться с MHC, такой как опухолевый антиген, например универсальный опухолевый антиген, миеломный антиген или другой антиген, как описано ниже. В некоторых вариантах осуществления, эффективное количество иммуногена затем вводят хозяину для вызова иммунного ответа, где иммуноген сохраняет свою трехмерную форму в течение периода времени, достаточного для вызова иммунного ответа против трехмерного презентирования пептида в полости связывания молекулы MHC. Затем сыворотку, собранную у хозяина, анализируют, чтобы определить, продуцируются ли желаемые антитела, распознающие трехмерное презентирование пептида в полости связывания молекулы MHC. В некоторых вариантах осуществления, продуцируемые антитела могут быть оценены для подтверждения того, что антитело может дифференцировать MHC-пептидный комплекс

только от молекулы MHC, только от пептида, представляющего интерес, и от комплекса MHC и нерелевантного пептида. Затем могут быть выделены желаемые антитела.

В некоторых вариантах осуществления, антитело или его антигенсвязывающая часть, которое специфически связывается с MHC-пептидным комплексом, может быть продуцировано с применением способов дисплея библиотеки антитела, таких как фаговые библиотеки антитела. В некоторых вариантах осуществления, могут быть созданы библиотеки фагового дисплея мутантного Fab, scFv или другого антитела, например, в которых члены библиотеки мутированы на одной или нескольких остатках CDR или CDR. См. *например,* опубликованную заявку США № US20020150914, US2014/0294841; и Cohen CJ. *et al*. (2003) *J Mol. Recogn*. 16:324-332.

Термин «антитело» в настоящем документе применяют в широчайшем смысле, и он включает поликлональные и моноклональные антитела, включая интактные антитела и функциональные (антигенсвязывающие) фрагменты антител, включая антигенсвязывающие (Fab) фрагменты, $F(ab')_2$ фрагменты, Fab' фрагменты, Fv фрагменты, рекомбинантные IgG (rIgG) фрагменты, вариабельные области тяжелой цепи цепь (V_H), способные специфически связывать антиген, одноцепочечные фрагменты антитела, включая одноцепочечные вариабельные фрагменты (scFv) и фрагменты однодоменных антител (*например*, sdAb, sdFv, нанотела). Термин охватывает генетически сконструированные и/или другим образом модифицированные формы иммуноглобулинов, такие как интратела, пептитела, химерные антитела, полностью человеческие антитела, гуманизированные антитела и гетероконъюгированные антитела, мультиспецифические, *например*, биспецифические, антитела, диатела, триатела и тетратела, тандемные di-scFv, тандемные tri-scFv. Если не указано иное, термин «антитело» должен пониматься как охватывающий функциональные фрагменты антител. Термин также охватывает интактные или полноразмерные антитела, включая антитела любого класса или подкласса, включая IgG и его подклассы, IgM, IgE, IgA и IgD.

В некоторых вариантах осуществления, антигенсвязывающие белки, антитела и их антигенсвязывающие фрагменты специфически распознают антиген полноразмерного антитела. В некоторых вариантах осуществления, тяжелая и легкая цепи антитела могут быть полноразмерными или могут быть антигенсвязывающей частью (Fab, F(ab')2, Fv или одноцепочечным фрагментом Fv (scFv)). В других вариантах осуществления, константную область тяжелой цепи антитела выбирают из, *например*, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD и IgE, в частности, выбирают из, *например*, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4, более предпочтительно, IgG1 (*например*, IgG1 человека). В другом варианте осуществления, константную область легкой цепи антитела выбирают из, *например*, каппа или лямбда, в частности, каппа.

Представленные антитела включают фрагменты антител. «Фрагмент антитела» относится к молекуле, отличной от интактного антитела, которая содержит часть интактного антитела, которая связывает антиген, с которым связывается интактное антитело. Примеры фрагментов антител включают, но не ограничены ими, Fv, Fab, Fab',

Fab'-SH, $F(ab')_2$; диатела; линейные антитела; вариабельные области тяжелой цепи цепь (V_H), одноцепочечные молекулы антитела, такие как scFvs, и однодоменные V_H отдельных антител; и мультиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител. В конкретных вариантах осуществления, антителами являются одноцепочечные фрагменты антител, содержащие вариабельную область тяжелой цепи и/или вариабельную область легкой цепи, такие как scFvs.

Известно, что термины «определяющая комплементарность область» и «CDR», синонимичные «гипервариабельная область» или «HVR», в некоторых случаях, относятся к не непрерывным последовательностям аминокислот в пределах вариабельных областей антитела, которые придают антигенную специфичность и/или сродство связывания. В общем, существует три CDR в каждой вариабельной области тяжелой цепи (CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3) и три CDR в каждой вариабельной области легкой цепи (CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3). Известно, что «каркасные области» и «FR», в некоторых случаях, относятся к не-CDR частям вариабельных областей тяжелой и легкой цепей. В общем, существуют четыре FR в каждой полноразмерной вариабельной области тяжелой цепи (FR-H1, FR-H2, FR-H3 и FR-H4) и четыре FR в каждой полноразмерной вариабельной области легкой цепи (FR-L1, FR-L2, FR-L3 и FR-L4).

Точные границы аминокислотной последовательности данной CDR или FR могут быть легко определены с применением любого количества хорошо известных схем, включая те, которые описаны у Kabat *et al.* (1991), «Sequences of Proteins of Immunological Interest» 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD («Kabat» схема нумерации); Al-Lazikani *et al.*, (1997) JMB 273,927-948 («Chothia» схема нумерации); MacCallum *et al.*, J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996), «Antibody-antigen interactions: Contact analysis and binding site topography» J. Mol. Biol. 262, 732-745» («Contact» схема нумерации); Lefranc MP *et al.*, «IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains» Dev Comp Immunol, 2003 Jan;27(1):55-77 («IMGT» схема нумерации); Honegger A and Plückthun A, «Yet another numbering scheme for immunoglobulin variable domains: an automatic modeling and analysis tool» J Mol Biol, 2001 Jun 8;309(3):657-70 («Aho» схема нумерации); и Martin *et al.*, «Modeling antibody hypervariable loops: a combined algorithm» PNAS, 1989, 86(23):9268-9272 («AbM» схема нумерации).

Границы данной CDR или FR могут варьироваться в зависимости от схемы, применяемой для идентификации. Например, схема Kabat основана на структурном выравнивании, а схема Chothia основана на структурной информации. Нумерация по обеим схемам, Kabat и Chothia, основана на наиболее частных длинах последовательностей области антитела со вставками, обозначенными вставными буквами, например, «30a», и делециями, возникающими в некоторых антителах. Две схемы размещают определенные вставки и делеции («инделы») в разных положениях, что дает разную нумерацию. Контактная схема основана на анализе комплексных кристаллических структур и аналогична, во многом, Chothia схеме нумерации. AbM схема является компромиссом

между Kabat и Chothia определениями на основе тех, которые применяются в программе моделирования антитела Oxford Molecular's AbM.

В **Таблице 10**, ниже, перечислены типовые границы положений CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 и CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, указанные на схемах Kabat, Chothia, AbM и Contact, соответственно. Для CDR-H1, нумерация остатков перечислена с применением обеих схем нумерации, Kabat и Chothia. FR расположены между CDR, например, с FR-L1, расположенными до CDR-L1, FR-L2 расположенными между CDR-L1 и CDR-L2, FR-L3 расположенными между CDR-L2 и CDR-L3 и так далее. Отмечено, что так как показанная Kabat схема нумерации размещает вставки на H35A и H35B, концы Chothia CDR-H1 петли при нумерации с применением показанной конвенции нумерации Kabat, варьируются между H32 и H34, в зависимости от длины петли.

Таблица 10. Границы CDR согласно разным схемам нумерации.

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
CDR-H1 (Нумерация Kabat[1])	H31--H35B	H26--H32,34	H26--H35B	H30--H35B
CDR-H1 (Нумерация Chothia[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

1 - Kabat *et al.* (1991), «Sequences of Proteins of Immunological Interest» 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD

2 - Al-Lazikani *et al.*, (1997) JMB 273,927-948

Таким образом, если не указано иное, «CDR» или «определяющая комплементарность область» или отдельные обозначенные CDR (*например*, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3) данного антитела или его области, такой как его вариабельная область, должны рассматриваться как охватывающие (или специфические) определяющая комплементарность область, определенная по любой из вышеуказанных схем или других известных схем. Например, если установлено, что конкретная CDR (*например*, CDR-H3) содержит аминокислотную последовательность соответствующей CDR в данной V_H или V_L области аминокислотной последовательности, понятно, что CDR имеет последовательность соответствующей CDR (*например*, CDR-H3) в пределах вариабельной области, как определено любой из вышеуказанных схем или другими известными схемами. В некоторых вариантах осуществления, указаны определенные последовательности CDR. Типовые последовательности CDR представленных антител описаны с применением разных схем нумерации, хотя понятно что представленное антитело может включать CDR, как описано

согласно любой из других вышеуказанных схем нумерации или других схем нумерации, известных специалисту в данной области техники.

Также, если не указано иное, FR или отдельные обозначенные FR (*например*, FR-H1, FR-H2, FR-H3, FR-H4) данного антитела или его области, такой как его вариабельной области, должны пониматься как охватывающие (или специфические) каркасные области, определенные любой из известных схем. В некоторых случаях, схема идентификации конкретной CDR, FR или FR или CDR указана, например, CDR, определенная по Kabat, Chothia, AbM или Contact или по другим известным схемам. В других случаях, даны конкретные аминокислотные последовательности CDR или FR.

Термин «вариабельная область» или «вариабельный домен» относится к домену тяжелой или легкой цепи антитела, которая вовлечена в связывание антитела с антигеном. Вариабельные домены тяжелой цепи или легкой цепи (V_H и V_L, соответственно) нативного антитела обычно имеют похожие структуры, где каждый домен содержит четыре консервативные каркасные области (FR) и три CDR. (См., *например*, Kindt et al. Kuby Immunology, 6th ed., W.H. Freeman and Co., страница 91 (2007). Одного V_H или V_L домена может быть достаточно для придания антигенсвязывающей специфичности. Более того, антитела, которые связывают конкретный антиген, могут быть выделены с применением V_H или V_L домена из антитела, который связывает антиген для скрининга библиотеки комплементарных V_L или V_H доменов, соответственно. См., *например*, Portolano et al., J. Immunol. 150:880-887 (1993); Clarkson et al., Nature 352:624-628 (1991).

Однодоменные антитела являются фрагментами антител, содержащими всю или часть тяжелой цепи вариабельного домена или всю или часть легкой цепи вариабельного домена антитела. В определенных вариантах осуществления, однодоменным антителом является однодоменное антитело человека. В некоторых вариантах осуществления, CAR содержит домен тяжелой цепи антитела, который специфически связывает антиген, такой как раковый маркер или антиген клеточной поверхности таргетируемой клетки или заболевания, такой как опухолевая клетка или раковая клетка, такая как любая из антигенов мишеней, описанных в настоящем документе или известных.

Фрагменты антител могут быть получены разными методами, включая, но не ограничиваясь ими, протеолитический перевар интактного антитела, а также продуцирование рекомбинантными клетками-хозяевами. В некоторых вариантах осуществления, антителами являются рекомбинантно-продуцированные фрагменты, такие как фрагменты, содержащие положения, которые не существуют в природе, такие как имеющие две или несколько областей антитела или цепей, соединенных синтетическими линкерами, *например*, пептидными линкерами, и/или которые не могут быть продуцированы ферментным переваром существующего в природе интактного антитела. В некоторых вариантах осуществления, фрагментами антител являются scFvs.

«Гуманизированным» антителом является антитело, в котором все или по существу все CDR аминокислотные остатки получают из не человеческих CDR и все или по существу все FR аминокислотные остатки получают из FR человека. Гуманизированное антитело

необязательно может включать, по меньшей мере, часть константной области антитела, полученную из антитела человека. А «гуманизированная форма» не человеческого антитела относится к варианту не человеческого антитела, которое претерпело гуманизацию, обычно для снижения иммуногенности для человека, при этом сохраняя специфичность и аффинность исходного не человеческого антитела. В некоторых вариантах осуществления, некоторые FR остатки в гуманизированном антителе замещены соответствующими остатками из не человеческого антитела (*например*, антитела, из которого получены CDR остатки), *например*, для восстановления или улучшения специфичности или аффинности антитела.

В некоторых вариантах осуществления, антигеном или антигенсвязывающим доменом является CD19. В некоторых вариантах осуществления, scFv содержит V_H и V_L, полученные из антитела или фрагмента антитела, специфического к CD19. В некоторых вариантах осуществления, антителом или фрагментом антитела, который связывает CD19, является антитело, получено от мыши, такое как FMC63 и SJ25C1. В некоторых вариантах осуществления, антителом или фрагментом антитела является антитело человека, например, как описано в публикации патенте США № US 2016/0152723.

В некоторых вариантах осуществления, scFv получают из FMC63. FMC63 обычно относится к моноклональному IgG1 антителу мыши против Nalm-1 and -16 клеток экспрессирующих CD19 человеческого происхождения (Ling, N. R., *et al.* (1987). *Leucocyte typing III*. 302). В некоторых вариантах осуществления, FMC63 антитело содержит CDR-H1 и CDR-H2, указанные в SEQ ID NOS: 38 и 39, соответственно, и CDR-H3, указанные в SEQ ID NO: 40 или 54; и CDR-L1, указанные в SEQ ID NO: 35, и CDR-L2, указанные в SEQ ID NO: 36 или 55, и CDR-L3, указанные в SEQ ID NO: 37 или 34. В некоторых вариантах осуществления, FMC63 антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (V_H), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 41, и вариабельную области легкой цепи (V_L), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 42.

В некоторых вариантах осуществления, scFv содержит вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR-L1 последовательность SEQ ID NO:35, CDR-L2 последовательность SEQ ID NO:36 и CDR-L3 последовательность SEQ ID NO:37 и/или вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR-H1 последовательность SEQ ID NO:38, CDR-H2 последовательность SEQ ID NO:39 и CDR-H3 последовательность SEQ ID NO:40. В некоторых вариантах осуществления, scFv содержит вариабельную область тяжелой цепи указанную в SEQ ID NO:41 и вариабельную область легкой цепи, указанную в SEQ ID NO:42. В некоторых вариантах осуществления, вариабельная область тяжелой цепи и вариабельная область легкой цепи соединены линкером. В некоторых вариантах осуществления, линкер указан в SEQ ID NO:56. В некоторых вариантах осуществления, scFv содержит, по порядку, V_H, линкер и V_L. В некоторых вариантах осуществления, scFv содержит, по порядку, V_L, линкер и V_H. В некоторых вариантах осуществления, scFv кодирован последовательностью нуклеотидов, указанных в SEQ ID NO:57 или

последовательностью, которая демонстрирует, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности SEQ ID NO:57. В некоторых вариантах осуществления, scFv содержит последовательность аминокислот, указанную в SEQ ID NO:43, или последовательность, которая демонстрирует, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности SEQ ID NO:43.

В некоторых вариантах осуществления, scFv получают из SJ25C1. SJ25C1 является моноклональным IgG1 антителом мыши против Nalm-1 and -16 клеток экспрессирующих CD19 человеческого происхождения (Ling, N. R., *et al.* (1987). *Leucocyte typing III*. 302). В некоторых вариантах осуществления, SJ25C1 антитело содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, указанные в SEQ ID NOS: 47-49, соответственно, и CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 последовательности, указанные в SEQ ID NOS: 44-46, соответственно. В некоторых вариантах осуществления, SJ25C1 антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (V_H), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50 и вариабельную область легкой цепи (V_L), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 51.

В некоторых вариантах осуществления, scFv содержит вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR-L1 последовательность SEQ ID NO:44, CDR-L2 последовательность SEQ ID NO: 45 и CDR-L3 последовательность SEQ ID NO:46, и/или вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR-H1 последовательность SEQ ID NO:47, CDR-H2 последовательность SEQ ID NO:48 и CDR-H3 последовательность SEQ ID NO:49. В некоторых вариантах осуществления, scFv содержит вариабельную область тяжелой цепи, указанную в SEQ ID NO:50, и вариабельную область легкой цепи, указанную в SEQ ID NO:51. В некоторых вариантах осуществления, вариабельная область тяжелой цепи и вариабельная область легкой цепи цепь соединены линкером. В некоторых вариантах осуществления, линкер указан в SEQ ID NO:52. В некоторых вариантах осуществления, scFv содержит, по порядку, V_H, линкер и V_L. В некоторых вариантах осуществления, scFv содержит, по порядку, V_L, линкер и V_H. В некоторых вариантах осуществления, scFv содержит последовательность аминокислот, указанную в SEQ ID NO:53 или последовательность, которая демонстрирует, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности к SEQ ID NO:53.

В некоторых вариантах осуществления, антигеном является CD20. В некоторых вариантах осуществления, scFv содержит V_H и V_L полученные из антитела или фрагмента антитела, специфического к CD20. В некоторых вариантах осуществления, антителом или фрагментом антитела, который связывает CD20, является антитело, которое является или получено из Ритуксимаба, например, является scFv Ритуксимаба.

В некоторых вариантах осуществления, антигеном является CD22. В некоторых вариантах осуществления, scFv содержит V_H и V_L, полученные из антитела или фрагмента антитела, специфического к CD22. В некоторых вариантах осуществления, антителом или

фрагментом антитела, который связывает CD22, является антитело, которое является или получено из m971, например, scFv m971.

В некоторых вариантах осуществления, антигеном или антигенсвязывающим доменом является BCMA. В некоторых вариантах осуществления, scFv содержит V_H и V_L, полученные из антитела или фрагмента антитела, специфического к BCMA. В некоторых вариантах осуществления, антителом или фрагментом антитела, который связывает BCMA, является или содержит V_H и V_L из антитела или фрагмента антитела, указанных в публикациях международных заявок на патент №№ WO 2016/090327 и WO 2016/090320.

В некоторых вариантах осуществления, антигеном или антигенсвязывающим доменом является GPRC5D. В некоторых вариантах осуществления, scFv содержит V_H и V_L, полученные из антитела или фрагмента антитела, специфического к GPRC5D. В некоторых вариантах осуществления, антителом или фрагментом антитела, который связывает GPRC5D, является или содержит V_H и V_L из антитела или фрагмента антитела, указанных в публикациях международных заявок на патент WO 2016/090329 и WO 2016/090312.

В некоторых вариантах осуществления, химерный антигенный рецептор включает внеклеточную часть, содержащую антитело или фрагмент антитела. В некоторых аспектах, химерный антигенный рецептор включает внеклеточную часть, содержащую антитело или фрагмент и внутриклеточный сигнальный домен. В некоторых вариантах осуществления, антитело или фрагмент включает scFv. В некоторых аспектах, химерный антигенный рецептор включает внеклеточную часть, содержащую антитело или фрагмент и внутриклеточную сигнальную область. В некоторых вариантах осуществления, внутриклеточная сигнальная область содержит внутриклеточный сигнальный домен. В некоторых вариантах осуществления, внутриклеточный сигнальный домен является или содержит первичный сигнальный домен, сигнальный домен, который способен вызывать первичный сигнал активации в Т клетке, сигнальный домен компонента Т клеточного рецептора (TCR) и/или сигнальный домен, содержащий иммунорецепторный тирозиновый активирующий мотив (ITAM).

В некоторых вариантах осуществления, часть антитела рекомбинантного рецептора, например, CAR, дополнительно включает, по меньшей мере, часть константной области иммуноглобулина, например, шарнирную область, например, IgG4 шарнирную область и/или C_H1/C_L и/или Fc область. В некоторых вариантах осуществления, константная область или часть принадлежит IgG человека, такой как IgG4 или IgG1. В некоторых аспектах, часть константной области служит спейсерной областью между антигенраспознающим компонентом, например, scFv, и трансмембранным доменом. Спейсер может иметь длину, обеспечивающую повышенную реакцию клетки после антигенного связывания, по сравнению с отсутствием спейсера. Типовые спейсеры включают, но не ограничены ими, такие, которые описаны у Hudecek *et al.* (2013) *Clin. Cancer Res.*, 19:3153, публикации международной заявки на патент № WO2014031687, Патенте США № 8,822,647 или опубликованной заявке № US2014/0271635.

В некоторых вариантах осуществления, константная область или часть принадлежит IgG человека, такому как IgG4 или IgG1. В некоторых вариантах осуществления, спейсер имеет последовательность ESKYGPPCPPCP (указанную в SEQ ID NO: 1) и кодирован последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления, спейсер имеет последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3. В некоторых вариантах осуществления, спейсер имеет последовательность, указанную в SEQ ID NO: 4. В некоторых вариантах осуществления, константная область или часть принадлежит IgD. В некоторых вариантах осуществления, спейсер имеет последовательность, указанную в SEQ ID NO: 5. В некоторых вариантах осуществления, спейсер имеет последовательность аминокислот, которая демонстрирует, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности к любой из SEQ ID NOS: 1, 3, 4 или 5. В некоторых вариантах осуществления, спейсер имеет последовательность, указанную в SEQ ID NOS: 26-34. В некоторых вариантах осуществления, спейсер имеет последовательность аминокислот, которая демонстрирует, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности к любой из SEQ ID NOS: 26-34.

В некоторых вариантах осуществления, антигенный рецептор содержит внутриклеточный домен, связанный прямо или косвенно с внеклеточным доменом. В некоторых вариантах осуществления, химерный антигенный рецептор включает трансмембранный домен, связывающий внеклеточный домен и внутриклеточный сигнальный домен. В некоторых вариантах осуществления, внутриклеточный сигнальный домен содержит ITAM. Например, в некоторых аспектах, антигенраспознающий домен (например, внеклеточный домен) обычно связан с одним или несколькими внутриклеточными сигнальными компонентами, такими как сигнальные компоненты, которые имитируют активацию через комплекс антигенного рецептора, такой как TCR комплекс, в случае CAR и/или сигнал через другой рецептор клеточной поверхности. В некоторых вариантах осуществления, химерный рецептор содержит трансмембранный домен, связанный или слитый между внеклеточным доменом (например, scFv) и внутриклеточным сигнальным доменом. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления, антигенсвязывающий компонент (например, антитело) связан с одним или несколькими трансмембранными и внутриклеточными сигнальными доменами.

В одном варианте осуществления, применяют трансмембранный домен, который в природе ассоциирован с одним из доменов в рецепторе, например, CAR. В некоторых случаях, трансмембранный домен выбирают или модифицируют аминокислотной заменой для того, чтобы избежать связывания таких доменов с трансмембранными доменами тех же или других белков поверхностной мембраны для минимизации взаимодействий с другими членами рецепторного комплекса.

Трансмембранный домен в некоторых вариантах осуществления получают либо из природного, либо из синтетического источника. Если источник является природным, домен

в некоторых аспектах получают из любого мембраносвязанного или трансмембранного белка. Трансмембранные области включают такие, которые получены из (т.е. содержат, по меньшей мере, трансмембранные области) альфа, бета или дзета цепи Т-клеточного рецептора, CD28, CD3 эпсилон, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD 134, CD 137, CD 154. Альтернативно, трансмембранный домен в некоторых вариантах осуществления является синтетическим. В некоторых аспектах, синтетический трансмембранный домен содержит преимущественно гидрофобные остатки, такие как лейцин и валин. В некоторых аспектах, триплет фенилаланина, триптофана и валина будет найден на каждом конце синтетического трансмембранного домена. В некоторых вариантах осуществления, связь происходит через линкеры, спейсеры и/или трансмембранные домены. В некоторых аспектах, трансмембранный домен содержит трансмембранную часть CD28.

В некоторых вариантах осуществления, внеклеточный домен и трансмембранный домен могут быть связаны прямо или косвенно. В некоторых вариантах осуществления, внеклеточный домен и трансмембранный связаны через спейсер, например, как описано в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления, рецептор содержит внеклеточную часть молекулы, из которой получен трансмембранный домен, например, CD28 внеклеточную часть.

Внутриклеточные сигнальные домены включают такие, которые имитируют или аппроксимируют сигнал через природный антигенный рецептор, сигнал через такой рецептор в комбинации с костимулирующим рецептором и/или сигнал через только костимулирующий рецептор. В некоторых вариантах осуществления, короткий олиго- или полипептидный линкер, например, линкер, имеющий от 2 до 10 аминокислот в длину, например, содержащий глицины и серины, например, дублет глицин-серин, присутствует и образует связь между трансмембранным доменом и цитоплазматическим сигнальным доменом CAR.

Активация Т клетки в некоторых аспектах описана как опосредованная двумя классами цитоплазматических сигнальных последовательностей: таких, которые инициируют антигензависимую первичную активацию через TCR (первичные цитоплазматические сигнальные последовательности) и таких, которые действуют антигензависимым образом для получения вторичного или костимулирующего сигнала (вторичные цитоплазматические сигнальные последовательности). В некоторых аспектах, CAR включает одну или оба таких сигнальных компонентов.

Рецептор, например, CAR, обычно включает, по меньшей мере, один внутриклеточный сигнальный компонент или компоненты. В некоторых аспектах, CAR включает первичную цитоплазматическую сигнальную последовательность, которая регулирует первичную активацию TCR комплекса. Первичные цитоплазматические сигнальные последовательности, которые действуют как стимуляторы могут содержать сигнальные мотивы, которые известны как иммунорецепторные тирозиновые активирующие мотивы или ITAM. Примеры ITAM, содержащего первичные

цитоплазматические сигнальные последовательности, включают такие, которые получают из CD3 дзета цепи, FcR гамма, CD3 гамма, CD3 дельта и CD3 эпсилон. В некоторых вариантах осуществления, цитоплазматические сигнальные молекулы в CAR содержат цитоплазматический сигнальный домен, его часть или последовательность, полученную из CD3 дзета.

В некоторых вариантах осуществления, рецептор включает внутриклеточный компонент TCR комплекса, такой как TCR CD3 цепь, которая опосредует Т-клеточную активацию и цитотоксичность, например, CD3 дзета цепь. Таким образом, в некоторых аспектах, антигенсвязывающая часть связана с одним или несколькими клеточными сигнальными модулями. В некоторых вариантах осуществления, клеточные сигнальные модули включают CD3 трансмембранный домен, CD3 внутриклеточные сигнальные домены и/или другие CD трансмембранные домены. В некоторых вариантах осуществления, рецептор, например, CAR, дополнительно включает часть одной или нескольких дополнительных молекул, таких как Fc рецептор γ, CD8, CD4, CD25 или CD 16. Например, в некоторых аспектах, CAR или другой химерный рецептор включает химерную молекулу между CD3-дзета (CD3-ζ) или Fc рецептор γ и CD8, CD4, CD25 или CD16.

В некоторых вариантах осуществления, при лигировании CAR или другого химерного рецептора, цитоплазматический домен или внутриклеточный сигнальный домен рецептора активирует, по меньшей мере, одну из обычных эффекторных функций или ответы иммунной клетки, например, Т клетки, сконструированной для экспрессирования CAR. Например, в некоторых контекстах, CAR вызывает функцию Т клетки, такую как цитолитическая активность или Т-хелперная активность, такая как секреция цитокинов или других факторов. В некоторых вариантах осуществления, усеченную часть внутриклеточного компонента сигнального домена антигенного рецептора или костимулирующей молекулы применяют вместо интактной иммуностимулирующей цепи, например, если она трансдуцирует сигнал эффекторной функции. В некоторых вариантах осуществления, внутриклеточный сигнальный домен или домены включают цитоплазматические последовательности Т клеточного рецептора (TCR) и, в некоторых аспектах, таковые корецепторов, которые в природном контексте действуют согласованно с такими рецепторами для инициации трансдукции сигнала после соединения антигенного рецептора.

В контексте природного TCR, полная активация обычно требует не только передачи сигналов через TCR, но также костимулирующего сигнала. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления, чтобы способствовать полной активации, в CAR также включен компонент для генерации вторичного или костимулирующего сигнала. В других вариантах осуществления, CAR не включает компонент для генерации костимулирующего сигнала. В некоторых аспектах, дополнительный CAR экспрессирован в той же клетке и обеспечивает компонент для генерации вторичного или костимулирующего сигнала.

В некоторых вариантах осуществления, химерный антигенный рецептор содержит внутриклеточный домен костимулирующей молекулы Т-клетки. В некоторых вариантах

осуществления, CAR включает сигнальный домен и/или трансмембранную часть костимулирующего рецептора, такого как CD28, 4-1BB, OX40, DAP10 и ICOS. В некоторых аспектах, один и тот же CAR включает как активирующий, так и костимулирующий компоненты. В некоторых вариантах осуществления, химический антигенный рецептор содержит внутриклеточный домен, полученный из костимулирующей молекулы Т-клетки или ее функционального варианта, например, между трансмембранным доменом и внутриклеточным сигнальным доменом. В некоторых аспектах костимулирующей молекулой Т-клетки является CD28 или 41BB.

В некоторых вариантах осуществления, активирующий домен включен в пределах одного CAR, тогда как костимулирующий компонент обеспечивается другим CAR, распознающим другой антиген. В некоторых вариантах осуществления, CAR включают активирующие или стимулирующие CAR, костимулирующие CAR, оба экспрессируются в одной и той же клетке (см. WO2014/055668). В некоторых аспектах, клетки включают один или несколько стимулирующих или активирующих CAR и/или костимулирующих CAR. В некоторых вариантах осуществления, клетки дополнительно включают ингибирующие CAR (iCAR, см. Fedorov et al., Sci. Transl. Medicine, 5(215) (December, 2013), такие как CAR, распознающие антиген, отличный от ассоциированного с заболеванием или состоянием, при котором активирующий сигнал, доставляемый через направленный на заболевание CAR, уменьшается или ингибируется связыванием ингибирующего CAR с его лиганда, например, для уменьшения выключения нецелевых эффектов.

В некоторых вариантах осуществления, два рецептора вызывают, соответственно, активирующий и ингибирующий сигнал в клетке, так что лигирование одного из рецепторов с его антигеном активирует клетку или индуцирует ответ, но лигирование второго рецептора ингибитора с его антигеном индуцирует сигнал, который подавляет или уменьшает этот ответ. Примерами являются комбинации активирующих CAR и ингибирующих CAR (iCAR). Такую стратегию можно использовать, например, для уменьшения вероятности нецелевых эффектов в контексте, в котором активирующий CAR связывает антиген, экспрессированный заболеванием или состоянием, но который также экспрессируется в нормальных клетках, и ингибирующий рецептор связывается с отдельным антигеном, который экспрессируется в нормальных клетках, но не в клетках заболевания или состояния.

В некоторых аспектах, химерным рецептором является или включает ингибирующий CAR (например, iCAR) и включает внутриклеточные компоненты, которые ослабляют или подавляют иммунный ответ, например, стимулируемый ITAM- и/или костимулятором ответ в клетке. Типовые внутриклеточные сигнальные компоненты включают такие, которые найдены на молекулах иммунных контрольных точек, включая PD-1, CTLA4, LAG3, BTLA, OX2R, TIM-3, TIGIT, LAIR-1, PGE2ирецепторы, EP2/4 аденозиновые рецепторы, включая A2AR. В некоторых аспектах, сконструированная клетка включает в себя ингибирующий CAR, включая сигнальный домен или производный от такой ингибирующей молекулы, так что он служит для подавления ответа клетки,

например, вызванного активирующим и/или костимулирующим CAR.

В определенных вариантах осуществления, внутриклеточный сигнальный домен содержит CD28 трансмембранный и сигнальный домен, связанный с CD3 (например, CD3-дзета) внутриклеточным доменом. В некоторых вариантах осуществления, внутриклеточный сигнальный домен содержит химерный CD28 и CD137 (4-1BB, TNFRSF9) костимулирующие домены, связанные с CD3 дзета внутриклеточным доменом.

В некоторых вариантах осуществления, CAR охватывает один или несколько, например, два или несколько, костимулирующих доменов и активирующий домен, например, первичный активирующий домен, в цитоплазматической части. Типовые CAR включают внутриклеточные компоненты CD3-дзета, CD28 и 4-1BB.

В некоторых вариантах осуществления, антигенный рецептор дополнительно включает маркер и/или клетки, экспрессирующие CAR, или другой антигенный рецептор дополнительно включает суррогатный маркер, такой как маркер клеточной поверхности, который может использоваться для подтверждения трансдукции или конструирования клетки для экспрессирования рецептора. В некоторых аспектах, маркер включает всю или часть (например, усеченную форму) CD34, NGFR или рецептора эпидермального фактора роста, например усеченную версию такого рецептора клеточной поверхности (например, tEGFR). В некоторых вариантах осуществления, нуклеиновая кислота, кодирующая маркер, функционально связана с полинуклеотидом, кодирующим линкерную последовательность, такую как расщепляемую линкерную последовательность, например, T2A. Например, маркер и, необязательно линкерная последовательность может быть любой, как описано в опубликованной заявке на патент № WO2014031687. Например, маркер может быть усеченным EGFR (tEGFR), который, необязательно, связан с линкерной последовательностью, такой как T2A расщепляемая линкерная последовательность.

Типовой полипептид для усеченного EGFR (например, tEGFR) содержит последовательность аминокислот, указанную в SEQ ID NO: 7 или 16, или последовательность аминокислот, которая демонстрирует, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности к SEQ ID NO: 7 или 16. Типовая T2 линкерная последовательность содержит последовательность аминокислот, указанную в SEQ ID NO: 6 или 17, или последовательность аминокислот, которая демонстрирует, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности к SEQ ID NO: 6 или 17.

В некоторых вариантах осуществления, маркером является молекула, например, белок клеточной поверхности, не обнаруживаемый в природе на Т-клетках или не обнаруживаемый в природе на поверхности Т-клеток, или его часть. В некоторых вариантах осуществления, молекулой является не «своя» молекула, например, не «свой» белок, т.е. тот, который не распознается как «свой» иммунной системой хозяина, которому клетки будут адоптивно перенесены.

В некоторых вариантах осуществления маркер не выполняет терапевтическую

функцию и/или не оказывает никакого действия, кроме использования в качестве маркера для генной инженерии, например, для отбора успешно сконструированных клеток. В других вариантах осуществления, маркер может быть терапевтической молекулой или молекулой, другим образом оказывающей некоторый желаемый эффект, например лигандом для клетки, встречающейся in vivo, такой как костимулирующая или молекула иммунной контрольной точки для усиления и/или подавления ответа клеток на адоптивный перенос и встречу с лигандом.

В некоторых случаях CAR относятся к CAR первого, второго и/или третьего поколения. В некоторых аспектах CAR первого поколения включают такие, которые обеспечивают только сигнал, индуцированный CD3-цепью при антигеном связывании; в некоторых аспектах CAR второго поколения являются такие, которые обеспечивают такой сигнал и костимулирующий сигнал, например, тот, который включает внутриклеточный сигнальный домен от костимулирующего рецептора, такого как CD28 или CD137; в некоторых аспектах CAR третьего поколения являются такие, которые включают несколько костимулирующих доменов разных костимулирующих рецепторов.

Например, в некоторых вариантах осуществления CAR содержит антитело, например, фрагмент антитела, трансмембранный домен, который является или содержит трансмембранную часть CD28 или ее функциональный вариант, и внутриклеточный сигнальный домен, содержащий сигнальную часть CD28 или ее функциональный вариант и сигнальную часть CD3 дзета или ее функциональный вариант. В некоторых вариантах осуществления CAR содержит антитело, например, фрагмент антитела, трансмембранный домен, который является или содержит трансмембранную часть CD28 или ее функциональный вариант, и внутриклеточный сигнальный домен, содержащий сигнальную часть 4-1BB или ее функциональный вариант и сигнальную часть CD3 дзета или ее функциональный вариант. В некоторых вариантах осуществления, рецептор дополнительно включает спейсер, содержащий часть молекулы Ig, такой как молекула Ig человека, такая как шарнирный Ig, например, шарнир IgG4, такой как спейсер, содержащий только шарнир.

В некоторых вариантах осуществления, трансмембранный домен рекомбинантного рецептора, например, CAR, является или включает трансмембранный домен CD28 человека (например, № доступа P01747.1) или его вариант, такой как трансмембранный домен, который содержит последовательность аминокислот, указанную в SEQ ID NO: 8, или последовательность аминокислот, которая демонстрирует, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности к SEQ ID NO: 8; в некоторых вариантах осуществления, трансмембранный домен, содержащий часть рекомбинантного рецептора, содержит последовательность аминокислот, указанную в SEQ ID NO: 9 или последовательность аминокислот, имеющую, по меньшей мере, точно или примерно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности к ней.

В некоторых вариантах осуществления, внутриклеточные сигнальные компоненты рекомбинантного рецептора, *например,* CAR, содержат внутриклеточный костимулирующий сигнальный домен CD28 человека или его функциональный варианта или часть, такой как домен с LL - GG заменой в положениях 186-187 нативного CD28 белка. Например, внутриклеточный сигнальный домен может содержать последовательность аминокислот, указанную в SEQ ID NO: 10 или 11, или последовательность аминокислот, которая демонстрирует, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности к SEQ ID NO: 10 или 11. В некоторых вариантах осуществления, внутриклеточный домен содержит внутриклеточный костимулирующий сигнальный домен 4-1BB (например (№ доступа Q07011.1) или его функциональный вариант или часть, например, последовательность аминокислот, указанную в SEQ ID NO: 12, или последовательность аминокислот, которая демонстрирует, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности к SEQ ID NO: 12.

В некоторых вариантах осуществления, внутриклеточный сигнальный домен рекомбинантного рецептора, *например,* CAR, содержит стимулирующий сигнальный домен CD3 дзета человека или его функциональный вариант, такой как 112 AA цитоплазматический домен изоформы 3 CD3ζ человека (№ доступа: P20963,2) или а CD3 дзета сигнальный домен, как описано в Патенте США №: 7,446,190 или Патенте США № 8,911,993. Например, в некоторых вариантах осуществления, внутриклеточный сигнальный домен содержит последовательность аминокислот, указанную в SEQ ID NO: 13, 14 или 15 или последовательность аминокислот, которая демонстрирует, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности к SEQ ID NO: 13, 14 или 15.

В некоторых аспектах, спейсер содержит только шарнирную область IgG, например, только шарнир IgG4 или IgG1, такой как только шарнирный спейсер, указанный в SEQ ID NO: 1. В других вариантах осуществления, спейсером является или содержит Ig шарнир, например, IgG4-полученный шарнир, необязательно, связанный с C_H2 и/или C_H3 доменами. В некоторых вариантах осуществления, спейсером является Ig шарнир, например, IgG4 шарнир, связанный с C_H2 и C_H3 доменами, такой как указан в SEQ ID NO: 4. В некоторых вариантах осуществления, спейсером является Ig шарнир, например, IgG4 шарнир, связанный только с C_H3 доменом, таким как указан в SEQ ID NO: 3. В некоторых вариантах осуществления, спейсером является или содержит насыщенную глицином-серином последовательность или другой гибкий линкер, такой как известные гибкие линкеры.

Например, в некоторых вариантах осуществления, CAR включает антитело, такое как фрагмент антитела, включая scFvs, спейсер, такой как спейсер, содержащий часть молекулы иммуноглобулина, такую как шарнирная область и/или одна или несколько константных областей тяжелой цепи молекулы, такой как содержащий Ig-шарнир спейсер, трансмембранный домен, содержащий весь или часть CD28-полученного трансмембранного домена, CD28-полученного внутриклеточного сигнального домена и

CD3 дзета сигнального домена. В некоторых вариантах осуществления, CAR включает антитело или фрагмент, такой как scFv, спейсер, такой как любой из содержащих Ig-шарнир спейсеров, CD28-полученный трансмембранный домен, 4-1BB-полученный внутриклеточный сигнальный домен и CD3 дзета-полученный сигнальный домен.

В конкретных вариантах осуществления, CAR является CD19-направленным CAR, содержащий scFv антигенсвязывающ домен из FMC63; иммуноглобулиновый шарнирный спейсер, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен, содержащий костимулирующую сигнальную область, который является сигнальным доменом 4-1BB и сигнальным доменом CD3-дзета (CD3ζ) цепи. В некоторых вариантах осуществления, scFv содержит последовательность, указанную в SEQ ID NO::43. В некоторых вариантах осуществления, scFv имеет VL, имеющий CDR, имеющие аминокислотную последовательность RASQDISKYLN (SEQ ID NO: 35), аминокислотную последовательность SRLHSGV (SEQ ID NO: 36) и аминокислотную последовательность GNTLPYTFG (SEQ ID NO: 37); и VH с CDR, имеющими аминокислотную последовательность DYGVS (SEQ ID NO: 38), аминокислотную последовательность VIWGSETTYYNSALKS (SEQ ID NO: 39) и YAMDYWG (SEQ ID NO: 40)). В некоторых вариантах осуществления, трансмембранный домен имеет последовательность, указанную в SQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления, трансмембранный домен имеет последовательность, которая имеет, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности к SEQ ID NO:8.

В некоторых вариантах, 4-1BB костимулирующий сигнальный домен имеет последовательность, указанную в SEQ ID NO:12. В некоторых вариантах осуществления, 4-1BB костимулирующий сигнальный домен имеет последовательность на, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичную последовательности SEQ ID NO:12. В некоторых вариантах осуществления, CD3-дзета домен имеет последовательность, указанную в SEQ ID NO: 13. В некоторых вариантах осуществления, CD3 дзета сигнальный домен имеет последовательность, имеющую, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности к ней. В некоторых вариантах осуществления, CD19-направленный CAR связывается с Cd19 и опосредует продуцирование цитокина и/или цитотоксическую активность против Cd19+ клеток-мишеней при экспрессировании в Т клетке и стимулируется через CAR, например, через связывание с CD19.

В некоторых вариантах осуществления, молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие такие конструкции CAR, дополнительно включают последовательность, кодирующую T2A элемент проскока рибосомы и/или tEGFR последовательность, например, ниже последовательности, кодирующей CAR. В некоторых вариантах осуществления, последовательность кодирует T2A элемент проскока рибосомы, указанный в SEQ ID NO: 6 или 17 или последовательность аминокислот, которая демонстрирует, по

меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности к SEQ ID NO: 6 или 17. В некоторых вариантах осуществления, Т клетки, экспрессирующие антигенный рецептор (например CAR) также могут быть созданы для экспрессии усеченного EGFR (EGFRt) в виде эпитопа не иммуногенной селекции (например, через введение конструкции, кодирующей CAR и EGFRt, разделенные T2A рибосомой, переключенной на экспрессию двух белков из одной и той же конструкции), который затем может применяться как маркер для определения таких клеток (см. например Патент США № 8,802,374). В некоторых вариантах осуществления, последовательность кодирует tEGFR последовательность, указанную в SEQ ID NO: 7 или 16 или последовательность аминокислот, которая демонстрирует, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности к SEQ ID NO: 7 или 16. В некоторых случаях, пептид, такой как T2A, может вызывать синтез с проскоком рибосомы (проскок рибосомы) пептидной связи на С-конце 2A элемента, что приводит в разделению между концом 2A последовательности и следующим пептидом ниже (*см.*, например, de Felipe. *Genetic Vaccines and Ther.* 2:13 (2004) и deFelipe *et al.Traffic* 5:616-626 (2004)). Известно множество элементов 2A. Примеры 2A последовательностей, которые могут применяться в способах и нуклеиновых кислотах описанных в настоящем документе, включают, без ограничений, 2A последовательности из вируса ящура (F2A, *например*, SEQ ID NO: 21), вируса ринита лошадей A (E2A, *например*, SEQ ID NO: 20), вируса Thosea asigna (T2A, *например*, SEQ ID NO: 6 или 17) и тешовируса свиней-1 (P2A, *например*, SEQ ID NO: 18 или 19) как описано в патенте США № 20070116690.

Рекомбинантные рецепторы, такие как CAR, экспрессированные клетками, которые вводят субъекту, обычно распознают или специфически связываются с молекулой, которая экспрессируется, ассоциирована с и/или является специфичной для данного заболевания или состояния или их клеток, подвергаемых лечению. При специфическом связывании с молекулой, например, антигеном, рецептор обычно доставляет иммуностимулирующий сигнал, такой как сигнал, трансдуцированный ITAM, в клетку, тем самым стимулируя иммунный ответ, направленный на заболевание или состояние. Например, в некоторых вариантах осуществления, клетки экспрессируют CAR который специфически связывается с антигеном, экспрессированным клеткой или тканью заболевания или состояния или ассоциированным с заболеванием или состоянием.

B. Т-клеточные рецепторы (TCR)

В некоторых вариантах осуществления, сконструированные клетки, такие как Т-клетки, используемые в связи с представленными способами, применениями, готовыми изделиями или композициями являются клетками, которые экспрессируют Т-клеточный рецептор (TCR) или его антигенсвязывающую часть, который распознает пептидный эпитоп или Т-клеточный эпитоп целевого полипептида, такого как антиген опухоли, вирусный или аутоиммунный белок.

В некоторых вариантах осуществления, «Т клеточный рецептор» или «TCR»

является молекулой, которая содержит вариабельные α и β цепи (также известные как TCRα и TCRβ, соответственно) или вариабельные γ и δ цепи (также известные как TCRα и TCRβ, соответственно) или ее антигенсвязывающей частью, и которая способна специфически связываться с пептидной связью с MHC молекулой. В некоторых вариантах осуществления, TCR имеет αβ форму. Обычно, TCR, которые существуют в αβ и γδ формах, обычно являются структурно подобными, но Т клетки, экспрессирующие их, могут иметь разные анатомические локации или функции. TCR может быть найден на поверхности клетки или в растворимой форме. Обычно, TCR найден на поверхности Т клеток (или Т лимфоцитов), где он обычно отвечает за распознающие антигены, связанные с молекулами главного комплекса гистосовместимости (MHC).

Если не указано иное, термин «TCR» должен пониматься как охватывающий полные TCR, а также их антигенсвязывающие части или антигенсвязывающие фрагменты. В некоторых вариантах осуществления, TCR является интактным или полноразмерным TCR, включая TCR в αβ форме или γδ форме. В некоторых вариантах осуществления, TCR является антигенсвязывающая часть, которая меньше, чем полноразмерный TCR, но которая связывается со специфической пептидной связью в молекуле MHC, например, связывается с MHC-пептидным комплексом. В некоторых случаях, антигенсвязывающая часть или фрагмент TCR может содержать только часть структурных доменов полноразмерного или интактного TCR, но также способен связывать пептидный эпитоп, такой как MHC-пептидный комплекс, с которым связывается полный TCR. В некоторых случаях, антигенсвязывающая часть содержит вариабельные домены TCR, такие как вариабельная α цепь и вариабельная β цепь TCR, в достаточной степени, чтобы сформировать сайт связывания для связывания со специфическим MHC-пептидным комплексом. Обычно, вариабельные цепи TCR содержит определяющие комплементарность области, вовлеченные в распознавание пептида, MHC и/или MHC-пептидного комплекса.

В некоторых вариантах осуществления, вариабельные домены TCR содержат гипервариабельные петли или определяющие комплементарность области (CDR), которые обычно вносят первичный вклад в способность распознавания и связывания антигена и специфичность. В некоторых вариантах осуществления, CDR TCR или их комбинации образуют весь или по существу весь антигенсвязывающий сайт данной молекулы TCR. Разные CDR в пределах вариабельной области цепи TCR обычно разделены каркасными областями (FR), которые обычно демонстрируют меньшую вариабельность среди молекул TCR, чем по сравнению с CDR (см., например, Jores et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. U.S.A. 87:9138, 1990; Chothia et al., EMBO J. 7:3745, 1988; см. также Lefranc et al., Dev. Comp. Immunol. 27:55, 2003). В некоторых вариантах осуществления, CDR3 является основной CDR, ответственной за антигенное связывание или специфичность, или является наиболее важной среди трех CDR в данной вариабельной области TCR для распознавания антигена и/или для взаимодействия с обработанной пептидной частью пептид-MHC комплекса. В некоторых контекстах, CDR1 альфа цепи может взаимодействовать с N-концевой частью

некоторых антигенных пептидов. В некоторых контекстах, CDR1 бета цепи может взаимодействовать с С-концевой частью пептида. В некоторых контекстах, CDR2 вносит наибольший вклад или является первичной CDR, ответственной за взаимодействие или распознавание части MHC MHC-пептидного комплекса. В некоторых вариантах осуществления, вариабельная область β-цепи может содержать дополнительную гипервариабельную область (CDR4 или HVR4), которая обычно участвует в распознавании связывания суперантигена, но не распознавания антигена (Kotb (1995) Clinical Microbiology Reviews, 8:411-426).

В некоторых вариантах осуществления, TCR также содержит константный домен, трансмембранный домен и/или короткий цитоплазматический хвост (см., например, Janeway et al., Immunobiology: The Immune System in Health and Disease, 3rd Ed., Current Biology Publications, p. 4:33, 1997). В некоторых аспектах, каждая цепь TCR может иметь один N-концевой иммуноглобулиновый вариабельный домен, один иммуноглобулиновый постоянный домен, трансмембранную область и короткий цитоплазматический хвост на С-конце. В некоторых вариантах осуществления, TCR ассоциирован с инвариантнымм белками CD3 комплекса, участвующими в опосредовании передачи сигнала.

В некоторых вариантах осуществления цепь TCR содержит один или несколько константных доменов. Например, внеклеточная часть данной цепи TCR (например, α-цепи или β-цепи) может содержать два иммуноглобулин-подобных домена, таких как вариабельный домен (например, Vα или Vβ; обычно аминокислоты 1-116 по нумерации Kabat, Kabat et al., «Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Dept. Health and Human Services, Public Health Service National Institutes of Health, 1991, 5th ed.) и константный домен (например, константный домен α цепи или Cα, обычно, положения 117-259 цепи на основе нумерации Kabat, или константный домен β цепи или C_β, обычно положения 117-295 цепи по Kabat) соседние к клеточной мембране. Например, в некоторых случаях, внеклеточная часть TCR, образованная двумя цепями, содержит два константных домена, проксимальных к мембране и два вариабельных домена, дистальных к мембране, где каждый из вариабельных доменов содержит CDR. Константный домен TCR может содержать короткие соединительные последовательности, в которых цистеиновый остаток образует дисульфидную связь, тем самым связывая две цепи TCR. В некоторых вариантах осуществления, TCR может иметь дополнительный цистеиновый остаток в каждой из α и β цепей, так что TCR содержит две дисульфидные связи в константном домене.

В некоторых вариантах осуществления, TCR цепи содержат трансмембранный домен. В некоторых вариантах осуществления, трансмембранный домен положительно заряжен. В некоторых случаях, TCR цепь содержит цитоплазматический хвост. В некоторых случаях, структура позволяет TCR связываться с другими CD3 подобными молекулами и их субъединицами. Например, TCR, содержащий константные домены с трансмембранной областью, может связать белок в клеточной мембране и связываться с инвариантными субъединицами CD3 сигнального аппарата или комплекса. Внутриклеточные хвосты CD3 сигнальных субъединиц (например CD3γ, CD3δ, CD3ε и

CD3ζ цепи) содержат один или несколько иммунорецепторных тирозиновых активирующих мотивов или ITAM, которые вовлечены в сигнальную способность TCR комплекса.

В некоторых вариантах осуществления, TCR может быть гетеродимером из двух цепей α и β (или, необязательно, γ и δ) или он может быть одноцепочечной TCR конструкцией. В некоторых вариантах осуществления, TCR является гетеродимер, содержащий две отдельные цепи (α и β цепи или γ и δ цепи), которые связаны, например, дисульфидной связью или дисульфидными связями.

В некоторых вариантах осуществления, TCR может быть создан из известных TCR последовательностей, таких как последовательности Vα,β цепей, для которых легко доступна по существу полноразмерная последовательность кодирования. Способы получения полноразмерных TCR последовательностей, включая последовательности V цепей, из клеточных источников, хорошо известны. В некоторых вариантах осуществления, нуклеиновые кислоты, кодирующие TCR, могут быть получены из множества источников, например, амплификацией с полимеразной цепной реакцией (ПЦР) нуклеиновых кислот, кодирующих TCR, внутри или выделенных из данной клетки или клеток, или синтезом общедоступных ДНК последовательностей TCR.

В некоторых вариантах осуществления, TCR получают из биологического источника, такого как клетки, например, из Т-клеток (например, цитотоксических Т-клеток), Т-клеточных гибридом или другого общедоступного источника. В некоторых вариантах осуществления, Т-клетки могут быть получены из клеток, изолированных *in vivo*. В некоторых вариантах осуществления, TCR является тимически выбранным TCR. В некоторых вариантах осуществления, TCR является неоэпитоп-ограниченным TCR. В некоторых вариантах осуществления, Т-клетками могут быть культивируемой гибридомой или клоном Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления, TCR или его антигенсвязывающая часть или его антигенсвязывающий фрагмент могут быть получены синтетически на основе знания последовательности TCR.

В некоторых вариантах осуществления, TCR создают из TCR, идентифицированного или выбранного из скрининга библиотеки кандидатных TCR против полипептидного антигена-мишени или его Т-клеточного эпитопа-мишени. TCR библиотеки могут быть созданы амплификацией репертуара Vα и Vβ из Т-клеток, выделенных от субъекта, включая клетки, присутствующие в PBMC, селезенке или другом лимфоидном органе. В некоторых случаях Т-клетки могут быть амплифицированы из инфильтрирующих опухоль лимфоцитов (TIL). В некоторых вариантах осуществления, библиотеки TCR могут быть получены из $CD4^+$ или $CD8^+$ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления, TCR могут быть амплифицированы из источника Т-клеток от нормального или здорового субъекта, т.е. обычных библиотек TCR. В некоторых вариантах осуществления, TCR могут быть амплифицированы из источника Т-клеток от больного субъекта, т.е. болезненных библиотек TCR. В некоторых вариантах осуществления, вырожденные праймеры используют для амплификации репертуара генов Vα и Vβ, например, с помощью ОТ-ПЦР

в образцах, таких как Т-клетки, полученных от человека. В некоторых вариантах осуществления, библиотеки scTv могут быть собраны из наивных библиотек Vα и Vβ, в которых амплифицированные продукты клонированы или собраны для разделения линкером. В зависимости от исходного субъекта и клеток, библиотеки могут быть HLA аллель-специфичными. Альтернативно, в некоторых вариантах осуществления, библиотеки TCR могут быть созданы мутагенезом или диверсификацией исходной молекулы или каркасной молекулы TCR. В некоторых аспектах, TCR подвергают направленной эволюции, такой как мутагенез, например, α или β цепи. В некоторых аспектах, конкретные остатки в пределах CDR TCR изменены. В некоторых вариантах осуществления, выбранные TCR могут быть модифицированы по аффинности созревания. В некоторых вариантах осуществления, антигенспецифические Т-клетки могут быть выбраны, например, скринингом, для оценки активности CTL против пептида. В некоторых аспектах могут быть выбраны TCR, например, присутствующие на антигенспецифических Т-клетках, например, по активности связывания, например, конкретной аффинности или авидности к антигену.

В некоторых вариантах осуществления, TCR или его антигенсвязывающая часть является модифицированной или сконструированной. В некоторых вариантах осуществления, способы направленной эволюции используют для создания TCR с измененными свойствами, например с более высокой аффинностью для конкретного MHC-пептидного комплекса. В некоторых вариантах осуществления, направленная эволюция достигается способами дисплея, включая, но не ограничиваясь ими, дрожжевой дисплей (Holler et al. (2003) Nat Immunol, 4, 55-62; Holler et al. (2000) Proc Natl Acad Sci U S A, 97, 5387-92), фагового дисплея (Li et al. (2005) Nat Biotechnol, 23, 349-54) или Т-клеточного дисплея (Chervin et al. (2008) J Immunol Methods, 339, 175-84). В некоторых вариантах дисплейные подходы включают конструирование или модификацию известного родительского или эталонного TCR. Например, в некоторых случаях, TCR дикого типа можно использовать в качестве шаблона для получения мутагенизированных TCR, в которых один или несколько остатков CDR являются мутированными, и выбраны мутанты с желаемым измененным свойством, таким как более высокая аффинность для желаемого антигена-мишени.

В некоторых вариантах осуществления, пептиды полипептида-мишени для использования при продуцировании или создании TCR, представляющего интерес, известны или могут быть легко идентифицированы. В некоторых вариантах осуществления, пептиды, подходящие для использования при создании TCR или антигенсвязывающих частей, могут быть определены на основе присутствия HLA-ограниченного мотива в полипептиде-мишени, представляющем интерес, таком как полипептид-мишень, описанный ниже. В некоторых вариантах осуществления, пептиды идентифицируют с использованием доступных компьютерных моделей прогнозирования. В некоторых вариантах осуществления, для прогнозирования сайтов связывания MHC I класса такие модели включают, но не ограничены ими, ProPred1 (Singh and Raghava (2001)

Bioinformatics 17(12):1236-1237 и SYFPEITHI (см. Schuler et al. (2007) Immunoinformatics Methods in Molecular Biology, 409(1): 75-93 2007). В некоторых вариантах осуществления, МНС-ограниченным эпитопом является HLA-A0201, который экспрессирован у приблизительно 39-46% жителей Кавказа и поэтому представляет подходящий выбор МНС антигена для применения в получении TCR или другой МНС-пептид связывающей молекулы.

Известны HLA-A0201-связывающие мотивы и сайты расщепления для протеасом и иммунных протеасом с применением компьютерных прогностических моделей. Для прогнозирования сайтов связывания МНС I класса такие модели включают, но не ограничены ими, ProPred1 (более подробно описана у Singh and Raghava, ProPred: prediction of HLA-DR binding sites. BIOINFORMATICS 17(12):1236-1237 2001) и SYFPEITHI (см. Schuler et al. SYFPEITHI, Database for Searching and T-Cell Epitope Prediction. in Immunoinformatics Methods in Molecular Biology, vol 409(1): 75-93 2007)

В некоторых вариантах осуществления, TCR или его антигенсвязывающей частью может быть рекомбинантно продуцируемый природный белок или его мутированная форма, в которой было изменено одно или несколько свойств, таких как характеристики связывания. В некоторых вариантах осуществления, TCR может быть получен из одного из различных видов животных, таких как человек, мышь, крыса или другое млекопитающее. TCR может быть связанным с клеткой или в растворимой форме. В некоторых вариантах осуществления, для представленных способов, TCR находится в связанной с клеткой форме, экспрессированной на поверхности клетки.

В некоторых вариантах осуществления, TCR является полноразмерным TCR. В некоторых вариантах осуществления, TCR является антигенсвязывающей частью. В некоторых вариантах осуществления, TCR является димерным TCR (dTCR). В некоторых вариантах осуществления, TCR является одноцепочечным TCR (sc-TCR). В некоторых вариантах осуществления, dTCR или scTCR имеют структуры, описанные в WO 03/020763, WO 04/033685, WO2011/044186.

В некоторых вариантах осуществления, TCR содержит последовательность, соответствующую трансмембранной последовательности. В некоторых вариантах осуществления, TCR содержит последовательность, соответствующую цитоплазматическим последовательностям. В некоторых вариантах осуществления, TCR способен образовывать комплекс TCR с CD3. В некоторых вариантах осуществления, любой из TCR, включая dTCR или scTCR, может быть связан с сигнальным доменом, который дает активный TCR на поверхности Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления, TCR экспрессируется на поверхности клеток.

В некоторых вариантах осуществления, dTCR содержит первый полипептид, где последовательность, соответствующая последовательности вариабельная области TCR α цепи, слита с N концом последовательности, соответствующей внеклеточной последовательности константной области TCR α цепи, и второй полипептид, где последовательность, соответствующая последовательности вариабельной области TCR β

цепи, слита с N концом последовательности, соответствующей внеклеточной последовательности константной области TCR β цепи, первого и второго полипептидов, связанных дисульфидной связью. В некоторых вариантах осуществления, связь может соответствовать нативной межцепочечной дисульфидной связи, присутствующей в нативных димерных αβ TCR. В некоторых вариантах осуществления, межцепочечные дисульфидные связи отсутствуют в нативном TCR. Например, в некоторых вариантах осуществления, один или более цистеинов могут быть включены в константную область внеклеточной последовательности полипептидной пары dTCR. В некоторых случаях, может быть желательной как нативная, так и не нативная дисульфидная связь. В некоторых вариантах осуществления, TCR содержит трансмембранную последовательность для прикрепления к мембране.

В некоторых вариантах осуществления, dTCR содержит α цепь TCR, содержащую вариабельный α домен, константный α домен и первый мотив димеризации, присоединенный к С-концу константного α домена, и β цепь TCR, содержащую вариабельный β домен, а константный β домен и первый мотив димеризации, прикрепленный к С-концу константного β домена, где первый и второй мотивы димеризации легко взаимодействуют с образованием ковалентной связи между аминокислотой в первом мотиве димеризации и аминокислотой во втором мотиве димеризации, соединяя α цепь TCR и β цепь TCR вместе.

В некоторых вариантах осуществления, TCR является scTCR. Обычно, scTCR моет быть создан с применением известных способов, см. например, Soo Hoo, W. F. et al. PNAS (USA) 89, 4759 (1992); Wülfing, C. и Plückthun, A., J. Mol. Biol. 242, 655 (1994); Kurucz, I. et al. PNAS (USA) 90 3830 (1993); опубликованных международных PCT №№ WO 96/13593, WO 96/18105, WO99/60120, WO99/18129, WO 03/020763, WO2011/044186; и Schlueter, C. J. et al. J. Mol. Biol. 256, 859 (1996). В некоторых вариантах осуществления, scTCR содержит введенную не нативную межцепочечную дисульфидную связь, способствующую ассоциации TCR цепей (см. например публикацию международной PCT № WO 03/020763). В некоторых вариантах осуществления, scTCR является не связанным дисульфидом усеченным TCR, в котором гетерологичные лейциновые «молнии» слитые с его С-концами, способствуют ассоциации цепи (см., например, публикацию международной PCT № WO99/60120). В некоторых вариантах осуществления, scTCR содержит TCRα вариабельный домен, ковалентно связанный с TCRβ вариабельным доменом через пептидный линкер (см. например, публикацию международной PCT № WO99/18129).

В некоторых вариантах осуществления, scTCR содержит первый сегмент, состоящий из аминокислотной последовательности, соответствующей вариабельной области TCR α цепи, второй сегмент, состоящий из аминокислотной последовательности, соответствующей последовательности вариабельной области TCR β цепи, слитый с N концом аминокислотной последовательности, соответствующей внеклеточной последовательности константного домена TCR β цепи и линкерной последовательности, связывающей С конец первого сегмента с N концом второго сегмента.

В некоторых вариантах осуществления, scTCR содержит первый сегмент, составленный последовательностью вариабельной области α цепи, слитый с N концом внеклеточной последовательности константного домена α цепь, и второй сегмент, составленный последовательностью вариабельной области β цепи, слитый с N концом внеклеточной константной последовательности β цепи и трансмембранной последовательностью, и, необязательно, линкерную последовательность, связывающую C конец первого сегмента с N концом второго сегмента.

В некоторых вариантах осуществления, scTCR содержит первый сегмент, составленный последовательностью вариабельной области TCR β цепи, слитый с N концом внеклеточной последовательности константного домена β цепи, и второй сегмент, составленный последовательностью вариабельной области α цепи, слитый с N концом внеклеточной константной последовательности α цепи и трансмембранной последовательностью, и, необязательно, линкерную последовательность, связывающую C конец первого сегмента с N концом второго сегмента.

В некоторых вариантах осуществления, линкером scTCR, который связывает первый и второй сегменты TCR, может быть любой линкер, способный образовывать одну полипептидную нить, сохраняя специфичность TCR связывания. В некоторых вариантах осуществления, линкерная последовательность может, например, иметь формулу -P-AA-P-, где P является пролином и AA представляет аминокислотную последовательность, где аминокислотой является глицин и серин. В некоторых вариантах осуществления, первый и второй сегменты спарены так, чтобы последовательности их вариабельных областей были ориентированы для такого связывания. Следовательно, в некоторых случаях, линкер имеет достаточную длину для перекрытия расстояния между C концом первого сегмента и N концом второго сегмента или наоборот, но не является слишком блинным, чтобы блокировать или снижать связывание scTCR с лигандом-мишенью. В некоторых вариантах осуществления, линкер может содержать от или от примерно 10-45 аминокислот, например, 10-30 аминокислот или 26-41 аминокислотных остатков, например 29, 30, 31 или 32 аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления, линкер имеет формулу -PGGG-$(SGGGG)_5$-P-, где P является пролином, G является глицином и S является серином (SEQ ID NO:28). В некоторых вариантах осуществления, линкер имеет последовательность GSADDAKKDAAKKDGKS (SEQ ID NO:29)

В некоторых вариантах осуществления, scTCR содержит ковалентную дисульфидную связь, связывающую остаток иммуноглобулиновой области константного домена α цепи с остатком иммуноглобулиновой области константного домена β цепи. В некоторых вариантах осуществления, межцепочечная дисульфидная связь в нативном TCR отсутствует. Например, в некоторых вариантах осуществления, один или более цистеинов могут быть включены во внеклеточные последовательности константной области первого и второго сегментов scTCR полипептида. В некоторых случаях, может быть желательна как нативная, так и не нативная дисульфидная связь.

В некоторых вариантах осуществления dTCR или scTCR, содержащих введенные

межцепочечные дисульфидные связи, нативные дисульфидные связи отсутствуют. В некоторых вариантах осуществления, один или несколько нативных цистеинов, образующих нативные межцепочечные дисульфидные связи, заменены другим остатком, таким как серин или аланин. В некоторых вариантах осуществления, введенная дисульфидная связь может быть образована мутацией не цистеиновых остатков на первом и втором сегментах на цистеин. Типовые не нативные дисульфидные связи TCR описаны в опубликованной международной PCT № WO2006/000830.

В некоторых вариантах осуществления, TCR или его антигенсвязывающий фрагмент демонстрирует аффинность с равновесной константой связывания для антигена-мишени примерно или от примерно 10-5 до 10-12 M и все индивидуальные значения и диапазоны, указанные в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления, антигеном-мишенью является MHC-пептидный комплекс или лиганд.

В некоторых вариантах осуществления, нуклеиновая кислота или нуклеиновые кислоты, кодирующие TCR, такие как α и β цепи, могут быть амплифицированы с помощью ПЦР, клонирования или другими подходящими способами, и клонированы в подходящий вектор или векторы экспрессии. Вектором экспрессии может быть любой подходящий рекомбинантный вектор экспрессия и может использоваться для трансформации или трансфекции любого подходящего хозяина. Подходящие векторы включают векторы, предназначенные для размножения и размножения или для экспрессии, или обоих, такие как плазмиды и вирусы.

В некоторых вариантах осуществления, вектором может быть вектор серии pUC (Fermentas Life Sciences), серии pBluescript (Stratagene, LaJolla, Calif.), серии pET (Novagen, Madison, Wis.), серии pGEX (Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden) или серии pEX (Clontech, Palo Alto, Calif.). В некоторых случаях, также могут применяться векторы бактериофагов, такие как λG10, λGT11, λZapII (Stratagene), λEMBL4 и λNM1149. В некоторых вариантах осуществления, могут применяться растительные векторы экспрессии, которые включают pBI01, pBI101,2, pBI101,3, pBI121 и pBIN19 (Clontech). В некоторых вариантах осуществления, животные векторы экспрессии включают pEUK-Cl, pMAM и pMAMneo (Clontech). В некоторых вариантах осуществления, применяют вирусный вектор такой как ретровирусный вектор.

В некоторых вариантах осуществления, рекомбинантные векторы экспрессии могут быть получены с использованием стандартных методов рекомбинантных ДНК. В некоторых вариантах осуществления, векторы могут содержать регуляторные последовательности, такие как кодоны инициации и терминации транскрипции и трансляции, которые являются специфическим к типу хозяина (например, бактерии, грибу, растению или животному), в который должен быть введен вектор, как уместно и с учетом того, является ли вектор на основе ДНК или РНК. В некоторых вариантах осуществления вектор может содержать не нативный промотор, функционально связанный с нуклеотидной последовательностью, кодирующей TCR или антигенсвязывающую часть (или другую связывающую MHC-пептид молекулу). В некоторых вариантах осуществления, промотор

может быть не вирусным промотором или вирусным промотором, таким как промотор цитомегаловируса (CMV), промотор SV40, промотор RSV и промотор, обнаруженный в длинном концевом повторе вируса стволовых клеток мыши. Рассматриваются также другие известные промоторы.

В некоторых вариантах осуществления, для создания вектора, кодирующего TCR, α и β цепи амплифицируют с помощью ПЦР из всей кДНК, выделенной из клона Т-клеток, экспрессирующих TCR, представляющий интерес, и клонируют в вектор экспрессии. В некоторых вариантах осуществления, α и β цепи клонированы в один и тот же вектор. В некоторых вариантах осуществления, α и β цепи клонированы в разные векторы. В некоторых вариантах осуществления, образованные α и β цепи вставляют в ретровирусный, например лентивирусный, вектор. Генетически сконструированные клетки и способы получения клеток.

В некоторых вариантах осуществления, представленные способы включают введение субъекту, имеющему заболевание или состояние, клеток, экспрессирующих рекомбинантных антигенный рецептор. Различные методы введения генетически сконструированных компонентов, например, рекомбинантных рецепторов, например CAR или TCR, хорошо известны и могут использоваться с представленными способами и композициями. Типовые способы включают способы переноса нуклеиновых кислот, кодирующих рецепторы, в том числе через вирусную, например ретровирусную или лентивирусную, трансдукцию, транспозоны и электропорацию.

Клетки, экспрессирующие рецепторы и вводимые представленными способами, включают сконструированные клетки. Генная инженерия обычно включает введение нуклеиновой кислоты, кодирующей рекомбинантные или сконструированные компоненты, в композицию, содержащую клетки, например, путем ретровирусной трансдукции, трансфекции или трансформации.

C. Химерные рецепторы ауто-антитела (CAAR)

В некоторых вариантах осуществления, одним из рекомбинантных рецепторов, экспрессированных сконструированными клетками в связи с представленными способами, применениями, готовыми изделиями и композициями, являются химерные рецепторы аутоантитела (CAAR). В некоторых вариантах осуществления, CAAR являются специфическими к аутоантителу. В некоторых вариантах осуществления, клетка, экспрессирующая CAAR, такая как Т клетка, сконструированная для экспрессии CAAR, может применяться для специфического связывания с и уничтожения экспрессирующих аутоантитело клеток, но не нормальных экспрессирующих антитело клеток. В некоторых вариантах осуществления, CAAR-экспрессирующие клетки могут применяться для лечения аутоиммунного заболевания, ассоциированного с экспрессией собственных антигенов, такого как аутоиммунные заболевания. В некоторых вариантах осуществления, CAAR-экспрессирующие клетки могут таргетировать В клетки, которые исключительно продуцируют аутоантитела и отображают аутоантитела на своей клеточной поверхности, отмечая эти В клетки как специфические к заболеванию мишени для терапевтического

вмешательства. В некоторых вариантах осуществления, CAAR-экспрессирующие клетки могут применяться для эффективного таргетирования и уничтожения патогенных В клеток в аутоиммунных заболеваниях через таргетирование вызывающих заболевание В клеток с применением антигенспецифического химерного рецептора аутоантитела. В некоторых вариантах осуществления, рекомбинантным рецептором является CAAR, такой как описан в публикации заявки на патент США № US 2017/0051035.

В некоторых вариантах осуществления, CAAR содержит связывающий домен, трансмембранный домен и внутриклеточную сигнальную область аутоантитела. В некоторых вариантах осуществления, внутриклеточная сигнальная область содержит внутриклеточный сигнальный домен. В некоторых вариантах осуществления, внутриклеточный сигнальный домен является или содержит первичный сигнальный домен, сигнальный домен, который способен вызывать первичный сигнал активации в Т клетке, сигнальный домен компонента Т клеточного рецептора (TCR) и/или сигнальный домен, содержащий иммунорецепторный тирозиновый активирующий мотив (ITAM). В некоторых вариантах осуществления, внутриклеточная сигнальная область содержит вторичную или костимулирующую сигнальную область (вторичные внутриклеточные сигнальные области).

В некоторых вариантах осуществления, связывающий домен аутоантитела содержит аутоантиген или его фрагмент. Выбор аутоантигена может зависеть от типа таргетируемого аутоантитела. Например, аутоантиген может быть выбран, так как он распознает аутоантитело на клетке-мишени, такой как В клетка, ассоциированная с конкретным болезненным состоянием, например, аутоиммунным заболеванием, таким как аутоантитело-опосредованное аутоиммунное заболевание. В некоторых вариантах осуществления, аутоиммунное заболевание включает обыкновенную пузырчатку (PV). Типовые аутоантигены включают десмоглеин 1 (Dsg1) и Dsg3.

D. Многоцелевая стратегия

В некоторых вариантах осуществления, клетки, применяемые в связи с представленными способами, применениями, готовыми изделиями и композициями, включают клетки, применяющие многоцелевые стратегии, такие как экспрессия двух или нескольких генетически сконструированных рецепторов не клетке, каждый из которых распознает тот же или разные антигены, и обычно каждый включает разные внутриклеточные сигнальные компоненты. Такие многоцелевые стратегии описаны, например, в публикации международной заявки на патент №: WO 2014055668 A1 (в которой описаны комбинации активирующих и костимулирующих CAR, например, направленные на два разных антигена, присутствующих по отдельности на поверхности не целевых, например, нормальных клеток, но присутствующих вместе только на клетках заболевания или состояния, подлежащего лечению) и Fedorov et al., *Sci. Transl. Medicine,* 5(215) (2013) (где описаны клетки, экспрессирующие активирующие и ингибирующие CAR, такие, в которых активирующий CAR связывается с одним антигеном, экспрессированным на обеих, нормальных и не болезненных клетках и клетках заболевания

или состояния, подлежащего лечению, и ингибирующий CAR связывается с другим антигеном, экспрессированным только на нормальных клетках и клетках, которые нежелательно лечить).

Например, в некоторых вариантах осуществления, клетки включают рецептор, экспрессирующий первый генетически сконструированный антигенный рецептор (например, CAR или TCR), который способен вызывать активирующий или стимулирующий сигнал в клетку, обычно при специфическом связывании с антигеном, распознаваемым первым рецептором, например, первым антигеном. В некоторых вариантах осуществления, клетка дополнительно включает второй генетически сконструированный антигенный рецептор (например, CAR или TCR), например, химерный костимулирующий рецептор, который способен вызывать костимулирующий в иммунной клетке, обычно при специфическом связывании со вторым антигеном, распознаваемым вторым рецептором. В некоторых вариантах осуществления, первый антиген и второй антиген являются одинаковыми. В некоторых вариантах осуществления, первый антиген и второй антиген являются разными.

В некоторых вариантах осуществления, первый и/или второй генетически сконструированный антигенный рецептор (например CAR или TCR) способен вызывать активацию сигнала в клетку. В некоторых вариантах осуществления, рецептор включает внутриклеточный сигнальный компонент, содержащий ITAM или ITAM-подобный мотивы. В некоторых вариантах осуществления, активация, вызванная первым рецептором, включает трансдукцию сигнала или изменение экспрессии белка в клетке, что вызывает иммунный ответ, такой как фосфорилирование ITAM и/или инициация ITAM-опосредованного каскада трансдукции сигнала, образование иммунологического синапса и/или кластеризация молекул рядом со связанным рецептором (например CD4 или CD8, и т.д.), активация одного или нескольких факторов транскрипции, таких как NF-κB и/или AP-1 и/или индукция генной экспрессии факторов, таких как цитокины, пролиферация и/или выживание.

В некоторых вариантах осуществления, первый и/или второй рецепторы включают внутриклеточные сигнальные домены или области костимулирующих рецепторов, таких как CD28, CD137 (4-1BB), OX40 и/или ICOS. В некоторых вариантах осуществления, первый и второй рецептор включают внутриклеточный сигнальный домен костимулирующего рецептора, которые являются разными. В одном варианте осуществления, первый рецептор содержит CD28 костимулирующую сигнальную область, и второй рецептор содержит 4-1BB костимулирующую сигнальную область или наоборот.

В некоторых вариантах осуществления, первый и/или второй рецептор включает оба, внутриклеточный сигнальный домен, содержащий ITAM или ITAM-подобные мотивы, и внутриклеточный сигнальный домен костимулирующего рецептора.

В некоторых вариантах осуществления, первый рецептор содержит внутриклеточный сигнальный домен, содержащий ITAM или ITAM-подобные мотивы, и второй рецептор содержит внутриклеточный сигнальный домен костимулирующего

рецептора. Костимулирующий сигнал в комбинации с активирующим сигналом, вызванным в одной и той же клетке, является таким, который дает иммунный ответ, такой как устойчивый и длительный иммунный ответ, такой как повышенная экспрессия гена, секреция цитокинов и другие факторы и опосредованные Т клеткой эффекторные функции, такие как уничтожение клетки.

В некоторых вариантах осуществления, ни лигирование только первого рецептора, ни лигирование только второго рецептора не вызывает стойкий иммунный ответ. В некоторых аспектах, если только один рецептор является лигированным, клетка становится толеризированной или нечувствительной к антигену или ингибированной, и/или в ней не вызывается пролиферация или секреция факторов или осуществление эффекторных функций. В некоторых таких вариантах осуществления, однако, если множество рецепторов лигированы, например, при встрече с клеткой, экспрессирующей первый и второй антиген, достигается желаемый ответ, например, полная иммунная активация или стимуляция, например, на что указывает секреция одного или более цитокина, пролиферация, жизнестойкость и/или осуществление иммунной эффекторной функции, такая как цитотоксическое уничтожение клетки-мишени.

В некоторых вариантах осуществления, два рецептора индуцируют, соответственно, активирующий и ингибирующий сигнал к клетке, так что связывание одним из рецепторов со своим антигеном активирует клетку или индуцирует ответ, но связывание вторым ингибирующим рецептором с ее антигеном индуцирует сигнал, который подавляет или уменьшает этот ответ. Примерами являются комбинации активирующих CAR и ингибирующих CAR или iCAR. Может применяться такая стратегия, например, при которой активирующий CAR связывает антиген, экспрессированный в заболевании или состоянии, но который также экспрессируется в нормальных клетках, а ингибирующий рецептор связывается с отдельным антигеном, который экспрессирован на нормальных клетках, но не на клетках заболевания или состояния.

В некоторых вариантах осуществления, многоцелевая стратегия используется в случае, когда антиген, ассоциированный с конкретным заболеванием или состоянием, экспрессируется на не болезненной клетке и/или экспрессируется на самой сконструированной клетке либо временно (например, при стимуляции в связи с генной инженерией), либо постоянно. В таких случаях, требуя лигирования двух отдельных и по отдельности специфических антигенных рецепторов, можно улучшить специфичность, селективность и/или эффективность.

В некоторых вариантах осуществления, множество антигенов, например, первый и второй антигены, экспрессируются на таргетируемой клетке, ткани или заболевании или состоянии, например, на раковой клетке. В некоторых аспектах, клетка, ткань, заболевание или состояние является множественной миеломой или клеткой множественной миеломы. В некоторых вариантах осуществления, один или несколько антигенов из множества антигенов обычно также экспрессируется на клетке, которая не желательна для таргетной клеточной терапии, такой как нормальная или не болезненная клетка или ткань, и/или сами

сконструированные клетки. В таких вариантах осуществления, требуя лигирования нескольких рецепторов для достижения ответа клетки, достигается специфичность и/или эффективность.

E. Способы конструирования клеток

В различных вариантах осуществления, сконструированные клетки получают способом, который создает выходную композицию из обогащенных Т-клеток из одного или нескольких входных композиций и/или из одного биологического образца. В определенных вариантах осуществления, выходная композиция содержит клетки, которые экспрессируют рекомбинантный рецептор, например, CAR, такой как анти-CD19 CAR. В конкретных вариантах осуществления, клетки выходной композиции подходят для введения субъекту в качестве терапии, например, аутологичной клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, выходная композиция представляет собой композицию из обогащенных $CD4^+$ или $CD8^+$ Т-клеток.

В некоторых вариантах осуществления, процесс создания или продуцирования сконструированных клеток представляет собой процесс, который включает некоторые или все стадии из: сбора или получения биологического образца; выделения, селектирования или обогащения входных клеток из биологического образца; криоконсервации и хранения входных клеток; размораживания и/или инкубации вводимых клеток в стимулирующих условиях; конструирования стимулированных клеток для экспрессии или содержания рекомбинантного полинуклеотида, например, полинуклеотида, кодирующего рекомбинантный рецептор, такой как CAR; культивирования сконструированных клеток, например, до порогового количества, плотности или размножения; составление культивированных клеток в выходной композиции; и/или криоконсервации и хранения составленных выходных клеток до тех пор, пока клетки не будут выделены для инфузии и/или пригодны для введения субъекту. В некоторых вариантах осуществления, процесс выполняется с двумя или более входными композициями обогащенных Т-клеток, такими как отдельные $CD4^+$ композиции и отдельные $CB8^+$ композиции, которые отдельно обрабатывают и конструируют из одного и того же начального или исходного биологического образца и обратно вводят субъекту в определенном отношении, например 1:1 отношении $CD4^+$ к $CD8^+$ Т-клеткам. В некоторых вариантах осуществления, обогащенные Т-клетки являются или включают сконструированные Т-клетки, например, Т-клетки, трансдуцированные для экспрессии рекомбинантного рецептора.

В конкретных вариантах осуществления, выходную композицию сконструированных клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например, анти-CD19 CAR) получают из исходных и/или входных композиций клеток. В некоторых вариантах осуществления, входной композицией является композиция обогащенных Т клеток, обогащенный $CD4^+$ Т-клеток и/или обогащенных $CD8^+$ Т-клеток (в настоящем документе далее также названные композиции обогащенных Т клеток, композиции обогащенных $CD4^+$ Т-клеток и композиции обогащенных $CD8^+$ Т-клеток, соответственно). В некоторых вариантах осуществления, композиция обогащенных $CD4^+$ Т-клеток

содержит, по меньшей мере, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 99,9% $CD4^+$ Т-клеток. В конкретных вариантах осуществления, композиция обогащенных $CD4^+$ Т-клеток содержит 100% $CD4^+$ Т-клеток, содержит примерно 100% $CD4^+$ Т-клеток. В определенных вариантах осуществления, композиция обогащенных Т клеток включает или содержит меньше чем 20%, меньше чем 10%, меньше чем 5%, меньше чем 1%, меньше чем 0,1%, или меньше чем 0,01% $CD8^+$ Т-клеток, и/или не содержит $CD8^+$ Т-клетки, и/или не содержит или по существу не содержит $CD8^+$ Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления, популяции клеток состоят по существу из $CD4^+$ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления, композиция обогащенных $CD8^+$ Т-клеток содержит, по меньшей мере, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 99,9% $CD8^+$ Т-клеток или содержит или содержит примерно 100% $CD8^+$ Т-клеток. В определенных вариантах осуществления, композиция обогащенных $CD8^+$ Т-клеток включает или содержит меньше чем 20%, меньше чем 10%, меньше чем 5%, меньше чем 1%, меньше чем 0,1%, или меньше чем 0,01% $CD4^+$ Т-клеток, и/или не содержит $CD4^+$ Т-клетки и/или не содержит или по существу не содержит CD^+ Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления, популяции клеток состоят по существу из $CD8^+$ Т-клеток.

В определенных вариантах осуществления, способ получения сконструированных клеток дополнительно может включать одно или несколько их: активации и/или стимулирования клеток, например, клеток входной композиции; генетическую инженерию активированных и/или стимулированных клеток, например, для введения полинуклеотида, кодирующего рекомбинантный белок трансдукцией или трансфекцией; и/или культивирование сконструированных клеток, например, в условиях, которые способствуют пролиферации и/или размножению. В конкретных вариантах осуществления, представленные способы могут применяться в связи со сбором, сбором и/или составлением выходных композиций, полученных после инкубирования, активирования, стимулирования, конструирования, трансдуцирования, трансфицирования и/или культивирования клеток.

В вариантах осуществления, сконструированные клетки, такие как клетки, которые экспрессируют анти-CD19 CAR как описано, используемые согласно представленным способам, производятся или создаются в процессе выбора, выделения, активации, стимулирования, размножения, культивирования и/или составления клеток. В некоторых вариантах осуществления, такие способы включают любые, как описано.

В некоторых вариантах осуществления, сконструированные клетки, такие, которые экспрессируют анти-CD19 CAR, как описано, применяют согласно представленным способам и применениям, получены или созданы типовыми процессами, как описано в, например, WO 2019/089855 и WO 2015/164675.

В некоторых из любых вариантов осуществления, типовые процессы создания, получения или производства сконструированных клеток, таких как клетки, экспрессирующие анти-CD19 CAR, как описано, или композиций, содержащих такие клетки, таких как композиции, содержащие сконструированные $CD4^+$ Т-клетки и

сконструированные $CD8^+$ Т-клеток, каждая из которых экспрессирует один и тот же анти-CD19 химерный антигенный рецептор (CAR), включают обработку обогащенных $CD4^+$ и обогащенных $CD8^+$ клеточных популяций, по отдельности, согласно стадиям процесса. В некоторых аспектах типового процесса создания или производства сконструированных клеток, $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клетки по отдельности выбирают из мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC) человека, например, которые получают лейкаферезом, создавая отдельные обогащенные $CD4^+$ и обогащенные $CD8^+$ клеточных композиций. В некоторых аспектах, такие клетки могут быть криоконсервированы. В некоторых аспектах, $CD4^+$ и $CD8^+$ композиции могут быть затем размморожены и отдельно обработаны согласно стадиям стимулирования, трансдуцирования и размножения.

В некоторых аспектах типовых процессов создания или производства сконструированных клеток, размороженные $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клетки стимулируют по отдельности, например, в присутствии парамагнитных гранул с полистирольным покрытием, сопряженных с анти-CD3 и анти-CD28 антителами (в соотношении 1:1 гранул к клеткам). В некоторых аспектах, стимулирование проводят в среде, содержащей рекомбинантный IL-2 человека, рекомбинантный IL-15 человека и N-Ацетилцистеин (NAC). В некоторых аспектах, среда для культивирования клеток для $CD4^+$ Т-клеток также включает рекомбинантный IL-7 человека.

В некоторых аспектах типовых способов создания или производства сконструированных клеток, после введения гранул, $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клетки по отдельности трансдуцируют лентивирусным вектором, кодирующим тот же CAR, например, тот же анти-CD19 CAR. В некоторых аспектах, CAR может содержать анти-CD19 scFv, полученный из антитела мыши, иммуноглобулиновый спейсер, трансмембранный домен, полученный из CD28, костимулирующую область, полученную из 4-1BB и CD3-дзета внутриклеточного сигнального домена. В некоторых аспектах, вектор может кодировать усеченный рецептор, который служит суррогатным маркером для экспрессии CAR, который соединен с конструкцией CAR через T2A последовательность. В некоторых аспектах типового процесса, клетки трансдуцируют в присутствии 10 мкг/мл протаминсульфата.

В некоторых аспектах типового способа создания или производства сконструированных клеток, после трансдукции, гранулы удаляют из клеточных композиций через воздействие магнитного поля. В некоторых аспектах, $CD4^+$ и $CD8^+$ клеточные композиции культивируют по отдельности для размножения при непрерывном перемешивании и переносе кислорода биореактором (например, Xuri W25 Bioreactor). В некоторых случаях, полоксамер добавляют к среде. В некоторых аспектах, обе, $CD4^+$ и $CD8^+$ клеточные композиции культивируют в присутствии IL-2 и IL-15. В некоторых аспектах, $CD4^+$ клеточная среда также включает IL-7. В некоторых случаях, каждые из $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток культивируют, до сбора, до 4-кратного размножения. В некоторых аспектах, через день после достижения порога, клетки из каждой композиции могут быть собраны, составлены и криоконсервированы. В некоторых аспектах, типовые процессы

создания, продуцирования или производства сконструированных клеток, таких, которые экспрессируют анти-CD19 CAR, как описано, или композицию, содержащую такие клетки, такие как композиции, содержащие сконструированные $CD4^+$ Т-клетки и сконструированные $CD8^+$ Т-клетки, каждые из которых экспрессируют один и тот же анти-CD19 химерный антигенный рецептор (CAR), включают такие, которые описаны в **Таблице 11** ниже.

Таблица 11: Типовые способы создания CD4+ и CD8+ CAR-T клеток

Стадия	**CD4+ клетки**	**CD8+ клетки**
Стимулирование (день 1-2)	- конъюгированные с анти-CD3/CD28 антителом гранулы - 1:1 отношение гранул к клеткам - среда: IL-2, IL-7, IL-15 и NAC	- конъюгированные с анти-CD3/CD28 антителом гранулы - 1:1 отношение гранул к клеткам - среда: IL-2, IL-15 и NAC
Трансдукция (день 2-5)	- адъювант трансдукции (например 10 мкг/мл протаминсульфат)	- адъювант трансдукции (например 10 мкг/мл протаминсульфат)
Удаление гранул (день 5*)	- удаление магнитных гранул	- удаление магнитных гранул
Размножение (день 5* - Сбор)	- биореактор с колебательным движением и/или непрерывное перемешивание - среда: IL-2, IL-7, IL15 и полоксамер	- биореактор с колебательным движением и/или непрерывное перемешивание - среда: IL-2, IL15 и полоксамер

* приблизительно

В других аспектах, другой типовой процесс для создания, продуцирования или производства сконструированных клеток или композиций, содержащих такие клетки, включает процесс, который отличается от типового процесса, приведенного выше, тем, что: NAC не добавляется в среду во время стимулирования; CD4+ клеточная среда не содержит IL-2; клетки стимулируют при отношении гранул к клеткам 3:1; клетки трансдуцируют с более высоким содержанием протаминсульфата; удаление гранул происходит примерно на 7 день; и размножение выполняется в статических условиях, т.е. без постоянного перемешивания или перфузии (например, полунепрерывной и/или ступенчатой перфузии) и без полоксамера.

В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, одну отдельную композицию обогащенных CD4+ Т-клеток и, по меньшей мере, одну отдельную композицию обогащенных CD8+ Т-клеток изолируют, селектируют, обогащают или получают из одного биологического образца, например, образца PBMC или других белых

клеток крови от одного и того же донора, например, пациента или здорового индивидуума. В некоторых вариантах осуществления, отдельную композицию обогащенных CD4+ Т-клеток и отдельную композицию обогащенных CD8+ Т-клеток, полученных, например, изначально выделенных, селектированных и/или обогащенных из одного и того же биологического образца, такого как один биологический образец, полученный, собранный и/или взятые у одного субъекта. В некоторых вариантах осуществления, биологический образец сначала подвергают селектированию CD4+ Т-клеток, где как отрицательная, так и положительная фракции сохраняются, а отрицательная фракция дополнительно субъективно подвергается селектированию CD8+ Т-клеток. В других вариантах осуществления, биологический образец сначала подвергают селектированию CD8+ Т-клеток, где как отрицательная, так и положительная фракции сохраняются, а отрицательная фракция дополнительно подвергается селектированию CD4+ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления, способы селектирования проводят как описано в Публикации международной PCT № WO 2015/164675. В некоторых вариантах осуществления, способы селектирования проводят как описано в Публикации международной PCT № WO 2019/089855. В некоторых аспектах, биологический образец сначала положительно селектируют для CD8+ Т-клеток для создания, по меньшей мере, одной композиции обогащенных CD8+ Т-клеток, и отрицательную фракцию затем положительно селектируют для CD4+ Т-клеток для создания, по меньшей мере, одной композиции обогащенных CD4+ Т-клеток, так, чтобы, по меньшей мере, одна композиция обогащенных CD8+ Т-клеток и, по меньшей мере, одна композиция обогащенных CD4+ Т-клеток были отдельными композициями из одного и того же биологического образца, например, от одного и того же донора или здорового индивидуума. В некоторых аспектах, две или более отдельные композиции обогащенных Т клеток, например, по меньшей мере, одна из которых является композицией обогащенных CD4+ Т-клеток и, по меньшей мере, одна из которых является отдельной композицией обогащенных CD8+ Т-клеток от одного и того же донора, отдельно замораживают, например, криозащищают или криоконсервируют в среде для криоконсервации.

В некоторых аспектах, две или несколько отдельных композиций, обогащенных Т-клетками, например, по меньшей мере, одна из которых является композицией обогащенных CD4+ Т-клеток и, по меньшей мере, одна из которых является отдельной композицией обогащенных CD8+ Т-клеток из одного и того же самого, активируют и/или стимулируют контактом со стимулирующим реагентом (например, инкубацией с CD3/CD28 конъюгированными магнитными гранулами для активации Т-клеток). В некоторых аспектах каждая из активированных/стимулированных клеточных композиций сконструирована, трансдуцирована и/или трансфицирована, например, с использованием вирусного вектора, кодирующего рекомбинантные белки (например, CAR), для экспрессии того же рекомбинантного белка в CD4+ Т-клетках и CD8+ Т-клетках каждой клеточной композиции. В некоторых аспектах, способ включает удаление стимулирующего реагента, например, магнитных гранул, из клеточной композиции. В некоторых аспектах, клеточную

композицию, содержащая сконструированные CD4+ Т-клетки, и клеточную композицию, содержащая сконструированные CD8+ Т-клетки, отдельно культивируют, например, для раздельного размножения популяций CD4+ Т клеток и CD8+ Т клеток в настоящем документе. В определенных вариантах осуществления, клеточную композицию после культивирования собирают и/или собирают и/или составляют, например, промыванием клеточной композиции в буфере для составления. В определенных вариантах осуществления, составленную клеточную композицию, содержащую CD4+ Т-клетки и составленную клеточную композицию, содержащую CD8+ Т-клетки замораживают, например, криозащищают или криоконсервируют в среде для криоконсервации. В некоторых аспектах, сконструированные CD4+ Т-клетки и CD8+ Т-клетки в каждом составе происходят от одного и того же донора или биологического образца и экспрессируют один и тот же рекомбинантный белок (например, CAR, такой как анти-CD19 CAR). В некоторых аспектах, отдельный состав со сконструированными CD4+ и отдельный состав со сконструированными CD8+ вводят в определенном отношении, например 1:1, субъекту, нуждающемуся в этом, например, одному и тому же донору.

1. Клетки и получение клеток для генетического конструирования

В некоторых вариантах осуществления, клетки, такие как Т клетки, применяемые в связи с представленными способами, применениями, готовыми изделиями или композициями являются клетками, генетически сконструированными для экспрессии рекомбинантного рецептора, например, CAR или TCR, описанного в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления, сконструированные клетки применяют в контексте клеточной терапии, например, адоптивной клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, сконструированные клетки являются иммунными клетками. В некоторых вариантах осуществления, сконструированные клетки является Т клетками, такими как CD4+ или CD8+ Т-клетками.

В некоторых вариантах осуществления, нуклеиновые кислоты, такие как нуклеиновые кислоты, кодирующие рекомбинантный рецептор, являются гетерологичными, т.е. обычно не присутствуют в клетке или образце, полученном из клетки, например, полученном из другого организма или клетки, которые например, обычно не обнаруживаются в сконструированных клетках и/или организме, из которого получена такая клетка. В некоторых вариантах осуществления, нуклеиновые кислоты не встречаются в природе, например, нуклеиновая кислота, не найденная в природе, включая такую, которая содержит химерные комбинации нуклеиновых кислот, кодирующих разные домены из множества разных типов клеток.

Клетки обычно являются эукариотическими клетками, такими как клетки млекопитающих и обычно являются клетками человека. В некоторых вариантах осуществления клетки получены из крови, костного мозга, лимфы или лимфоидных органов, являются клетками иммунной системы, такими как клетки врожденного или адаптивного иммунитета, *например*, миелоидные или лимфоидные клетки, включая лимфоциты, обычно Т клетки и/или NK клетки. Другие типовые клетки включают

стволовые клетки, такие как мультипотентные и плюрипотентные стволовые клетки, включая индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (iPSC). Клетки обычно являются первичными клетками, например, изолированными непосредственно от субъекта и/или изолированными от субъекта и замороженными. В некоторых вариантах осуществления, клетки включают один или несколько подмножеств Т-клеток или других типов клеток, таких как популяции цельных Т-клеток, CD4+ Т-клеток, CD8+ Т-клеток и их субпопуляции, например, которые определяются функцией, состоянием активации, зрелостью, потенциалом дифференциацией, размножением, рециркуляцией, локализацией и/или жизнестойкостью, антигенспецифичностью, типом антигенного рецептора, присутствием в конкретном органе или компартменте, профилем секреции маркера или цитокинаа и/или степенью дифференциации. Что касается субъекта, подлежащего лечению, клетки могут быть аллогенными и/или аутологичными. Способы включают готовые способы. В некоторых аспектах, например, для готовых технологий, клетки являются плюрипотентными и/или мультипотентными, например, стволовыми клетками, такими как индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (iPSC). В некоторых вариантах осуществления, способы включают выделение клеток от субъекта, приготовление, обработку, культивирование и/или их конструирование и повторное введение их тому же субъекту до или после криоконсервации.

Подтипы и субпопуляции Т-клеток и/или CD4+ и/или CD8+ Т-клеток включают наивные Т-клетки (T_N), эффекторные Т-клетки (T_{EFF}), Т-клетки памяти и их подтипы, такие как стволовые Т-клетки памяти (T_{SCM}), центральные Т-клетки памяти (T_{CM}), эффекторные Т-клетки памяти (T_{EM}) или терминально-дифференцированные эффекторные Т-клетки памяти, инфильтрующие опухоль лимфоциты (TIL), незрелые Т-клетки, зрелые Т-клетки, хелперные Т-клетки, цитотоксические Т-клетки, мукозальные инвариантные Т-клетки (MAIT), существующие в природе и адаптивные регуляторные Т-клетки (Treg), хелперные Т-клетки, такие как TH1 клетки, TH2 клетки, TH3 клетки, TH17 клетки, TH9 клетки, TH22 клетки, фолликулярные хелперные Т-клетки, альфа/бета Т-клетки и дельта/гамма Т-клетки.

В некоторых вариантах осуществления, клетками являются естественные клетки-киллеры (NK). В некоторых вариантах осуществления клетками являются моноциты или гранулоциты, например, миелоидные клетки, макрофаги, нейтрофилы, дендритные клетки, тучные клетки, эозинофилы и/или базофилы.

В некоторых вариантах осуществления, клетки включают одну или более нуклеиновых кислот, введенных посредством генетического конструирования, и тем самым экспрессируют рекомбинантные или генетически сконструированные продукты таких нуклеиновых кислот. В некоторых вариантах осуществления, нуклеиновые кислоты являются гетерологичными, т.е. обычно не присутствуют в клетке или образце, полученном из клетки, например, полученном из другого организма, или клетки, которые, например, обычно не обнаруживаются в сконструированной клетке и/или организме, из которого получена такая клетка. В некоторых вариантах осуществления, нуклеиновые кислоты не существуют в природе, например, нуклеиновая кислота не встречается в природе, включая

таковые, содержащие химерные комбинации нуклеиновых кислот, кодирующие различные домены из множества различных типов клеток.

В некоторых вариантах осуществления, получение сконструированных клеток включает одну или несколько стадий культивирования и/или получения. Клетки для введения нуклеиновой кислоты, кодирующей трансгенный рецептор, такой как CAR, могут быть выделены из образца, такого как биологический образец, например, полученный или полученный от субъекта. В некоторых вариантах осуществления, субъект, из которого выделены клетки, является субъектом, страдающим заболеванием или состоянием, или нуждающимся в клеточной терапии, или которому будет вводиться клеточная терапия. Субъектом, в некоторых вариантах осуществления, является человек, нуждающийся в конкретном терапевтическом вмешательстве, таком как адоптивная клеточная терапия, для которого клетки выделяют, обрабатывают и/или конструируют.

Соответственно, клетки в некоторых вариантах осуществления являются первичными клетками, например, первичными клетками человека. Образцы включают образцы ткани, жидкости и другие образцы, взятые непосредственно у субъекта, а также образцы, полученные в результате одного или более этапов обработки, таких как разделение, центрифугирование, генетическое конструирование (например, трансдукция вирусным вектором), промывание и/или инкубирование. Биологическим образцом может быть образец, полученный непосредственно из биологического источника, или образец, который подвергся обработке. Биологические образцы включают, но не ограничены ими, биологические жидкости, такие как кровь, плазма, сыворотка, спинномозговая жидкость, синовиальная жидкость, моча и пот, образцы тканей и органов, включая обработанные образцы, полученные из них.

В некоторых аспектах образец, из которого получены или выделены клетки, является кровью или образцом, полученным из крови, или полученным из продукта афереза или лейкафереза. Примеры образцов включают цельную кровь, мононуклеарные клетки периферической крови (PBMC), лейкоциты, костный мозг, тимус, биопсию ткани, опухоль, лейкоз, лимфому, лимфатический узел, лимфоидную ткань, связанную со слизистой оболочкой, лимфоидную ткань, селезенку, другие лимфоидные ткани, печень, легкое, желудок, кишечник, толстую кишку, почку, поджелудочную железу, грудь, кость, простату, шейку матки, яички, яичники, миндалины или другой орган и/или клетки, полученные из них. Образцы включают, в контексте клеточной терапии, например, адоптивную клеточную терапию, образцы из аутологичных и аллогенных источников.

В некоторых вариантах осуществления, клетки получены из клеточных линий, например, Т-клеточных линий. В некоторых вариантах осуществления, клетки получены из ксеногенного источника, например, от мыши, крысы, примата, не являющегося человеком, и свиньи.

В некоторых вариантах осуществления, выделение клеток включает одну или несколько стадий получения и/или разделения клеток не на основе аффинности. В некоторых примерах, клетки промывают, центрифугируют и/или инкубируют в

присутствии одного или нескольких реагентов, например, для удаления нежелательных компонентов, обогащают желаемыми компонентами, лизируют или удаляют чувствительные к определенным реагентам клетки. В некоторых примерах клетки разделяют на основе одного или нескольких свойств, таких как плотность, адгезионные свойства, размер, чувствительность и/или резистентность к определенным компонентам.

В некоторых примерах, клетки из циркулирующей крови субъекта получают, например, аферезом или лейкаферезом. В некоторых аспектах, образцы содержат лимфоциты, в том числе Т-клетки, моноциты, гранулоциты, В-клетки, другие ядросодержащие белые клетки крови, красные клетки крови и/или тромбоциты, и в некоторых аспектах, содержат клетки, отличные от красных клеток крови и тромбоцитов.

В некоторых вариантах осуществления клетки крови, полученные от субъекта, промывают, например, для удаления фракций плазмы и помещения клеток в соответствующий буфер или среду для последующих стадий обработки. В некоторых вариантах осуществления, клетки промывают солевым раствор с фосфатным буфером (PBS). В некоторых вариантах осуществления, в промывочном растворе отсутствуют кальций и/или магний и/или многие или все двухвалентные катионы. В некоторых аспектах, стадию промывки осуществляют на полуавтоматической «проточной» центрифуге (например, клеточном процессоре Cobe 2991, Baxter) в соответствии с инструкциями производителя. В некоторых аспектах, стадию промывки осуществляют тангенциальной проточной фильтрацией (TFF) в соответствии с инструкциями производителя. В некоторых вариантах осуществления, клетки ресуспендируют во множестве биосовместимых буферов после промывания, таких как, например, не содержащий Ca^{++}/Mg^{++} PBS. В некоторых вариантах осуществления, компоненты образца клеток крови удаляют, и клетки непосредственно ресуспендируют в культуральной среде.

В некоторых вариантах осуществления, способы включают способы разделения клеток на основе плотности, такие как получение белых клеток крови из периферической крови путем лизирования красных клеток крови и центрифугирования в градиенте Перколла или Фиколла.

В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, часть стадии селектирования включает инкубацию клеток с реагентом селектирования. Инкубация с реагентом или реагентами селектирования, например, как часть способов селектирования, которые могут быть выполнены с использованием одного или более реагентов селектирования для селектирования одного или нескольких разных типов клеток на основе экспрессии или присутствия в или на клетке одной или нескольких специфических молекул, таких как поверхностные маркеры, например, поверхностные белки, внутриклеточные маркеры или нуклеиновая кислота. В некоторых вариантах осуществления, может быть использован любой известный способ, использующий реагент или реагенты селектирования для разделения на основе таких маркеров. В некоторых вариантах осуществления реагент или реагенты селектирования приводит к разделению, которое является разделением, основанным на аффинности или иммуноаффинности. Например,

селектирование в некоторых аспектах включает инкубацию с реагентами или реагентами для разделения клеток и клеточных популяций на основе клеточной экспрессии или уровня экспрессии одного или более маркеров, обычно маркеров поверхности клетки, например, инкубацией с антителом или партнером связывания, который специфически связывается с такими маркерами, с последующими стадиями промывания и отделения клеток, имеющих связанное антитело или партнер связывания, от клеток, не связанных с антитело или партнером связывания.

В некоторых аспектах таких процессов, объем клеток смешивают с желаемым количеством реагента селектирования на основе аффинности. Селектирование на основе иммуноаффинности может быть проведено с использованием любой системы или способа, который приводит к благоприятному энергетическому взаимодействию между разделяемыми клетками и молекулой, специфически связывающейся с маркером на клетке, например, антителом или другим партнером связывания на твердой поверхности, например, частице. В некоторых вариантах осуществления, способы осуществляют с использованием частиц, таких как гранулы, например магнитные гранулы, которые покрыты агентом селекции (например, антителом), специфическим к маркерным клеткам. Частицы (например, гранулы) можно инкубировать или смешивать с клетками в контейнере, таком как пробирка или пакет, при встряхивании или перемешивании, с постоянным соотношением плотности клеток к частицам (например, гранулам), чтобы способствовать стимулированию энергетически благоприятного взаимодействия. В других случаях, способы включают селектирование клеток, где все или часть селектирования проводят во внутренней полости центрифужной камеры, например, при центробежном вращении. В некоторых вариантах осуществления, инкубацию клеток с реагентами селектирования, такими как реагенты селектирования на основе иммуноаффинности, проводят в центрифужной камере. В определенных вариантах осуществления, выделение или отделение проводят с применением системы, устройства или аппарата, описанного в Публикации международной заявки на патент № WO2009/072003 или US 20110003380 A1. В одном примере, системой является система, описанная в Международной публикации № WO2016/073602.

В некоторых вариантах осуществления, путем проведения таких стадий селектирования или их частей (например, инкубирования с частицами, покрытыми антителом, например, магнитными гранулами) в полости центрифужной камеры, пользователь может контролировать определенные параметры, такие как объем различных растворов, добавление раствора во время обработки и время добавления, что может дать преимущества по сравнению с другими доступными способами. Например, способность уменьшать объем жидкости в полости во время инкубации может увеличивать содержание частиц (например, гранулированного реагента), используемых при селектировании, и таким образом химического потенциала раствора, не влияя на общее количество клеток в полости. Это, в свою очередь, может улучшить парные взаимодействия между обрабатываемыми клетками и частицами, используемыми для селектирования. В

некоторых вариантах осуществления, проведение стадии инкубации в камере, например, ассоциированной с системой, схемой и контролем, представленными в настоящем документе, позволяют пользователю осуществлять перемешивание раствора в течение желаемого времени во время инкубации, что также может улучшить взаимодействие.

В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, часть стадии селектирования выполняют в центрифужной камере, которая включает инкубацию клеток с реагентом селектирования. В некоторых аспектах таких процессов, объем клеток смешивают с желаемым реагентом селектирования на основе аффинности, что намного меньше, чем обычно используется при выполнении аналогичного селектирования в пробирке или контейнере для селектирования того же количества клеток и/или объема клеток согласно инструкции производителя. В некоторых вариантах осуществления, количество реагента или реагентов селектирования составляет не более 5%, не более 10%, не более 15%, не более 20%, не более 25%, не более 50%, не более 60%, не более 70% или не более 80% от количества того же реагента селектирования, применяемого для селектирования клеток в пробирке или контейнере для инкубирования того же количества клеток и/или объема клеток согласно инструкции производителя.

В некоторых вариантах осуществления, для селектирования, например, селектирования на основе иммуноаффинности, клетки инкубируют в полости камеры в композиции, которая также содержит буфер для селектирования с реагентом селектирования, таким как молекула, которая специфически связывается с поверхностью маркера на клетке, которую необходимо обогатить и/или истощить, но не на других клетках композиции, например, на антителе, которое необязательно связано с каркасом, таким как полимер или поверхность, например, гранула, например, магнитная гранула, такая как магнитная гранула, сопряженная с моноклональными антителами, специфичными для CD4 и CD8. В некоторых вариантах осуществления, как описано, реагент селектирования добавляют к клеткам в полости камеры в количестве, которое по существу меньше, чем (например, не более 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% или 80% от количества) количество реагента селектирования, которое обычно используется или необходимо для достижения примерно такой же или аналогичной эффективности селектирования того же количества клеток или такого же объема клеток при селектировании в пробирке при встряхивании или вращении. В некоторых вариантах осуществления, инкубацию проводят с добавлением буфера для селектирования к клеткам и реагенту селектирования для достижения целевого объема с инкубацией реагента, например, от 10 мл до 200 мл, например, по меньшей мере, или, по меньшей мере примерно 10 мл, 20 мл, 30 мл, 40 мл, 50 мл, 60 мл, 70 мл, 80 мл, 90 мл, 100 мл, 150 мл или 200 мл. В некоторых вариантах осуществления, буфер селектирования и реагент селектирования предварительно смешивают перед добавлением в клетки. В некоторых вариантах осуществления, буфер селектирования и реагент селектирования добавляют к клеткам отдельно. В некоторых вариантах осуществления, инкубацию селектирования проводят в условиях периодического мягкого перемешивания, которые могут способствовать стимулированию

энергетически благоприятных взаимодействий и, таким образом, позволяют использовать меньшее общее количество реагента селектирования при достижении высокой эффективности селектирования. В некоторых вариантах осуществления, общая продолжительность инкубации с реагентом селектирования составляет от или от примерно 5 минут до 6 часов, например, от 30 минут до 3 часов, например, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 30 минут, 60 минут, 120 минут или 180 минут.

В некоторых вариантах осуществления, инкубацию обычно проводят в условиях перемешивания, таких как присутствие вращения, обычно при относительно низкой силе или скорости, такой как скорость ниже, чем та, которая используется для осаждения клеток, например, от или от 600 об/мин. до 1700 об/мин (например, точно или примерно или, по меньшей мере, 600 об/мин, 1000 об/мин или 1500 об/мин или 1700 об/мин), например, при RCF на образце или стенке камеры или другого контейнера от или от примерно 80 г до 100 г (например, точно или примерно или, по меньшей мере, 80 г, 85 г, 90 г, 95 г или 100 г). В некоторых вариантах осуществления, вращение осуществляют с применением повторяющихся интервалов вращения при такой низкой скорости после периода отдыха, например, вращении и/или отдыхе в течение 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 секунд, например, вращении в течение приблизительно 1 или 2 секунды с последующим отдыхом в течение приблизительно 5, 6, 7 или 8 секунд.

В некоторых вариантах осуществления, такой процесс проводят в полностью закрытой системе, в которой камера является неотъемлемой частью. В некоторых вариантах осуществления, этот процесс (и в некоторых аспектах также одну или несколько дополнительных стадий, таких как предыдущая стадия промывки для промывания образца, содержащего клетки, такого как образец афереза), осуществляют автоматизированным способом, так что клетки, реагент и другие компоненты втягиваются и выталкиваются из камеры в соответствующее время, и выполняется центрифугирование, чтобы завершить стадию промывки и связывания в единой закрытой системе с использованием автоматизированной программы.

В некоторых вариантах осуществления, после инкубации и/или смешивания клеток и реагента и/или реагентов селектирования, инкубированные клетки подвергают разделению для отбора клеток на основе присутствия или отсутствия конкретного реагента или реагентов. В некоторых вариантах осуществления, разделение проводят в той же закрытой системе, в которой была проведена инкубация клеток с реагентом селектирования. В некоторых вариантах осуществления, после инкубации с реагентом селектирования инкубированные клетки, включая клетки, в которых связан реагент селектирования, переносят в систему для разделения клеток на основе иммуноаффинности. В некоторых вариантах осуществления, система для разделения на основе иммуноаффинности включает или содержит колонку магнитного разделения.

В некоторых вариантах осуществления, способы выделения включают разделение различных типов клеток на основе экспрессии или присутствия в клетке одной или нескольких специфических молекул, таких как поверхностные маркеры, например,

поверхностные белки, внутриклеточные маркеры или нуклеиновая кислота. В некоторых вариантах осуществления, может использоваться любой известный способ разделения на основе таких маркеров. В некоторых вариантах осуществления, разделением является разделение на основе аффинности или иммуноаффинности. Например, выделение в некоторых аспектах включает разделение клеток и клеточных популяций на основе клеточной экспрессии или уровня экспрессии одного или более маркеров, обычно маркеров клеточной поверхности, например, путем инкубации с антителом или связывающим партнером, который специфически связывается с такими маркерами, с последующими обычно стадиями промывки и отделения клеток, которые связывают антитело или партнер связывания, от клеток, не связанных с антителом или партнером связывания.

Такие стадии разделения могут быть основаны на положительном селектировании, при котором клетки, связанные с реагентами, сохраняются для дальнейшего использования, и/или отрицательном селектировании, при котором клетки, не связанные с антитело или связывающим партнером, сохраняются. В некоторых примерах, обе фракции сохраняются для дальнейшего использования. В некоторых элементах отрицательное селектирование может быть особенно полезно там, где отсутствуют антитела, специфически идентифицирующие тип клеток в гетерогенной популяции, так что разделение лучше всего проводить на основе маркеров, экспрессированных клетками, отличными от желаемой популяции

Разделение не обязательно должно приводить к 100% обогащению или удалению конкретной клеточной популяции или клеток, экспрессирующих конкретный маркер. Например, положительное селектирование или обогащение клеток конкретного типа, например, экспрессирующих маркер, относится к увеличению количества или доли таких клеток, но не обязательно приводит к полному отсутствию клеток, не экспрессирующих маркер. Аналогично, отрицательное селектирование, удаление или истощение клеток конкретного типа, например, экспрессирующих маркер, относится к уменьшению количества или доли таких клеток, но не обязательно приводит к полному удалению всех таких клеток.

В некоторых вариантах осуществления, проводят множество раундов стадий селектирования клеток, где положительно или отрицательно селектированные фракции из одной стадии подвергают другой стадии селектирования, например последующему положительному или отрицательному селектированию. В некоторых примерах, одна стадия разделения может истощать клетки, экспрессирующие нескольких маркеров одновременно, например, путем инкубации клеток с множеством антител или партнеров связывания, каждый из которых специфичен для маркера, направленного на отрицательное селектирование. Аналогично, несколько типов клеток могут быть одновременно положительно селектированы путем инкубации клеток с множеством антител или партнеров связывания, экспрессированных на разных типах клеток.

Например, в некоторых аспектах, специфические субпопуляции Т-клеток, такие как клетки, положительные или экспрессирующие один или несколько поверхностных

маркеров, например, $CD28^+$, $CD62L^+$, $CCR7^+$, $CD27^+$, $CD127^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD45RA^+$ и/или $CD45RO^+$ Т-клетки, выделяют методами положительного или отрицательного селектирования.

Например, $CD3^+$, $CD28^+$ Т-клетки могут быть положительно селектированы с применением анти-CD3/анти-CD28 конъюгированных магнитных гранул (например, DYNABEADS® M-450 CD3/CD28 размножитель Т-клеток).

В некоторых вариантах осуществления, выделение проводят обогащением для конкретной клеточной популяции через положительное селектирование или истощением конкретной клеточной популяции через отрицательное селектирование. В некоторых вариантах осуществления, положительное или отрицательное селектирование проводят через инкубирование клеток с одним или несколькими антителами или другим связывающим агентом, который специфически связывается с одним или несколькими поверхностными маркерами, экспрессированными или экспрессированными (маркер$^+$) на относительно высоком уровне (маркер^{выс}) на положительно или отрицательно селектированных клетках, соответственно.

В конкретных вариантах осуществления, биологический образец, например, образец PBMC или других белых клеток крови, подвергают селектированию CD4+ Т-клеток, где сохраняются и отрицательная и положительная фракции. В определенных вариантах осуществления, CD8+ Т-клетки селектируют из отрицательной фракции. В некоторых вариантах осуществления, биологический образец подвергают селектированию CD8+ Т-клеток, где сохраняются и отрицательная и положительная фракции. В определенных вариантах осуществления, CD4+ Т-клетки селектируют из отрицательной фракции.

В некоторых вариантах осуществления, Т-клетки отделяют от образца PBMC отрицательным селектированием маркеров, экспрессированных на не Т-клетках, таких как В-клетки, моноциты ли другие белые клетки крови, такие как CD14. В некоторых аспектах, стадию $CD4^+$ или $CD8^+$ селектирования применяют для отделения $CD4^+$ хелперных и $CD8^+$ цитотоксических Т-клеток. Такие $CD4^+$ и $CD8^+$ популяции могут быть далее отсортированы на субпопуляции положительным или отрицательным селектированием для маркеров, экспрессированных или экспрессированных до относительно высокой степени на одной или нескольких субпопуляциях наивных, памяти и/или эффекторных Т-клетках.

В некоторых вариантах осуществления, $CD8^+$ клетки дополнительно обогащают или истощают наивными, центральными памяти, эффекторными памяти и/или центральными стволовыми памяти клетками, например, положительным или отрицательным селектированием на основе поверхностных антигенов, ассоциированных с соответствующей субпопуляцией. В некоторых вариантах осуществления, обогащение для центральных Т-клеток памяти (T_{CM}) проводят для повышения эффективности, например, для улучшения долговременного выживания, размножения и/или энграфтмента после введения, что, в некоторых аспектах, особенно устойчиво в таких субпопуляциях. См. Terakuraet al. (2012) Blood,1:72-82; Wang et al. (2012) J Immunother. 35(9):689-701. В некоторых вариантах осуществления, комбинирование T_{CM}-обогащенных $CD8^+$ Т-клеток и

$CD4^+$ Т-клеток дополнительно улучшает эффективность.

В вариантах осуществления, Т-клетки памяти присутствуют в обоих $CD62L^+$ и $CD62L^-$ подмножествах $CD8^+$ лимфоцитов периферической крови. PBMC могут быть обогащены или истощены $CD62L^-CD8^+$ и/или $CD62L^+CD8^+$ фракциями, например, с применением анти-CD8 и анти-CD62L антител.

В некоторых вариантах осуществления, обогащение для центральных Т-клеток памяти (T_{CM}) основано на положительной или высокой поверхностной экспрессии CD45RO, CD62L, CCR7, CD28, CD3 и/или CD127; в некоторых аспектах, оно основано на отрицательном селектировании для клеток, экспрессирующих или высоко экспрессирующих CD45RA и/или гранзим В. В некоторых вариантах осуществления, обогащение для центральных Т-клеток памяти (T_{CM}) основано на положительной или высокой поверхностной экспрессии CD45RO, CD62L, CCR7, CD28, CD3, CD27 и/или CD127. В некоторых вариантах осуществления, обогащение для центральных Т-клеток памяти (T_{CM}) основано на положительной или высокой поверхностной экспрессии CD62L, CCR7, CD28 и/или CD27. В некоторых вариантах осуществления, обогащение для центральных Т-клеток памяти (T_{CM}) основано на положительной или высокой поверхностной экспрессии CCR7, CD28 и/или CD27. В некоторых вариантах осуществления, обогащение для центральных Т-клеток памяти (T_{CM}) основано на положительной или высокой поверхностной экспрессии CD28 и CD27. В некоторых аспектах, выделение $CD8^+$ популяций обогащенных T_{CM} клеток проводят истощением клеток, экспрессирующих CD4, CD14, CD45RA, и положительным селектированием или обогащением для клеток, экспрессирующих CD62L. В некоторых аспектах, выделение $CD8^+$ популяции обогащенных T_{CM} клеток проводят истощением клеток, экспрессирующих CD4, CD14, CD45RA и положительным селектированием или обогащением для клеток, экспрессирующих CD27 и CD28. В одном аспекте, обогащение для центральных Т-клеток памяти (T_{CM}) проводят, начиная с отрицательной фракции клеток, селектированных на основе CD4 экспрессии, которую подвергают отрицательному селектированию на основе экспрессии CD14 и CD45RA и положительному селектированию на основе CD62L. Такое селектирование в некоторых аспектах проводят одновременно, и в других аспектах проводят последовательно, в любом порядке. В некоторых аспектах, ту же стадию селектирования на основе экспрессии CD4 применяют при приготовлении $CD8^+$ клеточной популяции или субпопуляции, также применяют для создания $CD4^+$ клеточной популяции или субпопуляции, так, что обе, положительная и отрицательная фракции после разделения на основе CD4, сохраняют и применяют на последующих стадиях способов, необязательно, после одной или нескольких дополнительных стадий положительного или отрицательного селектирования.

В конкретном примере, образец PBMC или другой образец белой клетки крови подвергают селектированию $CD4^+$ клеток, где обе, отрицательную и положительную фракции, сохраняют. Отрицательную фракцию затем подвергают отрицательному селектированию на основе экспрессии CD14 и CD45RA или CD19 и положительному

селектированию на основе маркера, характерного для центральной Т-клетки памяти, такой как CD62L или CCR7, где положительное и отрицательное селектирование проводят в любом порядке.

$CD4^+$ Т хелперные клетки сортируют на наивные, центральные памяти и эффекторные клетки через идентификацию клеточных популяций, которые имеют антигены клеточной поверхности. $CD4^+$ лимфоциты могут быть получены стандартными способами. В некоторых вариантах осуществления, наивные $CD4^+$ Т лимфоциты являются $CD45RO^-$, $CD45RA^+$, $CD62L^+$, $CD4^+$ Т-клетками. В некоторых вариантах осуществления, центральные $CD4^+$ клетки памяти являются $CD62L^+$ и $CD45RO^+$. В некоторых вариантах осуществления, эффекторные $CD4^+$ клетки являются $CD62L^-$ и $CD45RO^-$.

В одном примере, для обогащения для $CD4^+$ клеток отрицательным селектированием, коктейль моноклональных антител обычно включает антитела к CD14, CD20, CD11b, CD16, HLA-DR и CD8. В некоторых вариантах осуществления, антитело или партнер связывания связывается с твердой подложкой или матрицей, такой как магнитная гранула или парамагнитная гранула, чтобы обеспечить разделение клеток для положительного и/или отрицательного селектирования. Например, в некоторых вариантах осуществления, клетки и клеточные популяции разделяют или выделяют с использованием методов иммуномагнитного (или аффинномагнитного) разделения (рассматриваемых в Methods in Molecular Medicine, vol. 58: Metastasis Research Protocols, Vol. 2: Cell Behavior In Vitro and In Vivo, p 17-25 Edited by: S. A. Brooks and U. Schumacher © Humana Press Inc., Totowa, NJ).

В некоторых аспектах, разделяемый образец или популяцию клеток инкубируют с мелким, намагничивающимся или магниточувствительным материалом, таким как магниточувствительные частицы или микрочастицы, такие как парамагнитные гранулы (например, такие как Dynabeads или гранулы MACS). Магниточувствительный материал, например, частицы, в общем, прямо или косвенно связан с партнером связывания, например, антителом, которое специфически связывается с молекулой, например, поверхностным маркером, присутствующим на клетке, клетках или популяции клеток, которые желательно отделить, например, которые желательно отрицательно или положительно селектировать.

В некоторых вариантах осуществления, магнитные частицы или гранулы содержат магниточувствительный материал, связанный со специфическим участником связывания, таким как антитело или другой партнер связывания. Существует множество хорошо известных магниточувствительных материалов, используемых в методах магнитного разделения. Подходящие магнитные частицы включают такие, которые описаны в Molday, патенте США № 4,452,773 и описании европейского патента EP 452342 B, которые включены в настоящий документ посредством ссылки. Другими примерами являются частицы коллоидного размера, такие как описаны в Owen патенте США № 4,795,698 и Liberti et al., патенте США № 5,200,084.

Инкубирование в общем проводят в условиях, при которых антитела или партнеры

связывания или молекулы, такие как вторичные антитела или другие реагенты, специфически связываются с такими антителами или партнерами связывания, которые прикрепляются к магнитным частицам или гранулам, специфически связанным с молекулами клеточной поверхности, если они присутствуют на клетках в образце.

В некоторых аспектах образец помещают в магнитное поле, и те клетки, которые имеют магниточувствительные или намагничивающиеся частицы, прикрепленные к ним, будут притягиваться к магниту и отделяться от не меченых клеток. Для положительного селектирования, клетки, которые притягиваются к магниту, сохраняют; при отрицательном селектировании клетки, которые не притягиваются (не меченые клетки), сохраняют. В некоторых аспектах, комбинацию положительного и отрицательного селектирования проводят во время одной и той же стадии селектирования, при котором положительные и отрицательные фракции сохраняют и затем обрабатывают или подвергают дальнейшим стадиям разделения.

В некоторых вариантах осуществления, магниточувствительные частицы покрыты первичными антителами или другими партнерами связывания, вторичными антителами, лектинами, ферментами или стрептавидином. В некоторых вариантах осуществления, магнитные частицы прикреплены к клеткам через покрытие первичными антителами, специфическими к одному или нескольким маркерам. В некоторых вариантах осуществления, клетки, а не гранулы, метят первичным антителом или партнером связывания, и затем добавляют покрытые клеточным типом специфическим к покрытым вторичным антителом или другим партнером связывания (например, стрептавидином) магнитные частицы. В некоторых вариантах осуществления, покрытые стрептавидином магнитные частицы используют вместе с биотинилированными первичными или вторичными антителами.

В некоторых вариантах осуществления, чувствительные к магниту частицы остаются прикрепленными к клеткам, которые впоследствии должны быть инкубированы, культивированы и/или сконструированы; в некоторых аспектах, частицы остаются прикрепленными к клеткам для введения пациенту. В некоторых вариантах осуществления, намагничиваемые или магниточувствительные частицы удаляют из клеток. Способы удаления намагничиваемых частиц из клеток известны и включают, например, использование конкурирующих не меченых антител и намагничиваемых частиц или антител, конъюгированных с расщепляемыми линкерами. В некоторых вариантах осуществления, намагничиваемые частицы являются биоразлагаемыми.

В некоторых вариантах осуществления, селектирование на основе аффинности осуществляют с помощью активируемой магнитным полем сортировки клеток (MACS) (Miltenyi Biotec, Auburn, CA). Системы активируемой магнитным полем сортировки клеток (MACS) способны с высокой чистотой селектировать клетки, имеющие прикрепленные к ним намагниченные частицы. В некоторых вариантах осуществления, MACS работает в режиме, в котором не целевые и целевые виды последовательно элюируют после воздействия внешнего магнитного поля. То есть, клетки, прикрепленные к намагниченным

частицам, удерживаются на месте, в то время как не привязанные частицы элюируются. Затем, после завершения такой первой стадии элюирования, частицы, которые были захвачены магнитным полем и не могли быть элюированы, освобождают некоторым образом, так что они могут быть элюированы и восстановлены. В некоторых вариантах осуществления, нецелевые клетки метят и истощают из гетерогенных популяций клеток.

В некоторых вариантах осуществления, выделение или разделение проводят с использованием системы, устройства или аппарата, которые выполняют одну или более стадий способов выделения, приготовления клетка, разделения, обработки, инкубирования, культивирования и/или составления. В некоторых аспектах, систему используют для выполнения каждой из этих стадий в закрытой или стерильной среде, например, для минимизации ошибок, действий пользователя и/или загрязнения. В одном примере, системой является система, описанная в публикации международной патентной заявки № WO2009/072003 или US 20110003380 A1.

В некоторых вариантах осуществления, система или аппарат выполняет одну или несколько, например, все стадии выделения, обработки, конструирования и составления в интегрированной или автономной системе и/или автоматизированном или программируемом режиме. В некоторых аспектах, система или аппарат включает компьютер и/или компьютерную программу, взаимодействующую с системой или аппаратом, которая позволяет пользователю программировать, контролировать, оценивать результат и/или настраивать различные аспекты стадий обработки, выделения, конструирования и составления.

В некоторых аспектах, разделение и/или другие стадии проводят с использованием системы CliniMACS (Miltenyi Biotec), например, для автоматического разделения клеток на клиническом уровне в закрытой и стерильной системе. Компоненты могут включать встроенный микрокомпьютер, блок магнитного разделения, перистальтический насос и различные пережимные клапаны. Встроенный компьютер в некоторых аспектах контролирует все компоненты инструмента и направляет систему на выполнение повторяющихся процедур в стандартизированной последовательности. Блок магнитного разделения в некоторых аспектах включает подвижный постоянный магнит и держатель для селектирующей колонки. Перистальтический насос контролирует скорость потока по всему комплекту трубок и, вместе с пережимными клапанами, обеспечивает контролируемый поток буфера через систему и непрерывную суспензию клеток.

В некоторых аспектах, система CliniMACS использует намагничиваемые частицы, связанные с антителом, которые поставляются в стерильном апирогенном растворе. В некоторых вариантах осуществления, после мечения клеток магнитными частицами клетки промывают для удаления избыточных частиц. Пакет для приготовления клеток затем соединяют с комплектом трубок, который, в свою очередь, соединяют с пакетом, содержащим буфер, и пакетом для сбора клеток. Комплект трубок состоит из предварительно собранных стерильных трубок, включая предварительную колонку и разделительную колонку, и предназначен только для одноразового использования. После

запуска программы разделения система автоматически наносит образец клеток на разделительную колонку. Меченые клетки остаются в колонке, тогда как не меченые клетки удаляют с помощью ряда стадий промывания. В некоторых вариантах осуществления, клеточные популяции для использования со способами, описанными в настоящем документе, является не меченной и не сохраняются в колонке. В некоторых вариантах осуществления, клеточные популяции для использования со способами, описанными в настоящем документе, являются меченными и сохраняются в колонке. В некоторых вариантах осуществления, клеточные популяции для использования со способами, описанными в настоящем документе, элюируют из колонки после удаления магнитного поля и получают в пакете для сбора клеток.

В некоторых вариантах осуществления, разделение и/или другие стадии проводят с использованием системы CliniMACS Prodigy (Miltenyi Biotec). Система CliniMACS Prodigy в некоторых аспектах оборудована блоком обработки клеток, который позволяет проводить автоматическую промывку и фракционирование клеток центрифугированием. Система CliniMACS Prodigy также может включать бортовую камеру и программное обеспечение для распознавания изображений, которое определяет оптимальную конечную точку фракционирования клеток через распознавание макроскопических слоев источника клеточного продукта. Например, периферическую кровь автоматически разделяют на эритроциты, белые клетки крови и слои плазмы. Система CliniMACS Prodigy также может включать интегрированную камеру для культивирования клеток, которая выполняет протоколы культивирования клеток, такие как, например, дифференциация и размножение клеток, загрузка антигена и длительное культивирование клеток. Входные порты позволяют стерильно удалять и пополнять среду, и клетки можно контролировать с применением встроенного микроскопа. См., например, Klebanoff et al. (2012) *J Immunother.* 35(9): 651-660, Terakuraet al. (2012) Blood,1:72-82 и Wang et al. (2012) J Immunother.35(9):689-701.

В некоторых вариантах осуществления, клеточную популяцию, описанную в настоящем документе, получают и обогащают (или истощают) с применением проточной цитометрии, при которой клетки, окрашенные для множества маркеров клеточной поверхности, переносятся в жидком потоке. В некоторых вариантах осуществления, клеточную популяцию, описанную в настоящем документе, получают и обогащают (или истощают) с применением (FACS)-сортинга в препаративном масштабе. В некоторых вариантах осуществления, клеточную популяцию, описанную в настоящем документе, получают и обогащают (или истощают) с применением чипов микроэлектромеханических систем (MEMS) в комбинации с системой обнаружения на основе FACS (см., например, WO 2010/033140, Cho et al. (2010) *Lab Chip* 10, 1567-1573; и Godin et al. (2008) J Biophoton. 1(5):355-376). В обоих случаях, клетки могут быть мечены множеством маркеров, позволяющих выделение хорошо охарактеризованного подмножества Т-клеток с высокой чистотой.

В некоторых вариантах осуществления, антитела или партнеры связывания

помечены одним или несколькими определяемыми маркерами, чтобы облегчить разделение для положительного и/или отрицательного селектирования. Например, разделение может быть основано на связывании с флуоресцентно мечеными антителами. В некоторых примерах, разделение клеток на основе связывания антител или других партнеров связывания, специфических для одного или нескольких маркеров клеточной поверхности, проводят в жидком потоке, например, с помощью флуоресцентного сортинга (FACS), включая препаративный масштаб (FACS) и/или чипов микроэлектромеханических систем (MEMS), например, в комбинации с проточно-цитометрической системой определения. Такие способы позволяют проводить положительное и отрицательное селектирование на основе множества маркеров одновременно.

В некоторых вариантах осуществления, способы получения включают стадии замораживания, например, криоконсервации, клеток до или после выделения, инкубирования и/или конструирования. В некоторых вариантах осуществления, стадия замораживания и последующего размораживания удаляет гранулоциты и, до некоторой степени, моноциты в клеточной популяции. В некоторых вариантах осуществления, клетки суспендируют в замораживающем растворе, например, после стадии промывания для удаления плазмы и тромбоцитов. Может использоваться любой из множества известных замораживающих растворов и параметров, в некоторых аспектах. Один из примеров включает использование PBS, содержащего 20% ДМСО и 8% сывороточного альбумина человека (HSA), или другую подходящую среду для замораживания клеток. Затем ее разводят 1:1 так, чтобы конечная концентрация ДМСО и HSA составляла 10% и 4% соответственно. В некоторых вариантах осуществления, клеточные композиций хранят в составе, содержащем точно или примерно 5%, 6%, 7%, 7,5%, 8%, 9% или 10% диметилсульфоксида или в диапазоне, определенном любым из вышеперечисленного, например, точно или примерно 7,5% ДМСО. В некоторых аспектах, композиции хранят в составе, содержащем точно или примерно 0,5%, 1%, 2% или 2,5% (об/об) 25% альбумин человека или в диапазоне, определенном любым из вышеперечисленного, например, точно или примерно 1% (об/об) 25% альбумина человека. Клетки затем замораживают до -80°C со скоростью 1° в минуту и хранят в паровой фазе жидкого азота в резервуаре для хранения.

В некоторых вариантах осуществления, выделение и/или селектирование дает одну или несколько входных композиций обогащенных Т клеток, например, CD3+ Т-клеток, CD4+ Т-клеток, и/или CD8+ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления, две или несколько раздельных входных композиций выделяют, обогащают или получают из одного биологического образца. В некоторых вариантах осуществления, отдельных входные композиции выделяют, селектируют, обогащают и/или получают из отдельных биологических образцов, собранных, взятых и/или полученных от одного и того же субъекта.

В определенных вариантах осуществления, одна или несколько входных композиций являются или включают композицию обогащенных Т клеток, которая включает, по меньшей мере, 60%,по меньшей мере, 65%,по меньшей мере, 70%,по меньшей

мере, 75%, по меньшей мере, 80%, по меньшей мере, 85%, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98%, по меньшей мере, 99%, по меньшей мере, 99,5%, по меньшей мере, 99,9% или точно или примерно 100% CD3+ Т-клеток. В конкретном варианте осуществления, входные композиции обогащенных Т клеток состоят по существу из CD3+ Т-клеток.

В определенных вариантах осуществления, одна или несколько входных композиций являются или включают композицию обогащенных CD4+ Т-клеток, которая включает, по меньшей мере, 60%,по меньшей мере, 65%,по меньшей мере, 70%,по меньшей мере, 75%, по меньшей мере, 80%, по меньшей мере, 85%, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98%, по меньшей мере, 99%, по меньшей мере, 99,5%, по меньшей мере, 99,9% или точно или примерно 100% CD4+ Т-клеток. В определенных вариантах осуществления, входная композиция CD4+ Т-клеток включает меньше чем 40%, меньше чем 35%, меньше чем 30%, меньше чем 25%, меньше чем 20%, меньше чем 15%, меньше чем 10%, меньше чем 5%, меньше чем 1%, меньше чем 0,1%, или меньше чем 0,01% CD8+ Т-клеток, и/или не содержит CD8+ Т-клетки, и/или не содержит или по существу не содержит CD8+ Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления, композиция обогащенных Т клеток состоит по существу из CD4+ Т-клеток.

В определенных вариантах осуществления, одна или несколько входных композиций являются или включают композицию CD8+ Т-клеток, которая является или включает, по меньшей мере, 60%, по меньшей мере, 65%, по меньшей мере, 70%, по меньшей мере, 75%, по меньшей мере, 80%, по меньшей мере, 85%, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 98%, по меньшей мере, 99%, по меньшей мере, 99,5%, по меньшей мере, 99,9% или точно или примерно 100% CD8+ Т-клеток. В определенных вариантах осуществления, композиция CD8+ Т-клеток содержит меньше чем 40%, меньше чем 35%, меньше чем 30%, меньше чем 25%, меньше чем 20%, меньше чем 15%, меньше чем 10%, меньше чем 5%, меньше чем 1%, меньше чем 0,1%, или меньше чем 0,01% CD4+ Т-клеток, и/или не содержит CD4+ Т-клетки, и/или не содержит или по существу не содержит CD4+ Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления, композиция обогащенных Т клеток состоит по существу из CD8+ Т-клеток.

2. Активация и стимулирование

В некоторых вариантах осуществления, клетки инкубируют и/или культивируют до или в связи с генетическим конструированием. Стадии инкубирования могут включать культивирование, культивирование, стимулирование, активацию и/или размножение. Инкубирование и/или конструирование может быть проведено в культуральном сосуде, таком как блок, камера, лунка, колонка, пробирка, комплект трубок, клапан, флакон, чашка для культивирования, пакет или другой контейнер для культивирования или культивирования клеток. В некоторых вариантах осуществления, популяции или клетки инкубируют в условиях стимулирования или в присутствии стимулирующего агента. Такие условия включают условия, предназначенные для индуцирования пролиферации, размножения, активации и/или выживания клеток в популяции, имитации воздействия

антигена и/или подготовки клеток для генетического конструирования, например, для введения рекомбинантного антигенного рецептора.

Условия могут включать одну или несколько конкретных сред, температуру, содержание кислорода, содержание диоксида углерода, время, агенты, например, питательные вещества, аминокислоты, антибиотики, ионы и/или стимулирующие факторы, такие как цитокины, хемокины, антигены, партнеры связывания, слитые белки, рекомбинантные растворимые рецепторы и любые другие агенты, предназначенные для активации клеток.

В некоторых вариантах осуществления, условия стимулирования или агенты включают один или более агент, например, лиганд, который способен активировать внутриклеточный сигнальный домен TCR комплекса. В некоторых аспектах, агент включает или инициирует внутриклеточный сигнальный каскад TCR/CD3 в Т-клетке. Такие агенты могут включать антитела, специфические для TCR, например анти-CD3. В некоторых вариантах осуществления, условия стимулирования включают один или несколько агентов, например лигандов, которые способны стимулировать костимулирующий рецептор, например, анти-CD28. В некоторых вариантах осуществления, такие агенты и/или лиганды могут быть связаны с твердой подложкой, такой как гранула, и/или одним или несколькими цитокинами. Необязательно, способ размножения может дополнительно включать стадию добавления анти-CD3 и/или анти CD28 антитела к культуральной среде (например, в концентрации, по меньшей мере, примерно 0,5 нг/мл). В некоторых вариантах осуществления, агенты стимулирования включают IL-2, IL-15 и/или IL-7. В некоторых аспектах, концентрация IL-2 составляет, по меньшей мере, примерно 10 единиц/мл.

В некоторых аспектах, инкубирование проводят в соответствии с методами, описанным в патенте США № 6,040,177, Klebanoff et al.(2012) J Immunother. 35(9): 651-660, Terakuraet al. (2012) Blood,1:72-82, и/или Wang et al. (2012) J Immunother. 35(9):689-701.

В некоторых вариантах осуществления, Т-клетки размножают добавлением в инициирующую культивирование популяцию питающих клеток, таких как неделящиеся мононуклеарные клетки периферической крови (PBMC), (например, так, чтобы полученная популяция клеток содержала, по меньшей мере, примерно 5, 10, 20 или 40 или более питающих клеток PBMC для каждого Т-лимфоцита в начальной популяции, которая должна быть размножена); и инкубированием культуры (например, в течение времени, достаточного для увеличения числа Т-клеток). В некоторых аспектах, неделящиеся питающие клетки могут включать гамма-облученные PBMC питательные клетки. В некоторых вариантах осуществления PBMC облучают гамма-лучами в интервале примерно от 3000 до 3600 рад для предотвращения деления клеток. В некоторых аспектах, питающие клетки добавляют в питательную среду до добавления популяции Т-клеток.

В некоторых вариантах осуществления, условия стимулирования включают температуру, подходящую для роста Т-лимфоцитов человека, например, по меньшей мере, примерно 25 градусов Цельсия, в общем, по меньшей мере, примерно 30 градусов и, в

общем, точно или примерно 37 градусов Цельсия. Необязательно, инкубирование может дополнительно включать добавление неделящихся EBV-трансформированных лимфобластоидных клеток (LCL) в качестве питающих клеток. LCL могут быть облучены гамма-лучами в интервале примерно от 6000 до 10000 рад. Питающие клетки LCL в некоторых аспектах представлены в любом подходящем количестве, например, при соотношении питающих клеток LCL к исходным Т-лимфоцитам, по меньшей мере, примерно 10:1.

В вариантах осуществления, антигенспецифические Т-клетки, такие как антигенспецифические CD4+ и/или CD8+ Т-клетки, получают стимулированием наивных или антигенспецифических Т лимфоцитов с антигеном. Например, антигенспецифические Т-клеточные линии или клоны могут быть созданы до цитомегаловирусных антигенов через выделение Т-клеток у инфицированных субъектов и стимулированием клеток in vitro с тем же антигеном.

В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, часть инкубирования в присутствии одного или нескольких условий стимулирования или стимулирующих агентов проводят во внутренней полости центрифужной камеры, например, при центробежном вращении, так, как описано в международной публикации номер WO2016/073602. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, часть инкубирования проводят в центрифужной камере включает смешивание с реагентом или реагентами для индуцирования стимулирования и/или активации. В некоторых вариантах осуществления, клеток, такие как выбранные клетки, смешивают в условиях стимулирования или со стимулирующим агентом в центрифужной камере. В некоторых аспектах таких процессов, объем клеток смешивают с количеством одного или нескольких условий стимулирования или агентов, которое значительно меньше обычно применяемого при проведении подобного стимулирования в планшете для культивирования клеток или другой системе.

В некоторых вариантах осуществления, агент стимулирования добавляют к клеткам в полости камеры в количестве, которое по существу меньше, чем (например, составляет не более чем 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% или 80% количества) количество агента стимулирования, которое обычно используют или может быть необходимым для достижения примерно такой же или подобной эффективности селектирования того же количества клеток или того же объема клеток при проведении селектирования без смешивания в центрифужной камере, например, в пробирке или пакете при периодическом встряхивании или вращении. В некоторых вариантах осуществления, инкубирование проводят с добавлением буфера инкубирования к клеткам и агенту стимулирования для достижения целевого объема с инкубированием реагента, например, от 10 мл до 200 мл, например, по меньшей мере, или примерно, по меньшей мере, или примерно или 10 мл, 20 мл, 30 мл, 40 мл, 50 мл, 60 мл, 70 мл, 80 мл, 90 мл, 100 мл, 150 мл или 200 мл. В некоторых вариантах осуществления, буфер инкубирования и агент стимулирования предварительно смешивают до добавления к клеткам. В некоторых вариантах осуществления, буфер инкубирования и агент стимулирования по отдельности добавляют к клеткам. В некоторых

вариантах осуществления, стимулирование инкубированием проводят при периодическом осторожном перемешивании, что может помочь в способствовании энергетически благоприятных взаимодействий, и тем самым позволяет применять меньшее общее количество агента стимулирования при достижении стимулирования и активации клеток.

В некоторых вариантах осуществления, инкубирование обычно проводят в условиях смешивания, таких как в присутствии вращения при относительно низкой силе или скорости, такой как скорость ниже чем та, которую применяют для осаждения клеток центрифугированием, например, от или от примерно 600 об./мин. до 1700 об./мин. (например точно или примерно или, по меньшей мере, 600 об./мин., 1000 об./мин. или 1500 об./мин. или 1700 об./мин.), например, при RCF на образце или стенке камеры или другого контейнера от или от примерно 80g до 100g (например точно или примерно или, по меньшей мере, 80 g, 85 g, 90 g, 95 g или 100 g). В некоторых вариантах осуществления, вращение проводят с применением повторяющихся интервалов вращения при такой низкой скорости с последующим периодом отдыха, например, при вращении и/или отдыхе в течение 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 секунд, например при вращении в течение приблизительно 1 или 2 секунд с последующим отдыхом в течение приблизительно 5, 6, 7 или 8 секунд.

В некоторых вариантах осуществления, общая длительность инкубирования, например с агентом стимулирования, составляет от или от примерно 1 часа до 96 часов, 1 часа и 72 часов, 1 часа и 48 часов, 4 часов и 36 часов, 8 часов и 30 часов или 12 часов и 24 часов, например, по меньшей мере, или примерно по меньшей мере, 6 часов, 12 часов, 18 часов, 24 часов, 36 часов или 72 часа. В некоторых вариантах осуществления, дополнительное инкубирование проводят в течение от или примерно от 1 часа до 48 часов, 4 часов и 36 часов, 8 часов и 30 часов или 12 часов и 24 часов, включительно.

В конкретных вариантах осуществления, условия стимулирования включают инкубирование, культивирование и/или культивирование композиции обогащенных Т-клеток с и/или в присутствии одного или нескольких цитокинов. В конкретных вариантах осуществления, один или несколько цитокинов являются рекомбинантными цитокинами. В некоторых вариантах осуществления, один или несколько цитокинов являются рекомбинантными цитокинами человека. В некоторых вариантах осуществления, один или несколько цитокинов связываются с и/или способны связываться с рецепторами, которые экспрессированы и/или являются эндогенными к Т-клеткам. В конкретных вариантах осуществления, один или несколько цитокинов является или включает член 4-альфа-спираль-связанного семейства цитокинов. В некоторых вариантах осуществления, члены 4-альфа-спираль-связанного семейства цитокинов включают, но не ограничены ими, интерлейкин-2 (IL-2), интерлейкин-4 (IL-4), интерлейкин-7 (IL-7), интерлейкин-9 (IL-9), интерлейкин 12 (IL-12), интерлейкин 15 (IL-15), гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF) и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF).

В некоторых вариантах осуществления, стимулирование вызывает активацию и/или пролиферацию клеток, например, до трансдукции.

3. Векторы и способы генетической инженерии

В некоторых вариантах осуществления, сконструированные клетки, таких как Т клетки, применяемые в связи с представленными способами, применениями, готовыми изделиями или композициями, являются клетками, которые были генетически сконструированы для экспрессии рекомбинантного рецептора, например, CAR или TCR, описанного в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления, клетки сконструированы введением, доставкой или переносом последовательностей нуклеиновых кислот, которые кодируют рекомбинантный рецептор и/или другие молекулы.

В некоторых вариантах осуществления, способы получения сконструированных клеток включают введение полинуклеотида, кодирующего рекомбинантный рецептор (например анти-CD19 CAR) в клетку, например, такую как стимулированная или активированная клетка. В конкретных вариантах осуществления, рекомбинантными белками являются рекомбинантные рецепторы, такие как описаны. Введение молекул нуклеиновой кислоты, кодирующих рекомбинантный белок, такой как рекомбинантный рецептор, в клетку может проводиться с применением множества известных векторов. Такие векторы включают вирусные и не вирусные системы, включая лентивирусные и гаммаретровирусные системы, а также системы на основе транспозона, такие как системы переноса генов на основе PiggyBac или Sleeping Beauty. Типовые способы включают таковые для переноса нуклеиновых кислот, включая через вирусную, *например*, ретровирусную или лентивирусную, трансдукцию, транспозоны и электропорацию. В некоторых вариантах осуществления, конструирование дает одну или несколько сконструированных композиций обогащенных Т клеток.

В определенных вариантах осуществления, одна или несколько композиций стимулированных Т клеток являются или включают две отдельных стимулированных композиций обогащенных Т клеток. В конкретных вариантах осуществления, две разные композиции обогащенных Т клеток, например, две разные композиции обогащенных Т клеток, которые селектируют, выделяют и/или обогащают из одного и того же биологического образца, сконструированы отдельно. В определенных вариантах осуществления, две разные композиции включают композицию обогащенных CD;+ Т-клеток. В конкретных вариантах осуществления, две разные композиции включают композицию обогащенных CD8+ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления, две разные композиции обогащенных CD4+ Т-клеток и обогащенных CD8+ Т-клеток генетически сконструированы по отдельности.

В некоторых вариантах осуществления, перенос гена осуществляют сначала стимулированием клетки, например, комбинированием ее со стимулом, который индуцирует ответ, таким как пролиферация, выживание и/или активация, например, по данным экспрессии цитокина или активации маркера, с последующей трансдукцией активированных клеток и размножением в культуре до количества, достаточного для клинического применения. В определенных вариантах осуществления, перенос гена осуществляют сначала инкубацией клеток в стимулирующих условиях, например, с

помощью любого из описанных способов.

В некоторых вариантах осуществления, способы генетического конструирования проводят через контакт одной или нескольких клеток популяции с молекулой нуклеиновой кислоты, кодирующей рекомбинантный белок, например рекомбинантный рецептор. В некоторых вариантах осуществления, контакт может проводиться центрифугированием, таким как центрифужная инокуляция (например, центрифужная инокуляция). Такие способы включают любые способы, описанные в международной публикации номер WO2016/073602. Типовые центрифужные камеры включают такие, которые производятся и продаются Biosafe SA, включая те, которые применяются с системой Sepax® и Sepax® 2, включая A-200/F и A-200 центрифужные камеры и разные наборы для применения с такими системами. Типовые камеры и инструменты для обработки описаны, например, в патенте США № 6,123,655, патенте США № 6,733,433 и опубликованной заявке на патент США, публикация №: US 2008/0171951 и опубликованной международной заявке на патент № WO 00/38762, содержание каждой из которых включены в настоящий документ посредством ссылки во всей полноте. Типовые наборы для применения с такими системами включают, но не ограничены ими, одноразовые наборы, продаваемые BioSafe SA под торговым наименованием CS-430.1, CS-490.1, CS-600.1 или CS-900.2.

В некоторых вариантах осуществления, контакт может осуществляться при центрифугировании, таком как центрифужная инокуляция (например, центрифужная инокуляция. В некоторых вариантах осуществления, композиция, содержащая клетки, вектор, например, вирусные частицы и реагент может быть повергнута вращению в основном при относительно низкой силе или скорости, например, при скорости ниже чем та, которая применяется для осаждения клеток центрифугированием, например, от или от примерно 600 об./мин. до 1700 об./мин. (например точно или примерно или по меньшей мере, 600 об./мин., 1000 об./мин. или 1500 об./мин. или 1700 об./мин.). В некоторых вариантах осуществления, вращение проводят с силой, например, относительной центробежной силой, от или от примерно 100 g до 4000 g (например, точно или примерно, или, по меньшей мере, точно или примерно 100 g, 200 g, 300 g, 400 g, 500 g, 600 g, 700 g, 800 g, 900 g, 1000 g, 1500 g, 2000 g, 2500 g, 3000 g или 3500 g), измеренной, например, на внутренней или внешней стенке камеры или полости. Термин «относительная центробежная сила» или RCF обычно понимается как эффективная сила, приложенная к объекту или веществу (например, клетке, образцу или грануле и/или точке в камере или другом вращающемся контейнере) относительно земной силы тяжести в конкретной точке пространства по сравнению с осью вращения. Значение может быть определено по известным формулам с учетом силы тяжести, скорости вращения и радиуса вращения (расстояние от оси вращения и объекта, вещества или частицы, на которых измеряется RCF).

В некоторых вариантах осуществления, система включена и/или помещена в сочетании с другими инструментами, включая инструменты для работы, автоматизации, контроля и/или отслеживания аспектов стадии трансдукции и одной или нескольких разных

других стадий обработки, проводимых в системе, например, одной или нескольких стадий обработки, которые могут проводиться с или в сочетании с системой центрифужной камеры, как описано в настоящем документе или в международной публикации номер WO2016/073602. Эти инструменты в некоторых вариантах осуществления находятся в пределах камеры. В некоторых вариантах осуществления, инструменты включают камеру, которая включает кожух, содержащий контрольную схему, центрифугу, крышку, моторы, насосы, датчики, дисплеи и пользовательский интерфейс. Типовое устройство описано в патенте США № 6,123,655, патенте США № 6,733,433 и US 2008/0171951.

В некоторых вариантах осуществления, система содержит ряд контейнеров, например, пакетов, трубок, кранов, зажимов, соединителей и центрифужных камер. В некоторых вариантах осуществления, контейнеры, такие как пакеты, включают, один или несколько контейнеров, таких как пакеты, содержащих трансдуцируемые клетки и частицы вирусного вектора, в одном и том же контейнере или разных контейнерах, таких как один и тот же пакет или отдельные пакеты. В некоторых вариантах осуществления, система дополнительно включает один или несколько контейнеров, таких как пакеты, содержащих среду, такую как разбавитель и/или промывочный раствор, который запускают в камеру и/или другие компоненты для разбавления, ресуспендирования и/или промывания компонентов и/или популяций во время способов. Контейнеры могут быть соединены в одном или нескольких положениях в системе, например, в положении, соответствующем входной линии, линии разбавителя, линии промывания, линии отходов и/или выходной линии.

В некоторых вариантах осуществления, камера связана с центрифугой, которая способна осуществлять ротацию камеры, например, вокруг ее оси вращения. Вращение может происходить до, во время и/или после инкубирования в сочетании с трансдукцией клеток и/или на одной или нескольких других стадиях обработки. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления, одну или несколько разных стадий обработки проводят при вращении, например, с определенной силой. Камера обычно способна к вертикальному или в общем вертикальному вращению, так, чтобы камера находилась вертикально во время центрифугирования и боковые стенки и ось расположены вертикально или в основанном вертикально, и торцевая стенка расположена горизонтально или в основном горизонтально.

В некоторых вариантах осуществления, во время, по меньшей мере, части генетической инженерии, например трансдукции, и/или после генетической инженерии клетки переносят в пакет биореактора для культивирования генетически сконструированных клеток, например, для культивирования или размножения клеток.

В некоторых вариантах осуществления, рекомбинантные нуклеиновые кислоты переносят в клетки с применением частиц рекомбинантного инфекционного вируса, такого как, например, векторы, полученные из вируса обезьян 40 (SV40), аденовирусов, аденоассоциированных вирусов (AAV). В некоторых вариантах осуществления, рекомбинантные нуклеиновые кислоты переносят в Т-клетки с применением

рекомбинантных лентивирусных векторов или ретровирусных векторов, таких как гамма-ретровирусные векторы (см., например, Koste et al. (2014) Gene Therapy 2014 Apr 3. doi: 10,1038/gt, 2014,25; Carlens et al. (2000) Exp Hematol 28(10): 1137-46; Alonso-Camino et al. (2013) Mol Ther Nucl Acids 2, e93; Park et al., Trends Biotechnol. 2011 November 29(11): 550-557).

В некоторых вариантах осуществления, ретровирусный вектор имеет последовательность длинного концевого повтора (LTR), например, ретровирусного вектора, полученного из вируса лейкоза мышей Молони (MoMLV), вируса миелопролиферативной саркомы (MPSV), вируса эмбриональных стволовых клеток мыши (MESV), вируса стволовых клеток мыши (MSCV) или вируса некроза селезенки (SFFV). Большинство ретровирусных векторов получают из ретровирусов мышей. В некоторых вариантах осуществления, ретровирусы включают такие, которые происходят из любого источника клеток птиц или млекопитающих. Ретровирусы обычно амфотропны, что означает, что они способны инфицировать клетки-хозяева нескольких видов, включая человека. В одном варианте осуществления экспрессируемый ген заменяет ретровирусные последовательности gag, pol и/или env. Описан ряд иллюстративных ретровирусных систем (например, патенты США №№ 5,219,740; 6,207,453; 5,219,740; Miller and Rosman (1989) BioTechniques 7:980-990; Miller, A. D. (1990) Human Gene Therapy 1:5-14; Scarpa et al. (1991) Virology 180: 849-852; Burns et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:8033-8037; и Boris-Lawrie and Temin (1993) Cur. Opin. Genet. Develop. 3:102-109).

Способы лентивирусной трансдукции известны. Типовые способы описаны в, например, Wang et al. (2012) J. Immunother. 35(9): 689-701; Cooper et al. (2003) Blood. 101:1637-1644; Verhoeyen et al. (2009) Methods Mol Biol. 506: 97-114; и Cavalieri et al. (2003) Blood. 102(2): 497-505.

В некоторых вариантах осуществления, частицы вирусного вектора содержат геном, полученный из вектора на основе ретровирусного генома, например, полученный из вектора на основе лентивирусного генома. В некоторых аспектах представленных вирусных векторов, гетерологичная нуклеиновая кислота, кодирующая рекомбинантный рецептор, такой как антигенный рецептор, такой как CAR, содержится и/или расположен между 5′ LTR и 3′ LTR последовательностями векторного генома.

В некоторых вариантах осуществления, геномом вирусного вектора является лентивирусный геном, такой как HIV-1 геном или SIV геном. Например, лентивирусные конструкции созданы путем умножения ослабляющих генов вирулентности, например, гены env, vif, vpu и nef могут быть удалены, что делает вектор более безопасным для терапевтических целей. Лентивирусные векторы известны. См. Naldini et al., (1996 и 1998); Zufferey et al., (1997); Dull et al., 1998, патенты США №№ 6,013,516; и 5,994,136). В некоторых вариантах осуществления эти вирусные векторы основаны на плазмидах или на вирусах и сконфигурированы так, чтобы нести существенные последовательности для включения чужеродной нуклеиновой кислоты, для селектирования и для переноса нуклеиновой кислоты в клетку-хозяин. Известные лентивирусы можно легко получить из

хранилищ или коллекций, таких как American Type Culture Collection («ATCC»; 10801 University Blvd., Manassas, Va. 20110-2209) или выделить из известных источников с применением общеизвестных методик.

Неограничивающие примеры лентивирусных векторов включают полученные из лентивируса, такого как вирус иммунодефицита человека 1 (HIV-1), HIV-2, вирус иммунодефицита обезьян (SIV), Т-лимфотропного вируса человека 1 (HTLV-1), HTLV-2 или вируса инфекционной анемии у лошадей (E1AV). Например, лентивирусные конструкции были созданы путем многократного ослабления генов вирулентности ВИЧ, например, гены env, vif, vpr, vpu и nef удалены, что делает вектор более безопасным для терапевтических целей. Лентивирусные векторы известны в данной области техники, см. Naldini et al., (1996 and 1998); Zufferey et al., (1997); Dull et al., 1998, патенты США №№ Nos. 6,013,516; and 5,994,136). В некоторых вариантах осуществления эти вирусные векторы основаны на плазмидах или на вирусах и сконфигурированы так, чтобы нести существенные последовательности для включения чужеродной нуклеиновой кислоты, для селектирования и для переноса нуклеиновой кислоты в клетку-хозяин. Известные лентивирусы можно легко получить из хранилищ или коллекций, таких как American Type Culture Collection («ATCC»; 10801 University Blvd., Manassas, Va. 20110-2209) или выделить из известных источников с применением общеизвестных методик.

В некоторых вариантах осуществления, вектор вирусного генома может содержать последовательности 5′ и 3′ LTR ретровируса, такого как лентивирус. В некоторых аспектах, конструкция вирусного генома может содержать последовательности из 5′ и 3′ LTR лентивируса и, в частности, может содержать R и U5 последовательности из 5′ LTR лентивируса и инактивированную или самоинактивирующуюся 3′ LTR из лентивируса. LTR последовательностями могут быть LTR последовательности из любого лентивируса из любых видов. Например, они могут быть LTR последовательностями из HIV, SIV, FIV или BIV. Обычно, LTR последовательностями являются HIV LTR последовательности.

В некоторых вариантах осуществления, нуклеиновая кислота вирусного вектора, такого как вирусный вектор HIV, не содержит дополнительных единиц транскрипции. Векторный геном может содержать инактивированную или самоинактивирующуюся 3′ LTR (Zufferey et al. *J Virol* 72: 9873, 1998; Miyoshi et al., *J Virol* 72:8150, 1998). Например, делеция в U3 области 3' LTR нуклеиновой кислоты, используемой для получения вирусной векторной РНК, может быть использована для создания самоинактивирующихся (SIN) векторов. Эта делеция затем может быть перенесена на 5' LTR провирусной ДНК во время обратной транскрипции. Самоинактивирующийся вектор обычно имеет делецию энхансера и промотора последовательности из 3' длинного концевого повтора (LTR), который копируется в 5' LTR во время интеграции вектора. В некоторых вариантах осуществления может быть устранена достаточная последовательность, включая удаление TATA фрагмента, чтобы отменить транскрипционную активность LTR. Это может предотвратить получение полноразмерного вектора РНК в трансдуцированных клетках. В некоторых аспектах, U3 элемент 3' LTR содержит делецию его энхансерной последовательности

содержит TATA фрагмент, сайты Sp1 и NF каппа B. В результате самоинактивации 3' LTR провирус, который генерируется после проникновения и обратной транскрипции, содержит инактивированный 5' LTR. Это может повысить безопасность за счет снижения риска мобилизации векторного генома и влияния LTR на соседние клеточные промоторы. Самоинактивирующийся 3' LTR может быть сконструирован любым способом, известным в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления это не влияет на титры вектора или свойства вектора in vitro или in vivo.

Необязательно, последовательность U3 из лентивирусного 5 'LTR может быть заменена на последовательность промотора в вирусной конструкции, например гетерологичную последовательность промотора. Это может увеличить титр вируса, выделенного из линии упаковывающих клеток. Также может быть включена энхансерная последовательность. Может быть использована любая комбинация энхансер/промотор, которая увеличивает экспрессию генома вирусной РНК в линии упаковывающих клеток. В одном примере, используется последовательность энхансер/промотор cmV. (патент США № 5,385,839 и патент США № 5,168,062).

В некоторых вариантах осуществления, риск инсерционного мутагенеза можно минимизировать путем конструирования генома ретровирусного вектора, такого как геном лентивирусного вектора, с дефектом интеграции. Для создания неинтегрирующегося векторного генома можно использовать множество подходов. В некоторых вариантах осуществления, мутация может быть сконструирована в компонент фермента интегразы гена pol, так что он кодирует белок с неактивной интегразой. В некоторых вариантах осуществления, геном вектора сам по себе может быть модифицирован для предотвращения интеграции, например, мутацией или делецией одного или обоих сайтов прикрепления или превращения 3' LTR-проксимального полипуринового тракта (PPT) в нефункциональный посредством делеции или модификации. В некоторых вариантах осуществления доступны не генетические подходы; они включают фармакологические агенты, которые ингибируют одну или несколько функций интегразы. Подходы не исключают друг друга; то есть, более чем один из них может использоваться одновременно. Например, как сайты интегразы, так и сайты связывания могут быть не функциональными, или сайт интегразы и PPT могут быть не функциональными, или сайты связывания и сайт PPT могут быть не функциональными, или все они могут быть не функциональными. Такие способы и геномы вирусных векторов известны и доступны (см. Philpott и Thtasher, *Human Gene Therapy* 18:483, 2007; Engelman et al. J Virol 69:2729, 1995; Brown et al *J Virol* 73:9011 (1999); WO 2009/076524; McWilliams et al., *J Virol* 77:11150, 2003; Powell и Levin *J Virol* 70:5288, 1996).

В некоторых вариантах осуществления, вектор содержит последовательности для размножения в клетке-хозяине, такой как прокариотическая клетка-хозяин. В некоторых вариантах осуществления, нуклеиновая кислота вирусного вектора содержит одну или более точек начала репликации для размножения в прокариотической клетке, такой как бактериальная клетка. В некоторых вариантах осуществления, векторы, которые включают

прокариотическое происхождение репликации, также могут содержать ген, экспрессия которого обеспечивает обнаруживаемый или селектируемый маркер, такой как устойчивость к лекарственным средствам.

Геном вирусного вектора обычно конструируют в форме плазмиды, которая может быть трансфицирована в упаковывающую или продуцирующую клеточную линию. Любой из множества известных методов может применяться для получения ретровирусных частиц, геном которых содержит РНК копию генома вирусного вектора. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, два компонента вовлечены в создание системы доставки генов на основе вируса: во-первых, упаковочные плазмиды, включающие структурные белки, а также ферменты, необходимые для генерации частиц вирусного облака, и, во-вторых, сам вирусный вектор, т.е. переносимый генетический материал. Гарантии биобезопасности могут быть включены в конструкцию одного или обоих этих компонентов.

В некоторых вариантах осуществления, упаковочная плазмида может содержать все ретровирусы, такие как HIV-1, белки, отличные от белков оболочки (Naldini et al., 1998). В других вариантах осуществления, вирусные векторы могут не содержать дополнительных вирусных генов, таких как гены, ассоциированные с вирулентностью, например vpr, vif, vpu и nef, и/или Tat, первичный трансактиватор HIV. В некоторых вариантах осуществления, лентивирусный вектор, такой как лентивирусный вектор на основе HIV, содержит только три гена родительского вируса: gag, pol и rev, что снижает или исключает возможность восстановления вируса дикого типа посредством рекомбинации.

В некоторых вариантах осуществления, геном вирусного вектора вводят в упаковывающую клеточную линию, которая содержит все компоненты, необходимые для упаковки вирусной геномной РНК, транскрибированной из генома вирусного вектора в вирусные частицы. Альтернативно, геном вирусного вектора может содержать один или несколько генов, кодирующих вирусные компоненты в дополнение к одной или нескольким последовательностям, например, рекомбинантным нуклеиновым кислотам, представляющим интерес. В некоторых аспектах, однако, чтобы предотвратить репликацию генома в клетке-мишени, эндогенные вирусные гены, необходимые для репликации, удаляются и предоставляются отдельно в упаковывающей клеточной линии.

В некоторых вариантах осуществления, упаковывающая клеточная линия трансфицирована одним или несколькими плазмидными векторами, содержащими компоненты, необходимые для создания частиц. В некоторых вариантах осуществления, упаковывающая клеточная линия трансфицирована плазмидой, содержащей геном вирусного вектора, включая LTR, цис-действующую упаковывающую последовательность и последовательность, представляющую интерес, т.е. нуклеиновую кислоту, кодирующую антигенный рецептор, такой как CAR; и одну или несколько хелперных плазмид, кодирующих ферментные и/или структурные компоненты вируса, такие как Gag, pol и/или rev. В некоторых вариантах осуществления, несколько векторов используются для разделения различных генетических компонентов, которые генерируют частицы

ретровирусного вектора. В некоторых таких вариантах осуществления, предоставление отдельных векторов в упаковывающие клетки снижает вероятность событий рекомбинации, которые в противном случае могли бы генерировать компетентные к репликации вирусы. В некоторых вариантах осуществления, можно использовать единичный плазмидный вектор, содержащий все ретровирусные компоненты.

В некоторых вариантах осуществления, частицы ретровирусного вектора, такие как частицы лентивирусного вектора, псевдотипированы для повышения эффективности трансдукции клеток-хозяев. Например, частицы ретровирусного вектора, такие как частицы лентивирусного вектора, в некоторых вариантах осуществления, псевдотипированы с гликопротеином VSV-G, который обеспечивает широкий спектр клеток-хозяев, расширяя типы клеток, которые могут быть трансдуцированы. В некоторых вариантах осуществления, упаковывающая клеточная линия трансфицирована плазмидой или полинуклеотидом, кодирующим не нативную оболочку гликопротеина, например, включая ксенотропные, политропные или амфотропные оболочки, такие как оболочка вируса Sindbis, GALV или VSV-G.

В некоторых вариантах осуществления, упаковывающая клеточная линия обеспечивает компоненты, включающие вирусные регуляторные или структурные белки, которые должны быть транс-активными для упаковки вирусной геномной РНК в частицы лентивирусного вектора. В некоторых вариантах осуществления, упаковывающей клеточной линии может быть любая клеточная линия, которая способна экспрессировать лентивирусные белки и продуцировать функциональные частицы лентивирусного вектора. В некоторых аспектах, подходящие упаковывающие клеточные линии включают 293 (ATCC CCL X), 293T, HeLA (ATCC CCL 2), D17 (ATCC CCL 183), MDCK (ATCC CCL 34), BHK (ATCC CCL-10) и Cf2Th (ATCC CRL 1430) клетки.

В некоторых вариантах осуществления, упаковывающая клеточная линия стабильно экспрессирует вирусный белок. Например, в некоторых аспектах, может быть сконструирована упаковывающая клеточная линия, содержащая gag, pol, rev и/или другие структурные гены, но без LTR и упаковывающих компонентов. В некоторых вариантах осуществления, упаковывающая клеточная линия может быть временно трансфицирована молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими один или несколько вирусных белков вместе с геномом вирусного вектора, содержащим молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую гетерологичный белок, и/или а нуклеиновой кислоты, кодирующей оболочечный гликопротеин.

В некоторых вариантах осуществления, вирусные векторы и упаковывающие и/или хелперные плазмиды вводят посредством трансфекции или инфицирования в упаковывающую клеточную линию. Упаковывающая клеточная линия продуцирует частицы вирусного вектора, содержащие геном вирусного вектора. Способы трансфекции или заражения хорошо известны. Неограничивающие примеры включают фосфат кальция, DEAE-декстран и методы липофекции, электропорации и микроинъекции.

Когда рекомбинантную плазмиду и ретровирусный LTR и упаковывающие

последовательности вводят в специальную клеточную линию (например, путем преципитации фосфатом кальция, например), упаковывающие последовательности могут позволять упаковывать РНК транскрипт рекомбинантной плазмиды в вирусные частицы, которые затем могут быть секретированы в питательные среды. Затем, в некоторых вариантах осуществления, получают среду, содержащую рекомбинантные ретровирусы, необязательно концентрированную и используемую для переноса гена. Например, в некоторых аспектах, после котрансфекции упаковывающих плазмид и переноса вектора на упаковывающую клеточную линию, частицы вирусного вектора извлекают из культуральной среды и титруют стандартными методами, используемыми специалистами в данной области.

В некоторых вариантах осуществления, ретровирусный вектор, такой как лентивирусный вектор, может быть получен в упаковывающей клеточной линии, такой как типовая HEK 293T-клеточная линия, через введение плазмид, что позволяет создание лентивирусных частиц. В некоторых вариантах осуществления, упаковывающие клетки трансфицированы и/или содержат полинуклеотид, кодирующий gag и pol, и полинуклеотид, кодирующий рекомбинантный рецептор, такой как антигенный рецептор, например, CAR. В некоторых вариантах осуществления, упаковывающая клеточная линия необязательно и/или дополнительно трансфицирована и/или содержит полинуклеотид, кодирующий rev белок. В некоторых вариантах осуществления, упаковывающая клеточная линия необязательно и/или дополнительно трансфицирована и/или содержит полинуклеотид, кодирующий не нативный гликопротеин, такой как VSV-G. В некоторых таких вариантах осуществления, приблизительно два дня после трансфекции клеток, например HEK 293T-клеток, супернатант клеток содержит рекомбинантные лентивирусные векторы, которые могут быть восстановлены или титрованы.

Восстановленные и/или полученные частицы ретровирусного вектора могут применяться для трансдуцирования клеток-мишеней с применением способов, как описано. Попадая в клетки-мишени, вирусная РНК подвергается обратной транскрипции, импортируется в ядро и стабильно интегрируется в геном хозяина. Через один или два дня после интеграции вирусной РНК можно обнаружить экспрессию рекомбинантного белка, например антигенного рецептора, такого как CAR.

В некоторых вариантах осуществления, представленные способы включают способы трансдукции клеток через контактирование, например, инкубирование, клеточной композиции, содержащей множество клеток, с вирусной частицей. В некоторых вариантах осуществления, трансфицируемые или трансдуцируемые клетки являются или содержат первичные клетки, полученные от субъекта, такие как клетки, обогащенные и/или селектированные от субъекта.

В некоторых вариантах осуществления, концентрация клеток, трансдуцированных из композиции, составляет от или от примерно $1{,}0\times10^5$ клеток/мл до $1{,}0\times10^8$ клеток/мл, например, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно или примерно $1{,}0\times10^5$ клеток/мл, 5×10^5 клеток/мл, 1×10^6 клеток/мл, 5×10^6 клеток/мл, 1×10^7 клеток/мл, 5×10^7

клеток/мл или 1×10^8 клеток/мл.

В некоторых вариантах осуществления вирусные частицы представлены в определенном соотношении копий частиц вирусного вектора или инфекционных единиц (ИЕ) на все количество трансдуцируемых клеток (ИЕ/клетку). Например, в некоторых вариантах осуществления вирусные частицы присутствуют во время контакта в количестве или примерно или по меньшей мере, или примерно 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 или 60 ИЕ частиц вирусного вектора на одну клетку.

В некоторых вариантах осуществления, титр частиц вирусного вектора составляет от или от примерно 1×10^6 ИЕ/мл до 1×10^8 ИЕ/мл, например, от или от примерно 5×10^6 ИЕ/мл до 5×10^7 ИЕ/мл, например, по меньшей мере, 6×10^6 ИЕ/мл, 7×10^6 ИЕ/мл, 8×10^6 ИЕ/мл, 9×10^6 ИЕ/мл, 1×10^7 ИЕ/мл, 2×10^7 ИЕ/мл, 3×10^7 ИЕ/мл, 4×10^7 ИЕ/мл или 5 $x10^7$ ИЕ/мл.

В некоторых вариантах осуществления, трансдукция может достигаться при множественности заражения (MOI) менее чем 100, например, обычно меньше чем 60, 50, 40, 30, 20, 10, 5 или менее.

В некоторых вариантах осуществления, способ включает контакт или инкубирование клеток с вирусными частицами. В некоторых вариантах осуществления, контакт происходит в течение от 30 минут до 72 часов, например, от 30 минут до 48 часов, от 30 минут до 24 часов или от 1 часа до 24 часов, например, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 30 минут, 1 час, 2 часов, 6 часов, 12 часов, 24 часа, 36 часов или более.

В некоторых вариантах осуществления, контакт проводят в растворе. В некоторых вариантах осуществления, клетки и вирусные частицы контактируют в объеме от или от примерно 0,5 мл до 500 мл, например, от или от примерно 0,5 мл до 200 мл, 0,5 мл до 100 мл, 0,5 мл до 50 мл, 0,5 мл до 10 мл, 0,5 мл до 5 мл, 5 мл до 500 мл, 5 мл до 200 мл, 5 мл до 100 мл, 5 мл до 50 мл, 5 мл до 10 мл, 10 мл до 500 мл, 10 мл до 200 мл, 10 мл до 100 мл, 10 мл до 50 мл, 50 мл до 500 мл, 50 мл до 200 мл, 50 мл до 100 мл, 100 мл до 500 мл, 100 мл до 200 мл или 200 мл до 500 мл.

В некоторых вариантах осуществления, входные клетки обрабатывают, инкубируют или контактируют с частицами, которые содержат связывающую молекулу, которая связывается или распознает рекомбинантный рецептор, кодируемый вирусной ДНК.

В некоторых вариантах осуществления инкубация клеток вирусного вектора дает или продуцирует выходную композицию, содержащую клетки, трансдуцированные с помощью частиц вирусного вектора.

В некоторых вариантах осуществления, рекомбинантные нуклеиновые кислоты переносят в Т клетки электропорацией (см., например, Chicaybam et al, (2013) PLoS ONE 8(3): e60298 и Van Tedeloo et al. (2000) Gene Therapy 7(16): 1431-1437). В некоторых вариантах осуществления, рекомбинантные нуклеиновые кислоты переносят в Т клетки транспозицией (см., например, Manuri et al. (2010) Hum Gene Ther 21(4): 427-437; Sharma et al. (2013) Molec Ther Nucl Acids 2, e74; и Huang et al. (2009) Methods Mol Biol 506: 115-126).

Другие способы введения и экспрессирования генетического материала в иммунные клетки включают трансфекцию фосфата кальция (например, как описано в Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York. N.Y.), слиянием протопластов, опосредованной катионными липосомами трансфекцией; бомбардировкой микрочастицами, усиленной частицами вольфрама (Johnston, Nature, 346: 776-777 (1990)); и копреципитацией фосфата стронция и ДНК (Brash et al., Mol. Cell Biol., 7: 2031-2034 (1987)).

Другие подходы и векторы для переноса нуклеиновых кислот, кодирующих рекомбинантные продукты, описаны, например, в публикации международной патентной заявке №: WO2014055668 и Патенте США № 7,446,190.

В некоторых вариантах осуществления, клетки, например, Т клетки, могут быть трансфицированы либо во время, либо после размножения, например с Т клеточным рецептором (TCR) или химерным антигенным рецептором (CAR). Такую трансфекцию для введения гена желаемого рецептора можно проводить с любым подходящим ретровирусным вектором, например. Генетически модифицированные клеточные популяции затем могут быть освобождены от первоначального стимула (например, анти-CD3/анти-CD28 стимула) и затем стимулированы вторым типом стимула (например, через de novo введенный рекомбинантный рецептор). Этот второй тип стимула может включать антигенный стимул в форме пептида/MHC молекулы, когнатного (перекрестно-связывающего) лиганда генетически введенного рецептора (например, природного антигена и/или лиганда CAR) или любого лиганда (такого как антитело), который напрямую связывается в рамке нового рецептора (например, распознавая константные области в рецепторе). См., например, Cheadle et al, “Chimeric Antigen Receptors for T-Cells based therapy” Methods Mol Biol. 2012; 907:645-66 или Barrett et al., Chimeric Antigen Receptor Therapy for Cancer Annual Review of Medicine Vol. 65: 333-347 (2014).

В некоторых случаях может использоваться вектор, который не требует активации клеток, например Т-клеток. В некоторых таких случаях, клетки могут быть селектированы и/или трансдуцированы до активации. Таким образом, клетки могут быть сконструированы до или после культивирования клеток и, в некоторых случаях, в то же время или в течение, по меньшей мере, части культивирования.

Дополнительные нуклеиновые кислоты, например, гены для введения, включают такие, которые улучшают эффективность терапии, например, способствуя жизнеспособности и/или функции перенесенных клеток; гены, обеспечивающие генетический маркер для селектирования и/или оценки клеток, например для оценки выживания или локализации *in vivo*; гены для повышения безопасности, например, которые делают клетку восприимчивой к отрицательному селектированию *in vivo*, как описано у Lupton S. D. et al., *Mol. and Cell Biol.,* 11:6 (1991); and Riddell et al., *Human Gene Therapy* 3:319-338 (1992); см. также публикации PCT/US91/08442 и PCT/US94/05601 от Lupton et al. описывающие использование бифункциональных селектируемых слитых генов, полученных в результате слияния доминантного положительного селектируемого маркера

с отрицательным селектируемым маркером. *См.*, например, Riddell et al., Патент США № 6,040,177, столбцы 14-17.

4. Культивирование, размножение и составление сконструированных клеток

В некоторых вариантах осуществления, способы создания сконструированных клеток, например, для клеточной терапии согласно любому из представленных способов, применений, готовых изделий или композиций, включают одну или несколько стадий культивирования клеток, например, культивирования клеток в условиях, которые способствуют пролиферации и/или размножению. В некоторых вариантах осуществления, клетки культивируют в условиях, которые способствуют пролиферации и/или размножению после стадии генетической инженерии, например, введения рекомбинантного полипептида в клетки трансдукцией или трансфекцией. В различных вариантах осуществления, клетки культивируют после того, как клетки инкубируют в стимулирующих условиях и трансдуцируют или трансфицируют рекомбинантными полинуклеотидами, например, полинуклеотидом, кодирующим рекомбинантный рецептор. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления, композиции CAR-положительных Т-клеток, которые были сконструированы трансдукцией или трансфекцией с рекомбинантными полинуклеотидами, кодирующими CAR, культивируют в условиях, которые способствуют пролиферации и/или размножению.

В некоторых вариантах осуществления, одна или несколько композиций сконструированных Т-клеток представляют собой или включают две композиции обогащенных Т-клеток, такие как две разные композиции обогащенных Т-клеток, которые сконструированы полинуклеотидом, кодирующим рекомбинантный рецептор, например CAR. В конкретных вариантах осуществления, две разные композиции обогащенных Т-клеток, например, две разные композиции обогащенных Т-клеток, селектируют, выделяют и/или обогащают из одного и того же биологического образца, по отдельности культивируют в стимулирующих условиях, например, после стадии генетической инженерии, например, вводят рекомбинантный полипептид в клетки трансдукцией или трансфекцией. В определенных вариантах осуществления, две разные композиции включают композицию обогащенных CD4+ Т-клеток, например, композицию обогащенных CD4+ Т-клеток, которые были сконструированные с полинуклеотидом, кодирующим рекомбинантный рецептор, например CAR. В конкретных вариантах осуществления, две разные композиции включают композицию обогащенных CD8+ Т-клеток, например, композицию обогащенных CD4+ Т-клеток, которые были сконструированные с полинуклеотидом, кодирующим рекомбинантный рецептор, например CAR. В некоторых вариантах осуществления, две разные композиции обогащенных CD4+ Т-клеток и обогащенных CD8+ Т-клеток, например, композицию обогащенных CD4+ Т-клеток и композицию обогащенных CD8+ Т-клеток, каждая из которых была отдельно сконструирована с полинуклеотидом, кодирующим рекомбинантный рецептор, например CAR, отдельно культивируют, например, в условиях, которые способствуют пролиферации и/или размножению.

В некоторых вариантах осуществления, культивирование проводят в условиях, которые способствуют пролиферации и/или размножению. В некоторых вариантах осуществления, такие условия могут быть разработаны для индукции пролиферации, размножения, активации и/или выживания клеток в популяции. В возможных вариантах осуществления, стимулирующие условия могут включать одну или несколько конкретных сред, температуру, содержание кислорода, содержание диоксида углерода, время, агенты, например, питательные вещества, аминокислоты, антибиотики, ионы и/или стимулирующие факторы, такие как цитокины, хемокины, антигены, партнеры связывания, слитые белки, рекомбинантные растворимые рецепторы и любые другие агенты, предназначенные для роста, деления и/или размножения клеток.

В конкретных вариантах осуществления, клетки культивируют в присутствии одного или нескольких цитокинов. В конкретных вариантах осуществления, один или несколько цитокинов являются рекомбинантными цитокинами. В некоторых вариантах осуществления, один или несколько цитокинов являются рекомбинантными цитокинами человека. В некоторых вариантах осуществления, один или несколько цитокинов связываются с и/или способны связываться с рецепторами, которые экспрессированы и/или являются эндогенными к Т-клеткам. В конкретных вариантах осуществления, один или несколько цитокинов является или включает член 4-альфа-спираль-связанного семейства цитокинов. В некоторых вариантах осуществления, члены 4-альфа-спираль-связанного семейства цитокинов включают, но не ограничены ими, интерлейкин-2 (IL-2), интерлейкин-4 (IL-4), интерлейкин-7 (IL-7), интерлейкин-9 (IL-9), интерлейкин 12 (IL-12), интерлейкин 15 (IL-15), гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF) и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF). В некоторых вариантах осуществления, один или несколько рекомбинантных цитокинов включают IL-2, IL-7 и/или IL-15. В некоторых вариантах осуществления, клетки, например, сконструированные клетки, культивируют в присутствии цитокина, например, рекомбинантного цитокина человека, в концентрации от 1 МЕ/мл до 2,000 МЕ/мл, от 10 МЕ/мл до 100 МЕ/мл, от 50 МЕ/мл до 200 МЕ/мл, от 100 МЕ/мл до 500 МЕ/мл, от 100 МЕ/мл до 1000 МЕ/мл, от 500 МЕ/мл до 2000 МЕ/мл или от 100 МЕ/мл до 1500 МЕ/мл.

В некоторых вариантах осуществления, культивирование проводят в условиях, которые обычно включают температуру, подходящую для роста первичных иммунных клеток, таких как Т лимфоциты человека, например, по меньшей мере, при примерно 25 градусов Цельсия, обычно по меньшей мере, при примерно 30 градусов и обычно точно или примерно 37 градусов Цельсия. В некоторых вариантах осуществления, композицию обогащенных Т клеток инкубируют при температуре от 25 до 38°С, например, от 30 до 37°С, например, точно или примерно 37°С ± 2°С. В некоторых вариантах осуществления, инкубирование проводят в течение периода времени до тех пор, пока культивирование, например культивирование или размножение, не даст желаемую или пороговую плотность, количество или дозу клеток. В некоторых вариантах осуществления, инкубирование длится более чем или более чем примерно или длится в течение примерно или 24 часов, 48 часов,

72 часов, 96 часов, 5 дней, 6 дней, 7 дней, 8 дней, 9 дней или более.

В конкретных вариантах осуществления, культивирование проводят в закрытой системе. В некоторых вариантах осуществления, культивирование проводят в закрытой системе в стерильных условиях. В конкретных вариантах осуществления, культивирование проводят в той же закрытой системе, что и одна или несколько стадий представленных систем. В некоторых вариантах осуществления, популяцию обогащенных Т-клеток удаляют из закрытой системы и помещают в и/или соединяют с биореактором для культивирования. Примеры подходящих биореакторов для культивирования включают, но не ограничены ими, GE Xuri W25, GE Xuri W5, Sartorius BioSTAT RM 20|50, Finesse SmartRocker Bioreactor Systems и Pall XRS Bioreactor Systems. В некоторых вариантах осуществления, биореактор применяют для перфузии и/или смешивания клеток во время, по меньшей мере, части стадии культивирования.

В некоторых вариантах осуществления смешивание представляет собой или включает раскачивание и/или движение. В некоторых случаях, биореактор может подвергаться движению или раскачиванию, что, в некоторых аспектах, может увеличивать перенос кислорода. Движение биореактора может включать, но не ограничено ими, вращение по горизонтальной оси, вращение по вертикальной оси, качательное движение вдоль смещенной или наклонной горизонтальной оси биореактора или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, часть инкубирование проводят при раскачивании. Скорость качания и угол качания можно регулировать для достижения желаемого перемешивания. В некоторых вариантах осуществления угол качания составляет 20°, 19°, 18°, 17°, 16°, 15°, 14°, 13°, 12°, 11°, 10°, 9°, 8°, 7°, 6°, 5°, 4°, 3°, 2° или 1°. В некоторых вариантах осуществления, угол качания составляет от 6-16°. В других вариантах осуществления, угол качания составляет от 7-16°. В других вариантах осуществления, угол качания составляет от 8-12°. В некоторых вариантах осуществления, скорость качания составляет 1, 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, 40 об./мин. В некоторых вариантах осуществления, скорость качания составляет от 4 до 12 об./мин., например, от 4 до 6 об./мин., включительно.

В некоторых вариантах осуществления, биореактор сохраняет температуру, равную или около 37°C и уровни CO_2, равные или около 5% при стабильном потоке воздуха, равно, равном примерно или, по меньшей мере, 0,01 л/мин, 0,05 л/мин, 0,1 л/мин, 0,2 л/мин, 0,3 л/мин, 0,4 л/мин, 0,5 л/мин, 1,0 л/мин, 1,5 л/мин или 2,0 л/мин или больше чем 2,0 л/мин. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, часть культивирования проводят при перфузии, например, со скоростью 290 мл/день, 580 мл/день, и/или 1160 мл/день, например, в зависимости от времени относительно начала культивирования и/или плотности культивируемых клеток. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, часть размножения клеточной культуры проводят при качательном движении, например, под углом от 5° до 10°, например, 6°, при постоянной скорости качания, такой как скорость от 5 до 15 об./мин, например, 6 об./мин. или 10 об./мин.

В некоторых вариантах осуществления, способы производства, создания или продуцирования клеточной терапии и/или сконструированных клеток согласно представленным способам использования или готовым продуктам могут включать составление клеток, таких как генетически сконструированные клетки, полученные в результате стадий обработки до или после инкубирования, конструирования и культивирования и/или одной или нескольких других стадий обработки, как описано. В некоторых вариантах осуществления, одну или несколько стадий обработки, включая состав клеток, можно проводить в закрытой системе. В некоторых случаях, клетки обрабатывают на одной или нескольких стадиях (например, в центрифужной камере и закрытой системе) для производства, создания или продуцирования клеточной терапии и/или сконструированных клеток, которые могут включать составление клеток, такое как составление генетически сконструированных клеток, полученных в результате трансдукции до или после культивирования, например культивирования и размножения и/или одной или нескольких других стадий обработки, как описано. В некоторых вариантах осуществления, генетически сконструированные клетки составлены в виде композиции стандартной дозированной формы, включая количество клеток для введения в данной дозе или ее доли.

В некоторых вариантах осуществления, доза клеток, содержащих клетки, сконструированные с рекомбинантным антигенным рецептором, например CAR или TCR, представлена в виде композиции или состава, такого как фармацевтическая композиция или состав. Такие композиции могут применяться в сочетании с представленными способами, такими как профилактика или лечение заболеваний, состояний и расстройств, или в способах определения, диагностики или прогнозирования. В некоторых случаях, клетки могут быть составлены в количестве для дозированного введения, например, для стандартного дозированного введения или множественного дозированного введения.

В некоторых вариантах осуществления, клетки могут быть составлены в контейнер, такой как пакет или флакон. В некоторых вариантах осуществления, флаконом может быть флакон для инфузии. В некоторых вариантах осуществления, флакон составляют со стандартной дозой сконструированных клеток, например, включающей количество клеток для введения в данной дозе или ее части.

В некоторых вариантах осуществления, клетки составлены в фармацевтически приемлемом буфере, который может, в некоторых аспектах, включать фармацевтически приемлемый носитель или эксципиент. В некоторых вариантах осуществления, обработка включает замену среды на среду или буфер для составления, которые фармацевтически приемлемы или желательны для введения субъекту. В некоторых вариантах осуществления, стадии обработки могут включать промывание трансдуцированных и/или размноженных клеток для замены клеток в фармацевтически приемлемом буфере, который может включать один или несколько фармацевтически приемлемых носителей или эксципиентов. Примерами таких фармацевтических форм, включающих фармацевтически приемлемые носители или эксципиенты, могут быть любые, описанные ниже в связи с

формами, приемлемыми для введения клеток и композиций субъекту. Фармацевтические композиции в некоторых вариантах осуществления содержат клетки в количествах, эффективных для лечения или профилактики заболевания или состояния, таких как терапевтически эффективное или профилактически эффективное количество.

В некоторых вариантах осуществления, буфер для составления содержит криоконсервант. В некоторых вариантах осуществления, клетки составлены с криоконсервирующим раствором, который содержит от 1,0% до 30% раствора ДМСО, например, от 5% до 20% раствора ДМСО или от 5% до 10% раствора ДМСО. В некоторых вариантах осуществления, криоконсервирующий раствор является или содержит, например, ФРФБ, содержащий 20% ДМСО и 8% сывороточный альбумин человека (HSA) или другую подходящую среду для замораживания. В некоторых вариантах осуществления, криоконсервирующий раствор является или содержит, например, по меньшей мере, или примерно 7,5% ДМСО. В некоторых вариантах осуществления, стадии обработки включают промывание трансдуцированных и/или размноженных клеток для замены клеток в растворе криоконсерванта. В некоторых вариантах осуществления, клетки замораживают, например, криозащищают или криоконсервируют, в среде и/или растворе с конечной концентрацией точно или примерно 12,5%, 12,0%, 11,5%, 11,0%, 10,5%, 10,0%, 9,5%, 9,0%, 8,5%, 8,0%, 7,5%, 7,0%, 6,5%, 6,0%, 5,5% или 5,0% ДМСО или от 1% до 15%, от 6% до 12%, от 5% до 10% или от 6% до 8% ДМСО. В конкретных вариантах осуществления, клетки замораживают, например, криозащищают или криоконсервируют, в среде и/или растворе с конечной концентрацией точно или примерно 5,0%, 4,5%, 4,0%, 3,5%, 3,0%, 2,5%, 2,0%, 1,5%, 1,25%, 1,0%, 0,75%, 0,5% или 0,25% HSA или от 0,1% до 5%, от 0,25% до 4%, от 0,5% до 2% или от 1% до 2% HSA.

В некоторых вариантах осуществления, составление проводят с использованием одной или нескольких стадий обработки, включая промывку, разведение или концентрацию клеток, таких как культивируемые или размноженные клетки. В некоторых вариантах осуществления, обработка может включать разведение или концентрацию клеток до желаемой концентрации или количества, такой как единичная дозированная форма, включая количество клеток для введения в данной дозе или ее части. В некоторых вариантах осуществления, этапы обработки могут включать уменьшение объема, чтобы тем самым увеличить концентрацию клеток по желанию. В некоторых вариантах осуществления, стадии обработки могут включать добавление объема, чтобы тем самым снизить концентрацию клеток по желанию. В некоторых вариантах осуществления, обработка включает добавление объема буфера для составления к трансдуцированным и/или размноженным клеткам. В некоторых вариантах осуществления, объем буфера для составления составляет от или от примерно 10 мл до 1000 мл, например, по меньшей мере, или примерно по меньшей мере, или примерно или 50 мл, 100 мл, 200 мл, 300 мл, 400 мл, 500 мл, 600 мл, 700 мл, 800 мл, 900 мл или 1000 мл.

В некоторых вариантах осуществления, такие стадии обработки для составления клеточной композиции проводят в закрытой системе. Примеры таких стадий обработки

могут быть выполнены с использованием центрифужной камеры в сочетании с одной или несколькими системами или наборами, ассоциированными с системой обработки клеток, такой как центрифужная камера, производимых и продаваемых Biosafe SA, в том числе для использования с системами обработки клеток Sepax® или Sepax 2®. Типовая система и способ описаны в международной публикации номер WO2016/073602. В некоторых вариантах осуществления, способ включает проведение экспрессии из внутренней полости центрифужной камеры составленных композиций, которые представляют собой полученные композиции клеток, составленных в буфере для составления, таком как фармацевтически приемлемый буфер, в любом из описанных выше вариантов осуществления. В некоторых вариантах осуществления экспрессия составленных композиций производится в контейнер, такой как пакет, который функционально связан как часть закрытой системы с центрифужной камерой. В некоторых вариантах осуществления, сосуды для биомедицинского материала сконфигурированы для интеграции или функционального соединения и/или интегрированы или функционально соединены с закрытой системой или устройством, которое выполняет одну или более стадий обработки. В некоторых вариантах осуществления, сосуд для биомедицинского материала подключен к системе в выходной линии или в выходном положении. В некоторых случаях закрытая система соединяется с флаконом сосуда с биомедицинским материалом во входной трубке. Типовые закрытые системы для использования с сосудами для биомедицинских материалов, описанными в настоящем документе, включают систему Sepax® и Sepax® 2.

В некоторых вариантах осуществления, закрытая система, такая как ассоциирована с центрифужной камерой или системой обработки клеток, включает многопортовый выходной комплект, содержащий многонаправленный трубчатый коллектор, связанный на каждом конце комплекта трубок с портом, к которому один или множество контейнеров могут быть присоединены для экспрессии составленной композиции. В некоторых аспектах, желаемое количество или множество флаконов могут быть стерильно соединены с одним или несколькими, в общем с двумя или более, например, по меньшей мере, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или более портов многопортового выхода. Например, в некоторых вариантах осуществления, один или несколько контейнеров, например, сосудов для биомедицинского материала, могут быть прикреплены к портам или менее чем ко всем портам. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления, система может производить экспрессию выходной композиции во множество флаконов пакетов для биомедицинского материала.

В некоторых аспектах клетки могут быть экспрессированы в один или нескольких выходных контейнеров, например, флаконов, в количестве для дозированного введения, например, для введения однократной дозы или введения многократной дозы. Например, в некоторых вариантах осуществления, каждый флакон может содержать количество клеток для введения данной дозы или ее части. Таким образом, каждый флакон в некоторых аспектах может содержать одну стандартную дозу для введения, или может содержать часть желаемой дозы, так что более чем один из множества флаконов, таких как два флакона или 3 флакона, вместе составляют дозу для введения. В некоторых вариантах осуществления, 4

флакона вместе составляют дозу для введения.

Таким образом, контейнеры, например, пакеты или флаконы, в общем, содержат вводимые клетки, например, одну или несколько их стандартных доз. Стандартной дозой может быть количество или количество клеток, вводимое субъекту, или удвоенное количество (или более) вводимых клеток. Это может быть наименьшая доза или наименьшая возможная доза для клеток, которую вводят субъекту. В некоторых аспектах, представленные готовые изделия включают один или несколько из множества выходных контейнеров.

В некоторых вариантах осуществления, каждый из контейнеров, например, пакетов или флаконов, индивидуально содержит стандартную дозу клеток. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления, каждый из контейнеров содержит такое же или приблизительно или по существу такое же количество клеток. В некоторых вариантах осуществления, каждая стандартная доза содержит, по меньшей мере, или примерно, по меньшей мере, 1×10^6, 2×10^6, 5×10^6, 1×10^7, 5×10^7 или 1×10^8 сконструированных клеток, всего клеток, Т-клеток или PBMC. В некоторых вариантах осуществления, стандартная доза содержит точно или примерно или, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 1×10^6, 2×10^6, 5×10^6, 1×10^7, 5×10^7 или 1×10^8 CAR+ Т клеток, которые являются CD3+, такие как CD4+ или CD8+ или их жизнеспособными подмножествами.

В некоторых вариантах осуществления, объем составленной клеточной композиции в каждом контейнере, например, пакете или флаконе, составляет от точно или примерно 10 мл до точно или примерно 100 мл, например, точно или примерно или, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 20 мл, 30 мл, 40 мл, 50 мл, 60 мл, 70 мл, 80 мл, 90 мл или 100 мл. В некоторых вариантах осуществления, объем составленной клеточной композиции в каждом контейнере, например, пакете или флаконе, составляет от точно или примерно 1 мл до точно или примерно 10 мл, например, от точно или примерно 1 мл до точно или примерно 5 мл. В некоторых вариантах осуществления, объем составленной клеточной композиции в каждом контейнере, например, пакете или флаконе, составляет от точно или примерно 4 мл до точно или примерно 5 мл. В некоторых вариантах осуществления, объем составленной клеточной композиции в каждом контейнере, например, пакете или флаконе, составляет или составляет примерно 4,4 мл. В некоторых вариантах осуществления, объем составленной клеточной композиции в каждом контейнере, например, пакете или флаконе, составляет или составляет примерно 4,5 мл. В некоторых вариантах осуществления, объем составленной клеточной композиции в каждом контейнере, например, пакете или флаконе, составляет или составляет примерно 4,6 мл. В некоторых вариантах осуществления, объем составленной клеточной композиции в каждом контейнере, например, пакете или флаконе, составляет или составляет примерно 4,7 мл. В некоторых вариантах осуществления, объем составленной клеточной композиции в каждом контейнере, например, пакете или флаконе, составляет или составляет примерно 4,8 мл. В некоторых вариантах осуществления, объем составленной клеточной композиции в каждом контейнере, например, пакете или флаконе, составляет или составляет примерно 4,9 мл. В некоторых вариантах осуществления, объем

составленной клеточной композиции в каждом контейнере, например, пакете или флаконе, составляет или составляет примерно 5,0 мл.

В некоторых вариантах осуществления, составленная клеточная композиция имеет концентрацию более чем точно или примерно $0,5\times10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR^+)/CD3+ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл, более чем точно или примерно $1,0\times10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR^+)/CD3+ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл, более чем точно или примерно $1,5\times10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR^+)/CD3+ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл, более чем точно или примерно $2,0\times10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR^+)/CD3+ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл, более чем точно или примерно $2,5\times10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR^+)/CD3+ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл, более чем точно или примерно $2,6\times10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR^+)/CD3+ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл, более чем точно или примерно $2,7\times10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR^+)/CD3+ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл, более чем точно или примерно $2,8\times10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR^+)/CD3+ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл, более чем точно или примерно $2,9\times10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR^+)/CD3+ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл более чем точно или примерно $3,0\times10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR^+)/CD3+ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл, более чем точно или примерно $3,5\times10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR^+)/CD3+ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл, более чем точно или примерно $4,0\times10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR^+)/CD3+ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл, более чем точно или примерно $4,5\times10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR^+)/CD3+ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл или более чем точно или примерно 5×10^6 экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR^+)/CD3+ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл. В некоторых вариантах осуществления, CD3+ Т-клетками являются CD4+ Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления, CD3+ Т-клетками являются CD8+ Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления, CD3+ Т-клетками являются CD4+ и CD8+ Т-клетки.

В некоторых вариантах осуществления клетки в контейнере, например в пакете или флаконе, могут быть криоконсервированы. В некоторых вариантах осуществления контейнер, например флакон, можно хранить в жидком азоте до дальнейшего использования.

В некоторых вариантах осуществления такие клетки, полученные способом, или композицию, включающую такие клетки, вводят субъекту для лечения заболевания или состояния, например, согласно способам, использованию и готовым продуктам, описанным в настоящем документе.

IV. КОМПОЗИЦИИ И СОСТАВЫ

В некоторых вариантах осуществления доза клеток, содержащих сконструированные клетки с рекомбинантным антигенным рецептором, например CAR или TCR, предоставляется в виде композиции или состава, такой как фармацевтическая композиция или состав. Типовые композиции и составы описаны выше, в том числе произведенные в связи со способами конструирования клеток. Такие композиции могут быть использованы согласно представленным способам или применениям и/или представленным готовым изделиям или композициям, например, для профилактики или лечения заболеваний, состояний и расстройств или для обнаружения, диагностики и прогнозирования.

Термин «фармацевтический состав» относится к препарату, который имеет такую форму, чтобы обеспечить эффективность биологической активности активного ингредиента, содержащегося в нем, и который не содержит дополнительных компонентов, которые являются неприемлемо токсичными для субъекта, которому вводят состав.

«Фармацевтически приемлемый носитель» относится к ингредиенту фармацевтического состава, отличному от активного ингредиента, который нетоксичен для субъекта. Фармацевтически приемлемый носитель включает, но не ограничен ими, буфер, эксципиент, стабилизатор или консервант.

В некоторых аспектах, выбор носителя частично определяется конкретной клеткой или агентом и/или способом введения. Соответственно, существует множество подходящих составов. Например, фармацевтическая композиция может содержать консерванты. Подходящие консерванты могут включать, например, метилпарабен, пропилпарабен, бензоат натрия и хлорид бензалкония. В некоторых аспектах используют смесь двух или нескольких консервантов. Консерванты или их смеси обычно присутствуют в количестве от примерно 0,0001% до примерно 2% от общей массы композиции. Носители описаны, например, в Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980). Фармацевтически приемлемые носители в целом нетоксичны для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях и включают, но не ограничены ими: буферы, такие как фосфат, цитрат и другие органические кислоты; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту и метионин; консерванты (такие как хлорид октадецилдиметилбензиламмония, хлорид гексаметония, хлорид бензалкония, хлорид бензетония; фенол, бутиловый или бензиловый спирт; алкилпарабены, такие как метил- или пропилпарабен; катехол; резорцин; циклогексанол; 3-пентанол; и м-крезол); низкомолекулярные (менее чем примерно 10 остатков) полипептиды; белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу или декстрины; хелатирующие агенты, такие как EDTA; сахара, такие как сахароза, маннит, трегалоза или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; металлические комплексы (например, Zn-протеиновые комплексы); и/или неионные

поверхностно-активные вещества, такие как полиэтиленгликоль (PEG).

Буферные агенты в некоторых аспектах включены в композиции. Подходящие буферные агенты включают, например, лимонную кислоту, цитрат натрия, фосфорную кислоту, фосфат калия и различные другие кислоты и соли. В некоторых аспектах используют смесь двух или более буферных агентов. Буферный агент или их смеси обычно присутствуют в количестве от примерно 0,001% до примерно 4% от общей массы композиции. Способы получения фармацевтических композиций для введения известны. Типовые способы описаны более подробно в, например, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott Williams & Wilkins; 21st ed. (May 1, 2005).

Состав или композиция может также содержать более чем один активный ингредиент, полезный для конкретного показания, заболевания или состояния, которое предотвращается или лечится клетками или агентами, когда соответствующие активности не оказывают неблагоприятного воздействия друг на друга. Такие активные ингредиенты обычно присутствуют в комбинации в количествах, эффективных для предполагаемой цели. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления, фармацевтическая композиция дополнительно включает другие фармацевтически активные агенты или лекарственные средства, такие как химиотерапевтические агенты, например, аспарагиназу, бусульфан, карбоплатин, цисплатин, даунорубицин, доксорубицин, фторурацил, гемцитабин, гидроксимочевину, метотрексат, паклитаксел, ритуксимаб, винбластин, винкристин и т.д. В некоторых вариантах осуществления агенты или клетки вводят в форме соли, например, фармацевтически приемлемой соли. Подходящие фармацевтически приемлемые кислотно-аддитивные соли включают соли, полученные из минеральных кислот, таких как хлористоводородная, бромистоводородная, фосфорная, метафосфорная, азотная и серная кислоты, и органических кислот, таких как винная, уксусная, лимонная, яблочная, молочная, фумаровая, бензойная, гликолевая, глюконовая, янтарная и арилсульфоновая кислоты, например, п-толуолсульфоновая кислота.

Фармацевтическая композиция в некоторых вариантах осуществления содержит агенты или клетки в количествах, эффективных для лечения или профилактики заболевания или состояния, таких как терапевтически эффективное или профилактически эффективное количество. Терапевтическую или профилактическую эффективность в некоторых вариантах осуществления отслеживают путем периодической оценки субъектов, получающих лечение. При повторных введениях в течение нескольких дней или дольше, в зависимости от состояния, лечение повторяют до тех пор, пока не произойдет желаемое подавление симптомов заболевания. Однако могут быть полезны и другие схемы дозирования, и они могут быть определены. Желаемая доза может быть доставлена однократным болюсным введением композиции, многократным болюсным введением композиции или непрерывным инфузионным введением композиции.

Агенты или клетки могут быть введены любыми подходящими способами, например, болюсной инфузией, инъекцией, например, внутривенными или подкожными инъекциями, внутриглазной инъекцией, периокулярной инъекцией, субретинальной

инъекцией, интравитреальной инъекцией, транс-септальной инъекцией, субсклеральной инъекцией, интрахориоидальной инъекцией, внутрикамерной инъекцией, субконъюнктивной инъекцией, субконъюнтивальной инъекцией, субтеноновой инъекцией, ретробульбарной инъекцией, перибульбарной инъекцией или доставкой в заднюю околосклеральную область. В некоторых вариантах осуществления их вводят парентерально, внутрилегочно и интраназально и, если желательно для местного лечения, внутриочагово. Парентеральные инфузии включают внутримышечное, внутривенное, внутриартериальное, внутрибрюшинное или подкожное введение. В некоторых вариантах осуществления, данную дозу вводят однократным болюсным введением клеток или агента. В некоторых вариантах осуществления, ее вводят множественным болюсным введением клеток или агента, например, в течение периода не более 3 дней или непрерывным инфузионным введением клеток или агента.

Для профилактики или лечения заболевания, подходящая дозировка может зависеть от типа заболевания, которое подлежит лечению, типа агента или агентов, типа клеток или рекомбинантных рецепторов, тяжести и течения заболевания, независимо от того, вводят ли агент или клетки в профилактических или терапевтических целях, предыдущей терапии, истории болезни субъекта и ответа на агент или клетки, и на усмотрение лечащего врача. В некоторых вариантах осуществления, композиции вводят субъекту за один раз или в течение серии курсов лечения.

Клетки или агенты могут быть введены с использованием стандартных методов введения, составов и/или устройств. Представлены составы и устройства, такие как шприцы и флаконы, для хранения и введения композиций. Что касается клеток, введение может быть аутологичным или гетерологичным. Например, иммунореактивные клетки или предшественники могут быть получены от одного субъекта и введены тому же субъекту или другому совместимому субъекту. Иммунореактивные клетки, полученные из периферической крови, или их потомство (например, полученное in vivo, ex vivo или in vitro) могут быть введены местной инъекцией, включая катетерное введение, системную инъекцию, локализованную инъекцию, внутривенную инъекцию или парентеральное введение. При введении терапевтической композиции (например, фармацевтической композиции, содержащей генетически модифицированные иммунореактивные клетки или агент, который лечит или ослабляет симптомы нейротоксичности), она в общем будет составлена в виде стандартной дозированной формы для инъекции (раствора, суспензии, эмульсии).

Составы включают составы для перорального, внутривенного, внутрибрюшинного, подкожного, легочного, трансдермального, внутримышечного, интраназального, буккального, сублингвального введения или суппозиторного введения. В некоторых вариантах осуществления, агент или клеточные популяции вводят парентерально. Термин «парентеральный», используемый в настоящем документе, включает внутривенное, внутримышечное, подкожное, ректальное, вагинальное и внутрибрюшинное введение. В некоторых вариантах осуществления, агент или клеточные популяции вводят субъекту с

использованием периферической системной доставки путем внутривенной, внутрибрюшинной или подкожной инъекции.

Композиции в некоторых вариантах осуществления представлены в виде стерильных жидких препаратов, например, изотонических водных растворов, суспензий, эмульсий, дисперсий или вязких композиций, которые в некоторых аспектах могут быть забуференными до выбранного pH. Жидкие препараты обычно легче приготовить, чем гели, другие вязкие композиции и твердые композиции. Дополнительно, жидкие композиции несколько удобнее вводить, особенно инъекцией. Вязкие композиции, с другой стороны, могут быть составлены в соответствующем диапазоне вязкости для обеспечения более длительных периодов контакта с определенными тканями. Жидкие или вязкие композиции могут содержать носители, которые могут быть растворителем или диспергирующей средой, содержащей, например, воду, солевой раствор, забуференный фосфатом солевой раствор, полиол (например, глицерин, пропиленгликоль, жидкий полиэтиленгликоль) и их подходящие смеси.

Стерильные растворы для инъекций могут быть приготовлены введением агента или клеток в растворитель, такой как смесь с подходящим носителем, разбавителем или эксципиентом, такой как стерильная вода, солевой раствор, глюкоза, декстроза или подобные.

Составы, используемые для введения in vivo, обычно являются стерильными. Стерильность может быть легко достигнута, например, фильтрацией через стерильные фильтрующие мембраны.

В некоторых вариантах осуществления, дозу клеток вводят в виде криоконсервированной композиции. В некоторых аспектах, композицию вводят после размораживания криоконсервированной композиции. В некоторых вариантах осуществления, композицию вводят в пределах точно или примерно 30 минут, 45 минут, 60 минут, 90 минут, 120 минут, 150 минут или 180 минут после размораживания. В некоторых вариантах осуществления, композицию вводят в пределах точно или примерно 120 минут после оттаивания.

В некоторых вариантах осуществления, дозу клеток вводят шприцом. В некоторых вариантах осуществления, шприц имеет объем точно или примерно 0,5, 1, 2, 2,5, 3, 4, 5, 7,5, 10, 20 или 25 мл или в диапазоне, определенном любым из вышеперечисленного.

V. КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ

В некоторых вариантах осуществления способов, готовых изделий, применений или композиций, клеточную терапию, например дозу Т клеток (например CAR^+ Т клеток) вводят субъектам в комбинации с дополнительным терапевтическим агентом или терапией, обычно отличной от клеточной терапии, или другой клеточной терапией, такой как отличная от CAR^+ Т клеточная терапия. В некоторых вариантах осуществления, клеточную терапию, например дозу генетически сконструированных Т клеток, таких как CAR^+ Т клетки, в представленных способах или применениях, и/или с готовыми изделиями или композициями, вводят как часть комбинированного лечения или комбинированной

терапии, например, одновременно с, последовательно с или попеременно с, в любом порядке, одним или несколькими дополнительными терапевтическими вмешательствами. В некоторых вариантах осуществления, одно или несколько дополнительных терапевтических вмешательств включает любой агент или лечение для лечения или профилактики заболевания или состояния, например диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL) или ее подтипа или злокачественное образование из В-клеток, например NHL, и/или любой агент или лечение для повышения эффективности, жизнестойкости и/или активности сконструированной клеточной терапии.

В некоторых вариантах осуществления, дополнительный терапевтический агент или терапию вводят субъектам, которые являются или вероятно будут или у которых спрогнозированы плохие клинические ответы пациента и/или не спрогнозированы, которые, скорее всего не будут и/или по прогнозам не будут отвечать или не отвечают в течение определенного времени и/или до определенной степени на лечение клеточной терапией, например дозой Т-клеток (например, CAR^+ Т-клеток). В некоторых вариантах осуществления, дополнительный терапевтический агент вводят субъектам, которые не или вероятно не, или по прогнозам не будут демонстрировать полный ответ или общий ответ, например, в пределах 1 месяца, в пределах двух месяцев или в пределах 3 месяцев после начала введения клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, дополнительный терапевтический агент вводят субъектам, которые демонстрируют или вероятно демонстрируют или по прогнозам будут демонстрировать прогрессирующее заболевание (PD), например, в пределах 1 месяца, двух месяцев или 3 месяцев, после введения клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, субъект вероятно или по прогнозам не демонстрирует ответ или определенный ответ на основе множества субъектов с подобной ситуацией, подвергнутых такому лечению или ранее подвергутых лечению клеточной терапией.

В некоторых вариантах осуществления, наблюдается, что субъект, который может или с большей вероятностью демонстрирует плохой ответ на клеточную терапию, например, дозу Т-клеток (например, CAR^+ Т-клеток) включает субъекта с NHL, который является или был идентифицирован как имеющий стабильное или прогрессирующее заболевание (SD/PD) после лечения с предшествующей терапией, необязательно предшествующей терапией химиотерапевтическим агентом, у которого есть или был идентифицирован статус Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status (ECOG) 2, который имеет или идентифицирован как имеющий трансформированную фолликулярную лимфому (tFL) или который имеет или был идентифицирован как имеющий DLBCL, трансформированную из MZL и CLL. В некоторых вариантах осуществления, представленные способы включают выбор субъекта, который является или вероятно демонстрирует плохой ответ на клеточную терапию, если клеточную терапию вводят отдельно, и при введении клеточной терапии в комбинации с дополнительным агентом или терапией, любой, как описано. В некоторых вариантах осуществления, субъектом для лечения в представленных способах комбинированной терапии является субъектом,

который выбран как имеющий злокачественное образование из B-клеток, такое как NHL, и который имеет стабильное или прогрессирующее заболевание (SD/PD) после лечения предшествующей терапией, необязательно, предшествующей терапией химиотерапевтическим агентом, который имеет статус Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status (ECOG) 2, который имеет трансформированную фолликулярную лимфому (tFL) или который имеет DLBCL, трансформированную из MZL и CLL. В некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент или терапия может вводиться до, одновременно с или в одно и то же время и/или после начала введения клеточной терапии, например дозы Т клеток (например CAR^+ Т клеток).

В некоторых вариантах осуществления обнаружено, что фармакокинетика (PK) клеточной терапии в крови субъектов после начала клеточной терапии аналогична или существенно не отличается между субъектами, которые реагируют (например, демонстрирует CR или OR) или не реагируют (например, демонстрирует PD) на клеточную терапию. В некоторых вариантах осуществления, такие наблюдения показывают, что клеточная терапия имеет или расширяет возможности, но может не демонстрировать оптимальную эффективность.

В некоторых контекстах оптимальная эффективность клеточной терапии может зависеть от способности вводимых клеток распознавать и связываться с мишенью, *например*, антиген-мишень, перемещаться, локализоваться и успешно проникать в соответствующие сайты с объектами, опухолями и их средами. В некоторых контекстах, оптимальная эффективность может зависеть от способности вводимых клеток активироваться, размножаться, проявлять различные эффекторные функции, включая цитотоксическое уничтожение и секрецию различных факторов, таких как цитокины, сохраняться, в том числе долгое время, дифференцироваться, мигрировать или участвовать в перепрограммировании в определенные фенотипические состояния (такие как долгоживущая память, менее дифференцированные и эффекторные состояния), чтобы избежать или уменьшить иммунодепрессивные состояния в локальной микросреде заболевания, чтобы обеспечить эффективные и надежные ответы после клиренса и повторного воздействия на лиганд или антиген, и избежать или уменьшить истощение, анергию, периферическую толерантность, терминальную дифференциацию и/или дифференциацию в подавляющем состоянии.

В некоторых аспектах эффективность иммунотерапии, *например*, Т-клеточной терапии, может быть ограничена иммунодепрессивной активностью или факторами, присутствующими в локальной микросреде заболевания или расстройства, *например*, TME. В некоторых аспектах, TME содержит или продуцирует факторы или условия, которые могут подавлять активность, функцию, пролиферацию, выживание и/или жизнестойкость Т-клеток, вводимых для Т-клеточной терапии.

В некоторых вариантах осуществления, введение дополнительного агента или терапии до, одновременно с или в одно и то же время и/или после начала введения клеточной терапии, например, дозы Т-клеток (например, CAR^+ Т-клеток) может привести к

улучшению активности, эффективности и/или жизнестойкости клеточной терапии и/или улучшению ответа леченного субъекта. В некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент для комбинированного лечения или комбинированной терапии улучшает, усиливает и/или способствует эффективности и/или безопасности терапевтического эффекта клеточной терапии, например сконструированной Т клеточной терапии, такой как CAR^+ Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления дополнительный агент усиливает или улучшает эффективность, выживание или жизнестойкость вводимых клеток, например, клеток экспрессирующих рекомбинантный рецептор, например CAR.

В некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент терапии представляет собой антитело или цитотоксический или терапевтический агент, например, химиотерапевтический агент. В некоторых вариантах осуществления, один или несколько дополнительных агентов для лечения или терапии представляет собой иммуномодулирующий агент, ингибитор иммунных контрольных точек, антагонист или агонист аденозинового пути или рецептора аденозина и ингибиторы киназ. В некоторых вариантах осуществления, комбинированное лечение или комбинированная терапия включает дополнительное лечение, такое как хирургическое лечение, трансплантацию и/или радиационную терапию.

В некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент выбран из ингибитора белка фосфатазы, ингибитора киназы, цитокина, иммуномодулятора или агента, который снижает уровень или активность регуляторных Т (Treg) клеток. В некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент повышает безопасность за счет уменьшения или улучшения побочных эффектов введенной клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент может лечить то же заболевание, состояние или сопутствующие заболевания. В некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент может улучшать, уменьшать или устранять одну или несколько токсичностей, неблагоприятных эффектов или побочных эффектов, ассоциированных с введением клеток, например, CAR-экспрессирующих клеток.

В некоторых вариантах осуществления дополнительная терапия, лечение или агент включают химиотерапию, радиационную терапию, хирургию, трансплантацию, адоптивную клеточную терапию, антитела, цитотоксические агенты, химиотерапевтические агенты, цитокины, агенты, ингибирующие рост, антигормональные агенты, ингибиторы киназ, анти-ангиогенные агенты, кардиопротекторы, иммуностимулирующие агенты, иммунодепрессанты, ингибиторы иммунных контрольных точек, антибиотики, ингибиторы ангиогенеза, модуляторы метаболизма или другие терапевтические агенты или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом является белок, пептид, нуклеиновая кислота, низкомолекулярный агент, клетка, токсин, липид, углевод или их комбинации или терапевтический агент любого другого типа, например, радиация. В некоторых вариантах осуществления, дополнительная терапия, агент или лечение включает хирургическое вмешательство, химиотерапию, лучевую терапию, трансплантацию, введение клеток

экспрессирующих рекомбинантный рецептор, например, CAR, ингибитор киназы, ингибитор иммунных контрольных точек, ингибитор пути mTOR, иммунодепрессивные агенты, иммуномодуляторы, антитела, иммуноаблативные агенты, антитела и/или их антигенсвязывающие фрагменты, конъюгаты антител, другие виды терапии антителами, цитотоксины, стероиды, цитокины, пептидные вакцины, гормональную терапию, антиметаболиты, модуляторы метаболизма, препараты, которые ингибируют кальциневрин или p70S6 киназу FK506) или ингибируют киназу p70S6, алкилирующие агенты, антрациклины, алкалоиды барвинка, ингибиторы протеосом, агонисты GITR, ингибиторы протеинтирозинфосфатазы, ингибиторы протеинкиназы, онколитический вирус и/или другие виды иммунотерапии. В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом или лечением является трансплантация костного мозга, абляционная терапия Т клетками с использованием химиотерапевтических агентов, таких как флударабин, радиационная терапия внешним пучком (XRT), циклофосфамид и/или терапия антителом.

В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом является а ингибитор киназы, например, ингибитор тирозинкиназы Брутона (Btk), например, ибрутиниб. В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом является антагонист или агонист аденозинового пути или аденозинового рецептора. В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом является иммуномодулятор, такой как талидомид или производное талидомида (например, леналидомид). В некоторых вариантах осуществления, дополнительной терапией агентом или лечением является цитотоксический или химиотерапевтический агент, биологическая терапия (например, антителом, например, моноклональным антителом или клеточная терапия) или ингибитор (например, ингибитор киназы).

В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом является химиотерапевтический агент. Типовые химиотерапевтические агенты включают антрациклин (например, доксорубицин, такой как липосомальный доксорубицин); алкалоид барвинка (например, винбластин, винкристин, виндезин, винорелбин); алкилирующий агент (например, циклофосфамид, декарбазин, мелфалан, ифосфамид, темозоломид); антитело иммунных клеток (например, алемтузамаб, гемтузумаб, ритуксимаб, тозитумомаб); антиметаболит (включая, например, антагонисты фолиевой кислоты, аналоги пирмидина, аналоги пурина и ингибиторы аденозиндезаминазы, такие как флударабин); индуцированный глюкокортикоидом TNFR агонист TNFR-родственного белка (GITR); ингибитор протеасом (например, аклациномицин A, глиотоксин или бортезомиб); иммуномодулятор, такой как талидомид или производное талидомида (например, леналидомид).

В некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент является иммуномодулирующим агентом. В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия включает иммуномодулирующий агент, который может стимулировать, амплифицировать и/или иным образом усиливать противоопухолевый иммунный ответ, например противоопухолевый иммунный ответ от введенных сконструированных клеток,

например, путем ингибирования иммунодепрессивной передачи сигналов или усиления подачи сигнала иммуностимулятора. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующим агентом является пептидом, белком или малой молекулой. В некоторых вариантах осуществления, белок может быть слитым белком или рекомбинантным белком. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодуляторный агент связывается с иммунологической мишенью, такой как рецептор клеточной поверхности, экспрессируемой на иммунных клетках, таких как Т-клетки, В-клетки или антигенпрезентирующие клетки. Например, в некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующим агентом является антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела, гибридный белок, малая молекула или полипептид. В некоторых вариантах осуществления, связывающие молекулы, рекомбинантные рецепторы, клетки и/или композиции вводят в комбинации с дополнительным агентом, которым является антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, такой как моноклональное антитело.

В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующий агент блокирует, ингибирует или противодействует компоненту пути иммунной контрольной точки. В иммунной системе есть множество ингибирующих путей, которые участвуют в поддержании самотолерантности и в модуляции иммунных ответов. Опухоли могут использовать определенные пути иммунных контрольных точек в качестве основного механизма иммунной резистентности, в частности, против Т клеток, специфических для опухолевых антигенов (Pardoll (2012) Nature Reviews Cancer 12:252-264), например, сконструированных клеток, таких как CAR-экспрессирующие клетки. Поскольку многие такие иммунные контрольные точки инициируются взаимодействиями лиганд-рецептор, они могут легко блокироваться антителами против лигандов и/или их рецепторов. В отличие от большинства противораковых агентов, ингибиторы контрольных точек не обязательно направлены напрямую на опухолевые клетки, а скорее направлены на рецепторы лимфоцитов или их лиганды по порядку, чтобы повысить эндогенную противоопухолевую активность иммунной системы.

В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом является иммуномодулирующий агент, которым является антагонистическая молекула или является ингибитор иммунной контрольной точки, способный ингибировать или блокировать функцию молекулы или сигнальный путь, включая молекулу иммунной контрольной точки. В некоторых вариантах осуществления, молекулой иммунной контрольной точки или путем является PD-1, PD-L1, PD-L2, CTLA-4, LAG-3, TIM3, VISTA, аденозиновый 2A рецептор (A2AR) или аденозин, или путь с участием любого из вышеперечисленных. В некоторых вариантах осуществления, антагонистические молекулы, блокирующие путь иммунной контрольной точки, такие как малые молекулы, ингибиторы нуклеиновых кислот (*например*, RNAi) или молекулы антител, становятся многообещающими направлениями иммунотерапии при раке и других заболеваниях.

В некоторых вариантах осуществления, ингибитором иммунной контрольной точки является молекула, которая полностью или частично снижает, ингибирует, препятствует

или модулирует один или более белков контрольной точки. Белки контрольных точек регулируют активацию или функцию Т-клеток. Эти белки отвечают за костимулирующие или ингибирующие взаимодействия Т-клеточных ответов. Белки иммунных контрольных точек регулируют и поддерживают самотолерантность, а также продолжительность и амплитуду физиологических иммунных ответов.

Ингибиторы иммунных контрольных точек включают любые агенты, которые блокируют или ингибируют статистически значимым образом ингибирующие пути иммунной системы. Такие ингибиторы могут включать низкомолекулярные ингибиторы или могут включать антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые связываются с рецепторами, лигандами и/или рецептором-лигандом иммунных контрольных точек и блокируют его. В некоторых вариантах осуществления модуляция, усиление и/или стимулирование конкретных рецепторов может преодолеть компоненты пути иммунной контрольной точки. Иллюстративные молекулы иммунных контрольных точек, которые могут быть направлены на блокирование, ингибирование, модуляцию, усиление и/или стимулирование включают, но не ограничены ими, PD-1 (CD279), PD-L1 (CD274, B7-H1), PDL2 (CD273, B7-DC), CTLA-4, LAG-3 (CD223), TIM-3, 4-1BB (CD 137), 4-1BBL (CD137L), GITR (TNFRSF18, AITR), CD40, 0X40 (CD134, TNFRSF4), CXCR2, опухолеассоциированные антигены (TAA), B7-H3, B7-H4, BTLA, HVEM, GAL9, B7H3, B7H4, VISTA, KIR, 2B4 (принадлежит к семейству молекул CD2 и экспрессируется на всех NK, gd и $CD8^+$ (ab) Т клетках памяти), CD 160 (также называемый BY55), CGEN-15049, CEACAM (например, CEACAM-1, CEACAM-3 и/или CEACAM-5), TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3 (CD276), B7-H4 (VTCN1), HVEM (TNFRSF14 или CD270), KIR, A2aR, MHC I класса, MHC II класса, GAL9, аденозин и рецептор трансформирующего ростового фактора (TGFR; например, TGFR бета). Ингибиторы иммунных контрольных точек включают антитела или их антигенсвязывающие фрагменты или другие связывающие белки, которые связываются, блокируют или ингибируют и/или усиливают или стимулируют активность одной или более любой из указанных молекул.

Типовые ингибиторы иммунных контрольных точек включают Тремелимумаб (CTLA-4 блокирующее антитело, также известное как тицилимумаб, CP-675,206), анти-OX40, PD-L1 моноклональное антитело (Анти-B7-H1; MEDI4736), MK-3475 (PD-1 блокатор), ниволумаб (анти-PD-1 антитело), CT-011 (анти-PD-1 антитело), BY55 моноклональное антитело, AMP224 (анти-PD-L1 антитело), BMS-936559 (анти-PD-L1 антитело), MPLDL3280A (анти-PD-L1 антитело), MSB0010718C (анти-PD-L1 антитело) и ипилимумаб (анти-CTLA-4 антитело, также известное как Yervoy®, MDX-010 и MDX-101). Типовые иммуномодулирующие антитела включают, но не ограничены ими, Даклизумаб (Zenapax), Бевацизумаб (Avastin®), Базиликсимаб, Ипилимумаб, Ниволумаб, пембролизумаб, MPDL3280A, Пидилизумаб (CT-011), MK-3475, BMS-936559, MPDL3280A (Атезолизумаб), тремелимумаб, IMP321, BMS-986016, LAG525, урелумаб, PF-05082566, TRX518, MK-4166, дацетузумаб (SGN-40), лукатумумаб (HCD122), SEA-0, CP-870, CP-893, MEDI6469, MEDI6383, MOXR0916, AMP-224, MSB0010718C (Авелумаб),

MEDI4736, PDR001, rHIgM12B7, Улокуплумаб, BKT140, Варлилумаб (CDX-1127), ARGX-110, MGA271, лирилумаб (BMS-986015, IPH2101), IPH2201, ARGX-115, Эмактузумаб, CC-90002 и MNRP1685A или их антителосвязывающие фрагменты. Другие типовые иммуномодуляторы включают, например, афутузумаб (доступный от Roche®); пегфилграстим (Neulasta®); леналидомид (CC-5013, Revlimid®); талидомид (Thalomid®), актимид (CC4047); и IRX-2 (смесь цитокинов человека, включающая интерлейкин 1, интерлейкин 2 и интерферон.гамма., CAS 951209-71-5, доступный от IRX Therapeutics).

В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом, который вводят согласно представленным способам и/или представленным готовым изделиям или композициям, является агент, который связывается с и/или ингибирует запрограммированную смерть клеток 1 (PD-1). PD-1 является белком иммунной контрольной точки, который экспрессирован в B клетках, NK клетках и T клетках (Shinohara et al., 1995, Genomics 23:704-6; Blank et al., 2007, Cancer Immunol Immunother 56:739-45; Finger et al., 1997, Gene 197:177-87; Pardoll (2012) Nature Reviews Cancer 12:252-264). Основная роль PD-1 заключается в ограничении активности T-клеток в периферических тканях во время воспаления при инфекции, а также в ограничении аутоиммунитета. Экспрессия PD-1 вызывается в активированных T-клетках, и связывание PD-1 с одним из его эндогенных лигандов действует как ингибирующее активацию T-клеток, подавляя стимулирующие киназы. PD-1 также действует, подавляя «стоп-сигнал» TCR. PD-1 высоко экспрессируется на Treg клетках и может усиливать их пролиферацию в присутствии лиганда (Pardoll (2012) Nature Reviews Cancer 12:252-264). Анти-PD 1 антитела применяют для лечения меланомы, немелкоклеточного рака легкого, рака мочевого пузыря, рака простаты, колоректального рака, рака головы и шеи, тройного отрицательного рака груди, лейкоза, лимфомы и почечно-клеточного рака (Topalian et al., 2012, N Engl J Med 366:2443-54; Lipson et al., 2013, Clin Cancer Res 19:462-8; Berger et al., 2008, Clin Cancer Res 14:3044-51; Gildener-Leapman et al., 2013, Oral Oncol 49:1089-96; Menzies & Long, 2013, Ther Adv Med Oncol 5:278-85). Типовые анти-PD-1 антитела включают ниволумаб (Opdivo от BMS), пембролизумаб (Keytruda от Merck), пидилизумаб (CT-011 от Cure Tech), ламбролизумаб (MK-3475 от Merck) и AMP-224 (Merck), ниволумаб (также называемый Opdivo, BMS-936558 или MDX1106; Bristol-Myers Squibb) является полностью человеческим IgG4 моноклональным антителом, которое специфически блокирует PD-1. Ниволумаб (клон 5C4) и другие моноклональные антитела человека, которые специфически связываются с PD-1, описаны в US 8,008,449 и WO2006/121168. Пидилизумаб (CT-011; Cure Tech) является гуманизированным IgG1k моноклональным антителом, которое связывается с PD-1. Пидилизумаб и другие гуманизированные анти-PD-1 моноклональные антитела описаны в WO2009/101611. Пембролизумаб (ранее известный как ламбролизумаб и также называемый Keytruda, MK03475; Merck) является гуманизированным IgG4 моноклональным антителом, которое связывается с PD-1. Пембролизумаб и другие гуманизированные анти-PD-1 антитела описаны в US 8,354,509 и WO2009/114335. Другие анти-PD-1 антитела включают AMP 514 (Amplimmune), среди прочих, например, анти-PD-

1 антитела, описанные в US 8,609,089, US 2010028330, US 20120114649 и/или US 20150210769. AMP-224 (B7-DCIg; Amplimmune; например, описанный в WO2010/027827 и WO2011/066342), является PD-L2 Fc слитым растворимым рецептором, который блокирует взаимодействие между PD-1 и B7-H1.

В некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент, который вводят согласно представленным способам и/или представленным готовым изделиям или композициям, является агентом, который связывается с или ингибирует PD-L1 (также известным как CD274 и B7-H1) и/или PD-L2 (также известным как CD273 и B7-DC). PD-L1 и PD-L2 являются лигандами для PD-1, найденными на активированных Т клетках, В клетках, миелоидных клетках, макрофагах и некоторых типах опухолевых клеток. Противоопухолевые терапии сфокусированы на анти-PD-L1 антителах. Комплекс PD-1 и PD-L1 ингибирует пролиферацию CD8+ Т-клеток и снижает иммунный ответ (Topalian et al., 2012, N Engl J Med 366:2443-54; Brahmer et al., 2012, N Eng J Med 366:2455-65). Анти-PD-L1 антитела используют для лечения немелкоклеточного рака легких, меланомы, колоректального рака, почечно-клеточного рака, рака поджелудочной железы, рака желудка, рака яичников, рака груди и гематологических злокачественных новообразований (Brahmer et al., 2012, N Eng J Med 366:2455-65; Ott et al., 2013, Clin Cancer Res 19:5300-9; Radvanyi et al., 2013, Clin Cancer Res 19:5541; Menzies & Long, 2013, Ther Adv Med Oncol 5:278-85; Berger et al., 2008, Clin Cancer Res 14:13044-51). Типовые анти-PD-L1 антитела включают MDX-1105 (Medarex), MEDI4736 (Medimmune) MPDL3280A (Genentech), BMS-935559 (Bristol-Myers Squibb) и MSB0010718C. MEDI4736 (Medimmune) является моноклональным антителом человека, которое связывается с PD-L1 и ингибирует взаимодействие лиганда с PD-1. MDPL3280A (Genentech/Roche) является Fc оптимизированного IgG1 моноклонального антитела человека, которое связывается с PD-L1. MDPL3280A и другие моноклональные антитела человека к PD-L1 описаны в патенте США № 7,943,743 и публикации США № 20120039906. Другие анти-PD-L1 связывающие агенты включают YW243,55.S70 (см. WO2010/077634) и MDX-1105 (также называемый BMS-936559, и, например, анти-PD-L1 связывающие агенты, описанные в WO2007/005874).

В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом, который вводят согласно представленным способам и/или представленным готовым изделиям или композициям, является агент, который является ингибитором антигена, ассоциированного с цитотоксическими Т-лимфоцитами (CTLA-4), также известного как CD152, или связывается с CTLA-4. CTLA-4 является коингибирующей молекулой, которая регулирует активацию Т-клеток. CTLA-4 является членом суперсемейства иммуноглобулина, которое экспрессируется исключительно на Т-клетках. CTLA-4 действует как ингибитор активации Т-клеток и, как сообщается, ингибирует активность хелперных Т-клеток и повышает иммунодепрессивную активность регуляторных Т-клеток. Хотя точный механизм действия CTLA-4 все еще исследуется, было высказано предположение, что он ингибирует активацию Т-клеток, опережая CD28 в связывании с CD80 и CD86, а также активно

подавляя ингибирующие сигналы к Т-клеткам (Pardoll (2012) Nature Reviews Cancer 12:252-264). Анти-CTLA-4 антитела применяли в клинических исследованиях для лечения меланомы, рака простаты, мелкоклеточного рака легкого, немелкоклеточного рака легкого (Robert & Ghiringhelli, 2009, Oncologist 14:848-61; Ott et al., 2013, Clin Cancer Res 19:5300; Weber, 2007, Oncologist 12:864-72; Wada et al., 2013, J Transl Med 11:89). Существенной особенностью анти-CTLA-4 является кинетика противоопухолевого эффекта с периодом задержки до 6 месяцев после начального лечения, необходимого для физиологического ответа. В некоторых случаях опухоли могут увеличиваться в размерах после начала лечения до того, как произойдет уменьшение (Pardoll (2012) Nature Reviews Cancer 12:252-264). Типовые анти-CTLA-4 антитела включают ипилимумаб (Bristol-Myers Squibb) и тремелимумаб (Pfizer). Ипилимумаб недавно получил одобрение FDA для лечения метастатической меланомы (Wada et al., 2013, J Transl Med 11:89).

В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом, который вводят согласно представленным способам и/или представленным готовым изделиям или композициям, является агент который связывается с и/или ингибирует ген активации лимфоцита-3 (LAG-3), также известный как CD223. LAG-3 является другим белкам иммунной контрольной точки. LAG-3 ассоциирован с ингибированием активности лимфоцита и, в некоторых случаях, индукции анергии лимфоцита. LAG-3 экспрессируется на разных клетках иммунной системы, включая В-клетки, NK-клетки и дендритные клетки. LAG-3 является природным лигандом рецептора MHC класса II, который в значительной степени экспрессируется на Т-лимфоцитах, инфильтрирующих меланому, включая те, которые обладают мощной иммунодепрессивной активностью. Типовые анти-LAG-3 антитела включают BMS-986016 (Bristol-Myers Squib), который является моноклональным антителом, которое направлено на LAG-3. IMP701 (Immutep) является антагонистом LAG-3 антитела и IMP731 (Immutep и GlaxoSmithKline) является истощающим LAG-3 антителом. Другие ингибиторы LAG-3 включают IMP321 (Immutep), который является рекомбинантным слитым белком растворимой части LAG-3 и Ig который связывается с молекулой MHC II класса и активирует антигенпрезентирующие клетки (APC). Другие антитела описаны, например, в WO2010/019570 и US 2015/0259420.

В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом, который вводят согласно представленным способам и/или представленным готовым изделиям или композициям, является агент, который связывается и/или ингибирует домен Т-клеточного иммуноглобулина и муциновый домен-3 (TIM-3). Первоначально TIM-3 был идентифицирован на активированных клетках Th1, и было показано, что он является отрицательным регулятором иммунного ответа. Блокада TIM-3 способствует опосредованному Т-клетками противоопухолевому иммунитету и обладает противоопухолевой активностью в моделях опухолей мышей. Комбинации блокады TIM-3 с другими иммунотерапевтическими агентами, такими как TSR-042, анти-CD137 антитела и другие, могут быть аддитивными или синергическими в усилении противоопухолевых эффектов. Экспрессия TIM-3 ассоциирована с рядом различных типов опухолей, включая

меланому, NSCLC и рак почек, и дополнительно, экспрессия внутриопухолевого TIM-3 коррелирует с неблагоприятным прогнозом для различных типов опухолей, включая NSCLC, раки шейки матки и желудка. Блокада TIM-3 также представляет интерес в повышении иммунитета к ряду хронических вирусных заболеваний. Также было показано, что TIM-3 взаимодействует с рядом лигандов, включая галектин-9, фосфатидилсерин и HMGB1, хотя в настоящее время неясно, какие из них, если таковые имеются, имеют отношение к регуляции противоопухолевых ответов. В некоторых вариантах осуществления, антитела, фрагменты антител, малые молекулы или ингибиторы пептида, нацеленные на TIM-3, могут связываться с доменом IgV TIM-3, чтобы ингибировать взаимодействие с его лигандами. Типовые антитела и пептиды, которые ингибируют TIM-3 описаны в US 2015/0218274, WO2013/006490 и US 2010/0247521. Другие анти-TIM-3 антитела включают гуманизированное версии RMT3-23 (Ngiow et al., 2011, Cancer Res, 71:3540-3551) и клон 8B.2C12 (Monney et al., 2002, Nature, 415:536-541). Биспецифические антитела, которые ингибируют TIM-3 и PD-1, описаны в US 2013/0156774.

В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом, который вводят согласно представленным способам и/или представленным готовым изделиям или композициям, является агент, который является ингибитором CEACAM (например, ингибитором CEACAM-1, CEACAM-3 и/или CEACAM-5). В некоторых вариантах осуществления, ингибитором CEACAM является молекула анти-CEACAM антитела. Типовые анти-CEACAM-1 антитела описаны в WO 2010/125571, WO 2013/082366 WO 2014/059251 и WO 2014/022332, например, моноклональное антитело 34B1, 26H7 и 5F4; или его рекомбинантная форма, как описано в, например, US 2004/0047858, US 7,132,255 и WO 99/052552. В некоторых вариантах осуществления, анти-CEACAM антитело связывается с CEACAM-5 как описано в, например, Zheng et al. PLoS One. (2011) 6(6): e21146) или перекрестно реагирует с CEACAM-1 и CEACAM-5, как описано в, например, WO 2013/054331 и US 2014/0271618.

В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом, который вводят согласно представленным способам и/или представленным готовым изделиям или композициям, является агент, который связывается с и/или ингибирует 4-1BB, также известный как CD137. 4-1BB является трансмембранным гликопротеином, принадлежащим к суперсемейству TNFR. 4-1BB рецепторы присутствуют на активированных Т клетках и В клетках и моноцитах. Типовым анти-4-1BB антителом является урелумаб (BMS-663513), который обладает потенциальной иммуностимулирующей и антинеопластической активностью.

В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом, который вводят согласно представленным способам и/или представленным готовым изделиям или композициям, является агент, который связывается с и/или ингибирует рецептор суперсемейства фактора некроза опухоли рецептор, члена 4 (TNFRSF4), также известного как OX40 и CD134. TNFRSF4 является другим членом суперсемейства TNFR. OX40 не экспрессируется конститутивно на отдыхающих наивных Т клетках и действует как

вторичная костимулирующая молекула иммунной контрольной точки. Типовыми анти-OX40 антителами являются MEDI6469 и MOXR0916 (RG7888, Genentech).

В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом, который вводят согласно представленным способам и/или представленным готовым изделиям или композициям, является агент или молекула, которая снижает популяцию регуляторных Т-клеток (Treg). Способы, которые уменьшают количество (например, истощают) Treg клеток, известны и включают, например, истощение CD25, введение циклофосфамида и модуляцию функции индуцированного глюкокортикоидом гена, связанного с семейством TNFR (GITR). GITR является членом суперсемейства TNFR, который активируется на активированных Т-клетках, что усиливает иммунную систему. Уменьшение количества Treg клеток у субъекта до афереза или до введения сконструированных клеток, например, CAR-экспрессирующих клеток, может уменьшить количество нежелательных иммунных клеток (например, Treg) в микросреде опухоли и снизить риск рецидива у субъекта. В некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент включает молекулу, направленную на GITR и/или модулирующую функции GITR, такую как агонист GITR и/или антитело GITR, которое истощает регуляторные Т-клетки (Treg). В некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент включает циклофосфамид. В некоторых вариантах осуществления, связывающая GITR молекула и/или молекула, модулирующая функцию GITR (например, агонист GITR и/или Treg, истощающие GITR антитела) вводят до сконструированных клеток, например, CAR-экспрессирующих клеток. Например, в некоторых вариантах осуществления агонист GITR может вводиться до афереза клеток. В некоторых вариантах осуществления, циклофосфамид вводят субъекту до введения (например, инфузии или повторной инфузии) сконструированных клеток, например, CAR-экспрессирующих клеток или до афереза клеток. В некоторых вариантах осуществления, циклофосфамид и анти-GITR антитело вводят субъекту до введения (например, инфузии или повторной инфузии) сконструированных клеток, например, CAR-экспрессирующих клеток или до аферез клеток.

В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом, который вводят согласно представленным способам и/или представленным готовым изделиям или композициям, является агент, который является агонистом GITR. Типовые агонисты GITR включают, например, слитые белки GITR и анти-GITR антитела (например, бивалентные анти-GITR антитела) такие как, например, GITR слитый белок, описанный в Патенте США № 6,111,090, европейском патенте № 090505B 1, патенте США № 8,586,023, публикациях PCT №№: WO 2010/003118 и 2011/090754, или анти-GITR антитело, описанное, например, в Патенте США № 7,025,962, Европейском патенте № 1947183B 1, Патенте США № 7,812,135, Патенте США № 8,388,967, Патенте США № 8,591,886, Европейском патенте № EP 1866339, PCT публикации № WO 2011/028683, PCT публикации № WO 2013/039954, PCT публикации № WO2005/007190, PCT публикации № WO 2007/133822, PCT публикации № WO2005/055808, PCT публикации № WO 99/40196, PCT публикации № WO 2001/03720, PCT публикации № WO99/20758, PCT публикации № WO2006/083289, PCT

публикации № WO 2005/115451, Патенте США № 7,618,632 и PCT публикации № WO 2011/051726. Типовым анти-GITR антителом является TRX518.

В некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент, который вводят согласно представленным способам и/или представленным готовым изделиям или композициям, улучшает инфильтрацию опухоли или трансмиграцию введенных клеток, например, CAR-экспрессирующих клеток. Например, в некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент стимулирует CD40, такой как CD40L, например, рекомбинантный CD40L человека. Кластер дифференциации 40 (CD40) также является членом суперсемейства TNFR. CD40 является костимулирующим белком, найденным на антигенпрезентирующих клетках и опосредует широкий спектр иммунных и воспалительных ответов. CD40 также экспрессируется на некоторых злокачественных образованиях, где он способствует пролиферации. Типовые анти-CD40 антитела включают дацетузумаб (SGN-40), лукатумумаб (Novartis, антагонист), SEA-0 (Seattle Genetics) и CP-870,893. В некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент, который улучшает инфильтрацию опухоли, включает ингибитор тирозинкиназы сунитниб, гепараназу и/или хемокиновые рецепторы, такие как CCR2, CCR4 и CCR7.

В вариантах осуществления, дополнительным агентом, который представлен согласно представленным способам и/или представленным готовым изделиям или представленным композициям, является иммуномодулирующий агент, который является структурным или функциональным аналогом или производным талидомида и/или ингибитором убиквитинлигазы E3. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующий агент связывается с цереблоном (CRBN). В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующий агент связывается с убиквитин-лигазным комплексом CRBN E3. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующий агент связывается с CRBN и убиквитин-лигазным комплексом CRBN E3. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующий агент активирует белок или экспрессию CRBN. В некоторых случаях CRBN является субстратным адаптером для убиквитинлигазы $CRL4^{CRBN}$ E3 и модулирует специфичность фермента. В некоторых вариантах осуществления, связывание с CRB или убиквитинлигазой CRBN E3 ингибирует активность убиквитинлигазы E3. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующий агент индуцирует убикутинирование KZF1 (Ikaros) и IKZF3 (Aiolos) и/или индуцирует разложение IKZF1 (Ikaros) и IKZF3 (Aiolos). В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующий агент вызывает убиквитинирование казеинкиназы 1A1 (CK1α) через $CRL4^{CRBN}$ E3 убиквитинлигазу. В некоторых вариантах осуществления, убиквитинирование CK1α вызывает разложение CK1α.

В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующим агентом является ингибитор Ikaros (IKZF1) фактора транскрипции. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующий агент улучшает убиквитинирование Ikaros. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующий агент улучшает разложение Ikaros. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующий агент подавляет белок или экспрессию

гена Ikaros. В некоторых вариантах осуществления, введение иммуномодулирующего агента вызывает снижение уровней белка Ikaros.

В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующим агентом является ингибитор Aiolos (IKZF3) фактора транскрипции. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующий агент улучшает убиквитинирование Aiolos. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующий агент улучшает разложение Aiolos. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующий агент подавляет белок или экспрессию гена Aiolos. В некоторых вариантах осуществления, введение иммуномодулирующего агента вызывает снижение уровней белка Aiolos.

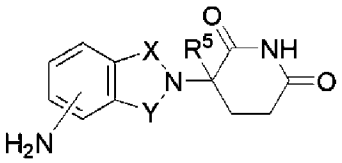
В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующим агентом является ингибитор обоих Ikaros (IKZF1) и Aiolos (IKZF3) факторов транскрипции. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующий агент улучшает убиквитинирование обоих Ikaros и Aiolos. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующий агент улучшает разложение обоих Ikaros и Aiolos. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующий агент улучшает убиквитинирование и разложение обоих Ikaros и Aiolos. В некоторых вариантах осуществления, введение иммуномодулирующего агента вызывает снижение уровней белка Aiolos и снижение уровней белка Ikaros.

В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующим агентом является селективное цитокин ингибирующее лекарственное средство (SelCID). В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующий агент ингибирует активность фосфодиэстеразы-4 (PDE4). В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующий агент подавляет ферментную активность CDC25 фосфатаз. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующий агент изменяет внутриклеточную миграцию CDC25 фосфатаз.

В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующим агентом является талидомид (2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1H-изоиндол-1,3(2H)-дион) или аналоги или производное талидомида. В определенных вариантах осуществления, производное талидомида включает структурные варианты талидомида, которые имеют похожую биологическую активность. Типовые производные талидомида включают, но не ограничены ими леналидомид (REVLIMMUNOMODULATORY COMPOUND™; Celgene Corporation), помалидомид (также известный как ACTIMMUNOMODULATORY COMPOUND™ или POMALYST™ (Celgene Corporation)), CC-1088, CDC-501 и CDC-801 и соединения, описанные в патентах США №№ 5,712,291; 7,320,991; и 8,716,315; заявке США № 2016/0313300; и PCT публикациях №№ WO 2002/068414 и WO 2008/154252.

В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующим агентом являются 1-оксо- и 1,3-диоксо-2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)изоиндолины, замещенные амино в бензольном кольце, как описано в патенте США № 5,635,517 который включен в настоящий документ посредством ссылки.

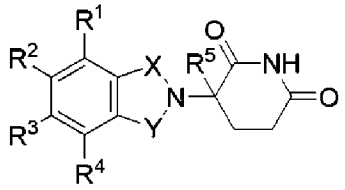
В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующим агентом является соединение следующей формулы:



где один из X и Y является -C(O)- и другой из X и Y является -C(O)- или -CH_2- и R^5 является водородом или низшим алкилом, или его фармацевтически приемлемая соль. В некоторых вариантах осуществления, X является -C(O)- и Y является -CH_2-. В некоторых вариантах осуществления, оба X и Y являются -C(O)-. В некоторых вариантах осуществления, R^5 является водородом. В других вариантах осуществления, R^5 является метилом.

В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующим соединением является соединение, которое принадлежит к классу замещенных 2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)фталиммуномодулирующих соединений и замещенных 2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолов, таких как описаны в Патентах США №№ 6,281,230; 6,316,471; 6,335,349; и 6,476,052 и заявке на международный патент № PCT/US97/13375 (международная публикация № WO 98/03502), каждый из которых включен в настоящий документ посредством ссылки.

В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующим агентом является соединение следующей формулы:



где

один из X и Y является -C(O)- и другой из X и Y является -C(O)- или -CH_2-;

(1) каждый из R^1, R^2, R^3 и R^4 независимо является галогеном, алкилом с 1-4 атомами углерода или алкокси с 1-4 атомами углерода, или

(2) один из R^1, R^3, R^4 и R^5 является -NHR^a, и оставшиеся из R^1, R^2, R^3 и R^4 являются водородом, где R^a является водородом или алкилом с 1-8 атомами углерода;

R^5 является водородом или алкилом с 1-8 атомами углерода, бензилом или галогеном;

при условии, что R^5 не является водородом, если X и Y являются -C(O)- и (i) каждый из R^1, R^2, R^3 и R^4 является фтором; или (ii) один из R^1, R^2, R^3 и R^4 является амино;

или его фармацевтически приемлемая соль.

В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующим агентом является соединение, которое принадлежит к классу изоиндол-иммуномодулирующих соединений, описанных в патенте США № 7,091,353, публикации патента США № 2003/0045552 и международной публикации № PCT/USOI/50401 (международной публикации № WO02/059106), каждый из которых включен в настоящий документ посредством ссылки.

Например, в некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующим агентом является [2-(2,6-диоксо-пиперидин-3-ил)-1,3-диоксо-2,3-дигидро-1H-изоиндол-4-илметил]-амид; трет-бутиловый эфир (2-(2,6-диоксо-пиперидин-3-ил)-1,3-диоксо-2,3-дигидро-1H-изоиндол-4-илметил)-карбаминовой кислоты; 4-(аминометил)-2-(2,6-диоксо(3-пиперидил))-изоиндолин-1,3-дион; N-(2-(2,6-диоксо-пиперидин-3-ил)-1,3-диоксо-2,3-дигидро-1H-изоиндол-4-илметил)-ацетамид; N-{(2-(2,6-диоксо(3-пиперидил)-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил)метил}циклопропил-карбоксамид; 2-хлор-N-{(2-(2,6-диоксо(3-пиперидил))-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил)метил}ацетамид; N-(2-(2,6-диоксо(3-пиперидил))-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил)-3-пиридилкарбоксамид; 3-{1-оксо-4-(бензиламино)изоиндолин-2-ил}пиперидин-2,6-дион; 2-(2,6-диоксо(3-пиперидил))-4-(бензиламино)изоиндолин-1,3-дион; N-{(2-(2,6-диоксо(3-пиперидил))-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил)метил}пропанамид; N-{(2-(2,6-диоксо(3-пиперидил))-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил)метил}-3-пиридилкарбоксамид; N-{(2-(2,6-диоксо(3-пиперидил))-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил)метил}гептанамид; N-{(2-(2,6-диоксо(3-пиперидил))-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил)метил}-2-фурилкарбоксамид; {N-(2-(2,6-диоксо(3-пиперидил))-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил)карбамоил}метилацетат; N-(2-(2,6-диоксо(3-пиперидил))-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил)пентанамид; N-(2-(2,6-диоксо(3-пиперидил))-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил)-2-тиенилкарбоксамид; N-{[2-(2,6-диоксо(3-пиперидил))-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил]метил}(бутиламино)карбоксамид; N-{[2-(2,6-диоксо(3-пиперидил))-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил]метил}(октиламино)карбоксамид; или N-{[2-(2,6-диоксо(3-пиперидил))-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил]метил}(бензиламино)карбоксамид.

В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующим агентом является соединение, которое принадлежит к классу изоиндол-иммуномодулирующих соединение, описанных в Публикациях заявок на патент США №№ 2002/0045643, Международной публикации № WO 98/54170 и Патенте США № 6,395,754, каждый из которых включен в настоящий документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующим агентом являются тетразамещенные 2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолины, описанные в Патенте США № 5,798,368, который включен в настоящий документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующим агентом являются 1-оксо and 1,3-диоксо-2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)изоиндолины, описанные а Патенте США № 6,403,613, который включен в настоящий документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующим агентом является 1-оксо или 1,3-диоксоизоиндолин, замещенный в положениях 4- или 5- индолинового кольца, как описано в Патенте США № 6,380,239 и Патенте США № 7,244,759, оба которых включены в настоящий документ посредством ссылки.

В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующим агентом является 2-(4-амино-1-оксо-1,3-дигидро-изоиндол-2-ил)-4-карбамоилмасляная кислота или 4-(4-амино-1-оксо-1,3-дигидро-изоиндол-2-ил)-4-карбамоилмасляная кислота. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующим соединением является 4-карбамоил-4-

{4-[(фуран-2-ил-метил)-амино]-1,3-диоксо-1,3-дигидро-изоиндол-2-ил}-масляная кислота, 4-карбамоил-2-{4-[(фуран-2-ил-метил)-амино]-1,3-диоксо-1,3-дигидро-изоиндол-2-ил}-масляная кислота, 2-{4-[(фуран-2-ил-метил)-амино]-1,3-диоксо-1,3-дигидро-изоиндол-2-ил}-4-фенилкарбамоил-масляная кислота или 2-{4-[(фуран-2-ил-метил)-амино]-1,3-диоксо-1,3-дигидро-изоиндол-2-ил}-пентандикислота.

В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующим агентом является изоиндолин-1-он или изоиндолин-1,3-дион, замещенный в 2 положении 2,6-диоксо-3-гидроксипиперидин-5-илом, как описано в Патенте США № 6,458,810, который включен в настоящий документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующим соединением является 3-(5-амино-2-метил-4-оксо-4H-хиназолин-3-ил)-пиперидин-2,6-дион или его энантиомер или смесь энантиомеров; или его фармацевтически приемлемая соль, сольват, гидрат, сокристалл, клартат или полиморф. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующим соединением является 3-[4-(4-морфолин-4-илметил-бензилокси)-1-оксо-1,3-дигидро-изоиндол-2-ил]-пиперидин-2,6-дион.

В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующий агент описан у Oshima, K. *et al.,Nihon Rinsho.,* 72(6):1130-5 (2014); Millrine, D. *et al.,Trends Mol Med.,* 23(4):348-364 (2017); and Collins, *et al.,Biochem J.,* 474(7):1127-1147 (2017).

В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующим агентом является леналидомид, помалидомид, авадомид, стереоизомер леналидомида, помалидомида, авадомида или их фармацевтически приемлемая соль, сольват, гидрат, сокристалл, клатрат или полиморф. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующим соединением является леналидомид, стереоизомер леналидомида или его фармацевтически приемлемая соль, сольват, гидрат, сокристалл, клатрат или полиморф. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующим соединением является леналидомид или ((RS)-3-(4-Амино-1-оксо-1,3-дигидро-2H-изоиндол-2-ил)пиперидин-2,6-дион).

В некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент включает лекарственные средства на основе талидомида или его аналогов и/или его производных, таких как леналидомид, помалидомид или апремиласт. См., например, Bertilaccio et al., Blood (2013) 122:4171, Otahal et al., Oncoimmunology (2016) 5(4):e1115940; Fecteau et al., Blood (2014) 124(10):1637-1644 и Kuramitsu et al., Cancer Gene Therapy (2015) 22:487-495). Леналидомид ((RS)-3-(4-Амино-1-оксо-1,3-дигидро-2H-изоиндол-2-ил)пиперидин-2,6-дион; также известный как Ревлимид) является синтетическим производным талидомида и обладает множеством иммуномодулирующих эффектор, включая усиление образования иммунного синапса между Т клеткой и антигенпрезентирующими клетками (APC). Например, в некоторых случаях, леналидомид модулирует Т клеточные ответы и вызывает повышенное продуцирование интерлейкин (IL)-2 в CD4+ и CD8+ Т-клетках, индуцирует сдвиг Т-хелперных (Th) ответов с Th2 на Th1, ингибирует размножение регуляторного подмножества Т-клеток (Treg) и улучшает работу иммунологических синапсов при фолликулярной лимфоме и хроническом лимфоцитарном лейкозе (CLL) (Otahal et al.,

Oncoimmunology (2016) 5(4):e1115940). Леналидомид также имеет прямую опухолевую активность у пациентов с множественной миеломой (ММ) и прямо и косвенно модулирует выживание опухолевых клеток CLL путем воздействия на стромальные клетки, такие как клетки-«няни», обнаруженные в микросреде лимфоидной ткани. Леналидомид также может усиливать пролиферацию Т-клеток и продуцирование интерферона-γ в ответ на активацию Т-клеток через CD3 лигирование или опосредованную дендритными клетками активацию. Леналидомид также может побуждать злокачественные В клетки экспрессировать более высокие уровни иммуностимулирующих молекул, таких как CD80, CD86, HLA-DR, CD95, и CD40 (Fecteau et al., Blood (2014) 124(10): 1637-1644). В некоторых вариантах осуществления, леналидомид вводят в дозировке от примерно 1 мг до примерно 20 мг в сутки, например, от примерно 1 мг до примерно 10 мг, от примерно 2,5 мг до примерно 7,5 мг, от примерно 5 мг до примерно 15 мг, например, примерно 5 мг, 10 мг, 15 мг или 20 мг в сутки. В некоторых вариантах осуществления, леналидомид вводят в дозе от примерно 10 мкг/кг до 5 мг/кг, например, от примерно 100 мкг/кг до примерно 2 мг/кг, от примерно 200 мкг/кг до примерно 1 мг/кг, от примерно 400 мкг/кг до примерно 600 мкг/кг, например, примерно 500 мкг/кг.

В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом, который вводят согласно представленным способам и/или представленным готовым изделиям или композициям, является В-клеточный ингибитор. В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом является один или несколько В-клеточных ингибиторов, выбранных из ингибиторов CD10, CD19, CD20, CD22, CD34, CD123, CD79a, CD79b, CD179b, FLT-3 или ROR1 или их комбинации. В некоторых вариантах осуществления, В-клеточным ингибитором является антитело (например, моно- или биспецифическое антитело) или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом являются сконструированные клетки, экспрессирующие рекомбинантные рецепторы, которые направлены на В-клетки-мишени, например, CD10, CD19, CD20, CD22, CD34, CD123, CD79a, CD79b, CD179b, FLT-3 или ROR1.

В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом, который вводят согласно представленным способам и/или представленным готовым изделиям или композициям, является ингибитор CD20, например, анти-CD20 антитело (например, анти-CD20 моно- или биспецифическое антитело) или его фрагмент. Типовые анти-CD20 антитела включают, но не ограничиваются ими, ритуксимаб, офатумумаб, окрелизумаб (также известный как GA101 или RO5072759), велтузумаб, обинутузумаб, TRU-015 (Trubion Pharmaceuticals), окаратузумаб (также известный как AME-133v или окаратузумаб) и Pro131921 (Genentech). См., например, Lim et al. Haematologica. (2010) 95(1):135-43. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD20 антитело содержит ритуксимаб. Ритуксимаб является химерным моноклональным антителом IgG1 каппа мыши/человека, которое связывается с CD20 и вызывает цитолиз CD20 экспрессирующих клеток. В некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент включает ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления, CD20 ингибитором является малая молекула.

В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом, который вводят согласно представленным способам и/или представленным готовым изделиям или композициям, является ингибитор CD22, например, анти-CD22 антитело (например, анти-CD22 моно- или биспецифическое антитело) или его фрагмент. Типовые анти-CD22 антитела включают эпратузумаб и RFB4. В некоторых вариантах осуществления, CD22 ингибитор является малой молекулой. В некоторых вариантах осуществления, антителом является моноспецифическое антитело, необязательно конъюгированное со вторым агентом, таким как химиотерапевтический агент. Например, в некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой анти-CD22 конъюгат моноклональное антитело-MMAE (например, DCDT2980S). В некоторых вариантах осуществления, антителом является scFv анти-CD22 антитела, например, scFv антитела RFB4. В некоторых вариантах осуществления scFv слит со всем или фрагментом Pseudomonas экзотоксина-A (например, BL22). В некоторых вариантах осуществления scFv слит со всем или фрагментом (например, фрагментом 38 кДа) Pseudomonas экзотоксина-A (например, моксетумомаб пасудотокс). В некоторых вариантах осуществления анти-CD22 антителом является анти-CD19/CD22 биспецифическое антитело, необязательно конъюгированное с токсином. Например, в некоторых вариантах осуществления, анти-CD22 антитело содержит анти-CD19/CD22 биспецифическую часть (например, два scFv лиганда, распознающие CD19 и CD22 человека), необязательно связано со всем или с частью дифтерийного токсина (DT), например, первыми 389 аминокислотами дифтерийного токсина (DT), DT 390, например, лиганд-направленного токсина, такого как DT2219ARL). В некоторых вариантах осуществления биспецифическая часть (например, анти-CD19/анти-CD22) связана с токсином, таким как цепь A дегликозилированного рицина (например, Combotox).

В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом, который вводят согласно представленным способам и/или представленным готовым изделиям или композициям, является цитокин или является агент, который индуцирует повышенную экспрессию цитокина в микросреде опухоли. Цитокины выполняют важные функции, связанные с размножением, дифференциацией, выживанием и гомеостазом клеток. Цитокин, который может вводиться субъекту, получающему комбинированную терапию в представленных способах или применениях, рекомбинантных рецепторах, клетках и/или композициях, представленных в настоящем документе, включают один или более из IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, IL-18 и IL-21. В некоторых вариантах осуществления, вводимым цитокином является IL-7, IL-15 или IL-21 или их комбинация. В некоторых вариантах осуществления введение цитокина субъекту, который имеет субоптимальный ответ, на введение сконструированных клеток, например, CAR-экспрессирующих клеток, повышает эффективность и/или противоопухолевую активность вводимых клеток, например, CAR-экспрессирующих клеток.

В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом, который вводят согласно представленным способам и/или представленным готовым изделиям или

композициям, является цитокин, такой как белок, который действует на другую клетку в качестве межклеточного медиатора. Примерами таких цитокинов являются лимфокины, монокины и традиционные полипептидные гормоны. В число цитокинов входят гормоны роста, такие как гормон роста человека, N-метиониловый гормон роста человека и гормон роста крупного рогатого скота; гормон паращитовидной железы; тироксин; инсулин; проинсулин; релаксин; прорелаксин; гликопротеиновые гормоны, такие как фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), тиреотропный гормон (ТТГ) и лютеинизирующий гормон (ЛГ); фактор роста печени; фактор роста фибробластов; пролактин; плацентарный лактоген; фактор некроза опухоли-альфа и -бета; вещество, ингибирующее мюллериан; гонадотропин-ассоциированный пептид мыши; ингибин; активин; фактор роста сосудистого эндотелия; интегрин; тромбопоэтин (TPO); факторы роста нервов, такие как NGF-бета; фактор роста тромбоцитов; трансформирующие ростовые факторы (TGF), такие как TGF-альфа и TGF-бета; инсулиноподобный фактор роста-I и -II; эритропоэтин (EPO); остеоиндуктивные факторы; интерфероны, такие как интерферон-альфа, бета и -гамма; колониестимулирующие факторы (CSF), такие как макрофагальный-CSF (M-CSF); гранулоцитарно-макрофагальный-CSF (GM-CSF); и гранулоцитарный CSF (G-CSF); интерлейкины (IL), такие как IL-1, IL-1альфа, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12; IL-15, фактор некроза опухоли, такой как TNF-альфа или TNF-бета; и другие полипептидные факторы в том числе LIF и kit лиганд (KL). В настоящем документе термин цитокин включает белки из природных источников или рекомбинантные культуры клеток и биологически активные эквиваленты нативной последовательности цитокинов. Например, иммуномодулирующим агентом является цитокин, и цитокином является IL-4, TNF-α, GM-CSF или IL-2.

В некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент, который вводят согласно представленным способам и/или представленным готовым изделиям или композициям, включает полипептид интерлейкина-15 (IL-15), полипептид интерлейкина-15 рецептора альфа (IL-15Rα) или их комбинацию, например, hetIL-15 (Admune Therapeuticals, LLC). hetIL-15 является гетеродимерным нековалентным комплексом IL-15 и IL-15Rα. hetIL-15 описан в, например, U.S. 8,124,084, U.S. 2012/0177598, U.S. 2009/0082299, U.S. 2012/0141413 и U.S. 2011/0081311. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующий агент может содержать один или несколько цитокинов. Например, интерлейкин может включать инъекцию лейкоцитарного интерлейкина (Multikine), которая является комбинацией природных цитокинов.

В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом, который вводят согласно представленным способам и/или представленным готовым изделиям или композициям, является модулятор уровней аденозина и/или компонент пути аденозина. Аденозин может действовать как иммуномодуляторный агент в организме. Например, аденозин и некоторые аналоги аденозина, которые неизбирательно активируют подтипы рецепторов аденозина, снижают продуцирование нейтрофилов воспалительных продуктов окисления (Cronstein et al., Ann. N.Y. Acad. Sci. 451:291, 1985; Roberts et al., Biochem. J.,

227:669, 1985; Schrier et al., J. Immunol. 137:3284, 1986; Cronstein et al., Clinical Immunol. Immunopath. 42:76, 1987). В некоторых случаях, концентрация внеклеточного аденозина или аналогов аденозина может увеличиваться в определенных средах, например, в микросреде опухоли (TME). В некоторых случаях, передача сигналов аденозина или аналога аденозина зависит от гипоксии или факторов, участвующих в гипоксии, или ее регуляции, например, фактора индуцируемого гипоксией (HIF). В некоторых вариантах осуществления усиление передачи сигнала аденозином может увеличивать внутриклеточный цАМФ и цАМФ-зависимую протеинкиназу, что приводит к ингибированию продуцирования провоспалительного цитокина и может приводить к синтезу иммунодепрессивных молекул и развитию Treg (Sitkovsky et al., Cancer Immunol Res (2014) 2(7):598-605). В некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент может снижать или обращать иммунодепрессивные эффекты аденозина, аналогов аденозина и/или передачи сигналов аденозина. В некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент может уменьшать или обращать управляемую гипоксией A2-аденозинэргическую иммунодепрессию Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент выбран из антагонистов аденозиновых рецепторов, внеклеточных аденозин-разлагающих агентов, ингибиторов образования аденозина эктоферментами CD39/CD73 и ингибиторов передачи сигналов гипоксии-HIF-1α. В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом является антагонист или агонист аденозинового рецептора.

В вариантах осуществления, дополнительным агентом, который представлен согласно представленным способам и/или представленным готовым изделиям или композициям, является агент, который ингибирует активность и количество аденозинового рецептора. Конкретные варианты осуществления предполагают, что ингибирование или уменьшение внеклеточного аденозина или рецептора аденозина за счет ингибитора внеклеточного аденозина (такого как агент, который предотвращает образование, разлагает, делает неактивным и/или снижает внеклеточный аденозин) и/или ингибитор аденозинового рецептора (например, антагонист аденозинового рецептора) может усиливать иммунный ответ, такой как ответ, опосредованный макрофагом, нейтрофилом, гранулоцитом, дендритной клеткой, Т- и/или В-клеткой. Кроме того, ингибиторы опосредованного Gs-белком цАМФ-зависимого внутриклеточного пути, и ингибиторы активируемого аденозиновым рецептора, опосредованного Gi белком внутриклеточного пути также могут усиливать острое и хроническое воспаление.

В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом, который вводят согласно представленным способам и/или представленным готовым изделиям или композициям, является антагонист или агонист аденозинового рецептора, например, антагонист или агонист одного или нескольких аденозиновых рецепторов A2a, A2b, A1 и A3. A1 и A3 ингибируют и A2a и A2b стимулируют, соответственно, активность аденилатциклазы. Определенные аденозиновые рецепторы, такие как A2a, A2b и A3, могут подавлять или снижать иммунный ответ во время воспаления. Таким образом,

антагонистические иммунодепрессивные аденозиновые рецепторы могут расширять, усиливать или улучшать иммунный ответ, например, иммунный ответ от введенных клеток, например, CAR-экспрессирующих Т клеток. В некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент ингибирует продуцирование внеклеточного аденозина и инициируемую аденозином передачу сигналов через аденозиновые рецепторы. Например, усиление иммунного ответа, локальное воспаление ткани и таргетное разрушение ткани можно усилить через ингибирование или снижение гипоксии аденозинпродуцирующей местной ткани; через разрушение (или превращение в неактивный) накопленного внеклеточного аденозина; через предотвращение или уменьшение экспрессии рецепторов аденозина в иммунных клетках; и/или через ингибирование/антагонизм передачи сигналов аденозиновых лигандов через аденозиновые рецепторы.

В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом, который вводят согласно представленным способам и/или представленным готовым изделиям или композициям, является антагонист аденозинового рецептора. В некоторых вариантах осуществления, антагонистом является малая молекула или химическое соединение аденозинового рецептора, такого как A2a, A2b или A3 рецептор. В некоторых вариантах осуществления, антагонистом является пептид или пептидомиметик, который связывает аденозиновый рецептор, но не запускает Gi белок-зависимый внутриклеточный путь. Примеры таких антагонистов описаны в Патентах США №№ 5,565,566; 5,545, 627, 5,981,524; 5,861,405; 6,066,642; 6,326,390; 5,670,501; 6,117,998; 6,232,297; 5,786,360; 5,424,297; 6,313,131, 5,504,090; и 6,322,771.

В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом является антагонист A2 рецептора (A2R), такой как антагонист A2a. Типовые A2R антагонисты включают, но не ограничены ими, KW6002 (истрадефилин), SCH58261, кофеин, параксантин, 3,7-диметил-1-пропаргилксантин (DMPX), 8-(м-хлорстирил)кофеин (CSC), MSX-2, MSX-3, MSX-4, CGS-15943, ZM-241385, SCH-442416, преладенант, випаденант (BII014), V2006, ST-1535, SYN-115, PSB-1115, ZM241365, FSPTP и ингибирующая нуклеиновая кислота, направленная на экспрессию A2R, например, миРНК или кшРНК или любые антитела или его антигенсвязывающий фрагмент, которые направлены на A2R. В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом является антагонист A2R, описанный в, например, Ohta et al., Proc Natl Acad Sci U S A (2006) 103:13132-13137; Jin et al., Cancer Res. (2010) 70(6):2245-2255; Leone et al., Computational and Structural Biotechnology Journal (2015) 13:265-272; Beavis et al., Proc Natl Acad Sci U S A (2013) 110:14711-14716; и Pinna, A., Expert Opin Investig Drugs (2009) 18:1619-1631; Sitkovsky et al., Cancer Immunol Res (2014) 2(7):598-605; US 8,080,554; US 8,716,301; US 20140056922; WO2008/147482; US 8,883,500; US 20140377240; WO02/055083; US 7,141,575; US 7,405,219; US 8,883,500; US 8,450,329 и US 8,987,279).

В возможных вариантах осуществления, антагонистом аденозинового рецептора является антисмысловая молекулу, ингибирующая молекула нуклеиновой кислоты (например, малая ингибирующая РНК (миРНК)) или каталитическая молекула нуклеиновой

кислоты (например, рибозим), которая специфически связывает иРНК, кодирующую аденозиновый рецептор. В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая молекула, ингибирующая молекула нуклеиновой кислоты или каталитическая молекула нуклеиновой кислоты связывает нуклеиновые кислоты, кодирующие A2a, A2b или A3. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая молекула, ингибирующая молекула нуклеиновой кислоты или каталитическая нуклеиновая кислота нацелены на биохимические пути ниже аденозинового рецептора. Например, антисмысловая молекула или каталитическая нуклеиновая кислота может ингибировать фермент, вовлеченный в Gs-белок или Gi-белок-зависимый внутриклеточный путь. В некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент включает доминантную отрицательную мутантную форму аденозинового рецептора, такую как A2a, A2b или A3.

В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом, который вводят согласно представленным способам и/или представленным готовым изделиям или композициям, является агент, который ингибирует внеклеточный аденозин. Агенты, которые ингибируют внеклеточный аденозин, включают агенты, которые делают внеклеточный аденозин не функциональным (или уменьшают такую функцию), например, вещество, которое модифицирует структуру аденозина, чтобы подавлять способность аденозина передавать сигналы через аденозиновые рецепторы. В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом является внеклеточный аденозин-генерирующий или аденозин-разрушающий фермент, его модифицированная форма или его модулятор. Например, в некоторых вариантах осуществления, дополнительный агентом является фермент (например, аденозиндезаминаза) или другая каталитическая молекула, которая избирательно связывает и разрушает аденозин, тем самым отменяя или значительно снижая способность эндогенно образованного аденозина передавать сигнал через аденозиновые рецепторы и прекращать воспаление.

В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом является аденозиндезаминаза (ADA) или ее модифицированная форма, например, рекомбинантная ADA и/или модифицированная полиэтиленгликолем ADA (ADA-PEG), которая может ингибировать накопление внеклеточного аденозина в локальных тканях. ADA-PEG используют при лечении пациентов с ADA SCID (Hershfield (1995) Hum Mutat. 5: 107). В некоторых вариантах осуществления агент, который ингибирует внеклеточный аденозин, включает агенты, которые предотвращают или уменьшают образование внеклеточного аденозина и/или предотвращают или уменьшают накопление внеклеточного аденозина, тем самым отменяя или существенно снижая иммунодепрессивные эффекты аденозина. В некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент специфически ингибирует ферменты и белки, которые участвуют в регуляции синтеза и/или секреции провоспалительных молекул, включая модуляторы ядерного фактора транскрипции. Подавление экспрессии аденозинового рецептора или экспрессии Gs-белка или Gi-белок-зависимого внутриклеточного пути или цАМФ-зависимого внутриклеточного пути, может привести к увеличению/усилению иммунного ответа.

В некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент может быть направлен на эктоферменты, которые генерируют или продуцируют внеклеточный аденозин. В некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент направлен на эктоферменты CD39 и CD73, которые действуют в тандеме с образованием внеклеточного аденозина. CD39 (также называемый эктонуклеозидтрифосфатдифосфогидролазой) превращает внеклеточный АТФ (или АДФ) в 5'AMP. Затем CD73 (также называемый 5'-нуклеотидазой) превращает 5'AMP в аденозин. Активность CD39 является обратимой под действием NDP киназы и аденилаткиназы, тогда как активность CD73 необратима. CD39 и CD73 экспрессируются на опухолевых стромальных клетках, включая эндотелиальные клетки и Treg, а также на многих раковых клетках. Например, экспрессия CD39 и CD73 на эндотелиальных клетках увеличивается в условиях гипоксии микроокружения опухоли. Опухолевая гипоксия может быть результатом неадекватного снабжения кровью и дезорганизованной сосудистой сети опухоли, нарушающей доставку кислорода (Carroll and Ashcroft (2005), Expert. Rev. Mol. Med. 7 (6): 1-16). Гипоксия также ингибирует аденилаткиназу (АК), которая превращает аденозин в АМФ, что приводит к очень высокой концентрации внеклеточного аденозина. Таким образом, аденозин высвобождается в высокой концентрации в ответ на гипоксию, что является состоянием, часто возникающим в микроокружении опухоли (TME) внутри или вокруг солидных опухолей. В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом является одно или несколько из анти-CD39 антител или его антигенсвязывающих фрагментов, анти-CD73 антител или его антигенсвязывающих фрагментов, например, MEDI9447 или TY/23, α-β-метиленаденозин дифосфат (ADP), ARL 67156, POM-3, IPH52 (см., например, Allard et al. Clin Cancer Res (2013) 19(20):5626-5635; Hausler et al., Am J Transl Res (2014) 6(2):129-139; Zhang, B., Cancer Res. (2010) 70(16):6407-6411).

В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом, который вводят согласно представленным способам и/или представленным готовым изделиям или композициям, является а химиотерапевтический агент (иногда называемый цитотоксический агент). В конкретных вариантах осуществления, химиотерапевтическим агентом является любой агент, о котором известно, что он эффективен для лечения, профилактики или облегчения гиперпролиферативных нарушений, таких как рак. Химиотерапевтические агенты включают, но не ограничены ими, малые молекулы, синтетические лекарственные средства, пептиды, полипептиды, белки, нуклеиновые кислоты (например, полинуклеотиды ДНК и РНК, включая, но не ограничиваясь ими, антисмысловые нуклеотидные последовательности, тройные спирали и нуклеотидные последовательности, кодирующие биологически активные белки, полипептиды или пептиды), антитела, синтетические или природные неорганические молекулы, миметики и синтетические или природные органические молекулы. В конкретных вариантах осуществления, химиотерапевтические лекарственные средства включают алкилирующие агенты, антрациклины, разрушители цитоскелета (таксаны), эпотилоны, ингибиторы гистондеацетилазы, ингибиторы топоизомеразы, ингибиторы топоизомеразы II,

ингибиторы киназы, аналоги нуклеотидов и предшественников, пептидные антибиотики, агенты на основе платины, алкалоиды барвинка и производные.

Химиотерапевтические агенты могут включать, но не ограничены ими, абареликс, альдеслейкин, алемтузумаб, алитретиноин, аллопуринол, альтретамин, амифостин, анастрозол, триоксид мышьяка, аспарагиназу, живую БЦЖ, бевацизумаб, бексаротен, блеомицин, бортезомиб, бусульфан, калустерон, камптотецин, капецитабин, карбоплатин, кармустин, целекоксиб, цетуксимаб, хлорамбуцил, цинакальцет, цисплатин, кладрибин, циклофосфамид, цитабазин, дакарбазин, дактиномицин, дарбэпоэтин альфа, даунорубицин, денилейкин дифтитокс, дексразоксан, доцетаксел, доксорубицин, дромостанолон, раствор Эллиотта B, эпирубицин, эпоэтин альфа, эстрамустин, этопозид, экземестан, филграстим, флоксуридин, флударабин, фторурацил, фулвестрант, гемцитабин, гемтузумаб озогамицин, гефитиниб, гозерелин, гидроксимочевину, ибритумомаб тиуксетан, идарубицин, ифосфамид, иматиниб, интерферон альфа-2a, интерферон alfa-2b, иринотекан, летрозол, лейковорин, левамизол, ломустин, меклоретамин, мегестрол, мелфалан, меркаптопурин, месна, метотрексат, метоксален, метилпреднизолон, митомицин C, митотан, митоксантрон, нандролон, нофетумомаб, облимерсен, опрелвекин, оксалиплатин, паклитаксел, памидронат, пегадемазу, пегаспаргазу, пегфилграстим, пеметрексед, пентостатин, пипоброман, пликамицин, полифепрозан, порфимер, прокарбазин, хинакрин, расбуриказа, ритуксимаб, сарграмостим, стрептозоцин, тальк, тамоксифен, тарцева, темозоломид, тенипозид, тестолактон, тиогуанин, тиотепа, топотекан, торемифен, тозитумомаб, трастузумаб, третиноин, урамустин, валрубицин, винбластин, винкристин, винорелбин и золедронат.

В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом является ингибитор передачи сигналов индуцируемого гипоксией фактора 1 альфа (HIF-1α). Типовые ингибиторы HIF-1α включают дигоксин, акрифлавин, сиртуин-7 и ганетеспиб.

В некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент включает ингибитор белка тирозинфосфатазы, например ингибитор белка тирозинфосфатазы, описанный в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления, ингибитором протеинтирозинфосфатазы является ингибитор SHP-1, например, ингибитор SHP-1, описанный в настоящем документе, такой как, например, стибоглюконат натрия. В некоторых вариантах осуществления, ингибитором протеинтирозинфосфатазы является ингибитор SHP-2, например, ингибитор SHP-2, описанный в настоящем документе.

В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом является ингибитор киназы. Ингибиторы киназы, такие как ингибитор киназы CDK4, ингибитор киназы BTK, ингибитор киназы MNK или ингибитор киназы DGK, могут регулировать конститутивно активные пути выживания, существующие в опухолевых клетках, и/или модулировать функцию иммунных клеток. В некоторых вариантах осуществления, ингибитором киназы является ингибитор тирозинкиназы Брутона (BTK), например, ибрутиниб. В некоторых вариантах осуществления, ингибитором киназы является ингибитор фосфатидилинозит-4,5-бисфосфат-3-киназы (PI3K). В некоторых вариантах

осуществления ингибитором киназы является ингибитор CDK4, например, ингибитор CDK4/6. В некоторых вариантах осуществления, ингибитором киназы является ингибитор mTOR, такой как, например, рапамицин, аналог рапамицина, OSI-027. Ингибитором mTOR может быть, например, ингибитор mTORC1 и/или ингибитор mTORC2, например, ингибитор mTORC1 и/или ингибитор mTORC2. В некоторых вариантах осуществления, ингибитором киназы является ингибитор MNK или двойной ингибитор PI3K/mTOR. В некоторых вариантах осуществления, другие типовые ингибиторы киназы включают ингибитор AKT перифозин, ингибитор mTOR темсиролимус, ингибитор Src киназы дасатиниб и фостаматиниб, ингибиторы JAK2 пакритиниб и руксолитиниб, ингибиторы PKCβ, энзастатин и бриостатурин и бриостатин и ингибитор AAK алисертиб.

В некоторых вариантах осуществления, ингибитором киназы является BTK ингибитор, выбранный из ибрутиниба (PCI- 32765); GDC-0834; RN-486; CGI-560; CGI-1764; HM-71224; CC-292; ONO-4059; CNX-774; и LFM-A13. В некоторых вариантах осуществления, BTK ингибитор не снижает или ингибирует активности киназы индуцируемой интерлейкином-2 киназы (ITK) и выбран из GDC-0834; RN-486; CGI-560; CGI-1764; HM-71224; CC-292; ONO-4059; CNX-774; и LFM-A13.

В некоторых вариантах осуществления, ингибитором киназы является BTK ингибитор, например, ибрутиниб (1-[(3R)-3-[4-Амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пирмидин-1-ил]пиперидин-1-ил]проп-2-ен-1-оне; также известный как PCI-32765). В некоторых вариантах осуществления, ингибитором киназы является BTK ингибитор, например, ибрутиниб (PCI-32765), и ибрутиниб вводят в дозе примерно 250 мг, 300 мг, 350 мг, 400 мг, 420 мг, 440 мг, 460 мг, 480 мг, 500 мг, 520 мг, 540 мг, 560 мг, 580 мг, 600 мг (например, 250 мг, 420 мг или 560 мг) в сутки в течение периода времени, ежедневно в течение 21-дневого курса или ежедневно в течение 28-дневного курса. В некоторых вариантах осуществления, вводят 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или более курсов ибрутиниба. В некоторых вариантах осуществления, BTK ингибитором является BTK ингибитор, описанный в международной заявке WO 2015/079417.

В некоторых вариантах осуществления ингибитором киназы является ингибитор PI3K. PI3K является центральным звеном пути PI3K/Akt/mTOR, участвующего в регуляции клеточного цикла и выживание лимфомы. Типовой ингибитор PI3K включает иделалисиб (ингибитор PI3Kδ). В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом является иделализиб и ритуксимаб.

В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом является ингибитор мишени рапамицина в клетках (mTOR). В некоторых вариантах осуществления, ингибитором киназы является ингибитор mTOR, выбранный из темсиролимуса; ридафоролимуса (также известного как AP23573 и MK8669); эверолимуса (RAD001); рапамицина (AY22989); симапимода; AZD8055; PF04691502; SF1126; и XL765. В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом является ингибитор митоген-активированной протеинкиназы (MAPK), такой как вемурафениб, дабрафениб и трамафенил.

В некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент является агентом, регулирующим про или антиапоптотические белки. В некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент включает ингибитор В-клеточной лимфомы 2 (BCL-2) (например, венетоклакс, также называемый ABT-199 или GDC-0199; или ABT-737). Венетоклакс является малой молекулой (4-(4-{[2-(4-Хлорфенил)-4,4-диметил-1-циклогексен-1-ил]метил}-1-пиперазинил)-N-({3-нитро-4-[(тетрагидро-2Н-пиран-4-илметил)амино]фенил}сульфонил)-2-(1Н-пирроло[2,3-b]пиридин-5-илокси)бензамид), которая ингибирует антиапоптотический белок, BCL-2. Другие агенты, которые модулируют про- или антиапоптотический белок включают BCL-2 ингибитор ABT-737, навитоклакс (ABT-263); Mcl-1 миRNA или Mcl-1 ингибитор ретиноид N-(4-гидроксифенил)ретинамид (4-HPR) для максимальной эффективности. В некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент обеспечивает проапоптотические стимулы, такие как родственный рекомбинантному фактору некроза опухоли индуцирующий апоптоз лиганд (TRAIL), который может активировать путь апоптоза путем связывания с TRAIL рецепторами смерти DR-4 и DR-5 на поверхности опухолевых клеток, или агонистические антитела TRAIL-R2.

В некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент включает цитотоксический агент, например, CPX-351 (Celator Pharmaceuticals), цитарабин, даунорубицин, восароксин (Sunesis Pharmaceuticals), сапацитабин (Cyclacel Pharmaceuticals), идарубицин или митоксантрон. В некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент включает гипометилирующий агент, например, ингибитор ДНК метилтрансферазы, например, азацитидин или децитабин.

В другом варианте осуществления, дополнительная терапия включает трансплантацию, например, аллогенный трансплантат стволовых клеток.

В некоторых вариантах осуществления, дополнительной терапией является противолимфомная терапия. В некоторых вариантах осуществления, противолимфомную терапию проводят у субъекта, например, до введения сконструированных клеток, например, CAR-экспрессирующих клеток. В некоторых вариантах осуществления, противолимфомная терапия включает введение одного или более из мелфалана, цитоксана, циклофосфамида и флударабина. В некоторых вариантах осуществления, противолимфомную химиотерапию вводит субъекту до, одновременно с или после введения (например, инфузии) сконструированных клеток, например, CAR-экспрессирующих клеток. Например, противолимфомную химиотерапию вводят субъекту до введения сконструированных клеток, например, CAR-экспрессирующих клеток.

В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом является онколитический вирус. В некоторых вариантах осуществления онколитические вирусы способны избирательно реплицироваться и запускать смерть или замедление роста раковой клетки. В некоторых случаях онколитические вирусы не действуют или оказывают минимальное действие на не раковые клетки. Онколитический вирус включает, помимо прочего, онколитический аденовирус, онколитические вирусы простого герпеса,

онколитический ретровирус, онколитический парвовирус, онколитический вирус осповакцины, онколитический вирус Sinbis, онколитический вирус гриппа или онколитический РНК вирус (например, онколитический реовирус, онколитический вирус болезни Ньюкасла (NDV), онколитический вирус кори или онколитический вирус везикулярного стоматита (VSV)).

Другие типовые комбинированные терапии, лечение и/или агенты включают антиаллергенные агенты, противорвотные средства, анальгетики и дополнительные терапии. В некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент включает цитопротекторные агенты, такие как нейропротекторы, акцепторы свободных радикалов, кардиопротекторы, нейтрализаторы экстравазации антрациклинов и питательные вещества.

В некоторых вариантах осуществления антитело, используемое в качестве дополнительного агента, конъюгировано или иным образом связано с терапевтическим агентом, например, химиотерапевтическим агентом (например, цитоксаном, флударабином, ингибитором гистондеацетилазы, деметиллирующим агентом, пептидной вакциной, противоопухолевым антибиотиком, ингибитором тирозинкиназы, алкилирующим агентом, анти-микротрубочковым или анти-митотическим агентом), антиаллергическим агентом, агентом против тошноты (или противорвотным агентом), болеутоляющем или цитопротекторным агентом, описанными в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления, дополнительным агентом является конъюгат антитело-лекарственное средство.

Любой из дополнительных агентов, описанных в настоящем документе, может быть приготовлен и введен в виде комбинированной терапии, описанной в представленных способах, применениях, готовых продуктах или композициях, таких как фармацевтические композиции, содержащие один или более агентов комбинированной терапии и фармацевтически приемлемый носитель, например, любой из описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления, комбинированная терапия в представленных способах, использовании, готовых изделиях или композициях может вводиться одновременно, одновременно или последовательно, в любом порядке с дополнительными агентами, терапией или лечением, где такое введение обеспечивает терапевтически эффективные уровни каждого из агентов у субъекта. В некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент может вводиться совместно с комбинированной терапией в представленных способах, использовании, готовых изделиях или композициях, например, как часть одной фармацевтической композиции или с использованием одного способа доставки. В некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент вводят одновременно с клеточной терапией, например дозой сконструированных Т-клеток, (например, CAR^+ Т-клеток), но в отдельных композициях. В некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент инкубируют со сконструированными клетками, например, CAR-экспрессирующими клетками до введения клеток.

В некоторых примерах, один или несколько дополнительных агентов вводят после

или до введения клеточной терапии, например дозы сконструированных Т-клеток (например, CAR^+ Т клеток), и разделяют определенным периодом времени. В некоторых примерах, период времени составляет 1 день, 2 дня, 3 дня, 4 дня, 5 дней, 6 дней, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 1 месяц, 2 месяца или 3 месяца. В некоторых примерах, один или несколько дополнительных агентов вводят множество раз. В некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент вводят до клеточной терапии, например дозы сконструированных Т-клеток (CAR^+ Т клеток) в представленных способах, применениях, готовых изделиях или композициях, например, за две недели, 12 дней, 10 дней, 8 дней, одну неделю, 6 дней, 5 дней, 4 дней, 3 дней, 2 дней или 1 день до введения. В некоторых вариантах осуществления, дополнительный агент вводят после клеточной терапии, например дозы сконструированных Т-клеток (например CAR^+ Т клеток) в представленных способах, применениях, готовых изделиях или композициях, например, через две недели, 12 дней, 10 дней, 8 дней, одну неделю, 6 дней, 5 дней, 4 дня, 3 дня, 2 дня или 1 день после введения.

Доза дополнительного агента может быть любым терапевтически эффективным количеством, например, любой дозой, описанной в настоящем документе, и соответствующая дозировка дополнительного агента может зависеть от типа заболевания, подлежащего лечению, типа, дозы и/или частоты введения связывающей молекулы, рекомбинантного рецептора, клеток и/или композиции, тяжести и течения заболевания, предшествующей терапии, истории болезни пациента и ответа на клеточную терапию, например, дозу сконструированных Т-клеток (CAR^+ Т-клеток) и мнения лечащего врача.

VI. ГОТОВЫЕ ИЗДЕЛИЯ И НАБОРЫ

Также представлены готовые изделия и наборы, содержащие сконструированные клетки, экспрессирующие рекомбинантный рецептор или их композиции и необязательно инструкции по применению, например, инструкции по введению, согласно представленным способам.

В некоторых вариантах осуществления, представлены готовые изделия и/или наборы, которые включают композицию, содержащую терапевтически эффективное количество любых сконструированных клеток, описанных в настоящем документе, и инструкции по введению, субъекту для лечения заболевания или состояния. В некоторых вариантах осуществления, инструкции могут определять некоторые или все элементы способов, представленных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления, инструкции определяют конкретные инструкции по введению клеток для клеточной терапии, например, дозы, время, выбор и/или идентификация субъектов для введения и условий для введения. В некоторых вариантах осуществления, готовые изделия и/или наборы дополнительно включают один или несколько дополнительных агентов для терапии, например, противолимфомной терапии и/или комбинированной терапии, такой, как любая, описанная в настоящем документе и, необязательно, дополнительно включает инструкции по введению дополнительного агента для терапии. В некоторых вариантах осуществления, готовые изделия и/или наборы дополнительно содержат агент для

противолимфомной терапии и необязательно дополнительно включает инструкции по введению противолимфомной терапии. В некоторых вариантах осуществления, инструкции могут быть включены в виде этикетки или вкладыша, сопровождающего композиции для введения.

В некоторых вариантах осуществления, в инструкциях определены критерии для выбора или идентификации субъектов для терапии. В некоторых вариантах осуществления, такие критерии включают субъектов, имеющих злокачественное образование из В-клеток, такое как В-крупноклеточная лимфома. В некоторых вариантах осуществления, такие критерии включают субъектов, имеющих диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL) или ее подтип, или NHL или ее подтип и/или высокий риск NHL. В некоторых вариантах осуществления, инструкции определяют, что субъекты, подлежащие лечению, включают субъектов, имеющих заболевание или состояние, охарактеризованное или определенное как агрессивная NHL, диффузная В-крупноклеточная лимфома (DLBCL), первичная В-крупноклеточная лимфома средостения (PMBCL), Т клеточная/насыщенная гистоцитами В-крупноклеточная лимфома (TCHRBCL), лимфома Буркитта (BL), мантийноклеточная лимфома (MCL) и/или фолликулярная лимфома (FL). В конкретных вариантах осуществления, субъект, подлежащий лечению, включает субъектов с агрессивной NHL, в частности, с диффузной В-крупноклеточной лимфомой (DLBCL), не определенной иным образом (NOS) и, в некоторых аспектах, включает de novo или трансформированную из вялотекущей. В некоторых аспектах, субъект или популяция, подлежащие лечению, могут включать и/или дополнительно включают субъектов с первичной В-клеточной лимфомой стредостения (PMBCL) или фолликулярной лимфомой степени 3В (FL3B). В некоторых аспектах, субъект имеет фолликулярную лимфому (FL).

В некоторых вариантах осуществления инструкции определяют, что субъекты, подлежащие лечению, включают субъектов, имеющих DLBCL, NOS, которая в некоторых случаях может быть охарактеризована как DLBCL, которая не является DLBCL с преобладающим экстранодальным расположением, DLBCL, которая не является крупноклеточной лимфомой терминально дифференцированных В клеток, или DLBCL, которая не является В-клеточным новообразованием с признаками между DLBCL и другими лимфоидными опухолями.

В некоторых вариантах осуществления, инструкции определяют, что субъекты, подлежащие лечению, включают субъектов, имеющих DLBCL, не определенную иным образом (DLBCL, NOS), которая, в некоторых случаях, может быть охарактеризована как DLBCL, которая не является Т клеточной/обогащенной гистоцитами В-крупноклеточной лимфомой (TCHRBCL), которая не является первичной DLBCL центральной нервной системы (ЦНС), которая не является первичной кожной DLBCL, ножного типа или положительно к вирусу Эпштейн-Барр DLBCL (например, EBV-положительной DLBCL пожилых) и, необязательно, DLBCL, которая не является DLBCL, ассоциированной с хроническим воспалением.

В некоторых вариантах осуществления, инструкции определяют, что субъекты,

подлежащие лечению, включают субъектов, имеющих DLBCL, NOS, которая, в некоторых случаях, может быть охарактеризована как В-клеточная лимфома высокой степени злокачественности, которая не является В-лимфобластным лейкозом/лимфомой (B-LBL), В-клеточная лимфома высокой степени злокачественности, которая не является лимфомой Буркитта, или В-клеточная лимфома высокой степени злокачественности, которая не является В-клеточной лимфомой высокой степени злокачественности с MYC и BCL2 и/или BCL6 перестройкой. В некоторых аспектах, DLBCL является DLBCL, NOS, которая, в некоторых случаях, может быть охарактеризована как В-клеточная лимфома высокой степени злокачественности, которая не является В-лимфобластным лейкозом/лимфомой (B-LBL), В-клеточная лимфома высокой степени злокачественности, которая не является лимфомой Буркитта, или В-клеточная лимфома высокой степени злокачественности, которая не является В-клеточной лимфомой высокой степени злокачественности с MYC и BCL2 и/или BCL6 перестройкой.

В некоторых вариантах осуществления, инструкции определяют, что субъекты, подлежащие лечению, включают субъектов, имеющих DLBCL, NOS, которая, в некоторых случаях, может быть охарактеризована как подобная В клеткам зародышевого центра (GCB) и активированная подобная В клеткам (ABC) на основе молекулярных и/или цитогенетических признаков изначальных клеток.

В некоторых вариантах осуществления, инструкции определяют, что субъекты, подлежащие лечению, включают субъектов, имеющих DLBCL. В некоторых аспектах, DLBCL является DLBCL, не определенная иным образом (NOS), которая, в некоторых случаях, может быть охарактеризована как de novo или трансформированная из вялотекущего заболевания. В некоторых вариантах осуществления, DLBCL является de novo или первичной DLBCL. В некоторых вариантах осуществления, заболевание или состояние, подлежащее лечению (такое как лимфома, такая как DLBCL), трансформирована из разных подтипов заболевания или состояния, например, трансформирована из вялотекущей лимфомы, такой фолликулярная лимфома (FL). В некоторых вариантах осуществления, такая другая вялотекущая лимфома может включать, например, В-клеточную лимфому маргинальной зоны (MZL) и хронический лимфоцитарный лейкоз/мелкоклеточную лимфоцитарную лимфому (CLL/SLL). В некоторых вариантах осуществления, заболеванием или состоянием, подлежащем лечению, является DLBCL, трансформированная из фолликулярной лимфомы (tFL); в некоторых аспектах, оно является DLBCL, трансформированной из другой вялотекущей лимфомы. В некоторых вариантах осуществления, заболеванием или состоянием, подлежащим лечению, является DLBCL, трансформированная из FL. В некоторых аспектах, заболеванием или состоянием, подлежащим лечению, является DLBCL, трансформированная из вялотекущей лимфомы, отличной от FL.

В некоторых вариантах осуществления, инструкции определяют, что субъекты, подлежащие лечению, включают субъектов, имеющих DLBCL, трансформированную из другой вялотекущей лимфомы, такую как DLBCL, трансформированная из лимфомы

маргинальной зоны (tMZL) или DLBCL, трансформированная из хронического лимфоцитарного лейкоза (tCLL; Рихтер). В некоторых случаях, заболеванием или состоянием, подлежащим лечению, является DLBCL tMZL или DLBCL tCLL. В некоторых вариантах осуществления, оно является заболеванием или состоянием, подлежащим лечению, трансформированным из вялотекущей лимфома, отличной от FL. В некоторых вариантах осуществления, оно является DLBCL или В-крупноклеточной лимфомой, такой как DLBCL или В-крупноклеточная лимфома, трансформированная из FL или другой вялотекущей лимфомы.

В некоторых вариантах осуществления, инструкции определяют, что субъекты, подлежащие лечению, включают субъектов, имеющих а В-клеточную лимфому высокой степени злокачественности с MYC и BCL2 и/или BCL6 перестройкой, необязательно с DLBCL гистологией. В некоторых вариантах осуществления, заболеванием или состоянием, подлежащим лечению, является DLBCL NOS (de novo или трансформированная из вялотекущей). В некоторых вариантах осуществления, заболеванием или состоянием является первичная В-клеточная лимфома стредостения (PMBCL) или фолликулярная лимфома степени 3В (FL3B). В некоторых вариантах осуществления, заболеванием или состоянием является фолликулярная лимфома (FL). В некоторых вариантах осуществления, она является DLBCL с вовлечением ЦНС.

В некоторых вариантах осуществления, инструкции определяют, что субъекты, подлежащие лечению, включают субъектов, которые имеют или идентифицированы как имеющие двойную/тройную лимфому или лимфома двойного/тройного молекулярного подтипа. В некоторых вариантах осуществления, лимфомой является двойная лимфома, охарактеризованная присутствием MYC (онкогена миелоцитоматоза), BCL2 (В-клеточной лимфомы 2) и/или BCL6 (В-клеточной лимфомы 6) перестройкой генов (например, транслокациями). В некоторых вариантах осуществления, перестройка генов влияет на MYC/8q24 локус в комбинации с другой перестройкой генов. Например, другая перестройка генов включает t(14;18)(q32;q21), включающую BCL2. В некоторых вариантах осуществления, перестройка генов влияет на MYC/8q24 локус в комбинации с BCL6/3q27. В некоторых вариантах осуществления, лимфомой является тройная лимфома, охарактеризованная присутствием MYC, BCL2 и BCL6 перестройкой генов; см., например, Aukema et al., (2011) Blood 117:2319-2331.

В некоторых вариантах осуществления, субъект или популяция подлежащие лечению, включают таких субъектов, которые имеют плохой показатель общего состояния. В некоторых аспектах, популяция, подлежащая лечению, включает, например, субъектов, имеющих Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status (ECOG) который равен 0-2. В других аспектах любого из вариантов осуществления, субъекты, подлежащие лечению, включают ECOG 0-1 или не включают ECOG2 субъектов. В некоторых вариантах осуществления, любого из вариантов осуществления, субъекты, подлежащие лечению, получили не успешные две или несколько предшествующих терапий. В некоторых вариантах осуществления, субъект не имеет DLBCL, трансформированную из лимфомы

маргинальной зоны (MZL) и хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL; Рихтер) и/или имеет DLBCL, охарактеризованную как de novo или трансформированную из вялотекущего заболевания. В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет мантийноклеточную лимфому (MCL). В некоторых из любых вариантов осуществления, субъект имеет фолликулярную лимфому (FL). В некоторых аспектах таких вариантов, субъект имеет ECOG 0-1 или не имеет или не подозревается или охарактеризован как имеющий DLBCL, трансформированную из MZL или CLL. В некоторых вариантах осуществления, инструкции определяют введение клеточной терапии для субъекта, который имеет или идентифицирован как имеющий двойную/тройную лимфому (или B-клеточную лимфому высокой степени злокачественности, с MYC и BCL2 и/или BCL6 перестройкой с DLBCL гистологией), идентифицирован как имеющий химиорефрактерную лимфому (*например*, химиорефрактерную DLBCL) и/или который не достиг полной ремиссии (CR) в ответ на предшествующую терапию.

В некоторых вариантах осуществления, инструкции определяют вводимую дозу клеток. Например, в некоторых вариантах осуществления, доза, указанная в инструкциях, включает всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например, CAR) клеток от точно или примерно 1×10^6 до точно или примерно 5×10^8, например, в диапазоне от точно или примерно 1×10^7 до точно или примерно 2×10^8 таких клеток, например, точно или примерно 1×10^7, 5×10^7, 1×10^8 или $1{,}5\times10^8$ всего таких клеток или интервал между любыми двумя вышеперечисленными значениями. В некоторых вариантах осуществления, пациенту вводят множество доз, и каждая доза или общая доза может быть в пределах любого из вышеуказанных значений.

В некоторых вариантах осуществления, изделие или набор содержит контейнер, необязательно флакон, содержащий множество CD4+ T-клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR), и контейнер, необязательно флакон, содержащий множество CD8+ T-клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR). В некоторых вариантах осуществления, изделие или набор содержит контейнер, необязательно флакон, содержащий множество CD4+ T-клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR), и дополнительно содержит, в том же контейнере, множество CD8+ T-клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR). В некоторых вариантах осуществления, криопротектор включен в клетки. В некоторых аспектах, контейнером является пакет. В некоторых аспектах, контейнером является флакон.

В некоторых вариантах осуществления, контейнер, такой как флакон, содержит более чем или более чем точно или примерно 10×10^6 T клеток или экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) T клеток, более чем или более чем точно или примерно 15×10^6 T клеток или экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) T клеток, более чем или более чем точно или примерно 25×10^6 T клеток или экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) T клеток. В некоторых аспектах, флакон содержит от точно или примерно 10 миллионов клеток на мл до точно или

примерно 70 миллионов клеток на мл, от точно или примерно 10 миллионов клеток на мл до точно или примерно 50 миллионов клеток на мл, от точно или примерно 10 миллионов клеток на мл до точно или примерно 25 миллионов клеток на мл, от точно или примерно 10 миллионов клеток на мл до точно или примерно 15 миллионов клеток на мл, 15 миллионов клеток на мл до точно или примерно 70 миллионов клеток на мл, от точно или примерно 15 миллионов клеток на мл до точно или примерно 50 миллионов клеток на мл, от точно или примерно 15 миллионов клеток на мл до точно или примерно 25 миллионов клеток на мл, от точно или примерно 25 миллионов клеток на мл до точно или примерно 70 миллионов клеток на мл, от точно или примерно 25 миллионов клеток на мл до точно или примерно 50 миллионов клеток на мл и от точно или примерно 50 миллионов клеток на мл до точно или примерно 70 миллионов клеток на мл. В некоторых аспектах, концентрация клеток в контейнере является жизнеспособными клетками в контейнере.

В некоторых вариантах осуществления, контейнер, такой как флакон, содержит более чем точно или примерно $0,5\times10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR^+)/CD3+ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл, более чем точно или примерно $1,0\times10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR^+)/CD3+ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл, более чем точно или примерно $1,5\times10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR^+)/CD3+ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл, более чем точно или примерно $2,0\times10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR^+)/CD3+ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл, более чем точно или примерно $2,5\times10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR^+)/CD3+ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл, более чем точно или примерно $2,6\times10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR^+)/CD3+ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл, более чем точно или примерно $2,7\times10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR^+)/CD3+ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл, более чем точно или примерно $2,8\times10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR^+)/CD3+ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл, более чем точно или примерно $2,9\times10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR^+)/CD3+ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл более чем точно или примерно $3,0\times10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR^+)/CD3+ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл, более чем точно или примерно $3,5\times10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR^+)/CD3+ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл, более чем точно или примерно $4,0\times10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR^+)/CD3+ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл, более чем точно или примерно $4,5\times10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR^+)/CD3+ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл или более чем точно или примерно 5×10^6 экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR^+)/CD3+ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл. В некоторых вариантах осуществления, CD3+ Т-клетками являются CD4+ Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления, CD3+ Т-клетками

являются CD8+ Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления, CD3+ Т-клетками являются CD4+ и CD8+ Т-клетки.

В некоторых вариантах осуществления, множество флаконов или множество клеток или стандартная доза клеток, предназначенных для введения, вместе, содержит дозу клеток, содержащую от или от примерно 1×10^5 до или до примерно 5×10^8 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) Т клеток или всего Т клеток, от 1×10^5 до или до примерно 1×10^8 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) Т клеток или всего Т клеток, от или от примерно 5×10^5 до или до примерно 1×10^7 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) Т клеток или всего Т клеток или от или от примерно 1×10^6 до или до примерно 1×10^7 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) Т клеток или всего Т клеток, все включительно. В некоторых вариантах осуществления, Т клетки являются CD3+ Т-клетками. В некоторых вариантах осуществления, CD3+ Т-клетками являются CD8+ Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления, CD3+ Т-клетками являются CD4+ и CD8+ Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления, множество флаконов или множество клеток или стандартная доза клеток, предназначенных для введения, включают одну или несколько стандартных доз экспрессирующих рекомбинантных рецепторов (например CAR) CD3+ CD4+ Т-клеток и одну или несколько стандартных доз экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) CD3+ CD8+ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления, количество клеток в каждой стандартной дозе является жизнеспособными клетками.

В некоторых аспектах, изделие содержит одну или несколько стандартных доз $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток или $CD4^+$рецептор$^+$ (например CAR+) клеток и $CD8^+$рецептор$^+$ (например CAR+) клеток, где стандартная доза содержит от точно или примерно 1×10^7 до точно или примерно 2×10^8 экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) Т клеток, от точно или примерно 5×10^7 до точно или примерно $1{,}5\times10^8$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) Т клеток, точно или примерно 5×10^7 экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) Т клеток, точно или примерно 1×10^8 экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) Т клеток или точно или примерно $1{,}5\times10^8$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) Т клеток, необязательно, где информация в изделии определяет введение одной или множества стандартных доз и/или объем, соответствующий такой одной или множеству стандартных доз. В некоторых случаях, изделие содержит одну или несколько стандартных доз $CD8^+$ Т-клеток, где доза содержит от точно или примерно 5×10^6 до точно или примерно 1×10^8 экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) $CD8^+$ Т-клеток, доза содержит от точно или примерно 1×10^7 до точно или примерно $0{,}75\times10^8$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) $CD8^+$ Т-клеток, доза содержит точно или примерно $2{,}5\times10^7$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) $CD8^+$ Т-клеток или доза содержит точно или примерно 5×10^7 экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) $CD8^+$ Т-клеток или доза содержит точно или примерно $0{,}75\times10^8$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) $CD8^+$ Т-клеток,

необязательно где информация в изделии определяет введение одной или множества стандартных доз и/или объем, соответствующий такой одной или множеству стандартных доз. В некоторых случаях, изделие содержит одну или несколько стандартных доз $CD4^+$ Т-клеток, где доза содержит от точно или примерно 5×10^6 до точно или примерно 1×10^8 экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) $CD4^+$ Т-клеток, доза содержит от точно или примерно 1×10^7 до точно или примерно $0,75\times10^8$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) $CD4^+$ Т-клеток, доза содержит точно или примерно $2,5\times10^7$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) $CD4^+$ Т-клеток или доза содержит точно или примерно 5×10^7 экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) $CD4^+$ Т-клеток или доза содержит точно или примерно $0,75\times10^8$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) $CD4^+$ Т-клеток, необязательно где информация в изделии определяет введение одной или множества стандартных доз и/или объем, соответствующий такой одной или множеству стандартных доз. В некоторых вариантах осуществления, клетки в изделии, вместе, содержит дозу клеток, содержащую не более точно или примерно 1×10^8 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) Т клеток или всего Т клеток или CD3+ Т-клеток, не более точно или примерно 1×10^7 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) Т клеток или всего Т клеток или CD3+ Т-клеток, не более точно или примерно $0,5\times10^7$ всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) Т клеток или всего Т клеток или CD3+ Т-клеток, не более точно или примерно 1×10^6 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) Т клеток или всего Т клеток или CD3+, не более точно или примерно $0,5\times10^6$ всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) Т клеток или всего Т клеток или CD3+ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления, количество клеток в каждой стандартной дозе является жизнеспособными клетками.

В некоторых вариантах осуществления каждый флакон или множество флаконов или множество клеток или стандартная доза клеток, определенная для введения, вместе содержат базовую дозу клеток или фиксированную дозу клеток, так что доза клеток не связана или не основана на площади поверхности тела или массе тела субъекта.

В некоторых вариантах осуществления стандартная доза клеток является или содержит количество клеток, таких как сконструированные Т-клетки, которые могут вводиться субъекту или пациенту одной дозой. В некоторых вариантах осуществления, поскольку стандартной дозой является часть количества клеток для введения в данной дозе.

В некоторых вариантах осуществления, каждый флакон или множество флаконов или множество клеток или стандартная доза клеток, определенная для введения, вместе, содержит дозу, которая включает менее чем примерно 5×10^8 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например, CAR) клеток, Т клеток или мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC), например, в диапазоне от точно или примерно 1×10^6 до точно или 5×10^8 таких клеток, например, точно или примерно 2×10^6, 5×10^6, 1×10^7, $2,5\times10^7$, 5×10^7, $7,5\times10^7$, 1×10^8, $1,5\times10^8$ или 5×10^8 всего таких клеток или интервал между любыми

двумя вышеперечисленными значениями.

В некоторых вариантах осуществления, каждый флакон или множество флаконов или множество клеток или стандартная доза клеток, определенная для введения, вместе, содержит а дозу генетически сконструированных клеток, содержащую от точно или примерно 1×10^5 до точно или примерно 5×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^5 до точно или примерно $2,5\times10^8$ всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^5 до точно или примерно 1×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^5 до точно или примерно 5×10^7 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^5 до точно или примерно $2,5\times10^7$ всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^5 до точно или примерно 1×10^7 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^5 до точно или примерно 5×10^6 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^5 до точно или примерно $2,5\times10^6$ всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^5 до точно или примерно 1×10^6 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^6 до точно или примерно 5×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^6 до точно или примерно $2,5\times10^8$ всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^6 до точно или примерно 1×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^6 до точно или примерно 5×10^7 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^6 до точно или примерно $2,5\times10^7$ всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^6 до точно или примерно 1×10^7 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^6 до точно или примерно 5×10^6 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^6 до точно или примерно $2,5\times10^6$ всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно $2,5\times10^6$ до точно или примерно 5×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно $2,5\times10^6$ до точно или примерно $2,5\times10^8$ всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно $2,5\times10^6$ до точно или примерно 1×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно $2,5\times10^6$ до точно или примерно 5×10^7 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно $2,5\times10^6$ до точно или примерно $2,5\times10^7$ всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно $2,5\times10^6$ до точно или примерно 1×10^7 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно $2,5\times10^6$ до точно или примерно 5×10^6 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 5×10^6 до точно или примерно 5×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 5×10^6 до точно или примерно $2,5\times10^8$ всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 5×10^6 до точно или примерно 1×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 5×10^6 до точно или примерно 5×10^7 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 5×10^6 до точно или примерно $2,5\times10^7$ всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 5×10^6 до точно или примерно 1×10^7 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^7 до точно или примерно 5×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^7 до точно или

примерно $2,5\times10^8$ всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^7 до точно или примерно 1×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^7 до точно или примерно 5×10^7 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^7 до точно или примерно $2,5\times10^7$ всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно $2,5\times10^7$ до точно или примерно 5×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно $2,5\times10^7$ до точно или примерно $2,5\times10^8$ всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно $2,5\times10^7$ до точно или примерно 1×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно $2,5\times10^7$ до точно или примерно 5×10^7 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 5×10^7 до точно или примерно 5×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 5×10^7 до точно или примерно $2,5\times10^8$ всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 5×10^7 до точно или примерно 1×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^8 до точно или примерно 5×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно 1×10^8 до точно или примерно $2,5\times10^8$ всего CAR-экспрессирующих Т клеток, от точно или примерно или $2,5\times10^8$ до точно или примерно 5×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток.

В некоторых вариантах осуществления, каждый флакон или множество флаконов или множество клеток или стандартная доза клеток, определенная для введения, вместе, содержит дозу генетически сконструированные клетки, содержащие, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 1×10^5 CAR-экспрессирующих клеток, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно $2,5\times10^5$ CAR-экспрессирующих клеток, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 5×10^5 CAR-экспрессирующих клеток, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 1×10^6 CAR-экспрессирующих клеток, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно $2,5\times10^6$ CAR-экспрессирующих клеток, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 5×10^6 CAR-экспрессирующих клеток, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 1×10^7 CAR-экспрессирующих клеток, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно $2,5\times10^7$ CAR-экспрессирующих клеток, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 5×10^7 CAR-экспрессирующих клеток, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 1×10^8 CAR-экспрессирующих клеток, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно $2,5\times10^8$ CAR-экспрессирующих клеток или, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 5×10^8 CAR-экспрессирующих клеток. В некоторых вариантах осуществления, количеством клеток является количество таких клеток, которые являются жизнеспособными клетками.

В некоторых вариантах осуществления, инструкции по введению дозы сконструированных клеток определяют введение количества клеток от или от примерно 1×10^5 до или до примерно 5×10^8 всего клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор, всего Т клеток или всего мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC), от или от примерно 5×10^5 до или до примерно 1×10^7 всего клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор, всего Т клеток или всего мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC) или от или от примерно 1×10^6 до или до примерно 1×10^7

всего клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор, всего Т клеток или всего мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC), все включительно. В некоторых вариантах осуществления, клеточная терапия включает введение дозы клеток, содержащей количество клеток по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 1×10^5 всего клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор, всего Т клеток или всего мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC), например, по меньшей мере, или, по меньшей мере, 1×10^6, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 1×10^7, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 1×10^8 таких клеток. В некоторых вариантах осуществления, количество дано со ссылкой на общее количество $CD3^+$ или $CD8^+$ или $CD4^+$ и $CD8^+$, в некоторых случаях также экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR^+) клеток. В некоторых вариантах осуществления, инструкции для введения дозы определяют введение количества клеток от или от примерно 1×10^5 до или до примерно 5×10^8 $CD3^+$ или $CD8^+$ или $CD4^+$ и $CD8^+$ всего Т клеток или $CD3^+$ или $CD8^+$ или $CD4^+$ и $CD8^+$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например, CAR) клеток, от или от примерно 5×10^5 до или до примерно 1×10^7 $CD3^+$ или $CD8^+$ или $CD4^+$ и $CD8^+$ всего Т клеток или $CD3^+$ или $CD8^+$ или $CD4^+$ и $CD8^+$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) клеток или от или от примерно 1×10^6 до или до примерно 1×10^7 $CD3^+$ или $CD8^+$ или $CD4^+$ и $CD8^+$ всего Т клеток или $CD3^+$ или $CD8^+$ или $CD4^+$ и $CD8^+$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR) клеток, все включительно. В некоторых вариантах осуществления, инструкции по введению дозы определяют введение количества клеток от или от примерно 1×10^5 до или до примерно 5×10^8 всего $CD3^+/CAR^+$ или $CD8^+/CAR^+$ или $CD4^+/CD8^+/CAR^+$ клеток, от или от примерно 5×10^5 до или до примерно 1×10^7 всего $CD3^+/CAR^+$ или $CD8^+/CAR^+$ или $CD4^+/CD8^+/CAR^+$ клеток или от или от примерно 1×10^6 до или до примерно 1×10^7 всего $CD3^+/CAR^+$ или $CD8^+/CAR^+$ или $CD4^+/CD8^+/CAR^+$ клеток, все включительно. В некоторых вариантах осуществления, количеством клеток является количество таких клеток, которые являются жизнеспособными клетками.

В некоторых вариантах осуществления, инструкции по введению дозы определяют введение количества клеток, содержащих, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно $2,5\times10^7$ $CD3^+/CAR^+$ или $CD8^+/CAR^+$ или $CD4^+/CD8^+/CAR^+$ Т клеток, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 5×10^7 $CD3^+/CAR^+$ или $CD8^+/CAR^+$ или $CD4^+/CD8^+/CAR^+$ Т клеток или, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 1×10^8 $CD3^+/CAR^+$ или $CD8^+/CAR^+$ или $CD4^+/CD8^+/CAR^+$ Т клеток. В некоторых вариантах осуществления, инструкции по введению дозы определяют введение количества клеток, содержащих точно или примерно $2,5\times10^7$ $CD3^+/CAR^+$ или $CD8^+/CAR^+$ или $CD4^+/CD8^+/CAR^+$ Т клеток, точно или примерно 5×10^7 $CD3^+/CAR^+$ или $CD8^+/CAR^+$ или $CD4^+/CD8^+/CAR^+$ Т клеток или точно или примерно 1×10^8 $CD3^+/CAR^+$ или $CD8^+/CAR^+$ или $CD4^+/CD8^+/CAR^+$ Т клеток. В некоторых вариантах осуществления, количеством клеток является количество таких клеток, которые являются жизнеспособными клетками.

В некоторых вариантах осуществления, инструкции по введению дозы определяют

введение количества клеток, которое составляет или составляет примерно 5×10^7 CD3+ CAR+ жизнеспособных клеток, которое включает отдельную дозу точно или примерно $2,5\times10^7$ CD4+ CAR+ жизнеспособных клеток до точно или примерно $2,5\times10^7$ CD8+ CAR+ жизнеспособных клеток. В некоторых вариантах осуществления, инструкции по введению дозы определяют введение количества клеток, которое составляет или составляет примерно 1×10^8 CD3+ CAR+ жизнеспособных клеток, которое включает отдельную дозу точно или примерно 5×10^7 CD4+ CAR+ жизнеспособных клеток до точно или примерно 5 $x10^7$ CD8+ CAR+ жизнеспособных клеток. В некоторых вариантах осуществления, инструкции по введению дозы определяют введение количества клеток, которое составляет или составляет примерно $1,5\times10^8$ CD3+CAR+ жизнеспособных клеток, которое включает отдельную дозу точно или примерно $0,75\times10^8$ CD4+CAR+ жизнеспособных клеток до точно или примерно 0,75 $x10^8$ CD8+CAR+ жизнеспособных клеток.

В некоторых вариантах осуществления, в инструкции могут быть указаны схема дозирования и время введения. Например, в некоторых вариантах осуществления, инструкции могут определять введение субъекту нескольких доз, например, двух или более доз, клеток. В некоторых вариантах осуществления, инструкции определяют время введения множества доз, например, второй дозы, вводимой приблизительно через 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21 день после первой дозы; и/или количество доз в каждой дозе.

В некоторых вариантах осуществления изделие или набор содержат множество CD4+ Т-клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор, и инструкции по введению субъекту, имеющему заболевание или состояние, всего или части множества CD4+ Т-клеток и дополнительное введение CD8+ Т-клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор. В некоторых вариантах осуществления инструкции определяют введение CD4+ Т-клеток до введения CD8+ Т-клеток. В некоторых случаях, инструкции определяют введение CD8+ Т-клеток до введения CD4+ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления изделие или набор содержат множество CD8+ Т-клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор, и инструкции по введению субъекту, имеющему заболевание или состояние, всего или части множества CD8+ Т-клеток и CD4+ Т-клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор. В некоторых вариантах осуществления инструкции определяют схему дозирования и время введения клеток.

В некоторых аспектах инструкции определяют введение всех или части $CD4^+$ Т-клеток и всех или части $CD8^+$ Т-клеток с интервалом 48 часов, например с интервалом не более 36 часов, не более 24 часов, не более 12 часов, например с интервалом 0-12 часов, 0-6 часов или 0 -2 часа. В некоторых случаях, инструкции определяют введение $CD4^+$ Т-клеток и $CD8^+$ Т-клеток в интервалом не более 2 часов, не более 1 часа, не более 30 минут, не более 15 минут, не более 10 минут или не более 5 минут.

В некоторых вариантах осуществления, инструкции определяют дозу или количество клеток или клеточных типов и/или отношение клеточных типов, например, отдельных популяций или подтипов, такое как $CD4^+$ к $CD8^+$ отношение. В некоторых

вариантах осуществления, популяции или подтипы клеток, например, $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток. Например, в некоторых вариантах осуществления, инструкции определяют, что клетки вводят при или в пределах допустимого диапазона выходящего отношения множества клеточных популяций или подтипов, таких как $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клетки или подтипы, от точно или примерно 5:1 до точно или примерно 5:1 (или более чем примерно 1:5 and меньше чем примерно 5:1) или от точно или примерно 1:3 до точно или примерно 3:1 (или более чем примерно 1:3 и меньше чем примерно 3:1), например, от точно или примерно 2:1 до точно или примерно 1:5 (или более чем примерно 1:5 и меньше чем примерно 2:1, например, точно или примерно 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 или 1:5. В некоторых аспектах, допустимая разница составляет в пределах примерно 1%, примерно 2%, примерно 3%, примерно 4% примерно 5%, примерно 10%, примерно 15%, примерно 20%, примерно 25%, примерно 30%, примерно 35%, примерно 40%, примерно 45%, примерно 50% от желаемого отношения, включая любое значение в пределах этих диапазонов.

В некоторых вариантах осуществления готовые изделия и/или наборы дополнительно включают один или несколько дополнительных агентов для терапии, например, противолимфомной терапии и/или комбинированной терапии, как указано в настоящем документе, и необязательно инструкции по введению дополнительных агентов. В некоторых примерах, готовые изделия могут дополнительно содержать один или несколько терапевтических агентов. В некоторых вариантах осуществления, терапевтическим агентом является иммуномодулирующий агент, цитотоксический агент, противораковый агент или радиотерапевтический агент.

В некоторых вариантах осуществления, готовые изделия и/или наборы дополнительно включают одно или несколько агентов или способов лечения для лечения, профилактики, отсрочки, снижения или ослабления развития или риска развития токсичности, и/или инструкции по введению одного или более агентов или способов лечения для лечения, профилактики, отсрочки, уменьшения или ослабления развития или риска развития токсичности у субъекта. В некоторых вариантах осуществления, агент является или содержит антитело против IL-6 или антитело против рецептора IL-6. Например, в некоторых вариантах осуществления, агентом или лечением является или содержит агент, выбранный из тоцилизумаба, силтуксимаба, клазакизумаба, сарилумаба, олокизумаба (CDP6038), элсилимомаба, ALD518/BMS-945429, сирукумаба (CNTO 136), CPSI-2634, ARGX-109, FE301 и FM101. Например, в некоторых вариантах осуществления, агентом или лечение является или содержит один или несколько из стероида; антагониста или ингибитора цитокинового рецептора или цитокина, выбранного из IL-10, IL-10R, IL-6, IL-6 рецептора, IFNγ, IFNGR, IL-2, IL-2R/CD25, MCP-1, CCR2, CCR4, MIP1β, CCR5, TNFальфа, TNFR1, IL-1 и IL-1Rальфа/IL-1бета; или агента, способного предотвращать, блокировать или снижать активность микроглиальной клетки или функции.

В некоторых вариантах осуществления агент, способный предотвращать,

блокировать или снижать активность микроглиальной клетки или функции, выбран из противовоспалительного агента, ингибитора NADPH оксидазы (NOX2), блокатора кальциевого канала, блокатора натриевого канала, ингибирует GM-CSF, ингибирует CSF1R, специфически связывает CSF-1, специфически связывает IL-34, ингибирует активацию ядерного фактора каппа B (NF-κB), активирует CB_2 рецептор и/или является CB_2 агонистом, ингибитора фосфодиэстеразы, ингибирует микроРНК-155 (miR-155) или активирует микроРНК-124 (miR-124). В некоторых случаях, агент выбран из миноциклина, налоксона, нимодипина, Рилузола, MOR103, леналидомида, каннабиноида (необязательно, WIN55 или 212-2), внутривенного иммуноглобулина (IVIg), ибудиласта, анти-miR-155 закрытой нуклеиновой кислоты (LNA), MCS110, PLX-3397, PLX647, PLX108-D1, PLX7486, JNJ-40346527, JNJ28312141, ARRY-382, AC-708, DCC-3014, 5-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)пирмидин-2,4-диамина (GW2580), AZD6495, Ki20227, BLZ945, эмактузумаба, IMC-CS4, FPA008, LY-3022855, AMG-820 и TG-3003. В некоторых вариантах осуществления, агентом является ингибитор рецептора колониестимулирубщего фактора 1 (CSF1R). Например, агентом является PLX-3397, PLX647, PLX108-D1, PLX7486, JNJ-40346527, JNJ28312141, ARRY-382, AC-708, DCC-3014, 5-(3-метокси-4-((4-метоксибензил)окси)бензил)пирмидин-2,4-диамин (GW2580), AZD6495, Ki20227, BLZ945 или его фармацевтическая соль или пролекарство; эмактузумаб, IMC-CS4, FPA008, LY-3022855, AMG-820 и TG-3003 или является его антигенсвязывающий фрагмент или комбинация любых из вышеперечисленных.

В некоторых вариантах осуществления готовые изделия и/или наборы дополнительно включают один или несколько реагентов для анализа биологических образцов, например, биологических образцов от субъектов, которые являются кандидатами на введение или которым назначена терапия, и необязательно инструкции по применению реагентов или анализу. В некоторых вариантах осуществления, биологический образец получают из образца крови, плазмы или сыворотки. В некоторых вариантах осуществления, реагенты могут использоваться до введения клеточной терапии или после введения клеточной терапии, для диагностических целей, для идентификации субъектов и/или оценки результатов лечения и/или токсичностей. Например, в некоторых вариантах осуществления, изделие и/или наборы дополнительно содержат реагенты для измерения уровня конкретных биомаркеров, например цитокинов или анализируемых веществ, которые ассоциированы с токсичностью, и инструкции по измерению. В некоторых вариантах осуществления, реагенты включают компоненты для выполнения анализа *in vitro* для измерения биомаркеров (например, анализируемых веществ), таких как иммуноанализ, анализ на основе аптамера, гистологический или цитологический анализ или анализ уровня экспрессии иРНК. В некоторых вариантах осуществления, *in vitro* анализ выбран из твердофазного иммуносорбентного анализа (ELISA), иммуноблоттинга, иммунопреципитации, радиоиммуноанализа (RIA), иммуноокрашивания, анализа проточной цитометрией, поверхностного плазмонного резонанса (SPR), анализа хемилюминесценции, иммуноанализа латерального потока, анализа ингибирования и

анализа авидности. В некоторых аспектах, реагент является связывающим реагентом, который специфически связывает биомаркеры (например, анализируемые вещества). В некоторых случаях, связывающим реагентом является антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, аптамер или зонд на основе нуклеиновой кислоты.

В некоторых вариантах осуществления, готовые изделия и/или наборы содержат один или несколько реагентов, способных определять одно или несколько анализируемых веществ и инструкции по применению реагента для анализа биологического образца от субъекта, который является кандидатом для лечения, где одно или несколько анализируемых веществ выбрано из LDH, ферритина, CRP, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-15, IL-16, TNF-альфа, IFN-гамма, MCP-1, MIP-1бета, эотаксина, G-CSF, IL-1Rальфа, IL-1Rбета, IP-10, перфорина и D-димера (продукта разложения фибрина). В некоторых вариантах осуществления, одно или несколько анализируемых веществ включает LDH, ферритин и/или CRP. В некоторых вариантах осуществления, инструкции по анализу присутствия или отсутствия, уровня, количества или концентрации анализируемого вещества у субъекта по сравнению с пороговым уровнем анализируемого вещества также включены. В некоторых вариантах осуществления, инструкции определяют способы проведения оценки или отслеживания таких анализируемых веществ, например, LDH, ферритина и/или CRP, согласно любому из представленных способов.

В некоторых вариантах осуществления, включенные инструкции определяют, что если уровень, количество или концентрация анализируемого вещества в образце равна или выше порогового уровня для анализируемого вещества, субъекту вводят агент или другое лечение, способное лечить, предотвращать, замедлять, снижать или ослаблять развитие или риск развития токсичности (i) до, (ii) в течение одного, двух или трех дней от, (iii) одновременно с и/или (iv) при первой лихорадке после, начала введения клеточной терапии субъекту. В некоторых случаях, инструкции определяют, что если уровень, количество или концентрация анализируемого вещества в образце равен или выше порогового уровня для анализируемого вещества, клеточную терапию вводят субъекту в пониженной дозе или в дозе, которая не ассоциирована с риском развития токсичности или тяжелой токсичности или в пониженной дозе или не ассоциирована с риском развития токсичности или тяжелой токсичности у большинства субъектов, и/или у большинства субъектов, имеющих заболевание или состояние которое субъект имеет или подозревается в наличии, после введения клеточной терапии. В некоторых случаях, инструкции определяют, что если уровень, количество или концентрация анализируемого вещества в образце равна или выше порогового уровня для анализируемого вещества, клеточную терапию вводят амбулаторно и/или во время госпитализации в течение одного или нескольких дней, необязательно где клеточная терапия в противном случае должна вводиться субъектам амбулаторно или без госпитализации в течение одного или нескольких дней.

В некоторых вариантах осуществления, инструкции по введению клеточной терапии определяют, что если уровень, количество или концентрация анализируемого вещества в образце ниже порогового уровня, введение субъекту клеточной терапии, необязательно в

не пониженной дозе, необязательно, амбулаторно или без госпитализации в течение одного или нескольких дней. В некоторых вариантах осуществления, инструкции по введению клеточной терапии определяют, что если уровень, количество или концентрация анализируемого вещества в образце ниже порогового уровня, до или одновременно с введением клеточной терапии и/или до развития признаков или симптомов токсичности, отличных от лихорадки, агент или лечение, способное лечить, предотвращать, задерживать или облегчать развитие токсичности, не вводят субъекту. В некоторых аспектах, инструкции по введению клеточной терапии определяют, что если уровень, количество или концентрация анализируемого вещества в образце ниже порогового уровня, введение клеточной терапии нужно и можно вводить субъекту в амбулаторном режиме и/или без госпитализации субъекта на ночи или в течение одного или нескольких последовательных дней и/или без госпитализации субъекта в течение одного или нескольких дней.

Готовые изделия и/или наборы могут дополнительно включать клеточную терапию и/или дополнительно включать инструкции по применению до и/или в связи с лечением клеточной терапией. В некоторых вариантах осуществления, включены инструкции для введения агента и инструкции, определяющие, что если уровень, количество или средство анализируемого вещества в образце равно или выше порогового уровня, субъекту вводят агент. В некоторых аспектах, инструкции дополнительно определяют введение клеточной терапии субъекту, где введение агента осуществляют (i) до, (ii) в течение одного, двух или трех дней от, (iii) одновременно с и/или (iv) при первой лихорадке после начала введения клеточной терапии субъекту.

Готовые изделия и/или наборы могут включать контейнер и этикетку или вкладыш на или связанные с контейнером. Подходящие контейнеры включают, например, бутылки, флаконы, шприцы, пакеты с раствором для ВВ и т. д. Контейнеры могут быть изготовлены из различных материалов, таких как стекло или пластик. Контейнер в некоторых вариантах осуществления содержит композицию, которая сама по себе или в сочетании с другими композициями, эффективным для лечения, профилактики и/или диагностики состояния. В некоторых вариантах осуществления, контейнер имеет стерильный порт доступа. Типовые контейнеры включают пакеты с раствором для внутривенного введения, флаконы, в том числе с пробками, прокалываемыми иглой для инъекций, или бутылки или флаконы для перорально вводимых агентов. Этикетка или вкладыш в упаковку может указывать на то, что композиция используется для лечения заболевания или состояния. Изделие может включать (a) первый контейнер с композицией, описанной в настоящем документе, где композиция включает сконструированные клетки, экспрессирующие рекомбинантный рецептор; и (b) второй контейнер с композицией, описанной в настоящем документе, где композиция включает второй агент. В некоторых вариантах осуществления, изделие может включать (a) первый контейнер с первой композицией, содержащейся в настоящем документе, где композиция включает подтип сконструированных клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор; и (b) второй контейнер с композицией, содержащийся в настоящем документе, где композиция включает другой подтип

сконструированных клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор. Изделие может дополнительно включать в себя вкладыш, указывающий, что композиция может быть использована для лечения конкретного состояния. Альтернативно или дополнительно, изделие может дополнительно включать другой или такой же контейнер, содержащий фармацевтически приемлемый буфер. Она может дополнительно включать другие материалы, такие как другие буферы, разбавители, фильтры, иглы и/или шприцы.

VII. ТИПОВЫЕ ВАРИАНТЫ

Представленные варианты осуществления включают:

1. Способ оценки риска развития токсичности после введения клеточной терапии, где способ включает:

(a) оценку одного или нескольких параметров у субъекта, где один или несколько параметров выбраны из уровня, количества или концентрации LDH, ферритина или С-реактивного белка (CRP) в биологическом образце от субъекта или является суммой произведений измерений (SPD) опухоли у субъекта;

где субъект является кандидатом для лечения клеточной терапией, где указанная клеточная терапия содержит дозу генетически сконструированных клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор; и

где оценку проводят до введения клеточной терапии и/или указанный биологический образец или опухоль не содержит рекомбинантный рецептор и/или указанные сконструированные клетки; и

(b) идентификацию того, имеет ли субъект риск токсичности, где субъект имеет риск токсичности, если один или несколько параметров превышают пороговый уровень, и субъект не имеет риск токсичности, если один или несколько параметров равен или ниже порогового уровня, где:

(i) параметром является сумма произведений измерений (SPD), и пороговый уровень составляет выше точно или примерно 30 $см^2$, 40 $см^2$, 50 $см^2$, 60 $см^2$ или 70 $см^2$;

(ii) параметром является LDH, и пороговый уровень составляет выше точно или примерно 300 единиц на литр, 400 единиц на литр, 500 единиц на литр или 600 единиц на литр;

(iii) параметром является ферритин, и пороговый уровень составляет выше точно или примерно 1000 нанограммов на миллилитр, 2000 нанограммов на миллилитр, 3000 нанограммов на миллилитр, 4000 нанограммов на миллилитр, 5000 нанограммов на миллилитр, 6000 нанограммов на миллилитр, 7000 нанограммов на миллилитр или 8000 нанограммов на миллилитр; и/или

(iv) параметром является CRP, и пороговый уровень составляет выше точно или примерно 5 миллиграммов на литр, 10 миллиграммов на литр, 15 миллиграммов на литр, 20 миллиграммов на литр, 25 миллиграммов на литр, 30 миллиграммов на литр, 40 миллиграммов на литр или 50 миллиграммов на литр.

2. Способ идентификации субъекта, где способ содержит:

(a) оценку одного или нескольких параметров у субъекта, где один или несколько

параметров выбраны из уровня, количества или концентрации LDH, ферритина или С-реактивного белка (CRP) в биологическом образце от субъекта или является суммой произведений измерений (SPD) опухоли у субъекта;

где субъект является кандидатом для лечения клеточной терапией, где указанная клеточная терапия содержит дозу генетически сконструированных клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор; и

где оценку проводят до введения клеточной терапии и/или указанный биологический образец или опухоль не содержит рекомбинантный рецептор и/или указанные сконструированные клетки; и

(b) идентификации субъекта, который имеет риск развития токсичности после введения клеточной терапии, где субъект имеет риск токсичности, если один или несколько параметров превышают пороговый уровень и субъект не имеет риск токсичности, если один или несколько параметров равен или ниже порогового уровня, где:

(i) параметром является сумма произведений измерений (SPD), и пороговый уровень составляет выше точно или примерно 30 $см^2$, 40 $см^2$, 50 $см^2$, 60 $см^2$ или 70 $см^2$;

(ii) параметром является LDH, и пороговый уровень составляет выше точно или примерно 300 единиц на литр, 400 единиц на литр, 500 единиц на литр или 600 единиц на литр;

(iii) параметром является ферритин, и пороговый уровень составляет выше точно или примерно 1000 нанограммов на миллилитр, 2000 нанограммов на миллилитр, 3000 нанограммов на миллилитр, 4000 нанограммов на миллилитр, 5000 нанограммов на миллилитр, 6000 нанограммов на миллилитр, 7000 нанограммов на миллилитр или 8000 нанограммов на миллилитр; и/или

(iv) параметром является CRP, и пороговый уровень составляет выше точно или примерно 5 миллиграммов на литр, 10 миллиграммов на литр, 15 миллиграммов на литр, 20 миллиграммов на литр, 25 миллиграммов на литр, 30 миллиграммов на литр, 40 миллиграммов на литр или 50 миллиграммов на литр.

3. Способ лечения, включающий:

(a) оценку одного или нескольких параметров у субъекта, где один или несколько параметров выбраны из уровня, количества или концентрации LDH, ферритина или С-реактивного белка (CRP) в биологическом образце от субъекта или является суммой произведений измерений (SPD) опухоли у субъекта;

где субъект является кандидатом для лечения клеточной терапией, указанная клеточная терапия содержит дозу генетически сконструированных клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор; и

где оценку проводят до введения клеточной терапии и/или указанный биологический образец или опухоль не содержит рекомбинантный рецептор и/или указанные сконструированные клетки; и

(b) идентификацию того, имеет ли субъект риск токсичности, где субъект имеет риск токсичности, если один или несколько параметров превышают пороговый уровень, и

субъект не имеет риск токсичности, если один или несколько параметров равен или ниже порогового уровня, где:

(i) параметром является сумма произведений измерений (SPD), и пороговый уровень составляет выше точно или примерно 30 $см^2$, 40 $см^2$, 50 $см^2$, 60 $см^2$ или 70 $см^2$;

(ii) параметром является LDH, и пороговый уровень составляет выше точно или примерно 300 единиц на литр, 400 единиц на литр, 500 единиц на литр или 600 единиц на литр;

(iii) параметром является ферритин, и пороговый уровень составляет выше точно или примерно 1000 нанограммов на миллилитр, 2000 нанограммов на миллилитр, 3000 нанограммов на миллилитр, 4000 нанограммов на миллилитр, 5000 нанограммов на миллилитр, 6000 нанограммов на миллилитр, 7000 нанограммов на миллилитр или 8000 нанограммов на миллилитр; и/или

(iv) параметром является CRP, и пороговый уровень составляет выше точно или примерно 5 миллиграммов на литр, 10 миллиграммов на литр, 15 миллиграммов на литр, 20 миллиграммов на литр, 25 миллиграммов на литр, 30 миллиграммов на литр, 40 миллиграммов на литр или 50 миллиграммов на литр; и

(c) после или на основе результатов оценки, введение субъекту клеточной терапии, и, необязательно, агент или другое лечение, способное лечить, предотвращать, замедлять, снижать или ослаблять развитие или риск развития токсичности.

4. Способ по любому из вариантов осуществления 1-3, где параметром является SPD, и пороговый уровень составляет 50 $см^2$.

5. Способ по любому из вариантов осуществления 1-3, где параметром является LDH, и пороговый уровень составляет 500 единиц на литр.

6. Способ по любому из вариантов осуществления 1-5, где одним или несколькими параметрами являются SPD и LDH и пороговым уровнем для SPD является 50 $см^2$ и пороговым уровнем для LDH является 500 единиц на литр.

7. Способ по любому из вариантов осуществления 1-3, где параметром является ферритин, и пороговый уровень составляет 5000 нанограммов на миллилитр.

8. Способ по любому из вариантов осуществления 1-3, где параметром является CRP, и пороговый уровень составляет 10 миллиграммов на литр.

9. Способ по любому из вариантов осуществления 1-3, 7 и 8, где одним или несколькими параметрами являются ферритин и CRP и пороговым уровнем для ферритин является 5000 нанограммов на миллилитр и пороговым уровнем для CRP является 10 миллиграммов на литр.

10. Способ по любому из вариантов осуществления 1-9, где биологическим образцом является образец крови или плазмы.

11. Способ по любому из вариантов осуществления 1-10, где SPD измеряют на основе КТ и/или МРТ визуализации или другой визуализации тела.

12. Способ по любому из вариантов осуществления 1-11, где уровень, количество или концентрацию одного или нескольких анализируемых веществ и/или SPD измеряют до

лечения, до афереза или до производства клеточного продукта.

13. Способ оценки риска развития токсичности после введения клеточной терапии, где способ включает:

(a) оценку пиковой концентрации генетически сконструированных клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор в биологическом образце от субъекта, которому ранее вводили клеточную терапию, содержащую генетически сконструированные клетки; и

(b) идентификацию того, имеет ли субъект риск токсичности, где субъект имеет риск токсичности, если один или несколько параметров превышают пороговый уровень, и субъект не имеет риск токсичности, если пиковая концентрация генетически сконструированные клетки равна или ниже порогового уровня, где: пороговый уровень составляет выше точно или примерно 300 клеток на микролитр, 400 клеток на микролитр, 500 клеток на микролитр, 600 клеток на микролитр, 700 клеток на микролитр, 800 клеток на микролитр, 900 клеток на микролитр или 1000 клеток на микролитр.

14. Способ идентификации субъекта, где способ включает:

(a) оценку пиковой концентрации генетически сконструированных клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор в биологическом образце от субъекта, которому ранее вводили клеточную терапию, содержащую генетически сконструированные клетки; и

(b) идентификацию субъекта, который имеет риск развития токсичности после введения клеточной терапии, где субъект имеет риск токсичности, если один или несколько параметров превышают пороговый уровень, и субъект не имеет риск токсичности, если пиковая концентрация генетически сконструированных клеток равна или ниже порогового уровня, где: пороговый уровень составляет выше точно или примерно 300 клеток на микролитр, 400 клеток на микролитр, 500 клеток на микролитр, 600 клеток на микролитр, 700 клеток на микролитр, 800 клеток на микролитр, 900 клеток на микролитр или 1000 клеток на микролитр.

15. Способ лечения, включающий:

(a) оценку пиковой концентрации генетически сконструированных клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор в биологическом образце от субъекта, которому ранее вводили клеточную терапию, содержащую генетически сконструированные клетки; и

(b) идентификацию того, имеет ли субъект риск токсичности, где субъект имеет риск токсичности, если один или несколько параметров превышают пороговый уровень, и субъект не имеет риск токсичности, если пиковая концентрация генетически сконструированные клетки равна или ниже порогового уровня, где: пороговый уровень составляет выше точно или примерно 300 клеток на микролитр, 400 клеток на микролитр, 500 клеток на микролитр, 600 клеток на микролитр, 700 клеток на микролитр, 800 клеток на микролитр, 900 клеток на микролитр или 1000 клеток на микролитр; и

(c) после или на основе результатов оценки, введение субъекту клеточной терапии,

и, необязательно, агента или другого лечения, способного лечить, предотвращать, замедлять, снижать или ослаблять развитие или риск развития токсичности.

16. Способ по любому из вариантов осуществления 13-15, где пороговый уровень составляет 500 клеток на микролитр.

17. Способ по любому из вариантов осуществления 1-16, дополнительно включающий отслеживание у субъекта симптомов токсичности, если субъекту вводят клеточную терапию и он идентифицирован как имеющий риск развития токсичности.

18. Способ по любому из вариантов осуществления 1-17, где токсичностью является нейротоксичность или CRS.

19. Способ по любому из вариантов осуществления 1-18, где токсичностью является степень 1 или выше нейротоксичность или CRS.

20. Способ по любому из вариантов осуществления 1-19, где токсичностью является тяжелая нейротоксичность или является степень 2 или выше нейротоксичности, степень 3 или выше нейротоксичности или степень 4 или выше нейротоксичности.

21. Способ по любому из вариантов осуществления 1-20, где токсичностью является степень 1 или выше нейротоксичности.

22. Способ по любому из вариантов осуществления 1-20, где токсичностью является тяжелая нейротоксичность или степень 3 или выше нейротоксичности.

23. Способ по любому из вариантов осуществления 1-19, где токсичностью является тяжелая CRS или является степень 2 или выше CRS, степень 3 или выше CRS или степень 4 или выше CRS.

24. Способ по любому из вариантов осуществления 1-19 и 23, где токсичностью является степень 1 или выше CRS.

25. Способ по любому из вариантов осуществления 1-19 и 23, где токсичностью является тяжелая CRS или степень 3 или выше CRS.

26. Способ по любому из вариантов осуществления 1-25, где если субъект идентифицирован как имеющий риск развития токсичности, субъекту вводят:

(a) (1) агент или другое лечение, способное лечить, предотвращать, замедлять, снижать или ослаблять развитие или риск развития токсичности и (2) клеточную терапию, где ведение агента должно быть осуществлено (i) до, (ii) в течение одного, двух или трех дней от, (iii) одновременно с и/или (iv) при первой лихорадке после, начала введения клеточной терапии субъекту; и/или

(b) клеточную терапию в пониженной дозе или в дозе, которая не ассоциирована с риском развития токсичности или тяжелой токсичности или в пониженной дозе или не ассоциирована с риском развития токсичности или тяжелой токсичности у большинства субъектов, и/или у большинства субъектов, имеющих заболевание или состояние которое субъект имеет или подозревается в наличии, после введения клеточной терапии; и/или

(c) субъекту вводят клеточную терапию амбулаторно и/или во время госпитализации в течение одного или нескольких дней, необязательно, где клеточная терапия в противном случае должна вводиться субъектам амбулаторно или без госпитализации в течение одного

или нескольких дней.

27. Способ по варианту осуществления 26, где агентом или другим лечением является антитело против IL-6 или анти-IL-6 антитело к рецептору.

28. Способ по варианту осуществления 27, где агентом или другим лечением является или содержит агент, выбранный из тоцилизумаба, силтуксимаба, клазакизумаба, сарилумаба, олокизумаба (CDP6038), элсилимомаба, ALD518/BMS-945429, сирукумаба (CNTO 136), CPSI-2634, ARGX-109, FE301 и FM101.

29. Способ по варианту осуществления 27 или варианту осуществления 28, где агентом или другим лечением является тоцилизумаб.

30. Способ по варианту осуществления 26, где агентом или другим лечением является или содержит один или несколько стероидов.

31. Способ по варианту осуществления 30, где стероидом является дексаметазон или метилпреднизолон.

32. Способ по варианту осуществления 30 или вариант осуществления 31, где стероидом является дексаметазон.

33. Способ по варианту осуществления 26, где агент или другое лечение включает введение сосудосуживающего фактора.

34. Способ по варианту осуществления 26, где агент или другие лечение включает интубирование.

35. Способ по варианту осуществления 26, где агент или другое лечение включает диализ.

36. Способ по любому из вариантов осуществления 1-35, где рекомбинантный рецептор специфически связывается с антигеном, ассоциированным с заболеванием или состоянием, или экспрессируется в окружающей среде поражения, ассоциированного с заболеванием или состоянием.

37. Способ по любому из вариантов осуществления 1-36, где заболеванием или состоянием является рак.

38. Способ по любому из вариантов осуществления 1-37, где заболевание или состояние является миеломой, лейкозом или лимфомой.

39. Способ по любому из вариантов осуществления 1-38a, где заболевание или состояние является злокачественным образованием из B-клеток и/или является острым лимфобластным лейкозом (ALL), ALL взрослых, хроническим лимфобластным лейкозом (CLL), неходжкинской лимфомой (NHL) или B-крупноклеточной лимфомой.

40. Способ по любому из вариантов осуществления 1-39, где заболеванием или состоянием является B-крупноклеточная лимфома.

41. Способ по варианту осуществления 40, где B-крупноклеточной лимфомой является диффузная B-крупноклеточная лимфома (DLBCL).

42. Способ по варианту осуществления 41, где DLBCL является DLBCL, не определенная иным образом (NOS), de novo DLBCL или DLBCL, трансформированная из вялотекущей лимфомы.

43. Способ по варианту осуществления 41 или варианту осуществления 42, где DLBCL является de novo DLBCL.

44. Способ по варианту осуществления 41 или варианту осуществления 42, где DLBCL является DLBCL, трансформированная из фолликулярной лимфомы (tFL).

45. Способ по варианту осуществления 41 или варианту осуществления 42, где DLBCL является DLBCL, трансформированной из лимфомы маргинальной зоны (tMZL), или DLBCL, трансформированной из хронического лимфоцитарного лейкоза (tCLL; Рихтер).

46. Способ по любому из вариантов осуществления 1-39, где заболеванием или состоянием является первичная В-клеточная лимфома стредостения (PMBCL) или фолликулярная лимфома (FL), необязательно фолликулярная лимфома степени 3B (FL3B).

47. Способ по любому из вариантов осуществления 1-46, где антигеном является В клеточный антиген, необязательно CD19.

48. Способ по любому из вариантов осуществления 1-47, где рекомбинантным рецептором является химерный антигенный рецептор (CAR).

49. Способ по любому из вариантов осуществления 1-48, где сконструированные клетки содержат Т клетки, необязательно, $CD4^+$ Т-клетки и/или $CD8^+$ Т-клетки.

50. Способ по любому из вариантов осуществления 1-49, где клеточная терапия включает введение дозу $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток вводят субъекту, каждые из $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток, по отдельности, содержит рецептор, который специфически связывается с антигеном-мишенью, экспрессированным заболеванием или состоянием или его клеткой или тканью, и/или который ассоциирован с заболеванием или состоянием, где введение включает введение множества отдельных композиций, множество отдельных композиций содержит первую композицию, содержащую $CD8^+$ Т-клетки и вторую композицию, содержащую $CD4^+$ Т клетки.

51. Способ по варианту осуществления 50, где первую композицию начинают вводить до начала введения второй композиции.

52. Способ по варианту осуществления 50 или вариант осуществления 51, где введение первой композиции и введение второй композиции осуществляют с разницей не более 48 часов.

53. Способ по любому из вариантов осуществления 50-52, где введение первой композиции и введение второй композиции осуществляют с разницей не более 36 часов, не более 24 часов, не более 12 часов, не более 6 часов, не более 4 часов, не более 2 часов, не более 1 часа или не более 30 минут.

54. Способ по любому из вариантов осуществления 50-53, где рецептор, который содержат $CD4^+$ Т-клетки и/или рецептор, который содержат $CD8^+$ Т-клетки, содержит рекомбинантный рецептор, который является одним и тем же и/или где $CD4^+$ Т-клетки и/или $CD8^+$ Т-клетки генетически сконструированы для экспрессии рекомбинантного рецептора, который является одним и тем же.

55. Способ по любому из вариантов осуществления 50-54, где:

доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит определенное отношение $CD4^+$ клеток экспрессирующих рекомбинантный рецептор к $CD8^+$ клеткам, экспрессирующим рекомбинантный рецептор и/или $CD4^+$ клеток к $CD8^+$ клеткам, которое составляет или составляет приблизительно 1:1 или составляет от приблизительно 1:3 до приблизительно 3:1; и/или

$CD4^+$ Т-клетки, содержащие рецептор в одной из первой и второй композиций, и $CD8^+$ Т-клетки, содержащие рецептор в другой из первой и второй композиций присутствуют в определенном отношении, которое составляет или составляет приблизительно 1:1 или составляет от приблизительно 1:3 до приблизительно 3:1; и/или

$CD4^+$ Т-клетки, содержащие рецептор и $CD8^+$ Т-клетки, содержащие рецептор, вводимые в первой и второй композициях, присутствуют в определенном отношении, где отношение составляет или составляет приблизительно 1:1 или составляет от приблизительно 1:3 до приблизительно 3:1.

56. Способ по варианту осуществления 55, где определенное отношение составляет или составляет приблизительно 1:1.

57. Способ по любому из вариантов осуществления 50-56, где доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит:

от точно или примерно 1×10^7 до точно или примерно 2×10^8 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток, включительно;

от точно или примерно $2,5\times10^7$ до точно или примерно $1,5\times10^8$ всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток, включительно;

от точно или примерно 5×10^7 до точно или примерно 1×10^8 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток, включительно;

точно или примерно 5×10^7 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток;

точно или примерно 1×10^8 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток; или

точно или примерно $1,5\times10^8$ всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток.

58. Способ по любому из вариантов осуществления 50-57, где доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит точно или примерно 5×10^7 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток.

59. Способ по любому из вариантов осуществления 50-57, где доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит точно или примерно 1×10^8 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток.

60. Способ по любому из вариантов осуществления 50-57, где доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит точно или примерно $1,5\times10^8$ всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток.

61. Способ по любому из вариантов осуществления 50-60, где доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит:

от точно или примерно 1×10^7 до точно или примерно 1×10^8 экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток, включительно;

от точно или примерно $1{,}25\times10^7$ до точно или примерно $7{,}5\times10^7$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток, включительно;

от точно или примерно $2{,}5\times10^7$ до точно или примерно 5×10^7 экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток, включительно;

точно или примерно $2{,}5\times10^7$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток;

точно или примерно 5×10^7 экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток; или

точно или примерно $7{,}5\times10^7$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток.

62. Способ по любому из вариантов осуществления 50-61, где доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит точно или примерно $2{,}5\times10^7$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток.

63. Способ по любому из вариантов осуществления 50-61, где доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит точно или примерно 5×10^7 экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток.

64. Способ по любому из вариантов осуществления 50-61, где доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит точно или примерно $7{,}5\times10^7$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток.

65. Способ по любому из вариантов осуществления 47-64, где Т-клетками являются первичные Т-клетки, полученные у субъекта или являющиеся аутологичными субъекту.

66. Способ по любому из вариантов осуществления 1-65, где субъектом является человек.

67. Изделие, содержащее композицию, содержащую генетически сконструированные клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор и необязательно агент или другое лечение, способное лечить, предотвращать, замедлять, снижать или ослаблять развитие или риск развития токсичности; и инструкции по оценке риска развития токсичности, идентификации субъекта или лечению субъекта согласно способу по любому из вариантов осуществления 1-66.

68. Способ лечения субъекта, имеющего или подозревающегося в наличии заболевания или состояния, где способ включает введение субъекту дозу $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток, где каждые из $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток, по отдельности, содержат рекомбинантный рецептор, который специфически связывается с антигеном-мишенью, экспрессированным заболеванием или состоянием, или его клеткой или тканью и/или который ассоциирован с заболеванием или состоянием, где введение включает введение множества отдельных композиций, множество отдельных композиций содержит первую композицию, содержащую $CD8^+$ Т-клетки и вторую композицию, содержащую $CD4^+$ Т-клетки.

69. Способ лечения субъекта, имеющего или подозревающегося в наличии

заболевания или состояния, которое является злокачественным образованием из В-клеток, где способ включает введение субъекту дозу $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток, где каждые из $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток, по отдельности, содержат рекомбинантный рецептор, который специфически связывается с антигеном-мишенью, экспрессированным заболеванием или состоянием или его клеткой или тканью, и/или который ассоциирован с заболеванием или состоянием, где введение включает введение множества отдельных композиций, множество отдельных композиций содержит первую композицию, содержащую $CD8^+$ Т-клетки и вторую композицию, содержащую $CD4^+$ Т-клетки.

70. Способ лечения субъекта имеющего или подозревающегося в наличии заболевания или состояния, которым является В-крупноклеточная лимфома, где способ включает введение субъекту дозу $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток, где каждые из $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток, по отдельности, содержат рекомбинантный рецептор который специфически связывается с антигеном-мишенью, экспрессированным заболеванием или состоянием или его клеткой или тканью, и/или который ассоциирован с заболеванием или состоянием, где введение включает введение множества отдельных композиций, множество отдельных композиций содержит первую композицию, содержащую $CD8^+$ Т-клетки и вторую композицию, содержащую $CD4^+$ Т-клетки.

71. Способ лечения субъекта имеющего или подозревающегося в наличии заболевания или состояния, которым является неходжкинская лимфома (NHL) или В-крупноклеточная лимфома, где способ включает введение субъекту дозу Т клеток, содержащую Т клетки, экспрессирующие химерный антигенный рецептор (CAR), который специфически связывается с антигеном-мишенью экспрессированным NHL, где:

доза Т клеток содержит от точно или примерно 1×10^7 CAR-экспрессирующих Т клеток до точно или примерно 2×10^8 CAR-экспрессирующих Т клеток, включительно; и

доза Т клеток содержит $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клетки, где каждые из $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток, по отдельности, содержат рецептор который специфически связывается с антигеном-мишенью, экспрессированным заболеванием или состоянием или его клеткой или тканью и/или который ассоциирован с заболеванием или состоянием, где введение включает введение множества отдельных композиций, множество отдельных композиций содержит первую композицию, содержащую $CD8^+$ Т-клетки, и вторую композицию, содержащую $CD4^+$ Т-клетки.

72. Способ по варианту осуществления 71, где доза Т клеток содержит определенное отношение $CD4^+$ клеток, экспрессирующих CAR к $CD8^+$ клеткам, экспрессирующим CAR и/или $CD4^+$ клеток к $CD8^+$ клеткам, где отношение составляет приблизительно 1:1 или составляет от приблизительно 1:3 до приблизительно 3:1.

73. Способ лечения субъекта, имеющего заболевание или состояние, которым является неходжкинская лимфома (NHL) или В-крупноклеточная лимфома, где способ включает введение субъекту дозы Т клеток, содержащую Т клетки, экспрессирующие химерный антигенный рецептор (CAR) который специфически связывается с антигеном-мишенью, экспрессированным NHL, дозы Т клеток, содержащее определенное отношение

$CD4^+$ клеток, экспрессирующих CAR, к $CD8^+$ клеткам, экспрессирующим CAR, и/или $CD4^+$ клеток к $CD8^+$ клеткам, где отношение составляет приблизительно или составляет 1:1, где введение включает введение множества отдельных композиций, множество отдельных композиций содержит первую композицию, содержащую $CD8^+$ Т-клетки и вторую композицию, содержащую $CD4^+$ Т-клетки.

74. Способ лечения субъекта, имеющего заболевание или состояние, которым является неходжкинская лимфома (NHL) или В-крупноклеточная лимфома, где способ включает введение субъекту дозу Т клеток, содержащую Т клетки, экспрессирующие химерный антигенный рецептор (CAR) который специфически связывается с антигеном-мишенью, экспрессированным NHL, где:

доза Т клеток содержит от точно или примерно 5×10^7 экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т клеток до точно или примерно $1,5\times10^8$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т клеток, включительно, указанная доза содержит определенное отношение $CD4^+$ Т-клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор, к $CD8^+$ Т-клеткам, экспрессирующим рекомбинантный рецептор и/или $CD4^+$ клеток к $CD8^+$ клеткам, где отношение составляет приблизительно или составляет 1:1; и

способ дает (1) полный ответ (CR) у, по меньшей мере, 35%, по меньшей мере, 40% или, по меньшей мере, 50% подвергутых лечению субъектов, и/или объективный ответ (OR) у, по меньшей мере, 50%, по меньшей мере, 60% или, по меньшей мере, 70% подвергутых лечению субъектов, и (2) дает не более 50% субъектов, демонстрирующих синдром выделения цитокина (CRS) выше чем степень 2 и/или а нейротоксичность выше чем степень 2, где введение включает введение множества отдельных композиций, множество отдельных композиций содержит первую композицию, содержащую $CD8^+$ Т-клетки и вторую композицию, содержащую $CD4^+$ Т-клетки.

75. Способ лечения субъекта, где способ содержит введение субъекту, который имеет заболевание или состояние, которым является лимфома, дозы Т клеток, содержащей Т клетки, экспрессирующие химерный антигенный рецептор (CAR), который специфически связывается с антигеном-мишенью экспрессированным лимфомой, где лимфома у субъекта ассоциирована с или включает вовлечение центральной нервной системы (ЦНС); и доза Т клеток содержит $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клетки, где каждые из $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток, по отдельности, содержат рецептор, который специфически связывается с антигеном-мишенью, экспрессированным заболеванием или состоянием или его клеткой или тканью и/или, который ассоциирован с заболеванием или состоянием, где введение включает введение множества отдельных композиций, множество отдельных композиций содержит первую композицию, содержащую $CD8^+$ Т-клетки, и вторую композицию, содержащую $CD4^+$ Т-клетки.

76. Способ по варианту осуществления 75, где, во время или до введения дозы клеток, субъект имеет поражение головного мозга, необязательно поражение височной доли головного мозга.

77. Способ по варианту осуществления 75 или вариант осуществления 76, где

лимфомой является злокачественное образование из В-клеток.

78. Способ по любому из вариантов осуществления 75-77, где лимфомой является неходжкинская лимфома (NHL) или В-крупноклеточная лимфома.

79. Способ по любому из вариантов осуществления 68-78, где первую композицию начинают вводить до начала введения второй композиции.

80. Способ по любому из вариантов осуществления 68-79, где введение первой композиции и введение второй композиции осуществляют с разницей не более 48 часов.

81. Способ по любому из вариантов осуществления 68-80, где введение первой композиции и введение второй композиции осуществляют с разницей не более 36 часов, не более 24 часов, не более 12 часов, не более 6 часов, не более 4 часов, не более 2 часов, не более 1 часа или не более 30 минут.

82. Способ по любому из вариантов осуществления 68-81, где введение первой композиции и введение второй композиции осуществляют в течение от точно или примерно 0 до точно или примерно 48 часов, от точно или примерно 0 до точно или примерно 36 часов, от точно или примерно 0 до точно или примерно 24 часов, от точно или примерно 0 до точно или примерно 12 часов, от точно или примерно 0 до точно или примерно 6 часов, от точно или примерно 0 до точно или примерно 2 часов, от точно или примерно 0 до точно или примерно 1 часов, от точно или примерно 0 до точно или примерно 30 минут, от точно или примерно 30 минут до точно или примерно 48 часов, от точно или примерно 30 минут до точно или примерно 36 часов, от точно или примерно 30 минут до точно или примерно 24 часов, от точно или примерно 30 минут до точно или примерно 12 часов, от точно или примерно 30 минут до точно или примерно 6 часов, от точно или примерно 30 минут до точно или примерно 4 часов, от точно или примерно 30 минут до точно или примерно 2 часов, от точно или примерно 30 минут до точно или примерно 1 часа, от точно или примерно 1 часов до точно или примерно 48 часов, от точно или примерно 1 часа до точно или примерно 36 часов, от точно или примерно 1 часа до точно или примерно 24 часов, от точно или примерно 1 часа до точно или примерно 12 часов, от точно или примерно 1 часа до точно или примерно 6 часов, от точно или примерно 1 часа до точно или примерно 4 часов, от точно или примерно 1 часа до точно или примерно 2 часов, от точно или примерно 2 часов до точно или примерно 48 часов, от точно или примерно 2 часов до точно или примерно 36 часов, от точно или примерно 2 часов до точно или примерно 24 часов, от точно или примерно 2 часов до точно или примерно 12 часов, от точно или примерно 2 часов до точно или примерно 6 часов, от точно или примерно 2 часов до точно или примерно 4 часов, от точно или примерно 4 часов до точно или примерно 48 часов, от точно или примерно 4 часов до точно или примерно 36 часов, от точно или примерно 4 часов до точно или примерно 24 часов, от точно или примерно 4 часов до точно или примерно 12 часов, от точно или примерно 4 часов до точно или примерно 6 часов, от точно или примерно 6 часов до точно или примерно 48 часов, от точно или примерно 6 часов до точно или примерно 36 часов, от точно или примерно 6 часов до точно или примерно 24 часов, от точно или примерно 6 часов до точно или примерно 12 часов, от точно или примерно 12 часов до точно

или примерно 48 часов, от точно или примерно 12 часов до точно или примерно 36 часов, от точно или примерно 12 часов до точно или примерно 24 часов, от точно или примерно 24 часов до точно или примерно 48 часов, от точно или примерно 24 часов до точно или примерно 36 часов или от точно или примерно 36 часов до точно или примерно 48 часов.

83. Способ по любому из вариантов осуществления 68-82, где:

введение первой композиции и введение второй композиции осуществляют в тот же день, осуществляют с разницей от примерно 0 до примерно 12 часов, от примерно 0 до примерно 6 часов или от примерно 0 до 2 часов; или

начало введения первой композиции и начало введения второй композиции осуществляют с разницей от примерно 1 минуты до примерно 1 часа или от примерно 5 минут до примерно 30 минут.

84. Способ по любому из вариантов осуществления 68-83, где первую композицию и вторую композицию вводят с разницей не более 2 часов, не более 1 часа, не более 30 минут, не более 15 минут, не более 10 минут или не более 5 минут.

85. Способ по любому из вариантов осуществления 68-84, где рецептор, который содержат $CD4^+$ Т-клетки, и/или рецептор, который содержат $CD8^+$ Т-клетки, содержит рекомбинантный рецептор который является одним и тем же, и/или где $CD4^+$ Т-клетки и/или $CD8^+$ Т-клетки генетически сконструированы для экспрессии рекомбинантного рецептора, который является одним и тем же.

86. Способ по любому из вариантов осуществления 68-71 и 75-85, где:

доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит определенное отношение $CD4^+$ клеток экспрессирующих рекомбинантный рецептор к $CD8^+$ клеткам, экспрессирующим рекомбинантный рецептор и/или $CD4^+$ клеток к $CD8^+$ клеткам, которое составляет или составляет приблизительно 1:1 или составляет от приблизительно 1:3 до приблизительно 3:1; и/или

$CD4^+$ Т-клетки, содержащие рецептор, в одной из первой и второй композиций и CD+ Т-клетки, содержащие рецептор, в другой из первой и второй композиций присутствуют в определенном отношении, которое составляет или составляет приблизительно 1:1 или составляет от приблизительно 1:3 до приблизительно 3:1; и/или

CD^+ Т-клетки, содержащие рецептор, и $CD8^+$ Т-клетки, содержащие рецептор, вводимые в первой и второй композициях присутствуют в определенном отношении, где отношение составляет или составляет приблизительно 1:1 или составляет от приблизительно 1:3 до приблизительно 3:1.

87. Способ по варианту осуществления 86, где определенное отношение составляет или составляет приблизительно 1:1.

88. Способ по любому из вариантов осуществления 68-70, 72, 73 и75-87, где доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит:

от точно или примерно 1×10^7 до точно или примерно 2×10^8 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток, включительно;

от точно или примерно $2{,}5\times10^7$ до точно или примерно $1{,}5\times10^8$ всего

экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток, включительно;

от точно или примерно 5×10^7 до точно или примерно 1×10^8 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток, включительно;

точно или примерно 5×10^7 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток;

точно или примерно 1×10^8 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток; или

точно или примерно $1{,}5\times10^8$ всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток.

89. Способ по любому из вариантов осуществления 68-88, где доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит точно или примерно 5×10^7 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток.

90. Способ по любому из вариантов осуществления 68-88, где доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит точно или примерно 1×10^8 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток.

91. Способ по любому из вариантов осуществления 68-88, где доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит точно или примерно $1{,}5\times10^8$ всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток.

92. Способ по любому из вариантов осуществления 68-89, где доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит:

от точно или примерно 1×10^7 до точно или примерно 1×10^8 экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток, включительно;

от точно или примерно $1{,}25\times10^7$ до точно или примерно $7{,}5\times10^7$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток, включительно;

от точно или примерно $2{,}5\times10^7$ до точно или примерно 5×10^7 экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток, включительно;

точно или примерно $2{,}5\times10^7$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток;

точно или примерно 5×10^7 экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток; или

точно или примерно $7{,}5\times10^7$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток.

93. Способ по любому из вариантов осуществления 68-92, где доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит точно или примерно $2{,}5\times10^7$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток.

94. Способ по любому из вариантов осуществления 68-92, где доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит точно или примерно 5×10^7 экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток.

95. Способ по любому из вариантов осуществления 68-92, где доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит точно или примерно $7{,}5\times10^7$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор

$CD8^+$ Т-клеток.

96. Способ по любому из вариантов осуществления 68-95, где рекомбинантный рецептор специфически связывается с антигеном, ассоциированным с заболеванием или состоянием или экспрессируется в окружающей среде поражения, ассоциированного с заболеванием или состоянием.

97. Способ по любому из вариантов осуществления 68 и 79-96, где заболеванием или состоянием является рак.

98. Способ по любому из вариантов осуществления 68 и 79-95, где заболеванием или состоянием является миелома, лейкоз или лимфома.

99. Способ по любому из вариантов осуществления 68 и 79-96, где заболеванием или состоянием является злокачественное образование из В-клеток и/или является острый лимфобластный лейкоз (ALL), ALL взрослых, хронический лимфобластный лейкоз (CLL), неходжкинская лимфома (NHL) или В-крупноклеточная лимфома.

100. Способ по любому из вариантов осуществления 68 и 79-99, где заболеванием или состоянием является В-крупноклеточная лимфома.

101. Способ по любому из вариантов осуществления 70-74 и 78-100, где В-крупноклеточной лимфомой является диффузная В-крупноклеточная лимфома (DLBCL).

102. Способ по варианту осуществления 101, где DLBCL является DLBCL, не определенная иным образом (NOS), de novo DLBCL или DLBCL, трансформированная из вялотекущей лимфомы.

103. Способ по варианту осуществления 101 или варианту осуществления 102, где DLBCL является de novo DLBCL.

104. Способ по варианту осуществления 101 или варианту осуществления 102, где DLBCL является DLBCL, трансформированной из фолликулярной лимфомы (tFL).

105. Способ по варианту осуществления 101 или вариант осуществления 102, где DLBCL является DLBCL, трансформированной из лимфомы маргинальной зоны (tMZL) или DLBCL, трансформированной из хронического лимфоцитарного лейкоза (tCLL; Рихтер).

106. Способ по любому из вариантов осуществления 71-74 и 99, где NHL или В-крупноклеточная лимфома выбрана из группы, состоящей из агрессивной NHL, диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL), NOS (de novo или трансформированной из вялотекущей), первичной В-крупноклеточной лимфомой средостения (PMBCL), мантийноклеточной лимфомой (MCL) и/или фолликулярной лимфомой (FL), необязательно, фолликулярной лимфомой степени 3B (FL3B).

107. Способ по любому из вариантов осуществления 68-99, где заболеванием или состоянием является первичная В-клеточная лимфома стредостения (PMBCL) или фолликулярная лимфома (FL), необязательно, фолликулярная лимфома степени 3B (FL3B).

108. Способ по любому из вариантов осуществления 68-107, где антигеном является В-клеточный антиген, необязательно CD19.

109. Способ по любому из вариантов осуществления 68-70 и 79-108, где

рекомбинантным рецептором является химерный антигенный рецептор (CAR).

110. Способ по любому из вариантов осуществления 68-109, где Т-клетками являются первичные Т-клетки, полученные у субъекта.

111. Способ по любому из вариантов осуществления 68-110, где Т-клетки являются аутологичными субъекту.

112. Способ по любому из вариантов осуществления 68-111, где, по меньшей мере, 40%, по меньшей мере, 50%, по меньшей мере, 60%, по меньшей мере, 70% субъектов которые, в момент или до введения дозы клеток имели или были идентифицированы как имеющие двойную/тройную лимфому или рецидив после введения трансплантата аутологичных стволовых клеток (ASCT), достигали OR или OR, который является устойчивым в течение или более чем 3 месяцев или в течение или более чем 6 месяцев.

113. Способ по любому из вариантов осуществления 68-112, где:

по меньшей мере, 35%, по меньшей мере, 40% или, по меньшей мере, 50% подвергутых лечению согласно способу субъектов достигли полного ответа (CR);

по меньшей мере, 60%, 70%, 80%, 90% или 95% субъектов достигших CR демонстрируют CR, который является устойчивым в течение или более чем 3 месяцев или в течение или более чем 6 месяцев; и/или

по меньшей мере, 60%, 70%, 80%, 90% или 95% субъектов достигших CR в течение одного месяца и/или 3 месяцев сохраняют ответ, сохраняют CR и/или выживают или выживают без прогрессирования в течение или более чем 3 месяцев и/или в течение или более чем 6 месяцев и/или в течение более 9 месяцев после достижения CR; и/или

по меньшей мере, 60%, 70%, 80%, 90% или 95% субъектов достигших OR демонстрирует OR, который является устойчивым в течение или более чем 3 месяцев или в течение или более чем 6 месяцев; и/или

по меньшей мере, 50%, по меньшей мере, 60% или, по меньшей мере, 70% субъектов, подвергутых лечению способом, достигают объективного ответа (OR);

по меньшей мере, 35%, по меньшей мере, 40% или, по меньшей мере, 50% субъектов достигших OR сохраняют ответ или выживают в течение или более чем 3 месяцев и/или в течение или более чем 6 месяцев после достижения OR; и/или

по меньшей мере, 40%, по меньшей мере, 50%, по меньшей мере, 60%, по меньшей мере, 70% субъектов которые, в момент или до введения дозы клеток имели или были идентифицированы как имеющие двойную/тройную лимфому или рецидив, после введения трансплантата аутологичных стволовых клеток (ASCT), достигали OR или OR, который является устойчивым в течение или более чем 3 месяцев или в течение или более чем 6 месяцев.

114. Способ по любому из вариантов осуществления 68-113, где клетки являются аутологичными субъекту и

никакого минимального абсолютного содержания лимфоцитов (ALC) для афереза не требуется и/или не определено для получения терапии; и/или

клетки получают способом, который у, по меньшей мере, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%,

95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% субъектов, имеющих заболевание или состояние, или выбранной популяции субъектов, способны создавать клеточный продукт для введения согласно способу.

115. Способ по любому из вариантов осуществления 68-114, где:

более чем или более чем примерно 50%, примерно 60%, примерно 70% или примерно 80% субъектов, подвергутых лечению способом, не демонстрируют степень 3 или более синдром выделения цитокина (CRS) и/или не демонстрируют степень 3 или более нейротоксичность и/или более чем 40% или 50% или 55% не демонстрирует какую-либо нейротоксичность или CRS.

116. Способ по любому из вариантов осуществления 74 и 79-115, где:

CR или OR является устойчивым в течение более чем 3 месяцев или более чем 6 месяцев; и/или

по меньшей мере, 20%, по меньшей мере, 25%, по меньшей мере, 35%, по меньшей мере, 40% или, по меньшей мере, 50% подвергутых лечению согласно способу субъектов достигают CR, который является устойчивым в течение более чем 3 месяцев или более чем 6 месяцев; и/или

по меньшей мере, 60%, 70%, 80%, 90% или 95% подвергутых лечению способом субъектов, которые достигают CR, сохраняют CR или сохраняют ответ или выживают в течение или более чем 3 месяцев или в течение или более чем 6 месяцев или в течение или более чем 9 месяцев; и/или

по меньшей мере, 60%, 70%, 80%, 90% или 95% подвергутых лечению способом субъектов, которые достигают CR в течение одного месяца и/или 3 месяцев сохраняют ответ, сохраняют CR, и/или выживают или выживают без прогрессирования, в течение более в течение или более чем 3 месяцев и/или в течение или более чем 6 месяцев и/или в течение более 9 месяцев; и/или

по меньшей мере, 50%, по меньшей мере, 60% или, по меньшей мере, 70% подвергутых лечению способом субъектов достигают объективного ответа (OR);

по меньшей мере, 60%, 70%, 80%, 90% или 95% субъектов достигают OR, который является устойчивым в течение или более чем 3 месяцев или в течение или более чем 6 месяцев; и/или

по меньшей мере, по меньшей мере, 35%, по меньшей мере, 40% или, по меньшей мере, 50% подвергутых лечению способом субъектов и достигших OR сохраняют ответ или выживают в течение или более чем 3 месяцев и/или в течение или более чем 6 месяцев.

117. Способ по любому из вариантов осуществления 68-116, где:

в момент или до введения дозы клеток, субъект имеет или идентифицирован как имеющий лимфому, ассоциированную с или включающую вовлечение центральной нервной системы (ЦНС); и/или

по меньшей мере, 70%, по меньшей мере, 80%, по меньшей мере, 90% или, по меньшей мере, 95% подвергутых лечению согласно способу субъектов, которые, в момент или до введения дозы клеток демонстрируют или были идентифицированы как

демонстрирующие а лимфома с вовлечением ЦНС, достигли излечения заболевания ЦНС.

118. Способ по любому из вариантов осуществления 75-117, где:

по меньшей мере, 35%, по меньшей мере, 40% или, по меньшей мере, 50% подвергутых лечению согласно способу субъектов достигли полного ответа (CR) или ремиссии заболевания ЦНС;

по меньшей мере, 60%, 70%, 80%, 90% или 95% субъектов, которые достигают CR, сохраняют CR в течение или более чем 3 месяцев или в течение или более чем 6 месяцев; и/или

по меньшей мере, 60%, 70%, 80%, 90% или 95% субъектов достигших CR или ремиссии заболевания ЦНС в течение одного месяца и/или 3 месяцев сохраняют ответ, сохраняют CR и/или выживают или выживают без прогрессирования, в течение более в течение или более чем 3 месяцев и/или в течение или более чем 6 месяцев и/или в течение более 9 месяцев; и/или

по меньшей мере, 50%, по меньшей мере, 60% или, по меньшей мере, 70% субъектов, подвергутых лечению способом, достигают объективного ответа (OR) или ремиссии заболевания ЦНС;

по меньшей мере, 60%, 70%, 80%, 90% или 95% субъектов достигших OR, в течение или более чем 3 месяцев или в течение или более чем 6 месяцев; и/или

по меньшей мере, 60%, 70%, 80%, 90% или 95% субъектов достигших OR или ремиссии заболевания ЦНС сохраняют ответ или выживают в течение или более чем 3 месяцев и/или в течение или более чем 6 месяцев; и/или

поражение головного мозга снижается по размеру или объему на более чем или более чем примерно 25%, 50%, 75% или более; и/или

снижение или ремиссия или клиренс заболевания ЦНС достигается у, по меньшей мере, 35%, по меньшей мере, 40% или, по меньшей мере, 50% подвергутых лечению согласно способу субъектов.

119. Способ по любому из вариантов осуществления 68-118, где:

более чем или более чем примерно 30%, 35%, 40% или 50% субъектов, подвергутых лечению способом, не демонстрируют какую-либо степень синдром выделения цитокина (CRS) или нейротоксичность; и/или

по меньшей мере, точно или примерно 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% подвергутых лечению согласно способу субъектов не демонстрируют наступление CRS ранее, чем через 3 дня после начала введения и/или не демонстрируют наступление нейротоксичности ранее чем 5 дней после начала введения; и/или

среднее наступление нейротоксичности среди субъектов, подвергутых лечению способом, возникает в момент или после среднего пика или среднего времени излечения CRS у субъектов, подвергутых лечению способом, и/или среднее наступление нейротоксичности среди субъектов, подвергутых лечению способом, составляет более чем точно или примерно 8, 9, 10 или 11 дней.

120. Способ по любому из вариантов осуществления 68-119, где до начала введения

дозы клеток, субъекту не вводили агент или лечение, способное лечить, предотвращать, замедлять, снижать или ослаблять развитие или риск развития токсичности после введения дозы клеток.

121. Способ по варианту осуществления 120, где агент является или содержит антитело против IL-6, анти-IL-6 антитело к рецептору или а стероид.

122. Способ по варианту осуществления 120 или вариант осуществления 121, где агент является или содержит тоцилизумаб, силтуксимаб, дексаметазон или метилпреднизолон.

123. Способ по любому из вариантов осуществления 68-122, где:

введение и любое отслеживание проводят амбулаторно и/или без необходимости госпитализации или круглосуточного пребывания в больнице; и

если субъект демонстрирует продолжительную лихорадку или лихорадку, которая не снижена или не была снижена или не снижается на более чем 1°C после лечения жаропонижающим, субъекта госпитализируют или помещают на круглосуточное пребывание в больницу и/или вводят агент или лечение для лечения или профилактики или снижения или ослабления нейротоксичности и/или синдрома выделения цитокина или его риска.

124. Способ по любому из вариантов осуществления 68-123, где субъект имеет или идентифицирован как имеющий статус Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status (ECOG) 0, 1 или 2.

125. Способ по любому из вариантов осуществления 68-124, где, в момент или непосредственно перед введением дозы клеток субъект имеет рецидив после ремиссии после лечения или стал рефрактерным к, одной или нескольких предшествующих терапий заболевания или состояния, необязательно одной, двум или трем предшествующим терапиям отличным от другой дозы клеток, экспрессирующих CAR.

126. Способ по любому из вариантов осуществления 68-125, где, в момент или до введения дозы клеток:

субъект имеет или идентифицирован как имеющий двойную/тройную лимфому; и/или

субъект имеет или идентифицирован как имеющий химиорефрактерную лимфому, необязательно химиорефрактерную DLBCL; и/или

субъект не достиг полной ремиссии (CR) в ответ на предшествующую терапию; и/или

субъект имеет рецидив в течение 1 года или меньше чем 1 года после трансплантации аутологичных стволовых клеток (ASCT).

127. Способ по любому из вариантов осуществления 68-126, включающий, до введения дозы клеток, идентификацию или выбор субъекта для введения дозы клеток, который имеет:

двойную/тройную лимфому;

химиорефрактерную лимфому, необязательно химиорефрактерную DLBCL;

не достиг полной ремиссии (CR) в ответ на предшествующую терапию для лечения злокачественного образования, NHL; и/или

имеет рецидив в течение 1 года или менее 1 года после трансплантации аутологичных стволовых клеток (ASCT); и/или

имеет лимфому, ассоциированную с или включающую вовлечение центральной нервной системы (ЦНС).

128. Способ по любому из вариантов осуществления 68-127, дополнительно включающий введение субъекту вводят дополнительного терапевтического агента или терапии, необязательно отличной от клеточной терапии, необязательно, отличной от CAR^+ Т клеточной терапии.

129. Способ по любому из вариантов осуществления 48-66 и 71-128, где:

CAR содержит внеклеточный антигенсвязывающий домен специфический к антигену, трансмембранный домен, цитоплазматический сигнальный домен полученный из костимулирующей молекулы, которой необязательно является 4-1BB, и цитоплазматический сигнальный домен полученный из первичной сигнальной ITAM-содержащей молекулы, которой необязательно является CD3-дзета;

CAR содержит, по порядку, внеклеточный антигенсвязывающий домен специфический к антигену, трансмембранный домен, цитоплазматический сигнальный домен, полученный из костимулирующей молекулы, и цитоплазматический сигнальный домен, полученный из первичной сигнальной ITAM-содержащей молекулы; или

CAR содержит внеклеточный антигенраспознающий домен, который специфически связывается с антигеном, и внутриклеточный сигнальный домен, содержащий CD3-дзета (CD3ζ) цепь и костимулирующую сигнальную область, которой является сигнальный домен CD28 или 4-1BB.

130. Способ по варианту осуществления 129, где антигенсвязывающим доменом является scFv.

131. Способ по варианту осуществления 130, где scFv содержит аминокислотную последовательность RASQDISKYLN (SEQ ID NO: 35), аминокислотную последовательность SRLHSGV (SEQ ID NO: 36) и/или аминокислотную последовательность GNTLPYTFG (SEQ ID NO: 37) и/или аминокислотную последовательность DYGVS (SEQ ID NO: 38), аминокислотную последовательность VIWGSETTYYNSALKS (SEQ ID NO: 39) и/или аминокислотную последовательность YAMDYWG (SEQ ID NO: 40), или где scFv содержит вариабельную область тяжелой цепи FMC63 и вариабельную область легкой цепи FMC63 и/или CDRL1 последовательности FMC63, CDRL2 последовательность FMC63, CDRL3 последовательность FMC63, CDRH1 последовательность FMC63, CDRH2 последовательность FMC63 и CDRH3 последовательность FMC63 или связывается с тем же эпитопом или конкурирует за связывание с любым из вышеперечисленных, и, необязательно, где scFv содержит, в порядке, V_H, линкер, необязательно содержащий SEQ ID NO: 24, и V_L, и/или scFv содержит гибкий линкер и/или содержит аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID

NO: 43.

132. Способ по любому из вариантов осуществления 129-131, где костимулирующей сигнальной областью является сигнальный домен CD28 или 4-1BB.

133. Способ по любому из вариантов осуществления 129-132, где костимулирующей сигнальной областью является сигнальный домен 4-1BB.

134. Способ по любому из вариантов осуществления 129-133, где костимулирующий домен содержит SEQ ID NO: 12 или ее вариант, имеющий, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности к ней.

135. Способ по любому из вариантов осуществления 129-134, где первичным сигнальным доменом является CD3-дзета сигнальный домен.

136. Способ по любому из вариантов осуществления 129-135, где первичный сигнальный домен содержит SEQ ID NO: 13, 14 или 15, имеющую, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности к ней.

137. Способ по любому из вариантов осуществления 129-136, где CAR дополнительно содержит спейсер между трансмембранным доменом и scFv.

138. Способ по варианту осуществления 137, где спейсером является полипептидный спейсер, который содержит или состоит из всего или части иммуноглобулинового шарнира или его модифицированной версии, необязательно IgG4 шарнира или его модифицированной версии.

139. Способ по варианту осуществления 137 или вариант осуществления 138, где спейсером содержит примерно 15 аминокислот или менее, и не содержит CD28 внеклеточную область или CD8 внеклеточную область.

140. Способ по любому из вариантов осуществления 137-139, где спейсером имеет точно или примерно 12 аминокислот в длину.

141. Способ по любому из вариантов осуществления 137-140, где:

спейсер имеет или состоит из последовательности SEQ ID NO: 1, последовательности, кодированной SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34 или варианта любой из вышеуказанных, имеющего, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности к ней; и/или

спейсер содержит или состоит из формулы X_1PPX_2P, где X_1 является глицином, цистеином или аргинином и X_2 является цистеином или треонином.

142. Способ по любому из вариантов осуществления 48-66 и 71-141, где:

CAR содержит scFv специфический к антигену, трансмембранный домен, цитоплазматический сигнальный домен полученный из костимулирующей молекулы, которая необязательно является или содержит 4-1BB, и цитоплазматический сигнальный домен полученный из первичной сигнальной ITAM-содержащей молекулы, которая необязательно является или содержит CD3 дзета сигнальный домен, и необязательно

дополнительно содержит спейсер между трансмембранным доменом и scFv;

CAR содержит, по порядку, scFv специфический к антигену, трансмембранный домен, цитоплазматический сигнальный домен полученный из костимулирующей молекулы, который необязательно является или содержит 4-1BB сигнальный домен и цитоплазматический сигнальный домен полученный из первичной сигнальной ITAM-содержащей молекулы, которая необязательно является CD3-дзета сигнальным доменом; или

CAR содержит, по порядку, scFv специфический к антигену, спейсер, трансмембранный домен, цитоплазматический сигнальный домен полученный из костимулирующей молекулы, которая необязательно является 4-1BB сигнальным доменом, и цитоплазматический сигнальный домен полученный из первичной сигнальной ITAM-содержащей молекулы, которая необязательно является или содержит CD3 дзета сигнальный домен; и где:

спейсером является полипептидный спейсер, который (a) содержит или состоит из всего или части иммуноглобулинового шарнира или его модифицированной версии или содержит примерно 15 аминокислот или менее, и не содержит CD28 внеклеточную область или CD8 внеклеточную область, (b) содержит или состоит из всего или части иммуноглобулинового шарнира, необязательно IgG4 шарнир или его модифицированную версию и/или содержит примерно 15 аминокислот или менее, и не содержит CD28 внеклеточную область или CD8 внеклеточную область или (c) имеет точно или примерно 12 аминокислот в длину и/или содержит или состоит из всего или части иммуноглобулинового шарнира, необязательно IgG4 или его модифицированную версию; или (d) имеет или состоит из последовательности SEQ ID NO: 1, последовательности, кодированной SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34 или варианта любой из вышеуказанных, имеющего, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности к ней, или (e) содержит или состоит из формулы X_1PPX_2P, где X_1 является глицином, цистеином или аргинином и X_2 является цистеином или треонином; и/или

костимулирующий домен содержит SEQ ID NO: 12 или ее вариант, имеющий, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности к ней; и/или

первичный сигнальный домен содержит SEQ ID NO: 13, 14 или 15, имеющий, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности к ней; и/или

scFv содержит аминокислотную последовательность RASQDISKYLN (SEQ ID NO: 35), аминокислотную последовательность SRLHSGV (SEQ ID NO: 36) и/или аминокислотную последовательность GNTLPYTFG (SEQ ID NO: 37) и/или аминокислотную последовательность DYGVS (SEQ ID NO: 38), аминокислотную последовательность VIWGSETTYYNSALKS (SEQ ID NO: 39) и/или аминокислотную

последовательность YAMDYWG (SEQ ID NO: 40), или где scFv содержит вариабельную область тяжелой цепи FMC63 и вариабельную область легкой цепи FMC63 и/или CDRL1 последовательности FMC63, CDRL2 последовательность FMC63, CDRL3 последовательность FMC63, CDRH1 последовательность FMC63, CDRH2 последовательность FMC63 и CDRH3 последовательность FMC63 или связывается с тем же эпитопом или конкурирует за связывание с любым из вышеперечисленных, и, необязательно, где scFv содержит, в порядке, V_H, линкер, необязательно содержащий SEQ ID NO: 24, и V_L, и/или scFv содержит гибкий линкер и/или содержит аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 43.

143. Способ по любому из вариантов осуществления 1-66 и 68-142, где, до введения, субъекта заранее подготавливают с помощью противолимфомной терапии включающей введение флударабина и/или циклофосфамида.

144. Способ по любому из вариантов осуществления 50-66 и 68-143, дополнительно включающий, непосредственно перед введением дозы клеток, введение субъекту противолимфомной терапии включающей введение флударабин аи/или циклофосфамида.

145. Способ по варианту осуществления 144, где:

введение дозы клеток и/или противолимфомной терапии проводят амбулаторно.

146. Способ по варианту осуществления 144 или вариант осуществления 145, где, если субъект демонстрирует продолжительную лихорадку или лихорадку, которая не снижена или не была снижена или не снижается на более чем 1°C после лечения жаропонижающим, субъекта госпитализируют или помещают на круглосуточное пребывание в больницу и/или вводят агент или лечение для лечения или профилактики или снижения или ослабления нейротоксичности и/или синдрома выделения цитокина или его риска.

147. Способ по любому из вариантов осуществления 50-66 и 68-146, где дозу клеток вводят парентерально, необязательно внутривенно.

148. Способ по любому из вариантов осуществления 68-147, где субъектом является человек.

149. Изделие, содержащее композицию, содержащую генетически сконструированные клетки, экспрессирующие рекомбинантный рецептор; и необязательно инструкции по введению дозы клеток согласно способ по любому из вариантов осуществления 68-148.

VIII. ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Термины «полипептид» и «белок» используются взаимозаменяемо для обозначения полимера аминокислотных остатков и не ограничены минимальной длиной. Полипептиды, включая предоставленные рецепторы и другие полипептиды, например, линкеры или пептиды, могут включать аминокислотные остатки, включая природные и/или не природные аминокислотные остатки. Термины также включают постэкспрессионные модификации полипептида, например, гликозилирование, сиалирование, ацетилирование и фосфорилирование. В некоторых аспектах полипептиды могут содержать модификации по

отношению к нативной или природной последовательности, пока белок сохраняет желаемую активность. Эти модификации могут быть преднамеренными, например, посредством сайт-направленного мутагенеза, или могут быть случайными, например, посредством мутаций хозяев, которые продуцируют белки, или ошибок из-за амплификации ПЦР.

В настоящем документе «субъектом» является млекопитающее, такое как человек или другое животное, и обычно является человеком. В некоторых вариантах осуществления, субъект, например, пациент, которому вводят агент или агенты, клетки, клеточные популяции или композиции, является млекопитающим, обычно приматом, таким как человек. В некоторых вариантах осуществления, приматом является обезьяна или человекообразная обезьяна. Субъект может быть мужчиной или женщиной и может быть любого подходящего возраста, включая младенцев, детей, подростков, взрослых и пожилых людей. В некоторых вариантах осуществления, субъект является млекопитающим, не являющимся приматом, например грызуном.

В настоящем документе «лечение» (и его грамматические варианты, такие как «лечить» или «лечащий») означает полное или частичное улучшение или уменьшение заболевания, состояния или расстройства, или симптома, неблагоприятного эффекта или результата или фенотипа, связанного с ним. Желательные эффекты лечения включают, но не ограничены ими, предотвращение возникновения или рецидива заболевания, облегчение симптомов, уменьшение любых прямых или косвенных патологических последствий заболевания, предотвращение метастазирования, снижение скорости прогрессирования заболевания, улучшение или временное смягчение последствий болезненного состояния, и ремиссию или улучшенный прогноз. Условия не подразумевают полного излечения от заболевания или полного устранения каких-либо симптомов или эффектов из всех симптомов или результатов.

В настоящем документе «задержка развития заболевания» означает отсрочку, сдерживание, замедление, замедление, стабилизацию, подавление и/или отсрочку развития заболевания (например, рака). Эта задержка может быть различной продолжительности, в зависимости от истории болезни и/или индивидуума, проходящего лечение. В некоторых вариантах осуществления, достаточная или значительная задержка может, по сути, включать профилактику в том смысле, что у индивидуума не развивается заболевание. Например, поздняя стадия рака, такая как развитие метастазов, может быть отложена.

«Профилактика» в настоящем документе включает обеспечение профилактики возникновения или повторения заболевания у субъекта, который может быть предрасположен к заболеванию, но у которого заболевание еще не диагностировано. В некоторых вариантах осуществления, представленные клетки и композиции используют для задержки развития заболевания или для замедления прогрессирования заболевания

В настоящем документе «подавление» функции или активности означает уменьшение функции или активности, по сравнению с в остальном такими же условиями, за исключением условия или параметра представляющего интерес, или, альтернативно, по

сравнению с другим условием. Например, клетки, подавляющие рост опухоли, снижают скорость роста опухоли по сравнению со скоростью роста опухоли при отсутствии клеток.

«Эффективное количество» агента, например, фармацевтического состава, клеток или композиций, в контексте введения относится к количеству, эффективному в дозировках/количествах и в течение периодов времени, необходимых для достижения желаемого результата, такого как терапевтический или профилактический результат.

«Терапевтически эффективное количество» агента, например, фармацевтического состава или клеток, относится к количеству, эффективному в дозировках и в течение периодов времени, необходимых для достижения желаемого терапевтического результата, такого как лечение заболевания, состояния или нарушение, и/или фармакокинетических или фармакодинамических эффектов лечения. Терапевтически эффективное количество может варьироваться в зависимости от таких факторов, как болезненное состояние, возраст, пол и масса тела субъекта и популяции вводимых клеток. В некоторых вариантах осуществления, представленные способы включают введение клеток и/или композиций в эффективных количествах, например, терапевтически эффективных количествах.

«Профилактически эффективное количество» относится к количеству, эффективному в дозировках и в течение периодов времени, необходимых для достижения желаемого профилактического результата. Обычно, но не обязательно, поскольку профилактическая доза используется у субъектов до или на более ранней стадии заболевания, профилактически эффективное количество будет меньше, чем терапевтически эффективное количество. В контексте более низкой опухолевой массы, профилактически эффективное количество в некоторых аспектах будет выше терапевтически эффективного количества.

Термин «примерно», используемый в настоящем документе, относится к обычному диапазону ошибок для соответствующего значения, который хорошо известен специалисту в данной области техники. Ссылка на «примерное» значение или параметр в настоящем документе включает (и описывает) варианты осуществления, которые направлены на это значение или параметр как таковой.

Как используется в настоящем документе, формы единственного числа «a», «an» и «the» включают ссылки во множественном числе, если контекст явно не диктует иное. Например, «a» или «an» означает «по меньшей мере, один» или «один или несколько».

В настоящем описании, различные аспекты заявленного объекта изобретения представлены в формате диапазона. Следует понимать, что описание в формате диапазона дано просто для удобства и краткости и не должно толковаться как жесткое ограничение объема заявленного объекта изобретения. Соответственно, следует рассматривать описание диапазона, чтобы специфически раскрыть все возможные поддиапазоны, а также отдельные числовые значения в пределах этого диапазона. Например, если представлен диапазон значений, подразумевается, что каждое промежуточное значение между верхним и нижним пределом этого диапазона и любым другим заявленным или промежуточным значением в этом указанном диапазоне охватывается в пределах заявленного объекта изобретения.

Верхние и нижние пределы этих меньших диапазонов могут быть независимо включены в меньшие диапазоны и также включены в заявленный объект изобретения с учетом любого специфически исключенного предела в указанном диапазоне. Если указанный диапазон включает один или оба предела, диапазоны, исключающие один или оба из этих включенных пределов, также включены в заявленный объект изобретения. Это применимо независимо от широты диапазона.

В настоящем документе композиция относится к любой смеси двух или более продуктов, веществ или соединений, включая клетки. Это может быть раствор, суспензия, жидкость, порошок, паста, водный, неводный или любая их комбинация.

Как используется в настоящем документе, «обогащение» применительно к одному или более конкретному типу клеток или популяции клеток относится к увеличению количества или доли типа клеток или популяции, например, по сравнению с общим количеством клеток в или объемом композиции или относительно других типов клеток, например, путем положительного селектирования на основе маркеров, экспрессированных популяцией или клетками, или путем отрицательного селектирования на основе маркера, отсутствующего в клетке популяции или клетке, подлежащей истощению. Этот термин не требует полного удаления других клеток, типа клеток или популяции из композиции и не требует, чтобы клетки, обогащенные таким образом, присутствовали на 100% или даже около 100% в обогащенных композициях.

В настоящем документе утверждение о том, что клетка или популяция клеток является «положительной» для определенного маркера, относится к обнаруживаемому присутствию на или в клетке определенного маркера, обычно поверхностного маркера. В отношении поверхностного маркера, этот термин относится к наличию поверхностной экспрессии, обнаруженной проточной цитометрией, например, при окрашивании антителом, которое специфически связывается с маркером, и обнаружении указанного антитела, где окрашивание обнаруживается проточной цитометрией на уровне, существенно превышающем окрашивание, обнаруженное при выполнении той же процедуры с подобранным по изотипу контролем или гейтированием флуоресценцией с комбинацией детектируемых меток кроме одной (FMO) при в другом идентичных условиях, и/или на уровне, по существу аналогичном уровню для клетки, заведомо положительной для маркера, и/или на уровне, по существу превышающем уровень для клетки, заведомо отрицательной для маркера.

Как используется в настоящем документе, утверждение, что клетка или популяция клеток является «отрицательной» для определенного маркера, относится к отсутствию по существу обнаруживаемого присутствия на или в клетке определенного маркера, обычно поверхностного маркера. В отношении поверхностного маркера, этот термин относится к отсутствию поверхностной экспрессии, обнаруженной проточной цитометрией, например, при окрашивании антителом, которое специфически связывается с маркером, и обнаружении указанного антитела, где окрашивание не обнаруживается проточной цитометрией на уровне, существенно превышающем окрашивание, обнаруженное при

выполнении той же процедуры с подобранным по изотипу контролем или гейтированием флуоресценцией с комбинацией детектируемых меток кроме одной (FMO) при в другом идентичных условиях, и/или на уровне, по существу ниже, чем уровень для клетки, заведомо положительной для маркера, и/или на уровне, по существу аналогичном уровню для клетки, заведомо отрицательной для маркера.

Термин «вектор», используемый в настоящем документе, относится к молекуле нуклеиновой кислоты, способной размножать другую нуклеиновую кислоту, с которой она связана. Термин включает вектор как самореплицирующую структуру нуклеиновой кислоты, а также вектор, включенный в геном клетки-хозяина, в которую он был введен. Некоторые векторы способны направлять экспрессию нуклеиновых кислот, с которыми они функционально связаны. В настоящем документе такие векторы называются «вектор экспрессии».

Если не указано иное, все термины из области техники, обозначения и другие технические и научные термины или терминология, используемые в настоящем документе, имеют то же значение, которое обычно понимается специалистом в области, к которой относится заявленный объект изобретения. В некоторых случаях, термины с общепринятыми значениями определены в настоящем документе для ясности и/или для удобства, и включение таких определений в настоящий документ не обязательно должно толковаться как представляющее существенное отличие от того, что в общем понимается в данной области техники.

Все публикации, включая патентные документы, научные статьи и базы данных, упомянутые в данной заявке, включены посредством ссылки во всей своей полноте для всех целей в той же степени, как если бы каждая отдельная публикация была по отдельности включена посредством ссылки. Если определение, изложенное в настоящем документе, противоречит или иным образом не согласуется с определением в патентах, заявках, опубликованных приложениях и других публикациях, включенных в настоящий документ посредством ссылки, определение, изложенное в настоящем документе, имеет преимущественную силу над определением, которое включено в настоящий документ посредством ссылки.

Заголовки разделов, используемые в настоящем документе, предназначены только для организационных целей и не должны толковаться как ограничивающие описываемый объект.

IX. ПРИМЕРЫ

Следующие примеры включены только в иллюстративных целях и не предназначены для ограничения объема изобретения.

X. ПРИМЕРЫ

Следующие примеры включены только в иллюстративных целях и не предназначены для ограничения объема изобретения.

Пример 1. Введение анти-CD19 CAR-экспрессирующих клеток субъектам с рецидивирующей и рефрактерной неходжкинской лимфомой (NHL)

А. Субъекты и лечение

Терапевтические CAR^+ Т клеточные композиции, содержащие аутологичные Т клетки, экспрессирующие химерный антигенный рецептор (CAR), специфический к CD19 вводят субъектам со злокачественными образованиями из В клеток.

Пример 1.А.1

Результаты описаны в этом Примере 1.А.1 для оценки через конкретный момент времени (1.А.1) в текущем клиническом исследовании введения такой терапии пациентам со злокачественными образованиями из В клеток Более конкретно, когорту (полную когорту) из (в этот момент времени, пятидесяти пяти (55)) взрослых людей с рецидивирующей или рефрактерной (R/R) агрессивной неходжкинской лимфомой (NHL), включая диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL), de novo или трансформированную из вялотекущей лимфомы (NOS), В-клеточную лимфому высокой степени злокачественности, с MYC и BCL2 и/или BCL6 перестройкой с DLBCL гистологией (двойная/тройная), DLBCL, трансформированной из хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL) или лимфомы маргинальной зоны (MZL), первичной В-крупноклеточной лимфомы средостения (PMBCL) и фолликулярной лимфомы степени 3В (FL3B) после неудачной терапии 2 линий. Леченные субъекты включают таких, которые имеют оценку по Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) от 0 до 2 (средний период наблюдения 3,2 месяцев). Субъекты с MCL после терапии 1 линии также включены в исследование (см. Пример 2), однако, полная когорта не включает субъектов с мантийноклеточной лимфомы (MCL). Ни один субъект не был исключен на основе предшествующей трансплантации аллогенных стволовых клеток (SCT), вторичного вовлечения центральной нервной системы (ЦНС) или ECOG оценки 2 и отсутствовало требование в минимальном абсолютном содержании лимфоцитов (ALC) для афереза.

Результаты отдельно оценивали для основного подмножества субъектов в пределах полной когорты (субъекты в пределах полной когорты, за исключением субъектов с плохим показателем общего состояния (ECOG 2), DLBCL, трансформированной из лимфомы маргинальной зоны (MZL) и/или хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL, Рихтер) и субъектов с первичной В-крупноклеточной лимфомой средостения (PMBCL) и фолликулярной лимфомой степени 3В (FL3B) (основная когорта)). Основная когорта включает субъектов с DLBCL, NOS и трансформированной из фолликулярной лимфомы (tFL) или В-клеточной лимфомой высокой степени злокачественности (двойная/тройная) или В-клеточной лимфомы высокой степени злокачественности с MYC и BCL2 и/или BCL6 перестройкой с DLBCL гистологией (двойная/тройная) и со статусом Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status (ECOG PS) 0 или 1. В момент времени в Примере 1.А.1, оценивают результаты для 44 субъектов в пределах этой основной когорты.

Демографические и исходные характеристики полной и основной когорты субъектов в момент времени в Примере 1.А.1 указаны в **Таблице Е1.**

Таблица E1. Демографические и исходные характеристики		
Характеристика	**ПОЛНАЯ N=55**	**ОСНОВНАЯ N=44**
Средний возраст, лет (диапазон)	61 (29-82)	61 (29-82)
≥ 65 лет, n (%)	22 (40)	17 (39)
Мужчины/женщины, n (%)	38/17 (69/31)	28/16 (64/36)
Месяцы от диагностирования, среднее (диапазон)	17 (3-259)	20 (8-259)
B-NHL Подтип, n (%)		
DLBCL, NOS	40 (73)	35 (80)
Трансформированная DLBCL	14 (26)	8 (18)
Фолликулярная, Степень 3B	1 (2)	1 (2)
Молекулярный подтип, n (%)		
Двойная/тройная	15 (27)	12 (27)
Двойной экспрессор	6 (11)	4 (9)
Характеристики пациента, n (%)		
Химиорефрактерная†	42 (76)	34 (77)
ECOG 0-1	48 (87)	44 (100)
ECOG 2	7 (13)	0
Предшествующие линии терапии, среднее (диапазон)	3 (1-11)	3 (1-8)
< 5 линиий терапии	44 (80)	37 (84)
Любые HSCT	27 (49)	22 (50)
Аллогенные	4 (7)	3 (7)
Аутологичные	24 (44)	20 (45)

*SD или PD до последней схемы, содержащей химию, или рецидив <12 месяцев после аутологичных SCT

Вводимые терапевтические Т клеточные композиции были созданы способом, включающим обогащение на основе иммуноаффиности (например, иммуномагнитным селектированием) $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток из образцов лейкафереза от отдельных субъектов, подлежащих лечению. Выделенные $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клетки отдельно активируют и независимо трансдуцируют вирусным вектором (например, лентивирусным вектором),

кодирующим анти-CD19 CAR, после отдельного размножения и криоконсервации сконструированных клеточных популяций в низком объеме. CAR, содержащие анти-CD19 scFv, полученные из антитела мыши (вариабельная область получена из FMC63, ориентация V_L-линкер-V_H), полученный из иммуноглобулина спейсер, трансмембранный домен, полученный из CD28, костимулирующая область, полученная из 4-1BB и CD3-дзета внутриклеточный сигнальный домен. Вирусный вектор дополнительно содержит последовательности, кодирующие усеченный рецептор, который служит суррогатным маркером для CAR экспрессии; отделенные от CAR последовательности T2A последовательностью проскока рибосомы.

Криоконсервированные клеточные композиции размораживают до внутривенного введения. Терапевтическую дозу Т клеток вводят в виде определенной клеточной композиции введением составленной $CD4^+$ CAR^+ клеточной популяции и составленной $CD8^+$ CAR^+ популяции, вводимой в целевом отношении приблизительно 1:1. Субъектам вводят одинарную или двойную дозу CAR-экспрессирующих Т клеток (каждая одинарная доза через отдельное вливание $CD4^+$ CAR-экспрессирующих Т клеток и $CD8^+$ CAR-экспрессирующих Т клеток, соответственно) следующим образом: одну дозу с уровнем дозы 1 (DL-1), содержащую 5×10^7 всего CAR-экспрессирующих Т клеток (n=30 для субъектов, оцениваемых в Примере 1.A.1), двойную дозу DL1, где каждую дозу вводят с интервалом приблизительно четырнадцать (14) дней (n=6 для субъектов, оцениваемых в Примере 1.A.1, вводят в день 1 и день 14, включая одного субъекта, который непреднамеренно получил две DL2 дозы по двухдозной схеме, из-за ошибки дозирования) или одну дозу с уровнем дозы 2 (DL-2), содержащую 1×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток (n=18 для субъектов, оцениваемых в Примере 1.A.1). Целевой уровень дозы и количество подмножеств Т клеток для вводимых композиций указаны в **Таблице E2**.

Таблица E2. Целевой уровень доз и количество подмножеств Т клеток для клеточных композиций, содержащих анти-CD19 CAR Т клетки

Уровень дозы	**Доза хелперных Т клеток (T_H) ($CD4^+CAR^+$)**	**Доза цитотоксических Т клеток (T_C) ($CD8^+CAR^+$)**	**Общая доза Т клеток ($CD3^+$ CAR^+)**
1	25×10^6	25×10^6	50×10^6
2	50×10^6	50×10^6	100×10^6

До инфузии CAR^+ Т клеток, субъекты получают противолимфомную химиотерапию флударабином (flu, 30 мг/м^2) и циклофосфамидом (Cy, 300мг/м^2) в течение трех (3) дней. Субъекты получают CAR-экспрессирующие Т клетки через 2-7 дней после противолимфомной терапии.

Пример 1.A.2

В Примере 1.A.2, в последующий момент времени в клиническом исследовании, описанном в примере Пример 1 выше, анализируют результаты. В момент анализа в Примере 1.A.2, лечат 74 пациентов (51 мужчин, 23 женщин). Субъекты включают

шестьдесят девять (69) субъектов в полной DLBCL когорте (включая 67 DLBCL NOS (45 de novo, 14 трансформированной из FL, 8 трансформированной из CLL или MZL), 1 FL степень 3B и 1 PMBCL) и 5 субъектов в MCL когорте. Среди субъектов в полной (DLBCL) когорте, средний возраст составляет 61 год (диапазон 26, 82), среднее количество предшествующих терапий 3 (диапазон 1, 12), 46 (67%) являются химиорефрактерными, 32 (46%) имели любой предшествующий трансплантат и, по меньшей мере, 16 (23%) пациентов имеют двойную/тройную лимфому. Сорок девять (49) субъектов в основной когорте оценивают в этот момент времени в 1.A.2.

B. Безопасность

Присутствие или отсутствие вызванных лечением побочных явлений (TEAE) после введения CAR-T клеточной терапии оценивают. Субъектов также оценивают и отслеживают на степень нейротоксичности (неврологические осложнения включают симптомы спутанности сознания, афазии, энцефалопатии, миоклонуса, судорог, конвульсий, летаргии и/или измененного состояния сознания) по шкале 1-5, согласно шкале National Cancer Institute - Common Toxicity Criteria (CTCAE), версия 4,03 (NCI-CTCAE v4,03). Common Toxicity Criteria (CTCAE) scale, версия 4,03 (NCI-CTCAE v4,03). См. Common Terminology for Adverse Events (CTCAE) Version 4, U.S. Department of Health and Human Services, Published: May 28, 2009 (v4,03: June 14, 2010); и Guido Cavaletti & Paola Marmiroli *Nature Reviews Neurology* 6, 657-666 (December 2010). Степень синдрома выделения цитокина (CRS) также определяют и отслеживают на основе тяжести. См. Lee et al, Blood. 2014;124(2):188-95. В некоторых случаях, данные неблагоприятных событий описывают и собирают, начиная с противолимфомной терапии до 90 дней после введения CAR^+ Т клеток.

Пример 1.B.1

В Примере 1.B.1 описаны результаты на основе анализа момента времени в Примере 1.A.1.

На **ФИГ. 1** показана доля таких субъектов, у которых наблюдались опытные лабораторные аномалии и TEAE, которые возникали у ≥20% субъектов. Кроме TEAE, показанных на **ФИГ. 1**, следующие события наблюдали со степенью 3-4 у ≥5% пациентов: снижение количества белых клеток крови (13,6%), энцефалопатия (12%), гипертензия (7%). Наблюдаемая степень токсичности была согласующейся для уровней доз 1 и 2.

У 84% субъектов из полной когорты в Пример 1.B.1 при анализе не наблюдали тяжелый (степень 3 или выше) синдром выделения цитокина (CRS) и тяжелую нейротоксичность. Дополнительно, наблюдали, что у 60% субъектов из полной когорты не развивается какая-либо степень CRS или нейротоксичности. Никакой разницы в количестве случаев CRS, нейротоксичности (NT), sCRS или тяжелой нейротоксичности (sNT) не наблюдали между уровнями доз. В **Таблице E3** суммировано количество случаев неблагоприятных событий синдрома выделения цитокина (CRS) и нейротоксичности у пациентов через 28 дней после получения, по меньшей мере, одной дозы CAR-T клеток. Как показано в **Таблице E3**, sCRS (Степень 3-4) не наблюдался у субъектов, которые

получили одну дозу DL2 или двойную дозу DL1. Тяжелая нейротоксичность или тяжелый CRS (степень 3-4) наблюдали у 16% (9/55) в полной когорте субъектов и у 18% (8/44) субъектов в основном подмножестве. 11% (n=6) субъектов получали тоцилизумаб, 24% (n=13) субъектов получали дексаметазон. Для ECOG2 субъектов в полной когорте, наблюдаемые случаи CRS и нейротоксичности составляли 71% и 29%, соответственно.

Таблица E3. Оценка присутствия или отсутствия неблагоприятных событий CRS и нейротоксичности для примера 1.B.1

	ПОЛНАЯ				**ОСНОВНАЯ**
	Все уровни доз	**DL1S**	**DL2S**	**DL1D†**	
Безопасность, N	55	30	19	6	44
sCRS или sNT, n (%)	9 (16)	6 (20)	2 (11)	1 (17)	8 (18)
CRS или NT, n (%)	22 (40)	12 (40)	7 (37)	3 (50)	15 (34)
CRS					
Степень 1-2, n (%)	18 (33)	10 (33)	5 (26)	3 (50)	12 (27)
Степень 3-4, n (%)	1 (2)	1 (3)	0	0	1 (2)
Нейротоксичность					
Степень 1-2, n (%)	3 (6)	1 (3)	2 (11)	0	2 (5)
Степень 3-4, n (%)	9 (16)	6 (20)	2 (11)	1 (17)	8 (18)

† Включает одного пациента, леченного по схеме дозирования DL2 2 дозами из-за ошибки дозирования

На **ФИГ. 2** показана кривая Каплана-Мейера, показывающая наблюдаемое время наступления CRS и/или нейротоксичности для анализа в 1.B.1. Как показано, наблюдаемое среднее время наступления CRS и наступления нейротоксичности составляет 5 и 11 дней, соответственно, где только 11% пациентов показывали наступление CRS меньше чем за 72 часа после начала введения клеточной терапии. Среднее время до ослабления CRS и нейротоксичности до Степени 1 или лучше составляет 5 и 7 дней, соответственно. Среднее до полного исчезновения CRS и нейротоксичности составляло 5 и 11 дней, соответственно. Результаты согласуются с заключением, что имеется низкая вероятность раннего наступления любых из CRS или нейротоксичности у субъектов.

Пример 1.B.2

Пример 1.B.2 описывает оценку в момент времени в Примере 1.A.2. Вплоть до этого момента времени, данные неблагоприятных событий (AE) собирают, начиная от

противолимфомной терапии (LD) до 90 дней после введения CAR-экспрессирующих Т клеток. Вов торой момент времени, 69 субъектов в DLBCL когорте (полной когорте) оценивают на безопасность, 38 из них получают DL1 одну дозу, 25 получают DL2 одну дозу и 6 получают DL1 двойную дозу. Наиболее частые TEAE, отличные от CRS или NT включают нейтропению (41%, 28/69), утомляемость (30%, 21/69), тромбоцитопению (30%, 21/69) и анемию (26%, 18/69). Наблюдают одно TEAE Степени 5 в виде диффузного альвеолярного повреждения.

Острая инфузионная токсичность не наблюдалась, и у большинства субъектов полной когорты, 64% (44/69), наблюдалось отсутствие CRS или NT, что возможна амбулаторная доставка CAR-экспрессирующих Т-клеток. Степени ассоциированной с CAR Т клетками токсичности, включая CRS и NT, не различались между когортами и уровнями доз. Среди 25 субъектов в полной когорте (36%) которые испытывали любую степень CRS или NT, 21 (30%) имели CRS и 14 (20%) имели NT. Ни один из субъектов не имел Степень 3 CRS и только один (1%, 1/69) имел Степень 4 CRS и потребовалось помещение в ПИТ; другие 29% (20/69) имели Степень 1-2 CRS. Из 20% субъектов с NT, 6% (4/69) имели Степень 1-2 и 14% (10/69) имели Степень 3-4; 2 (3%) имели судороги. Степень 5 CRS или степень 5 NT не наблюдалась. Случаи отека мозга не наблюдались. Все CRS и NT события были разрешены, за исключением одного случая тремора Степень 1, который не прошел на момент анализа. Среднее время наступления первого CRS и NT составляло 5 дней (диапазон 2, 12) и 10 дней (диапазон 5, 23), соответственно. В первые 72 часов после инфузии, ни у одного субъекта не наблюдали NT и только у 10% (7/69) наблюдали CRS (все Степень 1); NT предварялась CRS у >70% субъектов. В общем, тринадцать (13) субъектов (19%) потребовали вмешательства для CRS или NT с помощью анти-цитокиновой терапии (только тоцилизумаб 1 (1%), только дексаметазон 6 (9%) или оба 6 (9%)) и только один потребовал поддержки сосудосуживающим фактором. Средние дозы тоцилизумаба и дексаметазона составляли 1 и 6, соответственно. Средняя длительность CRS и NT составляла 5 дней и 11 дней, соответственно. Анализ основной когорты (n=49) также показал похожее количество случаев CRS и NT.

В этой оценке, наблюдали низкое количество случаев и позднее наступление CRS и/или NT, при обоих уровнях доз, что подтверждает осуществимость амбулаторного вливания, например, при госпитализации при первом признаке лихорадки или лихорадке, продолжающейся после определенного периода времени. Степень 5 CRS или степень 5 NT не наблюдали, и все случаи тяжелого CRS и тяжелого NT разрешались. Кроме того, приблизительно 2 из 3 пациентов не имели CRS или NT, подтверждая то, что клетки могут вводиться амбулаторно. В момент оценки в 1.B.2, четырех субъектов лечили в амбулаторном режиме. Кроме того, никаких значимых различий в токсичности не наблюдалось у субъектов, получавших DL1 или DL2, что указывает на достижение высокого ответа без повышенного риска токсичности или безопасности.

C. Ответ после лечения

У субъектов отслеживают ответ, включая оценку опухолевой массы через 1, 3, 6, 7,

12, 18 и 24 месяцев после введения CAR^+ Т клеток.

Пример 1.C.1

В Примере 1.C.1 описаны результаты на основе анализа в момент времени в Примере 1.A.1 и 1.B.1.

Оценки ответа перечислены в **Таблице E4.** Высокие оценки устойчивого ответа наблюдают когорте субъектов, который включает субъектов, предварительно подвергутых лечению большим дозами ли с неблагоприятным прогнозом и/или с рецидивирующем или рефрактерным заболеванием. Для субъектов по всем дозам в основной (n=44) когорте, наблюдаемая суммарная эффективность терапии (ORR) составляет 86% наблюдаемый полный ответ (CR) составляет 59%. Через три месяца для основной когорты, суммарная эффективность терапии (ORR) составляет 66%; трехмесячная оценка CR составляет 50% для основной когорты. В основной когорте, 3-месячный ORR составляет 58% (11/19) на уровне дозы 1 и 78% при уровня дозы 2; 3-месячная оценка CR составляет 42% (8/19) для уровня дозы 1 и 56% (5/9) для уровня дозы 2, что согласуется с предлагаемым эффектом доза-ответ от результата лечения. Дополнительно, результаты согласуются с отношениями между дозой и стойкостью ответа.

Таблица E4. Ответ

	ПОЛНАЯ				**ОСНОВНАЯ**			
	Все уровни доз	**DL1S**	**DL2S**	**DL1D[c]**	**Все уровни доз**	**DL1S**	**DL2S**	**DL1D[a]**
Наилучший общий Ответ, N[a]	54	30	18	6	44	25	15	4
ORR,% (95% CI)	76 (62, 87)	80 (61, 92)	72 (47, 90)	67 (23, 96)	86 (73, 95)	84 (64, 95)	87 (60, 98)	100 (40, 100)
CR,% (95% CI)	52 (38, 66)	53 (34, 72)	50 (26, 74)	50 (12, 88)	59 (43, 74)	56 (35, 76)	60 (32, 84)	75 (19, 99)
≥3 мес f/u, n[b]	41	24	11	6	32	19	9	4
3 мес ORR,% (95% CI)	51 (35, 67)	46 (26, 67)	64 (31, 89)	50 (12, 88)	66 (47, 81)	58 (34, 80)	78 (40, 97)	75 (19, 99)
3 мес	39	33	46	50	50	42	56	75

CR,% (95% CI)	(24, 56)	(16, 55)	(17, 77)	(12, 88)	(32, 68)	(20, 67)	(21, 86)	(19, 99)

DL1S: Схема DL1 1 доза; DL2S: схема DL2 1 доза; DL1D: схема DL1 2 дозы;

[a] Включены пациенты с событием PD, смертью или проведением повторных исследований на 28 день. Леченные пациенты за 28 дней до даты прекращения сбора данных не включены.

[b] Показателем является количество пациентов, которые получали CAR T-клеточную терапию ≥3 месяцев до даты прекращения сбора данных с оценкой эффективности на 3 месяц до оценки PD или смерти.

[c] Включает одного пациента, леченного по схеме DL2 2 дозами из-за ошибки дозирования

Суммарная эффективность терапии для разных подгрупп субъектов в полной и основной когортах показана на **ФИГ. 3А** и **3В**, соответственно. В подгруппах DLBCL с низким риском оценка ответа обычно выше. ORR более чем 50% наблюдают через 3 месяца у пациентов с двойным/тройным молекулярным подтипом, которые имеют первичную рефрактерную или химиорефрактерную DLBCL или которые ранее не достигали CR. Полное исключение вовлечения ЦНС при лимфоме наблюдают у 2 пациентов.

Среди подвергутых лечению субъектов в течение шести месяцев или более до конкретного момента времени оценки, десять (10) пациентов дают ответ в течение трех месяцев, 9 (90%) сохраняют ответ в течение шести месяцев. В момент оценки, 97% субъектов в основном подмножестве, которые давали ответ, оставались живыми при отслеживании, при среднем периоде наблюдения 3,2 месяца.

Результаты длительности ответа и общего выживания (сгруппированные по наилучшему общему ответу (пациенты с отсутствием клинического ответа, CR/PR, CR и/или PR)) показаны для полной и основной когорт субъектов на **ФИГ. 4А** и **4В**, соответственно. Как показано, пролонгированное выживание наблюдается у пациентов с клиническими ответами, при повышенной стойкости ответа у субъектов с CR. Все пациенты с ответом в течение трех месяцев оставалась живыми в момент оценки, хотя 5/6 субъектов с плохим показателем общего состояния (ECOG 2) были исключены.

На **ФИГ. 8** показан график времени без прогрессирования (месяцев) для отдельных субъектов в пределах полной и основной когорт. Каждый столбик представляет одного пациента. Штриховка означает наилучший общий ответ (в каждом случае, если не указано иное, достигаемый через 1 месяц); текстура означает дозу (сплошная=уровень дозы 1, одна доза; заштрихованный наискось, уровень дозы 2, одна дозу; заштрихованный вертикально=уровень дозы 1, две дозы). Горизонтальные стрелки показывают продолжающийся ответ. Определенных отдельных субъектов оценивают изначально (например, на 1 месяц) как демонстрирующих стабильное заболевание (SD) или частичный ответ (PR) и далее наблюдают достижение PR (например, превращение SD в PR) или CR. В таких случаях, штриховка столбиков отдельных пациентов, как отмечено, указывает на

наилучший общий ответ, и точки (некоторое соответствие штриховки достигаемому ответу) вдоль каждого столбика отдельного субъекта показывают, когда наблюдается наступление каждого из SD, PR, и/или CR у субъекта.

Полное исключение вовлечения ЦНС при лимфоме наблюдают у двух пациентов. Наблюдают, что CAR^+ клетки у одного субъекта размножились после биопсии после рецидива. Субъект, который демонстрировал размножение после биопсии имел химиорефрактерную трансформированную DLBCL (подтип зародышевого центра с BCL2 перестройкой и множеством копий *MYC* и BCL6). Субъекту вводят CAR^+ Т клетки в DL-1, и количество $CD3^+/CAR^+$, $CD4^+/CAR^+$, $CD8^+/CAR^+$ Т клеток в периферической крови, измеренное в определенные моменты времени, показано на **ФИГ. 6А**. Субъекту ранее вводили, и он был рефрактерным к пяти предшествующим линиям терапии, включая этопозид с индивидуальным подбором дозы, доксорубицин и циклофосфамид с винкристином и преднизоном плюс ритуксимаб (DA-EPOCH-R) и умеренной интенсивностью трансплантации аллогенных стволовых клеток из an 8/8 HLA-совпадающим не родственным донором. После трансплантации аллогенных стволовых клеток и до получения CAR^+ Т клеток, субъект показывал 100% донорный химеризм во всех клеточных линиях крови, прекратил иммунодепрессивную терапию и не имел заболевание трансплантат против хозяина (GVHD). До введения CAR^+ Т клеток, субъект имел околопредсердную массу и поражение височной доли согласно позитронно-эмиссионной томографии и компьютерной томографии (ПЭТ-КТ) (**ФИГ. 6В**) и подтвержденную магнитно-резонансной томографией (МРТ) (**ФИГ. 6D**).

После получения анти-CD19 CAR-Т клеточной терапии, субъект достигает CR 28 через дней после инфузии, как показано ПЭТ-КТ (**ФИГ. 6С**) и МРТ мозга (**ФИГ. 6Е**), при отсутствии признаков нейротоксичности или CRS. Через три месяца после вливания CAR-Т клеток, у этого субъекта отмечают рецидив околопредсердной массы (**ФИГ. 6F**) и проводят инцизионную биопсию. Как показано в **ФИГ. 6А**, после биопсии, видимая опухоль снижается без дополнительной терапии. Фармакокинетический анализ показал заметное повторно размножение CAR^+ Т клеток в периферической крови (до уровня выше, чем начальное наблюдаемое размножение, с пиковыми уровнями, наблюдаемыми через примерно 113 дней после инфузии), что согласуется с регрессией опухоли. Затем субъект продолжает давать второй CR, что подтверждено повторным ПЭТ-КТ через месяц после биопсии (**ФИГ. 6G**) и остается в CR через 6 месяцев после инфузии CAR-Т клеток. Дальнейшая оценка субъекта показала, что ЦНС ответ был устойчивым и субъект оставался в CR в течение 12 месяцев.

Результаты у субъекта, получившего биопсию после наблюдаемого повторного размножения CAR^+ Т клеток, согласуются с заключением, что повторное размножение и активация CAR^+Т клеток может быть инициирована *in vivo* после снижения или потери функциональных и активных CAR^+ Т клеток и/или рецидива после противоопухолевого ответа на CAR-Т клеточную терапию. Далее, после повторного размножения *in vivo* позже после исходной инфузии CAR^+ Т клеток, CAR^+ Т клетки способны повторно проявлять

противоопухолевую активность. Этот результат подтверждает, что повторное размножение и активация CAR+ T клеток может быть запущена *in vivo,* и способы повторной активации CAR+ T клеток может дополнительно усиливать их эффективность.

Полные ответы у двух DLBCL субъектов с вовлечением ЦНС наблюдают без развития какой-либо степени нейротоксичности. Эти результаты согласуются с наблюдением, что CAR+ T клетки по вариантам осуществления, представленным в настоящем документе, способны легко достигать ЦНС и оказывать эффекторную функцию для снижения или устранения опухолей ЦНС, без повышения или без значительного повышения риска токсичности, такой как нейротоксичность. В других исследованиях, среди субъектов, имеющих ALL, подвергутых лечению анти-CD19 CAR T клетками, никакой четкой корреляции не наблюдается между случаями нейротоксичности и присутствием лейкоза ЦНС в мозге (который, по наблюдениям, реагирует на такую CAR T клеточную терапию). Таким образом, в то время как нейротоксичность может возникать в некоторых контекстах после лечения CAR-T терапиями, такая нейротоксичность не обязательно может вызвать целевую экспрессию в мозге или активность CAR T клеток в ЦНС и может не вызвать «целевую» токсичность CAR+ T клетками.

Пример 1.C.2

Пример 1.C.2 описывает результаты на основе анализа в момент времени в Примере 1.A.2 и 1.B.2.

Вплоть до момента времени в Примере 1.C.2, 68 субъектов в полной DLBCL когорте оценивают на ответ. Общий или объективный ответ (OR), 3-месячная и 6-месячная частота объективного ответа были 75% (51/68), 49% (27/55) и 40% (14/35), соответственно. Полный ответ (CR), 3-месячный CR и 6-месячный CR составляли 56% (38/68), 40% (22/55) и 37% (13/35), соответственно. Тенденцию к улучшенному ответу через 3 месяца наблюдают у субъектов, подвергутых лечению в DL2 по сравнению с DL1: 63% (12/19; 95% CI 38, 84) к 40% (12/30; 95% CI 23, 59) для ORR с p=0,148 и 58% (11/19; 95% CI 34, 80) к 27% (8/30; 95% CI: 12, 46) для CR с p=0,0385. Среди субъектов с двойной/тройной лимфомой, ORR составлял 81%, и 3-месячный CR составлял 60%.

В основной когорте (n=49 на момент времени в Примере 1.C.2), OR, 3-месячный и 6-месячный OR составлял 84% (41/49), 65% (26/40) и 57% (13/23), соответственно. CR, 3-месячный CR и 6-месячный CR составлял 61% (30/49), 53% (21/40) и 52% (12/23), соответственно. Аналогичную тенденцию наблюдают при улучшенном ORR и CR через 3 месяца при более высоких дозах. Более конкретно, для пациентов в основной когорте, которым вводили DL2, 3-месячный ORR составляет 80% (12/15; 95% CI 52, 96) и 3-месячный CR составляет 73% (11/15; 95% CI 45, 92), по сравнению с 3-месячным ORR и CR 52% (11/21; 95% CI 30, 74) и 33% (7/21; 95% CI 15, 57) в основной когорте субъектов, которым вводили DL1, с p=0,159 и p=0,0409, соответственно. Среди субъектов в основной когорте, которым вводили DL2 и при 3-месячном отслеживании (n=15), 3-месячный ORR составлял 80% и 3-месячный CR составлял 73%.

Средний DOR в полной когорте и основной когортах в этот момент времени в 1.C.2

составляет 5,0 и 9,2 месяцев, соответственно; средняя длительность CR составляет 9,2 месяцев в полной когорте. Средняя длительность CR не достигается в основной когорте. Среднее общее выживание (OS) составляет 13,7 месяцев в полной когорте и не достигалось в основной когорте. 6-месячный OS составляет 75% в полной когорте, при среднем периоде наблюдения 5,8 месяцев. 6-месячный OS составляет 88% в основной когорте, при среднем отслеживании 5,6 месяцев.

D. Оценка CAR$^+$ T клеток в крови

На основе данных на момент времени, описанный в Примере 1.A.1, 1.B.1 и 1.C.1, проводят фармакокинетический анализ для оценки количества CAR$^+$ T клеток в периферической крови в разные моменты времени после лечения**.** Анализируют результаты от пятидесяти пяти (55) субъектов, оцениваемых в момент времени в Примере 1.A.1 в когорте и четырех (4) субъектов (оцениваемых в тот же момент времени) в когорте мантийноклеточной лимфомы (MCL), как описано в Примере 2 ниже. Измерения фармакокинетики (PK) проводят с применением утвержденной проточной цитометрии для определения маркера, экспрессированного в CAR конструкции, и анализов на основе количественной ПЦР для определения интеграции конструкции. B-клеточную аплазию оценивают проточной цитометрией с применением анти-CD19 антител. Как показано в **ФИГ. 5A**, CD4$^+$ и CD8$^+$ CAR-экспрессирующие клетки, по данным количества клеток/мкл крови (среднее ± квартили), нанесенным на log шкалу, определяют через курс оценки для обоих вводимых уровней доз. Субъекты, получающие DL2 относительно DL1 имеют C_{max} выше среднего и среднюю $ППК_{0\text{-}28}$ для CD3$^+$/CAR$^+$, CD4$^+$/CAR$^+$ и CD8$^+$/CAR$^+$ T клеточных подмножеств в периферической крови ($AUC_{0\text{-}28}$: DL2 к DL1 составляет 1836 к 461, 350 к 182 и 1628 к 114, для CD3$^+$, CD4$^+$ и CD8$^+$, соответственно; $p < 0{,}05$ for CD8$^+$; C_{max}: DL2 к DL1 составляла 99,8 к 27,9, 15,1 к 5,2 и 73,1 к 5,5 клеток/мкл, соответственно). Среднее время до максимального размножения CD3$^+$ CAR$^+$ T клеток составляет 15 дней (диапазон 8-29) и не отличается для уровней доз. CD4$^+$ и CB8$^+$ CAR-экспрессирующие T клетки были размещены в костном мозге на относительно одинаковых уровнях.

Повышенную среднюю площадь под кривой (ППК) (количество CD8$^+$ CAR$^+$ T клеток с течением времени в крови) наблюдают среди субъектов, которым вводили более высокий уровень дозы по сравнению более низким уровнем дозы, без наблюдаемого повышения токсичности. Более высокий пик концентрации CD8$^+$/CAR$^+$ T клеток наблюдают у пациентов с клиническим ответом (CR/PR), по сравнению с пациентами с отсутствием клинического ответа (PD); жизнестойкость клеток в течение времени оценки, включая до 3 и 6 месяцев, наблюдают даже у субъектов, заболевание которых прогрессировало **(ФИГ. 5B)**. Средняя C_{max} и средняя $ППК_{0\text{-}28}$ CD8$^+$ CAR$^+$ T клеток была выше у отвечающих субъектов и с устойчивым ответом через 3 месяца (CD8$^+$ C_{max} средняя=20,8 к 5,5; CD8$^+$ $ППК_{0\text{-}28}$ средняя=235 к 55 у CR/PR на 3 месяц к PD на 3 месяц). Среди субъектов, у которых оценивали жизнестойкость CAR T клеток, у 90% и 93% из 29 субъектов были определяемые CD8$^+$ и CD4$^+$ CAR$^+$ T клетки, соответственно, на 3 месяц; 63% и 58% из 19 субъектов имели определяемые CD8$^+$ и CD4$^+$ CAR$^+$ T клетки,

соответственно, на 6 месяц. На 3 и 6 месяцы, никакой статистически значимой разницы в жизнестойкости CAR^+ Т клеток не наблюдают у субъектов с устойчивым ответом или рецидивом. CAR^+ Т клетки были определяемыми во время рецидива у 89% из 11 субъектов с РК, даже если В клеточная аплазия (<1 клеток/мкл) демонстрировалась у почти всех субъектов 97% (34/35) на 3 месяц и 100% (24/24) на 6 месяц.

Более высокую C_{max} и AUC_{0-28} при DL2 по сравнению с DL1 не наблюдают в ассоциации с повышенным CRS или NT. Для любой NT или для CRS > Степени 2, средние ППК $CD4^+/CAR^+$ и $CD8^+/CAR^+$ Т клеток были в 5-10 раз и 3-5 раз выше, соответственно, чем средние ППК для DL2. Более высокую тяжесть заболевания и базовые уровни воспалительных цитокинов наблюдают в ассоциации с более высокими пиковыми уровнями CAR^+ Т клеток, более высокими пиковыми уровнями цитокинов и более частыми случаями CRS и NT. Результаты согласуются с заключением, что более высокие C_{max} и средняя $ППК_{0-28}$ при DL2 не повышают CRS или NT.

Результаты согласуются с выводом о том, что лечение привело к длительной концентрации и жизнестойкости сконструированных клеток, даже у субъектов с плохими ответами. В некоторых вариантах осуществления, используют комбинированные подходы, такие как введение модулятора иммунных контрольных точек или другого иммуномодулирующего агента, например, после рецидива или прогрессирования заболевания, в момент времени, в котором сконструированные клетки сохраняются у субъекта, например, при измерении уровней клеток в периферической крови. В некоторых аспектах, клетки, сохраняющиеся в течение длительного периода, повторно размножаются или становятся активированными и/или демонстрируют противоопухолевую функцию после введения другого агента или лечения. Более высокое среднее количество $CD4^+$ и $CD8^+$ CAR^+ Т клеток обычно наблюдают с течением времени в крови субъектов, у которых развилась нейротоксичность (**ФИГ. 5С**). Результаты показывают, что CAR^+ Т клетки демонстрируют размножение и жизнестойкость, стойкость ответа через 3 месяца, которые повышены при более высоких уровнях дозы, без повышенной токсичности. Наблюдают результаты, которые согласуются с предположением, что высокие пиковые уровни CAR^+ Т клеток и цитокинов в крови могут быть ассоциированы с NT и CRS и на них могут влиять базовые факторы субъекта. Наблюдаемые CAR^+ Т клетки присутствуют во время рецидива, показывая, что комбинированные и повторные подходы могут давать определенные преимущества.

Е. Анализируемые вещества в крови и нейротоксичность, CRS и ответ

Разные уровни анализируемых веществ в крови до лечения кровь, включая цитокины, измеряют в сыворотке субъектов (оцениваемых в момент времени в Примере 1.А.1), до введения CAR^+ Т клеток. Цитокины измеряют с применением мультиплексного анализа цитокина. Потенциальные корреляции с риском развития нейротоксичности оценивают с применением статистического анализа на основе одномерного непараметрического критерия.

На **ФИГ. 7** показаны средние уровни оцениваемых анализируемых веществ в

единицах (LDH, ЕД/Л; ферритин, нг/мл; CRP, мг/л; цитокины, пг/мл) у субъектов, у которых не развилась нейротоксичность по сравнению с субъектами, у которых развилась нейротоксичность после CAR^+ Т клеточной терапии. Наблюдают, что уровни определенных анализируемых веществ в крови, включая LDH, Ферритин, CRP, IL-6, IL-8, IL-10, TNF-α, IFN-α2, MCP-1 и MIP-1β, ассоциированы с уровнем риска развития нейротоксичности (Wilcoxon p значения <0,05, без корректировки мультиплетности). В частности, результаты согласуются с заключением что до лечения уровни LDH, которые, в некоторых вариантах осуществления, являются суррогатным для тяжести заболевания, могут применяться для оценки потенциального риска нейротоксичности и/или адаптированного к риску дозирования или корректировки лечения определенных субъектов. Кроме того, опухолевую массу, измеренную до введения CAR-T клеточной композиции коррелируют (Spearman p значения <0,05) с риском развития нейротоксичность. В некоторых аспектах, уровни LDH могут оцениваться отдельно и/или в комбинации с другим параметром до лечения, таким как другая мера или показатель тяжести заболевания, например, объемного измерения опухоли, такого как сумма произведений измерений (SPD) или другой объемный параметр оценки тяжести заболевания на основе КТ или МРТ. В некоторых аспектах, оценивают один или несколько параметров, являющихся показателем тяжести заболевания, и они могут означать присутствие, отсутствие или степень риска развития нейротоксичности после Т клеточной терапии. В некоторых аспектах, один или несколько параметров включают LDH и/или объемное измерение опухоли.

В дополнительном анализе, пятьдесят пять (55) субъектов в DLBCL когорте в момент времени в Примере 1.A.1 и четырех (4) субъектов с мантийноклеточной лимфомой (MCL), описанных в Примере 2 ниже включали в анализ для корреляции с оценками безопасности. У 59 субъектов оценивают безопасность, CRS наблюдают у 32% (30% Степень 1-2, 0% Степень 3, 2% Степень 4); NT наблюдают у 20% (5% Степень 1-2, 10% Степень 3, 5% Степень 4). Уровень дозы не коррелирует с CRS или NT (p=0,565 и p=1,00, соответственно). Субъективными факторами, которые коррелировали с любой степенью CRS и NT были более плохой показатель общего состояния (например ECOG статус 2) (p=0,03) и более высокая тяжесть заболевания (p <0,05) по данным суммы произведений диаметров (SPD) на основе результатов визуализации. Клинические лабораторные параметры до инфузии CAR^+ Т клеток и измерения цитокинов до инфузии CAR^+ Т клеток, которые по наблюдениям были ассоциированы с наступлением любой степени NT, включают высокий сывороточный LDH, ферритин и CRP и более высокий IL-6, IL-8, IL-10, TNF-α, IFN-α2, MCP-1 и MIP-1β плазмы (p<0,05 для каждого). Более высокие уровни IL-8, IL-10 и CXCL10 в плазме до инфузии CAR^+ Т клеток были также ассоциированы со степенью 3-4 NT (p<0,05 для каждой).

Из 54 субъектов в DLBCL когорте, которые оценивали на ответ, более высокие оценки ECOG м DLBCL, трансформированная из CLL или MZL коррелировали с более низким устойчивым ответом на 3 месяце (p=0,02 для обоих). Параметры до инфузии клеток CAR^+ Т, ассоциированные с наилучшим ORR, включают низкие уровни ферритина, LDH,

CXCL10, G-CSF и IL-10 и те, которые ассоциированы с устойчивым ответом через 3 месяца, включают более низкий ферритин, CRP, LDH, CXCL10, IL-8, IL-10, IL-15, MCP-1, MIP-1β, TNF-α и более высокий гемоглобин and альбумин до инфузии CAR^+ T (p<0,05 для каждого).

В некоторых случаях, образец афереза и CAR^+ T клеточную композицию для введения коррелируют с клиническими результатами. Результаты показывают, что подмножества T клеток памяти и функциональность T клеток могут коррелировать с определенными клиническими результатами.

Результаты показывают, что определенные базовые характеристики пациента, включая воспалительное состояние и высокую опухолевую массу до лечения, могут применяться для идентификации пациентов с риском повышенной токсичности после введения CAR-экспрессирующих T клеток. Наблюдают, что низкая опухолевая масса и низкое воспалительное состояние ассоциированы с улучшенным профилем токсичности и лучшей устойчивостью ответа. Результаты подтверждают, что лечение субъектов на более раннем этапе в ходе терапии и/или оценка панели клинических и лабораторных биомаркеров по риску расслоения субъектов для потенциального раннего вмешательства может снизить риск токсичности и улучшить устойчивость ответа.

Пример 2. Введение анти-CD19 CAR-экспрессирующих клеток субъектам с мантийноклеточной лимфомой (MCL)

Терапевтические CAR^+ T клеточные композиции, содержащие аутологичные CD4 и CD8 T клетки, экспрессирующие химерный антигенный рецептор (CAR), специфический для CD19, созданные, как описано в Примере 1, вводят людям с мантийноклеточной лимфомой (MCL), у которых не удались (рецидивирующая/рефрактерная, R/R) ≥1 предшествующие линии терапии. У подходящих по критериям пациентов подтверждают MCL (экспрессия циклин D1 или доказательство t[11;14]) с R/R заболеванием после, по меньшей мере, 1 предшествующей линии терапии. Ни одного субъекта не исключили по причине предшествующей трансплантации аллогенных стволовых клеток (SCT), вторичного вовлечения центральной нервной системы (ЦНС), и не определен минимум абсолютного содержания лимфоцитов (ALC), требуемый для афереза. Также не были исключены субъекты на основе ECOG оценки 2, которая позже была изменена, чтобы также включить субъектов с оценкой ECOG 0-1. Переходная терапия во время производства T клеточной композиции разрешена.

Пример 2.A

Терапевтические CAR^+ T клеточные композиции, содержащие аутологичные T клетки, экспрессирующие химерный антигенный рецептор (CAR), специфический для CD19, созданные, как описано в Примере 1, вводят четырем (4) людям с мантийноклеточной лимфомой (MCL), потерпевших неудачу после, по меньшей мере, 1 линии терапии. Криоконсервированные клеточные композиции размораживают до внутривенного введения. Терапевтическую T клеточную композицию вводят в виде определенной композиции клеточного продукта с составленными $CD4^+$ и $CD8^+$ популяций CAR^+ сконструированных T-клеток, полученных у того же субъекта, вводимых при

целевом отношении приблизительно 1:1. Субъектам вводят дозу CAR-экспрессирующих Т клеток (в виде разделенной или отдельной дозы $CD4^+$ и $CD8^+$ CAR-экспрессирующих Т клеток) одной дозой с уровнем дозы 1 (DL1), содержащей 5×10^7 CAR-экспрессирующих Т клеток. Начиная с трех (3) дней до инфузии CAR^+ клеток, субъекты получали противолимфомную химиотерапию флударабином (flu, 30 мг/м^2) и циклофосфамидом (Cy, 300 мг/м^2).

У субъектов отслеживают ответ и токсичности, как описано в Примере 1. Никакого CRS или нейротоксичности не наблюдаю у какого-либо из субъектов. Из 4 субъектов, которых лечили, два (2) субъекта достигают PR (не устойчивый) и два (2) пациента имеют прогрессирующее заболевание.

Пример 2.B

Безопасность и эффективность оценивают в следующий момент времени в клиническом исследовании, описанном в Примере 2.A для девяти (9) людей с мантийноклеточной лимфомой (MCL), потерпевших неудачу, по меньшей мере, после 1 предшествующей линии терапии. Средний возраст составляет 66 лет (диапазон 58-78), из которых 7 субъектов были мужчинами. Гистологии включают бластоидный (n=3) и плейоморфный (n=1) варианты. У восьми (8) субъектов задокументировано Ki67 >30% (диапазон 40%-80%) и 1 субъект имел мутацию TP53. Субъекты в этот момент времени получили в среднем 5 (диапазон 3-7) предшествующих терапий, включая 3 субъектов, которые получили предшествующий трансплантат гемопоэтических стволовых клеток. Всех 9 субъектов ранее лечили ибрутинибом, из них 4 имели наилучший ответ прогрессирующего заболевания на ибрутиниб. Шесть из девяти субъектов получали (67%) переходную терапию.

После получения противолимфомный химиотерапии (LDC), как описано в Примере 2.A, субъектам вводят дозу CAR-экспрессирующих Т клеток (отдельным введением дозы $CD4^+$ и $CD8^+$ CAR-экспрессирующих Т клеток) в одной дозе 5×10^7 CAR-экспрессирующих Т клеток (DL1, примерно $2{,}5\times10^7$ CD4+CAR+ Т клеток и $2{,}5\times10^7$ CD8+CAR+ Т клеток, 6 субъектов) обычно как описано в Примере 1.A или в одной дозе 1×10^8 CAR-экспрессирующих Т клеток (DL2, примерно 5×10^7 CD4+CAR+ Т клеток и 5×10^7 CD8+CAR+ Т клеток, 3 субъекта).

Четыре (4) из девяти субъектов (44%) имеют серьезные вызванные лечением побочные явления (TEAE), 5 из девяти субъектов (56%) имели TEAE степени (G) 3/4, преимущественно анемию, нейтропению и гипофосфатемию (22% каждый) и 3 из девяти субъектов (33%) имели степень синдром выделения цитокина (CRS) 1 степени (G1). Среднее время до наступления CRS составляет 6 дней (диапазон 2-7) и среднее время до рассасывания составляет 6 дней (диапазон 2-6). Один (1) субъект получал тоцилизумаб и кортикостероиды. Неврологические события отсутствуют. Четыре (4) субъекта из DL1 когорты умерли (3 от прогрессирования заболевания и 1 после получения новой протиовораковой терапии после введения дозы анти-CD19 CAR-экспрессирующих Т клеток).

Суммарная эффективность терапии составляет 78% (7 из 9 субъектов, включая 4 из 6 субъектов в DL1 когорте (средний период наблюдения 12,4 месяца [95% CI: 9,2-12,4]) и все 3 субъекта в DL2 когорте (средний период наблюдения of 1,4 месяца [95% CI: 1,0-1,4]). Два (2) субъекта в DL1 когорте сохраняют устойчивый CR до последнего отслеживания (день 281 и 378, соответственно).

Среднее время до пикового размножения CAR+ T клеток составляет 9,5 дней (диапазон 9-10) для DL1 и 17,5 дней (10-27) для DL2.

Вместе, эти данные демонстрируют, что введение анти-CD19 CAR-T клеточной терапевтический T клеточной композиции субъектам с R/R MCL, дают переносимую токсичность и клинический ответ.

Пример 2.C

Безопасность и ответ оценивают в следующий момент времени в клиническом исследовании, описанном в Примере 2.A для семнадцати (17) людей с R/R мантийноклеточной лимфомой (MCL), потерпевших неудачу ≥1 предшествующих линий терапии. У субъектов отслеживают ответ и безопасность, как описано в Примере 1, включая оценку эффективности согласно критериям Lugano и степень CRS и NE по критериям Lee et al. (2014) и CTCAE, версия 4,03, соответственно. У субъектов отслеживают ограничивающую дозу токсичность (DLT) в течение 28 дней и вызванные лечением неблагоприятные события (TEAE) в течение 90 дней после введения анти-CD19 CAR-T клеточной терапевтический T клеточной композиции. Способ Каплана-Мейера используют для определения длительности ответа (DOR), общего выживания (OR) и выживания без прогрессирования (PFS).

Терапевтические T клеточные композиции получают от 25 субъектов, как описано в Примере 1 обогащением на основе иммуноаффинности (например, иммуномагнитным селектированием) $CD4^+$ и $CD8^+$ T-клеток из образцов лейкафереза от отдельных субъектов, подлежащих лечению. Выделенные $CD4^+$ и $CD8^+$ T-клетки отдельно активируют и независимо трансдуцируют вирусным вектором (например, лентивирусным вектором), кодируя анти-CD19 CAR, затем отдельно размножают и криоконсервируют сконструированные клеточные популяции в низком объеме. До введения терапевтической T клеточной композиции, лечение 7 субъектов прерывают из-за прогрессирования заболевания и смерти (n=3), из-за того, что больше не соответствует критериям включения из-за вторичного злокачественного образования (n=1) или из-за достижения CR во время промежуточной химиотерапии (n=3).

После получения противолимфомной химиотерапии (LDC), как описано в Примере 2.A, оставшимся субъектам вводят дозу CAR-экспрессирующих T клеток (отдельным введением дозы $CD4^+$ и $CD8^+$ CAR-экспрессирующих T клеток) одной дозой 5×10^7 CAR-экспрессирующих T клеток (DL1, примерно $2,5\times10^7$ CD4+CAR+ T клеток и $2,5\times10^7$ CD8+ CAR+ T клеток, 6 субъектов) обычно как описано в Примере 1.A, или одной дозой 1×10^8 CAR-экспрессирующих T клеток (DL2, примерно 5×10^7 CD4+CAR+ T клеток и 5×10^7 CD8+ CAR+ T клеток, 11 субъектов). Один дополнительный субъект с уровнем дозы 1 (DL1)

получает несоответствующий CAR-экспрессирующий Т-клеточный продукт с пониженной жизнеспособностью CD8+ CAR+ клеток и демонстрирует высокий индекс пролиферации опухоли (Ki67 90%); этот субъект не включен в анализы безопасности и эффективности.

Демографические и субъективные характеристики субъектов, подвергутых лечению в этот момент времени, указаны в **Таблице E4.1.** На базовом уровне, большинство субъектов получают множество линий предшествующей терапии, включая ибрутиниб, и большинство субъектов имеют плохие факторы риска, включающие бластоидные/плейоморфные варианты, TP53 мутацию или Ki67 >30%. Десять из семнадцати субъектов (59%) получают промежуточную противораковую терапию.

Таблица E4.1 Демографические и клинические характеристики субъекта на базовом уровне

	DL1 (n=6)	**DL2 (n=11)**	**Все субъекты (N=17)**
Возраст, средний (диапазон), лет	67 (58-78)	66 (53-80)	66 (53-80)
Мужчины, n	5	8	13 (76%)
SPD ($см^2$) до LDC; среднее (диапазон)	48 (2-80)	41 (0-210) [a]	41 (0-210)
LDH > 500 МЕ/мл (пре-LDC), n	3	1	4 (24%)
Предшествующие терапии; среднее (диапазон)	4 (3-6)	4 (1-8)	4 (1-8)
Предшествующий HSCT, b n	2	4	6 (35%)
Предшествующий ибрутиниб, n	6	10	16 (94%)
Рефрактерная к предшествующему ибрутинибу[c]	4	3	7 (41%)
Предшествующий венетоклакс, n	0	2	2 (12%)
Рефрактерная к предшествующему венетоклаксу[c]	НП	1	1 (6%)
Ki67 >30%, [d] n/N	6/6	7/9	13/15 (87%)
TP53 мутация, [d, e] n	1	0	1
Тип варианта, [d] n			
Бластоидный	3	1	4
Плейоморфный	1	0	1
ЦНС заболевание во время введения CAR-экспрессирующих Т клеток, n	0	1	1 (6%)
Предшествующее вовлечение костного мозга,	2/6	Н/Д	2/17 (33%)

[d, f] n			
Предшествующие плевральные выпоты, [d, g] n	1	5	6
Переходная терапия	4	6	10 (59%)

[a] Один субъект имеет не измеримое заболевание (селезеночный фрагмент, внеузловой)

[b] Один субъект получает аллогенный HSCT.

[c] Рефрактерную определяют как наилучший ответ прогрессирующего заболевания.

[d] На основе количества субъектов с доступными записями баз данных; данные не доступны для все субъектов

[e] Этот субъект также имеет Ki67 40%

[f] Не зафиксировано после внесения поправок в протокол

[g] Плевральные выпоты были зафиксированы только при указании в качестве побочного эффекта, начиная до введения анти-CD19 CAR-T клеточной терапевтической Т клеточной композиции.

ЦНС, центральная нервная система; DL, уровень дозы; HSCT, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток; LDC, противолимфомный химиотерапия; LDH, лактатдегидрогеназа; НП, не применимо; SPD, сумма произведений наибольших перпендикулярных измерений.

Безопасность

Неблагоприятные события в этой популяции субъектов в этот момент времени указаны в **Таблице E4.2**. Наиболее частым вызванным лечением побочным явлением (TEAE) степени 3 или 4 являются цитопении. Один субъект имеет TEAE степени 5 в виде альвеолярного повреждения на День 38 после получения новой противораковой терапии (ритуксимаб и леналидомид) на День 31 после введения CAR-экспрессирующих Т клеток и считается не связанным с дозой CAR-экспрессирующих Т клеток. Одна ограничивающая дозу токсичность (DLT) степени 5 синдрома лизиса опухоли возникла на день 10-12 у субъекта, который получал введение CAR-экспрессирующих Т клеток в DL2. Этот субъект имел высокую опухолевую массу, сумму произведений наибольших перпендикулярных измерений 210 $см^2$, плевральный выпот, инфильтрацию костного мозга и вовлечение ЖКТ. Субъект отказался от интубации и позднее умер.

Таблица E4.2. Вызванные лечением побочные явления

	DL1 (n=6)	DL2 (n=11)	Все субъекты (N=17)
Все TEAE	6	11	17 (100%)
Степень 3 или 4 TEAE	4	9	13 (76%)
Степень 5 TEAE[a]	0	1	1 (6%)
Серьезные TEAEs	3	7	10 (59%)

Наиболее частые TEAE степени 3 или 4			
Тромбоцитопения	1	6	7 (41%)
Анемия	2	4	6 (35%)
Нейтропения	2	4	6 (35%)
DLT[b]	0	1	1 (6%)

[a] Один субъект имеет DLT степени 5 синдрома лизиса опухоли. Субъект отказался от интубации и позднее умер.

DL, уровень дозы; DLT, дозоограничивающая токсичность; TEAE, вызванный лечением побочный эффект.

Как показано в **Таблице E4.3**, тяжелый CRS (степень 4) наблюдали у одного субъекта, леченного DL2. NE, включая тяжелый NE у 2 субъектов, возник у субъектов, подвергутых лечению DL2. The субъект, получавший несоответствующий продукт не испытывал CRS или NE.

Таблица E4.3. Неблагоприятные события, представляющие особенный интерес

	DL1 (n=6)	**DL2 (n=11)**	**Все субъекты (N=17)**
Любая степень CRS, n	1	6	7 (41%)
Степень 3 или 4 CRS	0	1	1 (6%)
Среднее время до наступления, дней (диапазон)	6 (6-6)	7 (2-10)	7 (2-10)
Среднее время до исчезновения, дней (диапазон)	2 (2-2)	5 (2-8)	4 (2-8)
Любая степень NE, n	0	3	3 (18%)
Степень 3 или 4 NE	0	2	2 (12%)
Среднее время до наступления, дней (диапазон)	НП	9 (7-25)	9 (7-25)
Среднее время до исчезновения, дней (диапазон)	НП	3 (1-3)	3 (1-3)
Тоцилизумаб, n	0	3	3 (18%)
Кортикостероид, n	0	3	3 (18%)

CRS, синдром выделения цитокина; DL, уровень дозы; НП, не применимо; NE, неврологическое событие; НО, не описано.

Ответ

Суммарная эффективность терапий для субъектов этой популяции в этот момент времени указаны в **Таблице E4.4.** Семь субъектов имеют продолжающийся CR в последний момент времени, оцениваемый в этом устройстве: один субъект до дня 365 и один субъект до дня 545 при DL1 и два субъекта до дня 180 и три субъекта до дня 90 при DL2. Среднее время до полного ответа (CR) составляет 1 месяц, и средняя длительность ответа (DOR) еще не была достигнута на момент времени клинического исследования (наблюдаемый

диапазон 1,0-16,2+). При DL1, субъекты сохраняли ответ вплоть до последнего момента времени оценки (день 545), и при DL2 субъекты сохраняли ответ вплоть до дня 180. Из 17 субъектов, 5 не отвечали на лечение: 1 субъект с вторичным вовлечением центральной нервной системы (ЦНС) не отвечал (стабильное заболевание на день 29). Два субъекта имели рецидив заболевания центральной нервной системы (ЦНС): 1 субъект имеет и ЦНС и системное заболевание на день 90, и 1 субъект имеет выделенное заболевание ЦНС на день 180.

Таблица E4.4 Суммарная эффективность терапии

	DL1[a] (n=6)	**DL2 (n=11)**	**Все субъекты (N=17)**
Наилучший ORR, n (%)	4 (67)	8 (73)	12 (71)
Наилучший CR, n (%)	2 (33)	7 (64)	9 (53)
Среднее (диапазон) время до CR, месяцев	3,6 (1-6,3)	0,9 (0,9-4,9)	1 (0,9-6,3)
Среднее (диапазон) PFS, месяцев	2,6(0,7-18,2+)	5,8 (0,4-6,0+)	5,8 (0,4-18,2+)
Среднее (диапазон) OS, месяцев	10,9 (1,2-18,2+)	NR (0,4-9,2+)	11,1 (0,4-18,2+)
Среднее (диапазон) отслеживание, месяцев	18,0 (1,2-18,2+)	6,2 (0,4-9,2+)	8,4 (0,4-18,2+)

CR, полный ответ; DL, уровень дозы; НД, не достигается; ORR, суммарная эффективность терапии; OS, общего выживания; PFS, выживание без прогрессирования.
+ Показывает продолжающийся ответ или выживание.

CAR T размножение клеток по уровню дозы показано на **ФИГ. 39**. Фармакокинетические (PK) параметры от 2 субъектов не были рассчитаны, так как последнее время отбора образцов для PK было до дня 29. Результаты показывают повышенное размножение клеток при DL2. Не желая быть связанными теорией, это повышенное размножение при DL2 может быть ассоциировано с повышенным CRS и NE, наблюдаемыми при этом уровне дозы; однако, это наблюдение основано на небольшом количестве субъектов.

Вместе, эти данные согласуются с наблюдением, что введение анти-CD19 CAR-T клеточной терапевтической T клеточной композиции субъектам с R/R MCL дает переносимую токсичность, включая низкое количество случаев степени 3 или 4 CRS и NE. Количество случаев CRS и NE было аналогичным тому, которое наблюдали в исследовании, описанном в Примере 6, у субъектов (n=102) с агрессивной B-клеточной NHL, которую лечили аналогичной анти-CD19 CAR T-клеточной композицией, где у 1% развивалась степень 3/4 CRS и 13% степень 3/4 NE (см. **Таблица E19**). Результаты также показали благоприятные оценки ответа у субъектов с R/R MCL, включая наилучший ORR

71% и оценку CR 53% в момент времени в этом исследовании. В этот момент времени, у 7 субъектов (41%) был продолжающийся CR и средняя длительность CR все еще не была достигнута.

Пример 3. Дополнительная оценка ответа, безопасности, фармакокинетики, фармакодинамики и анализируемых веществ в крови у субъектов с рецидивирующей и рефрактерной неходжкинской лимфомой (NHL) после введения анти-CD19 CAR-экспрессирующих клеток

Результаты ответа, результаты безопасности, фармакокинетические и фармакодинамические параметры и анализируемые вещества в крови оценивают у пациентов в следующий момент времени в клиническом исследовании, описанном в примере 1 выше.

А. Субъекты и лечение

Анализ в этот момент времени, представленный в этом примере, основан на оценке всего 91 субъектов в полной DLBCL когорте (у 88 (65 из основной когорты) оценивают ответ и у 91 (67 из Основной когорты) оценивают безопасность), которым вводили анти-CD19 CAR-экспрессирующих клеток. Полная когорта DLBCL, NOS de novo и трансформированная из любой вялотекущей лимфомы, ECOG 0-2; основная когорта для анализа включает субъектов, имеющих DLBCL, NOS и трансформированную из фолликулярной лимфомы (tFL) или высокую степень В-кеточной лимфомы и со статусом Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status (ECOG PS) 0 или 1. Приблизительно 90% подвергутых лечению пациентов в основной когорте имели, по меньшей мере, 1 признак высокого риска заболевания, прогнозирующий короткое среднее общее выживание (OS) 3-6 месяцев, например, экспрессоры двойного/тройного заболевания, первичное рефрактерное заболевание, рефрактерное к 2 или более линиям терапии, некогда не достигаемый CR или никогда не получаемую трансплантацию аутологичных стволовых клеток (ASCT). Субъекты с MCL после терапии 1 линии также включены в исследование. В некоторых вариантах осуществления, когорте субъектов, имеющих диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL), не определенную иным образом (NOS; de novo и трансформированную из фолликулярной лимфомы tFL) или В-клеточную лимфому высокой степени злокачественности, с MYC и BCL2 и/или BCL6 перестройкой с DLBCL гистологией, и за исключением субъектов с ECOG оценкой 2 или субъектов которые получали предшествующую трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток (HSCT), вводят CAR-T композиции, представленные в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления, субъектам из основной когорты вводят анти-CD19 CAR^+ T клетки одной дозой DL2 (1×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток).

В этот момент времени, всего 140 субъектов были подвергнуты лейкаферезу, из которых 10 ожидали произведенные композиции, 2 были сняты до производства и 2 композиции были недоступны. Из других 18 субъектов, продукты которых были доступны, 4 ожидали лечения, 4 отказались от лечения и у 10 развилось прогрессирующее заболевание или они умерли. Всего 108 субъектов были введены анти-CD19 CAR-экспрессирующие

клетки, из которых 6 не были оцениваемыми, и 11 получили несоответствующие анти-CD19 CAR-экспрессирующие клетки (композиции, не обязательно отвечающие определенным спецификациям, но считающиеся безопасными для введения). Субъекты получали DL1 (n=45), двойную дозу DL1 (n=6) или DL2 (n=40). Шести (6) субъектов с мантийноклеточной лимфомой (MCL) вводили CAR^+ клетки в DL1 (пятерых лечили соответствующим продуктом, одного лечили несоответствующим продуктом), и у пяти (5) было завершено 28-дневное отслеживание. У одного MCL субъекта развился CRS, и ни один не получал тоцилизумаб или дексаметазон. Продукт был доступен для 98% субъектов после афереза (126/128) в DLBCL когорте.

Субъекты в этот момент времени включают 5 пациентов, которых лечили в амбулаторном режиме (включая четырех (4) субъектов, подвергутых лечению DL1, одного (1) леченного DL2; четыре (4) из которых включены в основную когорту). Для субъектов, подвергутых лечению в амбулаторном режиме, средний возраст составляет 57 лет (диапазон 26-61), 3 имели DLBCL, NOS, 1 имел tFL и 1 имел PMBCL. Все пять (5) субъектов имели оценку ECOG 0 или 1. Данные по амбулаторным результатам включают результаты для трех (3) дополнительных субъектов, которых лечили в амбулаторном режиме (всего восемь (8) субъектов) и данные по которым стали доступны после момента времени для анализа в этом Примере.

Демографические и исходные характеристики полной и основной когорт субъектов на этот момент времени указанны в **Таблице E5**.

Таблица E5. Характеристики пациента: DLBCL Когорта

Характеристика	**ПОЛНАЯ (n=91)**	**ОСНОВНАЯ (n=67)**
Средний возраст, лет (диапазон),	61 (20-82)	60 (20-82)
≥ 65 лет, n (%)	34 (37)	24 (36)
Мужчины/женщины, n (%)	61/30 (67/33)	46/21 (69/31)
B-NHL подтип, n (%)		
DLBCL, NOS de novo	59 (65)	51 (76)
Трансформированная из FL (tFL)	19 (21)	16 (24)
Трансформированная из MZL (tMZL)/CLL (tCLL)	6 (7)/4 (4)	0
Фолликулярная, степень 3B/PMBCL	1 (1)/2 (2)	0
Молекулярный подтип, n (%)		
Двойная/тройная [B-клеточная лимфома высокой степени злокачественности][a]	18 (20)	16 (24)
Характеристики пациента, n (%)		
Химиорефрактерные[b]	61 (67)	44 (66)
ECOG PS 0-1/2 (пре-LD)	81 (89)/10 (11)	67 (100)/0

IPI 3-5/стадия заболевания 3-4	38 (42)/70 (77)	24 (36)/49 (73)
Вовлечение ЦНС	2 (2)	2 (3)
Предшествующие линии терапии, среднее (диапазон)	3 (1-12)	3 (1-8)
Никогда не достигаемый CR	47 (52)	34 (51)
Любая HSCT	39 (43)	28 (42)
Предшествующие аутологичные	36 (40)	28 (42)
Предшествующие аллогенные	5 (5)	0

HSCT, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток; LD, противолимфомная терапия.

[a] На начало исследования, включены в DLBCL, NOS гистология; на основе наиболее частных критериев ВОЗ (Swerdlow et al., (2016) Blood 127(20):2375-2390), сейчас считающуюся «В-клеточной лимфомой высокой степени злокачественности, с MYC и BCL2 и/или BCL6 перестройкой с DLBCL гистологией (двойная/тройная).

[b] SD или PD до последней схемы, включающей химиотерапию или рецидив <12 месяцев после аутологичных SCT.

B. Безопасность и ответ после лечения

Как показано в **Таблице E6**, частота объективного ответа (ORR) составляет 74%, включая 52% субъектов, которые показали полный ответ (CR). Количество случаев любой степени синдрома выделения цитокина (CRS) составляет 35%, где 1% тяжелый CRS; и количество случаев любой степени нейротоксичности (NT) составляет 19%, с 1% тяжелой NT.

Таблица E6. Ответ и безопасность после введения CAR$^+$ клеток

	ПОЛНАЯ	**ОСНОВНАЯ**		
	Все уровни доз	**Все уровни доз[a]**	**DL1S**	**DL2S**
Наилучший общий ответ (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)
Безопасность, n[c]	91	67	34	29
Любой CRS, % (95% CI)	35 (25, 46)	36 (24, 48)	41 (25, 59)	24 (10, 44)
sCRS (степень 3-4),% (95% CI)	1 (0, 6)	1 (0, 8)	38 (0, 15)	0
Любая NT, % (95% CI)	19 (11,28)	21 (12, 33)	24 (11, 41)	17 (6, 36)

Таблица E6. Ответ и безопасность после введения CAR+ клеток				
	ПОЛНАЯ	**ОСНОВНАЯ**		
	Все уровни доз	**Все уровни доз[a]**	**DL1S**	**DL2S**
Наилучший общий ответ (BOR), n[b]	88	65	34	27
sNT (степень 3-4),% (95% CI)	12 (6, 21)	15 (7, 26)	21 (9, 38)	7 (1, 23)

[a] Четырех пациентов лечили DL1D (уровень дозы 1, схема с двумя дозированиями) с аналогичными результатами.

[b] Включены пациенты с событием PD, смерти или повторным сканированием на 28-день. У одного пациента повторное сканирование было недоступным.

[c] Включены все субъекты, которые получали, по меньшей мере, одну дозу соответствующего продукта CAR-экспрессирующих клеток за 28 дней до даты сбора данных или смерти.

Как показано в **Таблице E7**, высокие степени ответа и низкую тяжелую токсичность наблюдаю во всей DLBCL популяции.

Таблица E7. Ответ после введения CAR+ клеток					
		По диагнозу			
	ПОЛНАЯ	**DLBCL, NOS**	**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)
Безопасность, n[b]	91	59	19	10	3
Любой CRS, % (95% CI)	35 (25, 46)	34 (22, 47)	42 (20, 67)	20 (3, 56)	67 (9, 99)
sCRS (степень 3-4),% (95% CI)	1 (0, 6)	2 (0, 9)	0	0	0
Любая NT, % (95% CI)	19 (11,28)	20 (11, 33)	21 (6, 46)	10 (0, 45)	0
sNT (степень 3-4),% (95% CI)	12 (6, 21)	14 (6, 25)	11 (1, 33)	10 (0, 45)	0

[a]Включены пациенты с событием PD, смерти или повторным сканированием на 28-день. У одного пациента повторное сканирование было недоступным.

[b] Включены все субъекты, которые получали, по меньшей мере, одну дозу соответствующего продукта CAR+ экспрессирующих клеток за 28 дней до даты сбора

данных или смерти.

Как показано в **Таблице E8**, высокая степень ответа и дозозависимый ответ наблюдают в основной когорте субъектов.

Таблица E8. Устойчивый ответ после введения CAR$^+$ клеток			
	Уровень доз[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-мес f/u, n[c]	52	29	19
3-мес ORR (95% CI),%	65 (51,78)	59 (39, 77)	74 (49, 91)
3-мес CR (95% CI),%	54(40, 68)	41 (24,61)	68 (43, 87)
≥ 6-мес f/u, n[d]	38	20	14
6-мес ORR (95% CI),%	47(31, 64)	40 (19, 64)	50 (23, 77)
6-мес CR (95% CI),%	42 (26, 59)	30 (12, 54)	50 (23, 77)

[a] Четырех пациентов (ОСНОВНАЯ) лечили DL1D с аналогичными результатами.

[b] Включены пациенты с событием PD, смерти или повторным сканированием на 28-день. У одного пациента повторное сканирование было недоступным.

[c] Показателем является количество пациентов, которые получали CAR$^+$ клетки ≥ 3 месяцев назад, до даты сбора данных, при оценке эффективности на 3 месяце или до оценки PD или смерти.

[d] Показателем является количество пациентов, которые получали CAR$^+$ клетки ≥ 6 месяцев назад, до даты сбора данных, при оценке эффективности на 6 месяце или до оценки PD или смерти.

Трехмесячная частота объективного ответа (ORR) для разных подгрупп в DLBCL подгруппах с высоким риском, которые включали всех DLBCL пациентов, подвергутых лечению всеми уровнями доз в основной когорте, показана на **ФИГ. 22**. Результаты показывают высокий устойчивый ORR в DLBCL подгруппе с высоким риском.

Результаты длительности ответа (DOR) и общего выживания (сгруппированные по наилучшему общему ответу (пациенты с отсутствием клинического ответа, CR/PR, CR и/или PR)) показаны для полной когорты и основной когорты субъектов, на **ФИГ. 23A-23D**. Результаты также показывают 80% (16/20) субъектов с CR на 3 месяце, оставаясь в CR в течение 6 месяцев и 92% (11/12) субъектов с ответом (CR или PR) на 6 месяце продолжают демонстрировать ответ в течение более длительного срока.

На **ФИГ. 24** показана доля субъектов на данный момент времени, у которых наблюдались опытные лабораторные аномалии и вызванные лечением побочные явления (TEAE) (данные по 5 пациентам с MCL, получавшим соответствующий продукт в DL1 с,

по меньшей мере 28 днями наблюдения, не включены). В дополнение к TEAE, показанным на **ФИГ. 24**, следующие сроки событий наблюдались при степени 3-4 у ≥5% пациентов: энцефалопатия (8%), панцитопения (5%) и лихорадочная нейтропения (7%). Восемь пациентов (9%) имели инфузионную токсичность, определяемую как AE в день введения, связанную с введением CAR^+ клеток, включая приливы, головную боль, лихорадку, гипертермию, озноб, озноб, рвоту, высыпания, крапивницу, зуд, гипотензию, свистящее дыхание, бронхоспазм, одышку, тошноту, рвоту, боли в спине, кашель и реакции, связанные с инфузией. События включают озноб (2), гипертермию (5), приливы (1), головную боль (1), гипотензию (1), реакцию, связанную с инфузией (1), высыпания (1), зуд (1) и рвоту (1), с 6 событиями степени 1, 1 событием степени 2 (озноб) и 1 событием степени 3 (гипотензия). TEAE в основной когорте не по существу не отличаются от таковых в полной когорте. Наиболее частыми родственными TEAE у субъектов, подвергутых лечению в группе амбулаторного режима, были CRS, гипотензия, рвота, анемия и диспноэ.

Таблица E9 показывает TEAE и нейротоксичность, которые имели место у 25 процентов или более субъектов в ПОЛНОЙ или основной когорте, для тех субъектов, которые получили DL1S и DL2S. Никакой очевидной связи доза-токсичность не наблюдают в популяции.

Таблица E9. TEAE ≥25% в полной когорте, основной когорте и основной когорте по уровню дозы.

Термин, n (%)	**ПОЛНАЯ (N=91)**	**ОСНОВНАЯ[a] (n=67)**	**ОСНОВНАЯ DL1S (n=34)**	**ОСНОВНАЯ DL2S (n=29)**
Нейтропения[b]	85 (93)	63 (94)	33 (97)	26 (90)
Анемия[b]	64 (70)	48 (72)	28 (82)	19 (66)
Тромбоцитопения[b]	48 (53)	41 (61)	20 (59)	19 (66)
Утомляемость	34 (37)	25 (37)	11 (32)	12 (41)
CRS	32 (35)	24 (36)	14 (41)	7 (24)
Тошнота	25 (27)	19 (28)	12 (35)	5 (17)
Диарея	23 (25)	16 (24)	7 (21)	7 (24)

[a] Включает 4 пациентов, подвергутых лечению на уровне дозы 1, схема с двумя дозированиями.

[b] Лабораторные аномалии.

На **ФИГ. 25** показано количество и доля субъектов, у которых наблюдают CRS и/или NT в разные моменты времени после введения CAR^+ клеток. В этой оценке, наблюдаемое среднее время до наступления первого события из CRS или NT составляет 5 (диапазон 1-14) или 10 (диапазон 3-23) дней, соответственно. В пределах первых 72 часов после введения CAR^+ клеток, 1 пациент имел NT (степень 1) и только 14% (13 из 91) имели CRS

(7 степень 1; 6 степень 2). Средняя длительность (Q1,Q3) CRS или NT составляет 5 (4, 8) или 10,5 (7, 19) дней, соответственно. NT предшествует CRS в 12 из 17 случаев (71%). Все оцениваемые NT события были разрешены во время анализа, за исключением одного тремора степени 1 и 2 пациентов, умерших от прогрессирующего заболевания с продолжающимся NT (на основе базы данных безопасности сообщенных событий, включая дополнительных субъектов, проанализированных после момента времени анализа, описанного в этом примере).

В полной когорте (n=91), выбирают субъектов с наступлением CRS или NT, которым вводят анти-цитокиновую терапиию тоцилизумабом и/или дексаметазоном следующим образом: только Тоцилизумаб, 4% (n=4); только Дексаметазон, 9% (n=8); Тоцилизумаб и дексаметазон, 8% (n=7). Среднее количество доз дексаметазона составляет 6 (диапазон, 2-99); и среднее количество доз тоцилизумаба составляет 1 (диапазон, 1-3).

В **Таблице E10** показаны результаты токсичности у субъектов в основной когорте, получивших одну дозу DL1 или DL2. Смертей от CRS или NT не произошло. Среднее время до наступления CRS составляло 5 дней (диапазон 2-14), для NT составляло 11,5 дней (диапазон 5-23). В основной когорте 13% (n=9) получали тоцилизумаб и 18% (n=12) получали дексаметазон для уменьшения токсичности. Восемнадцать процентов субъектов (12 из 67) продемонстрировали сроки нейротоксичности, соответствующие энцефалопатии, включая энцефалопатию (13%), 6% (4 из 67) имели афазию и 3% (2 из 67) имели судороги. В **Таблице E10**, количество субъектов или % от всех субъектов (в скобках), демонстрировавших указанный результат токсичности, демонстрируется для всех уровней доз или более конкретно у субъектов, которым вводят DL1 или DL2. В скобках также указаны верхний и нижний 95% доверительный интервал.

Таблица E10. Токсичность в основной когорте, получавшей разные уровни доз.

	Все уровни доз[a] n=67	**DL1S n=34**	**DL2S n=29**
CRS, n (%) [95%CI]			
Любая степень	24 (36) [24, 48]	14 (41) [25, 59]	7 (24) [10, 44]
Степень ½	23 (34) [23, 47]	13 (38) [22,56]	7 (24) [10, 44]
Степень 3/4 (sCRS)	1 (1) [0, 8]	1 (3) [0, 15]	0
Нейротоксичность[b], n (%) [95% CI]			
Любая степень	14 (21) [12, 33]	8 (24) [11, 41]	5 (17) [6, 36]
Степень ½	4 (6) [2, 15]	1 (3) [0, 15]	3 (10) [2, 27]
Степень 3/4 (sNT)	10 (15) [7, 26]	7 (21) [9, 38]	2 (7) [1, 23]
Любая, n (%) [95%CI]			
CRS или NT, n (%)	28 (42) [30, 54]	15 (44) [27, 62]	10 (34) [18, 54]
sCRS или sNT, n (%)	10 (15) [7, 26]	7 (21) [9, 38]	2 (7) [1, 23]

[a] Четырех пациентов лечат DL1D с аналогичными результатами.

[b] Включают спутанность сознания, энцефалопатию, афазию, атаксию, мозжечковую атаксию, делирий, пониженный уровень сознания, головокружение, уплощенный аффект, ухудшенную координацию движений, ухудшение памяти, тремор, тревожное возбуждение, нарушение внимания, дизартрию, изменение психического состояния, мышечную слабость, судороги, сонливость и недержание мочи.

Из двенадцати (12) субъектов, получавших несоответствующие продукты, 10 в DL1 и 2 в DL2, всех имели 28-дневное отслеживание. CRS наблюдали у 33% субъектов (4/12) и NT не наблюдали ни у одного субъекта. Два субъекта получали тоцилизумаб и 3 субъекта получали дексаметазон. Показатели токсичности были сопоставимы с показателями, наблюдаемыми у более крупных когорт субъектов, получавших соответствующий продукт. У субъектов, получающих несоответствующие продукты, фармакокинетическое (ПК) размножение было выше у субъектов с CRS/NT, у субъектов с высокой опухолевой массой или LDH.

C. Оценка амбулаторного введения

В этот момент времени оценивали данные всего восьми (8) субъектов, которых лечили в амбулаторном режиме (средний возраст 58,5 лет и ECOG 0 или 1) в нескольких клинических центрах, включая 3 субъектов, данные которых были доступны позже момента времени, анализируемого для целей данного Примера. Средняя продолжительность госпитализации составила 15,6 дней для субъектов, лечившихся в стационарном режиме (SD 9,6, n=86), и 9,3 дней для субъектов, лечившихся в амбулаторном режиме (SD 11,9, n=8). Снижение продолжительности госпитализации на 40% наблюдали у субъектов, лечившихся в амбулаторном режиме. Среднее количество дней до госпитализации после амбулаторного введения CAR^+ Т-лимфоцитов составило 5 дней (диапазон: 4-22). Госпитализация в палату интенсивной терапии (ICU) после амбулаторного введения ее потребовалась.

Среди тех из 8 субъектов, которых лечили в амбулаторном режиме с более чем 28-дневным наблюдением после введения, 1 оставался амбулаторным на протяжении всего периода ограничивающей дозу токсичности. Семь (7) пациентов были приняты с лихорадками (1 в день исследования 4, остальные в день исследования ≥ 5), 6 пациентов были приняты с CRS (4 степени 1, 2 степени 2) и 2 пациента со степенью 1 NT. Ни у одного пациента не было тяжелого CRS или NT. Одного (1) пациента лечили тоцилизумабом без дексаметазона для CRS (степень 2), и ни одного пациента не лечили дексаметазоном для CRS или NT. Один пациент был госпитализирован через 3 дня после введения CAR^+ Т-лимфоцитов.

Среди 91 субъектов, подвергутых лечению в стационарном и амбулаторном режимах, 11 субъектов (12%) требовали помещения ICU для управления токсичностью; 8 субъектов (9%) требовали помещения в ICU для управления CRS или NT; 2 субъекта (2%) требовали помещения в ICU для управления острыми респираторными событиями (одно связано с введением CAR^+ Т клеток, одно не связано). Шесть (6) субъектов (6%) были

интубированы (на основе базы данных безопасности описанных событий включая дополнительных субъектов, проанализированных после анализа в момент времени, описанных в этом Примере; n=94); 7 субъектов (7%) получали сосудосуживающие факторы (на основе базы данных безопасности описанных событий, определенных как демонстрирующие гипотензию в первые 28 дней после введения CAR^+ Т клеток, в оценке TEAE); и 2 субъекта (2%) проходили гемофильтрацию (на основе базы данных безопасности описанных событий). Результаты показывают, что только несколько пациентов потребовали помещения в ICU и связанных с этим процедур. Результаты поддерживают осуществимость амбулаторного введения, с безопасным управлением токсичностью в амбулаторном режиме, подходящей подготовкой и амбулаторным отслеживанием.

Оценка амбулаторного введения подтверждает возможность безопасного амбулаторного введения. 30% субъектов не были повторно госпитализированы.

D. Фармакокинетическая оценка

Количество CAR^+ Т клеток в периферической крови и костном мозге в момент времени до введения (до лечения или пред-противолимфомной химиотерапии (LDC)) и разные моменты времени после лечения (принимая день введения за день 1) у 87 субъектов в DLBCL когорте с оцениваемой PK, проточной цитометрией с применением антитела, специфического для усеченного рецептора, применяемого в качестве суррогатного маркера, и количественной полимеразной цепной реакцией (кПЦР) с применением праймеров, специфических для пост-транскрипционного регуляторного элемента вируса гепатита сурков (WPRE), присутствующего в векторе, кодирующем химерный антигенный рецептор (CAR). Оценивают нанесенную на график площадь под кривой на микролитр для указанных CAR^+ клеточной популяции в дни 0 и 28 ($AUC_{0\text{-}28}$) и максимальная или пиковая концентрация в крови CAR^+ клеток (C_{max}; CAR^+ клеток/мкл кровь). B-клеточную аплазию оценивают в периферической крови проточной цитометрией, окрашиванием CD19. Цитокины измеряют с применением мультиплексного цитокинового анализа. Для анализа безопасности, данные от всех субъектов, получавших разные уровни доз объединяют. Для анализа ответа, данные делят по уровню дозы. Статистический анализ был двусторонним без корректировки множественности.

На **ФИГ. 9А** показаны определенные количества CAR Т клеток на микролитр крови в разные указанные моменты времени, по данным кПЦР или проточной цитометрии. На **ФИГ. 9В** показаны CAR^+ клетки на микролитр крови против микролитра костного мозга на день 11±3. Как показано на **ФИГ. 9А**, уровни CAR-экспрессирующих клеток в образцах от субъектов наблюдают и в анализах проточной цитометрией, и анализах на основе кПЦР. Как показано на **ФИГ. 9В**, все субъекты (n=86 и 85 для проточной цитометрии и кПЦР, соответственно, исключая одного пациента, у которого не было доступных результатов проточной цитометрии и 2 пациентов, у которого не было доступных результатов кПЦР) с PK результатами показали определяемое количество CAR-экспрессирующих клеток в крови и костного мозга. Результаты согласовались с наблюдением, что CAR^+ Т клетки

мигрируют аналогично в костный мозг и кровь.

Уровни с течением времени $CD4^+$ и $CD8^+$ CAR-экспрессирующих клеток (по данным $ППК_{0-28}$ и C_{max}) сравнивают в разных подгруппах пациентов, получавших уровень дозы 1 (DL1): диффузная В-крупноклеточная лимфома de novo (DLBCL, NOS) или трансформированная из фолликулярной лимфомы (tFL) (ОСНОВНАЯ; N=32), DLBCL трансформированная из лимфомы маргинальной зоны или хронического лимфоцитарного лейкоза (tMZL/tCLL; N=4) или мантийноклеточная лимфома (MCL; N=5), которые получали CAR-экспрессирующие Т клетки в DL1. Как показано в **ФИГ. 10А** и **10В**, $ППК_{0-28}$ и C_{max}, варьируются среди субъектов в разных подгруппах заболеваний, с тенденцией к размножению $CD4^+$ и $CB8^+$ CAR-экспрессирующих клеток ниже в не-основных подмножествах. PMBCL (n=2) и FL3B (n=1) не показаны из-за ограниченного количества пациентов. Размножение у субъектов, получавших DL2, было аналогичным с субъектами, получающими DL1.

Е. Фармакокинетическая оценка по уровню дозы

$ППК_{0-28}$ и C_{max} для $CD3^+$, $CD4^+$ и $CD8^+$ CAR-экспрессирующих клеток также сравнивают для субъектов, которым вводили уровень дозы 1 (DL1; n=32) и тех, которым вводили уровень дозы 2 (DL2; n=27), в основной когорте (субъекты с DLBCL, NOS или В-клеточная лимфома высокой степени достаточности (двойная/тройная); N=59). Как показано на **ФИГ. 11А** и **11В** и в **Таблице Е11**, более высокую среднюю $ППК_{0-28}$ наблюдали для $CD3^+$, $CD4^+$ и $CD8^+$ CAR-экспрессирующих клеток наблюдали у субъектов, которые получали DL2, по сравнению с субъектами, которые получали DL1. Аналогично, тенденцию к более высокому размножению субъектов, которые получали DL2, наблюдали в полной когорте. Более высокая стойкость ответа (DOR) через 3 месяца также наблюдали для субъектов, которые получали DL2 по сравнению с теми, которым вводили DL1, без повышения токсичности. Среднее время до C_{max} (T_{max}) для $CD4^+$ и $CD8^+$ CAR^+ клеток было аналогичным между субъектами, которые получали DL1 и DL2.

Повышенную концентрацию CAR^+ Т клеток наблюдали в DL2 к DL1, что соответствует повышенной устойчивости ответа без повышения токсичности у DL2 субъектов.

Таблица Е11. Фармакокинетика у субъектов, сгруппированных по уровню дозы в основной когорте

	DL1S (n=32)	**DL2S (n=27)**	**Всего, DL1S и DL2S (n=59)**
$CD3^+$			
C_{max}, среднее (клеток/мкл)	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

Таблица E11. Фармакокинетика у субъектов, сгруппированных по уровню дозы в основной когорте			
	DL1S (n=32)	**DL2S (n=27)**	**Всего, DL1S и DL2S (n=59)**
T_{max}, среднее (дней)	14,5	15,0	15,0
Q1, Q3	11, 15	11, 15	11, 15
Min, max	9, 24	8, 31	8, 31
AUC_{0-28}, среднее (клеток*день/мкл)	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
+			
C_{max}, среднее (клеток/мкл)	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}, среднее (дней)	14,0	15,0	15,0
Q1, Q3	11, 15	11, 15	11, 15
Min, max	8, 24	8, 31	8, 31
AUC_{0-28}, среднее (клеток*день/мкл)	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
+			
C_{max}, среднее (клеток/мкл)	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}, среднее (дней)	15,0	15,0	15,0
Q1, Q3	11, 16	11, 17	11, 16
Min, max	4, 28	8, 31	4, 31

Таблица E11. Фармакокинетика у субъектов, сгруппированных по уровню дозы в основной когорте			
	DL1S (n=32)	**DL2S (n=27)**	**Всего, DL1S и DL2S (n=59)**
AUC_{0-28}, среднее (клеток*день/мкл)	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

F. Жизнестойкость

Жизнестойкость CAR-экспрессирующих клеток и $CD19^+$ B клеточной аплазии (низкие количества или отсутствие $CD19^+$ B клеток) оценивают в разные моменты времени у оцениваемых субъектов с DLBCL, которым вводили CAR^+ T клетки, на основе определяемых уровней $CD3^+$, $CD4^+$ или $CD8^+$ CAR-экспрессирующих клеток и уровней $CD19^+$ B-клеток, определяемых в крови, соответственно. Результаты указаны в **Таблице E12**. Среди субъектов, оцениваемых в прогрессии (время прогрессирования независимо от BOR; n=37), среднее 0,17 $CD4^+$ CAR^+ клеток/мкл (диапазон, 0-65,5 клеток/мкл) и среднее 0,15 $CD8^+$ CAR^+ клеток/мкл (диапазон, 0-131,8 клеток/мкл) наблюдают в прогрессе. Среди субъектов, оцениваемых при рецидиве (во время прогрессирования после достижения CR) (n=12), среднее 0,17/мкл (диапазон, 0-35,1 клеток/мкл) $CD4^+$ CAR-экспрессирующих клеток и среднее 0,20 клеток/мкл (диапазон, 0-131,8 клеток/мкл) $CD8^+$ CAR-экспрессирующих клеток наблюдают при рецидиве долговременной жизнестойкости CAR-экспрессирующих клеток наблюдали у 75% оцениваемых субъектов с DLBCL 12 месяцев. Долговременная жизнестойкость B клеточной аплазии также наблюдали у 75% субъектов через 12 месяцев и у субъектов независимо от статуса рецидива. Результаты согласуются с заключением, что анти-CD19 CAR-экспрессирующие клетки демонстрируют долговременную жизнестойкость у большинства субъектов и позволяют предположить потенциал для продолжающегося контроля низкого уровня заболевания даже у рецидивирующих пациентов.

Из субъектов с рецидивом, 91,7% (11/12) имели определяемые CAR-экспрессирующие клетки в крови в момент рецидива. Этот результат согласуется с заключением, что комбинированная терапия или другое вмешательство в некоторых вариантах осуществления может применяться для приращения и/или стимуляции CAR-экспрессирующих клеток, таких, которые могут быть истощены.

Таблица E12. Долговременная жизнестойкость и аплазия CAR^+ клеток						
	Месяц 3	**Месяц 6**	**Месяц 9**	**Месяц 12**	**При прогрессировании**	**При рецидиве**
CAR T жизнестойкость у	50	30	18	12	37	12

оцениваемых пациентов, n						
$CD3^+$,%	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
$CD19^+$ В-клеточная аплазия (<1 клеток/мкл),%	96,0	93,3	77,8	75,0	97,3	100

G Фармакокинетическая оценки и токсичность

$ППК_{0-28}$ и C_{max} $CD4^+$ и $CD8^+$ CAR-экспрессирующих клеток также сравнивают для субъектов в основной когорте с любой степенью (в этой оценке, любая из степеней 1-4; без наблюдаемой степени 5 CRS или NT) синдрома выделения цитокина (CRS) или нейротоксичности (NT) с субъектами, которых не оценивали как демонстрирующих какую-либо степень CRS или NT. Средняя $CD4^+$ CAR^+ $ППК_{0-28}$ (Q1, Q3) составляет 59 (18, 210) при отсутствии CRS (степень 0; n=43) и 267 (91, 1510) при каком-либо CRS (степени 1-4; n=20) (p=0,001); средняя $CD8^+$ CAR^+ $ППК_{0-28}$ (Q1, Q3) составляет 310 (36, 900) при отсутствии CRS (степень 0; n=43) и 605 (174, 5619) для любого CRS (степени 1-4; n=20) (p=0,021); средняя $CD4^+$ CAR^+ $ППК_{0-28}$ (Q1, Q3) составляет 71 (23, 244) при отсутствии NT (степень 0; n=50) и 1269 (184, 3057) при любой NT (степени 1-4; n=13) (p=0,003); средняя $CD8^+$ CAR^+ $ППК_{0-28}$ (Q1, Q3) составляет 304 (43, 799) при отсутствии NT (степень 0; n=50) и 2463 (607, 7691) для любой NT (степени 1-4; n=13) (p=0,004). Как описано выше и показано на **ФИГ. 12A-12D**, более высокие уровни $CD4^+$ и $CD8^+$ CAR-экспрессирующих клеток с течением времени были ассоциированы с CRS и NT.

H. Фармакокинетическая оценка и ответ

Количество пиков $CD3^+$ CAR^+ клеток/мкл ($CD3^+$ C_{max}) оценивают с течением времени у субъектов, которые имели наилучший общий ответ (BOR) CR, PR или PD. Как показано в **ФИГ. 13A** и **13B**, тенденцию к лучшему BOR наблюдали у субъектов с более высоким размножением, с вариабельностью среди субъектов.

I. Фармакокинетическая оценка по анализируемых веществам в крови и параметрам пациента

Уровни цитокина в плазме при пред-CAR^+ Т клеточном лечении (пред-противолимфомная химиотерапия), включая интерлейкин-7 (IL-7), IL-15, макрофагальный воспалительный белок (MIP-1α), оценивают у субъектов, которые демонстрируют CAR^+CD3^+ в крови C_{max} >500 CAR^+ Т клеток/мкл (N=55) по сравнению с субъектами, которые демонстрируют CAR^+CD3^+ в крови C_{max} <500 CAR^+ Т клеток/мкл (N=7). Как показано на **ФИГ. 14A**, наблюдают, что повышенные уровни цитокина в плазме перед CAR^+ Т клеточным лечением ассоциированы с CAR^+CD3^+ C_{max} >500 CAR^+ Т клеток/мкл (Wilcoxcon P значения <,05 (без корректировки множественности); за исключением IL-7 p=0,07).

Пиковые уровни разных цитокинов в плазме (IL-6, IL-10, IL-16, интерферон гамма (IFN-γ), фактор некроза опухоли альфа (TNF-α), MIP-1α, MIP-1β, моноцитарный хемоаттрактантный белок-1 (MCP-1) и C-X-C мотив хемокин 10 (CXCL10)) также оценивают у субъектов, которые демонстрируют CAR^+CD3^+ в крови C_{max} >500 CAR^+ T клеток/мкл (N=68) по сравнению с субъектами, которые демонстрируют CAR^+CD3^+ в крови C_{max} <500 CAR^+ T клеток/мкл; N=9). Как показано на **ФИГ. 14B**, более высокие наблюдаемые пиковые уровни цитокина ассоциированы с CAR^+CD3^+ C_{max} >500 CAR^+ T клеток/мкл (Wilcoxcon P значения <0,05; без корректировки множественности).

Оценивают отношение между пред-CAR^+ T клеточным лечением (пред-противолимфомной химиотерапией (LDC)) объемным измерением опухоли по сумме произведений измерений (SPD), в качестве показателя опухолевой массы, и $ППК_{0-28}$ $CD3^+$ CAR^+ T клеток, представляющей концентрацию CAR^+ T с течением времени. Как показано на **ФИГ. 15**, положительную корреляцию наблюдали между базовым SPD и $CD3^+$ $ППК_{0-28}$, с корреляцией Spearman 0,32 и p=0,019.

J. Параметры пациента до лечения и результаты ответа и токсичности

Уровни анализируемого вещества при пред-CAR^+ T клеточном лечении (пред-LDC), включая цитокины и воспалительные маркеры, такие как Ферритин, C-реактивный белок (CRP), D-димер (продукт разложения фибрина), IL-6, IL-10, IL-15, IL-16 TNF-α, MIP-1α и MIP-1β, сравнивают для субъектов с любой степенью (далее, степень 1-4) синдрома выделения цитокина (CRS) или нейротоксичности (NT) с субъектами, которые не имеют какого-либо CRS или NT (степень 0). В этой когорте, среди субъектов с CRS степенью 1-4, все кроме одного события CRS были определены как имеющие степень 1 или 2. Как показано в **ФИГ. 16A** (CRS) и **ФИГ. 16B** (NT), наблюдаемые более высокие пиковые уровни цитокина в плазме и уровни воспалительных маркеров ассоциированы с CRS и NT, на основе однофакторного анализа (Wilcoxcon P значения < 0,05 для всех анализируемых веществ за исключением ферритина для CRS (p=0,14) и CRP для CRS (p=0,09)). Для CRS, после корректировки опухолевой массы в многофакторном анализе, MIP-1β, IL-10 и TNF имели p <0,05; для NT, IL-15, IL-6, MIP-1α и TNF имели p <0,05.

До лечения (пред-LDC) параметры пациента, такие как уровни лактатдегидрогеназы (LDH) и объемное измерение опухоли, такое как сумма произведений измерений (SPD), в качестве показателя опухолевой массы, сравнивают между субъектами, у которых не наблюдается развитие CRS или нейротоксичности, и субъектами у которых наблюдается развитие CRS или NT. Как показано на **ФИГ. 17**, субъекты с CRS или NT демонстрируют более высокие уровни параметров пациента до лечения, таких как уровни SPD ($см^2$) и LDH (ЕД/Л); наблюдают, что такие уровни коррелируют с CRS или NT, при однофакторном статистическом анализе. Другие параметры пациента, ассоциированные с CRS и NT, включают более короткое время с момента постановки диагноза (p=0,05 и p=0,09, для CRS и NT, соответственно). Параметры пациента, которые не были ассоциированы с CRS или NT, включали возраст (p=0,19 и p=0,54, соответственно) и предыдущее количество терапий (p=0,67 и p=0,59, соответственно), стадии заболевание 0-2 против 3-4 (p=0,79, p=0,51) и

массу тела пациента (p=0,35 и p=0,44, соответственно).

На **ФИГ. 18А** показаны уровни SPD и LDH до лечения среди отдельных пациентов (точки; со штриховкой отдельных точек, указывающих, продемонстрировали ли или нет отдельные пациенты любую степень нейротоксичности (левая панель) или продемонстрировали ли или нет любую степень CRS (правая панель). На **ФИГ. 18А**, пунктирные линии на y и x осях означают SPD ≥50 $см^2$ м LDH ≥500 ЕД/Л, соответственно. Как показано на **ФИГ. 18А**, SPD приблизительно 50 $см^2$ или выше, и/или LDH приблизительно 500 ЕД/Л или выше, ассоциированы с риском NT и CRS. Расчетные оценки отношения шансов развития CRS или NT у субъектов выше или ниже и SPD и LDH уровней, указанных пунктирными линиями на **ФИГ. 18А**, с 95% доверительным интервалом (CI), изображены на **ФИГ. 18В** и **18С.** Отношение шансов более 1 указывает на повышенную возможность или вероятность развития CRS или NT. Как показано, SPD 50 $см^2$ или выше и LDH 500 ЕД/Л или выше, ассоциированы с повышенным риском развития CRS или NT. SPD 50 $см^2$ или выше и LDH 500 ЕД/Л или выше ассоциированы с приблизительно 8-кратно повышенным риском развития любой степени CRS и NT, и SPD ниже чем 50 $см^2$ и LDH ниже чем 500 ЕД/Л показывает пониженный писк любой степени CRS и NT. Результаты соответствуют ассоциации исходных параметров пациента, включая высокую опухолевую массу и воспалительные биомаркеры, с размножением CAR^+ Т клеток и повышенными степенями CRS и нейротоксичности.

Разные параметры пациента до лечения (пред-LDC), включая маркеры, ассоциированные с опухолевой массой (SPD), воспалительных цитокинов и других анализируемых веществ в крови, включая LDH, ферритин, CRP, D-димер, SAA-1, IL-6, IL-10, IL-15, IL-16, TNF-α, IFN-γ, MIP-1α и CXCL10, сравнивают для субъектов с или без устойчивого ответа через 3 месяца, с применением однофакторного статистического анализа. Как показано на **ФИГ. 19**, определенные маркеры опухолевой массы, маркеры воспаления или воспалительных цитокинов ниже у субъектов, которые демонстрируют устойчивый ответ (p значение <0,05 для всех параметров, за исключением SPD (p=0,1274)). Аналогичные результаты наблюдались у субъектов, получавших DL2, при отдельном анализе. Обратная связь между исходными параметрами пациента, включая высокую опухолевую массу и воспалительные биомаркеры, с устойчивым ответом. В некоторых аспектах такая обратная связь может быть связана с более высоким размножением и истощением CAR^+ Т-клеток.

Взаимосвязь факторов пациента, клинических коррелятов и анализируемых веществ в крови и развития степеней CRS и NT оценивают с применением статистического анализа на основе однофакторных непараметрических тестов. В **Таблице Е13** перечислены результаты однофакторного анализа. В этой оценке, возраст <40 лет и отсутствие предшествующей HSCT коррелируют с заболеваемостью CRS или NT. Субъекты в возрасте <40 лет не имели статистически отличающихся показателей опухолевой массы, по сравнению с пациентами старшего возраста. Субъекты с оценкой ECOG 2 не имели статистически отличающихся показателей более высокой опухолевой массы по сравнению

с субъектами с оценкой ECOG 0-1. Те, у кого ранее не было HSCT или двойного/тройного или двойного экспрессора, не были ассоциированы с CRS или NT.

Таблица E13. Однофакторный анализ ключевых подгрупп

	CRS			NT		
Переменная, n (%)	**Любая степень**	**Степень 1/2**	**Степень 3/4**	**Любая степень**	**Степень 1/2**	**Степень 3/4**
ПОЛНАЯ популяция (N=91)						
Возраст						
< 40 лет (n=8)	5 (63)	4 (50)	1 (13)	3 (38)	0	3 (38)
40-64 лет (n=49)	19 (39)	19 (39)	0	9 (18)	5 (10)	4 (8)
≥ 65 лет (n=34)	8 (24)	8 (24)	0	5 (15)	1 (3)	4 (12)
Пред-LD 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
Двойной/тройной или двойной экспрессор						
Да (n=30)	12 (40)	12 (40)	0	6 (20)	3 (10)	3 (10)
Нет (n=22)	6 (27)	6 (27)	0	4 (18)	2 (9)	2 (9)
Предшествующая HSCT						
Да (n=39)	10 (26)	10 (26)	0	5 (13)	4 (10)	1 (3)
Нет (n=52)	22 (42)	21 (40)	1 (2)	12 (23)	2 (4)	10 (19)

K. Пиковые значения анализируемых веществ в крови, ответ и токсичность

Пиковые уровни анализируемых веществ в плазме крови после лечения, включая цитокины и воспалительные маркеры, такие как CRP, сывороточный амилоид A1 (SAA-1), IL-2, IL-6, IL-10, IL-15, TNF-α, MIP-1α, MIP-1β, MCP-1, CXCL10 и C-C мотив хемокинового лиганда 13 (CCL13) сравнивают для субъектов со степенью 1-4 синдрома выделения цитокина (CRS) или нейротоксичности (NT) с субъектами, у которых не наблюдали какой-либо CRS или NT. Как показано на **ФИГ. 20A** (CRS; CRS степень 0, n=51; CRS степени 1-4, n=28) и **ФИГ. 20B** (NT; NT степень 0, n=63; NT степени 1-4, n=16), более высокие пиковые уровни цитокина в плазме и уровни воспалительных маркеров ассоциированны с CRS и NT (Wilcoxcon P значения < 0,001 при отсутствии CRS к любым CRS и для NT к любым NT, за исключением IL-15 (P= 0,05 и 0,006, соответственно)).

Пиковые уровни анализируемых веществ в плазме крови, включая цитокины и воспалительные маркеры, такие как CRP, SAA-1, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-15, Лимфотоксин-альфа (LT-α), TNF-α, IFN-γ, MIP-1α, MIP-1β, MCP-1, CXCL10 и Трансформирующий ростовой фактор бета (TGF-β), оценивают для субъектов с наилучшим общим ответом (BOR) полным ответом (CR) или частичным ответом (PR) (N=57) по сравнению с уровнями у субъектов со стабильным заболеванием (SD) или прогрессирующим заболеванием (PD)

(N=17); или для субъектов с 3-месячным SD или PD (SD/PD) (N=31), по сравнению с субъектами, которые демонстрируют CR/PR через 3-месяца (N=35). Как показано в **ФИГ. 21A** (наилучший общий ответ (BOR)) и **ФИГ. 21B** (ответ через 3 месяца), более низкие пиковые уровни цитокина в плазме и уровни воспалительных маркеров ассоциированы с лучшим BOR и ответом на 3 месяце (Wilcoxcon P значения < 0,05 без корректировки множественности).

В этом исследовании анти-CD19 CAR^+ клеточные композиции вводили субъектам с рецидивирующей/рефрактерной агрессивной неходжкинской лимфомой (NHL), которые имеют плохие признаки риска заболевания. Наблюдали ответы, включая устойчивые ответы, включая 81% ORR, 63% CR при DL2, где 80% пациентов с CR в 3 месяца остались с CR в 6 месяцев на всех уровнях доз, средний DOR подвергутых лечению субъектов на всех уровнях доз через 9,2 месяца, при средней продолжительности CR, не достигнутой на момент времени анализа в данном примере. Результаты также соответствовали управляемому уровню токсичности и благоприятному профилю безопасности, который в некоторых вариантах осуществления может согласоваться с амбулаторным введением. Наблюдались низкие показатели тяжелого CRS (1%) и тяжелой нейротоксичности (12%), с небольшим количеством событий в первые 72 часа. Результаты соответствовали возможности амбулаторного введения.

Фармакокинетические оценки показали, что более высокое размножение CAR^+ Т-клеток обычно ассоциированы с повышенными показателями CRS и NT. Субъекты, получавшие DL2, демонстрировали более высокую концентрацию CAR T по сравнению с субъектами, получавшими DL1, что обычно соответствовало повышенной стойкости ответа без увеличения частоты токсичности. В некоторых аспектах, до лечения, например, пред-LDC, факторы пациента, включая гомеостатические и воспалительные цитокины и опухолевую массу, были ассоциированы с и/или приводили к очень высокому размножению и токсичности. Было показано, что введенные CAR^+ Т клетки размножаются в крови и костном мозге всех пациентов, с вариабельностью среди субъектов и среди типов заболевания. Введенные CAR^+ Т клетки также демонстрируют долговременную жизнестойкость, где 75% (9/12) оцениваемых пациентов имеют определяемые CAR Т клетки через 12 месяцев. CAR Т клетки и В клеточную аплазию наблюдают как все еще присутствующие в момент рецидива (11/12 и 12/12 пациентов, соответственно), подтверждая, что опухоли могут уклоняться от действия CAR-Т-клеток и что комбинированные стратегии могут быть эффективными для предотвращения рецидива или увеличения, усиления или улучшения истощенных CAR-Т-клеток. В общем, тенденцию к более высокому ответу наблюдали при более высоком размножении, с вариабельностью среди субъектов, подтверждающая, что другие факторы пациента и/или характеристики заболевания, например, опухолевая масса, могут способствовать определению ответа.

Пример 4. Отличительные черты терапевтической Т-клеточной композиции для введения и способ создания композиции

Типовые терапевтические Т-клеточные композиции, содержащие аутологичные Т

клетки, экспрессирующие химерный антигенный рецептор (CAR), специфичный для CD19, используемые для введения в примерах 1 и 2 выше оценивают по более чем одной сотне фенотипических, функциональных и связанных со здоровьем клеток отличительных признаков, с использованием проточной цитометрии и in vitro анализов. Терапевтические клеточные композиции, созданные для субъектов, включенных в клиническое исследование по оценке анти-CD19 CAR-T-клеточной терапии для лечения рецидивирующей/рефрактерной В-клеточной неходжкинской лимфомы, подвергают проверке (N=63; основная когорта). Клетки оценивают до и после конструирования, по различным отличительным чертам. Типовые отличительные черты, которые оценивают, указаны в **Таблице Е14**. Фенотипы клеток памяти и здоровья CAR Т-клеток исследуют с помощью проточной цитометрии. Функциональность Т-клеток оценивают с применением антигенспецифических биоанализов in vitro. Характеристика и тестирование выделения проводят на терапевтических Т клеточных композициях, которые прошли репрезентативное количество циклов замораживания-размораживания.

Таблица Е14: Типовые отличительные черты характеризации, измеренные в терапевтических клеточных композициях, содержащих анти-CD19 CAR Т клетки

Класс характеризации клеточной композиции	**Типовые отличительные черты**
Здоровье клеток	Жизнеспособность Активная внутриклеточная каспаза-3 Аннексин V
Фенотип памяти	CCR7 (C-C хемокиновый рецептор типа 7)
Клеточная функция	Воспалительные цитокины, такие как TNF-α (фактор некроза опухоли α)

Для генерации клеточных композиций для введения аутологичные клетки выделяют от субъектов через лейкаферез. Образцы лейкафереза подвергают процессу образования CAR-экспрессирующих клеток. Процесс включает промывку клеток с использованием автоматизированной смывки и селектирование на основе иммуноаффинности для очистки $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток, получая две композиции, обогащенные $CD8^+$ (в которых средний 99%, интерквартильный диапазон (IQR) 98-100%, клеток были $CD8^+$) и $CD4^+$ (в которых средний 99%, IQR 99-100%, клеток были $CD4^+$) клетками, соответственно.

Клетки обогащенных $CD4^+$ и $CD8^+$ композиций отдельно подвергают лентивирусной трансдукции с вектором, кодирующим анти-CD19 CAR с 41BB костимулирующим доменом. Трансдуцированные популяции затем отдельно инкубируют в присутствии стимулирующих реагентов для размножения клеток. Размноженные $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клетки составляют и криоконсервируют по отдельности и хранят до введения. Для минимизации вариантов между партиями и/или клеточными композициями, полученными от разных пациентов, например, имеющих разные отличительные черты пациентов, по

параметрам, являющимся показателем здоровья клеток, клетки хранят в постоянном объеме для всех партий. Клеточные продукты демонстрируют узкий диапазон концентраций жизнеспособных клеток (на основе оценки клеточных композиций для одной группы субъектов, $Cd8^+$: средняя 31×10^6 клеток/мл, IQR 28-40×10^6 клеток/мл, N=38; $CD4^+$: средняя 35×10^6 клеток/мл, IQR 31-40×10^6, N=36).

Как показано на **ФИГ. 26** и суммировано в **Таблице E15**, автоматизированная очистка Т клеток дает чистые $CD8^+$ и $CD4^+$ Т клеточные популяции. Эта стратегия снижает вероятность трансдукции не Т-клеток и приводит к высокой чистоте Т-клеток в терапевтических клеточных композициях независимо от продолжительности размножения.

Таблица E15: чистота Т клеток (% от всего лейкоцитов) по стадии процесса

		Лейкаферез	После очистки	Середина процесса	Лекарственная композиция
Частота $CD4^+$ Т клеток	**Среднее**	17,6	95,3	98,9	99,2
	IQR	11,7-24,7	92,1-98,5	98,1-99,2	98,7-99,6
Частота $CD8^+$ Т клеток	**Среднее**	19,2	96,0	98,9	99,3
	IQR	13,2-30,9	93,4-98,6	98,0-99,2	98,4-99,7

В месте введения, клеточные композиции размораживают и вводят отдельно, согласно целевому объему каждой композиции, соответствующему количеству $CD8^+CAR^+$ и $CD4^+CAR^+$клеток в подходящей дозе (такой как DL1, содержащей 5×10^7 всего CAR-экспрессирующих Т клеток ($2{,}5\times10^7$ каждых из CAR-экспрессирующих $CD4^+$ и CAR-экспрессирующих $CD8^+$ Т-клеток) или DL2, содержащей 1×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток (5×10^7 каждых из CAR-экспрессирующих $CD4^+$ и CAR-экспрессирующих $CD8^+$ Т-клеток)).

Во время клинического испытания произошло изменение процесса с состава высокого объема на состав низкого объема. После изменения терапевтические клеточные композиции составляли на постоянном низком уровне, с жестко контролируемым диапазоном концентраций жизнеспособных клеток. В некоторых случаях, состав с низким объемом используют вместо состава с высоким объемом. Параметры, являющиеся показателями здоровья CAR-экспрессирующих Т-клеток в композиции для введения, оценивают, например, путем измерения, после размораживания, жизнеспособности, экспрессии Аннексина V на поверхности клетки и уровней активной внутриклеточной Каспазы 3 в клеточных композициях, которые были составлены с высоким объемом и низким объемом.

Изменение процесса с состава высокого объема на состав низкого объема увеличивает надежность процесса и снижает вариабельность отличительных черт здоровья

клеток. Значения концентрации, доли жизнеспособных клеток и доли отрицательных к активной каспазе-3 клеток среди $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток из отдельных клеточных композиций показаны на **ФИГ. 27A-27C** и суммированы в **Таблице E16**. Средняя доля клеток, экспрессирующих Аннексин V, составляет 11% (IQR 9-18%; N=33) $CD8^+CAR^+$ Т клеток b 10% (IQR 8-17%; N=31) $CD4^+CAR^+$ Т клеток. Экспрессию Каспазы 3 является аналогичной экспрессии Аннексина V. Сдвиг до состава низкого объема дает повышенную надежность процесса и пониженную вариабельность отличительных черт здоровья клеток.

Таблица E16: Отличительные черты здоровья клеток

		$CD4^+$		**$CD8^+$**	
		Высокий объем состава	**Низкий объем состава**	**Высокий объем состава**	**Низкий объем состава**
Концентрация клеток, x10^6 клеток/мл	**Среднее**	17,1	37,2	12,1	30,8
	IQR	15,9-19,3	31,7-40,4	10,9-15,3	28,5-38,0
Жизнеспособность клеток, %	**Среднее**	82,8	82,5	72,0	80,3
	IQR	79,5-84,7	80,4-84,3	69,3-76,6	76,4-83,3
% отрицательных к Каспазе-3 клеток	**Среднее**		82,8		82,5
	IQR		79,5-84,7		80,4-84,3

Количества CAR^+CD4^+ и CAR^+CD8^+ Т клеток в композиции для введения точно контролируют. Количество клеток, действительно вводимых типовым множествам субъектов, находится в пределах 8% или менее от целевого количества клеток для данной дозы:

- 2,4-2,7×10^7 (цель ±8%) $CD4^+CAR^+$ Т клеток и 2,4-2,7×10^7 (цель ±8%) $CD8^+CAR^+$ Т клеток для субъектов, которым вводят клетки в DL1 (n=48)

4,6-5,1×10^7 (цель ±8%) $CD4^+CAR^+$ Т клеток или 4,6-5,1×10^7 (цель ±8%) $CD8^+CAR^+$ Т клеток для субъектов, которым вводят клетки в DL2 (n=20).

The диапазон вводимой дозы имеет низкую вариабельность в разных типовых множествах субъектов:

- 48-52 ×10^6 $CD3^+CAR^+$Т клеток при DL1 (n =34)
- 96-101×10^6 $CD3^+CAR^+$Т клеток при DL2 (n=29)
- 24-27×10^6 $CD4^+CAR^+$ или $CD8^+CAR^+$ Т клеток при DL1 (n=34)
- 46-51×10^6 $CD4^+CAR^+$ или $CD8^+CAR^+$ Т клеток при DL2 (n=29).

Как показано в **ФИГ. 28A**, CAR-экспрессирующие Т-клеточные композиции, вводимые субъектам, демонстрируют высокую чистоту Т-клеток и низкую дисперсию между партиями. С точки зрения, например, контроля процессов и продуктов, терапевтические клеточные композиции, содержащие CAR Т-клетки, показали низкую

вариабельность между партиями в клеточно-специфической функции Т-клеток.

In vitro аккумуляция антигенспецифического цитокина и внутриклеточное окрашивание цитокина (ICS) показало подобную низкую дисперсию между партиями полученных цитокинов для множества цитокинов (IL-2, TNF-α и IFN-γ). В типовом ICS эксперименте, клетки из композиций стимулируют с CD19, окрашивают для цитокинов, включая TNF-α и поверхностные белки, включая С-С хемокиновый рецептор типа 7 (CCR7) в качестве маркера фенотипа памяти, и анализируют проточной цитометрией. Определяют количество клеток в композиции для введения, которые являются положительными для цитокинов или поверхностных белков. На **ФИГ. 28В** показано количество $CD4^+CAR^+$ и $CD8^+CAR^+$ клеток, $CD4^+CAR^+TNF\text{-}\alpha^+$ и $CD8^+CAR^+TNF\text{-}\alpha^+$ клеток, $CD4^+CAR^+CCR7^+$ и $CD8^+CAR^+CCR7^+$ и присутствующих в композициях CAR Т клеток для введения в DL1 и DL2. Эти результаты суммированы в **Таблице Е17**. Результаты показывают низкую вариабельность количества $CD4^+CAR^+$ и $CD8^+CAR^+$ клеток, $CD4^+CAR^+TNF\text{-}\alpha^+$ и $CD8^+CAR^+TNF\text{-}\alpha^+$ клеток, $CD4^+CAR^+CCR7^+$ и $CD8^+CAR^+CCR7^+$ клеток. Например, узкий диапазон для количества клеток, положительных для продуцирования TNF-α (n=61).

Таблица Е17: Контролируемая доза, фенотипы Т клеток и специфическая функция клеток (х 10^6 клеток)

	$CD4^+CAR^+$		**$CD8^+CAR^+$**		**$CD4^+CAR^+$ $TNF\text{-}\alpha^+$**		**$CD8^+CAR^+$ $TNF\text{-}\alpha^+$**		**$CD4^+CAR^+$ $CCR7^+$**		**$CD8^+CAR^+$ $CCR7^+$**	
	DL1	**DL2**	**DL1**	**DL2**	**DL1**	**DL2**	**DL1**	**DL2**	**DL1**	**DL2**	**DL1**	**DL2**
Среднее	25,1	50,1	25,0	50,0	23,0	47,4	19,9	41,7	11,1	15,8	8,9	15,0
IQR	24,7 - 25,3	49,6 - 50,0	24,8 - 25,2	49,6 - 50,4	21,3 - 23,5	46,6 - 48,5	18,3 - 21,8	39,9 - 46,0	5,5 - 14,1	11,0 - 26,0	3,0 - 14,8	8,6 - 25,3

Параметр, являющийся показателем продуцирования CAR^+ клетками фактора некроза опухоли альфа (TNFα) после стимулирования CD19, показал узкий диапазон для разных партий, при относительном стандартном отклонении (RSD) 37% для $CD4^+CAR^+$ Т клеток (N=59) b 51% для $CD8^+CAR^+$ Т клеток (N=61).

Результаты согласуются с наблюдением, что композиции, которые содержат точную и последовательную дозу $CD4^+$ и $CD8^+$ CAR Т-клеток, контроль и оптимизация условий культивирования $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток, низкая вариабельность продуцирования цитокина и/или постоянный состав и объем композиции для введения может привести к стабильному здоровью клеток в композиции. В предоставленных вариантах осуществления, аспекты такого процесса производства и контроля способствуют низкой вариабельности отличительных черт таких сконструированных клеточных композиций, сконструированных с применением клеток от, и созданных для введения, множеству различных субъектов.

Такие аспекты в некоторых аспектах включают применение точной, постоянной базовой дозы вводимых $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток среди субъектов; контроль и оптимизацию условий культивирования $CD4^+$ и $CD8^+$ Т клеток, так, чтобы получить низкую вариабельность фенотипов для партий продукта (например, CCR7) и in vitro функции (например, IL-2, TNF-α и IFN-γ продуцирования после антигенного стимулирования) среди разных субъектов; и применение постоянного состава и объема лекарственного продукта, что может дать или внести вклад в постоянство среди терапевтических клеточных композиций, созданных способом, для отличительных черт здоровья клеток.

Пример 5. Оценка биомаркера в биопсиях опухоли до и после введения от субъектов с рецидивирующей и рефрактерной неходжкинской лимфомой (NHL) для введения анти-CD19 CAR-экспрессирующих клеток

Экспрессию нескольких биомаркеров оценивают в биопсиях опухоли, собранных от субъектов до и/или после введения CAR-экспрессирующих клеток.

A. Образцы биопсии опухоли

Биопсии опухоли собирают от выбранных субъектов с рецидивирующей или рефрактерной (R/R) диффузной В-крупноклеточной лимфомой (DLBCL) или мантийноклеточной лимфомой (MCL),которые получали лечение терапевтическими CAR^+ Т клеточными композициями, содержащими аутологичные Т клетки, экспрессирующие химерный антигенный рецептор (CAR), специфический для CD19, описанными выше в Примерах 1 и 2 выше, на основе момента времени оценки в Примере 1.A.2. Биопсии опухоли получают до введения CAR^+ Т клеток (до лечения) и на 7-20 дни после введения (после лечения). Результаты описаны в этом примере для оценки до момента времени в Примере 1.A.2, в продолжающемся исследовании. Результаты от 43 биопсий (26 до лечения; 17 после лечения и 15 согласованных пар) от 28 всего субъектов (25 DLBCL и 3 MCL) исследуют.

B. Оценка биомаркеров, результатов ответа и безопасности

Инфильтрация CAR^+ Т клеток в биопсии опухоли оценивают количественно с применением гибридизации in situ (ISH) проб, специфических к иРНК, кодирующей анти-CD19 CAR. CAR^+ Т клетки, не CAR Т клетки и В клетки нумеруют с применением анализа мультиплексной иммунофлуоресценции (IF) суррогатных маркеров клеточной поверхности для CAR-экспрессирующих клеток, CD4, CD8, CD19, CD20, CD73, FOXP3, CD163, IDO и PD-L1. Срезы биопсии опухоли окрашивают гемтоксилином и эозином (H&E) и оценивают качество ткани и идентифицируют опухоль. Иммунофлуоресцентные изображения анализируют с использованием программного обеспечения для анализа изображений. Возможные корреляции с ответами оценивают с использованием статистического анализа, основанного на однофакторных t-тестах, и p-значения были двусторонними без корректировки множественности.

У субъектов оценивают ответ и безопасность, включая оценку опухолевой массы в разные моменты времени после введения CAR^+ Т клеток, включая через 3 месяца после введения, и определяя, имеет ли субъект прогрессирующее заболевание (PD), стабильное

заболевание (SD), частичный ответ (PR) или полный ответ (CR). Оцениваемые результаты безопасности включают нейротоксичность (неврологические осложнения включая симптомы спутанности сознания, афазию, энцефалопатию, миоклонус судороги, конвульсии, летаргию и/или измененное состояние сознания), степени по шкале 1-5, согласно шкале National Cancer Institute-Common Toxicity Criteria (CTCAE), версия 4,03 (NCI-CTCAE v4,03).

C. Результаты

Наблюдаемая частота объективного ответа (ORR; включая CR и PR) составляет 71% (20/28) у субъектов, для которых оценивают биопсии. Степень 1, 2 CRS наблюдали у 36% (10/28; степень 1, 2) субъектов для которых оценивают биопсии и Степени 2-4 NT наблюдали у 18% (5/28) субъектов для которых оценивают биопсии.

До лечения наблюдали, что биопсии опухоли содержат разные клеточные композиции: опухолевые клетки (среднее: 77%; диапазон 5-96%), $CD4^+$ Т-клетки (0,90%; 0,02-15%) и $CD8^+$ Т-клетки (1,5%; 0-23%). Результаты показывают, что субъекты с CR или PR через 3 месяца после введения CAR^+ Т клеток, имели более высокую долю эндогенных $CD4^+$ Т-клеток в опухолях до лечения по сравнению с PD (CR, PR среднее: 7,9%; PD среднее: 0,38%; $p < 0,0001$). Доли $CD8^+$ Т-клеток в опухолях до лечения не отличались в группах 3-месячного ответа (CR, PR среднее: 1,9%; PD среднее: 0,47%; $p=0,6496$).

В биопсиях после лечения было обнаружено, что CAR^+ Т-клетки инфильтрируют опухоль и составляют вплоть до 22% клеток в образце биопсии. Уровень инфильтрация опухоли в образцах после лечения (7-20 дней после введения) был выше у субъектов, продолжающих давать CR (среднее: 3,9%) или PR (среднее: 1,1%) по сравнению с субъектами, которые продолжают давать наилучший общий ответ (BOR) SD или PD (среднее: 0,51%). Хотя и $CD4^+$ и $CD8^+$ CAR Т клетки инфильтровывали область опухоли в момент времени после лечения (7-20 дней после введения), субъекты, которые продолжали давать CR, имели более высокое отношение $CD8^+$ CAR^+ Т клеток к $CD4^+$ CAR^+ Т клеткам, в этот момент времени после лечения, по сравнению с субъектами, которые продолжают давать BOR SD или PD (CR среднее: 0,83; SD, PD среднее: 0,14; $p=0,0097$).

Сравнивая парные биопсии до и после лечения от отдельных субъектов, результаты показали тенденцию к тому, что субъекты, в конечном итоге достигшие BOR CR или PR, имели большее увеличение $CD8^+$ Т-клеток после лечения (CAR^+ Т и не CAR Т) в опухолях, по сравнению с субъектами, в конечном итоге достигших BOR SD или PD (CR, PR среднее изменение: +5,3%; SD, PD среднее изменение: +0,06%; $p=0,1225$).

Экспрессия иммунодепрессивных факторов, включая CD73, FOXP3, CD163, IDO и PD-L1, варьировалась среди субъектов до лечения (CD73 (среднее: 1,5%; диапазон 0-42%), FOXP3 (0,10%; 0-1,5%), IDO (0,06%; 0-11%), CD163 (1,2%; 0-24%) и PD-L1 (0,16%; 0-56%)) и после лечения (CD73 (1,6%; 0-53%), FOXP3 (0,09%; 0-4,3%), IDO (0,28%; 0-15%), CD163 (3,6%; 0-22%) и PD-L1 (3,3%; 0-65%)). Повышение $CD8^+$ Т-клеток в парных биопсиях после лечения ассоциировано повышением экспрессии IDO ($R^2=0,64$) и PD-L1 ($R^2=0,61$) после лечения. Этот результат согласуется с заключением, что инфильтрация $CD8^+$ CAR^+ клеток

в оцениваемый момент времени может означать потенциальную вероятность достижения степени ответа или длительности ответа, и что присутствие и/или активность таких клеток может дать активацию TME факторов.

D. Заключение

Устойчивый ответ на 3 месяце после введения CAR^+ Т-клеток ассоциирован с более высоким уровнем $CD4^+$ Т-клеток в опухоли до лечения. В опухолевых клетках после лечения, CAR^+ Т-клетки, как $CD4^+$, так и $CD8^+$, инфильтрируют опухоль и прилегающую ткань. ORR ассоциируется с увеличением CAR^+ Т-клеток в биопсии опухоли. Увеличение еровней $CD8^+$ в биопсии опухоли после лечения по сравнению с уровнями $CD8^+$ в биопсии опухоли до лечения ассоциировано с увеличением экспрессии IDO и PD-L1. В некоторых вариантах осуществления, терапии, направленные на эти пути, такие как терапии, вводимые во время или после введения CAR-Т-клеток, могут улучшать один или несколько терапевтических результатов или их продолжительность после введения CAR^+ Т-клеток.

Пример 6. Дальнейшая оценка ответа и результатов безопасности у субъектов с рецидивирующей и рефрактерной неходжкинской лимфомой (NHL) после введения анти-CD19 CAR-экспрессирующих клеток

Ответ и результаты безопасности оценивают у пациентов в следующий момент времени в клиническом исследовании, описанном в Примерах 1 и 3 выше.

A. Субъекты и лечение

Анализ в этот момент времени, представленный в этом примере, основан на оценке всего 102 субъектов в полной когорте (73 в основной когорте), которым вводили анти-CD19 CAR-экспрессирующие клетки. Полная когорта включает субъектов, которые имеют DLBCL (DLBCL, NOS de novo и трансформированную из фолликулярной лимфомы; В-клеточную лимфому высокой степени злокачественности (двойную/тройную); DLBCL трансформированную из CLL или MZL; PMBCL; и FL3B, ECOG 0-2, после 2 линии терапии; Основная когорта для анализа включает субъектов, имеющих DLBCL, NOS и трансформированную из фолликулярной лимфомы (tFL) или В-клеточную лимфому высокой степени злокачественности (двойную/тройную) и со статусом Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status (ECOG PS) 0 или 1. Субъекты с MCL после терапии 1 линии также включены в исследование. Приблизительно 90% подвергутых лечению пациентов в Полной и Основной когорте имели, по меньшей мере, один признак высокого риска заболевания, прогнозирующий короткое среднее общее выживание (OS) 3-6 месяцев (см. Crump et al., Blood (2017) 130:1800-1808 и Van de Neste et al., Bone Marrow Transplant. (2016) 51(1):51-7), такой как двойные/тройные экспрессоры, первичное рефрактерное заболевание, рефрактерное к 2 или более линиям терапии, никогда не достигаемый CR, некогда не получаемую трансплантацию аутологичных стволовых клеток (ASCT) или ECOG PS 2.

На данный момент времени, всего 134 субъекта были подвергнуты лейкаферезу, из них у 2 композиция не была доступна. Продукт был доступен для 99% субъектов после афереза (132/134) в когорте. Из еще 18 субъектов, чьи продукты были доступны, 5 были

исключены, а у 13 развилось прогрессирующее заболевание или они умерли. Всего 114 субъектам были введены анти-CD19 CAR-экспрессирующие клетки, из которых 12 получили несоответствующие анти-CD19 CAR-экспрессирующие клетки (композиции, не обязательно отвечающие определенным спецификациям, но считающиеся безопасными для введения). Субъекты получали DL1 (n=45), двойную дозу DL1 (n=6) или DL2 (n=51). Семи (7) субъектам с мантийноклеточной лимфомой (MCL) вводили CAR^+ клетки в DL1. В этот момент времени, восемь (8) субъектов лечили в амбулаторном режиме.

Демографические и исходные характеристики субъектов Полной и Основной когорты в момент времени указаны в **Таблице E18**.

Таблица E18. Характеристики пациента: DLBCL когорта

Характеристика	**ПОЛНАЯ (n=102)**	**ОСНОВНАЯ (n=73)**
Средний возраст (диапазон), лет	61 (20-82)	60 (20-82)
≥0 (20-82) (диапазон	37 (36)	24 (33)
B-NHL Подтип, n (%)		
DLBCL, NOS de novo	63 (62)	53 (73)
Трансформирована из FL (tFL)	23 (23)	20 (27)
Трансформирована из MZL (tMZL)/CLL (tCLL)	6 (6)/6 (6)	0
Фолликулярная, степень 3B/PMBCL	1 (1)/3 (3)	0
Молекулярный подтип, n (%)		
Двойная/тройная[a]	19 (19)	16 (22)
Характеристики пациента, n (%) L		
ECOG PS 0-1	93 (91)	73 (100)
IPI 3-5	43 (42)	26 (36)
Вовлечение ЦНС	2 (2)	1 (1)
Химиорефрактерная[b]	71 (70)	49 (67)
Предшествующие линии терапии, среднее (диапазон)	3 (1-8)	3 (2-8)
Никогда не достигаемый CR	49 (48)	36 (49)
Любой HSCT	41 (40)	28 (38)
Предшествующие аутологичные	38 (37)	28 (38)
Предшествующие аллогенные	5 (5)	0

HSCT, трансплантат гемопоэтических стволовых клеток. IPI, Международный прогностический индекс; SD, стабильное заболевание; ВОЗ, Всемирная организация здравоохранения.

Таблица E18. Характеристики пациента: DLBCL когорта		
Характеристика	**ПОЛНАЯ (n=102)**	**ОСНОВНАЯ (n=73)**

[a] На начало исследования, включены в DLBCL, NOS гистология; на основе наиболее частых критериев ВОЗ (Swerdlow et al., (2016) Blood 127(20):2375-2390), сейчас считается В-клеточной лимфомой высокой степени злокачественности, с *myc* и BCL2 и/или BCL6 перестройкой с DLBCL гистологией (двойная/тройная).

[b] SD или PD до последней схемы, содержащей химиотерапию или рецидива <12 месяцев после аутологичных SCT.

B. Результаты безопасности и ответа после лечения

В **Таблице E19** показан результат безопасности для Полной и Основной когорты. Как показано, смерти от CRS или NT не наблюдались. В полной когорте, Среднее время до наступления CRS составляет 5 дней (диапазон, 2-12 дней) и NT составляет 10 дней (диапазон, 3-23 дней). В полной когорте, 17% (n=17) получают тоцилизумаб и 21% (n=21) получают кортикостероиды в качестве вмешательства против токсичности. В основной когорте, повышение CRS или NT не наблюдали при DL2, по сравнению с DL1.

Таблица E19. Результаты безопасности после введения CAR$^+$ клеток				
	ПОЛНАЯ	**ОСНОВНАЯ**		
	Все уровни доз n=102	**Все уровни доз[a] n=73**	**DL1S n=33**	**DL2S n=37**
CRS, n (%)				
Любая степень	38 (37)	27 (37)	14 (42)	11 (30)
Степень 1/2	37 (36)	26 (36)	13 (39)	11 (30)
Степень 3/4 (sCRS)	1 (1)	1 (1)	1 (3)	0
Нейротоксичность, n (%)				
Любая степень	23 (23)	18 (25)	8 (24)	9 (24)
Степень 1/2	10 (10)	7 (10)	1 (3)	6 (16)
Степень 3/4 (sNT)	13 (13)	11 (15)	7 (21)	3 (8)
Любой, n (%)				
CRS или NT	44 (43)	32 (44)	15 (45)	15 (41)
sCRS или sNT	13 (13)	11 (15)	7 (21)	3 (8)

[a] Трех пациентов, подвергутых лечению DL1D (уровень дозы 1, схема с двумя дозами) с аналогичными результатами.

На **ФИГ. 29** изображена доля субъектов в полной когорте в этот момент времени (n=102) у которых наблюдались опытные лабораторные аномалии и вызванные лечением

побочные явления (TEAE) (данные для 6 субъектов с MCL, подвергутых лечению соответствующим продуктом при DL1 с, по меньшей мере, 28 дней отслеживания не включены; показывая TEAE и лабораторные аномалии, возникающие у 20% или более субъектов).

Как показано в **Таблице E20**, высокие степени ответа наблюдали у субъектов с рецидивирующей или рефрактерной (R/R). Результаты согласуются с дозозависимым эффектом на результат лечения в основной когорте. Субъекты с опухолевой массой выше пороговой (что показано объемным измерением опухоли по сумме произведений измерений (SPD) более чем 50 $см^2$) были аналогично распределены между субъектами, получавшими DL1 и DL2 (приблизительно 1/3 субъектов в каждой группе).

Таблица E20. Ответ поле введения CAR^+ клеток

	ПОЛНАЯ	**ОСНОВНАЯ**		
	Все уровни доз (n=102)	**Все уровни доз[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-мес ORR (95% CI), %	51 (41-61)	59 (47-70)	52 (34-69)	65 (48-80)
3-мес CR (95% CI), %	38 (29-48)	45 (34-57)	36 (20-55)	51 (34-68)
6-мес ORR (95% CI), %	40 (31-50)	47 (35-59)	42 (26-61)	49 (32-66)
6-мес CR (95% CI), %	34 (25-44)	41 (30-53)	33 (18-52)	46 (30-63)

[a] Трех пациентов лечат DL1D (уровень дозы 1, схема с двумя дозами) с аналогичными результатами.

Шестимесячная частота объективного ответа (ORR) для разных подгрупп субъектов в DLBCL подгруппах с высоким риском, которые включают все DLBCL пациентов лечат на всех уровнях доз в основной когорте, показан на **ФИГ. 30**. Результаты показывают высокий устойчивый ORR в DLBCL подгруппах с высоким риском при введении анти-CD19 CAR^+ T клеток.

Результаты длительности ответа (DOR, со средним периодом наблюдения 8 месяцев) и общего выживания (сгруппированные по наилучшему общему ответу (пациент с отсутствием клинического ответа, CR/PR, CR и/или PR), со средним периодом наблюдения 12 месяцев) показаны для полной когорты и основной когорты на **ФИГ. 31A-31D**. Результаты показывают, что в основной когорте, 88% субъектов с CR в 3 месяца продолжают показывать CR в 6 месяцев, и 93% субъектов, которые демонстрируют CR в 6 месяцев продолжают показывать долговременный ответ.

Результаты согласуются с наблюдением, что введение анти-CD19 CAR^+ клеточных композиций, которые содержат точную и постоянную дозу $CD4^+$ и $CD8^+$ CAR^+ T клеток

дает устойчивый ответ у субъектов с R/R агрессивной NHL с неблагоприятный прогнозом и/или тяжелым предварительном лечением. Результаты показывают благоприятный устойчивый ответ в основной когорте, с 49% ORR и 46% CR в 6 месяцев и 93% субъектов (на всех уровнях доз) с CR в 6 месяцев, сохраняют ответ в этот момент времени. Результаты также согласуются с управляемой токсичностью и благоприятным профилем безопасности, включая низкие количество тяжелого CRS (1%) и тяжелой нейротоксичности (13%), что, в некоторых аспектах, поддерживает амбулаторное введение.

Пример 7. Оценка применения ресурса и параметров до лечения и размножения у субъектов с рецидивирующей и рефрактерной неходжкинской лимфомой (NHL) после введения анти-CD19 CAR-экспрессирующих клеток

Применение разных ресурсы здравоохранения и разных параметров до лечения, таких как анализируемые вещества в крови и тяжесть заболевания и размножение клеток, оценивают у пациентов, описанных в клинических исследованиях, описанных в Примерах выше у субъектов с рецидивирующей/рефрактерной NHL, которые получали терапевтические композиции анти-CD19 CAR-экспрессирующих Т клеток.

Пример 7.I.A. Субъекты и лечение

Первый анализ проводят в определенный момент времени в клиническом исследовании, описанном в Примерах 1, 3 и 6. Анализ в этот момент времени, представленный в этом примере, основан на оценке всего 114 субъектов в полной когорте. В этот момент времени, 96 субъектов были лечены в стационарном режиме и 18 субъектов были лечены в амбулаторном режиме.

Демографические и исходные характеристики субъектов, подвергутых лечению в стационарном и амбулаторном режимах в момент времени указаны в **Таблице E21**.

Таблица E21. Характеристики пациента

Демография/Характеристики	**Стационарное введение (n=96)**	**Амбулаторное введение (n=18)**
Средний возраст (диапазон), лет	61 (20-82)	60 (23-76)
Мужчины, n (%)	66 (69)	13 (72)
B-NHL Подтип, n (%)		
DLBCL, NOS de novo	60 (63)	9 (50)
Трансформированная из FL	22 (23)	5 (28)
Трансформированная из MZL/CLL	9 (9)	0 (0)
Фолликулярная, степень 3B/PMBCL	2 (2)	4 (22)
Молекулярный подтип, n (%)		
Двойная/тройная	19 (20)	2 (11)
Характеристики пациента		
ECOG PS 0-1 (пред-JCAR017), n (%)	81 (84)	18 (100)

Вовлечение ЦНС, n (%)	2 (2)	0 (0)
Химиорефрактерная, n (%)	66 (69)	14 (78)
Предшествующие линии терапии, среднее (диапазон)	3 (1-8)	2 (1-5)
Никогда не достигаемый CR, n (%)	47 (49)	9 (50)
Любой HSCT, n (%)	39 (41)	6 (33)
Предшествующие аутологичные	36 (38)	6 (33)
Предшествующие аллогенные	5 (5)	0 (0)

CLL, хроническая лимфоцмтарная лимфома; DLBCL, диффузная B-крупноклеточная лимфома; EGOG PS, Eastern Cooperative Oncology Group Performance оценка: FL, фолликулярная лимфома; FL3B, фолликулярная лимфома степени 3B; MZL, лимфома маргинальной зоны; NOS, не определенная иным образом; PMBCL, первичная B-клеточная лимфома стредостения; SCT, трансплантация стволовых клеток; IPI, Международный прогностический индекс. На начало исследования, включены в DLBCL, NOS гистология; на основе наиболее частых критериев ВОЗ, 3 считаются B-клеточной лимфомой высокой степени злокачественности, с MYC и BCL2 и/или BCL6 перестройкой с DLBCL гистологией (двойная/тройная). [b] SD или PD до последней схемы, включающей химию или рецидив <12 месяцев после аутологичного HSCT.

Пример 7.I.B. Результат безопасности

В **Таблице E22** показаны конкретные связанные с безопасностью результаты (количество случаев CRS и неврологических событий) для субъектов, которых лечили введение в стационарном или амбулаторном режиме. Помещение в ICU во время CRS или неврологических событий было у 9 субъектов (9,4%), получавших стационарное лечении и у 1 пациента, (5,6%) получавшего амбулаторное лечение.

Таблица E22. Синдром выделения цитокина и неврологические события в месте введения

	Стационарное введение (n=96)	**Амбулаторное введение (n=18)**
CRS[a], n (%)		
Любая степень	35 (36,5)	6 (33,3)
Степень 1-2	34 (35,4)	5 (27,8)
Степень 3-4 (sCRS)	1 (1,0)	1 (5,6)
Неврологические события,[b]n (%)		
Любая степень	20 (20,8)	7 (38,9)
Степень 1-2	8 (8,3)	5 (27,8)

Степень 3-4 (sNE)	12 (12,5)	2 (11,1)
Любая, n (%)		
CRS или NE	39 (40,6)	9 (50)
sCRS или sNE	12 (12,5)	2 (11,1)
CRS, синдром выделения цитокина; NE, неврологическое событие; sCRS, серьезный CRS; sNE, серьезный NE. [a] Ранжировано по Lee, et al. Blood, 2014,7 [b] Степени по Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE), версия 4,03.		

Пример 7.I.C. Оценка биомаркеров, размножения и применения ресурсов

Экспрессию биомаркеров LDH, CRP и ферритин оценивают в биопсии опухоли, собранной от субъектов, и опухолевую массу у субъекта оценивают объемное измерение опухоли по сумме произведений измерений (SPD), до (до лечения) введения CAR-экспрессирующих клеток. Максимальную сывороточную концентрацию (C_{max}; $CD3^+$ CAR^+ клеток/мкл крови) также определяют у субъектов после введения. Субъектов группируют по SPD, LDH, CRP и C_{max} равной или ниже или выше порогового значения или по стационарному или амбулаторному лечению, и оценивают ассоциацию с разными параметрами является показателем использования ресурсов здравоохранения (дней в стационаре, дней в палате интенсивной терапии (ICU), применения тоцилизумаба (агент для изменения токсичности, (%)) и сосудосуживающего фактора, применения интубации или диализа (лечения для воздействия на токсичность, (%)).

На **ФИГ. 32A-32F** показано применение разных параметров ресурсов здравоохранения у субъектов, сгруппированных по: C_{max} равной или выше 500 клеток/мкл или выше 500 клеток/мкл CAR^+ клеток/мкл (**ФИГ. 32A**); SPD равной или выше 50 $см^2$ или выше 50 $см^2$ (**ФИГ. 32B**); LDH равной или выше 500 единиц/л или выше 500 единиц/л (**ФИГ. 32C**); CRP равной или выше 10 мг/л и ферритина равного или выше 5000 нг/мл или CRP выше 10 мг/л и ферритина выше 5000 нг/мл (**ФИГ. 32D**) и стационарному режиму или амбулаторному режиму (**ФИГ. 32E-32F**).

Результаты согласуются с пониженным использованием ресурсов здравоохранения (например, пониженным применением лечения или воздействия на токсичность) у субъектов с низкой, до лечения опухолевой массы, экспрессией определенных анализируемых веществ в крови, таких как LDH, CRP и/или ферритин, и/или низким пиком количества CAR^+ T клеток после лечения. У субъектов, подвергутых лечению в амбулаторном режиме, имеется 42% снижение продолжительности пребывания в больнице, по сравнению с таковыми, леченными в стационарном режиме. В общем, применение воздействия на токсичность, например, тоцилизумаба, интубации, сосудосуживающих факторов и диализа) было ниже в обеих группах, стационарного и амбулаторного лечения, с применением сосудосуживающих факторов, которые были выше в группах амбулаторного лечения. Результаты согласуются с возможностью амбулаторного введения.

Пример 7.II.

В том же клиническом исследовании, описанном в Примере 7.I выше, количество случаев, использование ресурсов здравоохранения (HRU) и расходы на синдром выделения цитокина (CRS) и неврологические события (NE) оценивают в подмножестве 102 субъектов, которые получали соответствующую дозу анти-CD19 CAR-экспрессирующих/клеточных композиций, как описано в Примере 6. Фиксируют информацию о характеристиках пациента, количестве случаев AE, лабораторные отчеты, применение ресурсов и прописанную информацию. Использования ресурсов здравоохранения (HRU) в пределах дат наступления и исчезновения CRS и NE идентифицируют для каждого субъекта с применением способов, как описано на **ФИГ. 40**. HRU идентифицируют для каждого субъекта. Руководство по управлению исследованием перепроверяют для определения того, было ли HRU связано с CRS и/или NE. Затраты, ассоциированные со степенью CRS или NE, применяют с применением публичных баз данных литературы по среднему общенациональному показателю (**Таблица E22.1**).

Базовые демографические и клинические характеристики оценивают по профилю CRS и/или NE. Количество случаев побочных событий (AE) оценивают как описано в Примере 1, включая по степени CRS и NE по критериям Lee et al. (2014) и CTCAE, версия 4,03, соответственно. Определяют возникновение только CRS, только NE, не одновременных CRS и NE (т.е. без пересечения дат начала и конца) и одновременных CRS и NE.

Определяют HRU и оценивают затраты, ассоциированные с CRS и NE, в том числе на основе диагностики, лекарственных средств (например, применения Тоцилизумаба и кортикостероида) и применение ресурсов (например, среднюю продолжительность пребывания (LOS) по степени CRS и/или NE и применением палаты интенсивной терапии (ICU)). Средние общие затраты по степени CRS и/или NE оценивают и анализируют согласно профилю CRS и/или NE.

Таблица E22.1 Затраты[a]

Вложение	**Значение (Диапазон)**	**Ссылка**
Затраты на официальный визит	$114	2018 OPPS Национальная норма возмещения
Затраты на сутки в стационаре[b]	$2668	Health Care Utilization Project - National Inpatient Sample 2015
Затраты на ICU в сутки[b]	$6546	Оценка по стоимости суток в ICU без искусственной вентиляции[d]
Диагностическое лабораторное тестирование	($6-$23)	2018 Clinical Laboratory Fee Schedule по HCPCS коду, национальная норма возмещения
Диагностическое	($360-$486)	2018 OPPS and Physician Fee Schedule

тестирование		национальные нормы возмещения
Препараты/лекарственные средства[c]	($0,01-$4914) на дозу	IBM Truven Micromedex RED BOOK®, WAC Price
Тоцилизумаб 80 мг/4-мл флакон[d]	$436,81	IBM Truven Micromedex RED BOOK®, WAC Price
[a] Эти затраты применимы к любому HRU, который отвечает требованиям к временным рамкам и руководящим принципам с точки зрения поставщика. [b] Завышены до 2018 US$. [c] Затраты на выписанное количество. [d] Тоцилизумаб дозируют 8 мг/кг и субъекты могут потребовать более одной дозы. HCPCS, Healthcare Common Procedure Coding System; HRU, использования ресурсов здравоохранения; ICU, палата интенсивной терапии; OPPS, Outpatient Prospective Payment System; WAC, оптовая цена.		

Характеристики пациента по профилю AE показаны в **Таблице E22.2.** Из 102 оцениваемых субъектов, 44 испытывают CRS и/или NE, 21 субъектов (21%) имеют только CRS (не G≥3), 6 субъектов (6%) имеют только NE (не G≥4), 6 субъектов (6%) имеют не одновременные CRS и NE и 11 субъектов (11%) имеют одновременные CRS и NE (включая 1 G4 CRS). Из 38/102 (37%) субъектов, которые испытывали CRS, 1 имел степень 3/4 CRS. Из 23/102 субъектов (23%),которые испытывали NE, 10 (10%) имели степень 1/2 и 13 (13%) имели степень 3/4. Из подмножества 44 субъектов, большинство в каждом профиле побочного события имеет DLBCL, не определенную иным образом. Из этих 44 субъектов, 70% имели G≤2 события (31 из 44 субъектов). Из субъектов с обоими CRS и NE, 94% имели CRS впервые (16 из 17 субъектов). Из субъектов с не одновременными событиями, NE развивалась в среднем через 2 дня после исчезновения CRS. Из 10 из 11 субъектов (91%) с одновременными событиями и CRS до NE, NE развивалась в среднем через 3,5 дней после наступления CRS.

Таблица E22.2 Характеристики субъектов (N=44) с CRS и/или NE по профилю AE

	Степень[a]	**n(%)[b]**	**Средний возраст (диапазон)**	**Мужчины n (%)**	**Тип NHL, -NOS, n (%)**
Только CRS	Любая	21 (48)	55,7 (26-74)	11 (52,4)	13 (61,9)
	1	13(30)	57,5 (47-74)	7 (53,8)	8 (61,5)
	2	8(18)	52,8 (26-68)	4 (50)	5 (62,5)
Только NE	Любая	6(14)	64,3 (47-84)	4 (66,7)	3 (50)
	1	1(2)	47	0	0
	2	3(7)	62,7 (57-73)	2 (66,70	2 (66,7)

	3	2(5)	75,5 (67-84)	2 (100)	1 (50)
Не одновременные CRS & NE	Любая	6(14)	55,8 (33-73)	6 (100)	3 (50)
	CRS & NE ≤2	2(5)	57 (55-59)	2 (100)	0
	CRS или NE ≥3	4(9)	54,5 (29-73)	4 (100)	3 (75)
Одновременные CRS & NE	Любая	11(25)	54,5 (29-79)	8 (72,7)	8 (72,7)
	CRS & NE ≤2	4(9)	62,25 (51-75)	4 (100)	4 (100)
	CRS или NE(s) ≥3	6(14)	53,7 (37-79)	3 (50)	3 (50)
	CRS & NE(s) ≥3	1(2)	29	1 (100)	1 (100)

[a] Критерии Lee применяют для ранжирования CRS, а CTCAE версию 4,03 применяют для ранжирования NE. Определяют по максимальной степени.

[b] Все доли рассчитаны с применением n/44 субъектов.

AE, побочное событие; CRS, синдром выделения цитокина; DLBCL, диффузная B-крупноклеточная лимфома; NE, неврологическое событие; NHL, неходжкинская лимфома; NOS, не определенная иным образом

В **Таблице E22.3** указаны HRU по степени токсичности. Из 38 субъектов с CRS, 11 (29%) получали тоцилизумаб (11/102, 11% субъектов оценивали в этот момент времени) и из 44 с CRS и/или NE, 21 (48%) получали кортикостероид (например, дексаметазон) (21/102, 21% субъектов оценивали в этот момент времени). Как показано в **Таблице E22.3**, количество применяемого кортикостероида повышалось по всем профилям CRS и/или AE при повышении степени AE.

Таблица E22.3 HRC по степени (N=44)

	Степень	n	Средняя LOS, дни (диапазон)	Применение ICU, n (%)	Тоцилизумаб, n (%)	Кортикостероид, n (%)
Только CRS	1	13	5 (1-11)	0	2 (15,4)	0
	2	8	6 (4-8)	2 (25)	1 (12,5)	4 (50)
Только NE	1	1	0	0	0	0
	2	3	9 (6-18)	1 (33)	0	2 (66,7)
	3	2	16,5 (12-21)	2 (100)	0	2 (100)
Не одновременные CRS & NE	CRS & NE ≤2	2	6,5 (2-11)	0	1 (50)	1 (50)
	CRS или NE ≥3	4	16,5 (11-25)	1 (25)	1 (25)	4 (100)
Одновременны	CRS & NE	4	10,5 (5-13)	0	2 (50)	1 (25)

e CRS & NE	≤2					
	CRS или NE ≥3	6	16 (13-56)	3 (50)	3 (50)	6 (100)
	CRS & NE ≥3	1	56	1 (100)	1 (100)	1 (100)

CRS, синдром выделения цитокина; HRU, использования ресурсов здравоохранения; ICU, палата интенсивной терапии; LOS, продолжительность пребывания; NE, неврологическое событие.

В **Таблице E23** суммированы HCRU и средние затраты для каждого количества случаев токсичности среди подвергутых лечению субъектов. Общие средние затраты для G≤2 к G≥3 CRS и/или NE составляли $16533 к $70666. Как показано в **Таблице E23**, средние общие затраты на управление для CRS и/или NE в большой степени определялись госпитализациями и варьируются от $177-24945 для G≤2 только CRS или NE, $31018 для G≤2 одновременных CRS и NE и $45384-263743 для G≥3 CRS и/или NE.

Таблица E23. Средние затраты по степени (N=44)

	Степень	**n**	**Диагностика**	**Лекарственные средства**	**Устройства** [a]	**Всего**
Только CRS	1	13	$70	$332	$13341	$13743
	2	8	$249	$175	$16009	$16434
Только NE	1	1	$63	$0	$114	$177
	2	3	$527	$406	$24013	$24945
	3	2	$1390	$845	$76223	$79223
Не одновременные CRS & NE	CRS & NE ≤2	2	$771	$2205	$17856	$20832
	CRS или NE ≥3	4	$859	$444	$44081	$45384
Одновременные CRS & NE	CRS & NE ≤2	4	$606	$2169	$28243	$31018
	CRS или NE ≥3	6	$1450	$5128	$75653	$82231
	CRS & NE ≥3	1	$3407	$10092	$250244	$263743

[a] Затраты на устройства включают посещение врача, госпитализации и пребывание в палате интенсивной терапии.

CRS, синдром выделения цитокина; NE, неврологическое событие.

Как показано на **ФИГ. 41**, при повышении тяжести AE повышается общее LOS и применение ICU повышается для CRS и NE групп. Для субъектов с одновременными CRS и NE, применение ресурсов здравоохранения во всех категориях повышается при 1 или более степени ≥3 AE.

Анализ основан на моменте времени в клиническом исследовании, в котором у субъектов, подвергутых лечению дозой CAR-экспрессирующих Т-клеток, 70% CRS и/или NE имели степень ≤2. LOS в больнице и ICU было связано с расходами на управление CRS и/или NE. Затраты на лекарственные средства (включая тоцилизумаб) не были основным компонентом затрат, в то время как затраты на устройства, первичное пребывание в стационаре и пребывание в палате интенсивной терапии составили в среднем 92,6% от всех затрат на управление. Предполагаемые расходы на управление AE у субъектов в данном исследовании и в этот момент времени существенно различались, составляя от $177 до $263743 для данной группы субъектов. Степень ≥3 событий привела к увеличению общих средних затрат на 327% по сравнению с G≤2 событиями ($70666 к $16533 долларов). 53,8% субъектов (7/13) со степенью ≥3 событий были помещены в ICU для управления AE, по сравнению с 9,7% субъектов (3/31) со степенью ≤2 событий.

Эти результаты согласуются с наблюдением, что CAR Т-клеточная терапия, ассоциированная с уменьшением количества AE и более низкой степенью CRS и NE, может ограничивать HRU и затраты.

Пример 8. Оценка состояния здоровья у пациентов с рецидивирующей и рефрактерной неходжкинской лимфомой (NHL) после введения анти-CD19 CAR-экспрессирующих клеток

Терапевтические CAR^+ Т клеточные композиции, содержащие аутологичные $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клетки, экспрессирующие химерный антигенный рецептор (CAR), специфический к DLBCL, вводят субъектам с рецидивирующей и рефрактерной неходжкинской лимфомой, потерпевшим неудачу при 2 предшествующих линиях терапии в клиническом исследовании по существу как описано в Примерах 1, 3 и 6.

A. Связанное со здоровьем качество жизни (HRQL) и воздействие симптомов (Sx)

Воздействие симптомов, функциональные шкалы и общее состояние здоровья оценивают у субъектов после лечения. Анкету European Organization for Research and Treatment Core Quality of Life Questionnaire, версия 3,0 (DLBCL) дают на базовом уровне (BL), день 29 (1 месяц) и месяцы 2 и 3 для оценки воздействия симптомов, функциональных шкал и общего состояния здоровья, с диапазоном оценок 0-100, где наивысшая оценка означает улучшенный HRQL или пониженную переносимость симптомов. Повышение от BL ≥10 оценок функциональности и качества жизни (QL) или снижение от BL≥10 пунктов в оценках Sx считается клинически значимыми улучшениями. В конкретный момент времени в клиническом исследовании, 87 из 127 субъектов оценивали на базовом уровне в одни или несколько других моментов времени (BL+≥ 1 после-BL оценки). Средний возрастной диапазон оцениваемых субъектов составлял 62 года (стандартное отклонение

11 лет).

Как показано в **Таблице E24**, оценка симптомов обычно улучшается после инфузии. Среднее общее состояние здоровья и оценки эмоциональной и когнитивной функции улучшились по сравнению с BL в течение 1-3 месяцев после инфузии. Оценка физических, ролевых и социальных функций снизилась в 1 месяц по сравнению с BL, затем последовали улучшения по сравнению с BL на 2-3 месяце. Доля субъектов достигших клинически значимого улучшения в конкретных доменах через 3 месяца после инфузии составила: утомляемость, 50%; боль, 51%; физическая функция, 22%; и общее состояние здоровья в мире, 41%.

Эти результаты показывают, что в этой подгруппе субъектов, симптомы и HQRL улучшились у выживших субъектов, с клинически значимыми улучшениями в заранее определенных доменах через 2-3 месяца после инфузии.

Таблица E24. EORTC QLQ-30 оценки				
Средняя (CO)	**BL (n/N=87/87)**	**Мес 1 (n/N=73/86)**	**Мес 2 (n/N=62/82)**	**Мес (n/N=51/70)**
Общее состояние здоровья*	65 (20)	67 (23)	76 (19)	74 (19)
Физическое*	80 (17)	73 (26)	81 (21)	80 (20)
Ролевое	70 (28)	67 (31)	80 (28)	75 (28)
Эмоциональное	82 (17)	83 (19)	88 (15)	86 (16)
Когнитивное	84 (17)	87 (19)	91 (16)	88 (18)
Социальное	71 (24)	68 (29)	77 (27)	80 (25)
Утомляемость*	37 (22)	38 (27)	27 (22)	28 (25)
Боль*	26 (26)	20 (26)	17 (22)	19 (23)
* Предопределенные домены. n/N=завершенные QLQ-C30/всего на исследование				

B. Взвешенное по предпочтениям состояние здоровья после лечения

Оценка индекса полезности здоровья и визуальная аналоговая шкала [VAS] (EQ-5D-5L), которая измеряет самочувствие пациентов и воспринимаемое состояние здоровья, были проанализированы у пролеченных субъектов на исходном уровне, на день 29 (месяц 1) и месяцы 2, 3, 6 и каждые 3 месяца после этого. Оценка индекса EQ-5D-5L была рассчитана с использованием широко используемых в США коэффициентов предпочтений. В конкретный момент времени в клиническом исследовании 90 субъектов были оценены на исходном уровне и в один или несколько других раз (BL+ ≥ 1 оценка после BL). Средний возрастной диапазон составил 61,7 лет (стандартное отклонение (SD) 11,2 лет).

Как показано в **Таблице E25**, пациентов предварительно лечили большими дозами, и 90% имели ≥1 признаки высокого риска заболевания, прогнозирующие короткое общее выживание.

Таблица E25. Характеристики пациента (EQ-5D-5L оцениваемая популяция)	
Демография/Характеристика	**N=90**
Средний возраст (диапазон), y	64 (24-79)
Мужчины, n (%)	63 (70)
B-клеточная NHL, подтип, n (%)	
DLBCL, NOS de novo	71(79)
Фолликулярная лимфома	18(20)
Лимфома высокой степени злокачественности с DLBCL гистологией	1(1)
Молекулярный подтип, n (%)	
Двойная/тройная	14(16)
Характеристики пациента	
ECOG PS 0-1 (пред-LD), n (%)	87(97)
Вовлечение ЦНС, n (%)	1(1)
Химиорефрактерные, n (%)	62(69)
Никогда не достигаемый CR, n (%)	31(34)
Среднее количество месяцев (диапазон) от диагностики до инфузии терапевтических CAR^+ T клеток	21,8(5,202)
Среднее количество предшествующих терапий (диапазон)	3(2,8)
Предшествующая трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, n (%)	33(37)
ЦНС, центральная нервная система; CR, полный ответ; DLBCL, диффузная B-крупноклеточная лимфома; ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group; LD, противолимфомная терапия; NHL, неходжкинская лимфома; NOS, не определенная иным образом; PS, показатель общего состояния.	

Оценка состояния здоровья EQ-5D состояла из 5 параметров здоровья, включая подвижность, самообслуживание, повседневную активность, боль/дискомфорт и тревогу/депрессию, и оценивалась в виде одного суммарного индекса с использованием значения США, установленного по шкале от -0,109 до 1. Оценка 0 означает смерть, оценка 1 означает «полное здоровье», а отрицательная оценка отражает состояния, которые воспринимаются как худшие, чем смерть. Изменение от исходного ≥0,07 в EQ-5D-5L оценке одного суммарного индекса было указано априори как индикатор клинически значимого изменения (см. например, Pickard AS, et al. Health Qual Life Results. 2007; 5:70).

Для оценки EQ-VAS субъекту было предложено оценить свое здоровье в день оценки, поставив крестик на шкале от 0 до 100, где ноль представляет наихудшее состояние здоровья, которое можно вообразить, а оценка 100 представляет лучшее состояние здоровья, которое можно вообразить (т.е., более высокие оценки указывают на улучшение

здоровья). Анализ наблюдаемых оценок включал описательную статистику (например, n, среднее, стандартное отклонение, минимум, процентили и максимум) наблюдаемых оценок и изменений от исходного в каждый момент времени и проводился с помощью двустороннего критерия ранговых знаков Вилкоксона для оценки изменения от исходного.

Результаты по оценке пациента (PRO) оценивают через 6 месяцев, при степени приверженности >57% (**Таблица E26**).

Таблица E26. EQ-5D-5L Степени приверженности	
Оценка в момент времени	**Степень приверженности, n/N (%)**
Базовый уровень	90/90 (100)
Месяц 1	76/89 (85,4)
Месяц 2	64/74 (75,3)
Месяц 3	52/73 (71,2)
Месяц 6	23/40 (57,5)

Как показано в **ФИГ. 33**, средняя оценка взвешенного по предпочтениям состояния здоровья составляет 0,83 (СО 0,104 от базового уровня), которая снижается через 1 месяц после инфузии (−0,012 [СО 0,144]) и повышается от исходного через 2 месяца (0,010 [СО 0,149]) 6 месяцев (0,019 [СО 0,133]) после инфузии. Средняя базовая EQ-5D оценка по Шкале оценки состояния здоровья на базовом уровне ниже, чем норма для популяции для US (средний коэффициент оценки EQ-5D=0,867, см. например Janssen B, et al. Chapter 3. Population norms for the EQ-5D. 2013 Sep 26.In: Szende A, et al, eds. Self-Reported Population Health: An International Perspective based on EQ-5D [Internet]. Dordrecht, Netherlands: Springer; 2014.). Среднее изменение от исходного демонстрирует снижение в 1 месяц, затем повышение от исходного на 2-6 месяцы после инфузии (**ФИГ. 34**). На 6 месяц, 30% пациентов отмечают улучшения ≥0,07, Которые считаются клинически значимыми улучшениями (**ФИГ. 35**).

Доля пациентов, сообщивших об умеренных, тяжелых или экстремальных проблемах с подвижностью, самообслуживанием и повседневной активностью, по EQ-5D-5L увеличились в 1 месяц после инфузии (**ФИГ. 36A-36C**), а доля пациентов, сообщивших об отсутствии боли/дискомфорта и отсутствии тревоги/депрессии увеличилась от исходного до 6 месяцев после инфузии (**ФИГ. 36D-36E**).

Как показано на **ФИГ. 37**, средняя оценка общего состояния здоровья (EQ-VAS) однообразно увеличивалась с 70,2 на исходном уровне до 83,4 через 6 месяцев после инфузии, превышая оценки минимально важной разницы, основанные на опорном критерии и распределении (8-12 и 7-10, соответственно). Средние исходные оценки EQ-VAS были ниже нормы популяции для США (средний EQ-VAS=80) (см. Например, Jansen B, et al.). Среднее изменение исходной оценки в EQ-VAS продемонстрировало улучшение общего состояния здоровья в течение 1-6 месяцев после инфузии (**ФИГ. 38**).

Эти результаты показывают, что в этой подгруппе субъектов среднее взвешенное по предпочтениям состояние здоровья снижается через 1-месяц после инфузии, но увеличился

через 2-6 месяцев, с клинически значимыми улучшениями, превышающими >0,07 порог у 30% пациентов через 6 месяцев после инфузии. Оценка общего состояния здоровья повышается от исходного через 6 месяцев после инфузии.

C. Связанное со здоровьем качество жизни (HQRL) и взвешенное по предпочтениям состояние здоровья через 12 месяцев лечения

Качество жизни, симптомы и влияние полезности для здоровья оценивают у субъектов в более поздний момент времени в том же исследовании, описанном в примерах 8.A и 8.B выше. В этот момент времени в клиническом исследовании параметр оценивают у субъектов на исходном уровне (BL; до CAR^+ инфузии Т-клеток), на 29 день (1 месяц) и 2, 3, 6, 9, 12, 18 и 24 месяца после инфузии CAR^+ Т-клеток. Изменение ≥10 пунктов (увеличение статуса функционирования/здоровья и уменьшение симптомов) по шкале оценки от BL считается клинически значимым (т.е. изменение, которое пациент определил бы как важное). Доли субъектов с клинически значимым изменением (т.е. улучшением или ухудшением на 10 баллов) в заранее заданных доменах EORTC QLQ-C30 были рассчитаны на основе оценок изменения от BL до 6 и 12 месяцев. Дополнительно, среднее изменение от BL рассчитывают для оценки показателя состояния здоровья (EQ-5D) и EQ-VAS от EQ-5D-5L.

На момент оценки 181 из 268 субъектов (средний возраст 60 лет) оценивают по анкете EORTC QLQ-C30, а 186 субъектов (средний возраст 60 лет) оценивают анкете EQ-5D-5L. Демографические и исходные характеристики в момент времени, в который среднее время наблюдения за исследованием составляло 8,7 и 8,8 месяцев для EORTC QLQ-C30 и EQ-5D-5L оцениваемых популяций, соответственно, показана в **Таблице E26.1**. Доли участия в исследовании по сообщенным пациентом результатам составляли минимум 63% для субъектов с, по меньшей мере 6-месячным периодом наблюдения; 75% субъектов с по меньшей мере, 12 месяцев наблюдения завершили исследования.

Таблица E26.1 Демографические и исходные характеристики

	Категория	**(n=181)**	**EQ-5D-5L (n=186)**
Возраст (лет), средний (CO)		60,2 (14,0)	60,1 (13,9)
Пол, n(%)	Мужчины	117(65)	121(65)
Раса, n(%)	Белая	155(86)	158(85)
Тип B-клеточной лимфомы, n(%)	DLBCL, NOS	98(54)	99(53)
	HGL, включая двойную/тройную	19(10)	21(11)
	трансформированная из вялотекущей лимфомы	50(28)	51(27)
	PMBCL	13(7)	14(8)

	FL3B	1(1)	1(1)
ECOG PS при скрининге, n(%)	0	73(40)	73(39)
	1	107(59)	112(60)
LDH ≥500 ЕД/Л,[a] n(%)		29(16)	30(16)
SPD ≥50 $см^2$,[a] n (%)		44(25)	45(25)
CRP ≥20 мг/л, [a] n(%)		97(45)	101(54)
Рефрактерная или рецидивирующая, n(%)	Рефрактерная	141(78)	145(78)
	Рецидивирующая	40(922)	41(22)
Месяцы после диагноза, позволяющего инфузию CAR-T^+ клеток, средние (CO)		32,3 (35,7)	32,3(35,4)

[a] Доля на основе количества пациентов с не пропущенными результатами.

CRP, C-реактивный белок; ECOG PS, Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status; FL3B, фолликулярная лимфома степени 3B; HGL, лимфома высокой степени злокачественности; LDC, противолимфомная химиотерапия; LDH, лактатдегидрогеназа; PMBCL, первичная B-клеточная лимфома стредостения; CO, стандартное отклонение; SPD, сумма произведений перпендикулярных диаметров.

Результаты в этот момент времени суммированы в **Таблице E26.2**. Для заранее заданных доменов, представляющих интерес, в EORTC QLQ-C30, средние оценки общего состояния здоровья показали улучшение от 1 до 12 месяцев по сравнению с BL, в то время как физическое функционирование снизилось в 1 месяц, за которым последовали улучшения по сравнению с BL в 2-12 месяцы. Сообщаемое бремя симптомов утомляемости осталось таким же чрез 1 месяц с последующим улучшением через 2 до 12 месяцев после инфузии по сравнению с BL. Хотя среднее количество симптомов боли было стабильно ниже от 1 до 12 месяцев по сравнению с BL, среднее количество симптомов колебалось. Среднее изменение от BL оценок варьировалось от 4,3 до 16,9 по шкале оценки общего состояния здоровья, от −4,8 до 6,5 по физическому функционированию, от −15,5 до 0,0 для утомляемости и от −8,8 до −1,8 в оценках боли через 12 месяцев. По сравнению с результатами для общей популяции в Соединенных Штатах, основанные на эталонных значениях EORTC QLQ-C30, субъекты в исследовании имели сопоставимые средние оценки EORTC QLQ-C30 для большинства доменов при BL, которые поддерживались или улучшались через 12 месяцев. Часть субъектов демонстрировала клинически значимое улучшение через 6 и 12 месяцев общего состояния здоровья (52% и 61%), физического функционирования (30% и 37%), утомляемости (53% и 61%) и боли (35% и 47%), соответственно. Средние EQ-5D-5L оценки на основе индекса полезности для здоровья США снижались в 1 месяц после вливания CAR^+ T клеток, за которым следовали колебания

в оценках на 2 и 3 месяцы, затем улучшение на 6-12 месяцы по сравнению с BL. Средние оценки EQ-VAS показали улучшение на 1-12 месяцах по сравнению с BL.

Таблица E26.2 Средние (CO) суммарные EORTC QLQ-C30 оценки, оценки показателя EQ-5D-5L и EQ-5D-VAS

		EORTC QLQ-C30 домены, представляющие интерес				EQ-5D-5L	
Домен	Статистика	Общее состояние здоровья	Физическое функционирование	Утомляемость	Боль	Оценка состояния здоровья	EQ-VAS
Данные нормы общей популяции, США [a, b]	Средняя (CO)	63,9 (22,9)	80,8 (25,2)	31,9 (27,8)	27,5 (30,2)	НД	НД
Базовый уровень	N	181	181	181	181	186	186
	Средняя (CO)	62,3 (20,3)	77,8 (19,2)	38,2 (21,8)	25,6 (25,8)	0,817 (0,120)	68,3 (19,5)
Месяц 1	N	160	160	160	160	165	164
	Средняя (CO)	66,4 (21,9)	72,7 (24,8)	37,7 (26,0)	20,0 (24,8)	0,794 (0,157)	70,3 (20,2)
Месяц 2	N	146	147	147	147	150	149
	Средняя (CO)	74,5 (18,9)	80,8 (19,7)	27,1 (21,1)	17,7 (21,7)	0,837 (0,136)	77,1 (17,2)
Месяц 3	N	135	134	134	135	138	138
	Средняя (CO)	72,7 (19,7)	79,6 (19,5)	30,2 (22,8)	22,7 (24,2)	0,822 (0,145)	75,4 (18,9)
Месяц 6	N	81	81	81	81	85	84
	Средняя (CO)	74,3 (18,6)	80,2 (18,9)	28,5 (20,9)	17,9 (23,2)	0,833 (0,122)	78,0 (18,0)
Месяц 9	N	65	65	65	65	65	65
	Средняя (CO)	75,8 (16,5)	81,1 (18,1)	27,5 (19,7)	24,4 (24,7)	0,833 (0,122)	80,1 (15,6)

Месяц 12	N	38	38	38	38	38	38
	Средняя (СО)	79,8 (20,1)	83,2 (20,3)	23,4 (23,5)	18,4 (25,9)	0,848 (0,157)	82,1 (17,8)

НД=не доступно

[a] Данные норы для общей популяции в США (N=1009) (Nolte S et al. Eur J Cancer. 2019; 107:153-163)

[b] Оценки сообщенного субъектом результата применяют в исследовании после изменения протокола; поэтому только субъекты, участвующие в этом изменении, подходили для оценок. Количество оценок снижается в течение 12 месяцев из-за потери отслеживания, смертей, длительности времени исследования и по другим причинам.

Для EORTC QLQ-C30, изменение от исходного ≥10 пунктов (MID) считается клинически значимой разницей. Среднее изменение от исходного через 12 месяцев в общем состоянии здоровья составляет от 4,3 до 16,9 (**ФИГ. 52A**), в физическом функционировании составляет от -4,8 до 6,5 (**ФИГ. 52B**), в утомляемости составляет от -15,5 до 0,0 (**ФИГ. 53A**) и в боли составляет от -8,8 до -1,8 (**ФИГ. 53B**). Более высокая доля субъектов испытала клинически значимое улучшение по сравнению с ухудшением по всем моментам времени в этом исследовании в областях, включая общее состояние здоровья (**ФИГ. 54A**), физическое функционирование (**ФИГ. 54B**; за исключением 1 месяца), утомляемость (**ФИГ. 54C**) и боль (**ФИГ. 54D**).

Среднее изменение от исходного в оценке индекса здоровья снижалось в 1 месяц с последующими колебаниями оценки 2 и 3 месяцы и улучшение в 6-12 месяцы (**ФИГ. 55A)**. Среднее изменение от исходного в EQ-VAS повышалось в 1 месяц и более, варьируясь от 9,1 до 11,9 в 6 и 12 месяцы, соответственно (**ФИГ. 55B**).

Было показано, что результаты лечения анти-CD19 CAR-экспрессирующими Т клетками значительно улучшают состояние пациентов по данным указанных пациентом результатов. Результаты показывают, что в этом исследовании субъекты в когорте DLBCL когорт испытывают улучшение HRQL и полезности для здоровья на 12 месяц, даже если некоторые указывают на ухудшение в 1 месяц. Также наблюдается снижение утомляемости и болевой нагрузки через 12 месяцев после инфузии CAR^+ Т клеток. HRQL и комплексная переносимость симптомов (EORTC QLQ-C30) улучшались уже на 1 месяц и через 12 месяцев после введения анти-CD19 CAR-экспрессирующих Т клеток. Доля пациентов с клинически значимыми улучшениями в их HRQL и комплексной переносимости симптомов была больше, чем доля пациентов с ухудшением. Кроме того, пациенты с клиническими ответами наиболее вероятно испытывали клинически значимые улучшения в их HRQL, чем пациенты, которые не имели клинический ответ. После введения анти-CD19 CAR-экспрессирующих Т клеток, оценки показателей статуса здоровья (EQ-5D-5L) и самостоятельная оценка здоровья (EQ-VAS) улучшались уже на 1 месяц и затем стабильно улучшались с 3 до 12 месяцев. Эти результаты поддерживают открытие, что значительные

доли субъектов демонстрируют клинически значимые улучшения через 6 и 12 месяцев после инфузии CAR^+ Т клеток.

Пример 9. Введение анти-CD19 CAR-экспрессирующих клеток субъектам с рецидивирующей и рефрактерной неходжкинской лимфомой (NHL) и вторичной ЦНС лимфомой

Терапевтические CAR^+ Т клеточные композиции, содержащие аутологичные $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клетки, экспрессирующие химерный антигенный рецептор (CAR), специфический для CD19, вводят субъектам с рецидивирующей и рефрактерной неходжкинской лимфомой, которые потерпели неудачу при 2 предшествующих линиях терапии в клиническом исследовании по существу, как описано в Примерах 1, 3 и 6. В исследовании, подходящие субъекты для лечения включают субъектов с вторичной ЦНС лимфомой, которые могли присутствовать в начале исследования, или, если вторичная ЦНС лимфома развилась во время клинического исследования, субъекты могли продолжать получать анти-CD19 CAR терапевтическую Т клеточную композицию. Субъекты, первоначально леченные однократным исходным введением CAR^+ Т клеточных композиций, и те, которые получали повторное введение, были включены. Субъектов контролировали на предмет ответа и безопасности, как описано в Примере 1, включая оценку эффективности согласно критериям Lugano и степени CRS и NE по критериям Lee et al. (2014) и CTCAE, версия 4,03, соответственно.

В исследовании, субъектам вводили одну дозу анти-CD19 CAR-экспрессирующих клеток в определенной композиции через раздельное введение составленной $CD4^+$ CAR^+ клеточной популяции и составленной $CD8^+$ CAR^+ популяции, вводимой в целевом отношении приблизительно 1:1 (каждую одну дозу через отдельные инфузии $CD4^+$ CAR-экспрессирующих Т клеток и $CD8^+$ CAR-экспрессирующих Т клеток, соответственно) следующим образом: одну дозу уровня дозы 1 (DL-1), содержащей 5×10^7 всего CAR-экспрессирующих Т клеток или одну дозу уровня дозы 2 (DL-2), содержащей 1×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т клеток Субъекты, достигшие полного ответа после первой дозы, но с последующим прогрессированием, могут получить вторую дозу (повторное лечение).

В **Таблице E27** представлены демографические данные пациентов, проанализированных в этом исследовании, у которых была вторичная ЦНС лимфома, который включают 3 пациентов с DL1 и 6 пациентов с DL2 на данный момент анализа. Средний возраст пациентов с вторичной лимфомой составляет 60 лет, и они получали в среднем 3 предшествующие терапии. Возникновение вторичной ЦНС лимфомы варьируется: из подвергутых лечению субъектов, девять (9) субъектов имели вторичную ЦНС лимфому либо на начальном этапе лечения (n=6), либо перед повторным лечением (n=2), либо в курсе (n=1). У десятого пациента на момент начала лечения была диагностирована вторичная ЦНС лимфома, но позже у него было диагностировано выделенное вовлечение плечевого сплетения (без вовлечения ЦНС) и он не был включен в анализ.

Таблица E27. Суммарная демография субъектов (DLBCL субъекты)

Демография	**Исходное вливание (n=6)[a]**	**Повторное лечение[a, b] (n=2)**	**Все субъекты с (n=8)**	**Пациент с MCL (n=1)[c]**
Возраст, средний (диапазон), лет	62 (47-3)	52 (50-52)	60 (47-73)	59
Мужчины, n	3	1	4	1
Среднее SPD[d] (диапазон), $см^2$	19 (5-134)	37 (20-54)	20 (5-134)	99
Среднее LDH (диапазон), ЕД/Л	247 (154-1085)	505,5 (505-506)	303,5 (154-1085)	526
Количество предшествующих терапий, среднее (диапазон)	3 (2-5)	3,5 (3-4)	3 (2-5)	2
Предшествующий HSCT, n	2	1	3	1
Рефрактерные к предшествующему лечению, n (%)	6	1	7	НД
Двойной/тройной лимфомы, n (%)	1	1	2	НД
Только паренхимальное вовлечение, n	1	1	2	1
Только лептоменингиальное вовлечение, n	3	1	4	0
И паренхимальное и лептоменингиальное вовлечение, n	1	0	1	0

[a] Включает только субъектов с DLBCL. [b] Повторное лечение определяют как вторую дозу CAR^+ Т клеток, данную субъектам, которые достигают полного ответа после первой дозы, но затем прогрессируют. [C] Субъект с MCL имеет вовлечение ЦНС при начальной

инфузии CAR+ Т клеток. [d] SPD измеряет только не ЦНС сайты вовлечения лимфомы. HSCT, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток; LDH, лактатдегидрогеназа; НД, не доступно; SPD, сумма произведений наибольших перпендикулярных измерений.

Как показано в **Таблице E28**, субъекты с R/R DLBCL и с вторичной ЦНС лимфомой показали высокую степень гетерогенности, включая разные гистологии и разные типы вовлечения ЦНС. Разные гистологии включают DLBCL, трансформированную из фолликулярной лимфомы, DLBCL не определенную иным образом и В-клеточную лимфому высокой степени злокачественности с MYC и BCL2 и/или BCL6 перестройкой. Наблюдаются разные виды вовлечения ЦНС, которые включают лептоменингеальное заболевание, фокальные паренхимальные повреждения, множественные повреждения, дуральное вовлечение и нервное вовлечение.

Таблица E28. индивидуальные характеристики субъекта: активное вовлечение ЦНС во время введения CAR+ Т клеточной композиции[a]

Номер субъекта	**Уровень дозы**	**Возраст (лет) Пол**	**Первичное заболевание**	**Активная вторичная ЦНС лимфома во время лечения CAR+ Т клеточной композицией**	**Тип вовлечения ЦНС**	**SPD ($см^2$)**	**LDH (U/мл)**	**Количество предшествующих терапий**	**Предшествующая HSCT, Д/Н**
1	DL1	67 Женщина	DLBCL (tFL)	Исходное лечение	Паренхимальное (Правая височная доля)	16,8	154	5	Д (Allo)
2	DL1	60 мужчина	DLBCL (tFL)	Исходное лечение	Дуральное вовлечение, лептоменингеальное/ паренхимальное	5,2	238	3	Д (Ауто)

					улучшение [c]				
3	DL2	73 мужчина	DLBCL NOS	Исходное лечение	Лептоменингеальное [d]	20,4	231	2	Н
4	DL2	47 женщина	DLBCL NOS	Исходное лечение	Лептоменингеальное и паренхимальное	9,0	352	3	Н
5	DL2	64 мужчина	HGBCL, DH	Исходное лечение	Лептоменингеальное	132,4	255	2	Н
6	DL2	60 женщина	DLBCL NOS	Исходное лечение	Лептоменингеальное	133,9	1085	3	Н
7	DL2	59 мужчина	MCL	Исходное лечение	Паренхимальное	98,9	526	2	Д (Ауто)
8	DL1	52 женщина	DLBCL NOS[b]	Повторное лечение после PD на D280	Лептоменингеальное	53,7	506	3	Д (Ауто)
9	DL2	50 мужчина	HGBCL [c]	Повторное лечение после PD на D90	Паренхимальное	19,6	505	4	Н

[a] Два дополнительных пациента имели вовлечение ЦНС; при скрининге у 1 пациента, который покинул исследование до получения CAR^+ Т клеточных композиций и во время ранней линии терапии у 1 пациента. [b]SPD основан на системном заболевании. [c]CSF отрицательный и было лептоменингеальное улучшение. [d]Пациент имеет вовлечение меккелевой полости, которое исчезло. [e] ЦНС заболевание определяют до повторного лечения, вводимого на 568 день; данные представлены в таблице после повторного лечения после рецидива, включающего ЦНС. [f] распространение на ЦНС

определяют после первой дозы CAR+ Т клеточных композиций, введенной во время оценки на возможную нейротоксичность, которая проявляется сонливостью, спутанностью сознания, частичной потерей поля зрения с «неспецифическим высоким сигналом, который может быть связан со скрытым временным отеком» с лептоменингеальным вовлечением на изображении. Пациент имел CR на 29 день после первого лечения. После повторного лечения на 133 день никакой нейротоксичности не было отмечено, но DLBCL прогрессировала через 29 дней после повторного лечения
Allo, аллогенные; Ауто, аутологичные; ЦНС, центральная нервная система; CSF, спинномозговая жидкость; DL, уровень дозы; DLBCL, диффузная В-крупноклеточная лимфома; HSCT, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток; LDH, лактатдегидрогеназа; MCL, мантийноклеточная лимфома; NOS, не определенная иным образом; НО, не описано; PD, прогрессирующее заболевание; SD, стабильное заболевание; SPD, сумма произведений наибольших перпендикулярных измерений; tFL, трансформированная из фолликулярной лимфомы.

Среднее время до пикового размножения CAR+ Т клеток составляет 12,5 дней (среднее из 7-112 дней). В **Таблице Е29** представлено краткое описание вызванных лечением побочных явлений в группе субъектов с вторичной ЦНС лимфомой и момент времени, оцениваемый в этом исследовании. Как показано в **Таблице Е29**, у субъектов с вторичной ЦНС лимфомой, 1 из 9 имел степень (G)2 синдрома выделения цитокина (CRS) и G3 NE; наступление CRS на 1 день (степень 1), с прогрессированием до степени 2 на 2 день 2 и с наступлением степени 3 NE на 6 день с пониженным уровнем сознания (дни 6-13) и дисфагией (дни 17-18). Дополнительные NE низкой степени включают спутанность сознания, тремор, дизартрию, летаргию, тревожное возбуждение, скованность, средний взор, двусторонний нистагм, расширение левого зрачка, спастичность, дисфонию и дисфагию.

Ни один субъект, который был субъектом для повторного лечения, не имел CRS или NE, однако все 3 субъекта повторного лечения имели CRS низкой степени во время первоначального лечения. Один субъект повторного лечения имел NE G2 временный отек при первоначальном лечении анти-CD19 CAR+ терапевтической Т клеточной композицией и до формального диагноза вторичной ЦНС лимфомы. Среди оцениваемых субъектов с вторичной ЦНС лимфомой, субъекты профилактически получали леветирацетам и 1 субъект получал кортикостероиды и тоцилизумаб.

Таблица Е29. Индивидуальные результаты субъектов - независимые от лечения неблагоприятные события

Номер субъ	**Уровень дозы**	**Возраст (лет)**	**Первичное заболе**	**Тип вовлечения ЦНС**	**CRS[a]**	**NE[a]**	**TEAE в SOC нервной**	**Серьезные AE**

екта		**Пол**	**вание**				**системе/ психиатрические расстройства (Любая степень)**	
1	DL1	67 женщина	DLBCL (tFL)	Паренхима (Правая височная доля)	Нет	Нет	Обморок, внутричерепное кровоизлияние, головокружение, тревога	Тромбоцитопения, обморок, внутричерепное кровоизлияние[b]
2	DL1	60 мужчина	DLBCL (tFL)	Дуральное вовлечение, лептоменингеальное/ паренхимальное улучшение [c]	Нет	Нет	Нет	Лихорадочная нейтропения, атипическая пневмония, пневмония
3	DL2	73 мужчина	DLBCL NOS	Лептоменингеальное [d]	Нет	Нет	Нет	Нет
4	DL2	47 женщина	DLBCL NOS	Лептоменингеальное и паренхимальное	Нет	Нет	Периферическая нефропатия, головная боль	Нет
5	DL2	64 мужч	HGBCL, DH	Лептоменингеальное	Нет	Нет	Паралич нерва,	Диплегия

		ина					диплегия, спутанность сознания, дизартрия, головная боль, бессонница, летаргия	
6	DL2	60 женщина	DLBCL NOS	Лептоменингеальное	Да Степень 2 Тоцилизумаб Силтуксимаб	Да Степень 3 Дексаметазон Солюмедрол	Подавленный уровень сознания, тревожное возбуждение, нистагм, спутанность сознания, дизартрия, летаргия, мышечная спастичность, тремор, паралич лицевого нерва, головная боль, гипестезия	Пониженный уровень сознания
7	DL2	59 мужчина	MCL	Паренхимальное	Нет	Нет	Тревога, гипестезия, головная боль, бессонница	Нет
8	DL1	52 женщ	DLBCL	Лептоменингеальное	Нет	Нет	Сонливость	Бронхо-легочный

		ина	NOSc					аспергиллез
9	DL2	50 мужчина	Высокая злокачественность	Паренхимальное	Нет	Нет	Головокружение, головная боль, периферическая сенсорная невропатия	Головная боль, тошнота, рвота

[a] Показана наихудшая степень и вмешательство. [b] Хотя и серьезное, событие внутричерепного кровоизлияния считается Степенью 1 и обычно ассоциировано с хронической тромбоцитопенией субъекта. [c] ЦНС заболевание определяют до повторного лечения, вводимого на 568 день; данные представлены в таблице после повторного лечения после рецидива, включающего ЦНС. [d] Субъект с вовлечением меккелевой полости, которое исчезло. [f] распространение на ЦНС определяют после первой дозы CAR^+ Т клеточных композиций, введенной во время оценки на возможную нейротоксичность, которая проявляется сонливостью, спутанностью сознания, частичной потерей поля зрения с «неспецифическим высоким сигналом, который может быть связан со скрытым временным отеком» с лептоменингеальным вовлечением на изображении. Пациент имел CR на 29 день после первого лечения. После повторного лечения на 133 день никакой нейротоксичности не было отмечено, но DLBCL прогрессировала через 29 дней после повторного лечения

AE, побочное событие; ЦНС, центральная нервная система; CSF, спинномозговая жидкость; CR, полный ответ; CRS, синдром выделения цитокина; DL, уровень дозы; DLBCL, диффузная В-крупноклеточная лимфома; MCL, мантийноклеточная лимфома; NE, неврологическое событие; NOS, не определенная иным образом; SOC, класс системы органов; TEAE, вызванное лечением побочное событие; tFL, трансформированная из фолликулярной лимфомы.

Другие описанные токсичности преимущественно включали цитопении и не было связанных с лечением смертей из-за AE (**Таблица E30**).

Таблица E30. Общее описание AE (DLBCL субъекты)

	Исходная инфузия [a], (n=6)	**Повторное лечение [a, b] (n=2)**	**Все субъекты с DLBCL (n=8)**	**Пациент с MCL (n=1)[c]**

Все TEAE	6	2	8	1
Степень 3 или 4	5	2	7	1
Степень 5	0	0	0	0
SAE	3	2	5	0
DLT	0	0	0	0

a Включает только субъектов с DLBCL. b Повторное лечение определено как вторая доза CAR+ T клеток, данная субъектам, которые достигли полного ответа после первой дозы, но затем прогрессировали

AE, побочное событие; DLT, ограничивающая дозу токсичность; SAE, серьезное побочное событие; TEAE, вызванное лечением побочное событие.

Ответ оценивают с использованием критериев Lugano и суммируют в **Таблицах E31** и **E32**. Четыре (4) субъекта с вторичной ЦНС лимфомой ответили на лечение, и у всех был лучшим ответом полный ответ, у 2 из которых он продолжался через 270 и 545 дней после лечения. Все 4 ответа возникли после первоначального лечения терапевтическими Т клеточными композициями. ни один из повторно подвергутых лечению субъектов не дал ответ.

Таблица E31. Суммарная эффективность (DLBCL субъекты)

	Исходная инфузия [a,] (n=6)	**Повторное лечение [a, b] (n=2)**	**Все субъекты с DLBCL (n=8)**	**Пациент с MCL (n=1)[c]**
Наилучший ORR, d n	4	0	4	0
Наилучший CRR, n	4	0	4	0
Время до CR, среднее (диапазон)	1,4 (0,9-8,7)	0	1,4 (0,9-8,7)	НД
PFS, среднее (95% Cl), месяцев	2,9 (0,2-NR)	НД	2,9 (0,2-NR)	НД
OS	10,7 (0,5-NR)	НД	10,7 (0,5-NR)	НД
Средний период наблюдения	24,1 (12,3-24,1)	НД	24,1 (12,3-24,1)	НД
Субъекты, сохраняющие ответ, n	2	0	2	0
Субъекты умершие (прогрессирование заболевания), n	4	2	6	0

[a] Включает только субъектов с DLBCL. [b] Повторное лечение определено как вторая доза

CAR+ Т клеток, данная субъектам, которые достигли полного ответа после первой дозы, но затем прогрессировали. [c] наилучшим ответом было стабильное заболевание. [d] наилучшим ORR считают ответ на дозу CAR+T клеток, которую вводят после диагностирования вторичной ЦНС лимфомы.

CR, полный ответ; CRR, степень CR; НД, не доступно; НД, не достигается; ORR, суммарная эффективность терапии; OS, общее выживание; PFS, выживание без прогрессирования.

Таблица E32. Результаты отдельных субъектов - Эффективность и длительность ответа

Номер субъекта	**Уровень дозы**	**Возраст (лет) пол**	**Первичное заболевание**	**Активная вторичная ЦНС лимфома во время лечения CAR+ Т клеточной композицией**	**Тип вовлечения ЦНС**	**Наилучший Ответ [a]**	**Длительность ответа (дней)**	**Статус в последний визит/место прогрессирования**
1	DL1	67 Женщина	DLBCL (tFL)	Исходное лечение	Паренхима (Правая височная доля)	CR[b]	65	Смерть Сист
2	DL1	60 Мужчин	DLBCL (fTL)	Исходное лечение	Дуральное вовлечение, лептоменингеальное/ паренхимальное улучшени	CR	533+ (продолжается)	Живой

					e [c]			
3	DL2	72 Мужчин	DLBCL NOS	Исходное лечение	Лептоменингеальное [d]	CR	239+ (продолжается)	Живой
4	DL2	47 Женщин	DLBCL NOS	Исходное лечение	Лептоменингеальное и паренхимальное	PD	НД	Смерть Сист+ЦНС
5	DL2	64 Мужчин	HGBCL, DH	Исходное лечение	Лептоменингеальное	PD	НД	Смерть Клин прог
6	DL2	60 Женщин	DLBCL NOS	Исходное лечение	Лептоменингеальное	CR	59	Смерть Сист+ЦНС
7	DL2	59 Мужчин	MCL	Исходное лечение	Паренхимальное	SD	НД	Живой Сист+ЦНС
8	DL1	53 Женщин	DLBCL NOS [e]	Повторное лечение после PD на D181	Лептоменингеальное	PD	НД	Смерть Сист+ЦНС
9	DL2	50 Мужчин	HGBCL [f]	Повторное лечение после PD на D89	Паренхимальное	PD	НД	Смерть Сист+ЦНС

[a] Наилучшим ORR считают ответ на дозу CAR+T клеточных композиций, которую вводят после диагностирования вторичной ЦНС лимфомы. [b] Прогрессировал на 92 День по данным биопсии. После биопсии пациент вернулся в CR и сохранял этот CR до 366 Дня, когда он рецидивировал систематический, но не в ЦНС. [c] ЦНС заболевание определяют до повторного лечения, вводимого на 568 день; данные представлены в таблице после повторного лечения после рецидива, включающего ЦНС. [d] Субъект с вовлечением меккелевой полости, которое исчезло до получения CAR+T клеточных композиций. [f] распространение на ЦНС определяют после первой дозы CAR^+ T

клеточных композиций, введенной во время оценки на возможную нейротоксичность, которая проявляется сонливостью, спутанностью сознания, частичной потерей поля зрения с «неспецифическим высоким сигналом, который может быть связан со скрытым временным отеком» с лептоменингеальным вовлечением на изображении. Пациент имел CR на 29 день после первого лечения. После повторного лечения на 133 день никакой нейротоксичности не было отмечено, но DLBCL прогрессировала через 29 дней после повторного лечения

Clin Prog. клиническое прогрессрование. ЦНС, центральная нервная система; CR, полный ответ; CSF, спинномозговая жидкость; DL, уровень дозы; DH, двойная; DLBCL, диффузная В-крупноклеточная лимфома; MCL, мантийноклеточная лимфома; НД, не доступно; NOS, не определенная иным образом; PD, прогрессирующее заболевание; SD, стабильное заболевание; tFL, трансформированная из фолликулярной лимфомы.

Эти результаты согласуются с выводом о том, что введенная анти-CD19 CAR+ Т-клеточная композиция была может быть безопасно доставлена субъекту с вторичной ЦНС лимфомой, которая представляет собой популяцию с крайне неудовлетворенной медицинской потребностью, поскольку существуют ограниченные варианты лечения и неблагоприятный прогноз. Введенные анти-CD19 CAR+ Т-клетки продемонстрировали управляемую токсичность и клиническую активность в этой популяции субъектов. Никаких лишних NE наблюдают в этой популяции, только 1 субъект демонстрирует тяжелые NE (степень 3) и CRS (степень 2). Ответ или устойчивость к анти-CD19 CAR-экспрессирующим Т-клеткам был сходным в местах системной и ЦНС лимфомы у всех субъектов. Кроме того, 4 из 6 субъектов с вторичной ЦНС лимфомой во время начального лечения ответили, причем 2 имели продолжающийся ответ во время последнего анализа в День 270 и День 545 введения CAR-Т-клеток, соответственно.

Пример 10. Сравнение анти-CD19 CAR-экспрессирующих клеток со терапией по стандарту лечения (SOC) при высоком риске у соответствующих критериям трансплантации субъектов с рецидивирующей и рефрактерной неходжкинской лимфомой (NHL)

Терапевтические CAR^+ Т-клеточные композиции, содержащие аутологичные $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клетки, экспрессирующие химерный антигенный рецептор (CAR), специфичный для CD19, использованный в исследованиях, описанных в примерах 1, 3 и 6 выше, вводят субъектам с рецидивирующей и рефрактерной неходжкинской лимфомой, потерпевших неудачу при 2 предшествующих линиях терапии. Подходящие субъекты для лечения включают субъектов с агрессивной В-клеточной неходжкинской лимфомой (NHL) (диффузной В-крупноклеточной лимфомой (DLBCL), не определенной иным образом [de novo или трансформированной вялотекущей NHL], двойной/тройной лимфомой, первичной В-крупноклеточной лимфомой средостения, насыщенной Т-клетками/гистиоцитами В-крупноклеточной лимфомой или фолликулярной лимфомой степени 3В) которая является

рецидивирующей и рефрактерной (R/R) в пределах 12 месяцев до достижения полного ответа (CR) после терапии первой линии CD20 антителом и антрациклином. Критерии исключения включают не пригодность для трансплантации аутологичных стволовых клеток (ASCT), запланированную трансплантацию аллогенных стволовых клеток, предшествующую генетическую или CD19-таргетную терапию или активную инфекцию.

Субъектов делят на две разные группы. Группа 1 получает 3 цикла терапии по стандарту лечения (SOC). SOC для соответствующих критериям трансплантации субъектов с рецидивирующей/рефрактерной DLBCL включает схемы на основе платины (например, ритуксимаб, дексаметазон, цитарабин (AraC) и цисплатин (R-DHAP), ритуксимаб, ифосфамид, карбоплатин и этопозид (R-ICE) или ритуксимаб, гемцитабин, дексаметазон и цисплатин (R-GDP)), затем высокодозная химиотерапия кармустином, этопозидом, цитарабином и мелфаланом (BEAM) и трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (HSCT) у отвечающих субъектов. Группа 2 получает противолимфомную терапию флударабином/циклофосфамидом с последующей инфузией анти-CD19 CAR+ Т клеток в целевой дозе 100×10^6 $CD4^+$ и $CD8^+$ CAR+ Т клеток. Во время производства CAR^+ Т клеток, субъекты могут получать схему терапии по SOC.

Пример 11. Анализ профилей экспрессии гена в биопсии до лечения и клинический ответ

У субъектов с рецидивирующей или рефрактерной (R/R) агрессивной неходжкинской лимфомой (NHL), которым вводят терапевтические сконструированные Т-клеточные композиции, содержащие анти-CD19 CAR Т-клетки, как описано в примерах 1, 3 и 6 выше, оценивают профили экспрессии генов в биопсии опухоли до лечения.

После введения CAR Т-клеточной композиции у субъектов отслеживают клинический ответ, включая 3 месяца после введения, и ответ на CAR Т-клеточную композицию определяют путем оценки того, имел ли субъект прогрессирующее заболевание (PD) или полный ответ (CR).

Биопсии опухоли от 50 субъектов с диффузной В-крупноклеточной лимфомой (DLBCL) собирают до начала противолимфомной химиотерапии и на 11 день после введения CAR Т-клеток и анализируют с помощью секвенирования РНК (RNA-seq) на экспрессию гена на комплементарной ДНК (кДНК) образцов, приготовленных из РНК, выделенной из биопсии опухоли. Уровни экспрессии гена, определенные с использованием RNA-seq из биопсии опухоли до лечения, коррелируют *post facto* с ответом после введения аутологичной терапевтической CAR Т-клеточной композиции.

На **ФИГ. 42** показаны дифференциальные профили экспрессии генов в биопсии опухоли до лечения у субъектов, показывающих CR или PD через 3 месяца после лечения. Установка Log_2 предела кратности изменения более чем 0,6 или менее чем -0,6 и уровня ложноположительных результатов (FDR) менее чем или равным 10% выявили 360 генов, которые в высокой степени экспрессируются биопсиями до лечения от субъектов, показывающих CR через 3 месяца после лечения (n=16) и 380 генов, которые в высокой степени экспрессируются биопсиями до лечения от субъектов с PD через 3 месяца после

лечения (n=29). Из дифференциально экспрессируемых генов, экспрессия генов, ассоциированных с Т-клетками, была выше в биопсиях до лечения от субъектов, демонстрирующих CR через 3 месяца после лечения. Экспрессия EZH2, гена, кодирующего энхансер гистоновой лизинметилтрансферазы zeste гомолога 2, и генов, которые являются мишенями для EZH2, была выше в биопсиях до лечения у субъектов, которые показали у которых PD через 3 месяца после лечения.

Как показано на **ФИГ. 43**, также было обнаружено, что группа генов, идентифицированная как гены, которые были экспрессированы на более высоком уровне при DLBCL сравнении с FL (обозначенная «FL_DLBCL_DN» группа генов; из анализа дифференциальной экспрессии гена в 75 доступных образцах клеточных линий DLBCL и 75 доступных образцах клеточных линий FL, как описано в Примере 4 ниже), сильно обогащена генами, ассоциированными с биопсиями от субъектов, демонстрирующих PD через 3 месяца после лечения.

Эти результаты подтверждают, что гены, экспрессируемые на более высоком уровне при DLBCL по сравнению с генами-мишенями FL и EZH2, были обогащены в образцах биопсии до лечения среди генов, ассоциированных с PD через 3 месяца у субъектов после введения CAR-T клеток.

Пример 12. Анализ экспрессии генов в диффузной В-крупноклеточной лимфоме (DLBCL) к фолликулярной Лимфоме (FL)

RNA-Seq для экспрессии генов проводят на образцах комплементарной ДНК (кДНК), полученные из РНК, выделенной из образцов доступных клеточных линий примерно 75 фолликулярных лимфом (FL) и примерно 75 диффузных В-крупноклеточных лимфом (DLBCL), описанных выше в Примере 11. Анализируемые клеточные линии включают и подобный В-клеткам зародышевый центр (GCB) и ак4тивированные В-клеточные (ABC) подтипы DLBCL. Как показано на **ФИГ. 44**, дифференциальную экспрессию генов наблюдают в образцах опухоли DLBCL и FL с разными наборами генов, оцениваемых клеточных линий DLBCL и FL. Гены, которые демонстрируют дифференциальную экспрессию между клеточными линиями FL и DLBCL, включают EZH2 (**ФИГ. 45А**; кодирующий энхансер гистоновой лизинметилтрансферазы zeste гомолога 2) и CD3E (**ФИГ. 45В**; колирующий CD3e молекулу, эпсилон в CD3-TCR комплексе). Как показано, FL опухоли показали низкие уровни экспрессии EZH2 и более высоки уровни экспрессии CD3E по сравнению с DLBCL клеточными линиями.

Профили экспрессии генов по RNA-Seq в биопсии опухоли до лечения, от субъектов, описанных в примере 11, которым затем вводили анти-CD19 терапевтическую Т-клеточную композицию, как представлено выше, анализируют на экспрессию генов из исследования, описанного на **ФИГ. 44**, которые были признаны более высокими в DLBCL (обозначены «DLBCL группа генов») по сравнению с FL (обозначенными «FL группа генов»). Анализ представленности групп генов одного образца (ssGSEA) был проведен для расчета отдельных оценок обогащения для каждой пары образца и соответствующей группы генов. Как показано на **ФИГ. 46А**, субъекты, продолжающие демонстрировать CR в

исследовании, описанном в примере 11, имели более низкую оценку ssGSEA для DLBCL группы генов по сравнению с субъектами, продолжающими демонстрировать PD. Наоборот, как показано на **ФИГ. 46B**, субъекты, которые продолжают демонстрировать CR в исследовании, описанном в примере 11, имели более высокую оценку ssGSEA для FL группы генов по сравнению с субъектами, которые продолжают демонстрировать PD.

Эти данные демонстрируют, что профили экспрессии генов субъектов с DLBCL и FL различаются. Эти данные согласуются с наблюдением о том, что субъекты с FL или субъекты с более высокой экспрессией генов, которые, как установлено, повышены в FL, субъекты по сравнению с DLBCL субъектами могут быть менее устойчивы к инфильтрации Т-клеток в опухолевую среду, чем субъекты с DLBCL или субъекты, экспрессирующие гены, которые повышены при DLBCL по сравнению с FL.

Пример 13. Оценка безопасности и эффективности у субъектов с рецидивирующая и рефрактерной неходжкинской лимфомой (NHL) после введения анти-CD19 CAR-экспрессирующих клеток

Терапевтические CAR^+ Т клеточные композиции, содержащие аутологичные $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клетки, экспрессирующие химерный антигенный рецептор (CAR), специфический для CD19, вводят субъектам с рецидивирующей и рефрактерной неходжкинской лимфомой, включая субъектов с рецидивирующая и рефрактерной В-крупноклеточной лимфомой (LBCL), потерпевших неудачу при 2 предшествующих линиях терапии в клиническом исследовании по существу как описано в Примерах 1, 3 и 6.

A. Субъекты и лечение

Данные, представленные в этот момент времени, представляют собой результаты от 268 субъектов, которые получили терапевтические CAR^+ Т клеточные композиции, если не указано иное как 269 субъект. Эта группа субъектов включает подмножество субъектов, результаты которых отражены в примерах 1, 3 и 6.

Субъекты с В-крупноклеточной лимфомой (LBCL когорта; ранее называемая также DLBCL когорта) включают субъектов, которым 18 лет или старше с рецидивирующей/рефрактерной (R/R) DLBCL не определенной иным образом (NOS; включая трансформированную из любой вялотекущей лимфомы), В-клеточной лимфомой высокой степени злокачественности (HGBCL) с MYC и BCL2 и/или BCL6 перестройкой (Swerdlow SH et al. Blood. 2016;127:2375-90), первичной В-клеточной лимфомой средостения (PMBCL) или фолликулярной лимфомой степени 3B (FL3B). Субъекты имеют R/R заболевание после 2 или более линий терапии и ECOG PS 0–2. Подходят субъекты со степенью цитопении 3/4, слабой-умеренной дисфункцией органов и вторичной ЦНС лимфомой. Промежуточная терапия была разрешена, но субъекты должны были иметь ПЭТ-положительное заболевание перед противолимфомной терапией (ЛД) флударабином и циклофосфамидом. Субъекты, у которых достигнуто стабильное заболевание (SD) как лучший ответ после первой инфузии сконструированных Т-клеток, экспрессирующих тот же анти-CD19 CAR, описанный в настоящем документе, подходят для получения второй инфузии сконструированных клеток. Субъекты должны были получить предшествующую

содержащую анти-CD20 хемоиммунотерапию (например, антрациклин и ритуксимаб (или другой CD20-таргетный агент)), затем рецидив, и могли получить предшествующий аутологичный или аллогенный ТГСК. Были включены субъекты с умеренной почечной (клиренс креатинина <60 мл/мин) и сердечной (фракцией выброса левого желудочка <50%) дисфункцией, низким абсолютным содержанием лимфоцитов (минимальное количество не требуется) и вторичным вовлечением ЦНС. Не было нижнего порога для ALC, ANC, тромбоцитов или гемоглобина. Оценивают многолетнее наблюдение за результатами у субъектов в DLBCL когорте.

Для когорты мантийноклеточной лимфомы (MCL): MCL (диагноз должен быть подтвержден экспрессией циклина D1 или доказательством t(11;14) цитогенетикой, флуоресцентной гибридизацией in situ [FISH] или полимеразной цепной реакцией [ПЦР]) с рецидивирующем или рефрактерным заболеванием после, по меньшей мере, 1 предшествующей линии MCL терапии.

Другие критерии включают положительное по позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) заболевание согласно the «Recommendations for Initial Evaluation, Staging and Response Assessment of Hodgkin and Non-Hodgkin Lymphoma: The Lugano Classification» (Cheson BD et al. J Clin Oncol. 2014. 32:3059-68); архивную биопсию опухоли ткань, доступную из последнего рецидива и соответствующий отчет о патологии, или, если, по меньшей мере, 1 пораженный опухолью участок был признан доступным во время скрининга, желание пройти биопсию перед лечением (иссечение, если возможно) для подтверждения заболевания. Если у субъекта никогда не было полного ответа (CR), образец из последней биопсии является приемлемым; Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) показатель общего состояния 0 или 1 (примечание, ECOG статус 2 также позволителен до Protocol Amendment 5); адекватное функционирование органов, определенное как: оцененный исследователем как имеющий адекватную функцию костного мозга до получения противолимфомной химиотерапии (LDC); креатинин в сыворотке ≤1,5 × скорректированный по возрасту верхний предел нормы (ULN) или расчетный клиренс креатинина (CrCl; Cockcroft and Gault) >30 мл/мин/1,73 м^2; аланинаминотрансфераза (ALT) ≤5 × ULN и общий билирубин <2,0 мг/дл (или <3,0 мг/дл для пациентов с синдромом Жильбера или лимфоматозной инфильтрацией печени); адекватная легочная функция, определенная по National Cancer Institute (NCI) Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) как степень ≤1 диспноэ и насыщение кислородом (SaO_2) ≥92% при комнатном воздухе; адекватная сердечная функция, определенная как фракция выброса левого желудочка (LVEF) ≥40% по данным электрокардиограммы или многопроекционного радиоизотопного сканирования (MUGA), проведенных в пределах 1 месяца от определения пригодности для исследования; Соответствующий сосудистый доступ для процедуры лейкафереза (периферическая линия или хирургически установленная линия). Субъекты, который ранее получали CD19-таргетную терапию, должен иметь CD19-положительную лимфому, подтвержденную биопсией после завершения предыдущей CD19-таргетной терапии.

Субъектов лечили анти-Cd19 терапевтическими CAR T клеточными композициями, как описано в Примере 1. В частности, конструкция анти-CD19 CAR+ T клеток включает 4-1BB костимулирующий домен. Для всех подвергутых лечению субъектов, терапевтические T клеточные композиции производят как отдельные CD4+ и CD8+ композиции, в которых подмножества CD4+ и CD8+ T-клеток от каждого пациента очищают и трансдуцируют анти-CD19 CAR, размножают и криоконсервируют отдельно, при индивидуальных таргетных количествах CD4+ и CD8+ CAR T+ клеток. Отдельное производство CD4 и CD8 CAR+ T клеточных композиций, включая отдельную трансдукцию для экспрессии анти-CD19 CAR и отдельное размножение in vitro, позволяет введение CD4+ и CD8+ CAR-сконструированных T-клеток в приблизительно равных таргетных дозах (приблизительно 1:1). Следовательно, низкую вариабельность наблюдают при введении дох общих и CD8+ CAR+ T-клеток.

Субъектов лечат внутривенным флударабином (30 мг/м^2/день в течение 3 дней) плюс циклофосфамидом (300 мг/м^2/день в течение 3 дней) до лечения CAR T клетками. Противолимфомную химиотерапию завершают между 2 и 7 днями до введения CAR T клеток. В исследовании, введение флударабина проводят согласно вкладышу в упаковку флударабина; дозы флударабина корректируют у пациентов с почечной недостаточностью, в соответствии с этикеткой флударабина. Дозы противолимфомной химиотерапии описаны в **Таблице E32.1.**

Таблица E32.1. Пониженные, отложенные или исключенные дозы противолимфомной химиотерапии [a]

	LBCL-леченные субъекты[a], N=268
Субъекты с	
Пониженная доза флударабина или циклофосфамида,[b] n (%)	18 (7)
исключенная доза флударабина или циклофосфамида,[c] n (%)	2 (0,7)

LBCL, B-крупноклеточная лимфома.

[a]Субъекты могут быть включены в >1 категорию.

[b]Получают, по меньшей мере, одну пониженную дозу флударабина или циклофосфамида, но не пропускают дозировку.

[c]Пропускают, по меньшей мере, одну дозу флударабина или циклофосфамида.

[d]Получают, по меньшей мере, одну отложенную дозу флударабина или циклофосфамида.

Промежуточная терапия для борьбы с заболеванием была разрешена и проводилась по решению исследователя после лейкафереза и перед противолимфомной химиотерапией. Промежуточные терапии описаны в **Таблице E32.2**.

Таблица E32.2. Противораковая промежуточная терапия.	
	DLBCL-леченные пациенты,N=268
Полученная промежуточная терапия, n (%)[a]	
Да	159 (59)
Нет	109 (41)
Тип лечения, n (%)[b]	
Только системная терапия	140 (88)
Только радиотерапия	6 (4)
Обе	**13 (8)**
Наиболее часто применяемые терапии (у ≥3%), n (%)[b]	
Ритуксимаб-GEMOX	24 (15)
Дексаметазон	18 (11)
XRT	17 (11)
Ритуксимаб	14 (9)
Преднизон	12 (8)
BR	10 (6)
Леналидомид	9 (6)
GEMOX	7 (4)
Брентуксимаб ведотин	5 (3)
Ибрутиниб	5 (3)
Бендамустин	4 (3)
Гемцитабин+ритуксимаб	4 (3)
BR, бендамустин плюс ритуксимаб; GEMOX, гемцитабин плюс оксалиплатин; LBCL, B-крупноклеточная лимфома; XRT, радиотерапия. LBCL-леченная группа включает всех пациентов, которые получали, по меньшей мере, одну дозу CAR+ T клеточной композиции. [a]Промежуточная терапия, которая была начата после разрешения и до противолимфомной химиотерапии. [b]мерой является количество пациентов, которые получили промежуточную терапию.	

B. Базовые характеристики

В этот момент времени для анализа, всего 342 субъектов были подвергнуты лейкаферезу, из них 268 получали CAR^+ T клеточные композиции (или, в некоторых случаях, 269 субъектов, как указано), 24 получали не соответствующий продукт (т.е., CD4+

или CD8+ компонент, который не соответствует критериям выпуска), по всем уровням доз, у 2 композиции были недоступны и 48 не получали CAR T-клеток преимущественно из-за смерти смерть или осложнений лимфомы до инфузии (33 умерли и не получили CAR-экспрессирующие Т клетки). В типовом производственном процессе для создания CAR-экспрессирующих клеток, среднее время от лейкафереза до критериев сбора и доступности продукта составляло 24 дня.

Характеристики пациента показаны в **Таблице E32.3** (n=268) и **Таблице E32.4** (n=269). Средний возраст составляет 63 (диапазон, 18–86) лет, включая более старшие субпопуляции (41% ≥65 лет и 10% ≥75 лет); 65% субъектов были мужчинами. Субъекты имели умеренные сопутствующие заболевания (19% и 5% пациентов имели ухудшенную почечную и сердечную функцию, соответственно). Субъектов предварительно лечили большим дозами (среднее количество предшествующих линий терапии составляло 3) и они имели агрессивное заболевание: 26% имели ≥4 предшествующих линий системной терапии (в среднем 3; диапазон, 1–8); у 34% были предшествующие аутологичные HSCT и у 3% предшествующие аллогенные HSCT; 67% были химиорефрактерными (химиотерапия-рефрактерными к последней линии терапии); 44% имели никогда не достигаемый CR. У всех субъектов оценивали 255 ответ. Субъекты имели сывороточные уровни креатинина ≤1,5 x скорректированный по возрасту ULN или скорость клиренса креатинина (CrCl) >30 мл/мин/1,73 м^2. При скрининге, 58% субъектов имели ECOG PS 1; 59% требовали промежуточную терапию; 22% имели LDH ≥500 ЕД/Л и 28% имели SPD ≥50 см^2 до противолимфомной терапии.

Таблица E32,3 Характеристики пациентов на базовом уровне

Характеристика	**Леченные CAR$^+$ T клетками пациенты N=268**
Мужчины - к-во. (%)	174 (65)
Возраст, лет	
Средний (диапазон)	63 (18–86)
≥65 - к-во (%)	111 (41)
≥75 - к-во (%)	27 (10)
LBCL подтипы - к-во (%)	
DLBCL NOS	137 (51)
DLBCL трансформированная из FL	60 (22)
DLBCL трансформированная из других вялотекущих лимфом	18 (7)
HGBCL†	36 (13)
PMBCL	15 (6)

FL степень 3B	2 (1)
ECOG PS при скрининге - к-во (%)	
0	109 (41)
1	155 (58)
2	4 (1)
Пред-LDC SPD ≥50 $см^2$ - к-во (%)‡	72 (28)
Пред-LDC CRP, мг/л - среднее (диапазон)	27,90 (0,25–2158,00)
Пред-LDC клиренс креатинина <60 мл/мин - к-во (%)§	51 (19)
LVEF<50% - к-во (%)‖	13 (5)
Предшествующие линии терапии	
Среднее (диапазон)	3,0 (1–8)
≥4 - к-во (%)	70 (26)
Химиотерапия-рефрактерной - к-во (%)	180 (67)
Полученные предшествующие HSCT - к-во (%)	94 (35)
Аутологичные HSCT	90 (34)
Аллогенные HSCT	9 (3)
Никогда не достигаемый CR при предшествующей терапии - к-во (%)	119 (44)
Полученная промежуточная терапия - к-во (%)	159 (59)
Вторичная ЦНС лимфома - к-во (%)	7 (3)

* ЦНС означает центральную нервную систему, CR полный ответ, CRP C-реактивный белок, DLBCL NOS диффузная B-крупноклеточная лимфома не определенная иным образом, ECOG PS Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status, FL фолликулярная лимфома, HGBCL B-клеточная лимфомы высокой степени злокачественности с *MYC* и BCL2 и/или BCL6 перестройкой, HSCT трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, LBCL B-крупноклеточная лимфома, LDC противолимфомная химиотерапия, LVEF фракция выброса левого желудочка, PMBCL первичная B-крупноклеточная лимфома средостения и SPD сумма произведений диаметров.

†Пациенты с DLBCL, трансформированной из вялотекущих лимфом с *MYC* и BCL2 и/или BCL6 перестройкой не включены как HGBCL.

‡Не все пациенты были оцениваемыми для SPD (n=256).

§Клиренс креатинина должен быть ≥40 мл/мин для критерия включения.

[l]LVEF должен быть ≥40% для критерия включения

Таблица E32.4 Базовые характеристики

Характеристика	**Все пациенты LBCL, N=269**
Возраст, средний (диапазон) ≥65 лет, n (%) ≥75 лет, n (%)	63 (18-86) 112 (42) 27 (10)
Подтипы NHL, n (%)	
DLBCL NOS	137 (51)
Трансформированная из FL/других вялотекущих лимфом	60 (22)/18 (7)
HGBCL[a]/PMBCL/FL3B	36 (13)/15 (6)/3 (1)
Вторичная ЦНС лимфома, n (%)	7 (3)
ECOG PS 0-1/2 при скрининге, n (%)	265 (99)/4 (1)
Пред-LDC SPD ≥50 $см^2$, n (%)[b]	73 (28)
Клиренс креатинина >30 - <60 мл/мин, n (%)	51 (19)
LVEF ≥40% - <50%, n (%)	13 (5)
Предшествующих терапий, среднее (диапазон)	3 (1-8)
≥4 предшествующих терапий, n (%)	71 (26)
Полученная предшествующая HSCT, n (%) Аутологичные/аллогенные HSCT	94 (35) 90 (33)/9 (3)
Химиотерапия-рефрактерные, n (%)[c]	181 (67)
Никогда не достигаемый CR с предшествующей терапией, n (%)	119 (44)
Полученная промежуточная терапия), n (%)	159 (59)

[a] Субъекты с DLBCL, трансформированной из вялотекущих лимфом с *MYC* и BCL2 и/или BCL6 перестройкой не включены как HGBCL. [b]N=256. [c]Статус химиотерапия-рефрактерный определяется, если пациент достигает SD или PD в ответ на последнюю схему, включающую химиотерапию или имеется рецидив <12 месяцев после ауто-HSCT; иначе, статус определяется как химиотерапия-чувствительный
NOS, не определенная иным образом; FL(3B), фолликулярная лимфома (степень 3B); HGBCL, B-клеточная лимфомой высокой степени злокачественности; LDC, противолимфомная химиотерапия; PMBCL, первичная B-крупноклеточная лимфома средостения; SPD, сумма произведений диаметров

C. Оценка дозы и результатов

Субъекты получали DL1 50×10^6 (n=51), DL2 100×10^6 (n=176) или DL3 150×10^6 (n=41). Двадцать пять субъектов (25) лечили в амбулаторном режиме. Данные в этом примере объединены для всех уровней доз.

Были протестированы три схемы однократного приема. Уровень дозы 1 был протестирован как в виде одной дозы, вводимой в День 1, так и в виде схемы с двумя дозами, с введением второй дозы CAR Т-клеток, в 15 День (**Таблица E33.1**). Все уровни доз были расширены и DL2 была выбрана в качестве целевого DL для подтверждения дозы. Эффективность и безопасность когортах для определения дозы были проанализированы с использованием способа Bayesian (Quintana M, et al. Contemp Clin Trials 2016;48:153-65) для идентификации рекомендованной схемы, которая была дополнительно оценена при подтверждении дозы. Исследование соответствует всем конечным точкам первичного и вторичного ответа. Первичной конечной точкой является возникновение вызванных лечением побочных эффектов (TEAE) и суммарная эффективность терапии (ORR). Вторичной конечной точкой является CR, длительность ответа (DOR), PFS, отношение PFS и OS. TEAE, включая выявленные исследователем неврологические события (NE), связанные с CAR^+ Т клеточными композициями, были ранжированы с использованием критериев CTCAE (например, v4,03,20); CRS были ранжированы по критериям Lee (2014); и параметры, относящиеся к клеточной кинетике, аплазии В-клеток и иммуногенности, оценивают как описано ниже. ORR оценивают независимым обзором с использованием критериев Lugano. Данные от всех субъектов, подвергутых лечению CAR^+ Т-клетками в когорте LBCL, анализируют по всем DL. Диаграмма схемы лечения приведена на **ФИГ. 48**.

Таблица E33.1 Схемы дозирования

		Целевая доза CAR^+ Т клеток		
Уровень дозы	**День введения в исследовании**	**Всего**	**CD8+**	**CD4+**
DL1	День 1	50×10^6	25×10^6	25×10^6
DL1D	День 1 и День 15	50×10^6 и 50×10^6	25×10^6 и 25×10^6	25×10^6 и 25×10^6
DL2	День 1	100×10^6	50×10^6	50×10^6
DL3	День 1	150×10^6	75×10^6	75×10^6
DL1, уровень дозы 1 (одна дозу); DL1D, уровень дозы 1 (2 дозы); DL2, уровень дозы 2 (одна дозу); DL3, уровень дозы 3 (одна дозу).				

Дозоограничивающая токсичность (DLT) и неблагоприятные события (AE) были определены следующим образом: любые вызванные лечением AE степени 4 или 5, связанные с CAR^+ Т-клетками; любое вызванные лечением AE 3 степени, относящееся к CAR^+ Т-клеткам, которое не разрешилось до степени $\leq$2 в пределах 7 дней; любые вызванные лечением судороги 3 степени, которые не разрешилась до степени $\leq$2 в пределах

3 дней; любая вызванная лечением аутоиммунная токсичность степени ≥3, независимо от принадлежности (за исключением В-клеточной аплазии). При схеме с 2 дозами, неспособность получать вторую дозу CAR+ Т клеток из-за токсичности, связанной с CAR+ Т клетками. Следующие ожидаемые события не считаются DLT: Степень 3 или 4 лабораторных показателей, которые не считаются клинически значимыми для исследователя, даже если они отвечают критериям сообщения о AE; Степень 4 инфузионной токсичности, которая была обратима до степени ≤2 в течение 8 часов; Степень 3 или 4 лихорадки или лихорадочной нейтропении в течение ≤2 недель; Степень 3 трансаминаз в течение ≤2 недель; Степень 3 боли в костях из-за размножения Т-клеток в компартментах костного мозга в течение ≤2 недель; Степень 3 или 4 синдрома лизиса опухоли (TLS) в течение ≤2 недель; Степень 3 или 4 гипотензии (без других симптомов синдрома выделения цитокина [CRS]), требующая одного сосудосуживающего фактора для поддержки, которая разрешается до степени <3 за ≤72 часов; Степень 3 или 4 CRS с только гипотензией, требующей одного сосудосуживающего фактора для поддержки (не требующая интубации), которая разрешается до степени <3 за ≤72 часов; Степень 3 или 4 энцефалопатии в течение ≤7 дней и разрешается до базового уровня за ≤28 дней, начиная с события степени ≥3; Степень 3 озноба; Степень 3 или 4 лимфопении; Степень 3 или 4 лейкопении; Степень 3 или 4 В-клеточной аплазии и гипогаммаглобулинемии.

Вызванные лечением побочные явления (TEAE) были определены как неблагоприятные события, которые начинались в любое время с момента начала введения CAR+ Т-клеток, включая 90 дней после последнего введения CAR+ Т-клеток. Любое побочное событие, которое произошло после начала другого противоопухолевого лечения или после повторного лечения CAR+ Т-клетками, не считается CAR+ Т-клеточным TEAE. TEAE, лабораторные аномалии и неврологические события (определяемые как оцениваемые исследователем неврологические события, связанные с CAR+ Т-клетками) были ранжированы с использованием National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events v4,03 (National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events v4,03,2009. October 23,2019), CRS были ранжированы согласно критериям Lee (Lee et al. Blood. 2014; 188-95).

Продолжительность ответа определяют как время от первого полного ответа или частичного ответа до прогрессирования заболевания или смерти. Выживание без прогрессирования определяют как время от первого вливания CAR Т-клеток до прогрессирования заболевания или смерти. Общее выживание определяют как время от первой инфузии CAR Т-клеток до даты смерти.

D. Результаты безопасности

Из 139 субъектов, подвергутых лечению в группах определения дозы (n=59) и расширения дозы (n=80), 9 (6%) имели DLT (**Таблица E33.2**). Никакой максимально переносимо дозы не было определено. Дозу DL2 (100×10^6 CAR+ Т-клеток) оценивают в группе подтверждения дозы. Нет четкой взаимосвязи между дозозависимой токсичностью и эффективностью для всех DL, за исключением повышенного уровня CRS степени 1 и 2

при DL3 (**Таблица E33.2**). На DL1D не было DLT (уровень дозы 1, двойная доза). Все события энцефалопатии 3 степени разрешены. Событие энцефалопатии 4 степени не было разрешено на время смерти из-за прогрессирования заболевания. Оба события тромбоцитопении 4 степени восстановлены/разрешены. Данные от всех субъектов были объединены.

Таблица E33.2 Ограничивающая дозу токсичность во время определения дозы и расширения дозы

	DLT	
	Событие	**Наихудшая степень**
Определение дозы (N=59)		
DL1		
Пациент 1	Энцефалопатия	4
Пациент 2	Судороги	4
Пациент 3	Острое повреждение почек	4
DL2		
Пациент 4	Тромбоцитопения	4
DL3		
Пациент 5	Энцефалопатия	3
Расширение дозы (N=80)		
L1		
Пациент 6	Энцефалопатия CRS Почечная недостаточность	3 4 4
Пациент 7	Диффузное альвеолярное повреждение	5
Пациент 8	Тромбоцитопения Изменения психического состояния	4 3
DL2		
Пациент 9	Энцефалопатия	3

CRS, синдром выделения цитокина; DL1, уровень дозы 1 (одна дозу); DL2, уровень дозы 2 (одна дозу); DLT, ограничивающая дозу токсичность.

Неблагоприятные события результатов всех субъектов, подвергутых лечению на момент времени, указаны в **Таблице E33.3**.

На скрининге 58% субъектов имели ECOG PS 1; 59% потребовали промежуточной терапии; 22% имели LDH ≥500 ЕД/Л и 28% имели SPD ≥50 $см^2$ до LD. Среди 268 субъектов,

которые получали CAR+ T клеточные композиций, которых оценивают в анализе безопасности, наиболее частыми вызванными лечением побочными явлениями (TEAE) были нейтропения (63%), анемия (48%), утомляемость (44%), CRS (42%) и тошнота (33%). Оценка безопасности показала, что 79% субъектов имели TEAE степени ≥3, преимущественно цитопении (нейтропения, 60%; анемия, 37%; тромбоцитопения, 27%). CRS или NE возникали у 47% субъектов. Любая степень CRS возникала у 42% субъектов при среднем времени наступления 5 дней; только 2% имеют CRS степени ≥3. NE возникали у 30% субъектов (степень ≥3, 10%) при среднем времени наступления 9 дней. 19% субъектов получали тоцилизумаб и 21% получали кортикостероиды для CRS и/или NE. Семь субъектов (3%) имели TEAE степени 5, включая одну DLT степени 5, из которых 4 были отнесены к CAR+ T клеточной композиции и LDC, как показано в **Таблице E33.3**.

Семь субъектов (3%) имели TEAE степени 5, включая одну DLT степени 5; четыре TEAE степени 5, которые возникали, были связаны с CAR^+ T клеточными композициями и противолимфомной терапией (LD) (диффузное альвеолярное поражение, легочное кровотечение, синдром полиорганной недостаточности, кардиомиопатия). Три TEAE степени 5 были не связаны с CAR^+ T клеточными композициями: флударабиновая лейкоэнцефалопатия, септический шок и прогрессирующая многоочаговая лейкоэнцефалопатия. Пролонгированная цитопения степени ≥3 (на основе лабораторной оценки на 29 День) была отмечена у 37% субъектов. Безопасность была аналогичной между возрастными группами, гистологиями и субъектами с дисфункцией органов.

В **Таблице E33A-1** показаны неблагоприятные события от лечения для группы из 268 субъектов, и в **Таблице E33A-2** показаны вызванные лечением побочные явления для всех подгрупп субъектов в другой момент времени в том же исследовании (n=269). В **Таблице E33B-1** (n=268) и **Таблице E33B-2** (n=269) показаны другие неблагоприятные события, представляющие особый интерес. Лабораторная гипогаммаглобулинемия (IgG <500 мг/дл) присутствовала у 49% (127 из 258) на базовом уровне, 58% (136 из 236 субъектов) на день исследования 29 и 61% (8 из 112 субъектов) на день исследования 365.

В **Таблице E33B-3** показано количество случаев и управление или CRS и NE. CRS и NE были обратимыми, при этом 1 субъект имел неразрешенное NE (тремор 1 степени) на момент времени анализа, и 8 субъектов имели продолжающиеся CRS/NE на момент смерти по другим причинам. Лечение CRS и NE описано на **ФИГ. 57,** один субъект получал анакинра и силтуксимаб для CRS, и один субъект получал силтуксимаб для NE. В **Таблице E33C** показаны вызванные лечением симптомы синдрома выделения цитокина (CRS), которые возникают у ≥2% пациентов. В **Таблице E33D** показаны вызванные лечением неврологические события у группы, которые возникают у ≥5 пациентов.

В **Таблице E33E-1** и **Таблице E33E-2** показано сравнение неблагоприятных событий по уровню дозы. В **Таблице E33F** показано сравнение безопасности по подгруппам пациентов. В **Таблице E33G** показаны результаты безопасности для амбулаторных повторно подвергутых лечению пациентов и тех, кто получает несоответствующий продукт.

Менее чем у половины (47%) всех пациентов развились CRS и/или NE (**Таблицы E33B-E33D**), при среднем времени наступления 5 и 9 дней, соответственно. Сорок два процента пациентов имели CRS какой-либо степени. CRS 3 или 4 степени были редкими, встречалась только у 2% пациентов. CRS лечили тоцилизумабом и/или кортикостероидами у 20% пациентов; 10% получали только тоцилизумаб. NE любой степени наблюдали у 30% пациентов и они обычно возникали во время или после CRS (73%); 10% имели NE 3 или 4 степени. Ни один пациент не имел CRS или NE 5 степени. Другие TEAE, представляющие особый интерес, включали пролонгированные цитопении (37% пациентов), гипогаммаглобулинемию (14%) и инфекции степени ≥3 (12%). Восемнадцать пациентов (7%) были помещены в палату интенсивной терапии во время начального периода госпитализации после инфузии CAR+ Т-клеток.

Таблица E33.3. Неблагоприятные события

	Все леченные субъекты N= 268	
TEAE, представляющие особый интерес	**Любая степень**	**Степень ≥3**
CRS, n (%)	113 (42)	6 (2)
Время до наступления, среднее (диапазон) дней	5 (1-14)	6,5 (3-12)
NE, n (%)	80 (30)	27 (10)
Время до наступления NE, среднее (диапазон) дней	9 (1-66)	9 (2-44)
Любой тоцилизумаб, n (%)	52 (19)	
Только тоцилизумаб, n (%)	18 (7)	
Любые кортикостероиды, n (%)	56 (21)	
Только кортикостероиды, n (%)	22 (8)	
И тоцилизумаб и кортикостероиды, n (%)	34 (13)	
Инфекции, n (%)	110 (41)	33 (12)
Пролонгированная цитопения степени ≥3[a], n (%)	-	100 (37)
Синдром лизиса опухоли, n (%)	2 (1)	2 (1)

[a] Пролонгированные цитопении определены как степень ≥3 по лабораторным оценкам на 29 день исследования. CRS, синдром выделения цитокина;; NE, неврологические события; TEAE, вызванные лечением побочные явления.

Таблица E33A-1. Вызванные лечением побочные явления

	Леченные CAR+T клетками пациенты N=268		
	Любая степень TEAE	**Степень 1 или 2 TEAE**	**Степень ≥3 TEAE**

Пациенты с TEAE - к-во (%)	266 (99)	54 (20)	212 (79)
Нейтропения	168 (63)	8 (3)	160 (60)
Анемия	128 (48)	28 (10)	100 (37)
Утомляемость	119 (44)	115 (43)	4 (1)
Синдром выделения цитокина	113 (42)	107 (40)	6 (2)
Тошнота	89 (33)	85 (32)	4 (1)
Тромбоцитопения	84 (31)	12 (4)	72 (27)
Головная боль	80 (30)	77 (29)	3 (1)
Пониженный аппетит	76 (28)	69 (26)	7 (3)
Диарея	71 (26)	70 (26)	1 (<1)
Констипация	62 (23)	62 (23)	0
Головокружение	60 (22)	59 (22)	1 (<1)
Гипотензию	59 (22)	51 (19)	8 (3)
Кашель	56 (21)	56 (21)	0
Рвота	56 (21)	55 (21)	1 (<1)
Гипокалиемия	52 (19)	46 (17)	6 (2)
Лейкопения	43 (16)	5 (2)	38 (14)
	Степень 5 TEAE		
Пациенты с TEAE - к-во (%)	7 (3)		
Диффузное альвеолярное повреждение‡,§	1 (<1)		
Легочное кровотечение§	1 (<1)		
Синдром полиорганной недостаточности§	1 (<1)		
Лейкоэнцефалопатия‖	1 (<1)		
Септический шок‖	1 (<1)		
Кардиомиопатия§	1 (<1)		
Прогрессирующая мультифокальная лейкоэнцефалопатия‖	1 (<1)		

*LBCL означает B-крупноклеточную лимфому, LDC противолимфомная химиотерапия и TEAE вызванное лечением побочное событие.

†У, по меньшей мере, 15% пациентов.

‡Ограничивающая дозу токсичность.

§Считается исследователем связанным и с CAR+T клеточными композициями и с LDC.

‖Считается связанным с LDC (септический шок и лейкоэнцефалопатия) или не

связанным с обоими CAR+T клеточными композициями и LDC (прогрессирующая мультифокальная лейкоэнцефалопатия).

Таблица E33A-2. Вызванные лечением побочные явления у ≥25% субъектов[a]

	Все LBCL пациент, N=269	
	Любая степень	**Степень ≥3**
Любые TEAE, n (%)	267 (99)	213 (79)
Нейтропения	169 (63)	161 (60)
Анемия	129 (48)	101 (38)
Утомляемость	119 (44)	4 (1)
Синдром выделения цитокина	113 (42)	6 (2)
Тошнота	90 (33)	4 (1)
Тромбоцитопения	84 (31)	72 (27)
Головная боль	80 (30)	3 (1)
Пониженный аппетит	76 (28)	7 (3)
Диарея	71 (26)	1 (<1)

[a]A TEAE определено как побочное событие, которое начинается в любое время от начала введения CAR T клеток до и включая 90 дней после конечного цикла CAR T клеток. Любые AE, которые возникают после начала другого противоракового лечения или повторного лечения CAR T не считается CAR T клеточным TEAE.
DLT, ограничивающая дозу токсичность; TEAE, вызванное лечением побочное событие.

Таблица E33B-1. Вызванные лечение побочные явления, представляющие особый интерес

Событие	**Леченные CAR+ T клетками пациенты N=268**
CRS[†]	
Любая степень - к-во (%)	113 (42)
Степень 3 - к-во (%)	4 (1)
Степень 4 - к-во (%)	2 (1)
Время до наступления (дней) - среднее (диапазон)	5 (1–14)
Время до исчезновения (дней) - среднее (диапазон)	5 (1–17)
NEs[†]	
Любая степень - к-во (%)	80 (30)
Степень 3 - к-во (%)	23 (9)

Степень 4 - к-во (%)	4 (1)
Время до наступления (дней) - среднее (диапазон)	9 (1–66)
Время до рассасывания (дней) - среднее (диапазон)	11 (1–86)
Тоцилизумаб и/или кортикостероид для CRS‡ - к-во (%)	53 (20)
Только тоцилизумаб	27 (10)
Тоцилизумаб и кортикостероид	21 (8)
Только кортикостероид	5 (2)
Другие лекарственные средства для лечения CRS - к-во (%)	
Анакинра	1 (<1)
Сосудосуживающие факторы	7 (3)
Силтуксимаб	1 (<1)
Пролонгированная цитопения§ - к-во (%)	100 (37)
Инфекции степени ≥3‖ - к-во (%)	33 (12)
Гипогаммаглобулинемия - к-во (%)	37 (14)
Синдром лизиса опухоли - к-во (%)	2 (1)
Вызванные инфузией реакции - к-во (%)	3 (1)

*CRS означает синдром выделения цитокина, LBCL B-крупноклеточная лимфома и NE неврологические события.

† CRS или NE 5 степени не возникают. CRS ранжируют согласно критериям Lee.

21NE определены как оцененные исследователем NE, связанные с CAR+ T клеточными композициями.

‡Пациенты с одновременными CRS и NE могут получать только тоцилизумаб или кортикостероиды для обоих событий.

§Пролонгированные цитопении включают нейтропению, тромбоцитопению или анемию степени ≥3, не разрешенную на 29 день исследования на основе лабораторных оценок.

‖ Бактериальные инфекции степени ≥3 возникают у 11 (4%) пациентов; грибковые инфекции у 2 (0,7%) пациентов и вирусные инфекции у 4 (1,5%) пациентов

Таблица E33B-2. Другие неблагоприятные события, представляющее особый интерес

Количество случаев	**Все леченные CAR+ T клетками пациенты N=269**

Пролонгированные цитопении степени ≥3,[a] n (%)	100 (37)
Инфекции степени ≥3, n (%)	33 (12)
Бактериальная	11 (4)
Вирусная	4 (1)
Грибковая	2 (1)
Другие	16 (6)
Гипогаммаглобулинемия, n (%)	
Побочные события	37 (14)
Лабораторная оценка	xxx
Синдром лизиса опухоли, n (%)	2 (1)
Степень 3 или 4	2 (1)
Связанные с инфузией реакции, n (%)	3 (1)
Степень 3 или 4	0
[a]Пролонгированные цитопении включают нейтропению, тромбоцитопению или анемию, не разрешенные на 29 день исследования на основе лабораторных оценок. 55 (20,5%) субъектов получают ВВ иммуноглобулин.	

Таблица E33B-3. Количество случаев и управление CRS и NE.

	Все пациенты с LBCL N=269
CRS[a]	
Любая степень, n (%)	113 (42)
Степень 3, n (%)	4 (1)
Степень 4, n (%)	2 (1)
Время до наступления (дней), среднее (диапазон)	5 (1-14)
Время до рассасывания (дней), среднее (диапазон)	5 (1-17)
NE[b]	
Любая степень, n (%)	80 (30)
Степень 3, n (%)	23 (9)
Степень 4, n (%)	4 (1)
Время до наступления (дней), среднее (диапазон)	9 (1-66)
Время до рассасывания (дней), среднее (диапазон)	11 (1-86)
Помещение в ICU, n(%)	19(7)
Для CRS и/или NE	12(4)

Другие причины	7(3)

[a]CRS ранжированы согласно критериям Lee (Lee DW, et al. *Blood* 2014;124:188-195); [b]NE основаны на оценке исследователя и ранжированы согласно критериям National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events v4,03.

Таблица E33C. Вызванные лечением симптомы синдрома выделения цитокина (CRS)

	DLBCL-леченные пациенты, N=268	
Пациенты с вызванными лечением CRS симптомами любой степени, n (%)	113 (42)	
Пациенты с вызванными лечением CRS симптомами степени ≥3, n (%)	20 (7)	
Количество случаев у пациента, n (%)	**Любая степень**	**Степень 3 или 4**
Лихорадка	107 (40)	6 (2)
Гипотензию	55 (21)	7 (3)
Тахикардию	47 (18)	0
Озноб	34 (13)	0
Гипоксию	26 (10)	9 (3)
Утомляемость	17 (6)	0
Головную боль	17 (6)	3 (1)
Тошноту	8 (3)	0
Полипноэ	7 (3)	1 (0,4)
Дискомфорт	6 (2)	0

Вызванный лечением определен как CRS симптом, который возникает от времени инфузии CAR+ T клеточной композиции до 90 дней после последней дозы CAR+ T клеточной композиции. Любые симптомы, возникающие после начала другой противораковой терапии или после повторного лечения не считаются вызванными лечением. Токсичность ранжирована с применением NCI CTCAE v4,03.3

[a]Общая CRS степень основана на Lee et al4 и не основана на CTCAE градации индивидуальных симптомов.

Таблица E33D. Вызванные лечением неврологические события по группам

	DLBCL-леченные пациенты, N=268

Количество случаев у пациента, n (%)[a]	**Любая степень**	**Степень 3 или 4**
Группа: Энцефалопатия	57 (21)	18 (7)
Спутанность сознания	30 (11)	2 (0,7)
Энцефалопатия	17 (6)	11 (4)
Изменение психического состояния	10 (4)	4 (1,5)
Сонливость	6 (2)	1 (0,4)
Летаргия	5 (2)	0
Другие[b]	25 (9)	2 (1)
Группа: Афазия	26 (10)	5 (2)
Афазия	22 (8)	3 (1)
Дизартрия	5 (2)	2 (1)
Другие[c]	4 (1)	0
Группа: Тремор	26 (10)	0
Тремор	25 (9)	0
Эссенциальный тремор	1 (<1)	0
Группа: Делирий	16 (6)	4 (1,5)
Тревожное возбуждение	9 (3)	3 (1)
Другие[d]	11 (4)	2 (1)
Группа: Головокружение	11 (4)	2 (0,7)
Головокружение	11 (4)	1 (<1)
Обморок	1 (<1)	1 (<1)
Группа: Головная боль	9 (3)	2 (1)
Головная боль	9 (3)	2 (1)
Мигрень	1 (<1)	0
Группа: атаксия/Нарушение походки	8 (3)	1 (<1)
Атаксия	6 (2)	1 (<1)
Нарушение походки	2 (1)	0
Группа: Церебеллярная	6 (2)	0
Другие[e]	9 (3)	0

Неврологические события определяют как оцененные исследователем неврологические события, связанные с CAR+T клеточными композициями и ранжируют с применением National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events v4,036

[a]Пациенты могут испытывать более одного события.

[b]Другие события возникают у 4 или менее пациентов и включают амнезию, когнитивное расстройство, пониженный уровень сознания, ухудшение памяти, эффект вялости, расстройство деперсонализации или дереализация, нарушение внимания, инкогерентность и бессонница.

[c]Другие события возникают у 4 или менее пациентов и включают дисфемию, дисфонию, медленную речь и расстройство речи.

[d]Другие события возникают у 4 или менее пациентов и включают делирий, дезориентацию, бред, зрительные галлюцинации и раздражительность.

[e]Другие события возникают у 4 или менее пациентов и включают мозжечковую атаксию, дисметрию, расстройство равновесия, дискинезию и ухудшенную зрительно-моторную координацию.

Таблица E33E-1. Сравнения неблагоприятных событий по уровню дозы.

	DL1	**DL1D**	**DL2**	**DL3**	**Всего**
LBCL-леченные пациенты	**n=45**	**n=6**	**n=176**	**n=41**	**N=268**
Любые TEAE, n (%)	44 (98)	6 (100)	176 (100)	40 (98)	266 (99)
Степень 3 или 4	35 (78)	5 (83)	134 (76)	31 (76)	205 (76)
Степень 5	1 (2)	0	5 (3)	1 (2)	7 (3)
Серьезное AE	16 (36)	3 (50)	83 (47)	20 (49)	122 (45,5)
CRS, n (%)					
Любая степень	18 (40)	3 (50)	66 (37,5)	26 (63)	113 (42)
Степень 3 или 4	1 (2)	0	5 (3)	0	6 (2)
NEs, n (%)					
Любая степень	10 (22)	1 (17)	53 (30)	16 (39)	80 (30)
Степень 3 или 4	7 (16)	1 (17)	16 (9)	3 (7)	27 (10)

AE, побочное событие; CR, полный ответ; CRS, синдром выделения цитокина; DL1, уровень дозы 1 (одна доза); DL1D, уровень дозы 1 (2 дозы); DL2, уровень дозы 2 (одна доза); DL3, уровень дозы 3 (одна доза); NE, неврологические события; ORR, частота объективного ответа; TEAE, вызванное лечением побочное событие.

Таблица E33E-1-2. Сравнения неблагоприятных событий по одинарным уровням дозы.

	DL1	**DL2**	**DL3**
LBCL-леченные пациенты	**n=45**	**n=177**	**n=41**
Любые TEAE, n (%)	44 (98)	177 (100)	40 (98)
Степень 3 или 4	35 (78)	135 (76)	31 (76)

Степень 5	1 (2)	5 (3)	1 (2)
Серьезные AE	16 (36)	83 (47)	20 (49)
CRS, n (%)			
Любая степень	18 (40)	66 (37,5)	26 (63)
Степень 3 или 4	1 (2)	5 (3)	0
NEs, n (%)			
Любая степень	10 (22)	53 (30)	16 (39)
Степень 3 или 4	7 (16)	16 (9)	3 (7)

AE, побочное событие; CR, полный ответ; CRS, синдром выделения цитокина; DL1, уровень дозы 1 (одна доза); DL2, уровень дозы 2 (одна доза); DL3, уровень дозы 3 (одна доза); NE, неврологические события; TEAE, вызванное лечением побочное событие.

Таблица E33F. Сравнения безопасности в подгруппах пациентов

		TEAE		**CRS**	**NE**	
Количество случаев у пациента, n (%)	**n**	**Степень 3-5**	**Любая степень**	**Степень 3 или 4**	**Любая степень**	**Степень 3 или 4**
Возраст						
<65 лет	157	121 (77)	72 (46)	5 (3)	46 (29)	15 (10)
≥65 лет	111	91 (82)	41 (37)	1 (1)	34 (31)	12 (11)
<75 лет	241	186 (77)	101 (42)	5 (2)	68 (28)	22 (9)
≥75 лет	27	26 (96)	12 (44)	1 (4)	12 (44)	5 (19)
Пред-LDC CrCl						
≥60 мл/мин	217	165 (76)	86 (40)	5 (2)	58 (27)	17 (8)
<60 мл/мин	51	47 (92)	27 (53)	1 (2)	22 (43)	10 (20)
LVEF при скрининге						
≥40% - <50%	13	9 (69)	4 (31)	0	4 (31)	1 (8)
≥50%	255	203 (80)	109 (43)	6 (2)	76 (30)	26 (10)
Ответ на предшествующую терапию						
Химиотерапия-рефрактерные	180	142 (79)	76 (42)	6 (3)	50 (28)	20 (11)
Химиотерапия-чувствительные	88	70 (80)	37 (42)	0	30 (34)	7 (8)
Вторичная ЦНС						

лимфома						
Да	7	7 (100)	2 (29)	0	2 (29)	2 (29)
Нет	261	205 (79)	111 (42,5)	6 (2)	78 (30)	25 (10)
Предшествующая HSCT						
Да	94	75 (80)	36 (38)	2 (2)	29 (31)	6 (6)
Нет	174	137 (79)	77 (44)	4 (2)	51 (29)	21 (12)
Полученная промежуточная терапия						
Да	159	137 (86)	81 (51)	5 (3)	53 (33)	21 (13)
Нет	109	75 (69)	32 (29)	1 (0,9)	27 (25)	6 (5,5)
Пред-LDC SPD						
≥50 $см^2$	72	63 (88)	43 (60)	3 (4)	31 (43)	12 (17)
<50 $см^2$	184	141 (77)	66 (36)	3 (2)	47 (25,5)	15 (8)
Базовый CRP						
<20 мг/л	117	86 (74)	35 (30)	1 (0,9)	23 (20)	5 (4)
≥20 мг/л	150	125 (83)	78 (52)	5 (3)	57 (38)	22 (15)
Амбулаторные	25	17 (68)	12 (48)	1 (4)	11 (44)	2 (8)
Полученное лечение[a]	15	12 (80)	5 (33)	1 (8)	NA	NA
Полученный несоответствующий продукт	24	20 (83)	7 (29)	1 (4)	3 (12,5)	1 (4)

ЦНС, центральная нервная система; CR, полный ответ; CrCl, клиренс креатинина; CRP, С-реактивный белок; HSCT, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток; LCD, противолимфомная химиотерапия; LVEF, фракция выброса левого желудочка; НД, не доступно; NE, неврологические события; SPD, сумма произведений перпендикулярных диаметров; TEAE, вызванные лечением побочные явления.

[a]Пациенты, которые достигли CR после начального вливания CAR+T клеточной композиции, но с последующим развитием прогрессирующего заболевания.

Таблица E33G. Эффективность у амбулаторных повторно подвергутых лечению пациентов и не соответствующего продукта.

	Амбулаторные	**Повторно леченные**	**Пациенты, получающее не**

	пациенты, n=25	**пациенты[a] n=15**	**соответствующий продукт[b] n=24**
Безопасность, n %			
Любые TEAE	25 (100)	14 (93)	24 (100)
Степень 3-4	17 (68)	12 (80)	18 (75)
Степень 5	0	1 (7)	1 (4)[c]
Серьезные AE	18 (72)	НД	11 (46)
CRS, n (%)			
Любая степень	12 (48)	5 (33)	7 (29)
Степень ≥3	1 (4)	1 (7)	1 (4)
NE, n (%)			
Любая степень	11 (44)	НД	3 (12,5)
Степень ≥3	2 (8)	НД	1 (4)[c]

CI, доверительный интервал; CR, полный ответ; CRS, синдром выделения цитокина; НД, не доступно; NE, неврологические события; НД, не достигается; ORR, частота объективного ответа.

[a]Все анализы основаны на результатах безопасности и эффективности после повторного лечения.

[b]Не соответствующий продукт определен как любой продукт, где один или оба компонента не отвечают спецификациям выделения для CAR+T клеточных композиций.

[c]Один пациент имеет TEAE 5 степени в виде мукоромикоза, который начинается и заканчивается на 4 день исследования, и который не считается связанным с противолимфомной химиотерапией.

[d]По оценке исследователя.

E. Результаты эффективность и ответ

Результаты эффективности и ответа субъектов, подвергутых лечению на момент времени, указаны в **Таблице E33H-1**. Ответ и устойчивость по оценке IRC описаны в **Таблице E33H-2**. Вероятность продолжительного ответа и длительности ответа описана на **ФИГ. 58**. Средний период наблюдения (95% CI) составляет 12 месяцев (11,2-16,7 диапазон).

Среди субъектов, у которых оценивали ответ (n=255), ORR составлял 73% (95% CI, 67–78); CR составлял 53% (95% CI, 47–59). Ответы были аналогичными по всем подгруппам субъектов, например, включая подгруппы на основе подтипа заболевания, возраста (например, субъекты 65 лет или старше), субъекты с высокой опухолевой массой и химиотерапия-чувствительный и -рефрактерный статус, как показано в **Таблице E33H**. **Таблица E33I-1** и **E33I-2** показывают сравнение эффективности по уровню дозы. **Таблица**

E33J показывает сравнение эффективности согласно анализам. **Таблица E33K** показывает эффективность для амбулаторных пациентов, повторно подвергутых лечению пациентов и тех, которые получают не соответствующий продукт. Эффективность является аналогичной в узком диапазоне DL, без статистически значимой разницы между отдельными DL для ORR (P=0,68), PFS (P=0,46) и DOR (P=0,76) или между анализами. Предварительно заданная первичная конечная точка ORR для PAS была достигнута. Повторное лечение CAR+ T клеточными композициями (n=15) привело к низкому ORR (20%). Эффективность среди пациентов, получивших несоответствующий продукт (n=24), была аналогична тем, кто получил CAR+ T клеточные композиции.

Ответы были быстрыми и устойчивыми, со средним временем до первого ответа 1 месяц (диапазон 0,7–6,0) и средним DOR 13,3 месяцев (95% CI, 8,2 – не достигается [NR]) при среднем периоде наблюдения 10,8 месяцев. Средний DOR у пациентов с CR не был достигнут (95% CI, 13,3 NR) (**ФИГ. 49A**). Средний PFS составил 6,8 месяцев (95% CI, 3,3–11,8). Среди пациентов с CR, средний PFS не достигнут (95% CI, 14,1 NR) (**ФИГ. 49B**). Среднее отношение PFS составляет 0,72. В целом, PFS после инфузии CAR+ T-клеток был по существу дольше, чем PFS после предшествующей промежуточной терапии. Средний OS составлял 19,1 месяцев, при среднем периоде наблюдения 12,2 месяцев, и расчетный OS за 12 месяцев составил 55% (95% CI, 48,4–61,9). Среди пациентов, достигших CR, оценочный средний OS не было достигнуто (95% CI, NR–NR) (**ФИГ. 49C**). Эффективность была аналогичной в узком диапазоне DL (**Таблица E33I**), без статистически значимых различий между отдельными DL для ORR (P=0,68), PFS (P=0,46) и DOR (P=0,76) или между анализами (**Таблица E33J**). Повторная обработка CAR-T клеточными композициями (n=15) привела к низкому ORR (20%). Эффективность среди пациентов, получавших несоответствующий продукт (n=24), была аналогична эффективности для тех, кто получал CAR+ T клеточные композиции (**Таблица E33K**).

Как показано в **ФИГ. 59**, ORR не отличался по возрасту, LBCL подтипу, предшествующей HSCT или вторичной ЦНС лимфоме. Субъекты, нуждающиеся в промежуточной терапии и те, которые имели высокую тяжесть заболевания имели тенденцию к более низкому ORR. Шаблон показателей CR для подгрупп были аналогичной для таковой ORR. PFS (**ФИГ. 60** и **Таблица E33L**) и OS (**ФИГ. 61** и **Таблица E33M**) оценивают по объективному ответу. В этот момент времени анализа, 37% субъектов имели 12 месяцев отслеживания в период исследования и 68% имели 6 месяцев отслеживания в период исследования. PFS по гистологическому подтипу показан на **ФИГ. 62**.

Таблица E33H-1. Ответы

Ответ	**Оцениваемые субъекты N=255**		**Оцениваемые субъекты N=256**
Ответ	ORR, n (%)	CR, n (%)	CR, n (%)
DLBCL когорта, все субъекты	186 (73)	135 (53)	136(53)

DLBCL NOS (n=131)	89 (68)	63 (48)	64 (49)
Трансформированная из FL (n=57)	48 (84)	36 (63)	36(63)
Трансформированная из вялотекущей лимфомы (n=18)	11 (61)	7 (39)	7(39)
PMBCL (n=14)	11 (79)	7 (50)	7(50)
HGBCL (n=33)	25 (76)	20 (61)	20(61)
FL3B (n=2) или (n=3)	2 (100)	2 (100)	2(67)
Возраст ≥65 лет (n=107) или (n=108)	83 (78)	65 (61)	65(60)
LDH ≥500 ЕД/Л (n=57)	36 (63)	23 (40)	23 (40)
SPD ≥50 $см^2$ (n=69) или (n=70)	43 (62)	23 (330	23(33)
Химиочувствительные (n=85)	66 (78)	46 (54)	NA
Химиорефрактерные (n=170) или (n=171)	120 (71)	89 (52)	90(53)
Полученная предшествующая HSCT (n=87)	68 (78)	55 (63)	55(63)
Полученная промежуточная терапия (n=150)	101 (67)	67 (45)	68(45)

[a] Пролонгированные цитопении были определены как степень ≥3 по лабораторной оценке на 29 день исследования. CR, полный ответ; CRS, синдром выделения цитокина; DLBCL, диффузная В-крупноклеточная лимфома; FL, фолликулярная лимфома; FL3B, фолликулярная лимфома степени 3B; HGBCL, В-клеточная лимфома высокой степени злокачественности; HSCT, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток; LDH, лактатдегидрогеназа; NE, неврологические события; NOS, не определенная иным образом; ORR, суммарная эффективность терапии; PMBCL, первичная В-клеточная лимфома средостения; SPD, сумма произведения наибольших диаметров; TEAE, вызванные лечением побочные явления.

Таблица E33H-2. Ответ и длительность по IRC оценке

Оценка эффективности у пациентов, N=255	
ORR (95% CI)	73% (67–78)
CR пень CR (95% CI)	53% (47–59)
Время до первого CR или PR, среднее (диапазон)	0,95 (0,7–8,9)
DOR среднее (95% CI), месяцев[a]	
DOR через 6 месяцев (95% CI)	60,4 (52,6–67,3)
DOR через 12 месяцев (95% CI)	54,7 (46,7–62,0)

CI, доверительный интервал; CR, полный ответ; DOR, длительность ответа; NR, не достигается; ORR, частота объективного ответа.

Таблица E33I-1. Сравнение эффективности по уровню дозы.

	DL1	**DL1D**	**DL2**	**DL3**	**Всего**
LBCL-леченные пациенты, оценка эффективности	**n=40**	**n=6**	**n=168**	**n=41**	**N=255**
ORR, n (%)	27 (67,5)	4 (67)	125 (74)	30 (73)	186 (73)
CR, n (%)	24 (60)	3 (50)	88 (52)	20 (49)	135 (53)

AE, побочное событие; CR, полный ответ; CRS, синдром выделения цитокина; DL1, уровень дозы 1 (одна доза); DL1D, уровень дозы 1 (2 дозы); DL2, уровень дозы 2 (одна доза); DL3, уровень дозы 3 (одна доза); NEs, неврологические события; ORR, частота объективного ответа; TEAE, вызванное лечением побочное событие.

Таблица E33I-1-2. Сравнения эффективности по уровню дозы.

	DL1	**DL2**	**DL3**
Оценка эффективности у пациентов	**n=40**	**n=169**	**n=41**
ORR, n (%)	27 (67,5)[a]	125 (74)	30 (73)
CR, n (%)	24 (60)	88 (52)	21 (51)

[a]Все доли округлены до десятых 0,5. CR, полный ответ; DL, уровень дозы; ORR, частота объективного ответа.

Таблица E33J. Сравнение эффективности по анализам.

	Анализы		
	LBCL-эффективность[a] N=255	**PAS[b] N=133**	**Намерение лечить[c] N=342**
Ответ, n (%)			
ORR	186 (73)	99 (74)	208 (61)
CR	135 (53)	72 (54)	149 (44)
PR	51 (20)	27 (20)	59 (17)
SD	28 (11)	13 (10)	32 (9)
PD	28 (11)	14 (11)	33 (10)
DOR (месяцы), среднее (95% CI)	13,3 (8,2-NR)	11,1 (8,0-NR)	13,3 (8,2-NR)
PFS (месяцев), среднее (95% CI)	6,8 (3,3-11,8)	9,0 (3,1-14,1)	4,8 (4,3-7,1)

6-месячный PFS, %	50,6	53,0	46,3
OS (месяцев), среднее (95% CI)	19,9 (10,9-NR)	19,9 (10,4-NR)	12,8 (10,6-21,1)
6-месячный OS, %	74,4	72,9	70,5

CI, доверительный интервал; CR, полный ответ; DOR, длительность ответа; LBCL, B-крупноклеточная лимфома; NR, не описано; ORR, частота объективного ответа; OS, общее выживание; PD, прогрессирующее заболевание; PFS, выживание без прогрессирования; PR, частичный ответ; SD, стабильное заболевание.

[a]LBCL-леченная, оцениваемая по эффективности группа включает всех пациентов в LBCL-леченной группе, у которых было ПЭТ-положительное заболевание, присутствующее до введения CAR+ Т-клеточной композиции на основе оценки комитета независимого обзора.

[b]Первичный анализ (PAS) включает анализ LBCL-леченной подгруппы, леченной DL2S.

[c]Анализ «намерение лечить» включает всех пациентов, которым был выполнен лейкаферез

Таблица E33K. Результаты эффективности для амбулаторных пациентов, повторно подвергутых лечению пациентов и не соответствующего продукта.

	Амбулаторные пациенты n=25	**Повторно леченные пациенты[a] n=15**	**Пациенты, получавшие не соответствующий продукт[b] n=24**
Эффективность, % (95% CI)			
ORR	80 (59,3-93,2)	20 (4,3-48,1)[d]	62,5 (40,6-81,2)
CR	56 (34,9-75,6)	13 (1,7-40,5)[d]	42 (22,1-63,4)
Длительность ответа, средняя (95% CI), месяцев	NR (2,4-NR)	НД	NR (3,1-NR)
Выживание без прогрессирования, среднее (95% CI), месяцев	5,4 (3,0-NR)	НД	4,6 (3,1, NR)

CR, полный ответ; НД, не доступно; NR, не достигается; ORR, частота объективного ответа.

[d]По оценке исследователя.

Таблица E33L. PFS оцениваемый по объективному ответу

	PFS

6 месяц (95% CI), %	
Все субъекты	51,4 (44,6-57,7)
Субъекты с CR	76,1 (67,9-82,4)
12 месяц (95% CI), %	
Все субъекты	44,1 (37,3-50,7)
Субъекты с CR	65,1 (56,1-72,7)
Таблица E33M. OS оцениваемый по объективному ответу	
	OS
6 месяц (95% CI), %	
Все субъекты	74,4 (68,4-79,4)
Субъекты с CR	94,1(88,6-97,0)
12 месяц (95% CI), %	
Все субъекты	57,9 (51,3-63,8)
Субъекты с CR	85,5 (78,2-90,5)

Ответы наблюдают среди подгрупп, включая амбулаторную инфузию/отслеживание и пациентов с высоким риском, таких необычные гистологические подтипы и HGBCL, возраст ≥65 лет, химиотерапия-рефрактерное заболевание и тех, которые требуют промежуточную терапию. Среди 6 пациентов с вторичной ЦНС лимфомой, оцениваемой на ответ, 3 достигали CR. Аналогично, ответы были устойчивыми в подгруппах высокого риска в возрасте ≥65 лет, HGBCL, химиотерапия-рефрактерного заболевания и вторичной ЦНС лимфомы (**ФИГ. 50A–50B**). Однако, для пациентов с высокой опухолевой массой, PFS и DOR были короче. Как показано в **Таблице E33N**, PFS был короче у пациентов, требующих промежуточной терапии. На **ФИГ. 51A** показана длительность ответа и выживание без прогрессирования. На **ФИГ. 51B** показана длительность ответа по гистологическим группам. На **ФИГ. 51C** показана длительность ответа по промежуточной терапии. На **ФИГ. 51D** показана длительность ответа по химиотерапия-чувствительному к химиотерапия-рефрактерному статусу. На **ФИГ. 51E** показана длительность ответа по пред-LDC SPD статусу. На **ФИГ. 51F** показана длительность ответа по возрастной группе. На **ФИГ. 51G** показана длительность ответа у субъектов с и без сопутствующих заболеваний.

Таблица E33N. DOR и PFS по IRC оценке.				
Параметр	**DOR**		**PFS**	
	Отношение риска (95% CI)	**P значение[b]**	**(95% CI)**	**P значение[b]**
Пред-LDC SPD ≥50 см^2	1,88 (1,16-3,06)	0,0111	1,77 (1,22-2,58)	0,0028

(эталон: SPD <50 см^2)				
Промежуточная терапия (эталон: нет)	1,37 (0,87-2,16)	0,1805	1,45 (1,01-2,09)	0,0436
Ответ на последнюю предшествующую терапию (эталон: рефрактерная)	0,68 (0,39-1,20)	0,1886	0,68 (0,43-1,08)	0,1015
CI, доверительный интервал; DOR, длительность ответа; IRC, независимый наблюдательный комитет; LBCL, В-крупноклеточная лимфома; LDC, противолимфомная химиотерапия; PFS, выживание без прогрессирования; SPD, сумма произведений перпендикулярных диаметров. [a]Ad hoc анализ (Cox модель пропорциональных рисков) с применением набора анализов для оценки LBCL-леченной эффективности. [b]P значения являются описательными.				

F. Клеточная кинетика, В-клеточная аплазия и Иммуногенность

Клеточная кинетика CAR+ Т-клеток в крови основана на всех пациентах из LBCL-леченной когорты, которые получали CAR+ Т-клетки в качестве однократной инфузии и у которых были исходные (до инфузии CAR+ Т-клеток) и пост-базовые измерения, по меньшей мере, в первые 28 дней. Данные оценивают с помощью утвержденного количественного ПЦР анализа в реальном времени для обнаружения трансгена CAR+ Т клеток.

В-клеточная аплазия определена как CD19+ В-клетки, представляющие <3% лимфоцитов периферической крови (Mueller KT et al. Clin Cancer Res. 2018.;24:6175-84)

Антитела к CAR-экспрессирующим Т-клеткам определяют с помощью электрохемилюминесцентного иммуноанализа. Иммуногенность оценивают путем расчета распространенности антител к CAR-экспрессирующим Т-клеткам (пред-существующие антитела, которые связываются с CAR-экспрессирующими Т-клетками, измеренные до первой инфузии CAR-экспрессирующих Т-клеток) и количества антител к CAR-экспрессирующим Т-клеткам (индуцированных лечением или усиленных лечением антител, которые связываются с CAR-экспрессирующими Т-клетками в любой момент времени после первой инфузии CAR-экспрессирующих Т-клеток).

Среди 238 оцениваемых пациентов, среднее время до пика размножения CAR Т-клеток по всем DL составляет 12 дней (интерквартильный диапазон, 10–15); среднее максимальное размножение (C_{max}) составляет 23963,7 копий/мкг и средняя площадь под кривой во время первых 28 дней после инфузии ($ППК_{0–28d}$) оставляет 214283,0 день*копий/мкг. Размножение было аналогичным для всех DL (**Таблица E33O**).

CAR+ Т клетки показали долговременную жизнестойкость через 1 год у 59% (n=22/37). Уровень CD19+ В клеток оставался низким в течение 2-3 месяцев до повышения,

и кинетика размножения CAR+ CD4+ и CD8+ клеток была аналогичной. Результаты для CAR+ Т клеток, анализированных кПЦР и проточной цитометрией к CD19+ В клеткам, анализированным для 261 субъектов показаны на **ФИГ. 63** и в **Таблице E33P.** Результаты для CAR+ Т клеток (CD3+, CD4+ и CD8+) проточной цитометрией показаны на **ФИГ. 64.**

Пациенты с клиническим ответом (CR или PR; n=175) имеет более высокую среднюю C_{max} (4,06-кратно) и $ППК_{0–28d}$ (2,59-кратно), чем пациенты без клинического ответа (n=50). Более высокая средняя C_{max} также ассоциирована с более высокой базовой опухолевой массой (2,45-кратно), любой степенью CRS (2,31-кратно), любой степенью NE (3,46-кратно) и степенью ≥3 NE (5,06-кратно) (**Таблица E33Q**). CAR+ Т-клеток показали долговременную жизнестойкость через 1 год у 59% (n=22/37) пациентов; 73% (n=36/49) имели трудноизлечимую В-клеточную аплазию через 1 год. Анти–CAR+T клеточные антитела определили у 11% пациентов (n=28/261) до первой инфузии CAR+T клеточных композиций, и у 11% (n=27/257) в любое время после инфузии (большинство были вызваны лечением). Отношение между статусом анти–CAR+T клеточного антитела и эффективностью, безопасностью или клеточной кинетикой было недоказательным из-за малого количества пациентов с положительными тестами на антитела.

Таблица E33O. Параметры клеточной кинетики по уровню дозы

	Оцениваемые LBCL пациенты[a]			
Параметр	DL1 n=40	DL2 n=166	DL3 n=32	DL1+DL2+DL3 n=238
C_{max} (копий/мкг)				
Среднее	20958,2	25098,5	23548,8	23963,7
Q1, Q3	5634,7, 71868,6	9806,3, 79118,5	6374,9, 71267,3	8159,3, 78748,2
T_{max} (день)				
Среднее	14,0	11,0	10,0	12,0
Q1, Q3	12,0, 19,5	10,0, 14,0	7,5, 14,0	10,0, 15,0
$ППК_{0-28d}$ (день*копий/мкг)				
Среднее	186994,0	229062,6	185393,9	214283,0
Q1, Q3	41717,3, 510264,9	96750,8, 689751,7	54491,0, 849879,3	77281,7, 689751,7

AUC_{0-28d}, площадь под кривой во время первых 28 дней после инфузии (т.е., от 1 Дня до 20 Дня); C_{max}, максимальное размножение; DL1, уровень дозы 1 (одна доза); DL2, уровень дозы 2 (одна доза); DL3, уровень дозы 3 (одна доза); LBCL, В-крупноклеточная лимфома; Q1, Q3, первый и третий квартили; кПЦР, количественная полимеразная

цепная реакция; T_{max}, время до максимального размножения.

[a]Количество пациентов с клеточными кинетическими параметрами. Некомпартментные клеточные кинетические параметры рассчитывают для пациентов, у которых измеряют клеточную кинетику на 29 День или позже.

Таблица E33P. Фармакокинетические анализы CAR+ T клеток.

	Набор ФК анализов (кПЦР) (n=261)
T_{max}, средняя (IQR)	12(10-15)
C_{max}, средняя	23,963,7 копий/мкг
$ППК_{0-28d}$, средняя	214,283,0 день*копий/мкг

Таблица E33Q. Кратность изменения средних C_{max} и $ППК_{0-28d}$ в подгруппах субъектов

	n	**Кратность изменения средней C_{max}**	**Кратность изменения средней $ППК_{0-28d}$**
SPD базовый			
≥50 см^2 к <50 см^2	59 167	2,45	2,86
Любая степень CRS к отсутствию CRS[a]	95 143	2,31	2,41
Любая степень NE к отсутствию NE	70 168	3,46	3,88
Степень ≥3 NE к степени 0-2 NE	19 219	5,06	5,99
Пациенты с клиническим ответом (CR+PR) к пациентам без клинического ответа	175 50	4,06	2,59

ППК, площадь под кривой концентрации; C_{max}, максимальная концентрация; CR, полный ответ; CRS, синдром выделения цитокина; NE, неврологические события; PR, частичный ответ; SPD, сумма произведений перпендикулярных диаметров.

[a]Анализ любой степень CRS к степени ≥3 CRS не включен, так как было слишком мало пациентов со степенью ≥3 CRS.

G. Заключение

Результаты, представленные в этом примере CD19-направленной CAR-клеточной терапии у субъектов с рецидивирующей/рефрактерной агрессивной LBCL, показывают, что лечение анти-CD19 CAR+ Т-клетками приводит к устойчивому ответу с повышенным

размножением CAR T-клеток in vivo и длительным сохранением CAR T-клеток после инфузии анти-CD19 CAR+ T-клеток. Эти результаты наблюдались в популяциях субъектов, предварительно подвергутых лечению большим дозами, с агрессивным заболеванием высокой степени злокачественности, большинство из которых были рефрактерными к химиотерапии и нуждались в промежуточном лечении для контроля заболевания промежуточной терапией. В исследование также включены подгруппы субъектов с характеристиками неблагоприятный прогноза, такие как вторичное вовлечение ЦНС, трансформированная из вялотекущей лимфомы, кроме FL, FL3B и умеренные сопутствующие заболевания. Популяция субъектов, леченная в исследовании, обычно была старше, включая людей старше 75 лет. Эти результаты наблюдают при небольшом количестве случаев тяжелых CRS и NE. У менее половины всех субъектов в исследовании, описанных в настоящем документе, развились CRS или NE, и количество случаев CRS и NE 3 степени или выше было низким (2% и 10%, соответственно), и фатальные CRS или NE не наблюдались. Низкое общее количество случаев и тяжесть CRS и NE, наряду с их поздним началом (среднее, 5 и 9 дней, соответственно), поддерживают амбулаторное введение/отслеживание у выбранных субъектов. Результаты безопасности и эффективности у 25 субъектов, получавших анти-CD19 CAR+ T-клетки в амбулаторном режиме в различных исследованиях, описанных в настоящем документе, были аналогичны результатам для всех подвергутых лечению популяций субъектов.

Результаты демонстрируют, что введение анти-CD19 CAR-экспрессирующих клеток дает устойчивый ответ с благоприятным профилем безопасности у субъектов с R/R B-крупноклеточной NHL. Небольшое количество случаев и позднее начало CRS и NE допускают амбулаторное введение. Эти результаты показывают, что клинически значимые ответы наблюдают в гистологических подгруппах и у субъектов с неблагоприятным прогнозом, включая субъектов, которые были рефрактерными, пожилыми, имели сопутствующие заболевания и/или имели высокую опухолевую массу. Лечение CAR+ T клеточными композициями, описанными в настоящем документе, привело к быстрому, высокому уровню устойчивого CR и низкому количеству тяжелых CRS и NE среди пациентов с агрессивной рецидивирующей/рефрактерной LBCL высокой степени злокачественности в этом исследовании. Клинически значимую активность наблюдают в подгруппах пациентов с неудовлетворенными медицинскими потребностями, включая необычные гистологические подтипы и подгруппы с плохими прогностическими характеристиками. Небольшое количество тяжелых CRS и NE и более позднее время до наступления позволяет амбулаторное введение/отслеживание. Результаты подтверждают полезность описанных композицией и методов для лечения более крупных групп субъектов и потенциальных участков оказания помощи.

Пример 14. Введение анти-CD19 CAR-экспрессирующих клеток для лечения второй линии не подходящих для трансплантации (TNE) субъектов с рецидивирующей и рефрактерной неходжкинской лимфомой (NHL)

Терапевтические CAR^+ T клеточные композиции, содержащие аутологичные CD4+

и CD8+ Т-клетки, экспрессирующие химерный антигенный рецептор (CAR), специфические к CD19, применяемые в исследованиях, описанных в Примерах 1, 3 и 6 выше, вводят в виде терапии второй линии субъектам, которые не отвечают критериям трансплантации (TNE), с рецидивирующей и рефрактерной (R/R) неходжкинской лимфомой (NHL), такой как рецидивирующая и рефрактерная (R/R) В-крупноклеточная лимфома, потерпевшим неудачу после терапии первой линии.

Отвечающие критериям лечения субъекты с рецидивирующей/рефрактерной В-крупноклеточной неходжкинской лимфомой (NHL) (диффузной В-крупноклеточной лимфомой (DLBCL), не определенная иным образом [de novo или трансформированной из вялотекущей NHL, лимфомой высокой степени злокачественности с MYC и BCL2 и/или BCL6 [двойная/тройная] лимфомой] или фолликулярной лимфомой степени 3В) и получали только 1 предшествующую линию иммунохимиотерапии, содержащую антрациклин и CD20-таргетный агент (например, R-CHOP; ритуксимаб, циклофосфамид, доксорубицин гидрохлорид (гидроксидауномицин), винкристин сульфат (онковин) и преднизон). Субъекты включали такие, которые считаются не отвечающими критериям для высокодозной химиотерапии с последующей HSCT (например, на основе возраста, показателя общего состояния и/или сопутствующих заболеваний) если они отвечают, по меньшей мере, одному из следующих критериев TNE, но все еще отвечают критериям для CAR Т клеточной терапии: возраст ≥70 лет, Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) показатель общего состояния 2, и/или ухудшенная легочная (DLCO ≤60%, но SaO_2 ≥92% при комнатном воздухе and CTCAE ≤1 диспноэ), сердечной (LVEF ≥40% и <50%), почечной (клиренс креатинина >30 и <60 мл/мин) или печеночной функцией (AST/ALT >2 и ≤5 x ULN) (см. **Таблицу E34A**). Подходящие субъекты для лечения также включают пациентов с положительным по позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) заболеванием, гистологическим подтверждением диагноза при последнем рецидиве (например, для централизованного подтверждения диагноза должно быть доступно достаточное количество опухолевого материала, в противном случае требуется новая биопсия опухоли), ECOG PS 0 или 1 или 2, и/или адекватный сосудистый доступ для процедуры лейкафереза (периферическая линия или хирургически установленная линия). Пациенты, которым ранее вводили Т клетки, экспрессирующие тот же анти-CD19 CAR, как описано выше, и достигшие полного ответа, и имеющие рецидив, отвечают критериям для повторного лечения.

Первичные конечные пункты включают частоту объективного ответа (ORR) и вторичные конечные пункты включают неблагоприятные события (AE), долю пациентов с полным объективным ответом (CRR), продолжительность ответа (DR), фармакокинетический профиль, оценочное выживание без прогрессирования, выживание без событий, общее выживание, лабораторные аномалии и связанное со здоровьем качество жизни. Эффективность оценивают согласно критериям 2014 Lugano (Cheson BD, et al. J Clin Oncol. 2014; 32:3059-3067) и CRS ранжируют с применением критериев Lee (Lee DW, et al. Blood. 2014;124:188-195). NE включают неблагоприятные события (AE), которые

считаются связанными с CAR+ Т клеточными композициями. AE, за исключением CRS, были ранжированы с применением National Cancer Institute Commin Terminology Criteria for Adverse Events, версия 4,03. Субъектов отслеживают для вызванных лечением AE (TEAE) в течение 90 дней после введения CAR+ Т клеточной композиции. Субъекты могут лечиться амбулаторно по решению исследователя. Субъекты считаются отслеживаемыми амбулаторно, если пациентов покидают клинику или выписываются из больницы или покидают клинику после конца периода наблюдения после инфузии. Субъекты считаются отслеживаемыми стационарно, если субъекты поступали в больницу во время инфузии CAR+ Т клеточной композиции или сразу же после периода наблюдения после инфузии. Фармакокинетические (ФК) параметры определяют проточной цитометрией.

Таблица E34A. TNE критерии

Критерий [a]	Описание
Возраст	Возраст ≥70 лет
ECOG PS	ECOG PS 2
Ухудшенная легочная функция	DLCO ≤60% скорректированное по концентрации гемоглобина (DLCO ≤60% но насыщение кислорода ≥92% при комнатном воздухе и NCI CTCAE ≤1 диспноэ)
Ухудшенная сердечная функция	Фракция выброса левого желудочка ≥40% до ≤50%; по данным эхокардиограммы или радиоизотопной вентрикулографии, проведенной в пределах 4 недель от определения пригодности для исследования
Ухудшенная почечная функция	Клиренс креатинина (Cockcroft и Gault или прямое измерение) >30 и <60 мл/мин
Ухудшенная печеночная функция	Аспартатаминотрансфераза и аланинаминотрансфераза >2 и ≤5 xULN

DLCO, диффузионная способность легких по монооксиду углерода; ECOG PS, Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status; NCI CTCAE, National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events, v 4,03; ULN, верхний предел нормы.
[a] TNE критерии разработаны на основе опубликованной литературы, руководств по лечению и мнений экспертов из США и Европы.

Пример 14.A

В первый момент времени анализа, всего 10 субъектов были подвергнуты лейкаферезу, из которых 9 получили CAR+ Т клеточные композиции и 1 субъект ждал лечения. Для этих субъектов, CAR+ Т клеточные композиции были успешно произведены

для всех субъектов. Субъекты получал целевую дозу DL2 (100×10^6 CAR-экспрессирующих Т клеток) от 2 до 7 дней после противолимфомной терапии флударабином/циклофосфамидом в течение 3 дней, как описано в Примере 1. Пяти (5) субъектам делали инфузию и отслеживали амбулаторно.

Средний возраст составляет 71 (диапазон, 64-79) лет и 5 субъектов были мужчинами. На основе гистологического анализа, субъектов имели DLBCL NOS (n=7) и трансформированную фолликулярную лимфому (tFL, n=2); два субъекта имели тройную (один из них имел tFL гистологию). Пять субъектов имели рецидив и 4 субъект имели заболевание, рефрактерное к предшествующей терапии. Средние SPD и LDH составляют 26,6 $см^2$ и 201 ЕД/Л, соответственно. Четыре субъекта имеют высокую опухолевую массу с SPD $\geq$50 $см^2$ (n=4) и LDH $\geq$500 ЕД/Л (n=1). Средняя оценка по Hematopoietic Cell Transplantation Comorbidity Index (HCT-CI) составляет 3 (диапазон, 0-3).

У шести субъектов было одно или несколько вызванных лечением побочных явлений (TEAE) степени $\geq$3, которые в основном были цитопениями. У трех субъектов были пролонгированные цитопении степени $\geq$3 на 29 День. У двух субъектов была инфекция любой степени, и ни у одного субъекта не было вызванной лечением инфекции степени $\geq$3. Ни один субъект не имел CRS или NE, и ни один субъект не получил тоцилизумаб, кортикостероиды или сосудосуживающие факторы. Не было случаев синдрома активации макрофагов, синдрома лизиса опухоли, инфузионных реакций или TEAE 5 степени. Среди 5 субъектов, которых лечили и контролировали как амбулаторных, никто не был госпитализирован по причине неблагоприятных событий в пределах первых 29 дней после инфузии CAR-экспрессирующих Т-клеток.

Все 9 субъектов достигли объективного ответа. Четыре субъекта достигли полного ответа (CR); и на момент анализа продолжали иметь CR. Пять субъектов достигли частичного ответа (PR); и 2 субъекта, продолжают демонстрировать длящийся PR на момент анализа. Аналогичные результаты были у субъектов, лечившихся в стационарном режиме по сравнению с субъектами в амбулаторном режиме. Средний период наблюдения составляет 3,5 месяца. Среднее (диапазон) время достижения пика размножение CAR Т клеток составляет 10 (7-21) дней.

Эти результаты согласуются с наблюдением, что анти-CD19 CAR-экспрессирующие Т-клетки могут быть успешно введены, включая амбулаторный режим, в качестве терапии второй линии у субъектов с R/R агрессивной В-клеточной NHL, которые не соответствуют критериям высокодозной химиотерапии и HSCT по заранее определенным критериям.

Пример 14.B

На второй момент времени анализа всего 19 субъектов были подвергнуты лейкаферезу, из которых 13 получили CAR^+ Т клеточные композиции. Для этих субъектов CAR^+ Т клеточные композиции были успешно изготовлены для всех субъектов. Шесть субъектов лечили и отслеживали амбулаторно. Все субъекты, получившие CAR^+ Т клеточные композиции, были включены в анализ безопасности, а 12 были включены в анализ эффективности. Из 13 субъектов, которые получали CAR^+ Т клеточные композиции

на момент анализа, 9 субъектов наблюдали 3 месяца или более. Ни один субъект не получил несоответствующий продукт (например, продукт, для которого один или оба CD4 или CD8 клеточных компонента не соответствуют спецификациям выпуска для CAR+ T клеточным композициям) и не было производственных сбоев.

Средний возраст составляет 72 года. При скрининге, 8 субъектов соответствуют 1 критерию TNE, 4 субъекта соответствуют 2 критериям TNE и 1 субъект соответствует ≥3 критериям TNE. Среди 6 субъектов, которых лечили и отслеживали амбулаторно, ни один не был госпитализирован по поводу AE в течение первых 29 дней после инфузии CAR+ T клеточной композиции (**Таблица E34B**). Восемь субъектов (61,5%) испытали степень 3 или 4 TEAE, в основном, цитопению. Ни один субъект не умер после инфузии CAR+ T клеточной композиции (**Таблица E34C**).

Таблица E34B. Демографические и клинические характеристики на базовом уровне.

	Субъекты (N=13)
Мужчины, n (%)	7 (54)
Возраст, лет, средний (диапазон)	72 (64-80)
Возраст, лет, n(%)	
<65	1 98)
≥65	12(92)
Критерии TNE, [a] n (%)	
Возраст ≥70 лет	8(61,5)
ECOG PS 2	4(310
DLCO ≤60%	1(8)
LVEF <50%	1(8)
Клиренс креатинина <60 мл/мин	4(31)
AST/ALT >2 x ULN	0
B-клеточные NHL подтипы, n (%)	
DLBCL NOS	7(54)
Трансформированная FL	2(15)
Лимфома высокой степени злокачественности с DLBCL гистологией	3(23)
FL3B	1(8)
LDH ≥500 ЕД/Л, n(%)	3(23)
SPD ≥50 $см^2$, n (%)	5(38)
Рецидивирующий, n (%) b	6(46)
Рефрактерный, n (%)	7(54)

HCT-CI оценка, среднее (диапазон)	3(0-9)
Условия лечения, n (%)	
Стационарное	7(54)
Амбулаторное	6(46)

ALT, аланинаминотрансфераза; AST, аспартатаминотрансфераза; DLBCL, диффузная В-крупноклеточная лимфома; DLCO, диффузионная способность легких по монооксиду углерода; ECOG PS, Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status; FL, фолликулярная лимфома; FL3B, фолликулярная лимфома степени 3B; HCT-CI, коэффициент сопутствующих заболеваний к трансплантату гемопоэтических клеток; LDH, лактатдегидрогеназа; LVEF, фракция выброса левого желудочка; NHL, неходжкинская лимфома; NOS, не определенная иным образом; SPD, сумма произведений перпендикулярных диаметров; TNE, не отвечает условиям трансплантации; ULN, верхний предел нормы.

Все доли округлены до целых чисел, за исключением тех, которые оканчиваются на 0,5.

[a]TNE критерии по оценке при скрининге. [b] Рецидивирующая к рефрактерной была определена как наилучший ответ полного ответа к наилучшему ответу частичного ответа, стабильного заболевания или прогрессирующего заболевания на последнее системное или трансплантационное лечение с намерением излечения

Таблица E34C. Вызванные лечением побочные явления

	Леченные CAR+T клетками субъекты (N=13)		
	Любая степень	**Степень 3-4**	**Степень 5**
Любые TEAE, n (%)	12(92)	8(61,5)	0
TEAE у ≥15% субъектов,[a] n (%)			
Анемия	5(38)	2(15)	0
Гипотензию	4(31)	0	0
Нейтропения	4(31)	4(31)	0
Тромбоцитопения	4(31)	3(23)	0
CRS	3(23)	0	0
Головокружение	3(23)	0	0
Утомляемость	3(23)	0	0
Бессонница	3(23)	0	0

Лейкопения	3(23)	2(15)	0
Лимфопения	3(23)	3(23)	0
Заложенность носа	3(23)	0	0
Анальное недержание	2(15)	0	0
Кашель	2(15)	0	0
Слабость	2(15)	0	0
Гипертензия	2(15)	1(8)	0
Гипомагнеземия	2(15)	0	0
Пониженное содержание нейтрофилов	2(15)	2(15)	0
Боль в конечностях	2(15)	0	0
Влажный кашель	2(15)	0	0
CRS, синдром выделения цитокина; TEAE, вызванные лечение побочные явления. Все доли округлены до целых чисел, за исключением тех, которые оканчиваются на 0,5. [a]TEAE перечислены в порядке убывания частоты для предпочтительного термина на основе колонки любой степени.			

Среди оцениваемых субъектов в этот момент времени не было событий CRS 3-4 степени, не было субъектов, испытавших NE, и не было случаев синдрома активации макрофагов, синдрома лизиса опухоли или случаев реакции на инфузию (**Таблица E34D**).

Таблица E34D. Неблагоприятные события, представляющие особый интерес

Событие, n (%)	**Леченные CAR+T клетками субъекты (N=13)**
CRS	
Степень 1-2	3(23)
Степень 3-5	0
NE[a]	
Степень 1-2	0
Степень 3-5	0
Тоцилизумаб и кортикостероид для CRS[b]	2(15)
Пролонгированная цитопения степени ≥3 [c]	4(31)
Инфекции, степень ≥3	0
CRS, синдром выделения цитокина; NE, неврологические события. [a]NE включают связанные с лечением события, определенные исследователем. [b]Тоцилизумаб и кортикостероид дают для 2 событий CRS 2 степени с гипотензией.	

[c]Пролонгированные цитопении включают нейтропению, тромбоцитопению или анемию не разрешенные на 29 день исследования на основе лабораторных оценок.

Все субъекты в этом исследовании в этот момент времени, которых оценивали на эффективность (12 субъектов), достигли объективного ответа (100% [12/12]), а шесть субъектов (50%) достигли CR (**Таблица E34E**). Индивидуальные результаты для каждого субъекта в этом исследовании в этот момент времени суммированы в **Таблице E34F**. Все 12 субъектов достигли раннего объективного ответа на 30 день, а семь из 12 субъектов (58%) сохранили устойчивый ответ в течение 3 месяцев после инфузии CAR+ Т-клеток. Один субъект оставался в CR в течение 9 месяцев (270 дней) и 1 субъект оставался в CR в течение 6 месяцев (180 дней) (**ФИГ. 56**). Время до максимальной концентрации (T_{max}) CAR Т-клеток в этом исследовании (11 [межквартильный диапазон (IQR): 11-15] дней) было аналогично тому, которое наблюдалось с T_{max} CAR Т-клеточной композиции, наблюдаемой в другом исследовании (например, описанном в примерах 1, 3, 6 и 13 выше) из 12 [IQR: 10 15] дней.

Таблица E34E. Наилучший общий ответ [a]

Ответ, n (%)	**Леченные CAR+T клетками субъекты (N=12)[b]**
ORR	12 (100)
CR	6 (50)
PR	6(50)
SD	0
PD	0

CR, полный ответ; ORR, частота объективного ответа; PD, прогрессирующее заболевание; PR, частичный ответ; SD, стабильное заболевание.

[a]Ответы считают на основе пациентов с окном до завершающего визита на 29 День, которые возникли на или до момента времени анализа. [b]В момент времени анализа, один пациент все еще не имел оценки эффективности на 29 День.

Таблица E34F. Индивидуальные результаты

Номер субъекта	**Тип лечения**	**Соответствие TNE критериям (значение)**	**HCT-CI оценка**	**Опухолевая масса**		**AE связанные с CAR+T клеточными композициями (Степень 3-4)[a]**	**CRS или NE (Степень)**	**Наилучший ответ [c]**
				LDH, МЕ/Л[a]	**SPD, см^{2,b}**			
1	Стационарное	CrCl (55 мл/мин)	1	200	10	Нет	0	CR
2	Амбула	Возраст (71	0	195	22	Нет	0	CR

	торное	лет)						
3	Амбулаторное	CrCl (59 мл/мин)	3	355	27	Нейтропения	0	PR
4	Стационарное	Возраст (71 лет)	0	568	91	Нейтропения/ Тромбоцитопения	0	CR
5	Амбулаторное	Возраст (72 лет)	3	160	8	Лейкопения/ Нейтропения/ Лимфопения	0	CR
6	Амбулаторное	Возраст (72 лет) DLCO (57%)	3	201	5	Тромбоцитопения Пониженное количество лимфоцитов Пониженное количество нейтрофилов	0	CR
7	Стационарное	Возраст (79 лет) ECOG PS (2)	3	260	79	Нет	0	PR
8	Стационарное	CrCl (58мл/мин) LVEF (45%)	3	341	191	Анемия	0	PR
9	Амбулаторное	Возраст (77 лет)	0	201	89	Нет	0	PR
10	Амбулаторное	Возраст (80 лет)	6	332	21	Нет	0	CR
11	Стационарное	Возраст (75 лет)	1	1567	118	Нет	2	PR
12	Стационарное	Возраст (72 лет) ECOG PS (2) CrCl (53 мл/мин)	9	562	18	Нет	2[d]	Н/Д [e]
13	Стацио	ECOG PS	Н/Д	218	11	Нет	1	PR

	нарное	(2)						

AE, побочное событие; CR, полный ответ; CrCl, клиренс креатинина; CRS, синдром выделения цитокина; DLCO, диффузионная способность легких по монооксиду углерода; ECOG PS, Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status; HCT-CI, коэффициент сопутствующих заболеваний к трансплантату гемопоэтических клеток; LDH, лактатдегидрогеназа; LVEF фракция выброса левого желудочка; Н/П, не применимо; NE, неврологические события; PD, прогрессирующее заболевание; PR, частичный ответ; SPD, сумма произведений перпендикулярных диаметров; TNE, не отвечает условиям трансплантации.

[a]Высокая опухолевая масса на основе LDH >500 МЕ/Л. [b]Высокая опухолевая масса на основе SPD >50 $см^2$. [c]Данные из электронного сбора данных. [d]Длительность отслеживания для AE составляет <28 дней. [e]На момент времени анализа, этот пациент все еще не имел оценки эффективности на 29 День.

Результаты показывают, что наиболее распространенными TEAE со степенью 3 или 4 были цитопения, никто из субъектов не демонстрирует CRS 3-4 степени, никто из субъектов не демонстрирует неврологические события и нет субъектов с TEAE 5 степени. Результаты также показали, что введение анти-CD19 CAR-экспрессирующих клеточных композиций дает к устойчивый ответ, включая CR. В этом исследовании, все субъекты (100%) достигли раннего объективного ответа к 30-му дню, шесть пациентов (50%) достигли CR, семь пациентов (58%) сохранили устойчивый ответ через 3 месяца после инфузии CAR-экспрессирующих Т-клеток, два пациента имели продолжающийся CR через 6 и 9 месяцев, соответственно. Эти результаты согласуются с наблюдением, что анти-CD19 CAR-экспрессирующие Т-клетки успешно переносятся в качестве терапии второй линии у субъектов с R/R агрессивной В-клеточной неходжкинской лимфомой (NHL), которые не подходили для высокодозной химиотерапии и HSCT.

Пример 15. Введение анти-CD19 CAR-экспрессирующих клеток для лечения рецидивирующей и рефрактерной (R/R) В-клеточной неходжкинской лимфомой (NHL) в амбулаторном режиме

Терапевтическую CAR^+ Т клеточную композицию, содержащую аутологичные CD4+ и CD8+ Т-клетки, экспрессирующие химерный антигенный рецептор (CAR), специфический к CD19, применяемые в исследованиях, описанных в Примерах 1, 3 и 6 выше, вводят в амбулаторном режиме, в качестве терапии третьей линии или позже.

Отвечающие критериям лечения субъекты с рецидивирующей/рефрактерной В-крупноклеточной неходжкинской лимфомой (NHL) (диффузной В-крупноклеточной лимфомой (DLBCL), не определенная иным образом (NOS); включая подтвержденную биопсией трансформированную из вялотекущей лимфому, лимфому высокой степени злокачественности с MYC и BCL2 и/или BCL6 [двойная/тройная лимфома], первичную В-клеточную лимфому стредостения (PMBCL) и фолликулярную лимфома степени 3В).

Субъектов ранее лечили антрациклином и ритуксимабом (или другим CD20-таргетным агентов) и он имел рецидивирующее или рефрактерное заболевание после, по меньшей мере, 2 системных лини терапии DLBCL или после аутологичного трансплантата гемопоэтических стволовых клеток (HSCT). Отвечающие критериям лечения субъекты для лечения также включают таких, которые имеют положительное по позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) заболевание по классификации Lugano, Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) показатель общего состояния 0 или 1, субъектов с адекватной функцией костного мозга, почек, печени, легких и сердца, адекватным сосудистым доступом для процедуры лейкафереза, и/или субъектов, которые получали предшествующую CD19-таргетную терапию, имеющих CD19-положительную лимфому, подтвержденную по биопсии после завершения предшествующей CD19-таргетной терапии.

Субъекты был подвергнуты лейкаферезу для выделения мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC) для производства CD19-таргетной CAR. Во время получения клеток экспрессирующих CAR, субъектам разрешалось получать низкие дозы химиотерапии для контроля за заболеванием. После успешного производства анти-CD19 CAR-экспрессирующей Т-клеточной композиции субъекты получали противолимфомную химиотерапию, а затем одну дозу 100×10^6 CAR-экспрессирующих Т клеток, вводимых внутривенной (ВВ) инъекцией.

Пример 16. Оценка результатов безопасности и ответа для амбулаторных субъектов с рецидивирующей и рефрактерной неходжкинской лимфомой (NHL) после введения анти-CD19 CAR-экспрессирующих клеток

Результаты ответа и безопасности оценивают по группам субъектов с рецидивирующей и рефрактерной (R/R) неходжкинской лимфомой (NHL), например В-крупноклеточной лимфомы, леченной в амбулаторном режиме из клинических исследований, как описано в Примерах 1, 3, 6, 13, 14 и 15 выше.

Как описано в примерах 1, 3, 6 и 13 выше, определенные композиции CD4+ и CD8+ Т-клеток экспрессирующих анти-CD19 CAR достигли высоких показателей в качестве терапии третьей линии или похоже у субъектов с R/R В-крупноклеточной NHL. Менее чем у половины субъектов развивается синдром выделения цитокина (CRS) и/или неврологические события (NE) (например, у 47% субъектов), небольшое количество случаев степени 3 или выше событий (2% для CRS и 10% для NE, соответственно) и в связи с отдаленным началом (среднее 5 и 10 дней, соответственно) разрешалось амбулаторное лечение, с госпитализацией при признаках лихорадки или неврологических симптомов.

Пример 16.А

Всего 37 субъектов в различных исследованиях, которым вводили CAR+ Т-клетки в амбулаторном режиме, были проанализированы в этот момент времени анализа. В исследованиях амбулаторное лечение проводили либо в не университетском учреждении, либо в университетском и не университетском медицинском центре, среди трех групп пролеченных субъектов. Группы суммированы в **Таблице Е35**.

Таблица Е35. Дизайн исследования

Тип места исследования	**Уровни дозы**	**Критерии включения в исследование**	**Цели**
Группа A Университетские и не университетские центры	50×10^6 CAR+ T клеток 100×10^6 CAR+ T клеток 150×10^6 CAR+ T клеток	B-крупноклеточная NHL после ≥2 линий предшествующей терапии (DLBCL когорта)	Безопасность Эффективность
Группа B Не университетские центры	100×10^6 CAR+ T клеток	B-крупноклеточная NHL после ≥2 линий предшествующей терапии	Безопасность Эффективность
Группа C Университетские и не университетские центры	100×10^6 CAR+ T клеток	B-крупноклеточная NHL после только 1 линий предшествующей терапии Не отвечает критериям высокодозной химиотерапии и HSCT Отвечает ≥1 критериям TNE	Эффективность Безопасность
CY, циклофосфамид; DLBCL, диффузная B-крупноклеточная лимфома; FLU, флударабин; HSCT, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток; NHL, неходжкинская лимфома; ПЭТ, позитронно-эмиссионная томография; TNE, не отвечает критериям трансплантации.			

Одна группа (Группа A) включает подмножество из 25 субъектов с R/R B-крупноклеточной NHL, подвергутых лечению в амбулаторном режиме обычно как описано в Примерах 1, 3, 6 и 13. Субъекты получали CAR^+ T клеточные композиции в DL1 50×10^6, DL2 100×10^6 или DL3 150×10^6 CAR+ клеток, в качестве терапии третьей линии или позже (субъекты имели 2 или более предшествующие линии терапии и ECOG PS 1 или ниже). Субъектов в когорте мантийноклеточной лимфомы (MCL) лечили ≥1 предшествующей линией терапии.

Другая группа (Группа B) включает 7 субъектов из исследования, в котором CAR^+ T клеточные композиции вводят в качестве терапии третье линии или позже, обычно как описано в Примере 15. Субъектов лечили антрациклином и ритуксимабом (или другим CD20-таргетным агентом) и имели рецидивирующее или рефрактерное заболевание после, по меньшей мере, 2 системных линий терапии DLBCL или после аутологичного HSCT.

Другая группа (Группа C) включает 5 субъектов из исследования, в котором CAR^+ T

клеточные композиции вводят ТВ виде терапии второй линии для не отвечающих условиям трансплантации (TNE) субъектов. Субъекты были признаны непригодными для высокодозной химиотерапии с последующей HSCT, поскольку они соответствовали, по меньшей мере, одному из критериев TNE, описанных в примере 14, но при этом соответствовали критериям CAR T клеточной терапии (возраст ≥70 лет, ECOG PS 2, ухудшенная легочная функция (диффузионной способностью легких по монооксиду углерода (DLCO) ≤60% с поправкой на гемоглобин (DLCO ≤60%, но насыщение кислородом ≥92% при комнатном воздухе и d National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events [NCI CTCAE] ≤1 диспноэ), ухудшенная сердечная функция (фракция выброса левого желудочка ≥40% - <50%), ухудшенная почечная функция (клиренс креатинина >30 и <60 мл/мин) и ухудшенная печеночная функция (аспартатаминотрансфераза и аланинаминотрансфераза >2 и ≤5 × верхний предел нормы). Субъекты получали только 1 предшествующую линию имунохимиотерапии, включающую антрациклин и CD20-таргетный агент (например, R-CHOP).

В исследованиях подходящие субъекты имели R/R B-крупноклеточную NHL, адекватную функцию органов и предшествующую системную химиоиммунотерапию (≥2 предшествующих линии терапии и ECOG PS ≤1 или 1 предшествующую линию терапии и предполагаемый TNE для аутологичного трансплантата гемопоэтических стволовых клеток на основе ECOG PS, функции органов и/или возраст). После противолимфомной терапии флударабином/цикфосфамидом, описанной в примерах выше, CAR+ T клеточные композиции на уровнях доз 1 из 3 (DL1 50×10^6, DL2 100×10^6 или DL3 150×10^6 CAR+ клеток) для 25 в Группе A и DL2 (100×10^6 CAR+ T клеток) в Группах B и C, описанных выше. Для амбулаторного лечения, субъектам назначали сиделку на 30 дней после инфузии CAR-экспрессирующих T клеток, которая получила обучение по безопасности-отслеживанию (распознающие критические неблагоприятные события; например, лихорадку) и находящаяся в пределах 1 часа езды до места ухода. Все места для амбулаторного лечения имеют многопрофильную команду по CAR T клеточной терапии и стандартным процедурам для амбулаторного введения и отслеживания побочное событие. Синдромом выделения цитокина (CRS; Lee et al. (2014) критерии) и неврологическими событиями (NE; определенные как связанные с введением CAR-экспрессирующих T клеток; CTCAE критерии) управляют в больнице.

На момент анализа 37 субъектов в исследовании получали анти-CD19 CAR+ T клетки на 1 День исследования и оценивают амбулаторно, включая субъектов в возрасте 65 лет или старше и лиц с высоким уровнем опухолевой массы. Характеристики пациента, безопасность и ответ показаны в **Таблице E35.1** ниже. Наиболее частыми вызванными лечением AE степени ≥3 являются цитопении (нейтропения 43%, анемия 30%, тромбоцитопения 14%). Шестнадцать субъектов имеют любую степень CRS и 12 имеют любую степень NE (19 субъект имеют CRS и/или NE). Тяжелый CRS и/или NE возникают только у 2 субъектов и являются обратимыми (см. **Таблицу E35.1**). Три субъекта получают тоцилизумаб и кортикостероиды и 4 субъекта получают только кортикостероиды CRS

и/или NE. Ни один субъект не получает только тоцилизумаб. Двадцать два из 37 субъектов (59%) потребовали госпитализации в любое времени; все субъекты, которые требовали госпитализации, были Группы A или Группы B. Трех субъектов (8%) госпитализируют на 3 День или раньше, всех из-за CRS; 1 субъект требуют помещения в ICU (продолжительность пребывания, 3 дней). Среднее (диапазон) время до госпитализации после лечения составляет 5 (2–22) дней, и средняя (диапазон) продолжительность пребывания составляет 6 (2–23) дней. Пятнадцать (41%) из 37 субъектов, включая всех 5 субъектов из Группы C, не госпитализируют в первые 29 дней после инфузии анти-CD19 CAR-экспрессирующих клеток.

По всем 3 группам, большинство субъектов достигают объективный ответ, включая CR (см. **Таблица E35.1**). Среднее время до пикового размножения CAR+ T клеток в каждом исследовании составляет 10 дней (диапазон: 3-21 в Группе A; 7-10 в Группе B; 7-10 в Группе C).

Таблица E35.1 Характеристики субъекта, результаты безопасности и ответа для субъектов, подвергутых лечению в амбулаторном режиме

	Все леченные амбулаторно субъекты (n=37)	**Группа C 2я-линия не отвечает условиям трансплантации (TNE), Пример 14 (N=5)**	**Группа B терапия 3 линии или позже, Пример 15 (N=7)**	**Группа A Примеры 1, 3, 6, 7 и 13 (N=25)**
Характеристики субъекта				
Возраст, средний (диапазон) лет	62 (24-82)	72 (69-77)	64 (49-78)	60 (24-82)
≥65, n (%)	15 (41)	5 (100)	3 (43)	7 (28)
Мужчин, n (%)	21 (57)	3 (60)	3 (43)	15 (60)
Гистология, n (%)				
DLBCL NOS	24 (65)	4 (80)	6 (86)	14 956)
HGBCL	3 (8)	1 (20)	0	2 (8)
Трансформированная	6 (16)	0	1 (14)	5 920)
PMBCL	4(11)	0	0	4 (16)
Предшествующие линии терапии, среднее (диапазон)	2 (1-5)	1 (1-1)	2 (2-4)	2 (1-5)
Рецидивирующий, [a] n (%)	13 (35)	4 (80)	2 (29)	7 (28)

Рефрактерный, [a] n (%)	24 (65)	1 (20)	5 (71)	18 (72)
LDH ≥500 ЕД/Л, n (%)	2 (5)	0	1 (14)	1 (4)
SPD ≥50 $см^2$, n (%)	10 (27)	9 (20)	3 (43)	6 (24)
Безопасность				
Любые TEAE степень ≥3, n (%)	27 (73)	3 (60)	7 (100)	17 (68)
TEAE 5 степени, n (%)	0	0	0	0
TEAE, представляющие особый интерес, n (%)				
CRS, любая степень	16 (43)	0	4 (57)	12 (48)
CRS, степень ≥3	1 (3)	0	0	1 (4)
NE, любая степень	12 (32)	0	1 (14)	11 (44)
NE, степень ≥3	2 (5)	0	0	2 (8)
CRS и/или NE, любая степень	19 (51)	0	4 (57)	15 (60)
CRS и/или NE, степень ≥3	2 (5)	0	0	2 (8)
Ответ	N=34	N= 5	N=6	N=23
ORR, n (%)	26 (76)	5 (100)	4 (67)	17 (74)
CR, n (%)	14 (41)	2 (40)	2 (33)	10 (43)
PR, n (%)	12 (35)	3 (60)	2 (33)	7 (30)

Пример 16.B

В другой момент времени в том же исследовании, как описано выше в Примере 16.A, в этот момент времени анализа были проанализированы всего 44 субъекта в разных исследованиях, которым вводили CAR+ Т-клетки в амбулаторном режиме. В исследованиях, амбулаторное лечение проводят либо в не университетском учреждении, либо в университетском и не университетском медицинском центре, среди трех групп подвергутых лечению субъектов. Амбулаторные группы включали: Группу A с подмножеством из 25 субъектов из всего 286 в исследовании (9%), Группа B включает подмножество 13 субъектов из всего 27 в исследовании (48%) и Группа C включает подмножество из 6 субъектов из всего 13 исследований (46%). Эффективность оценивают позитронно-эмиссионной томографией/компьютерной томографией согласно критериям 2014 Lugano (Cheson BD et al. J Clin Oncol. 2104;32:3059-3067) на основе оценки исследователя 1, 3, 6, 9, 12, 18 и 24 месяцев после инфузии CAR+T клеток. AE ранжированы с применением NCI CTCAE, версия 4,03, за исключением CRS, который был ранжирован с применением критериев по Lee at al. (Lee DW et al. Blood. 2014:188-195). NE были AE по определению исследователя, которые связаны с CAR+ Т клеточными композициями по

оценке исследователя. TEAE определяют как такие, которые возникают в пределах 90 дней после введения CAR+ T клеточной композиции. Фармакокинетические параметры определяют проточной цитометрией. Все субъекты с ≥30 днями отслеживания включены в анализ.

Требования к амбулаторному лечению включают в себя образование по безопасности отслеживания для распознавания критических AE (лихорадка, CRS и симптомы NE), для которых требуется медицинская помощь, присутствие сиделки, в течение 30 дней после инфузии CAR+ T клеточной композиции и пребывание в пределах 1 часа пути от места ухода на 30 дней после инфузии CAR+ T клеточной композиции. Требования к месту исследования включают многопрофильные бригады для CAR T-клеточной терапии в амбулаторном и стационарном режимах. Логистика и коммуникационный поток при уходе за пациентом с CAR T-клетками между амбулаторным и стационарным учреждениями, задокументированными в плане готовности участка, доступный 24 часа в день 7 дней в неделю, координация ухода между амбулаторной и стационарной медицинскими бригадами, стандартные процедуры для амбулаторного отслеживания AE и медицинское обслуживание по звонку в течение 24 часов в сутки 7 дней в неделю. Госпитализация требует управления CRS, NE и серьезных AE.

Субъекты считались «амбулаторными», если они получали инфузию CAR+ T-клеток в амбулаторном режиме, или если пациент выписался из клиники или был выписан из больницы по окончании периода наблюдения в день инфузии.

Исходные демографические и субъектные характеристики показаны в **Таблице E35A**, а сводные данные по безопасности описаны в **Таблице E35B**. Неблагоприятные события, представляющие особый интерес, указаны в **Таблице E35C**, а степень TEAE, описанная у ≥20% субъектов, описана в **Таблице E35D**. Вариант амбулаторного лечения для группы A был добавлен во время исследования, и амбулаторное лечение было доступно с начала исследования для групп B и C. В целом, 9% субъектов (25/286) лечили амбулаторно в исследовании, описанном в примерах 1, 3, 6 и 13 (группа A), 48% (13/27) в исследовании в примере 15 (группа B) и 46% (6/13) в исследовании в примере 14 (группа C).

Таблица E35A. Базовые демографические и субъективные характеристики

	Все амбулаторные (n=44)	**Группа A (n=25)**	**Группа B (n=13)**	**Группа C (n=6)**
Возраст, средний (диапазон), лет ≥65 лет, n (%)	62 (24-82) 18(41)	62 (24-82) 7 (28)	62 (50-78) 5 (38)	72 (69-80) 6 (100)
Мужчины, n (%)	27 (61)	15 (60)	8 (62)	4 (67)
Гистология, n (%)	27 (61)	14(56)	9(69)	4(67)

DLBCL NOS DLBCL трансформированная из вялотекущей гистология HGBCL PMBCL FL3B	9(20) 3(7) 4(9) 1 (2)	5(20) 2(8) 4(16) 0	4(31) 0 0 0	0 1(17) 0 1(17)
ECOG PS 0-1/2 при скрининге, n (%)	44 (100)/0	25(100)/0	13(100)/0	6(100)/0
TNE критерии,a n (%) Возраст ≥70 лет ECOG PS 2 DLCO ≤60% LVEF <50% CrCl <60 мл/мин AST/ALT >2 × ULN	НП	НП	НП	4(67) 0 1(17) 0 9(17) 0
Предшествующие линии терапии, среднее (диапазон)	2 (1-5)	2 (1-5)	3(2-5)b	1(1-1)
Полученная предшествующая HSCT, n (%)	13(30)	9 (36)	4(31)	NA
Химиотерапия-рефрактерный,c n (%)	28 (64)	16 (64)	10(77)	2(33)
Химиотерапия-чувствительный,c n (%)	16(36)	9 (36)	3(23)	4(67)
LDH ≥500 ЕД/Л, n (%)	6(14)	1 (4)	5(38)	0
SPD ≥50 $см^2$, N/n (%)	43/12 (28)	25/6 (24)	12/5 (42)	6/1 (17)
CRP ≥20 мг/мл, n (%)	17 (39)	10(40)	7(54)	0

[a]TNE критерии оценивают при скрининге.

[b]Для 12 пациентов; пропущены данные для 1 пациента.

[c]Статус указан химиотерапия-рефрактерный, если пациент достиг SD или PD к последнему режиму, содержащему химиотерапию, или имеет рецидив <12 месяцев после ауто-HSCT; в противном случае статус указан химиотерапия-чувствительный.

ALT, аланинаминотрансфераза; AST, аспартатаминотрансфераза; CrCl, клиренс креатинина; CRP, С-реактивный белок; DLBCL, диффузная В-крупноклеточная лимфома; DLCO, диффузионная способность легких по монооксиду углерода; ECOG PS, Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status; FL3B, фолликулярная лимфома степени 3B; HGBCL, В-клеточная лимфома высокой степени злокачественности; HSCT, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток; LDH, лактатдегидрогеназа;

LVEF, фракция выброса левого желудочка; НП, не применимо; NOS, не определенная иным образом; PMBCL, первичная В-крупноклеточная лимфома средостения; SPD, сумма произведений перпендикулярных диаметров; TNE, не отвечает условиям трансплантации; ULN, верхний предел нормы.

Таблица E35B. Суммарные данные безопасности

	Все амбулаторные (n=44)	**Группа A (n=25)**	**Группа B (n=13)**	**Группа C (n=6)**
Любые TEAE, n (%)	42 (95)	25 (100)	12 (92)	5 (83)
TEAE, степень ≥3	31 (70)	17 (68)	11 (85)	3 (50)
TEAE, степень 5	0	0	0	0
SAE	24 (55)	18 (72)	6 (46)	0

SAE, серьезное побочное событие; TEAE, вызванное лечением побочное событие.

Таблица E35C. Суммарные данные по неблагоприятным событиям, представляющим особый интерес

	Все амбулаторные (n=44)	**Группа A (n=25)**	**Группа B (n=13)**	**Группа C (n=6)**
CRS и/или NE, n (%) Любая степень Степень ≥3	25 (57) 3 (7)	15 (60) 2 (8)	7 (35) 0	0 0
CRS Любая степень, n (%) Степень ≥3, n (%) Время до наступления, среднее (диапазон), дней	17 (39) 1 (2) 5 (2-9) 6 (1-16)	12 (48) 1 (4) 5 (2-8) 6 (4-16)	5 (38) 0 5 (2-9) 4 (1-9)	0 0 НП НП

Время до исчезновения, среднее (диапазон), дней				
NE Любая степень, n (%) Степень ≥3, n (%) Время до наступления, среднее (диапазон), дней Время до рассасывания, среднее (диапазон), дней	13 (30) 2 (5) 8 (3-22) 16 (1-52)	11 (44) 2 (8) 8 (3-22) 18 (2-52)	2 (15) 0 8,5 (8-9) 2 (1-3)	0 0 НП НП
Тоцилизумаб и/или кортикостероид для CRS, n (%) Только Тоцилизумаб Тоцилизумаб и кортикостероид Только Кортикостероид Кортикостероиды для NE, n (%)	5 (11) 0 3 (7) 2 (5) 4 (9)	5 (20) 0 1 (4) 4 (16) 4 (16)	2 (15) 0 2 (15) 0 0	0 0 0 0 0
Инфекция, степень ≥3, n (%)	7 (16)	6 (24)	1 (8)	0
Пролонгированная цитопения степени ≥3,a n (%)	9 (20)	3 (12)	5 (38)	1 (17)

aПролонгированные цитопении включают нейтропению, тромбоцитопению или анемию, не разрешенную на 29 день исследования на основе лабораторных оценок.
CRS, синдром выделения цитокина; НП, не применимо; NE, неврологическое событие; TEAE, вызванное лечением побочное событие.

Таблица E35D. Любая степень TEAE, отмеченных у ≥20% всех субъектов

	Все амбулаторные (n=44)	**Группа A (n=25)**	**Группа B (n=13)**	**Группа C (n=6)**
Утомляемость	25 (57)	17 (68)	6 (46)	2 (33)
Нейтропения	20 (45)	11 (44)	7 (54)	2 (33)
Пониженный аппетит	19 (43)	14 (56)	5 (38)	0

Синдром выделения цитокина	17 (39)	12(48)	5 (38)	0
Анемия	16 (36)	10 (40)	5 (38)	1 (17)
Констипация	15 (34)	9 (36)	6 (46)	0
Тошноту	15 (34)	12 (48)	3 (23)	0
Головную боль	14 (32)	10 (40)	4 (31)	0
Кашель	13 (30)	10 (40)	2 (15)	1 (17)
Головокружение	13 (30)	10 (40)	1 (8)	2 (33)
Гипотензия	13 (30)	11 (44)	2 (15)	0
Тромбоцитопения	11 (25)	3 (12)	6 (46)	2 (33)
Рвота	10 (23)	9 (36)	1 (8)	0
Боль в спине	9 (20)	6 (24)	2 (15)	1 (17)
Диарея	9 (20)	7 (28)	2 (15)	0
Гипоманнезиемия	9 (20)	9 (36)	0	0
Тремор	9 (20)	6 (24)	3 (23)	0
TEAE, вызванное лечением побочное событие.				

Представлено краткое описание госпитализаций для амбулаторных (**Таблица E35E**) и для стационарных (**Таблица E35F**) пациентов. Среднее количество дней госпитализации на субъекта для стационарного пациента для всех участников в Группе A составляет 15,0 дней (диапазон 4-98; n=244), а для амбулаторного пациента во всех исследованиях составляет 6,0 дней (диапазон 2-23; n=25), при этом на 60% сокращается пребывание в стационаре. Для амбулаторных пациентов в Группе A среднее время до госпитализации составило 5 дней исследования (диапазон 3-22), при этом 6 (24%) субъектов были госпитализированы в день исследования 4 или ранее и 1 (4%) потребовали госпитализации в ICU. Среди всех 269 субъектов, получавших лечение в Группе A, 19 (7%) нуждались в госпитализации в ICU по поводу управления токсичностью, из которых 12 (4%) по поводу управления CRS и/или NE и 7 (3%) по поводу управления другими AE. Эффективность (**Таблица E35G**) и фармакокинетику (**Таблица E35H**) оценивают по всем подгруппам в амбулаторном режиме. Пациентов в MCL когорте из исследования, описанного в примерах 1, 3, 6 и 13 (также описанного в примере 2), также лечат в амбулаторном режиме.

Таблица E35E. Краткое описание госпитализаций для амбулаторных пациентов

	Все амбулаторные (n=44)	**Группа A (n=25)**	**Группа B (n=13)**	**Группа C (n=6)**
Госпитализация, требуемая в	24 (55)	18 (72)	6 (46)	0

любое время после инфузии CAR T клеток, n (%)				
Время до госпитализации после инфузия CAR T клеток, среднее (диапазон), дней	5 (2-22)	5 (3-22)	4,5 (2-9)	НП
Госпитализация на 4 День или раньше, n (%)	9 (20)	6 (24)	3 (23)	0
Длительность пребывания в госпитале, среднее (диапазон), дней	6,5 (1-23)	6 (2-23)	9 (4-16)	НП
Требуемый уход на уровне ICU, n (%)	2 (5)	1 (4)	1 (8)	0
Длительность пребывания в ICU, средняя (диапазон), дней	4 (3-5)	3 (3-3)	5 (5-5)	НП
Причины исходной госпитализации, n (%) CRS и/или NE CRS NE Другая	14 (32) 13 (30) 1 (2) 10 (23)	10 (40) 9 (36) 1 (4) 8 (32)	4 (31) 4 (31) 0 2 (15)	НП
CRS, синдром выделения цитокина; ICU, палата интенсивной терапии; НП, не применимо; NE, неврологическое событие.				

Таблица E35F. Краткое описание госпитализаций для стационарных пациентов

	Группа A (n=25)	**Группа B (n=13)**	**Группа C (n=6)[a]**
Длительность исходного пребывания в больнице во время введения CAR T клеток, дней Среднее Q1, Q3 Диапазон	15 11, 20,5 4-98	9 5, 11,5 2-21	7 4, 10 3-21
Длительность исходного пребывания в больнице от	11 8, 15	8 5, 11,5	6 4, 9

времени введения CAR T клеток, дней Среднее Q1, Q3 Диапазон	3-88	2-21	3-15
Помещение в ICU во время исходной госпитализации для введения CAR T клеток Количество (%) Среднее дней Q1, Q3 дней Диапазон дней	18 (7) 7,5 3, 18 1-56	0 НП НП НП	0 НП НП НП
Причины исходной госпитализации, n (%) Профилактика для введения CAR T клеток Побочное событие Другое	225 (92) 14 (6) 5 (2)	6 (86) 1 (14) 0	5 (83) 0 1 (17)
[a]Всего 7 пациентов лечили стационарно; данные госпитализации не доступны для 1 пациента на момент времени анализа ICU, палата интенсивной терапии; NA, не применимо; Q, квартиль.			

Таблица E35G. Суммарное описание эффективности

	Все амбулаторные (n=44)	**Группа A (n=25)**	**Группа B (n=13)**	**Группа C (n=6)**
Ответ, n (%)				
ORR	35 (80)	20 (80)	9 (69)	6 (100)
CR	24 (55)	14 (56)	6 (46)	4 (67)
PR	11 (25)	6 (24)	3 (23)	2 (33)
SD	3 (7)	2 (8)	1 (8)	0
PD	5 (11)	3 (12)	2 (15)	0
Пропущено	1 (2)	0	1 (8)	0

CR, полный ответ; ORR, частота объективного ответа; PD, прогрессирующее заболевание; PR, частичный ответ; SD, стабильное заболевание.

Таблица E35H. Суммарное описание фармакокинетики			
	Группа A (n=25)	**Группа B (n=13)**	**Группа C (n=6)**
T_{max}, среднее (IQR)	10,0 (10,0, 14,0)	10 (7,0, 10,0)	10,0 (10,0, 10,0)
C_{max}, среднее (IQR)	62,9 (24,3, 151,8)	29,8 (14,7, 117,5)	135,1 (64,5, 185,0)
ППК, среднее (IQR)	474,8 (169,8, 1208,0)	287,0 (128,6, 923,6)	741,9 (318,7, 1135,1)
ППК, площадь под кривой концентрация-время; C_{max}, максимальная концентрация; IQR, интерквартильный диапазон; T_{max}, время до максимальной концентрации.			

Результаты демонстрируют, что подгруппа субъектов с R/R B-крупноклеточной NHL успешно лечилась анти-CD19 CAR+ Т-клетками и контролировалась на токсичность, связанную с CAR Т-клетками, в амбулаторном режиме, включая пожилых субъектов и субъектов с высоким уровнем опухолевой массы. Результаты, включая профиль безопасности, включая низкие показатели всех степеней и тяжелых CRS и NE и их отсроченное начало, поддерживают амбулаторное введение для пациентов с R/R B-клеточной NHL, подвергутых лечению композицией, содержащей анти-CD19 CAR-экспрессирующие клетки. Результаты показывают, что амбулаторное введение было успешно реализовано в нескольких клинических исследованиях в различных клинических центрах (университет/не университет; двойная/отдельная организация) с неблагоприятными событиями, благополучно управляемыми многопрофильной группой CAR Т-клеточной терапии и соответствующим обучением пациентов и процедурами амбулаторного отслеживания, при отсутствии увеличения тяжелой токсичности, такой как тяжелые CRS или NE. Результаты также показывают, что в различных популяциях (пожилые, сопутствующие заболевания, высокая опухолевая масса) тяжелые CRS и NE возникали в небольшом количестве случаев и были обратимы. Результаты показывают, что тяжелые CRS и NE возникали в небольшом количестве случаев. Количество преждевременных госпитализаций было низким, и 41% субъектов не нуждались в госпитализации в первый месяц после инфузия анти-CD19 CAR+ Т-клеток, и лечение на уровне ICU требовалось для очень низкой доли субъектов (5%). Большинство субъектов получили объективный ответ в первый момент времени (65%) и второй момент времени (80%) оцениваемый в этом исследовании.

Пример 17. Дальнейшая оценка биомаркеров иммунофлуоресфенцией (IF) и анализом экспрессии генов до и после веления биопсии опухоли от субъектов для введения анти-CD19 CAR-экспрессирующих клеток

Экспрессия разных биомаркеров оценивают с помощью мультиплексной иммунофлуоресценции (IF) и анализа экспрессии генов с использованием профилирования РНК в биопсиях опухоли, собранных от субъектов до и/ ли после введения CAR-экспрессирующих Т-клеток, в последующем анализе аналогичной оценки, описанной в Примере 5 выше.

A. Образцы биопсии опухоли

Биопсии опухоли собирают у выбранных субъектов с рецидивирующей или рефрактерной (R/R) диффузной В-крупноклеточной лимфомой (DLBCL) из клинического исследования, описанного в примерах 1, 3, 6 и 13 выше, которые получали лечение анти-CD19 таргетными терапевтическими CAR+ Т-клеточными композициями, полученными на исходном уровне до лечения и приблизительно через 11 дней после введения (D11 после лечения).

B. Оценка клеточных маркеров

111 биопсий от 83 всего субъектов (n=58 до лечения; n=53 D11 после инфузии; 28 совпадающих пар) исследуют с использованием мультиплексной IF.

Биопсии оценивают с применением следующих трех IF панелей для определения: (1) маркеры клеточных линий В клеток (CD19, CD20) и Т клеток (CD4, CD8) и антитело, специфическое для усеченного рецептора (суррогатный маркер), экспрессированного CAR+ клетками, (2) биомаркеры, ассоциированные с иммунодепрессией (CD163, FoxP3, CD73, IDO1, PD-L1) и (3) биомаркеры, ассоциированные с функцией иммунной клетки (CD3, Ki67, GZMB, PD-1) и антитело, специфическое для усеченного рецептора. Флуоресцентно меченное антитело, специфическое к усеченному рецептору, применяют для идентификации CAR-экспрессирующих Т клеток в биопсии опухоли, обычно как описано в Примере 5.B выше.

Субъектов оценивают на ответ и результаты безопасности, включая оценку по опухолевой массе в разные моменты времени после введения CAR^+ Т клеток, включая 3 месяца после введения, и определение того, имеет ли прогрессирующее заболевание (PD), стабильное заболевание (SD), частичный ответ (PR) или полный ответ (CR). Была выявлена потенциальная ассоциация между различиями в плотности маркера для субъектов с наилучшим общим ответом (BOR) полного ответа (CR) и прогрессирующим заболеванием (PD). Исходный уровень и экспрессию D11 биомаркера коррелируют с ранними ответами приблизительно через 1 месяц (M1) после инфузии (PD n=16; CR n=42) и устойчивыми ответами через приблизительно 9 месяцев (M9) после инфузии (PD n=76; CR n=32; 55 субъектов оценивают и в M1 и в M9). Оценивают ассоциацию между исходным уровнем и плотностью экспрессии биомаркера D11, с пространственным различием между опухолевой и предопухолевой областями и ранними и устойчивыми ответами. Все сравнения основывались на различиях в средней плотности, а статистическая значимость оценивалась с использованием нескорректированных P значений, оцененных с помощью (непарного) непараметрического критерия Вилкоксона-Манна-Уитни.

Объемное профилирование РНК опухоли было выполнено в перекрывающейся подгруппе из 50 исходных биопсий и 37 D11 биопсий после лечения (11 совпадающих пар).

C. Результаты

Сигналы экспрессии биомаркера в исходных биопсиях, которые коррелировали с ранним ответом, отличались от сигналов, которые коррелировали с устойчивым полным ответом в 9 месяцев (M9). Было обнаружено, что на 21% более высокое присутствие $PD\text{-}1^+$ Т-клеток на исходном уровне ассоциировано с субъектами, достигшими раннего CR (на

M1), по сравнению с субъектами, у которых было раннее PD (P=0,007). Субъекты с устойчивым CR (при M9) имели на 39% более низкий уровень опухолеассоциированных $CD163^+$ макрофагов на исходном уровне (P=0,019) и на 270% более высокий уровень $CD73^+$ клеток (P=0,028), чем субъекты с PD в M9. Оценка D11 в биопсиях опухолей после лечения показала, что субъекты с ранним и устойчивым CR имели на 28% боле высокие уровни усеченного рецептора$^+CD8^+$ Т клеток (является показателем CAR+ Т клеток) (P=0,022) и на 810% более высокие уровни усеченного рецептора$^-CD4^+$ (не-CAR^+ Т клеток) (P=0,009), но не усеченного рецептора$^-CD8^+$ клеток (P=0,28).

Изменения экспрессии маркера между базовым уровнем и D11 в биопсиях после лечения также исследуют. Было обнаружено, что субъекты с устойчивым CR (в M9) имеют пониженную плотность B-клеток (P=0,029) и повышенную плотность $CD8^+GZMB^+$, $Ki67^+$ и/или $PD1^+$ CAR^+ клеток (P=0,001), а также не-CAR^+ Т клеток (P=0,017) в D11. Субъекты с устойчивым CR через 9 месяцев также имели 29% повышение опухолеассоциированных $CD163^+$ макрофагов в D11 после инфузии по сравнению с базовым (P=0,033).

Общие тенденции, наблюдаемые с помощью оценки IF, которая позволяет проводить пространственную оценку и мультимечение клеток, совпадали с тенденциями, наблюдаемыми при массовом секвенировании РНК опухоли. Более низкая исходная экспрессия CD163 (P=0,021) и более высокая экспрессия CD73 (P=0,054) наблюдались у субъектов с устойчивым CR. Кроме того, повышенная экспрессия CD3E, CD4 и CAR последовательности (P <0,001) также наблюдали у субъектов с устойчивым CR на D11, что согласуется с большей эндогенной инфильтрацией опухоли Т-клетками и CAR^+ Т-клетками у субъектов, которые ответили на лечение. Субъекты с CR в M9 демонстрируют увеличение экспрессии CD163, измеренной в D11, по сравнению с экспрессией CD163 на исходном уровне (P <0,001).

D. Заключение

Результаты показывают повышенную инфильтрацию опухолеспецифических CAR^+ Т клеток при исходном лечении анти-CD19 CAR-экспрессирующими клетками. Эти результаты согласуются с заключением, что повышенная инфильтрация опухоли специфическими CAR T^+ клетками при исходном лечении помогает установить активный иммунный ответ. Далее, привлечение дополнительных эндогенных Т клеток, в частности CD4+ Т-клеток, ассоциировано с устойчивым ответом. Более высокие количества стимулированных и/или функциональных Т клеток более низкие количества макрофагов на базовом уровне также ассоциированы с устойчивым ответом на лечение CAR T^+ клетками. Эти результаты также подтверждают наблюдение, что опухоли у пациента с клиническим ответом могут иметь базовое опухолевое микроокружение (TME), в которое Т-клетки могут проникать и реагировать на антиген, способствуя проникновению CAR T^+ в опухоли и последующему привлечению и стимулированию эндогенных лимфоцитов, которые поддерживают функцию CAR^+ Т-клеток.

Настоящее изобретение не предназначено для ограничения объема конкретными описанными вариантами осуществления, которые предоставляются, например, для

иллюстрации различных аспектов изобретения. Различные модификации описанных композиций и способов станут очевидными из описания и идей в настоящем документе. Такие изменения могут быть применены на практике без отклонения от истинного объема и сущности описания и предназначены для того, чтобы входить в объем настоящего описания.

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ

SEQ ID NO.	**ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ**	**ОПИСАНИЕ**
1	ESKYGPPCPPCP	спейсер (IgG4 шарнир) (aa) Homo sapiens
2	GAATCTAAGTACGGACCGCCCTGCCCCCCTTGCCCT	спейсер (IgG4 шарнир) (nt) homo sapiens
3	ESKYGPPCPPCPGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTV DKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK	Шарнир-CH3 спейсер Homo sapiens
4	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK	Шарнир-CH2-CH3 спейсер Homo sapiens
5	RWPESPKAQASSVPTAQPQAEGSLAKATTAPATTRNTGRGG EEKKKEKEKEEQEERETKTPECPSHTQPLGVYLLTPAVQDL WLRDKATFTCFVVGSDLKDAHLTWEVAGKVPTGGVEEGLL ERHSNGSQSQHSRLTLPRSLWNAGTSVTCTLNHPSLPPQRLM ALREPAAQAPVKLSLNLLASSDPPEAASWLLCEVSGFSPPNIL LMWLEDQREVNTSGFAPARPPPQPGSTTFWAWSVLRVPAPP SPQPATYTCVVSHEDSRTLLNASRSLEVSYVTDH	IgD-шарнир-Fc Homo sapiens
6	LEGGGEGRGSLLTCGDVEENPGPR	T2A искусственная

7	MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPRKVCNGIGIGEFKDSLSINATN IKHFKNCTSISGDLHILPVAFRGDSFTHTPPLDPQELDILKTVK EITGFLLIQAWPENRTDLHAFENLEIIRGRTKQHGQFSLAVVS LNITSLGLRSLKEISDGDVIISGNKNLCYANTINWKKLFGTSG QKTKIISNRGENSCKATGQVCHALCSPEGCWGPEPRDCVSCR NVSRGRECVDKCNLLEGEPREFVENSECIQCHPECLPQAMNI TCTGRGPDNCIQCAHYIDGPHCVKTCPAGVMGENNTLVWK YADAGHVCHLCHPNCTYGCTGPGLEGCPTNGPKIPSIATGM VGALLLLLVVALGIGLFM	tEGFR искусственная
8	FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV	CD28 (аминокислоты 153-179 из № доступа P10747) Homo sapiens
9	IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLFPGPSKPFWVL VVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV	CD28 (аминокислоты 114-179 из № доступа P10747) Homo sapiens
10	RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS	CD28 (аминокислоты 180-220 of P10747) Homo sapiens
11	RSKRSRGGHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS	CD28 (LL - GG) Homo sapiens
12	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL	4-1BB (аминокислоты 214-255 из Q07011,1) Homo sapiens
13	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRG RDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGER RRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	CD3 дзета Homo sapiens

14	RVKFSRSAEPPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRG RDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGER RRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	CD3 дзета Homo sapiens
15	RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRG RDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGER RRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	CD3 дзета Homo sapiens
16	RKVCNGIGIGEFKDSLSINATNIKHFKNCTSISGDLHILPVAFR GDSFTHTPPLDPQELDILKTVKEITGFLLIQAWPENRTDLHAF ENLEIIRGRTKQHGQFSLAVVSLNITSLGLRSLKEISDGDVIIS GNKNLCYANTINWKKLFGTSGQKTKIISNRGENSCKATGQV CHALCSPEGCWGPEPRDCVSCRNVSRGRECVDKCNLLEGEP REFVENSECIQCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIQCAHYIDGP HCVKTCPAGVMGENNTLVWKYADAGHVCHLCHPNCTYGC TGPGLEGCPTNGPKIPSIATGMVGALLLLLVVALGIGLFM	tEGFR искусственная
17	EGRGSLLTCGDVEENPGP	T2A искусственная
18	GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP	P2A
19	ATNFSLLKQAGDVEENPGP	P2A
20	QCTNYALLKLAGDVESNPGP	E2A
21	VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP	F2A
22	PGGG-(SGGGG)5-P- где P является пролином, G является глицином и S является серином	линкер
23	GSADDAKKDAAKKDGKS	Линкер
24	GSTSGSGKPGSGEGSTKG	Линкер
25	gacatccagatgacccagaccacctccagcctgagcgccagcctgggcgaccgggtgaccat cagctgccgggccagccaggacatcagcaagtacctgaactggtatcagcagaagcccgacg gcaccgtcaagctgctgatctaccacaccagccggctgcacagcggcgtgcccagccggttta gcggcagcggctccggcaccgactacagcctgaccatctccaacctggaacaggaagatatc gccacctacttttgccagcagggcaacacactgccctacacctttggcggcggaacaaagctgg aaatcaccggcagcacctccggcagcggcaagcctggcagcggcgagggcagcaccaagg gcgaggtgaagctgcaggaaagcggccctggcctggtggcccccagccagagcctgagcgt gacctgcaccgtgagcggcgtgagcctgcccgactacggcgtgagctggatccggcagcccc ccaggaagggcctggaatggctgggcgtgatctggggcagcgagaccacctactacaacagc gccctgaagagccggctgaccatcatcaaggacaacagcaagagccaggtgttcctgaagatg	Последовательность, кодирующая scFv

	aacagcctgcagaccgacgacaccgccatctactactgcgccaagcactactactacggcggc agctacgccatggactactggggccagggcaccagcgtgaccgtgagcagc	
26	X_1PPX_2P X_1 является глицином, цистеином или аргинином X_2 является цистеином или треонином	Шарнир
27	Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro	Шарнир
28	Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro	Шарнир
29	ELKTPLGDTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPR CPEPKSCDTPPPCPRCP	Шарнир
30	Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro	Шарнир
31	Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro	Шарнир
32	Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro	Шарнир
33	Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro	Шарнир
34	Glu Val Val Val Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro	Шарнир
35	RASQDISKYLN	CDR L1
36	SRLHSGV	CDR L2
37	GNTLPYTFG	CDR L3
38	DYGVS	CDR H1
39	VIWGSETTYYNSALKS	CDR H2
40	YAMDYWG	CDR H3
41	EVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPR KGLEWLGVIWGSETTYYNSALKSRLTIIKDNSKSQVFLKMNS LQTDDTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSVTVSS	VH
42	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDG TVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIAT YFCQQGNTLPYTFGGGTKLEIT	VL
43	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDG TVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIAT YFCQQGNTLPYTFGGGTKLEITGSTSGSGKPGSGEGSTKGEV KLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKG LEWLGVIWGSETTYYNSALKSRLTIIKDNSKSQVFLKMNSLQ TDDTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSVTVSS	scFv
44	KASQNVGTNVA	CDR L1
45	SATYRNS	CDR L2

46	QQYNRYPYT	CDR L3
47	SYWMN	CDR H1
48	QIYPGDGDTNYNGKFKG	CDR H2
49	KTISSVVDFYFDY	CDR H3
50	EVKLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQR PGQGLEWIGQIYPGDGDTNYNGKFKGQATLTADKSSSTAYM QLSGLTSEDSAVYFCARKTISSVVDFYFDYWGQGTTVTVSS	VH
51	DIELTQSPKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNVAWYQQKP GQSPKPLIYSATYRNSGVPDRFTGSGSGTDFTLTITNVQSKDL ADYFCQQYNRYPYTSGGGTKLEIKR	VL
52	GGGGSGGGGSGGGGS	Линкер
53	EVKLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQR PGQGLEWIGQIYPGDGDTNYNGKFKGQATLTADKSSSTAYM QLSGLTSEDSAVYFCARKTISSVVDFYFDYWGQGTTVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSDIELTQSPKFMSTSVGDRVSVTCKAS QNVGTNVAWYQQKPGQSPKPLIYSATYRNSGVPDRFTGSGS GTDFTLTITNVQSKDLADYFCQQYNRYPYTSGGGTKLEIKR	scFv
54	HYYYGGSYAMDY	CDR H3
55	HTSRLHS	CDR L2
56	QQGNTLPYT	CDR L3
57	ACACGGCCTCGTGTATTACTGT	IGH праймер
58	ACCTGAGGAGACGGTGACC	IGH Праймер

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения субъекта, имеющего или подозревающегося в наличии заболевания или состояния, которым является рецидивирующая или рефрактерная В-крупноклеточная лимфома (r/r LBCL), где способ включает введение субъекту дозы $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток, где Т-клетки каждой дозы содержат химерный антигенный рецептор (CAR), который специфически связывается с CD19, где:

доза Т клеток содержит от точно или примерно 1×10^7 CAR-экспрессирующих Т клеток до точно или примерно 2×10^8 CAR-экспрессирующих Т клеток, включительно;

доза Т клеток содержит отношение of приблизительно 1:1 $CD4^+$ Т-клеток экспрессирующих CAR к $CD8^+$ Т-клеток экспрессирующих CAR; и

введение включает введение множества отдельных композиций, где множество отдельных композиций содержит первую композицию, содержащую $CD8^+$ Т-клеток и вторую композицию, содержащую $CD4^+$ Т-клеток.

2. Способ по п. 1, где В-крупноклеточная лимфома выбрана из агрессивной неходжкинской лифомы (NHL), диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL), необязательно DLBCL NOS (de novo или трансформированной из вялотекущей), В-клеточной лимфомы высокой степени злокачественности (HGBCL), двойной/тройной лимфомы, первичной В-крупноклеточной лимфомы средостения (PMBCL), мантийноклеточной лимфомы (MCL), трансформированной фолликулярной лимфомы (tFL) и/или фолликулярной лимфомы (FL), необязательно фолликулярной лимфомы степени 3В (FL3B).

3. Способ по п. 1 или п. 2, где В-крупноклеточной лимфомой является диффузная В-крупноклеточная лимфома (DLBCL).

4. Способ по п. 3, где DLBCL является DLBCL NOS, de novo DLBCL или DLBCL, трансформированная из вялотекущей лимфомы.

5. Способ по п. 3 или п. 4, где DLBCL является de novo DLBCL.

6. Способ по п. 3 или п. 4, где DLBCL является DLBCL, трансформированной из вялотекущих лимфом, отличных от FL.

7. Способ по п. 3 или п. 4, где DLBCL является DLBCL, трансформированной из лимфомы маргинальной зоны (tMZL) или DLBCL, трансформированной из хронического лимфоцитарного лейкоза (tCLL; Рихтер).

8. Способ по п. 1 или п. 2, где В-крупноклеточной лимфомой является В-клеточная лимфома высокой степени злокачественности (HGBCL).

9. Способ по любому из пп. 1, 2 и 8, где HGBCL имеет MYC и BCL2 и/или BCL6 перестройку.

10. Способ по любому из пп. 1, 2, 8 и 9, где HGBCL имеет DLBCL гистологию.

11. Способ по п. 1 или п. 2, где В-крупноклеточной лимфомой является двойная/тройная лимфома.

12. Способ по п. 1 или п. 2, где В-крупноклеточной лимфомой является первичная В-клеточная лимфома стредостения (PMBCL).

13. Способ по п. 1 или п. 2, где В-крупноклеточной лимфомой является мантийноклеточная лимфома (MCL).

14. Способ по п. 1 или п. 2, где В-крупноклеточная лимфома не является первичной лимфомой центральной нервной системы (PCNSL).

15. Способ по п. 1 или п. 2, где В-крупноклеточной лимфомой является трансформированная фолликулярная лимфома (tFL).

16. Способ по п. 1 или п. 2, где В-крупноклеточной лимфомой является фолликулярная лимфома (FL).

17. Способ лечения, где способ включает:

(a) выбор субъекта, который имеет фолликулярную лимфому (FL) для лечения;

(b) введение субъекту дозы Т клеток, содержащей Т клетки, экспрессирующие рекомбинантный рецептор, который специфически связывается с антигеном, экспрессированным FL, или ее клеткой, или тканью, и/или который ассоциирован с FL.

18. Способ по п. 17, где доза Т клеток содержит дозу $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток, где Т-клетки каждой дозы содержат рекомбинантный рецептор, который специфически связывается с антигеном, экспрессированным FL, или ее клеткой, или тканью, и/или который ассоциирован с FL, где введение включает введение множества отдельных композиций, где множество отдельных композиций содержит первую композицию, содержащую $CD8^+$ Т-клеток и вторую композицию, содержащую $CD8^+$Т клетки.

19. Способ по п. 17 или п. 18, где рекомбинантным рецептором является химерный антигенный рецептор (CAR).

20. Способ по любому из пп. 17-19, где антигеном является CD19.

21. Способ по любому из пп. 18-20, где способ содержит, до введения дозы клеток, идентификацию или выбор для введения дозы клеток субъекта, который имеет фолликулярную лимфому (FL).

22. Способ по любому из пп. 16-21, где FL ассоциирована с коэкспрессией CD10, BCL6 и BCL2 в фолликулах и/или t(14;18)/(q32;q21)(IGH-BCL2) и/или BCL6 перестройкой.

23. Способ по любому из пп. 16-22, где FL является фолликулярной лимфомой степени 3B (FL3B).

24. Способ по любому из пп. 1-23, где, в момент или непосредственно перед введением дозы клеток субъект имеет рецидив после ремиссии после лечения или стал рефрактерным к двум или нескольким предшествующим терапиям для заболевания или состояния отличной от другой дозы клеток, экспрессирующих CAR.

25. Способ по любому из пп. 1-24, где, в момент или непосредственно перед введением дозы клеток, субъект имеет рецидив после ремиссии после лечения или стал рефрактерным к трем или нескольким предшествующим терапиям заболевания или состояния, отличным от другой дозы клеток, экспрессирующих CAR.

26. Способ по любому из пп. 1-25, где, в момент или непосредственно перед введением дозы клеток, субъект имеет рецидив после ремиссии после лечения или стал

рефрактерным к четырем или нескольким предшествующим терапиям заболевания или состояния, отличным от другой дозы клеток, экспрессирующих CAR.

27. Способ по любому из пп. 24-26, где предшествующая терапия включает антрациклин и CD20-таргетный агент.

28. Способ по п. 27, где один или несколько CD20-таргетных агентов включает ритуксимаб.

29. Способ по п. 27 или п. 28, где один или несколько CD20-таргетных агентов содержит R-CHOP (ритуксимаб, циклофосфамид, доксорубицин гидрохлорид (гидроксидауномицин), винкристин сульфат (онковин) и преднизон).

30. Способ по любому из пп. 24-29, где, если предшествующей терапией является предшествующая CD19-таргетная терапия, биологический образец, полученный от субъекта после предшествующей CD19-таргетной терапии, содержит клетку, экспрессирующую CD19.

31. Способ по любому из пп. 24-30, где предшествующая терапия включает трансплантацию аллогенных или аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (HSCT).

32. Способ по п. 31, где субъект имеет рецидив в пределах 1 года или меньше чем 1 года после получения HSCT.

33. Способ по любому из пп. 24-32, где субъект не достиг полной ремиссии (CR) в ответ на предшествующую терапию.

34. Способ по любому из пп. 1-33, где в момент или до введения дозы клеток субъект идентифицирован как имеющий агрессивное заболевание или высокий риск заболевания или плохой прогноз.

35. Способ по любому из пп. 1-34, где в момент или до введения дозы клеток субъект идентифицирован как имеющий химиорефрактерное заболевание или имеющий трудноизлечимое или рецидивирующее заболевание после химиотерапии.

36. Способ по любому из пп. 1-35, где в момент или до введения дозы клеток субъект идентифицирован как имеющий химиорефрактерную лимфому, необязательно химиорефрактерную DLBCL.

37. Способ по любому из пп. 1-36, где, в момент или до введения дозы клеток, субъект идентифицирован как имеющий лимфому, ассоциированную с или включающую вовлечение центральной нервной системы (ЦНС) или вторичную ЦНС лимфому.

38. Способ по любому из пп. 1-37, где:

в момент или до введения дозы клеток, субъект имеет или идентифицирован как имеющий лимфому, ассоциированную с или включающую вовлечение центральной нервной системы (ЦНС) или а вторичную ЦНС лимфому; и/или

по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% субъектов, подвергнутых лечению согласно способу, которые в момент или до введения дозы клеток демонстрируют или были идентифицированы как демонстрирующие лимфому с вовлечением ЦНС или вторичную ЦНС лимфому, достигли

излечения заболевания ЦНС.

39. Способ по любому из пп. 1-38, где возраст субъекта составляет 65 лет или старше.

40. Способ по любому из пп. 1-39, где среди подвергутых лечению субъектов более чем точно или примерно 35%, более чем точно или примерно 40%, более чем точно или примерно 45% или более чем точно или примерно 50%, или любое значение в пределах вышеперечисленных, имеют возраст 65 лет или старше.

41. Способ по любому из пп. 1-39, где субъект имеет возраст 70 лет или старше.

42. Способ по любому из пп. 1-41, где, в момент или до введения дозы клеток, субъект имеет или идентифицирован как имеющий ухудшенную сердечную функцию, необязательно с фракцией выброса левого желудочка (LVEF) менее чем точно или примерно 50%.

43. Способ по любому из пп. 1-42, где, в момент или до введения дозы клеток, субъект имеет или идентифицирован как имеющий ухудшенную почечную функцию, необязательно с расчетным клиренсом креатинина менее чем точно или примерно 60 мл/мин.

44. Способ по любому из пп. 1-43, где, в момент или до введения дозы клеток, субъект имеет или идентифицирован как имеющий ухудшенную легочную функцию, необязательно с диффузионной способностью легких по монооксиду углерода (DLCO) точно или примерно 60% или менее.

45. Способ по любому из пп. 1-44, где, в момент или до введения дозы клеток, субъект имеет или идентифицирован как имеющий ухудшенную печеночную функцию, необязательно с аспартатаминотрансферазой (AST) и аланинаминотрансферазой (ALT) более чем точно или примерно в два раза превышающей предел нормы (ULN).

46. Способ по любому из пп. 1-45, где, в момент или до введения дозы клеток, субъект получает переходную терапию между временем лейкафереза до получения дозы $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток и введения дозы $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток.

47. Способ по любому из пп. 1-46, где, в момент или до введения дозы клеток, субъект получает переходную терапию для контроля заболевания после предшествующей терапии.

48. Способ по п. 46 или п. 47, где переходная терапия выбрана из одного или нескольких из: ритуксимаб-гемцитабин плюс оксалиплатин, дексаметазон, радиотерапия, ритуксимаб, преднизон, BR, леналидомид, гемцитабин плюс оксалиплатин, брентуксимаб ведотин, ибрутиниб, бендамустин и/или гемцитабин+ритуксимаб.

49. Способ по любому из пп. 1-48, где, в момент или непосредственно перед введением дозы клеток, субъект является или был идентифицирован как не соответствующий критериям для химиотерапии в высоких дозах.

50. Способ по любому из пп. 1-49, где, в момент или непосредственно перед введением дозы клеток, субъект является или был идентифицирован как не соответствующий критериям для трансплантации гемопоэтических стволовых клеток

(HSCT).

51. Способ по п. 49 или п. 50, где, в момент или непосредственно перед введением дозы клеток, субъект является или был идентифицирован как не соответствующий критериям для обеих, химиотерапии в высоких дозах и трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (HSCT).

52. Способ по любому из пп. 1-51, где, в момент или непосредственно перед введением дозы клеток, субъект является или был идентифицирован как не соответствующий критериям для обеих, химиотерапии в высоких дозах и трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (HSCT) и субъект имеет рецидив после ремиссии после лечения или стал рефрактерным к, одной предшествующей терапии для заболевания или состояния отличной от другой дозы клеток, экспрессирующих CAR.

53. Способ по любому из пп. 1-52, где субъект имеет или идентифицирован как имеющий Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status (ECOG PS) 0, 1 или 2.

54. Способ по любому из пп. 1-53, где субъект имеет или идентифицирован как имеющий Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status (ECOG PS) 0 или 1.

55. Способ по любому из пп. 1-53, где субъект имеет или идентифицирован как имеющий Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status (ECOG PS) 2.

56. Способ по любому из пп. 1-55, где, до введения дозы клеток, субъект имеет или идентифицирован как имеющий сумму произведений измерений (SPD) опухоли у субъекта, которая составляет точно или примерно 50 $см^2$ или более.

57. Способ по любому из пп. 1-55, где, в момент или до введения дозы клеток, субъект имеет положительное по позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) заболевание.

58. Способ по любому из пп. 1-56, где до введения дозы клеток, идентифицируют или выбирают субъекта для введения дозы клеток.

59. Способ по любому из пп. 1-57, где способ включает, до введения дозы клеток, идентификацию или выбор для введения дозы клеток субъекта, который имеет или является:

рецидивирующую или рефрактерную В-крупноклеточную лимфому; и/или

антрациклин и один или несколько CD20-таргетных агентов; и/или

рецидивирующее или рефрактерное заболевание после двух или нескольких линий терапии или после аутологичного HSCT; и/или

имеет общее состояние по ECOG 0, 1 или 2; и/или

если субъект получает предшествующую CD19-таргетную терапию, биологический образец, полученный от субъекта после предшествующей CD19-таргетной терапии, содержит клетку, экспрессирующую CD19.

60. Способ по любому из пп. 1-57, где способ включает до введения дозы клеток идентификацию или выбор для введения дозы клеток субъекта, который имеет или является:

возраст 70 лет или старше; и/или

общее состояние по ECOG 2; и/или

ухудшенную легочную функцию, необязательно с диффузионной способностью легких по монооксиду углерода (DLCO) точно или примерно 60% или менее; и/или

ухудшенную сердечную функцию, необязательно с фракцией выброса левого желудочка (LVEF) менее чем точно или примерно 50%; и/или

ухудшенную почечную функцию, необязательно с расчетным клиренсом креатинина менее чем точно или примерно 60 мл/мин; и/или

ухудшенную печеночную функцию, необязательно с аспартатаминотрансферазой (AST) и аланинаминотрансферазой (ALT) более чем точно или примерно в два раза превышающей предел нормы (ULN).

61. Способ по любому из пп. 1-57, где способ включает до введения дозы клеток идентификацию или выбор для введения дозы клеток субъекта, который имеет:

двойную/тройную лимфому;

химиорефрактерную лимфому, необязательно химиорефрактерную DLBCL;

не достиг полной ремиссии (CR) в ответ на предшествующую терапию для лечения злокачественного образования, необязательно NHL; и/или

имеет рецидив в течение 1 года или менее 1 года после трансплантации аутологичных стволовых клеток (ASCT); и/или

имеет лимфому, ассоциированную с или включающую вовлечение центральной нервной системы (ЦНС).

62. Способ по любому из пп. 1-61, где доза Т клеток обогащена CD3+ Т клетками, CD4+ Т клетками, CD8+ Т клетками или CD4+ Т клетками и CD8+ Т клетками, необязательно где более чем точно или примерно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 98% клеток в дозе Т клеток являются CD3+ Т клетками, CD4+ Т клетками, CD8+ Т клетками или CD4+ Т клетками и CD8+ Т клетками.

63. Способ по любому из пп. 1-17 и 19-62, где первую композицию начинают вводить до начала введения второй композиции.

64. Способ по любому из пп. 1-17 и 19-63, где введение первой композиции и введение второй композиции осуществляют с разницей не более 48 часов.

65. Способ по любому из пп. 1-17 и 19-64, где введение первой композиции и введение второй композиции осуществляют с разницей не более 36 часов, не более 24 часов, не более 12 часов, не более 6 часов, не более 4 часов, не более 2 часов, не более 1 часа или не более 30 минут.

66. Способ по любому из пп. 1-17 и 19-64, где:

введение первой композиции и введение второй композиции осуществляют в тот же день, осуществляют с разницей от примерно 0 до примерно 12 часов, от примерно 0 до примерно 6 часов или от примерно 0 до 2 часов; или

начало введения первой композиции и начало введения второй композиции осуществляют с разницей от примерно 1 минуты до примерно 1 часа или от примерно 5 минут до примерно 30 минут.

67. Способ по любому из пп. 1-17 и 19-64, где первую композицию и вторую композицию вводят с разницей не более 2 часов, не более 1 часа, не более 30 минут, не более 15 минут, не более 10 минут или не более 5 минут.

68. Способ по любому из пп. 1-67, где рекомбинантный рецептор, который содержит $CD4^+$ Т-клетки, и/или рекомбинантный рецептор, который содержат $CD8^+$ Т-клетки, является рекомбинантным рецептором, который является одним и тем же, и/или где $CD4^+$ Т-клетки и/или $CD8^+$ Т-клетки генетически сконструированы для экспрессии рекомбинантного рецептора, который является одним и тем же.

69. Способ по любому из пп. 1-68, где доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит:

от точно или примерно $2,5\times10^7$ до точно или примерно $1,5\times10^8$ всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток, включительно;

от точно или примерно 5×10^7 до точно или примерно 1×10^8 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток, включительно;

точно или примерно 5×10^7 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток;

точно или примерно 1×10^8 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток; или

точно или примерно $1,5\times10^8$ всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток.

70. Способ по любому из пп. 1-69, где доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит точно или примерно 5×10^7 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток.

71. Способ по любому из пп. 1-69, где доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит точно или примерно 1×10^8 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток.

72. Способ по любому из пп. 1-69, где доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит точно или примерно $1,5\times10^8$ всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток.

73. Способ по любому из пп. 1-69, где доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит:

от точно или примерно $1,25\times10^7$ до точно или примерно $7,5\times10^7$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток, включительно;

от точно или примерно $2,5\times10^7$ до точно или примерно 5×10^7 экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток, включительно;

точно или примерно $2,5\times10^7$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток;

точно или примерно 5×10^7 экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток; или

точно или примерно $7,5\times10^7$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток.

74. Способ по любому из пп. 1-69, 70 и 73, где доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит точно или примерно $2,5\times10^7$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток.

75. Способ по любому из пп. 1-69, 71 и 73, где доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток

содержит точно или примерно 5×10^7 экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток.

76. Способ по любому из пп. 1-69, 72 и 73, где доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит точно или примерно $7,5\times10^7$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток.

77. Способ по любому из пп. 1-76, где, до введения, субъекта заранее подготавливают с помощью противолимфомной терапии включающей введение флударабина и/или циклофосфамида.

78. Способ по любому из пп. 1-77, где способ дополнительно содержит, непосредственно перед введением дозы клеток, введение субъекту противолимфомной терапии включающей введение флударабина и/или циклофосфамида.

79. Способ по п. 77 или п. 78, где введение дозы клеток и/или противолимфомной терапии проводят амбулаторно.

80. Способ по п. 79, где введение дозы клеток и/или противолимфомной терапии проводят не в медицинском центре с третьим уровнем помощи.

81. Способ по любому из пп. 1-80, где:

введение и любое отслеживание проводят амбулаторно и/или без необходимости помещения или круглосуточного пребывания в больнице; и

если субъект демонстрирует продолжительную лихорадку или лихорадку, которая не или не была снижена на более чем 1°C после лечения жаропонижающим, субъекта помещают в больницу или он круглосуточно пребывает в больнице и/или вводят агент или лечение для лечения или профилактики или снижения или ослабления нейротоксичности и/или синдрома выделения цитокина или его риска.

82. Способ по любому из пп. 1-81, где до начала введения дозы клеток, субъекту не вводили агент или лечение для лечения ли профилактики или снижения или ослабления нейротоксичности и/или синдрома выделения цитокина или его риска.

83. Способ по любому из пп. 1-82, дополнительно включающий введение субъекту агента или лечения для лечения ли профилактики или снижения или ослабления нейротоксичности и/или синдрома выделения цитокина или его риска.

84. Способ по любому из пп. 81-83, где агент является или содержит антитело против IL-6, антитело против рецептора IL-6 или стероид.

85. Способ по любому из пп. 81-84, где агент является или содержит тоцилизумаб, силтуксимаб, дексаметазон или метилпреднизолон.

86. Способ по любому из пп. 81-85, где агент является или содержит тоцилизумаб.

87. Способ по любому из пп. 81-85, где агент является или содержит дексаметазон.

88. Способ по любому из пп. 1-87, где, в момент или до введения дозы клеток:

субъекта лечат или лечили антрациклином и одним или несколькими CD20-таргетными агентами; и/или

субъект является или имеет рецидивирующее или рефрактерное заболевание после двух или нескольких линий терапии или после аутологичного HSCT; и/или

субъект имеет или идентифицирован как имеющий общее состояние по ECOG 0, 1 или 2; и/или

если субъект получает предшествующую CD19-таргетную терапию, биологический образец, полученный от субъекта после предшествующей CD19-таргетной терапии содержит клетку, экспрессирующую CD19; и

введение дозы клеток проводят амбулаторно.

89. Способ по любому из пп. 1-88, где Т-клетками являются первичные Т-клетки, полученные у субъекта.

90. Способ по любому из пп. 1-89, где Т-клетки являются аутологичными субъекту.

91. Способ по любому из пп. 1-90, где, по меньшей мере, 40%, по меньшей мере, 50%, по меньшей мере, 60%, по меньшей мере, 70% субъектов которые, в момент или до введения дозы клеток, имели или были идентифицированы как имеющие двойную/тройную лимфому или рецидив после трансплантации аутологичных стволовых клеток (ASCT), достигают OR или OR, который является устойчивым в течение или более чем 3 месяцев или в течение или более чем 6 месяцев.

92. Способ по любому из пп. 1-91, где:

по меньшей мере, 35%, по меньшей мере, 40% или, по меньшей мере, 50% субъектов, подвергутых лечению согласно способу, достигли полного ответа (CR);

по меньшей мере, 60%, 70%, 80%, 90% или 95% субъектов достигших CR, демонстрируют CR, который является устойчивым в течение или более чем 3 месяцев или в течение или более чем 6 месяцев; и/или

по меньшей мере, 60%, 70%, 80%, 90% или 95% субъектов достигших CR в течение одного месяца и/или 3 месяцев сохраняют ответ, сохраняют CR и/или выживают или выживают без прогрессирования, в течение или более чем 3 месяцев и/или в течение или более чем 6 месяцев и/или в течение более 9 месяцев после достижения CR; и/или

по меньшей мере, 50%, по меньшей мере, 60% или, по меньшей мере, 70% субъектов, подвергутых лечению способом, достигают объективного ответа (OR);

по меньшей мере, 60%, 70%, 80%, 90% или 95% субъектов достигших OR демонстрирует OR, который является устойчивым в течение или более чем 3 месяцев или в течение или более чем 6 месяцев; и/или

по меньшей мере, 35%, по меньшей мере, 40% или, по меньшей мере, 50% субъектов достигших OR сохраняют ответ или выживают в течение или более чем 3 месяцев и/или в течение или более чем 6 месяцев после достижения OR; и/или

по меньшей мере, 40%, по меньшей мере, 50%, по меньшей мере, 60%, по меньшей мере, 70% субъектов который, в момент или до введения дозы клеток имел или был идентифицирован как имеющий двойную/тройную лимфому или рецидив, после трансплантации аутологичных стволовых клеток (ASCT), достигают OR или OR, который является устойчивым в течение или более чем 3 месяцев или в течение или более чем 6 месяцев.

93. Способ по любому из пп. 1-92, где:

по меньшей мере, 50% субъектов, подвергутых лечению согласно способу достигли полного ответа (CR);

по меньшей мере, 60% субъектов достигших CR, демонстрируют CR, который является устойчивым в течение или более чем 6 месяцев; и/или

по меньшей мере, 60% субъектов, достигших CR через 1 месяц и/или через 3 месяца, сохраняют ответ, сохраняют CR и/или выживают или выживают без прогрессирования, в течение или более чем 6 месяцев после достижения CR; и/или

по меньшей мере, 70% субъектов, подвергутых лечению способом, достигают объективного ответа (OR);

по меньшей мере, 60% субъектов, достигших OR, демонстрируют OR, который является устойчивым в течение или более чем 6 месяцев; и/или

по меньшей мере, 50% субъектов достигших OR сохраняют ответ или выживают в течение или более чем 6 месяцев после достижения OR; и/или

по меньшей мере, 40% субъектов, которые, в момент или до введения дозы клеток имели или были идентифицированы как имеющие двойную/тройную лимфому или рецидив, после трансплантации аутологичных стволовых клеток (ASCT), достигают OR или OR, который является устойчивым в течение или более чем 3 месяцев.

94. Способ по любому из пп. 1-93, где клетки являются аутологичными субъекту и

никакого минимального абсолютного содержания лимфоцитов (ALC) для афереза не требуется и/или обозначено для продуцирования терапии; и/или

клеток продуцируют способом, который для, по меньшей мере, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% субъектов, имеющих заболевание или состояние, или выбранной популяции субъектов, способен создать клеточный продукт для введения согласно способу.

95. Способ по любому из пп. 92-94, где:

CR или OR является устойчивым в течение более чем 3 месяцев или более чем 6 месяцев; и/или

по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40% или по меньшей мере 50% субъектов, подвергутых лечению согласно способу, достигают CR, который является устойчивым в течение более чем 3 месяцев или более чем 6 месяцев; и/или

по меньшей мере 60%, 70%, 80%, 90% или 95% подвергутых лечению способом субъектов, которые достигают CR, сохраняют CR или сохраняют ответ, или выживают в течение или более чем 3 месяцев или в течение или более чем 6 месяцев или в течение или более чем 9 месяцев; и/или

по меньшей мере 60%, 70%, 80%, 90% или 95% подвергутых лечению способом субъектов, которые достигают CR в течение одного месяца и/или 3 месяцев, сохраняют ответ, сохраняют CR и/или выживают или выживают без прогрессирования, в течение более в течение или более чем 3 месяцев и/или в течение или более чем 6 месяцев и/или в течение более 9 месяцев; и/или

по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60% или, по меньшей мере 70% субъектов, подвергутых лечению способом, достигают объективного ответа (OR);

по меньшей мере 60%, 70%, 80%, 90% или 95% субъектов достигают OR, который является устойчивым в течение или более чем 3 месяцев или в течение или более чем 6 месяцев; и/или

по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40% или по меньшей мере 50% подвергутых лечению способом субъектов и достигших OR сохраняют ответ или выживают в течение или более чем 3 месяцев и/или в течение или более чем 6 месяцев.

96. Способ по любому из пп. 1-95, где:

по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40% или по меньшей мере 50% подвергутых лечению субъектов согласно способу достигают полного ответа (CR) или ремиссии заболевания ЦНС;

по меньшей мере 60%, 70%, 80%, 90% или 95% субъектов, которые достигают CR, сохраняют CR в течение или более чем 3 месяцев или в течение или более чем 6 месяцев; и/или

по меньшей мере 60%, 70%, 80%, 90% или 95% субъектов, достигших CR или ремиссии заболевания ЦНС в течение одного месяца и/или 3 месяцев, сохраняют ответ, сохраняют CR и/или выживают или выживают без прогрессирования, в течение более в течение или более чем 3 месяцев и/или в течение или более чем 6 месяцев и/или в течение более 9 месяцев; и/или

по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60% или, по меньшей мере 70% субъектов, подвергутых лечению способом, достигают объективного ответа (OR) или ремиссии заболевания ЦНС;

по меньшей мере, 60%, 70%, 80%, 90% или 95% субъектов, достигших OR, в течение или более чем 3 месяцев или в течение или более чем 6 месяцев; и/или

по меньшей мере 60%, 70%, 80%, 90% или 95% субъектов достигших или ремиссии заболевания ЦНС сохраняют ответ или выживают в течение или более чем 3 месяцев и/или в течение или более чем 6 месяцев; и/или

поражение головного мозга снижается по размеру или объему на более чем или более чем примерно 25%, 50%, 75% или более; и/или

снижение или ремиссия или клиренс заболевания ЦНС достигается у, по меньшей мере, 35%, по меньшей мере, 40% или, по меньшей мере, 50% подвергутых лечению субъектов согласно способу.

97. Способ по любому из пп. 1-96, где:

более чем или более чем примерно 50%, примерно 60%, примерно 70% или примерно 80% субъектов, подвергутых лечению способом, не демонстрируют степень 3 или более синдрома выделения цитокина (CRS) и/или не демонстрируют степень 3 или более нейротоксичности и/или более чем 40% или 50% или 55% не демонстрируют нейротоксичность или CRS.

98. Способ по любому из пп. 1-97, где более чем или более чем примерно 80%

субъектов, подвергутых лечению способом, не демонстрируют степень 3 или более синдрома выделения цитокина (CRS) и/или не демонстрируют степень 3 или более нейротоксичность.

99. Способ по любому из пп. 1-98, где более чем 95% субъектов, подвергутых лечению способом, не демонстрирует степень 3 или более CRS.

100. Способ по любому из пп. 1-99, где более чем 85% субъектов, подвергутых лечению способом, не демонстрирует степень 3 или более нейротоксичности.

101. Способ по любому из пп. 1-100, где:

более чем или более чем примерно 30%, 35%, 40% или 50% субъектов, подвергутых лечению способом, не демонстрируют какую-либо степень синдром выделения цитокина (CRS) или нейротоксичность; и/или

по меньшей мере, точно или примерно 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% подвергутых лечению субъектов согласно способу не демонстрируют наступление CRS ранее чем 3 дней после начала введения и/или не демонстрируют наступление нейротоксичности ранее чем 5 дней после начала введения; и/или

среднее наступление нейротоксичности среди субъектов, подвергутых лечению способом, возникает в момент или после среднего пика или среднего времени излечения CRS у субъектов, подвергутых лечению способом, и/или среднее наступление нейротоксичности среди субъектов, подвергутых лечению способом, составляет более чем точно или примерно 8, 9, 10 или 11 дней.

102. Способ по любому из пп. 1-101, где:

более чем или более чем примерно 50% субъектов, подвергутых лечению способом, не демонстрируют какую-либо степень синдрома выделения цитокина (CRS) или нейротоксичности; и/или

по меньшей мере, точно или примерно 45% подвергутых лечению субъектов согласно способу не демонстрируют наступление CRS ранее чем 3 дней после начала введения и/или не демонстрируют наступление нейротоксичности ранее чем 5 дней после начала введения; и/или

среднее наступление нейротоксичности среди субъектов, подвергутых лечению способом, возникает в момент или после среднего пика или среднего времени излечения CRS у субъектов, подвергутых лечению способом, и/или среднее наступление нейротоксичности среди субъектов, подвергутых лечению способом, составляет более чем точно или примерно 8 дней.

103. Способ по любому из пп. 1-102, где:

по меньшей мере, 50% подвергутых лечению субъектов согласно способу достигли полного ответа (CR);

по меньшей мере, 70% субъектов, подвергутых лечению способом, достигают объективного ответа (OR); и

более чем или более чем примерно 50% субъектов, подвергутых лечению способом, не демонстрируют какую-либо степень синдрома выделения цитокина (CRS)

или нейротоксичности; и

более чем или более чем примерно 80% субъектов, подвергутых лечению способом, не демонстрируют степень 3 или более синдрома выделения цитокина (CRS) и/или не демонстрируют степень 3 или более нейротоксичности.

104. Способ по любому из пп. 1-103, где:

более чем или более чем примерно 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55% или 60% субъектов, подвергутых лечению способом, демонстрируют улучшение 10 пунктов или более по European Organization for Research and Treatment Core Quality of Life Questionnaire версия 3,0 (DLBCL) по общему состоянию здоровья на 6 месяц или 12 месяц после введения по сравнению с оценкой до лечения или через 1 месяц лечения; и/или

более чем или более чем примерно 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55% или 60% субъектов, подвергутых лечению способом, демонстрируют улучшение 10 пунктов или более по EORTC QLQ-C30 по физическому функционированию на 6 месяц или 12 месяц после введения по сравнению с оценкой до лечения или через 1 месяц лечения; и/или

более чем или более чем примерно 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55% или 60% субъектов, подвергутых лечению способом, демонстрируют улучшение 10 пунктов или более по EORTC QLQ-C30 по утомляемости на 6 месяц или 12 месяц после введения по сравнению с оценкой до лечения или через 1 месяц лечения; и/или

более чем или более чем примерно 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55% или 60% субъектов, подвергутых лечению способом, демонстрируют улучшение 10 пунктов или более по EORTC QLQ-C30 по боли на 6 месяц или 12 месяц после введения по сравнению с оценкой до лечения или через 1 месяц лечения; и/или

более чем или более чем примерно 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55% или 60% субъектов, подвергутых лечению способом, демонстрируют улучшение 10 пунктов или более по EORTC QLQ-C30 по боли на 6 месяц или 12 месяц после введения по сравнению с оценкой до лечения или через 1 месяц лечения.

105. Способ по любому из пп. 1-104, где:

средняя оценка по 5-уровневой EuroQol-5D (EQ-5D-5L) среди субъектов, подвергутых лечению способом, является такой же или больше на 6 месяц или 12 месяц после введения по сравнению с оценкой до лечения или через 1 месяц лечения; и/или

средняя оценка по EuroQol глобальной визуально-аналоговой шкале (EQ-VAS) среди субъектов, подвергутых лечению способом, является такой же или больше на 6 месяц или 12 месяц после введения по сравнению с оценкой до лечения или через 1 месяц лечения.

106. Способ по любому из пп. 1-105, где:

CAR содержит внеклеточный антигенсвязывающий домен, специфический к антигену, трансмембранный домен, цитоплазматический сигнальный домен полученный из костимулирующей молекулы, которая необязательно является 4-1BB и цитоплазматический сигнальный домен полученный из первичной сигнальной ITAM-содержащей молекулы, который необязательно является CD3-дзета;

CAR содержит, по порядку, внеклеточный антигенсвязывающий домен, специфичный к антигену, трансмембранный домен, цитоплазматический сигнальный домен полученный из костимулирующей молекулы и цитоплазматический сигнальный домен полученный из первичной сигнальной ITAM-содержащей молекулы; или

CAR содержит внеклеточный антигенраспознающий домен, который специфически связывается с антигеном, и внутриклеточный сигнальный домен, содержащий CD3-дзета (CD3ζ) цепь и костимулирующую сигнальную область, которой является сигнальный домен 4-1BB.

107. Способ по любому из пп. 1-106, где CAR содержит внеклеточный антигенсвязывающий домен, специфический к CD19, трансмембранный домен, цитоплазматический сигнальный домен, полученный из 4-1BB, и цитоплазматический сигнальный домен, полученный из CD3 дзета.

108. Способ по п. 107, где антигенсвязывающим доменом является scFv.

109. Способ по п. 108, где scFv содержит аминокислотную последовательность RASQDISKYLN (SEQ ID NO: 35), аминокислотную последовательность SRLHSGV (SEQ ID NO: 36) и/или аминокислотную последовательность GNTLPYTFG (SEQ ID NO: 37) и/или аминокислотную последовательность DYGVS (SEQ ID NO: 38), аминокислотную последовательность VIWGSETTYYNSALKS (SEQ ID NO: 39) и/или аминокислотную последовательность YAMDYWG (SEQ ID NO: 40), или где scFv содержит вариабельную область тяжелой цепи FMC63 и вариабельную область легкой цепи FMC63 и/или CDRL1 последовательность FMC63, CDRL2 последовательность FMC63, а CDRL3 последовательность FMC63, CDRH1 последовательность FMC63, CDRH2 последовательность FMC63 и CDRH3 последовательность FMC63 или связывается с одним и тем же эпитопом, или конкурирует за связывание с любым из вышеперечисленных и, в некоторых случаях, где scFv содержит, по порядку, V_H, линкер, который в некоторых случаях, содержит SEQ ID NO: 24, и V_L, и/или scFv содержит гибкий линкер и/или содержит аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 43.

110. Способ по п. 108 или п. 109, где scFv содержит вариабельную область тяжелой цепи FMC63 и вариабельную область легкой цепи FMC63.

111. Способ по любому из пп. 106-110, где костимулирующей сигнальной областью является сигнальный домен 4-1BB.

112. Способ по любому из пп. 106-111, где костимулирующий домен содержит SEQ ID NO: 12 или ее вариант, имеющий по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности к ней.

113. Способ по любому из пп. 106-112, где первичным сигнальным доменом является CD3-дзета сигнальный домен.

114. Способ по любому из пп. 106-113, где первичный сигнальный домен содержит SEQ ID NO: 13, 14 или 15, имеющую, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%,

91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности к ней.

115. Способ по любому из пп. 106-114, где CAR дополнительно содержит спейсер между трансмембранным доменом и scFv.

116. Способ по п. 115, где спейсером является полипептидный спейсер, который содержит или состоит из всего или части иммуноглобулинового шарнира или его модифицированной версии, необязательно IgG4 шарнира или его модифицированной версии.

117. Способ по п. 115 или п. 116, где спейсер имеет точно или примерно 12 аминокислот в длину.

118. Способ по любому из пп. 115-117, где:

спейсер имеет или состоит из последовательности SEQ ID NO: 1, последовательности, кодированной SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34 или варианта любой из вышеуказанных, имеющего по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности к ней; и/или

спейсер содержит или состоит из формулы X_1PPX_2P, где X_1 является глицин, цистеин или аргинин и X_2 является цистеин или треонин.

119. Способ по любому из пп. 115-118, где:

спейсером является полипептидный спейсер, который (a) содержит или состоит из всего или части иммуноглобулинового шарнира или его модифицированной версии или содержит примерно 15 аминокислот или менее, и не содержит CD28 внеклеточную область или CD8 внеклеточную область, (b) содержит или состоит из всего или части иммуноглобулинового шарнира, необязательно IgG4 шарнир или его модифицированную версию и/или содержит примерно 15 аминокислот или менее, и не содержит CD28 внеклеточную область или CD8 внеклеточную область или (c) имеет точно или примерно 12 аминокислот в длину и/или содержит или состоит из всего или части иммуноглобулинового шарнира, необязательно IgG4 или его модифицированной версии; или (d) имеет или состоит из последовательности SEQ ID NO: 1, последовательности, кодированной SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34 или варианта любой из вышеуказанных, имеющего по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности к ней или (e) содержит или состоит из формулы X_1PPX_2P, где X_1 является глицин, цистеин или аргинин и X_2 является цистеин или треонин; и/или

костимулирующий домен содержит SEQ ID NO: 12 или ее вариант, имеющий по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности к ней; и/или

первичный сигнальный домен содержит SEQ ID NO: 13, 14 или 15, имеющую, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%,

98%, 99% или более идентичность последовательности к ней; и/или

scFv содержит аминокислотную последовательность RASQDISKYLN (SEQ ID NO: 35), аминокислотную последовательность SRLHSGV (SEQ ID NO: 36) и/или аминокислотную последовательность GNTLPYTFG (SEQ ID NO: 37) и/или аминокислотную последовательность DYGVS (SEQ ID NO: 38), аминокислотную последовательность VIWGSETTYYNSALKS (SEQ ID NO: 39) и/или аминокислотную последовательность YAMDYWG (SEQ ID NO: 40) или где scFv содержит вариабельную область тяжелой цепи FMC63 и вариабельную область легкой цепи FMC63 и/или CDRL1 последовательность FMC63, CDRL2 последовательность FMC63, а CDRL3 последовательность FMC63, CDRH1 последовательность FMC63, CDRH2 последовательность FMC63 и CDRH3 последовательность FMC63 или связывается с одним и тем же эпитопом, или конкурирует за связывание с любым из вышеперечисленных и, в некоторых случаях, где scFv содержит, по порядку, V_H, линкер, который в некоторых случаях, содержит SEQ ID NO: 24, и V_L, и/или scFv содержит гибкий линкер и/или содержит аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 43.

120. Способ по любому из пп. 115-119, где:

спейсером является полипептидный спейсер, который содержит последовательность SEQ ID NO: 1;

костимулирующий домен содержит SEQ ID NO: 12;

первичный сигнальный домен содержит SEQ ID NO: 13, 14 или 15;

антигенсвязывающий домен содержит scFv, который содержит вариабельную область тяжелой цепи FMC63 и вариабельную область легкой цепи FMC63.

121. Способ по любому из пп. 1-120, где дозу клеток вводят парентерально, необязательно внутривенно.

122. Способ по любому из пп. 1-121, где субъектом является человек.

123. Изделие, содержащее композицию, содержащую генетически сконструированные клетки, экспрессирующие рекомбинантный рецептор; и необязательно инструкции по введению дозы клеток согласно способ по любому из пп. 1-122.

124. Способ оценки риска развития токсичность после введения клеточной терапии, где способ включает:

(a) оценку одного или нескольких параметров у субъекта, где один или несколько параметров выбраны из уровня, количества или концентрации LDH, ферритин или C-реактивного белка (CRP) в биологическом образце от субъекта или является суммой произведений измерений (SPD) опухоли у субъекта;

где субъект является кандидатом для лечения клеточной терапией, где указанная клеточная терапия содержит дозу генетически сконструированных клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор; и

где оценку проводят до введения клеточной терапии и/или указанный

биологический образец или опухоль не содержит рекомбинантный рецептор и/или указанные сконструированные клетки; и

(b) идентификацию того, имеет ли субъект риск токсичности где субъект имеет риск токсичности, если один или несколько параметров превышают пороговый уровень и субъект не имеет риск токсичности, если один или несколько параметров равен или ниже порогового уровня, где:

(i) параметром является ферритин, и пороговый уровень составляет выше точно или примерно 1000 нанограммов на миллилитр, 2000 нанограммов на миллилитр, 3000 нанограммов на миллилитр, 4000 нанограммов на миллилитр, 5000 нанограммов на миллилитр, 6000 нанограммов на миллилитр, 7000 нанограммов на миллилитр или 8000 нанограммов на миллилитр; и/или

(ii) параметром является CRP, и пороговый уровень составляет выше точно или примерно 5 миллиграммов на литр, 10 миллиграммов на литр, 15 миллиграммов на литр, 20 миллиграммов на литр, 25 миллиграммов на литр, 30 миллиграммов на литр, 40 миллиграммов на литр или 50 миллиграммов на литр.

125. Способ идентификации субъекта, где способ содержит:

(a) оценку одного или нескольких параметров у субъекта, где один или несколько параметров выбраны из уровня, количества или концентрации LDH, ферритина или С-реактивного белка (CRP) в биологическом образце от субъекта или является суммой произведений измерений (SPD) опухоли у субъекта;

где субъект является кандидатом для лечения клеточной терапией, указанная клеточная терапия содержит дозу генетически сконструированных клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор; и

где оценку проводят до введения клеточной терапии и/или указанный биологический образец или опухоль не содержит рекомбинантный рецептор и/или указанные сконструированные клетки; и

(b) идентификации субъекта, который имеет риск развития токсичности после введения клеточной терапии, где субъект имеет риск токсичности, если один или несколько параметров превышают пороговый уровень и субъект не имеет риск токсичности, если один или несколько параметров равен или ниже порогового уровня, где:

(i) параметром является ферритин, и пороговый уровень составляет выше точно или примерно 1000 нанограммов на миллилитр, 2000 нанограммов на миллилитр, 3000 нанограммов на миллилитр, 4000 нанограммов на миллилитр, 5000 нанограммов на миллилитр, 6000 нанограммов на миллилитр, 7000 нанограммов на миллилитр или 8000 нанограммов на миллилитр; и/или

(ii) параметром является CRP, и пороговый уровень составляет выше точно или примерно 5 миллиграммов на литр, 10 миллиграммов на литр, 15 миллиграммов на литр, 20 миллиграммов на литр, 25 миллиграммов на литр, 30 миллиграммов на литр, 40 миллиграммов на литр или 50 миллиграммов на литр.

126. Способ лечения, включающий:

(a) оценку одного или нескольких параметров у субъекта, где один или несколько параметров выбраны из уровня, количества или концентрации LDH, ферритина или С-реактивного белка (CRP) в биологическом образце от субъекта или является суммой произведений измерений (SPD) опухоли у субъекта;

где субъект является кандидатом для лечения клеточной терапией, указанная клеточная терапия содержит дозу генетически сконструированных клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор; и

где оценку проводят до введения клеточной терапии и/или указанный биологический образец или опухоль не содержит рекомбинантный рецептор и/или указанные сконструированные клетки; и

(b) идентификацию того, имеет ли субъект риск токсичности где субъект имеет риск токсичности, если один или несколько параметров превышают пороговый уровень и субъект не имеет риск токсичности, если один или несколько параметров равен или ниже порогового уровня, где:

(i) параметром является ферритин, и пороговый уровень составляет выше точно или примерно 1000 нанограммов на миллилитр, 2000 нанограммов на миллилитр, 3000 нанограммов на миллилитр, 4000 нанограммов на миллилитр, 5000 нанограммов на миллилитр, 6000 нанограммов на миллилитр, 7000 нанограммов на миллилитр или 8000 нанограммов на миллилитр; и/или

(ii) параметром является CRP, и пороговый уровень составляет выше точно или примерно 5 миллиграммов на литр, 10 миллиграммов на литр, 15 миллиграммов на литр, 20 миллиграммов на литр, 25 миллиграммов на литр, 30 миллиграммов на литр, 40 миллиграммов на литр или 50 миллиграммов на литр; и

(c) после или на основе результатов оценки, введение субъекту клеточной терапии, и, необязательно, агент или другое лечение, способное лечить, предотвращать, замедлять, снижать или ослаблять развитие или риск развития токсичности.

127. Способ по любому из пп. 124-126, где параметром является ферритин, и пороговый уровень составляет 5000 нанограммов на миллилитр.

128. Способ по любому из пп. 124-127, где параметром является CRP, и пороговый уровень составляет 10 миллиграммов на литр.

129. Способ по любому из пп. 124-128, где одним или несколькими параметрами являются ферритин и CRP и пороговым уровнем для ферритина является 5000 нанограммов на миллилитр и пороговым уровнем для CRP является 10 миллиграммов на литр.

130. Способ по любому из пп. 124-129, где биологическим образцом является образец крови или плазмы.

131. Способ по любому из пп. 124-130, где уровень, количества или концентрации ферритина или CRP измеряют до лечения, до афереза или до производства клеточного продукта.

132. Способ оценки риска развития токсичность после введения клеточной терапии, где способ включает:

(a) оценку пиковой концентрации генетически сконструированных клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор в биологическом образце от субъекта которому ранее вводили клеточную терапию, содержащую генетически сконструированные клетки; и

(b) идентификацию того, имеет ли субъект риск токсичности где субъект имеет риск токсичности, если пиковая концентрация генетически сконструированные клетки выше порогового уровня и субъект не имеет риск токсичности, если пиковая концентрация генетически сконструированные клетки равна или ниже порогового уровня, где: пороговый уровень составляет выше точно или примерно 300 клеток на микролитр, 400 клеток на микролитр, 500 клеток на микролитр, 600 клеток на микролитр, 700 клеток на микролитр, 800 клеток на микролитр, 900 клеток на микролитр или 1000 клеток на микролитр.

133. Способ идентификации субъекта, где способ включает:

(a) оценку пиковой концентрации генетически сконструированных клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор в биологическом образце от субъекта которому ранее вводили клеточную терапию, содержащую генетически сконструированные клетки; и

(b) идентификации субъекта, который имеет риск развития токсичности после введения клеточной терапии, где субъект имеет риск токсичности, если пиковая концентрация генетически сконструированные клетки выше порогового уровня и субъект не имеет риск токсичности, если пиковая концентрация генетически сконструированные клетки равна или ниже порогового уровня, где: пороговый уровень составляет выше точно или примерно 300 клеток на микролитр, 400 клеток на микролитр, 500 клеток на микролитр, 600 клеток на микролитр, 700 клеток на микролитр, 800 клеток на микролитр, 900 клеток на микролитр или 1000 клеток на микролитр.

134. Способ лечения, включающий:

(a) оценку пиковой концентрации генетически сконструированных клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор в биологическом образце от субъекта которому ранее вводили клеточную терапию, содержащую генетически сконструированные клетки; и

(b) идентификацию того, имеет ли субъект риск токсичности где субъект имеет риск токсичности, если пиковая концентрация генетически сконструированные клетки выше порогового уровня и субъект не имеет риск токсичности, если пиковая концентрация генетически сконструированные клетки равна или ниже порогового уровня, где: пороговый уровень составляет выше точно или примерно 300 клеток на микролитр, 400 клеток на микролитр, 500 клеток на микролитр, 600 клеток на микролитр, 700 клеток на микролитр, 800 клеток на микролитр, 900 клеток на микролитр или 1000 клеток на микролитр; и

(c) после или на основе результатов оценки, введение субъекту клеточной терапии, и, необязательно, агента или другого лечения, способного лечить, предотвращать, замедлять, снижать или ослаблять развитие или риск развития токсичности.

135. Способ по любому из пп. 132-134, где пороговый уровень составляет 500 клеток на микролитр.

136. Способ по любому из пп. 124-135, дополнительно включающий отслеживание у субъекта симптомов токсичности, если субъекту вводят клеточную терапию и он идентифицирован как имеющий риск развития токсичности.

137. Способ по любому из пп. 124-136, где токсичностью является нейротоксичность или синдром выделения цитокина (CRS).

138. Способ по любому из пп. 124-137, где токсичностью является степень 1 или выше нейротоксичности или CRS.

139. Способ по любому из пп. 124-138, где токсичностью является степень 1 или выше нейротоксичности.

140. Способ по любому из пп. 124-139, где токсичностью является тяжелая нейротоксичность или является степень 2 или выше нейротоксичности, степень 3 или выше нейротоксичности или степень 4 или выше нейротоксичности.

141. Способ по любому из пп. 124-140, где токсичностью является тяжелая нейротоксичность или степень 3 или выше нейротоксичности.

142. Способ по любому из пп. 124-138, где токсичностью является степень 1 или выше CRS.

143. Способ по любому из пп. 124-138 и 142, где токсичностью является тяжелая CRS или является степень 2 или выше CRS, степень 3 или выше CRS или степень 4 или выше CRS.

144. Способ по любому из пп. 124-138, 142 и 143, где токсичностью является тяжелая CRS или степень 3 или выше CRS.

145. Способ по любому из пп. 124-144, где если субъект идентифицирован как имеющий риск развития токсичности, субъекту вводят:

(a) (1) агент или другое лечение, способное лечить, предотвращать, замедлять, снижать или ослаблять развитие или риск развития токсичности и (2) клеточную терапию, где ведение агента должно быть осуществлено (i) до, (ii) в течение одного, двух или трех дней от, (iii) одновременно с и/или (iv) при первой лихорадке после, начала введения клеточной терапии субъекту; и/или

(b) клеточную терапию в пониженной дозе или в дозе, которая не ассоциирована с риском развития токсичности или тяжелой токсичности или в пониженной дозе или не ассоциирована с риском развития токсичности или тяжелой токсичности у большинства субъектов, и/или у большинства субъектов, имеющих заболевание или состояние которое субъект имеет или подозревается в наличии, после введения клеточной терапии; и/или

(c) субъекту вводят клеточную терапию амбулаторно и/или во время госпитализации в течение одного или нескольких дней, необязательно, где клеточная

терапия в противном случае должна вводиться субъектам амбулаторно или без госпитализации в течение одного или нескольких дней.

146. Способ по п. 145, где агентом или другим лечением является антитело против IL-6 или антитело против рецептора IL-6.

147. Способ по п. 146, где агентом или другим лечением является или содержит агент, выбранный из тоцилизумаба, силтуксимаба, клазакизумаба, сарилумаба, олокизумаба (CDP6038), элсилимомаба, ALD518/BMS-945429, сирукумаба (CNTO 136), CPSI-2634, ARGX-109, FE301 и FM101.

148. Способ по п. 146 или п. 147, где агентом или другим лечением является тоцилизумаб.

149. Способ по п. 148, где агентом или другим лечением является или содержит один или несколько стероидов.

150. Способ по п. 149, где стероидом является дексаметазон или метилпреднизолон.

151. Способ по п. 149 или п. 150, где стероидом является дексаметазон.

152. Способ по любому из пп. 124-151, где рекомбинантный рецептор специфически связывается с антигеном, ассоциированным с заболеванием или состоянием, или экспрессируется в окружающей среде поражения, ассоциированной с заболеванием или состоянием.

153. Способ по любому из пп. 124-152, где заболеванием или состоянием является рак.

154. Способ по любому из пп. 124-153, где заболеванием или состоянием является миелома, лейкоз или лимфома.

155. Способ по любому из пп. 124-54, где заболеванием или состоянием является злокачественным образованием из В-клеток и/или является острый лимфобластный лейкоз (ALL), ALL взрослых, хронический лимфобластный лейкоз (CLL), неходжкинская лимфома (NHL) или В-крупноклеточная лимфома.

156. Способ по любому из пп. 124-155, где заболеванием или состоянием является В-крупноклеточная лимфома.

157. Способ по п. 156, где В-крупноклеточная лимфома выбрана из агрессивной неходжкинской лифомы (NHL), диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL), необязательно DLBCL NOS (de novo или трансформированной из вялотекущей), В-клеточной лимфомы высокой степени злокачественности (HGBCL), двойной/тройной лимфомы, первичной В-крупноклеточной лимфомы средостения (PMBCL), мантийноклеточной лимфомы (MCL), трансформированной фолликулярной лимфомы (tFL), и/или фолликулярной лимфомы (FL), необязательно, фолликулярной лимфомы степени 3В (FL3B).

158. Способ по п. 156 или п. 157, где В-крупноклеточной лимфомой является диффузная В-крупноклеточная лимфома (DLBCL).

159. Способ по п. 156 или п. 157, где В-крупноклеточной лимфомой является

фолликулярная лимфома (FL).

160. Способ по п. 159, где FL ассоциирована с коэкспрессией CD10, BCL6 и BCL2 в фолликулах и/или t(14;18)/(q32;q21) (IGH-BCL2) и/или BCL6 перестройкой.

161. Способ по п. 156 или п. 157, где В-крупноклеточной лимфомой является мантийноклеточная лимфома (MCL).

162. Способ по любому из пп. 36-49, где рекомбинантный рецептор связывается с антигеном-мишенью, где антигеном-мишенью является В-клеточный антиген, необязательно CD19.

163. Способ по любому из пп. 124-162, где рекомбинантным рецептором является химерный антигенный рецептор (CAR).

164. Способ по любому из пп. 124-163, где генетически сконструированные клетки содержат Т клетки, необязательно $CD4^+$ Т-клетки и/или $CD8^+$ Т-клетки.

165. Способ по любому из пп. 124-163, где введение клеточной терапии включает введение дозы $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток субъекту, где Т клетки каждой дозы содержат рекомбинантный рецептор, который специфически связывается с антигеном, экспрессированным заболеванием или состоянием или его клеткой или тканью и/или который ассоциирован с заболеванием или состоянием, где введение включает введение множества отдельных композиций, где множество отдельных композиций содержит первую композицию, содержащую $CD8^+$ Т-клетки и вторая композиция содержит $CD4^+$ Т-клеток.

166. Способ по п. 165, где первую композицию начинают вводить до начала введения второй композиции.

167. Способ по п. 165 или п. 166, где введение первой композиции и введение второй композиции осуществляют с разницей не более 48 часов.

168. Способ по любому из пп. 165-167, где введение первой композиции и введение второй композиции осуществляют с разницей не более 36 часов, не более 24 часов, не более 12 часов, не более 6 часов, не более 4 часов, не более 2 часов, не более 1 часа или не более 30 минут.

169. Способ по любому из пп. 124-168, где рекомбинантный рецептор, который содержит $CD4^+$ Т-клетки, и/или рекомбинантный рецептор, который содержат $CD8^+$ Т-клетки, является или содержит рекомбинантный рецептор, который является одним и тем же и/или где $CD4^+$ Т-клетки и/или $CD8^+$ Т-клетки генетически сконструированы для экспрессирования рекомбинантного рецептора, который является одним и тем же.

170. Способ по любому из пп. 124-169, где:

доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит определенное отношение $CD4^+$ Т-клеток экспрессирующих рецептор к $CD8^+$ Т-клеткам, экспрессирующим рекомбинантный рецептор и/или $CD4^+$ Т клеток к $CD8^+$ Т клеткам, которое составляет или составляет приблизительно 1:1 или составляет от приблизительно 1:3 до приблизительно 3:1; и/или

$CD4^+$ Т-клетки, содержащие рекомбинантный рецептор, в одной из первой и второй композиций, и $CD8^+$ Т-клетки, содержащие рекомбинантный рецептор, в другой из

первой и второй композиций, присутствуют в определенном отношении, которое составляет или составляет приблизительно 1:1 или составляет от приблизительно 1:3 до приблизительно 3:1; и/или

$CD4^+$ Т-клетки, содержащие рецептор, и $CD8^+$ Т-клетки, содержащие рекомбинантный рецептор, вводимые в первой и второй композициях присутствуют в определенном отношении, где отношение составляет или составляет приблизительно 1:1 или составляет от приблизительно 1:3 до приблизительно 3:1.

171. Способ по любому из пп. 124-170, где определенное отношение составляет или составляет приблизительно 1:1.

172. Способ по любому из пп. 124-171, где доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит:

от точно или примерно 1×10^7 до точно или примерно 2×10^8 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток, включительно;

от точно или примерно $2,5\times10^7$ до точно или примерно $1,5\times10^8$ всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток, включительно;

от точно или примерно 5×10^7 до точно или примерно 1×10^8 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток, включительно;

точно или примерно 5×10^7 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток;

точно или примерно 1×10^8 всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток; или

точно или примерно $1,5\times10^8$ всего экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток.

173. Способ по любому из пп. 124-172, где доза $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток содержит:

от точно или примерно 1×10^7 до точно или примерно 1×10^8 экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток, включительно;

от точно или примерно $1,25\times10^7$ до точно или примерно $7,5\times10^7$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток, включительно;

от точно или примерно $2,5\times10^7$ до точно или примерно 5×10^7 экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток, включительно;

точно или примерно $2,5\times10^7$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток;

точно или примерно 5×10^7 экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток; или

точно или примерно $7,5\times10^7$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор $CD8^+$ Т-клеток.

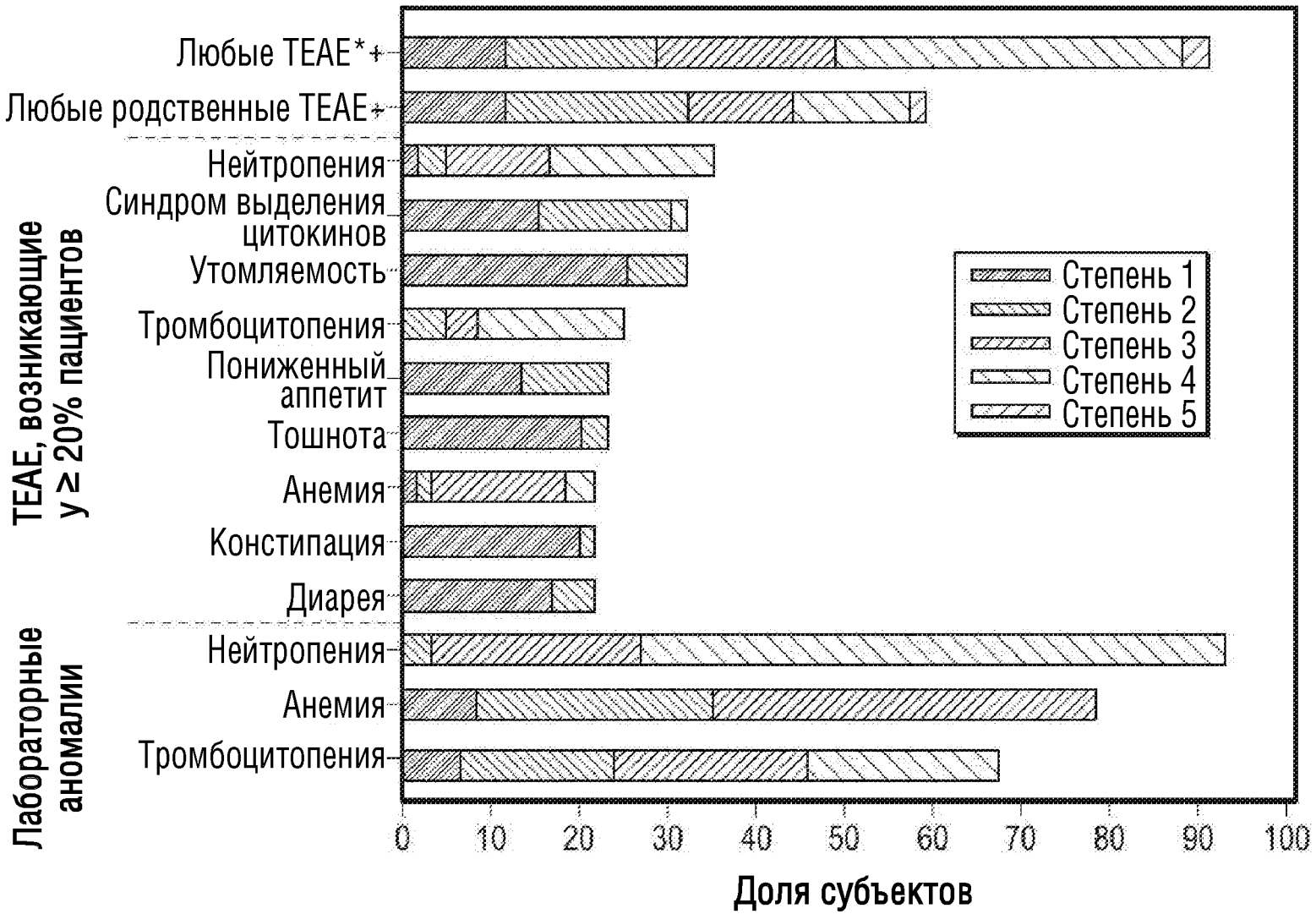
174. Способ по любому из пп. 124-173, где Т-клетками являются первичные Т-клетки, полученные у субъекта или аутологичные субъекту.

175. Способ по любому из пп. 124-174, где субъектом является человек.

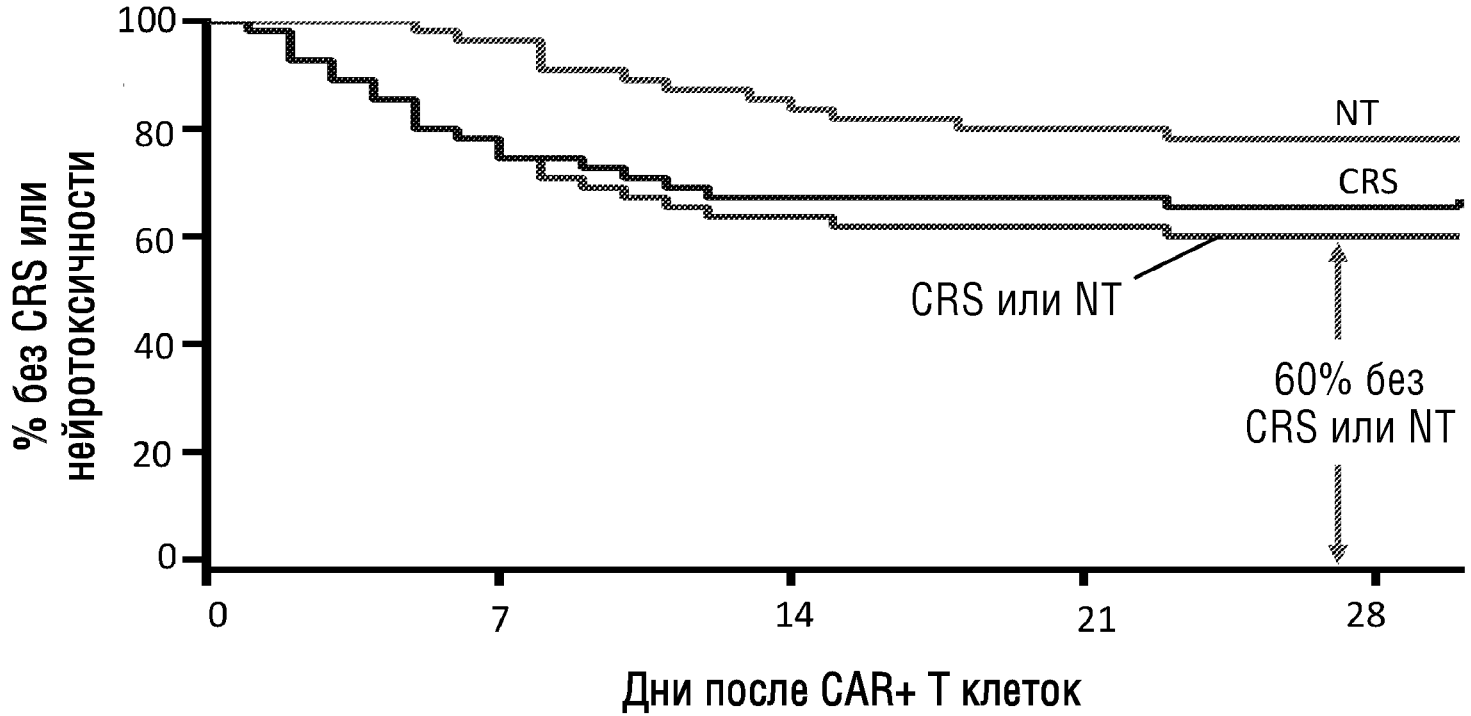
176. Изделие, содержащее композицию, содержащую генетически сконструированные клетки, экспрессирующие рекомбинантный рецептор и,

необязательно, агент или другое лечение, способное лечить, предотвращать, замедлять, снижать или ослаблять развитие или риск развития токсичности; и инструкции по оценке риска развития токсичности, идентифицирующие субъекта или лечение субъекта согласно способу по любому из пп. 124-175.

ФИГ.1

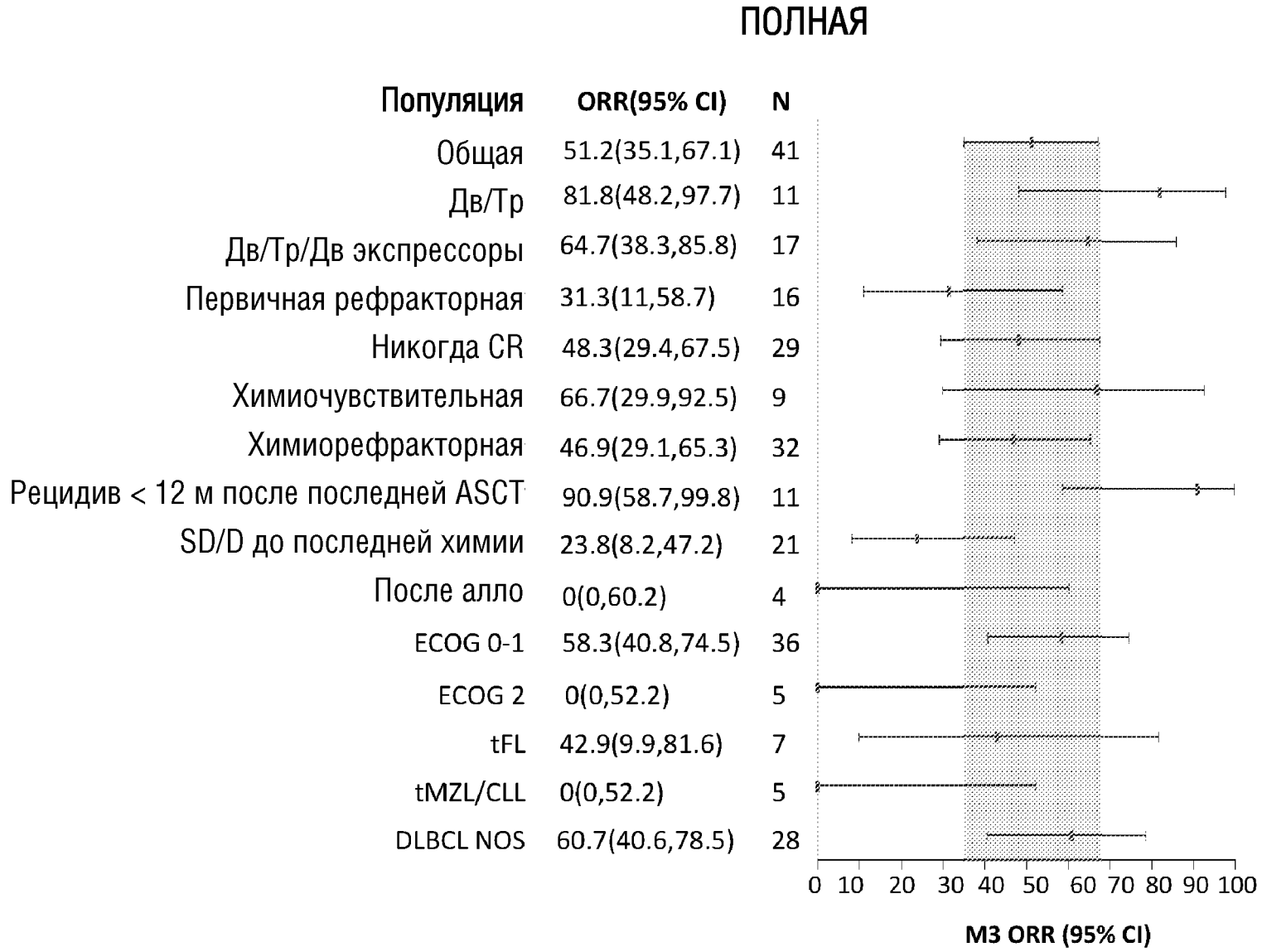

Любые TEAE*
Любые родственные TEAE
Нейтропения
Синдром выделения цитокинов
Утомляемость
Тромбоцитопения
Пониженный аппетит
Тошнота
Анемия
Констипация
Диарея
Нейтропения
Анемия
Тромбоцитопения
TEAE, возникающие у ≥ 20% пациентов
Лабораторные аномалии
Степень 1
Степень 2
Степень 3
Степень 4
Степень 5
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
Доля субъектов

ФИГ.2



Риск					
CRS	55	43	37	37	35
NT	55	53	47	44	42
CRS или NT	55	43	37	37	35

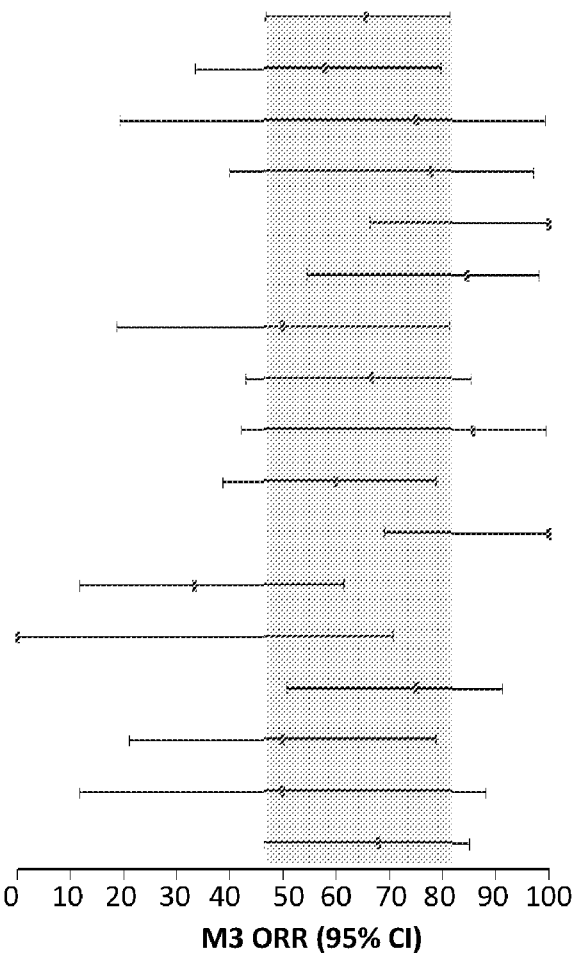
ФИГ.3А


ПОЛНАЯ
Популяция
ORR(95% CI)
N
Общая 51.2(35.1,67.1) 41
Дв/Тр 81.8(48.2,97.7) 11
Дв/Тр/Дв экспрессоры 64.7(38.3,85.8) 17
Первичная рефракторная 31.3(11,58.7) 16
Никогда CR 48.3(29.4,67.5) 29
Химиочувствительная 66.7(29.9,92.5) 9
Химиорефракторная 46.9(29.1,65.3) 32
Рецидив < 12 м после последней ASCT 90.9(58.7,99.8) 11
SD/D до последней химии 23.8(8.2,47.2) 21
После алло 0(0,60.2) 4
ECOG 0-1 58.3(40.8,74.5) 36
ECOG 2 0(0,52.2) 5
tFL 42.9(9.9,81.6) 7
tMZL/CLL 0(0,52.2) 5
DLBCL NOS 60.7(40.6,78.5) 28
0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100
M3 ORR (95% CI)

ФИГ.3В

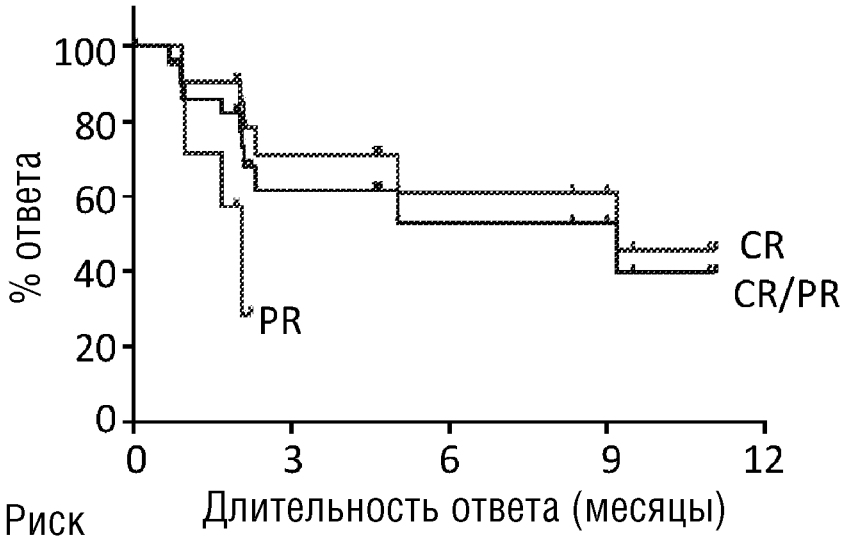
ОСНОВНАЯ

Популяция	ORR(95% CI)	N
Основная поп.	65.6(46.8,81.4)	32
DL1S	57.9(33.5,79.7)	19
DL1D	75(19.4,99.4)	4
DL2S	77.8(40,97.2)	9
Дв/Тр	100(66.4,100)	9
Дв/Тр/Дв экспрессоры	84.6(54.6,98.1)	13
Первичная рефракторная	50(18.7,81.3)	10
Никогда CR	66.7(43,85.4)	21
Химиочувствительная	85.7(42.1,99.6)	7
Химиорефракторная	60(38.7,78.9)	25
Рецидив < 12 м после последней ASCT	100(69.2,100)	10
SD/D до последней химии	33.3(11.8,61.6)	15
После алло	0(0,70.8)	3
ECOG 0	75(50.9,91.3)	20
ECOG 1	50(21.1,78.9)	12
tFL	50(11.8,88.2)	6
DLBCL NOS	68(46.5,85.1)	25

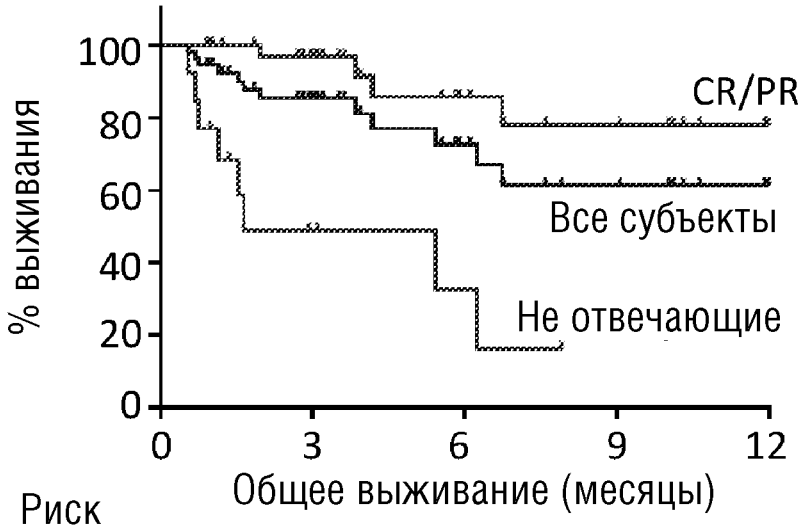


ФИГ.4А

ПОЛНАЯ



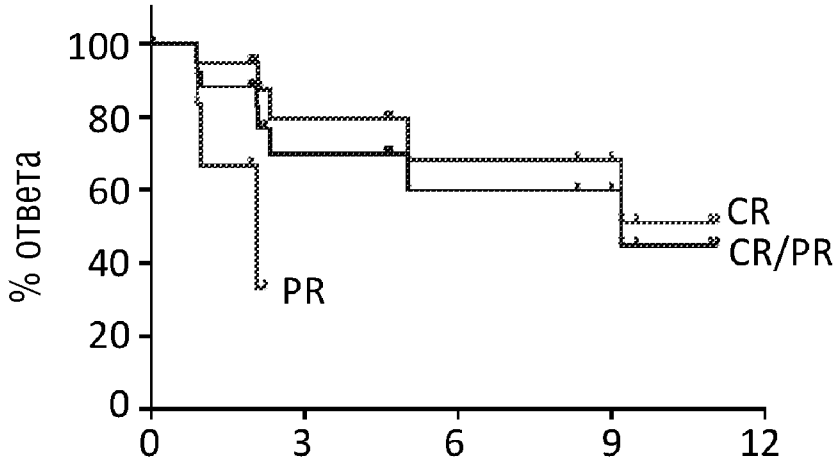
Риск					
CR/PR	41	10	6	5	0
CR	28	10	6	5	0
PR	13	0			



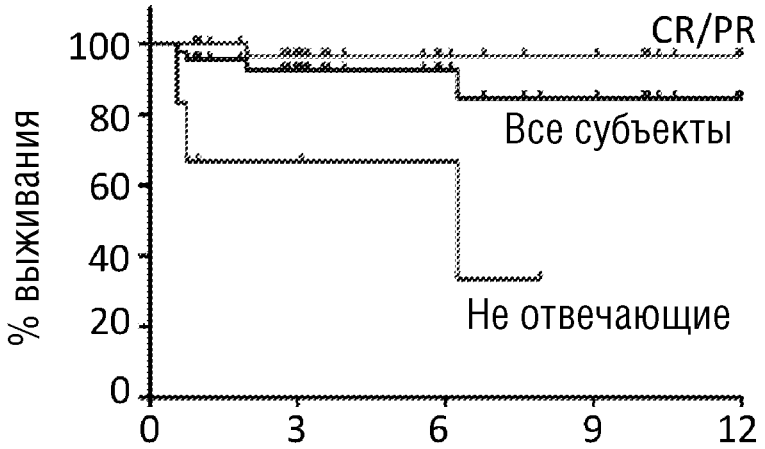
Риск					
Все	54	30	14	8	1
CR/PR	41	26	12	8	1
Не отвечающие	13	4	2	0	

ФИГ.4В

ОСНОВНАЯ

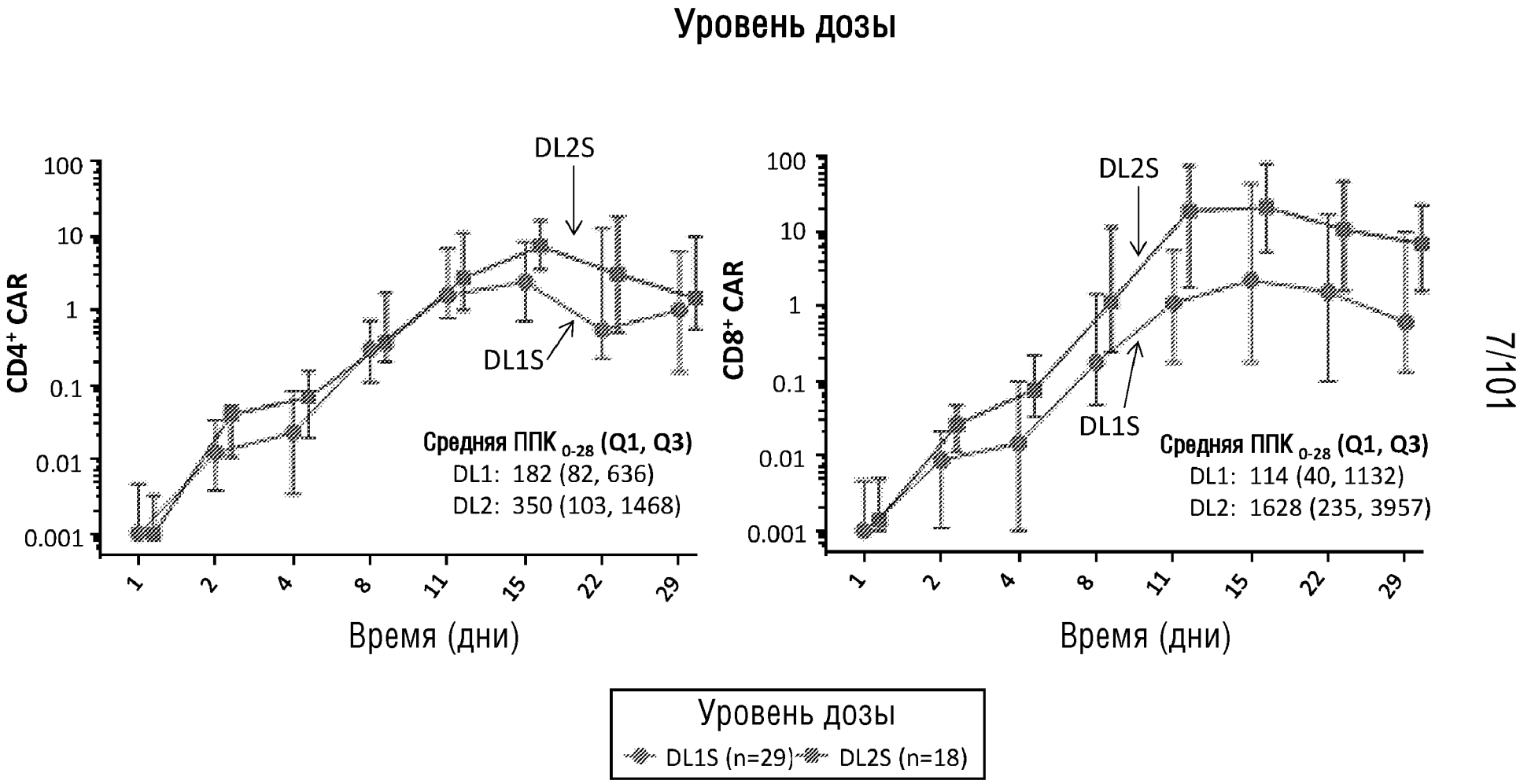


Риск					
CR/PR	38	10	6	5	0
CR	26	10	6	5	0
PR	12	0			

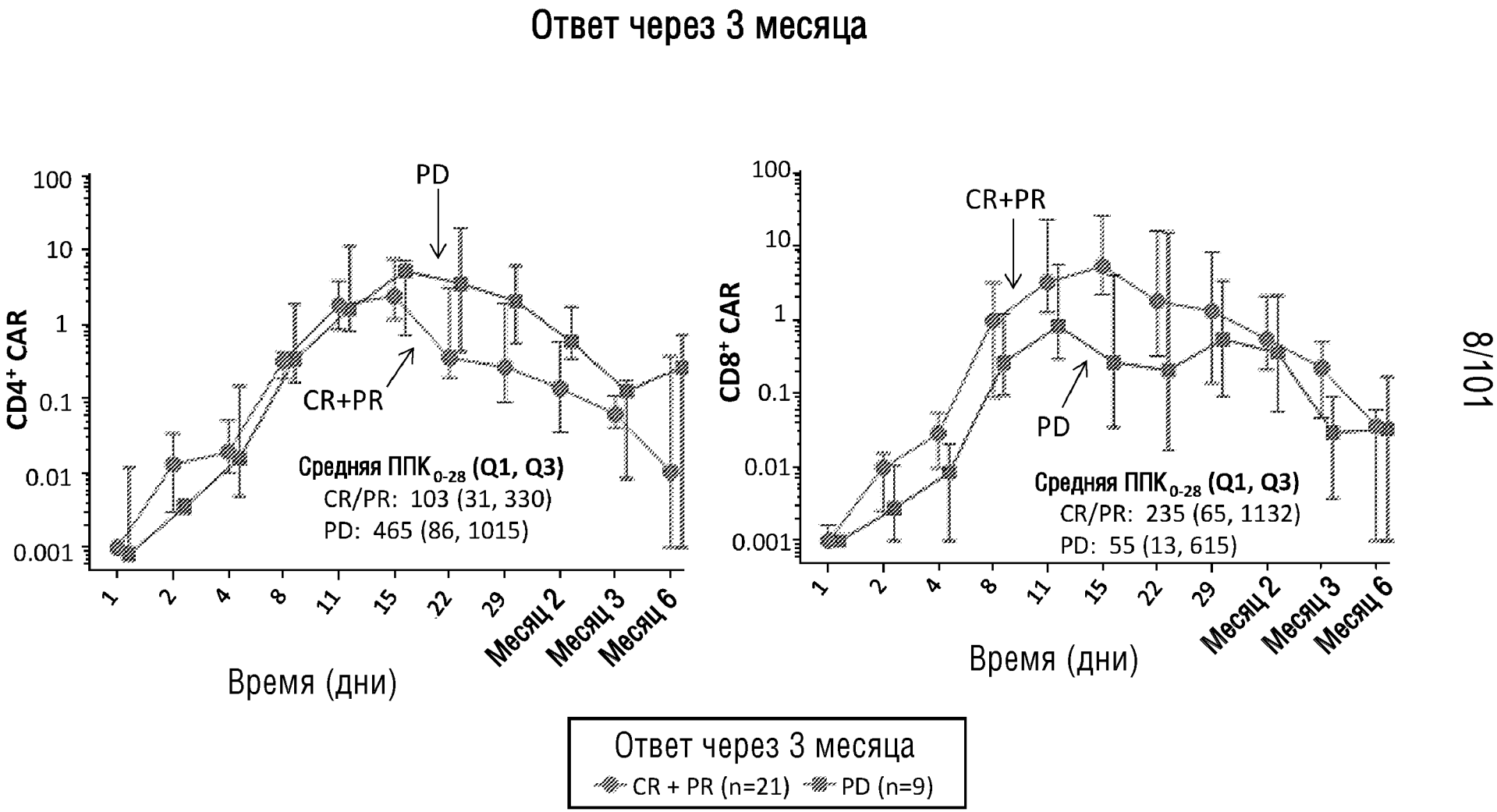


Риск					
Все	44	26	13	8	1
CR/PR	38	23	11	8	1
Не отвечающие	6	3	2	0	

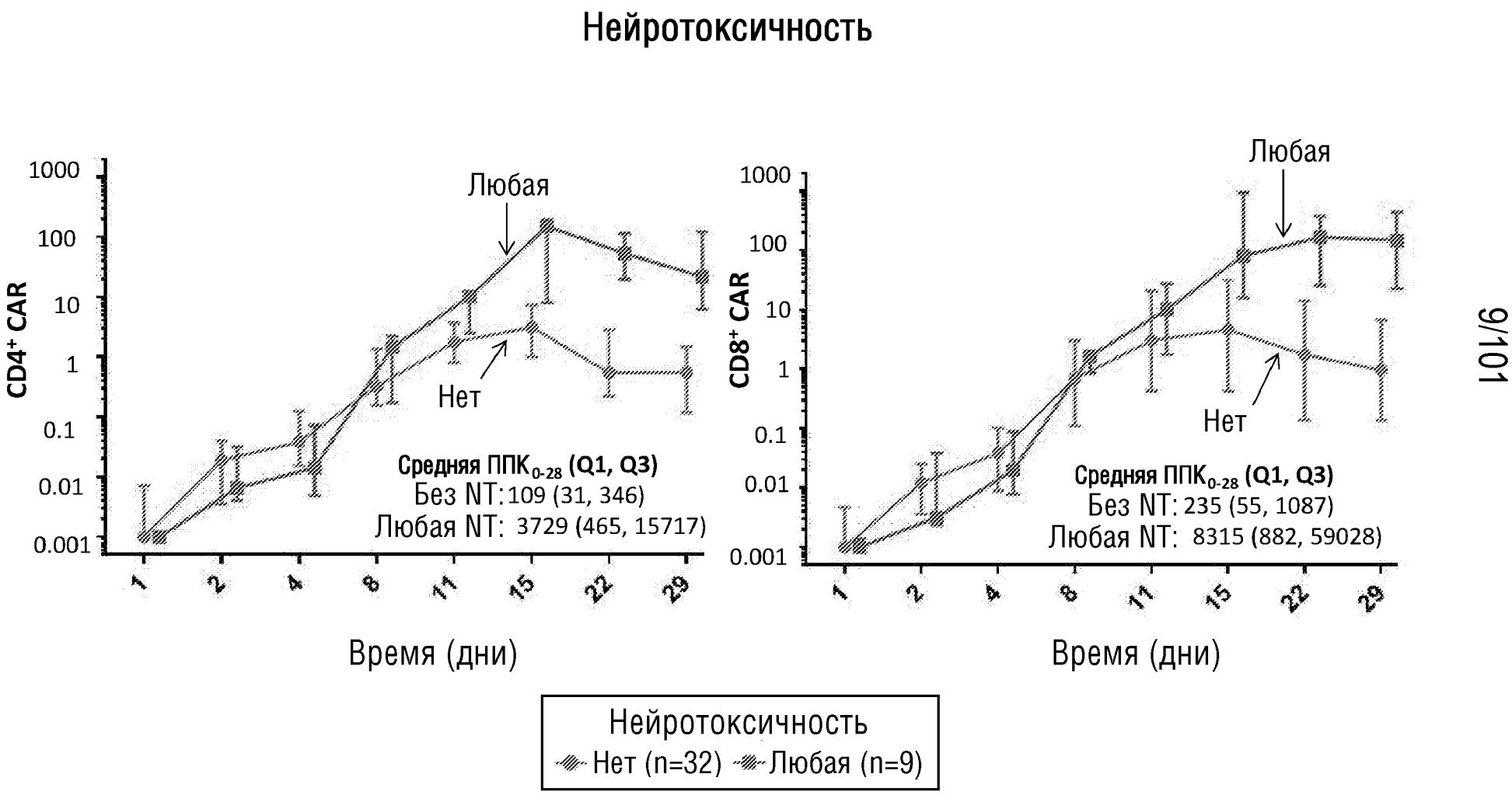
ФИГ.5А


Уровень дозы
CD4+ CAR
CD8+ CAR
100
10
1
0.1
0.01
0.001
DL2S
DL1S
Средняя ППК 0-28 (Q1, Q3)
DL1: 182 (82, 636)
DL2: 350 (103, 1468)
Средняя ППК 0-28 (Q1, Q3)
DL1: 114 (40, 1132)
DL2: 1628 (235, 3957)
1
2
4
8
11
15
22
29
Время (дни)
Уровень дозы
DL1S (n=29)
DL2S (n=18)

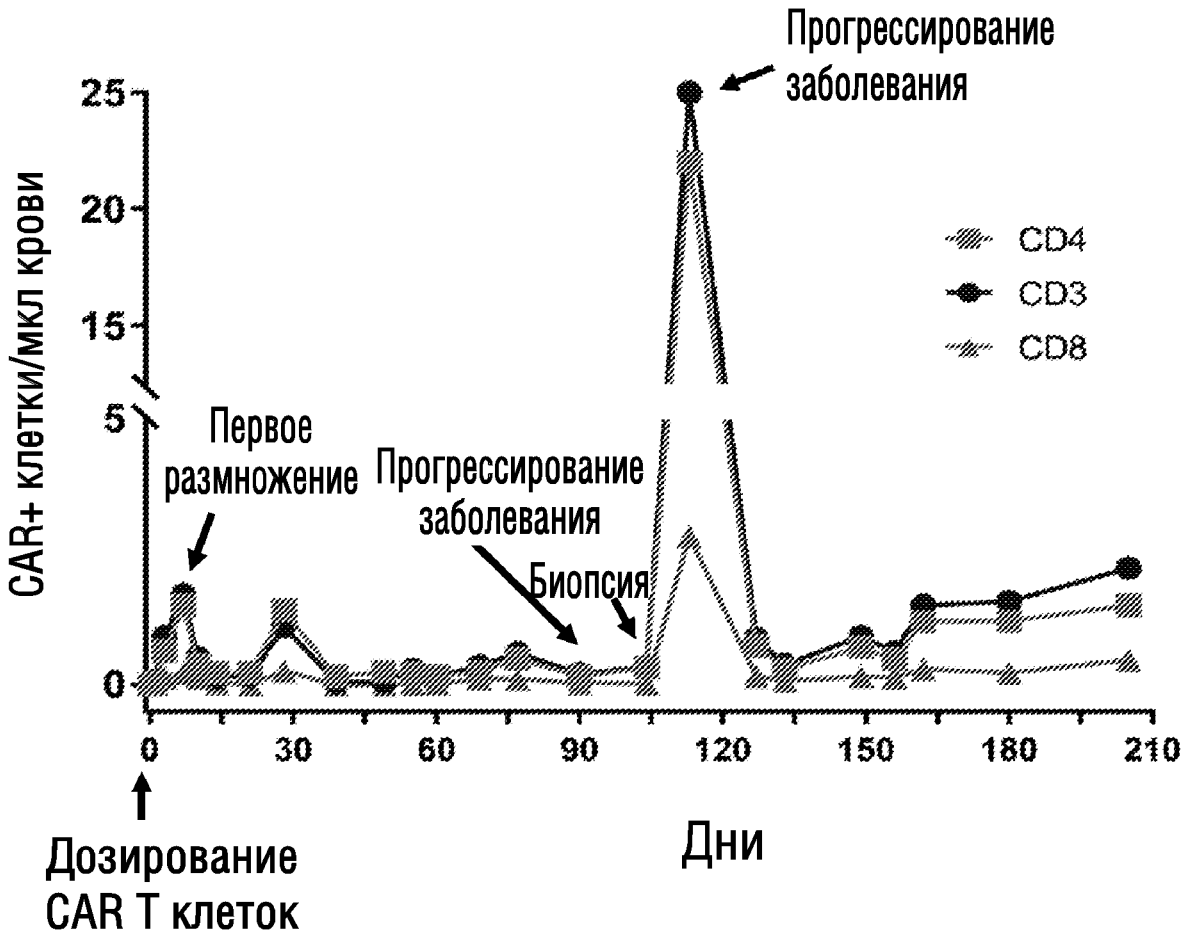
ФИГ.5В


Ответ через 3 месяца
CD4+ CAR
CD8+ CAR
PD
CR+PR
Средняя ППК0-28 (Q1, Q3)
CR/PR: 103 (31, 330)
PD: 465 (86, 1015)
CR/PR: 235 (65, 1132)
PD: 55 (13, 615)
100
10
1
0.1
0.01
0.001
1
2
4
8
11
15
22
29
Месяц 2
Месяц 3
Месяц 6
Время (дни)
Ответ через 3 месяца
CR + PR (n=21)
PD (n=9)

ФИГ.5С


Нейротоксичность
CD4+ CAR
1000
100
10
1
0.1
0.01
0.001
Любая
Нет
Средняя ППК0-28 (Q1, Q3)
Без NT: 109 (31, 346)
Любая NT: 3729 (465, 15717)
1 2 4 8 11 15 22 29
Время (дни)
CD8+ CAR
1000
100
10
1
0.1
0.01
0.001
Любая
Нет
Средняя ППК0-28 (Q1, Q3)
Без NT: 235 (55, 1087)
Любая NT: 8315 (882, 59028)
1 2 4 8 11 15 22 29
Время (дни)
Нейротоксичность
Нет (n=32)
Любая (n=9)

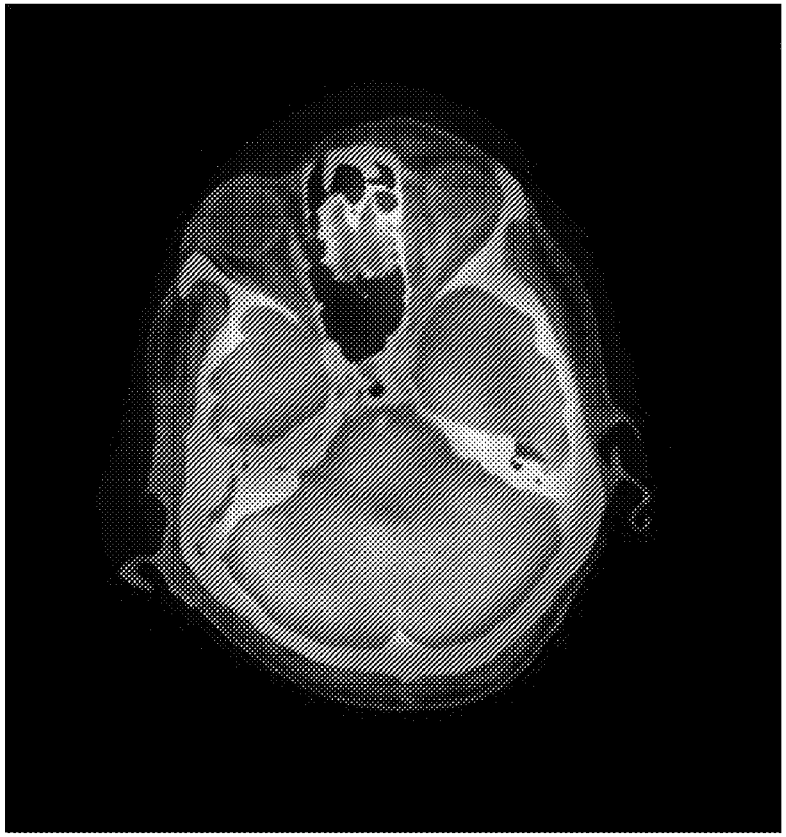
ФИГ.6А


Прогрессирование заболевания
CD4
CD3
CD8
CAR+ клетки/мкл крови
25
20
15
5
0
Первое размножение
Прогрессирование заболевания
Биопсия
0
30
60
90
120
150
180
210
Дни
Дозирование CAR T клеток

ФИГ.6B



ФИГ.6C



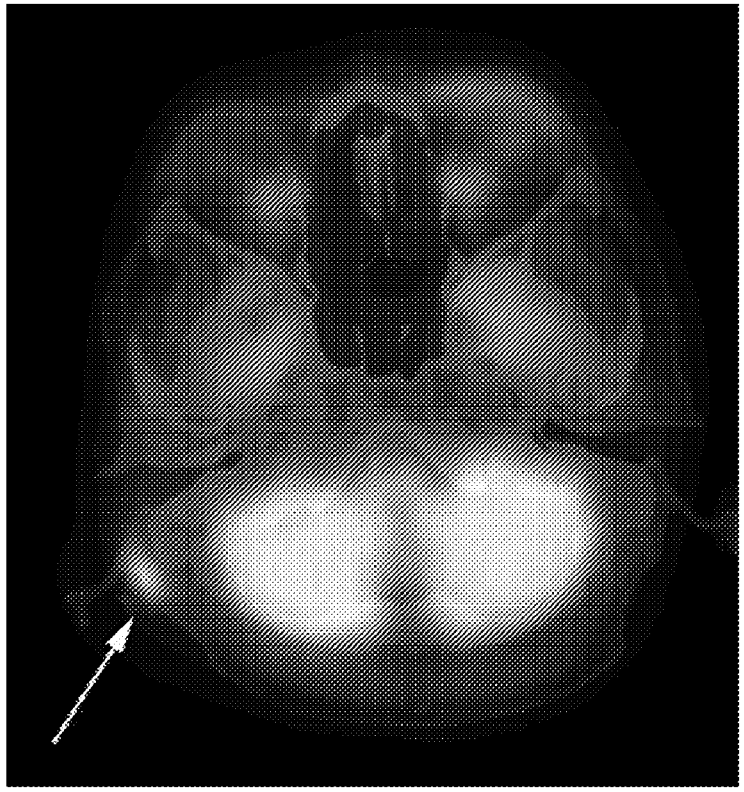
ФИГ.6D



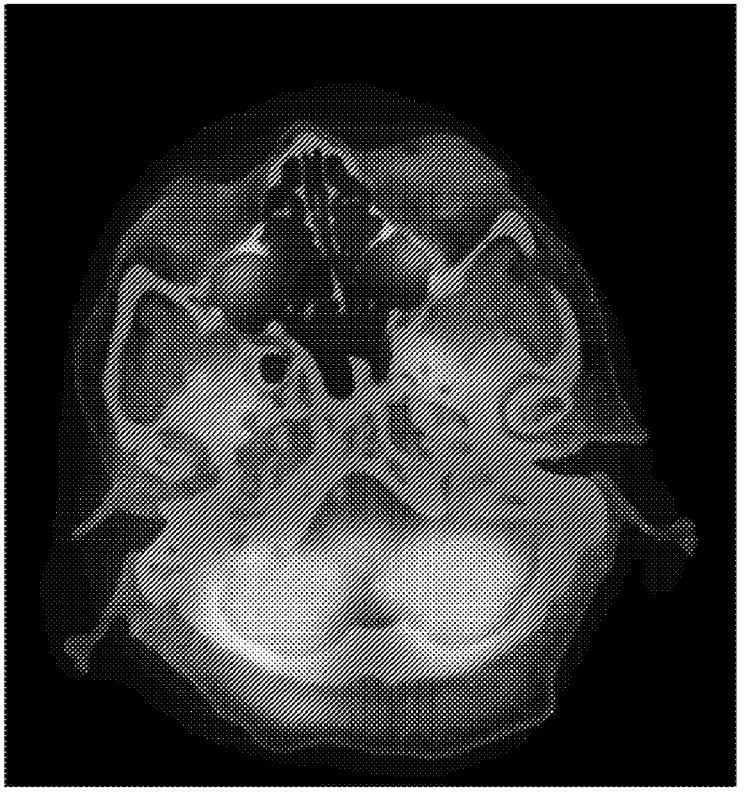
ФИГ.6E



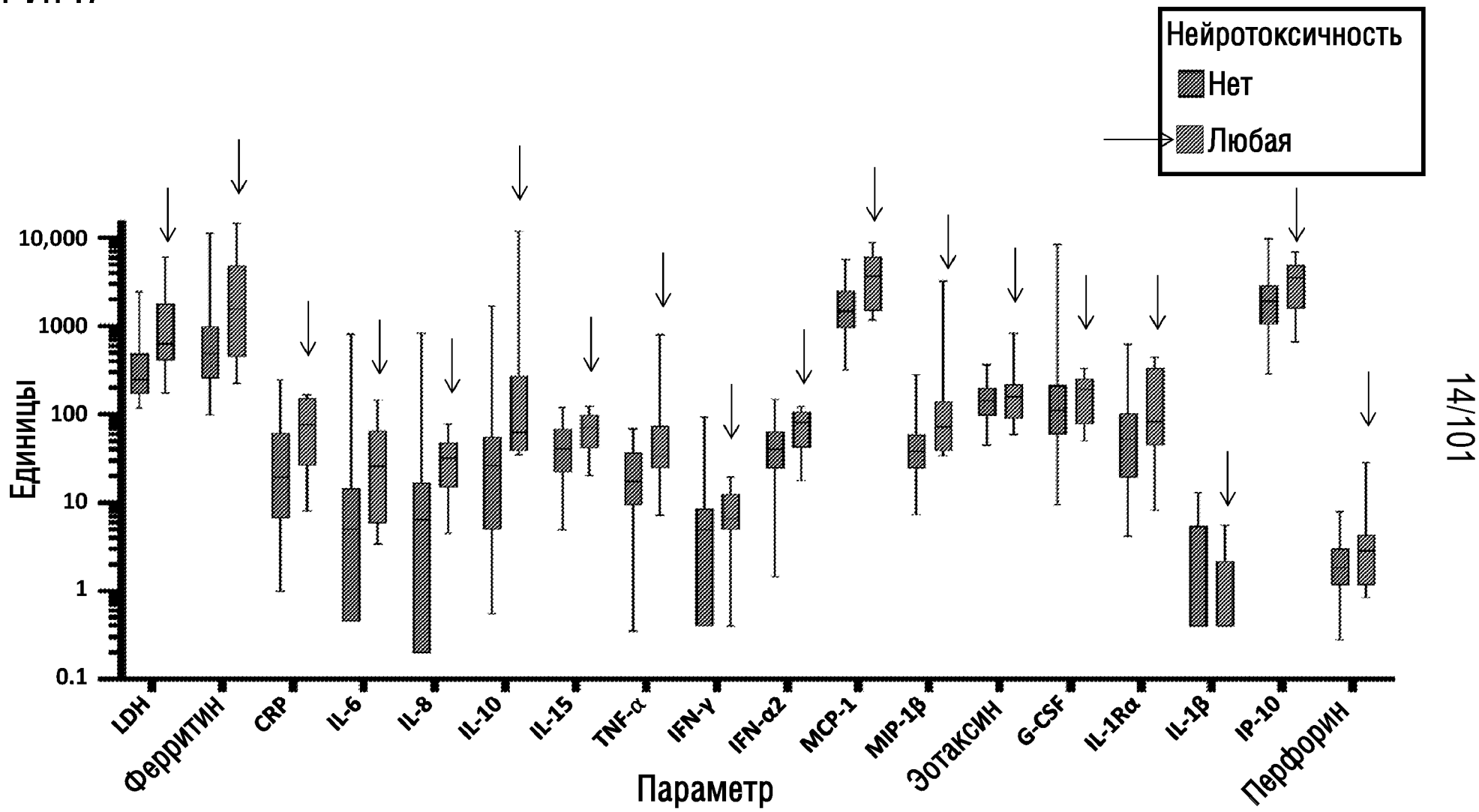
ФИГ.6F



ФИГ.6G

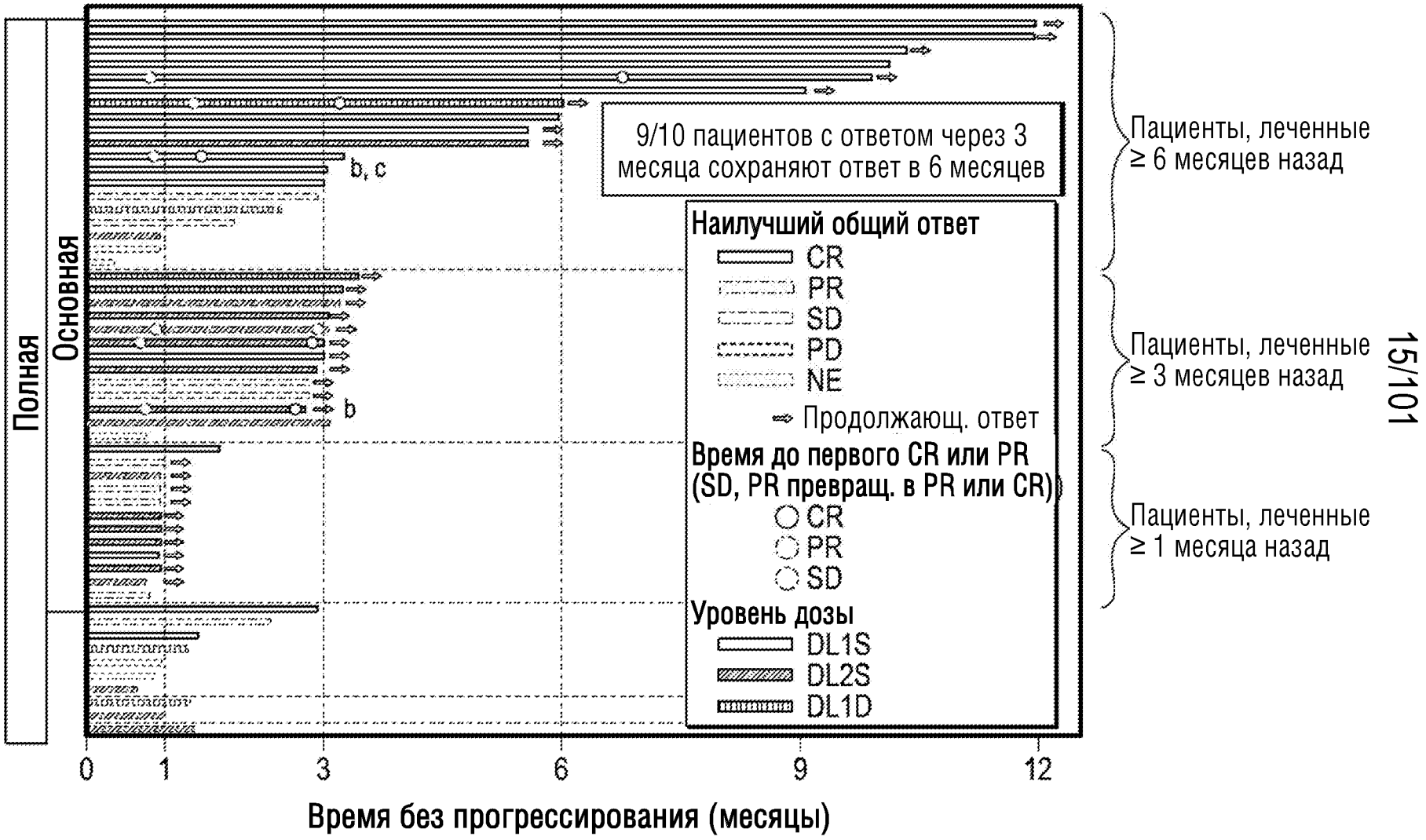


ФИГ.7

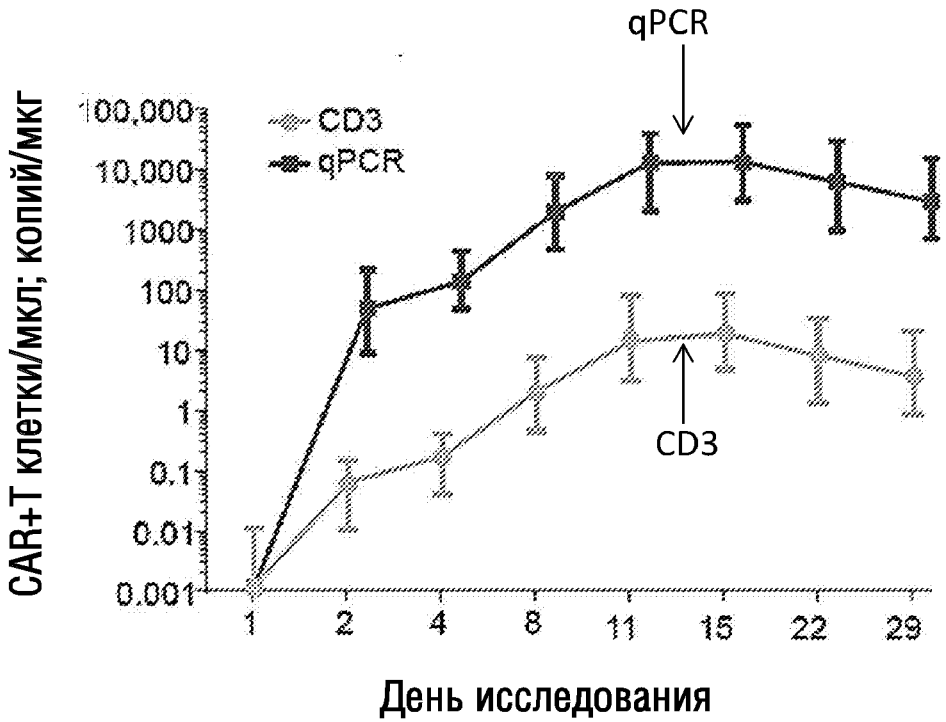


Единицы: LDH (Ед/л), Ферритин (нг/мл), CRP (мг/л), цитокины (пг/мл)

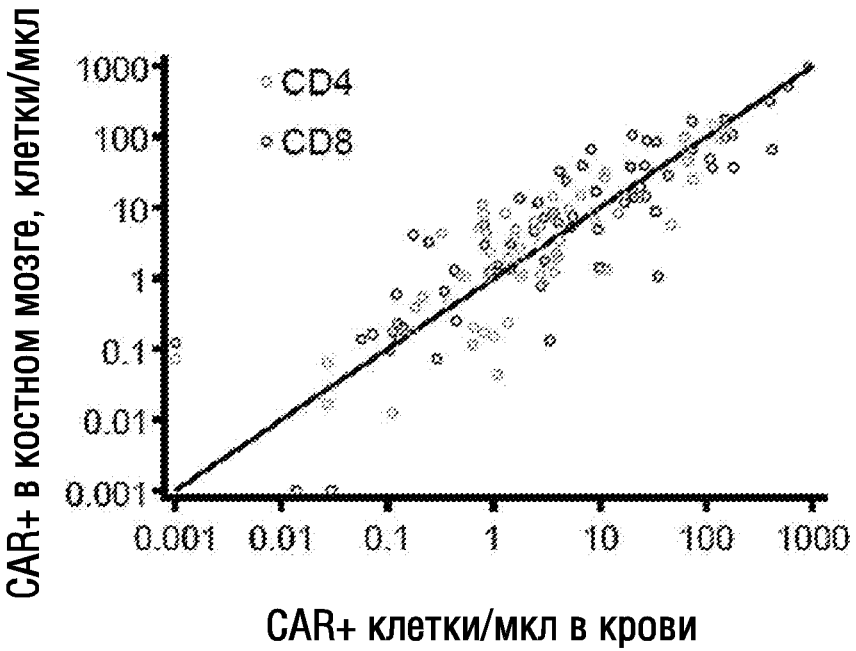
ФИГ.8


Полная
Основная
b, c
b
9/10 пациентов с ответом через 3 месяца сохраняют ответ в 6 месяцев
Наилучший общий ответ
CR
PR
SD
PD
NE
Продолжающ. ответ
Время до первого CR или PR (SD, PR превращ. в PR или CR)
CR
PR
SD
Уровень дозы
DL1S
DL2S
DL1D
Пациенты, леченные ≥ 6 месяцев назад
Пациенты, леченные ≥ 3 месяцев назад
Пациенты, леченные ≥ 1 месяца назад
0
1
3
6
9
12
Время без прогрессирования (месяцы)

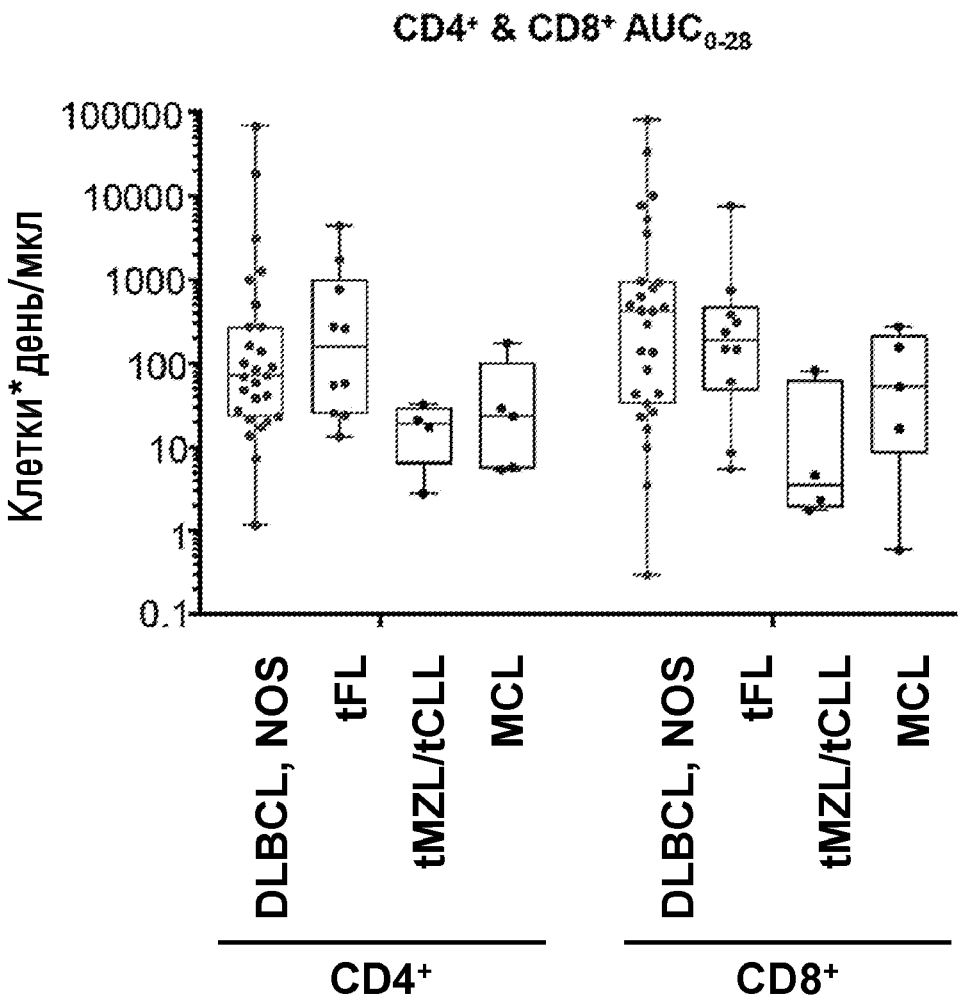
ФИГ.9А


qPCR
CD3
qPCR
CD3
CAR+Т клетки/мкл; копий/мкг
100,000
10,000
1000
100
10
1
0.1
0.01
0.001
1
2
4
8
11
15
22
29
День исследования

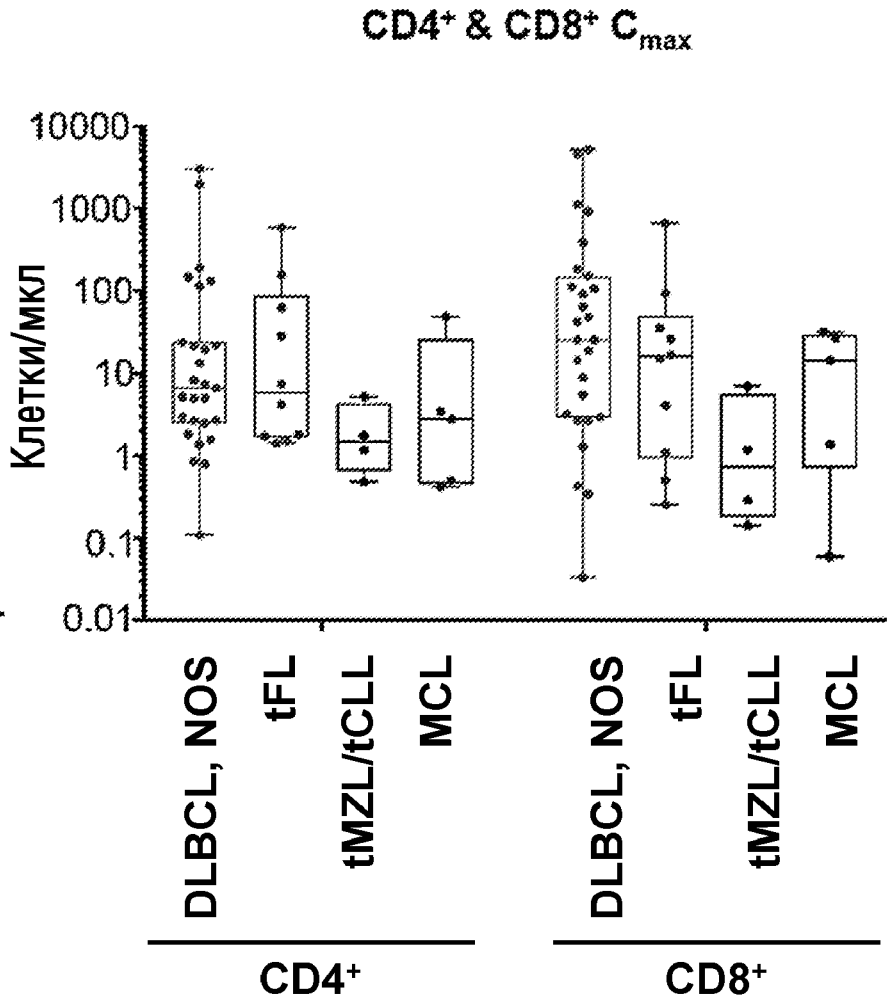
ФИГ.9В


CD4
CD8
CAR+ в костном мозге, клетки/мкл
1000
100
10
1
0.1
0.01
0.001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
CAR+ клетки/мкл в крови

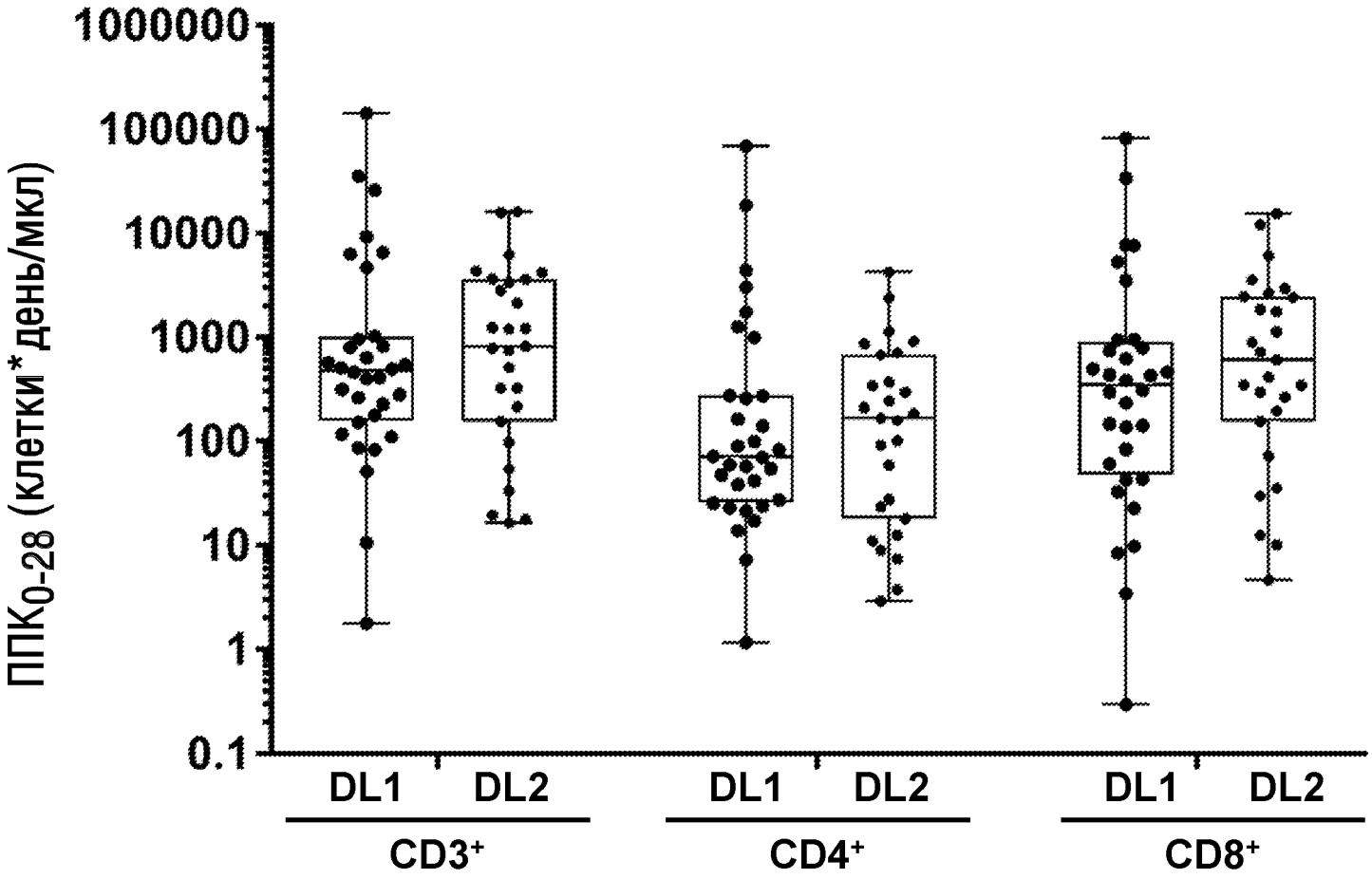
ФИГ.10А



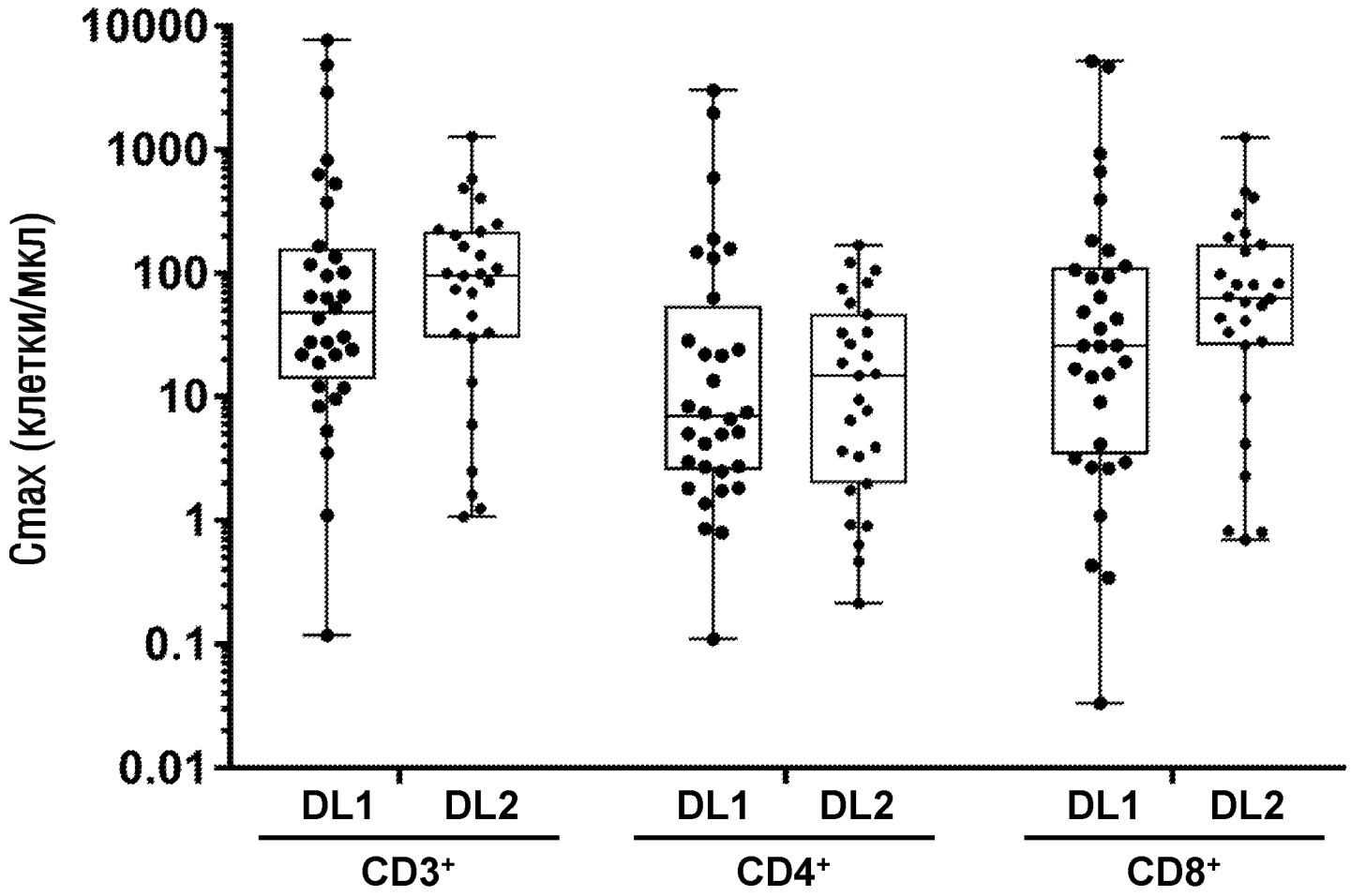
ФИГ.10В



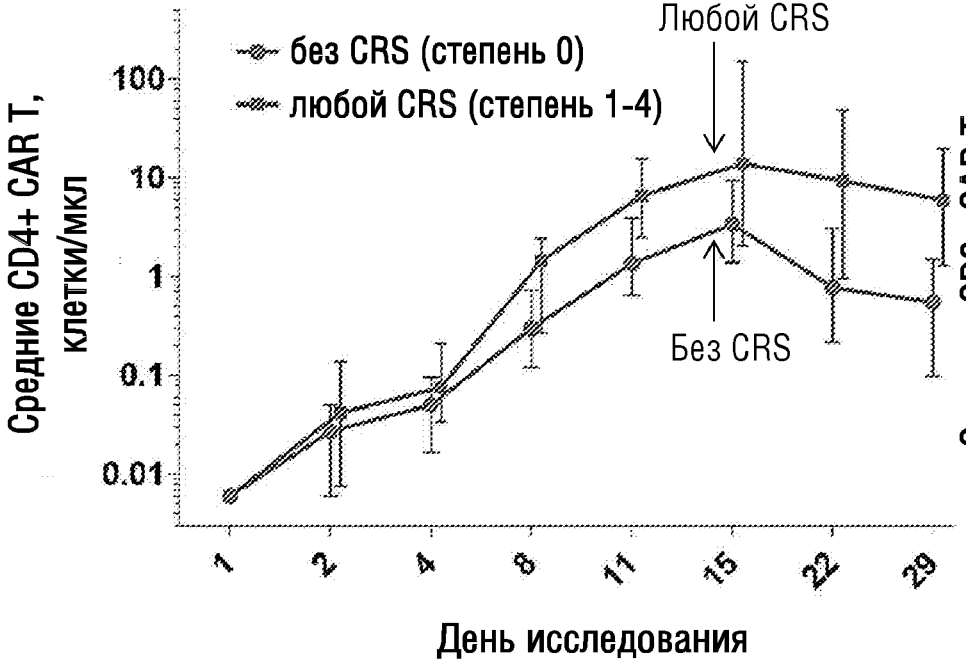
ФИГ.11А


1000000
100000
10000
1000
100
10
1
0.1
ППК0-28 (клетки*день/мкл)
DL1
DL2
DL1
DL2
DL1
DL2
CD3+
CD4+
CD8+

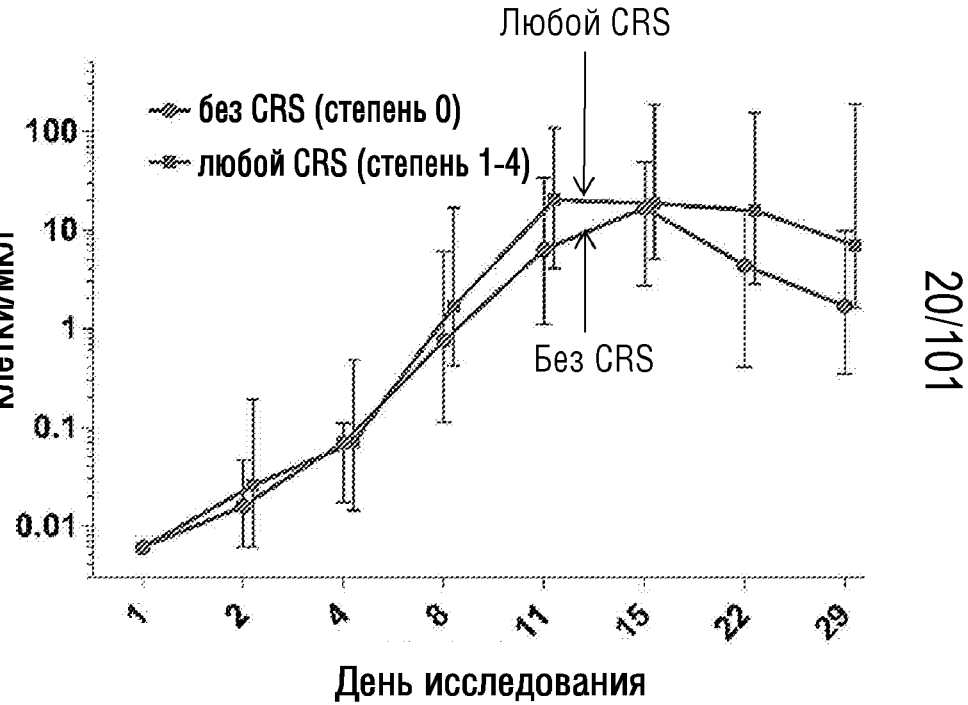
ФИГ.11B


Cmax (клетки/мкл)
10000
1000
100
10
1
0.1
0.01
DL1
DL2
DL1
DL2
DL1
DL2
CD3+
CD4+
CD8+

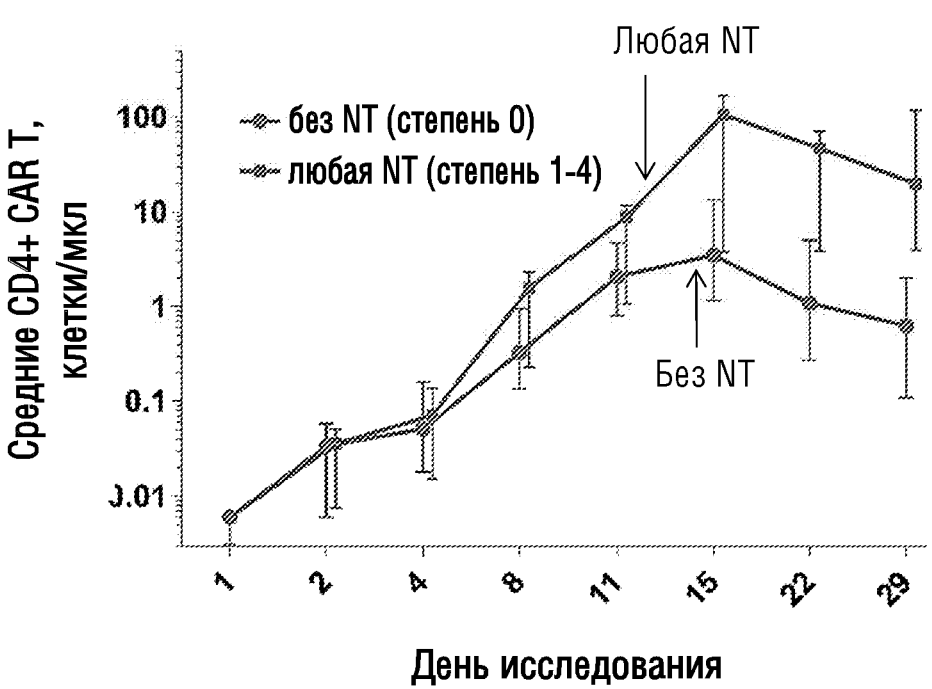
ФИГ.12А



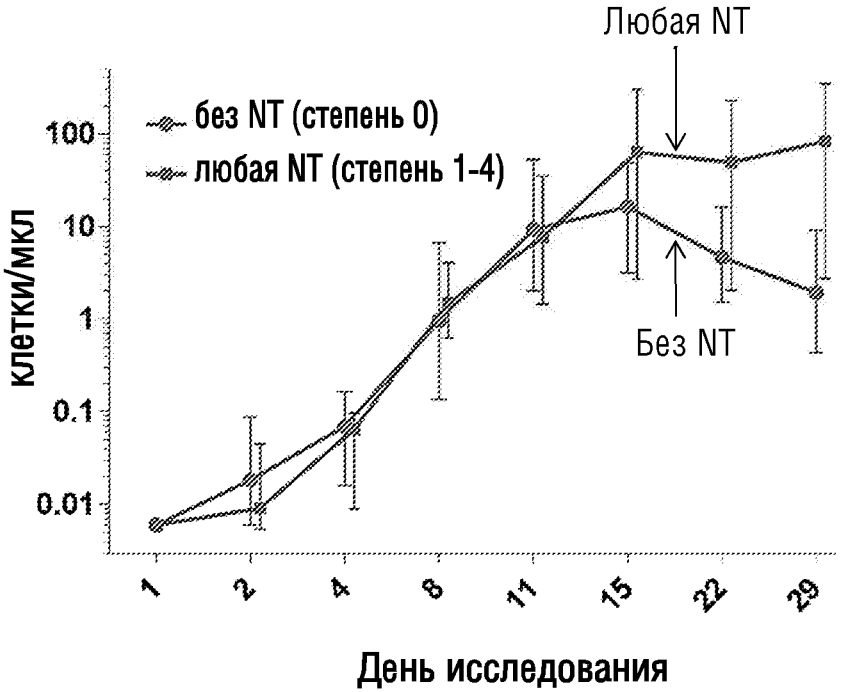
ФИГ.12В



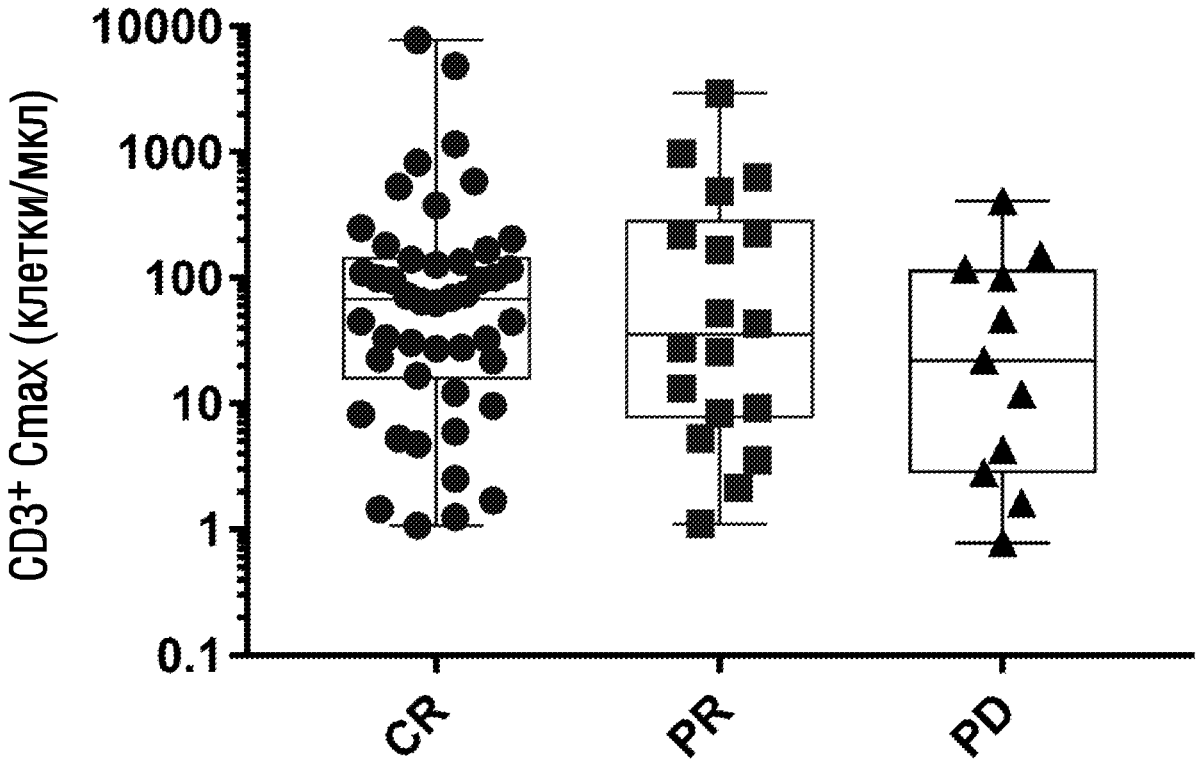
ФИГ.12C



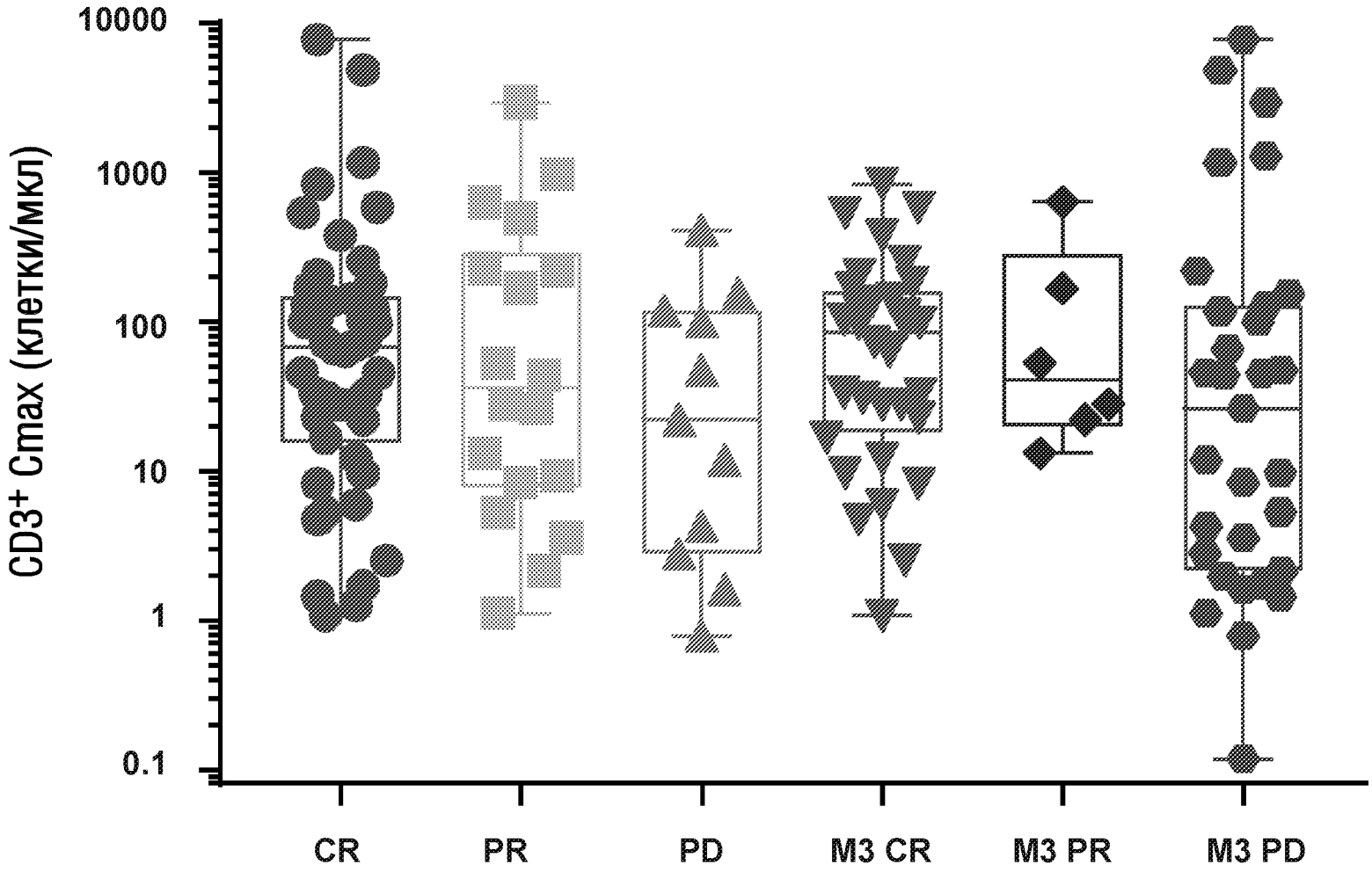
ФИГ.12D



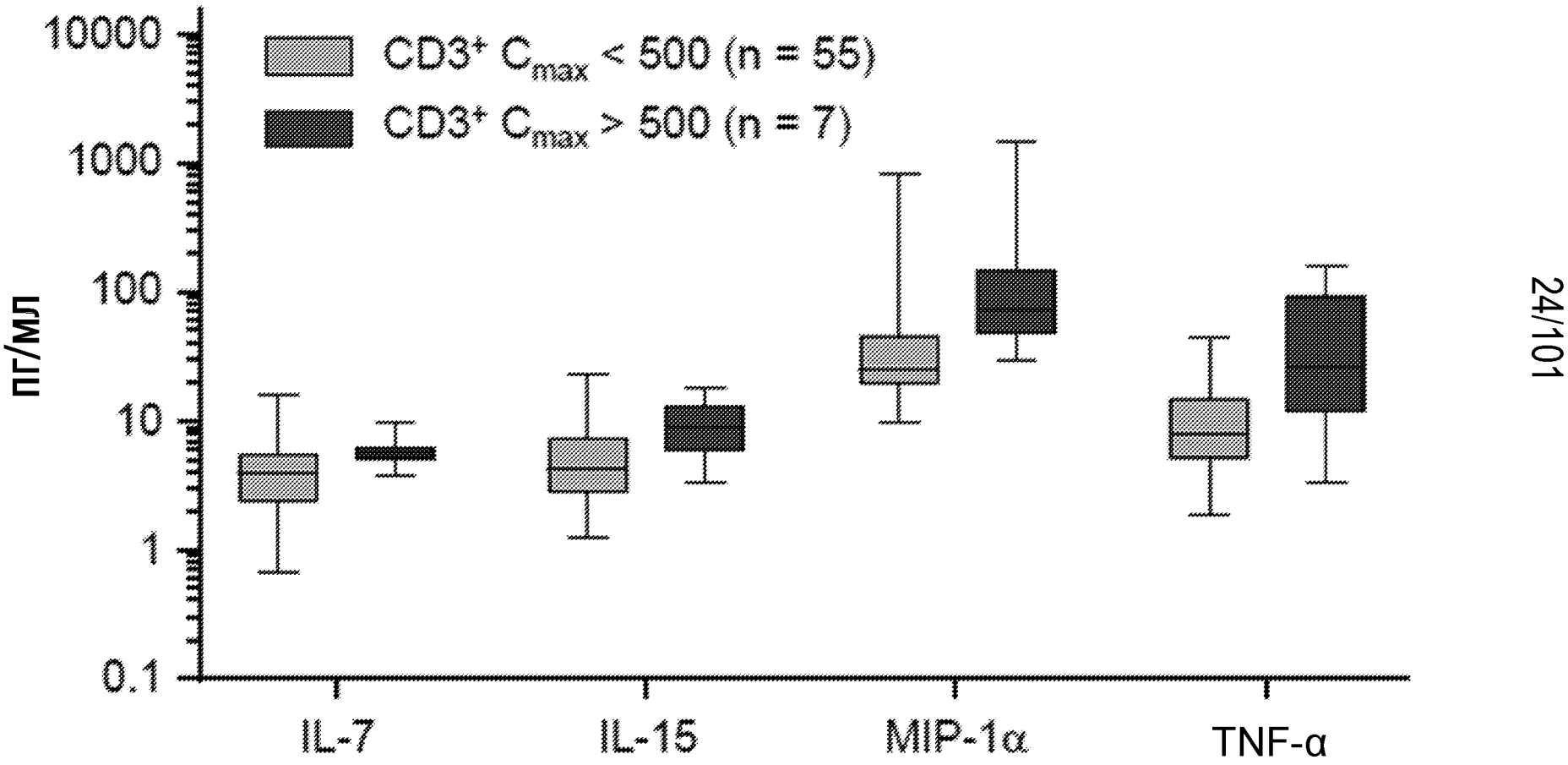
ФИГ.13А



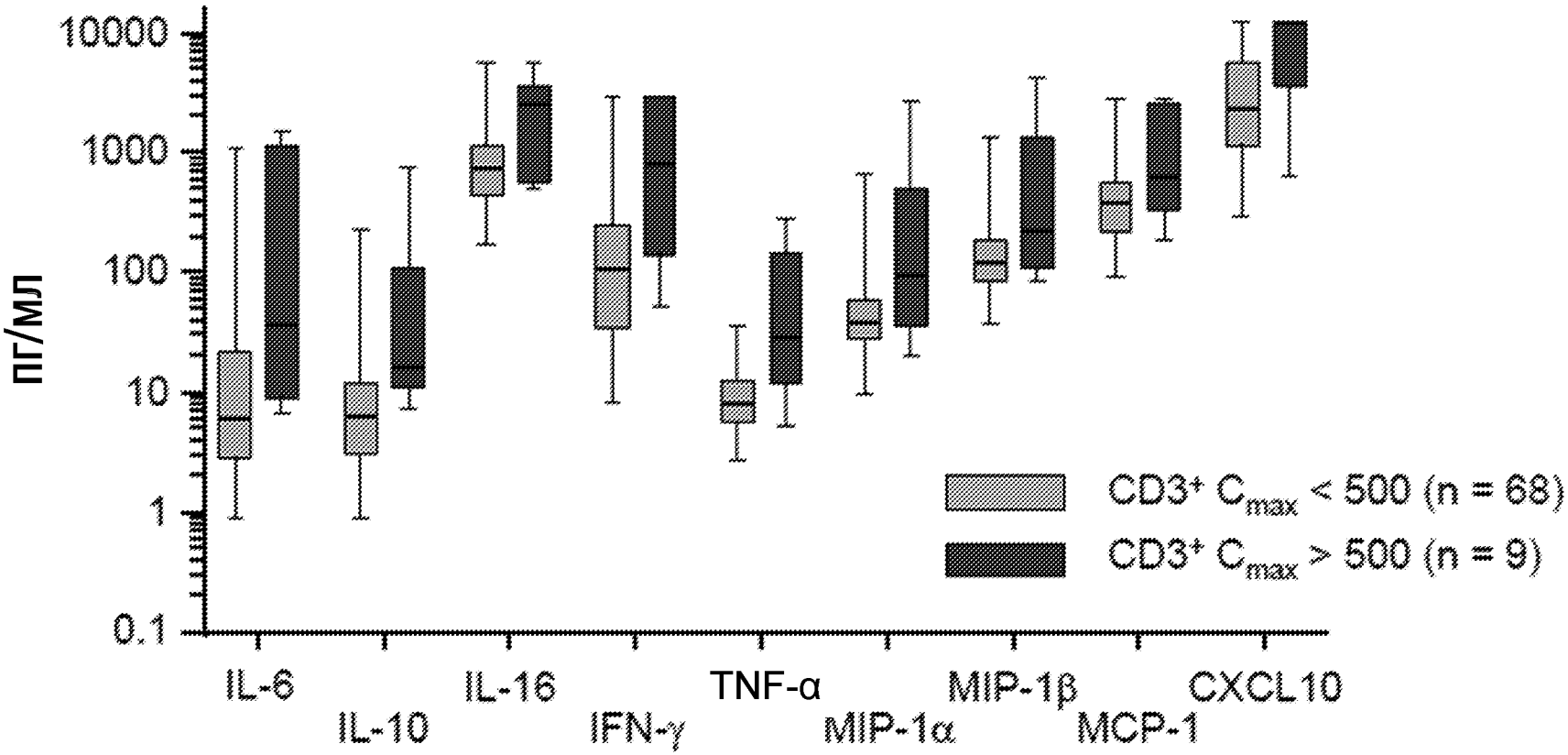
ФИГ.13B


10000
1000
100
10
1
0.1
CD3+ Cmax (клетки/мкл)
CR
PR
PD
M3 CR
M3 PR
M3 PD

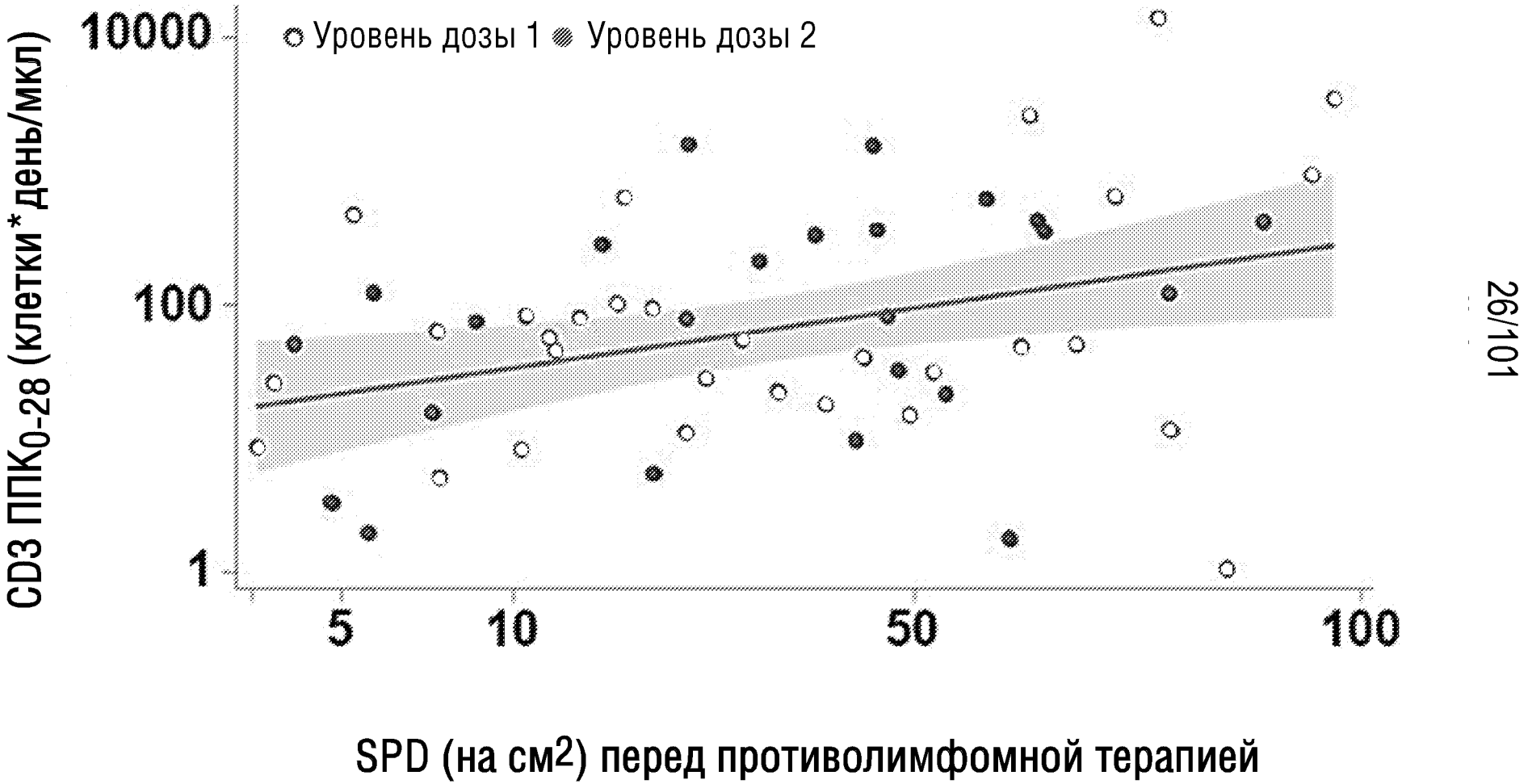
ФИГ.14А


10000
1000
100
10
1
0.1
пг/мл
CD3+ Cmax < 500 (n = 55)
CD3+ Cmax > 500 (n = 7)
IL-7
IL-15
MIP-1α
TNF-α

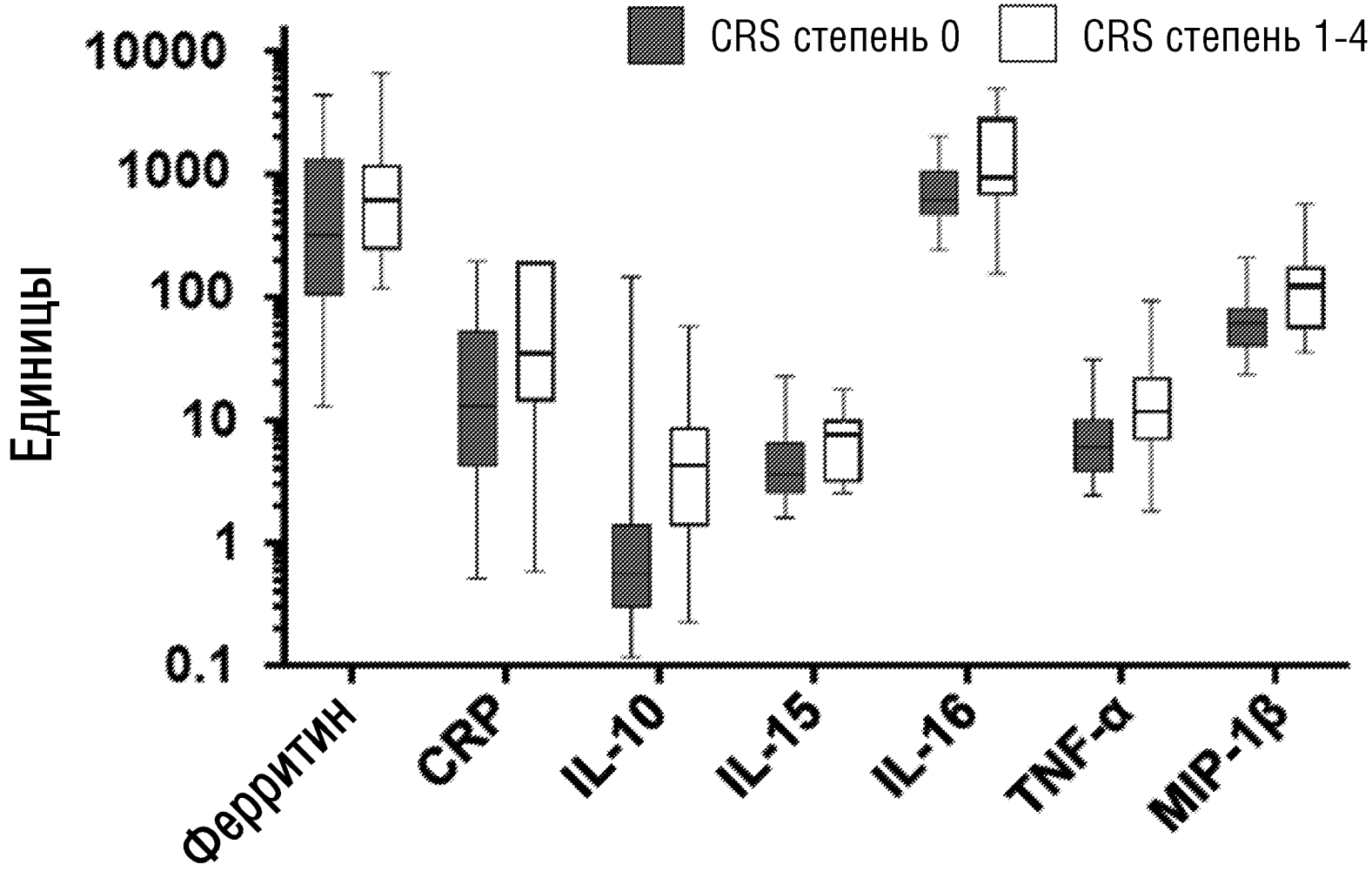
ФИГ.14B


10000
1000
100
10
1
0.1
пг/мл
IL-6
IL-10
IL-16
IFN-γ
TNF-α
MIP-1α
MIP-1β
MCP-1
CXCL10
CD3+ Cmax < 500 (n = 68)
CD3+ Cmax > 500 (n = 9)

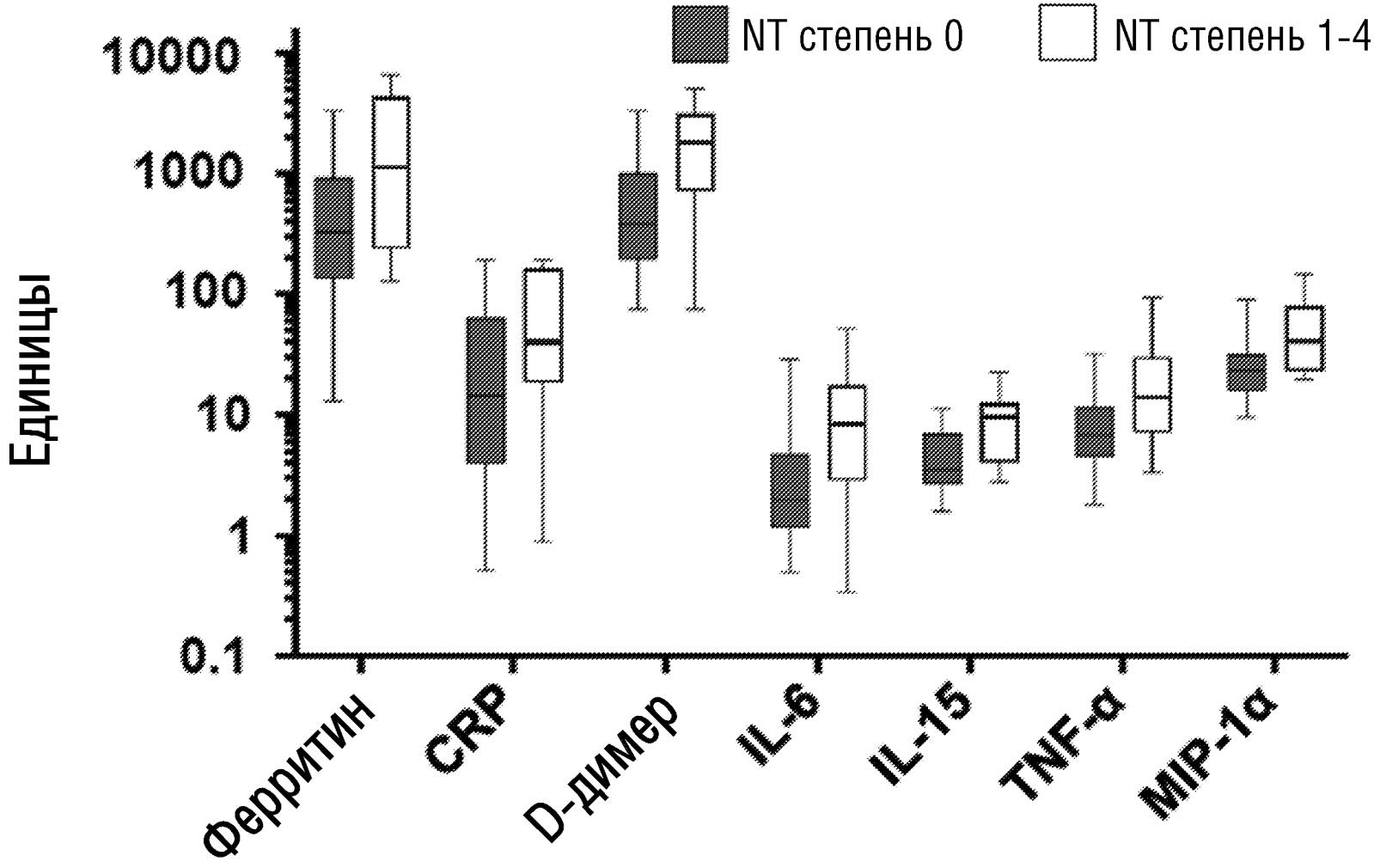
ФИГ.15


10000
100
1
Уровень дозы 1
Уровень дозы 2
CD3 ППК0-28 (клетки*день/мкл)
5
10
50
100
SPD (на см2) перед противолимфомной терапией

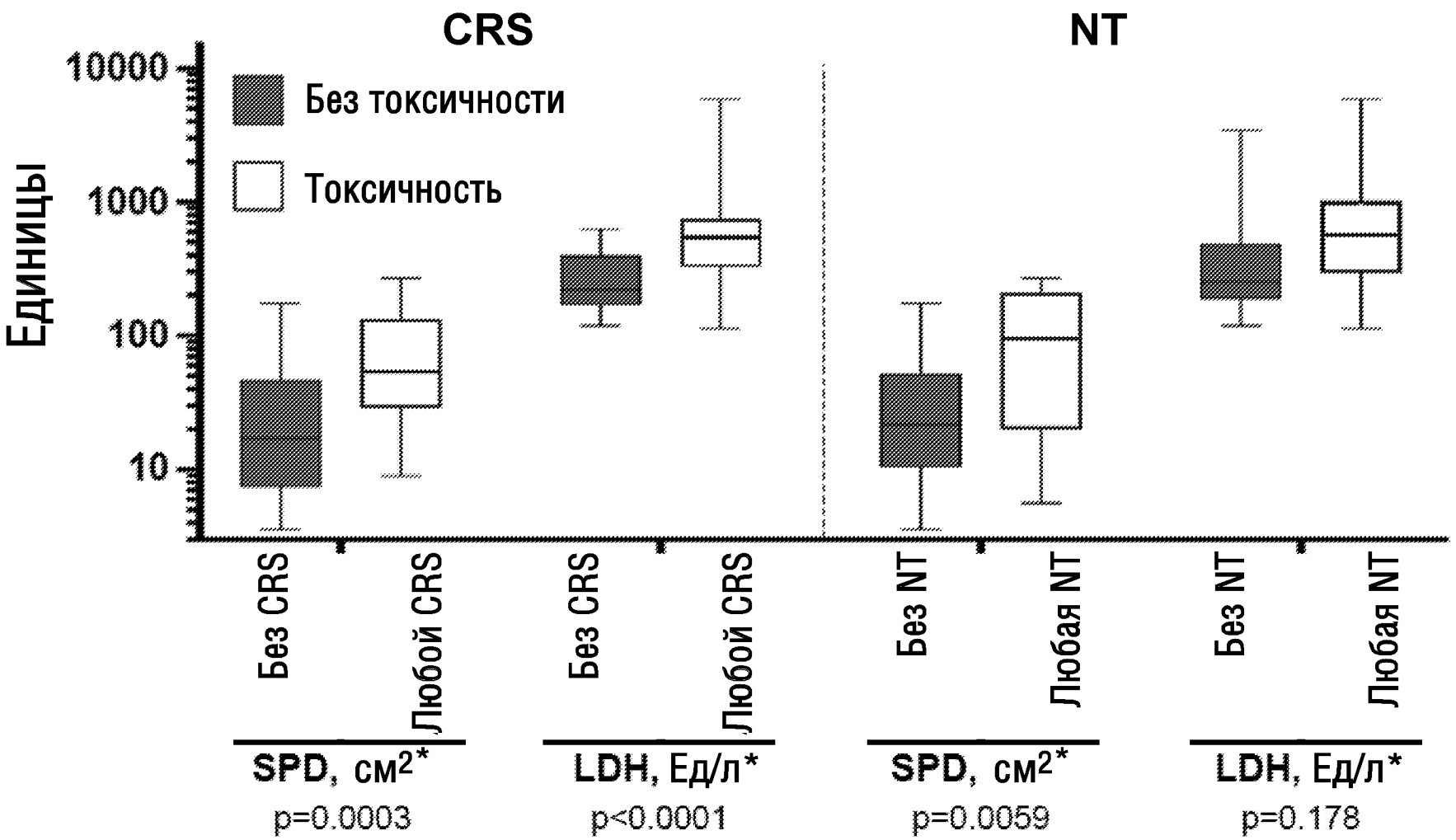
ФИГ.16А


CRS степень 0
CRS степень 1-4
Единицы
10000
1000
100
10
1
0.1
Ферритин
CRP
IL-10
IL-15
IL-16
TNF-α
MIP-1β

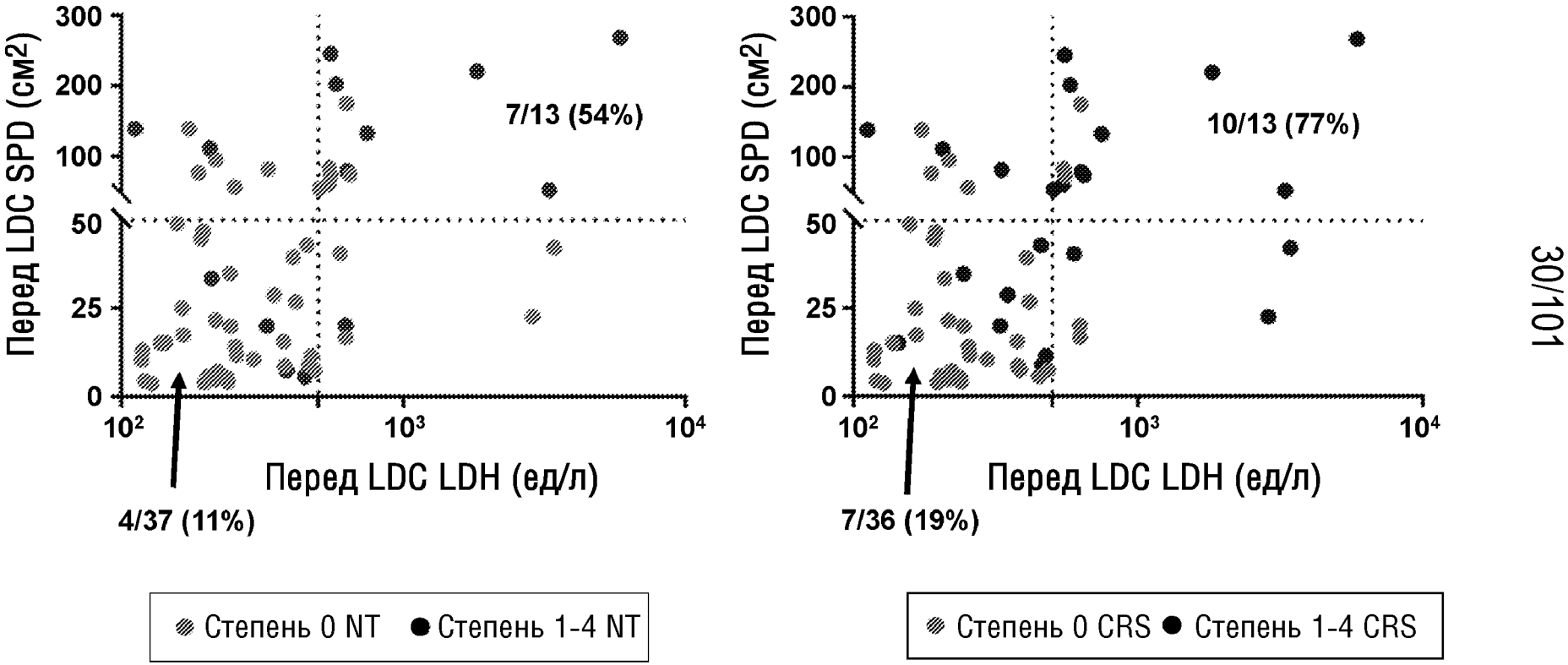
ФИГ.16B


NT степень 0
NT степень 1-4
Единицы
10000
1000
100
10
1
0.1
Ферритин
CRP
D-димер
IL-6
IL-15
TNF-α
MIP-1α

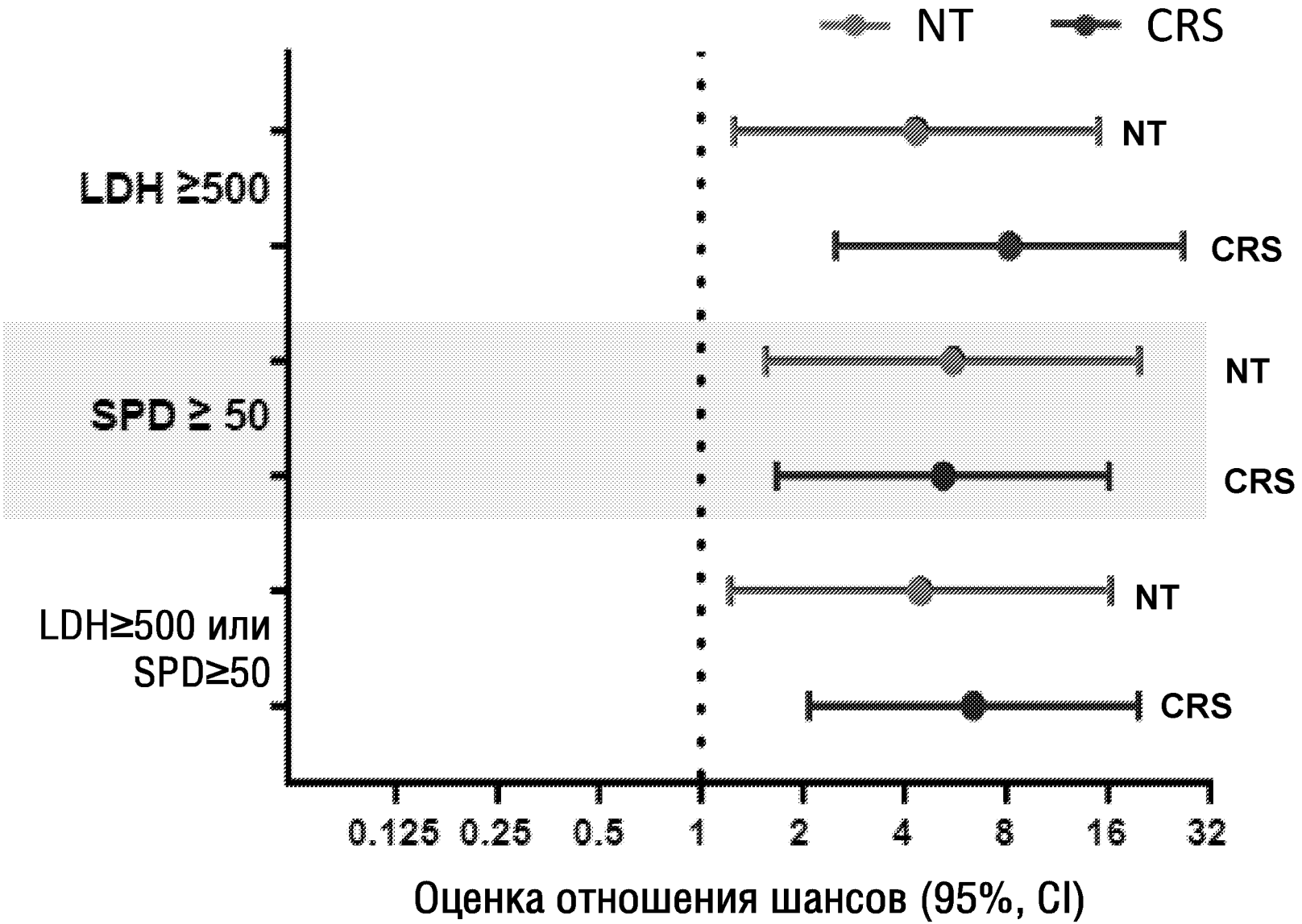
ФИГ.17


CRS
NT
Без токсичности
Токсичность
Единицы
10000
1000
100
10
Без CRS
Любой CRS
Без CRS
Любой CRS
Без NT
Любая NT
Без NT
Любая NT
SPD, см2*
p=0.0003
LDH, Ед/л*
p<0.0001
SPD, см2*
p=0.0059
LDH, Ед/л*
p=0.178

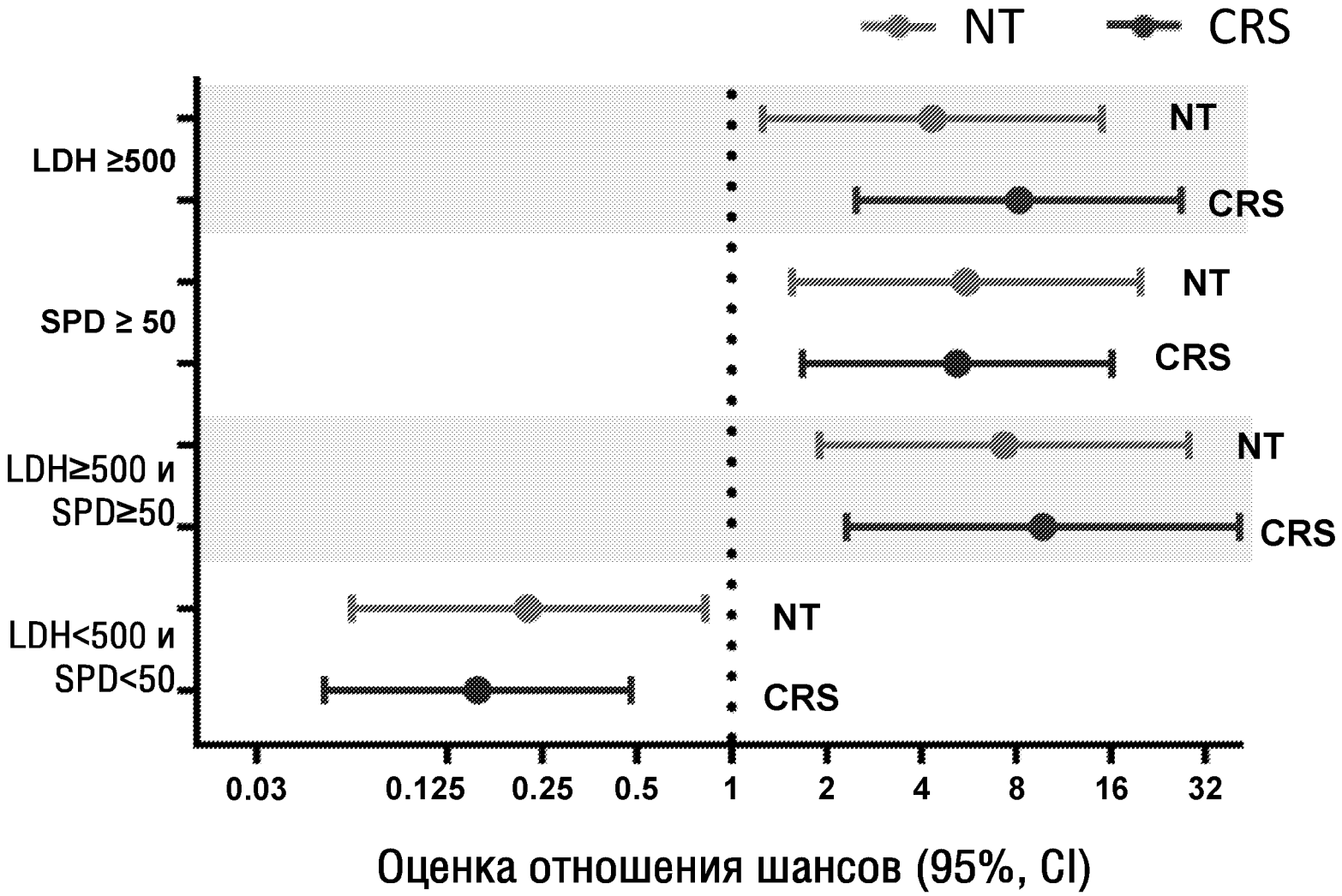
ФИГ.18А


Перед LDC SPD (см2)
300
200
100
50
25
0
10²
10³
10⁴
Перед LDC LDH (ед/л)
7/13 (54%)
4/37 (11%)
Степень 0 NT
Степень 1-4 NT
Перед LDC SPD (см2)
300
200
100
50
25
0
10²
10³
10⁴
Перед LDC LDH (ед/л)
10/13 (77%)
7/36 (19%)
Степень 0 CRS
Степень 1-4 CRS

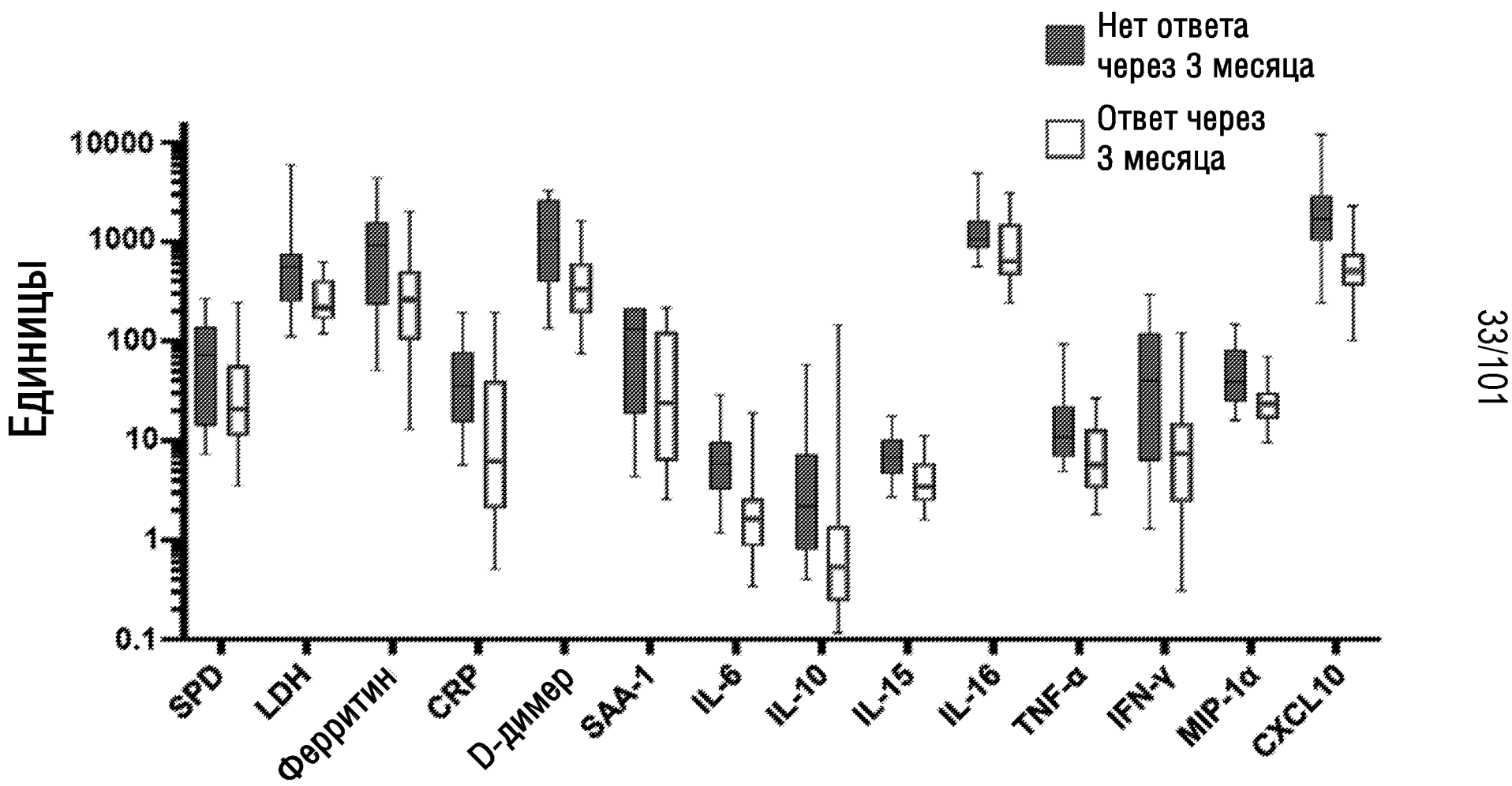
ФИГ.18B


NT
CRS
LDH ≥500
NT
CRS
SPD ≥ 50
NT
CRS
LDH≥500 или
SPD≥50
NT
CRS
0.125
0.25
0.5
1
2
4
8
16
32
Оценка отношения шансов (95%, CI)

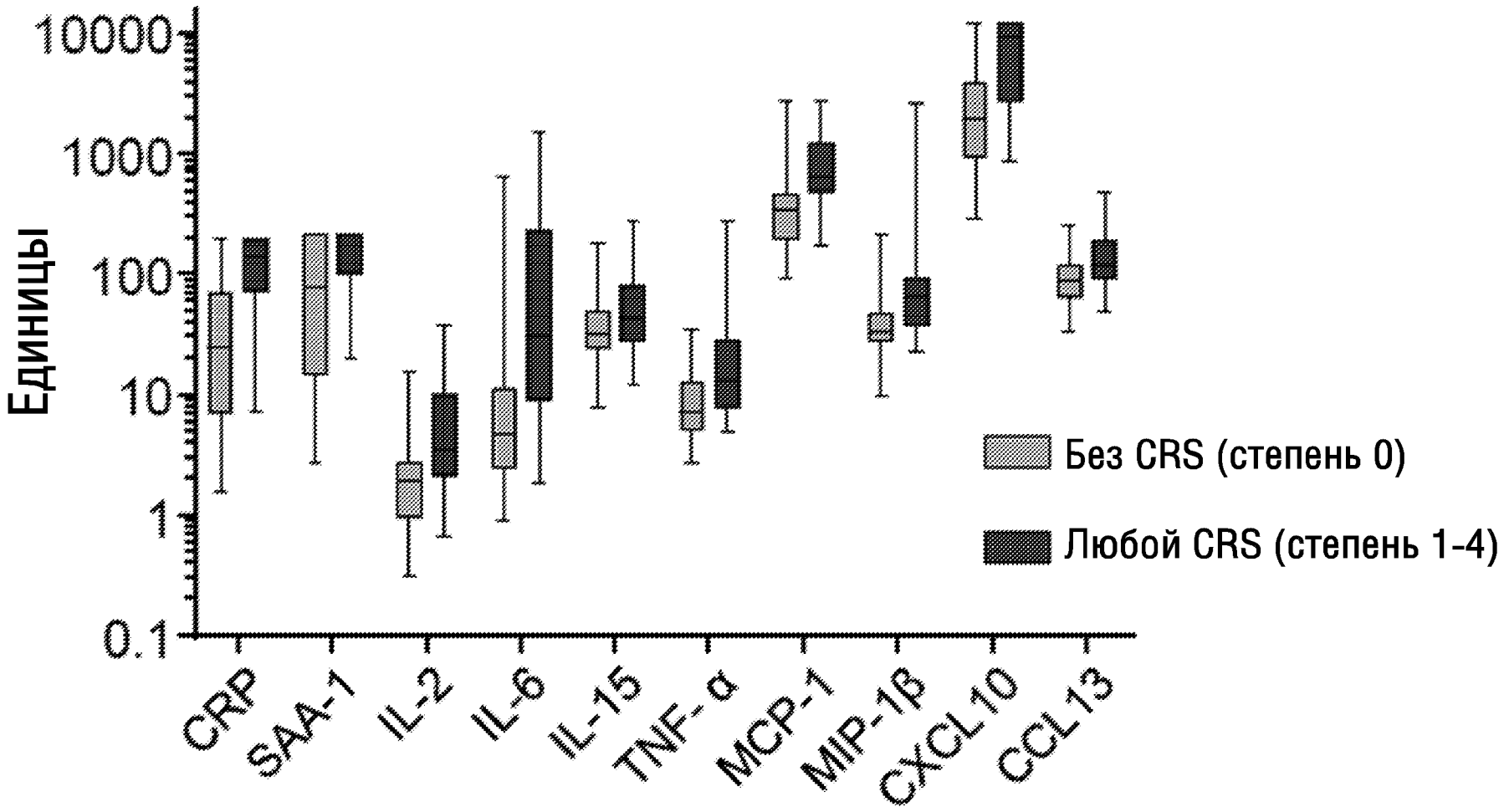
ФИГ.18C


NT
CRS
LDH ≥500
SPD ≥ 50
LDH≥500 и SPD≥50
LDH<500 и SPD<50
NT
CRS
NT
CRS
NT
CRS
NT
CRS
0.03
0.125
0.25
0.5
1
2
4
8
16
32
Оценка отношения шансов (95%, CI)

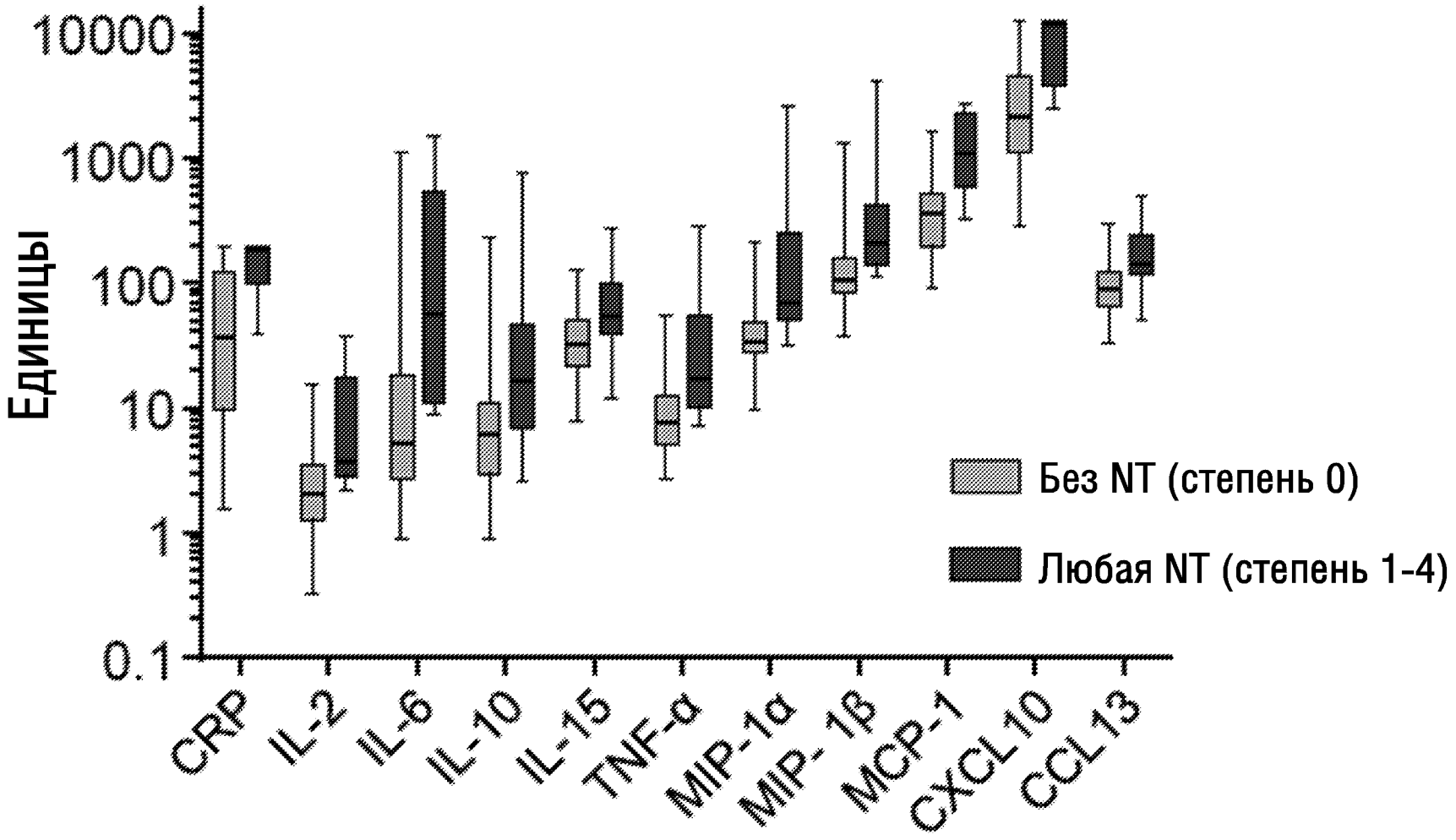
ФИГ.19


Нет ответа через 3 месяца
Ответ через 3 месяца
Единицы
10000
1000
100
10
1
0.1
SPD
LDH
Ферритин
CRP
D-димер
SAA-1
IL-6
IL-10
IL-15
IL-16
TNF-α
IFN-γ
MIP-1α
CXCL10

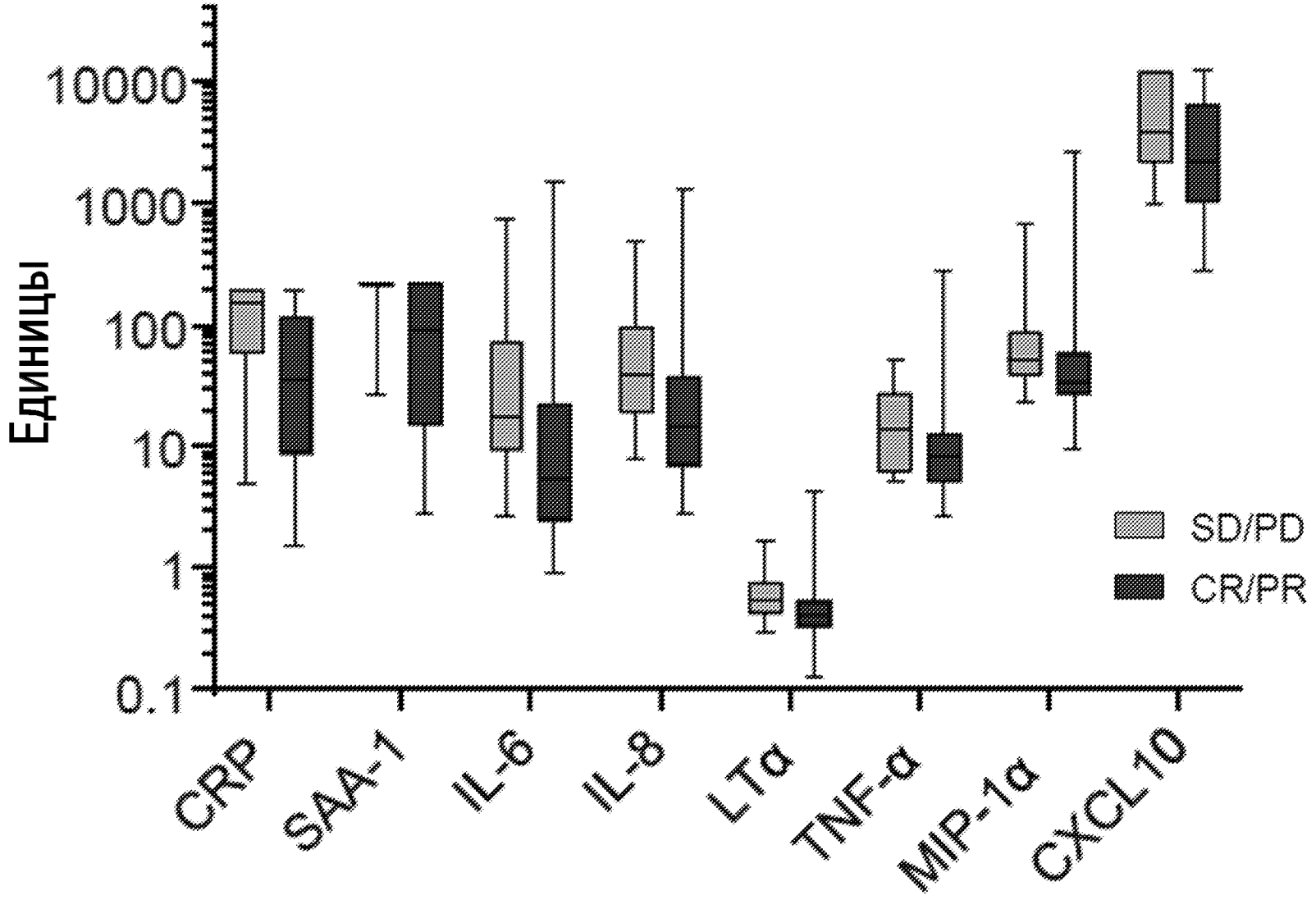
ФИГ.20А


Единицы
10000
1000
100
10
1
0.1
CRP
SAA-1
IL-2
IL-6
IL-15
TNF-α
MCP-1
MIP-1β
CXCL10
CCL13
Без CRS (степень 0)
Любой CRS (степень 1-4)

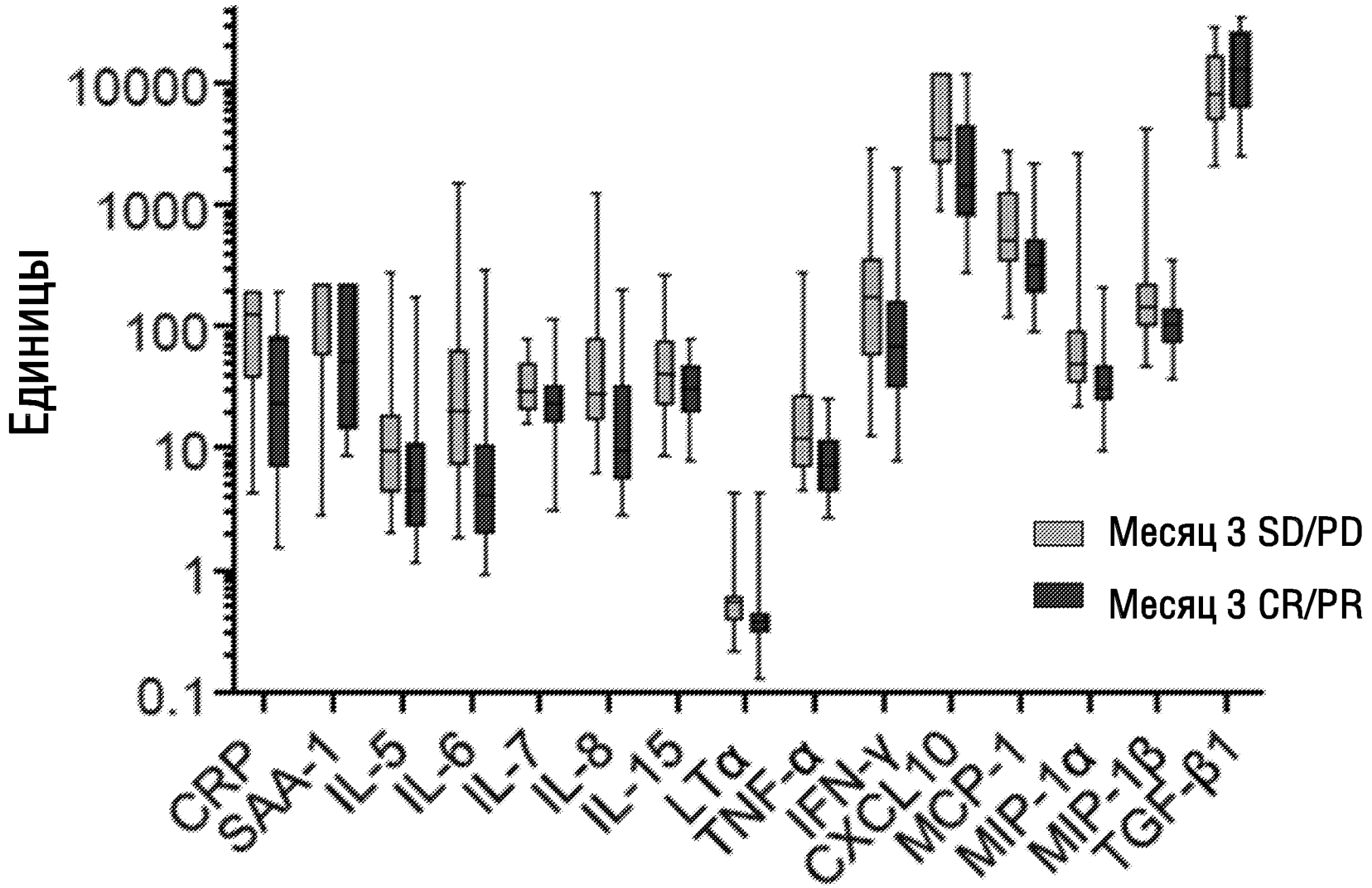
ФИГ.20В


Единицы
10000
1000
100
10
1
0.1
CRP
IL-2
IL-6
IL-10
IL-15
TNF-α
MIP-1α
MIP-1β
MCP-1
CXCL10
CCL13
Без NT (степень 0)
Любая NT (степень 1-4)

ФИГ.21А

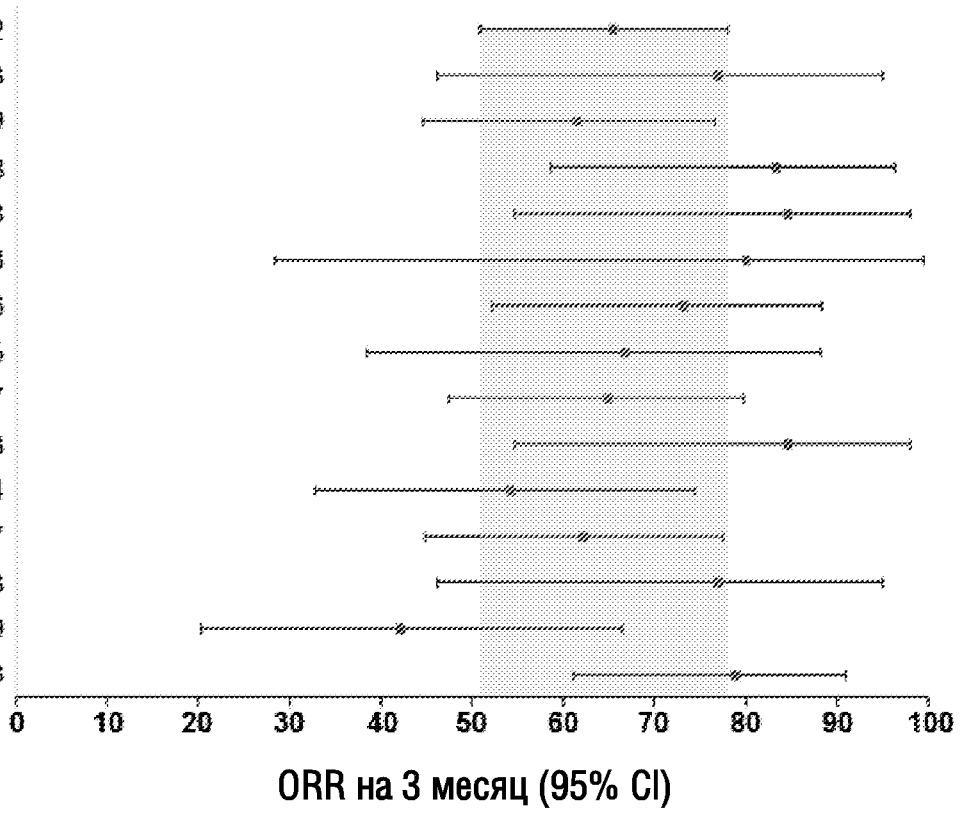

Единицы
10000
1000
100
10
1
0.1
SD/PD
CR/PR
CRP
SAA-1
IL-6
IL-8
LTα
TNF-α
MIP-1α
CXCL10

ФИГ.21B

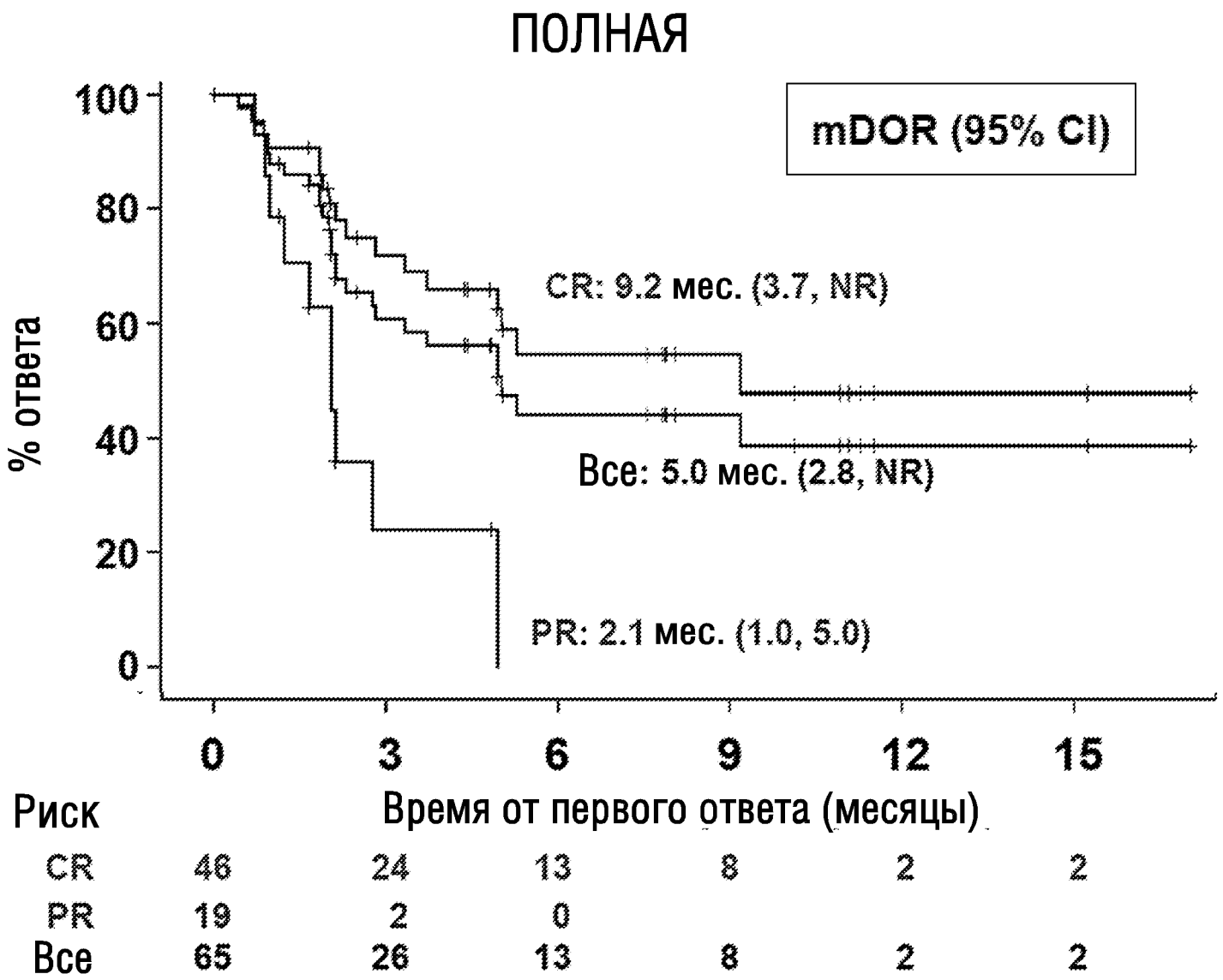

Единицы
10000
1000
100
10
1
0.1
CRP
SAA-1
IL-5
IL-6
IL-7
IL-8
IL-15
LTα
TNF-α
IFN-γ
CXCL10
MCP-1
MIP-1α
MIP-1β
TGF-β1
Месяц 3 SD/PD
Месяц 3 CR/PR

ФИГ.22

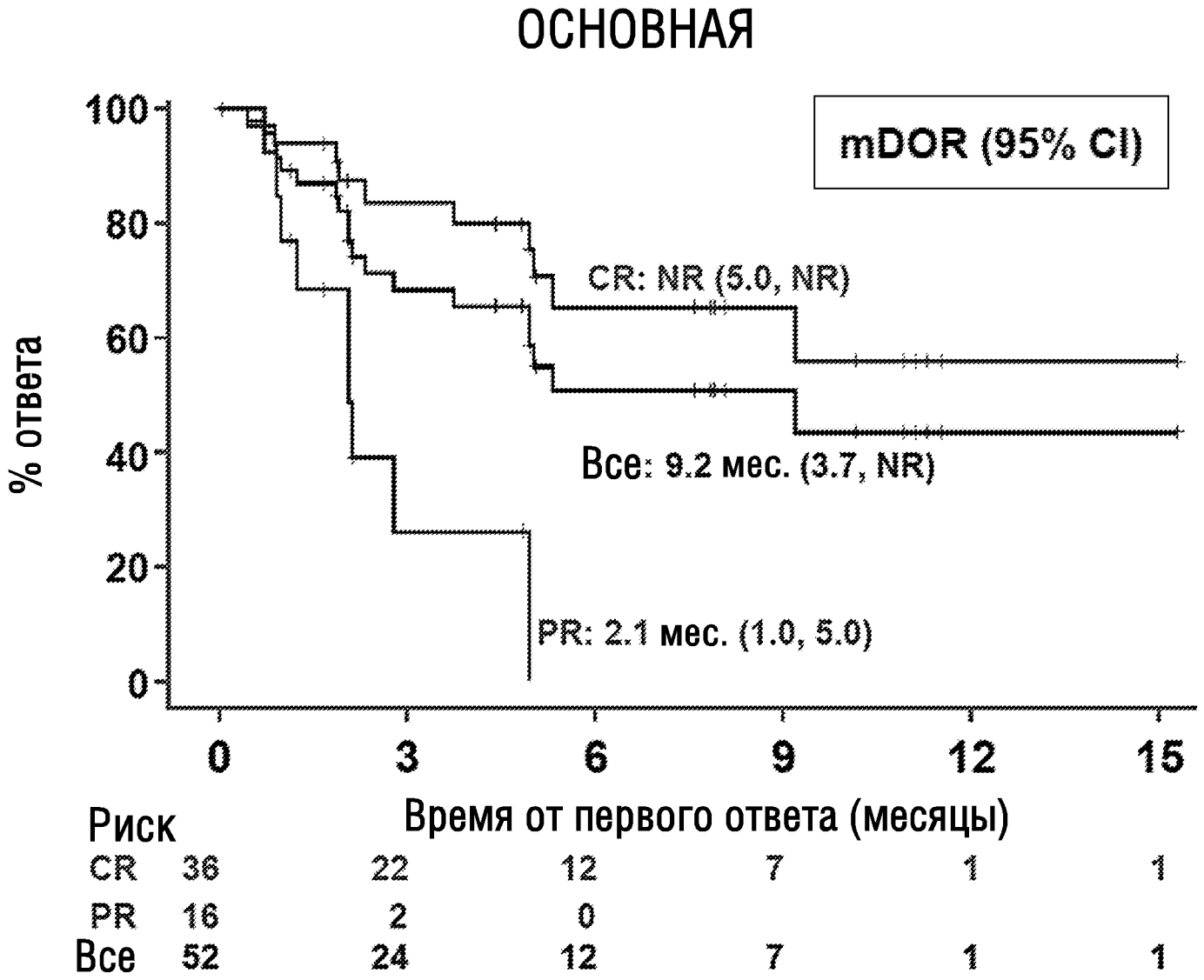
Популяция	ORR (95% CI)	n
Основная популяция пациентов	65.4 (50.9, 78)	52
tFL	76.9 (46.2, 95)	13
DLBCL NOS	61.5 (44.6, 76.6)	39
Двойная/тройная или двойной экспрессор	83.3 (58.6, 96.4)	18
Двойная/тройная	84.6 (54.6, 98.1)	13
Двойной экспрессор	80 (28.4, 99.5)	13
Никогда CR	73.1 (52.2, 88.4)	26
Химиочувствительная	66.7 (38.4, 88.2)	15
Химиорефрактерная	64.9 (47.5, 79.8)	37
Рецидив < 12 м после последней ASCT	84.6 (54.6, 98.1)	13
SD/D до последней химии	54.2 (32.8, 74.4)	24
Стадия 3/4	62.2 (44.8, 77.5)	37
Стадия 1/2	76.9 (46.2, 95)	13
IPI 3-5	42.1 (20.3, 66.5)	19
IPI 0-2	78.8 (61.1, 91)	33



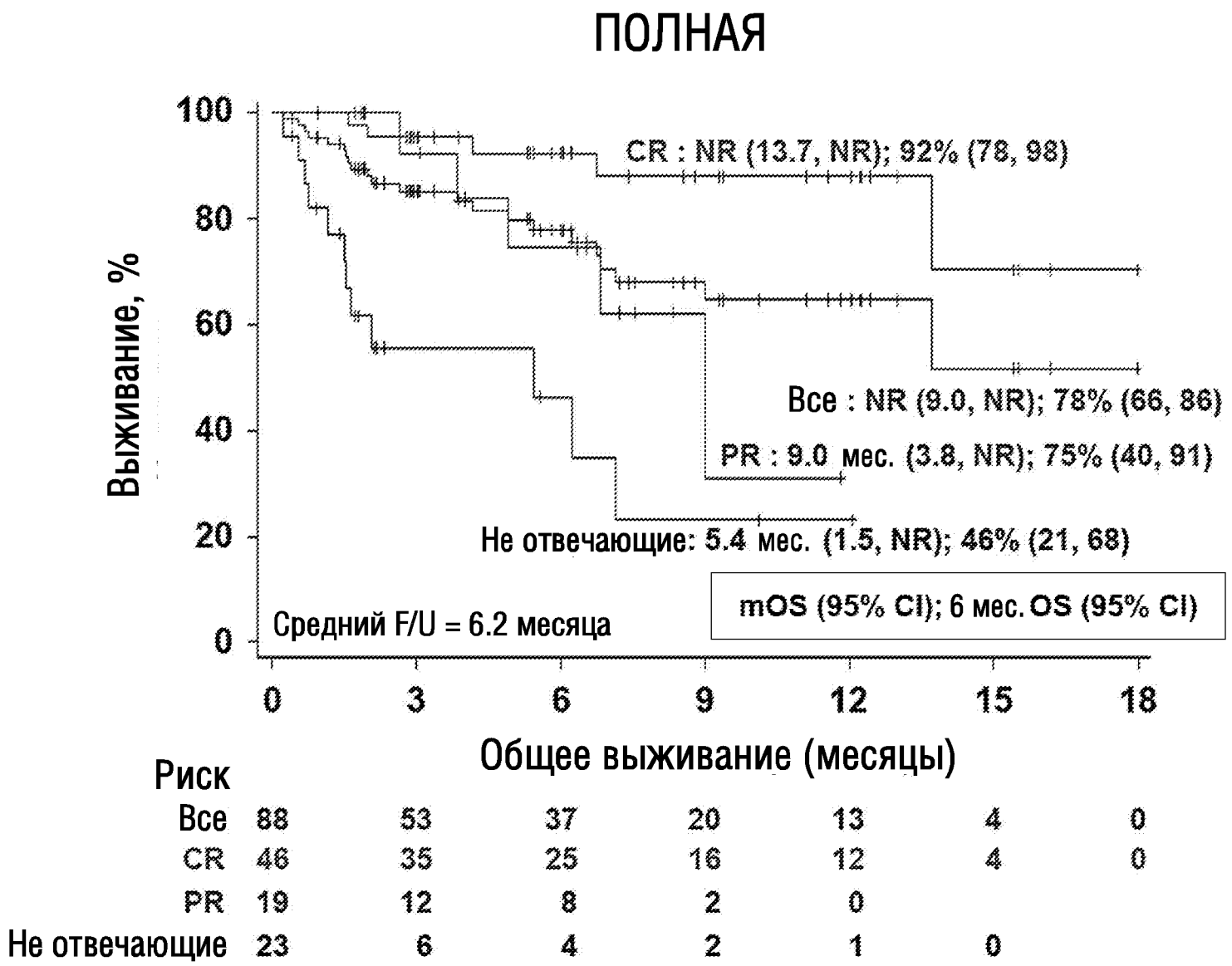
ФИГ.23А


ПОЛНАЯ
mDOR (95% CI)
CR: 9.2 мес. (3.7, NR)
Все: 5.0 мес. (2.8, NR)
PR: 2.1 мес. (1.0, 5.0)
% ответа
100
80
60
40
20
0
0
3
6
9
12
15
Время от первого ответа (месяцы)
Риск
CR 46 24 13 8 2 2
PR 19 2 0
Все 65 26 13 8 2 2

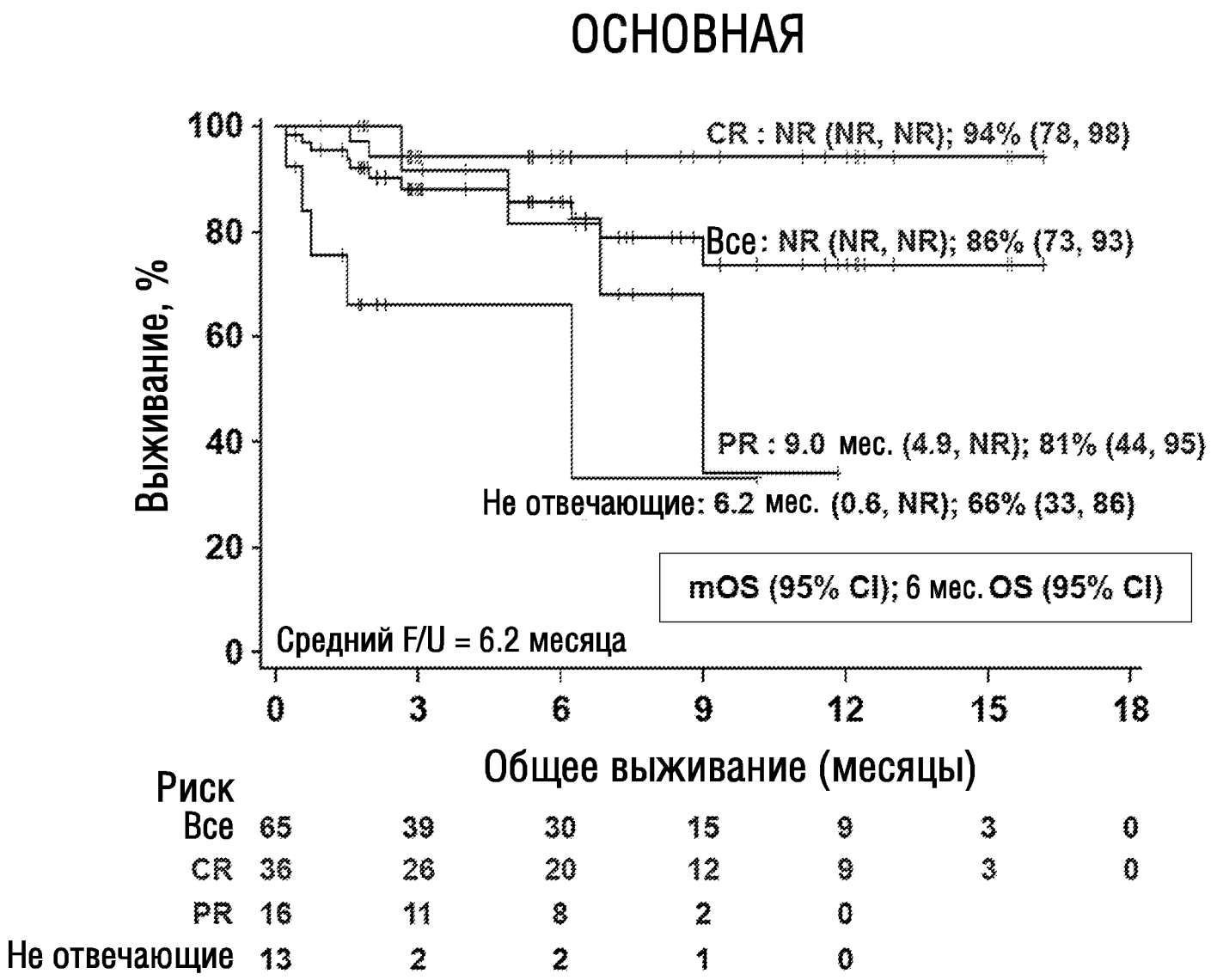
ФИГ.23B


ОСНОВНАЯ
mDOR (95% CI)
CR: NR (5.0, NR)
Все: 9.2 мес. (3.7, NR)
PR: 2.1 мес. (1.0, 5.0)
% ответа
100
80
60
40
20
0
0
3
6
9
12
15
Время от первого ответа (месяцы)
Риск
CR 36 22 12 7 1 1
PR 16 2 0
Все 52 24 12 7 1 1

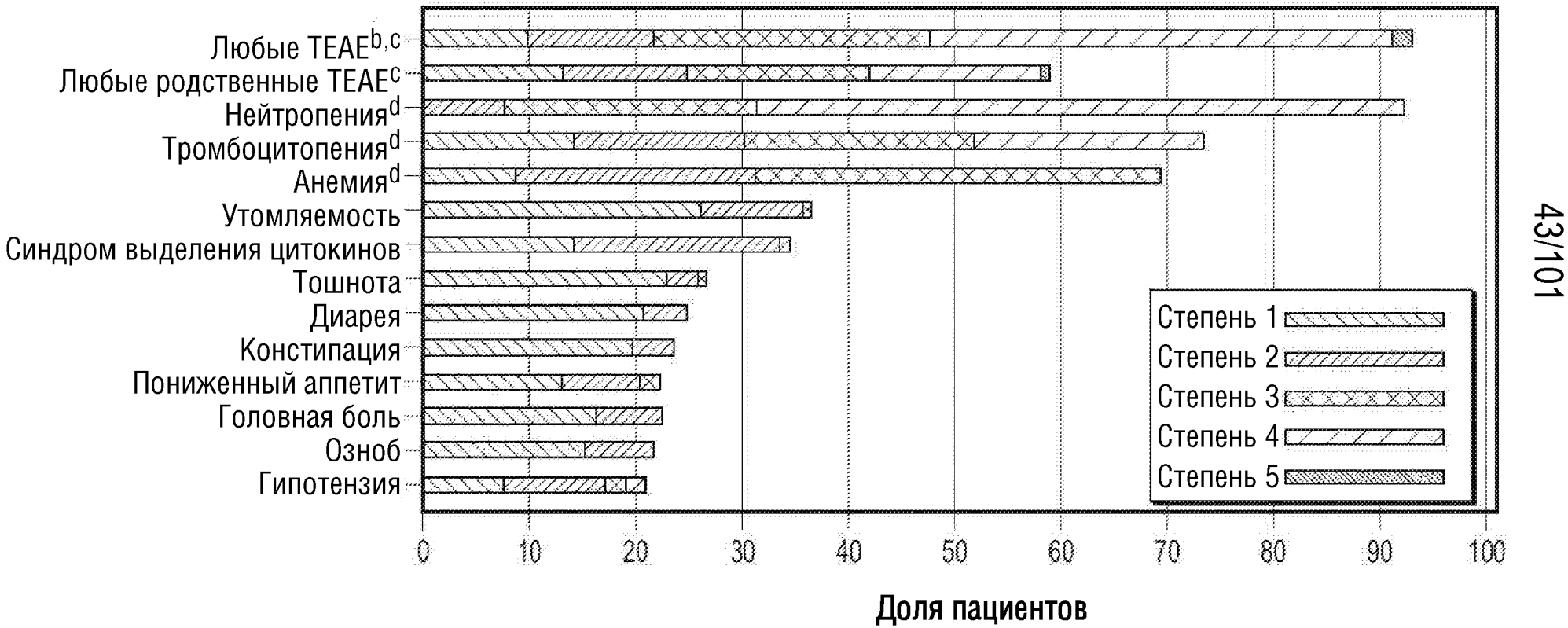
ФИГ.23C


ПОЛНАЯ
Выживание, %
100
80
60
40
20
0
CR : NR (13.7, NR); 92% (78, 98)
Все : NR (9.0, NR); 78% (66, 86)
PR : 9.0 мес. (3.8, NR); 75% (40, 91)
Не отвечающие: 5.4 мес. (1.5, NR); 46% (21, 68)
mOS (95% CI); 6 мес. OS (95% CI)
Средний F/U = 6.2 месяца
0 3 6 9 12 15 18
Общее выживание (месяцы)
Риск
Все 88 53 37 20 13 4 0
CR 46 35 25 16 12 4 0
PR 19 12 8 2 0
Не отвечающие 23 6 4 2 1 0

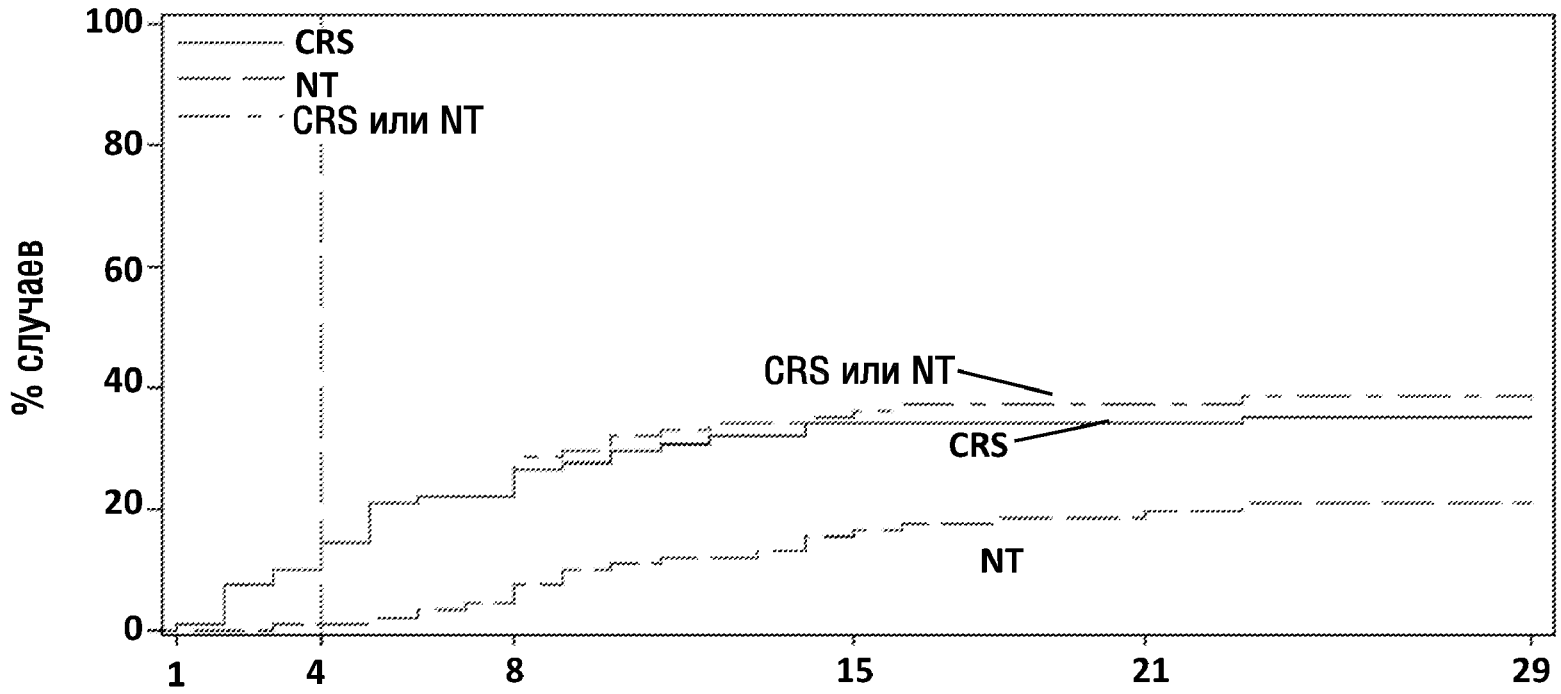
ФИГ.23D


ОСНОВНАЯ
Выживание, %
100
80
60
40
20
0
CR : NR (NR, NR); 94% (78, 98)
Все: NR (NR, NR); 86% (73, 93)
PR : 9.0 мес. (4.9, NR); 81% (44, 95)
Не отвечающие: 6.2 мес. (0.6, NR); 66% (33, 86)
mOS (95% CI); 6 мес. OS (95% CI)
Средний F/U = 6.2 месяца
0 3 6 9 12 15 18
Общее выживание (месяцы)
Риск
Все 65 39 30 15 9 3 0
CR 36 26 20 12 9 3 0
PR 16 11 8 2 0
Не отвечающие 13 2 2 1 0

ФИГ.24

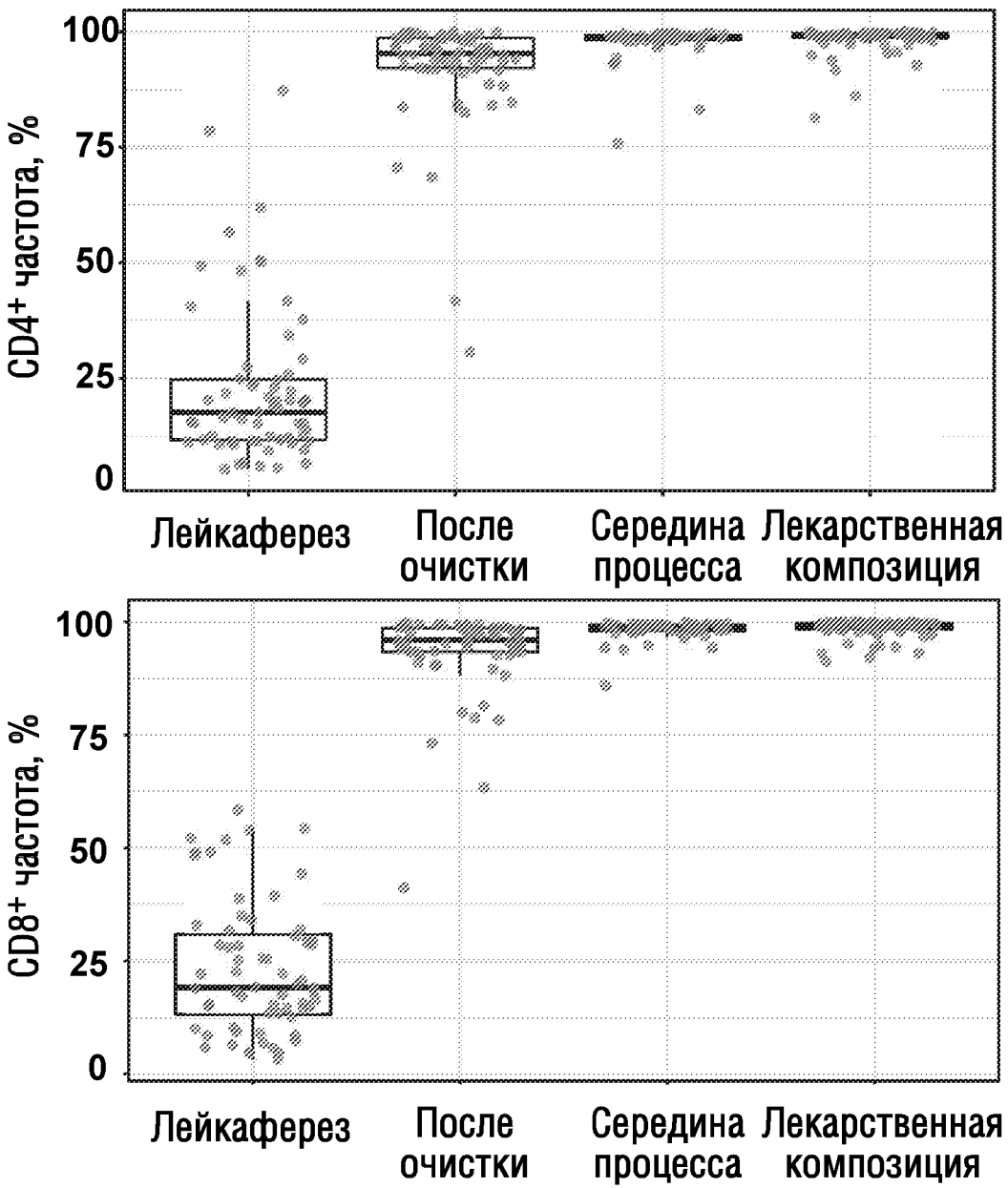

Любые TEAE[b,c]
Любые родственные TEAE[c]
Нейтропения[d]
Тромбоцитопения[d]
Анемия[d]
Утомляемость
Синдром выделения цитокинов
Тошнота
Диарея
Констипация
Пониженный аппетит
Головная боль
Озноб
Гипотензия
Степень 1
Степень 2
Степень 3
Степень 4
Степень 5
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
Доля пациентов

ФИГ.25

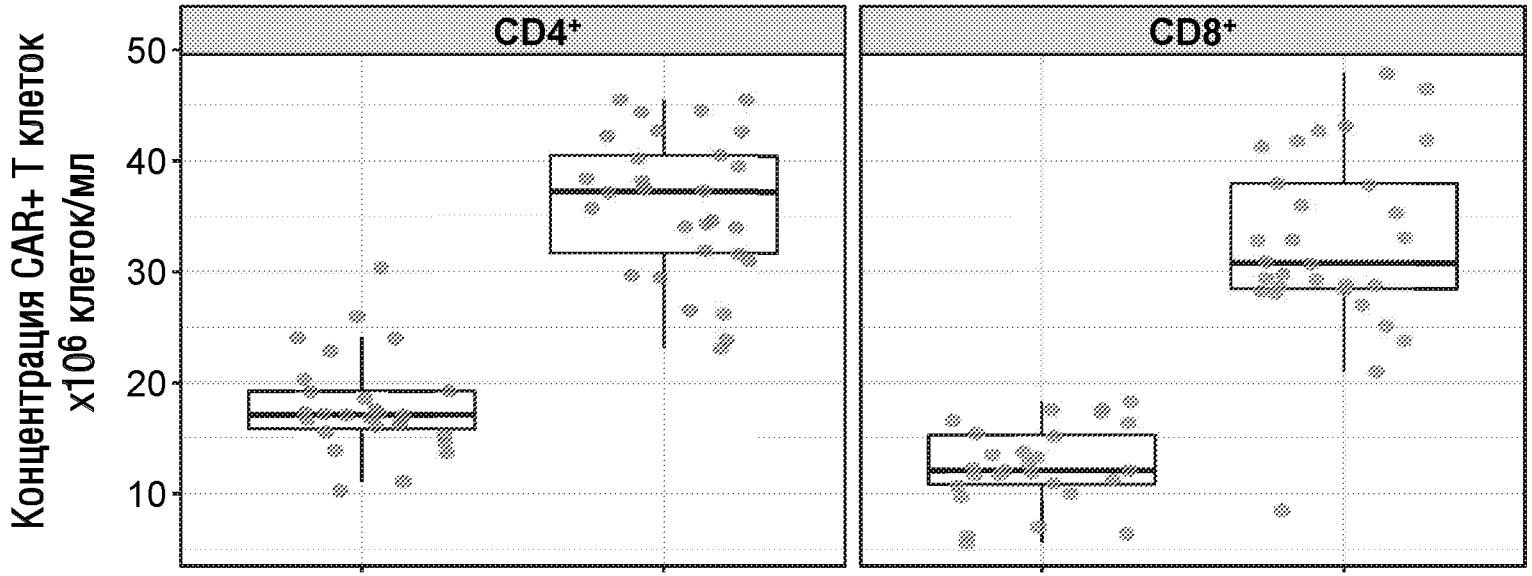


CRS	91	82	71	60	60	59
NT	91	90	87	77	74	72
CRS или NT	91	82	71	59	57	56

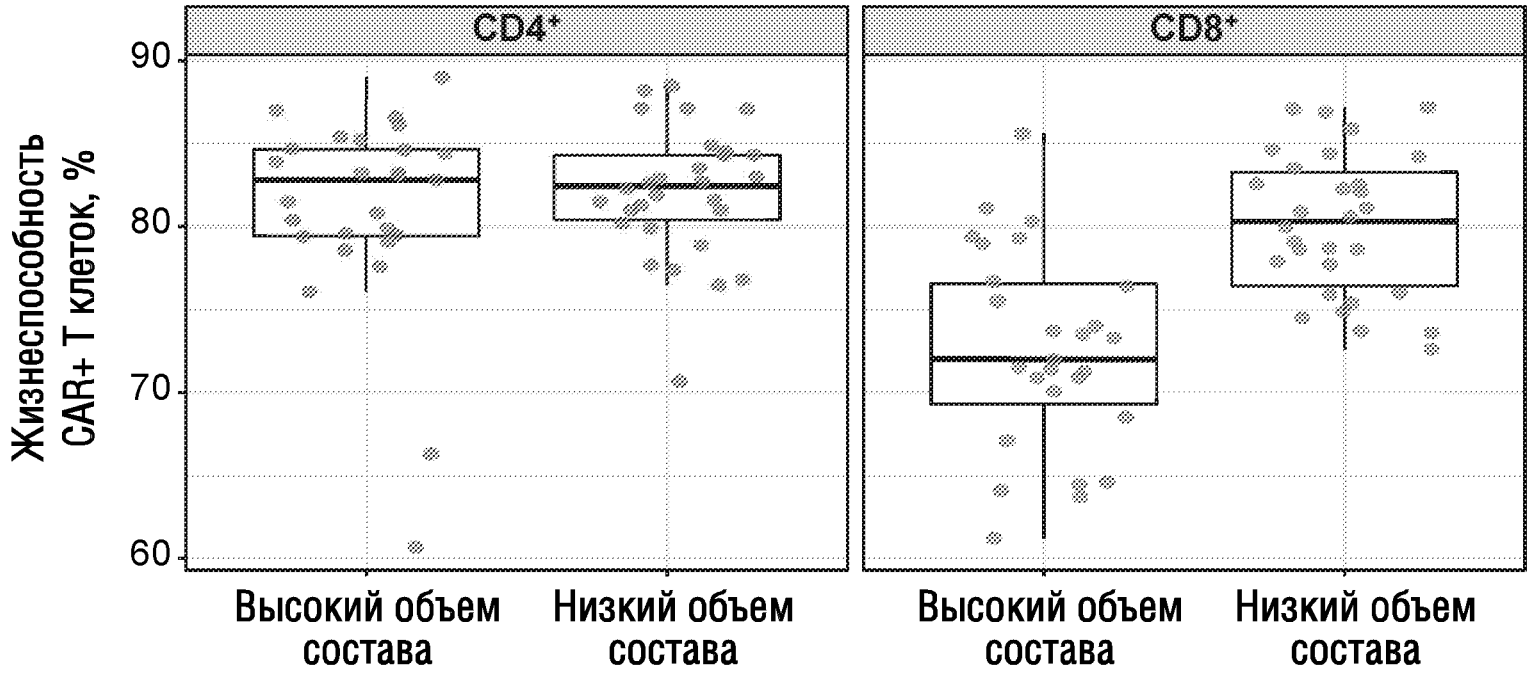
ФИГ.26


CD4+ частота, %
100
75
50
25
0
Лейкаферез
После очистки
Середина процесса
Лекарственная композиция
CD8+ частота, %
100
75
50
25
0
Лейкаферез
После очистки
Середина процесса
Лекарственная композиция

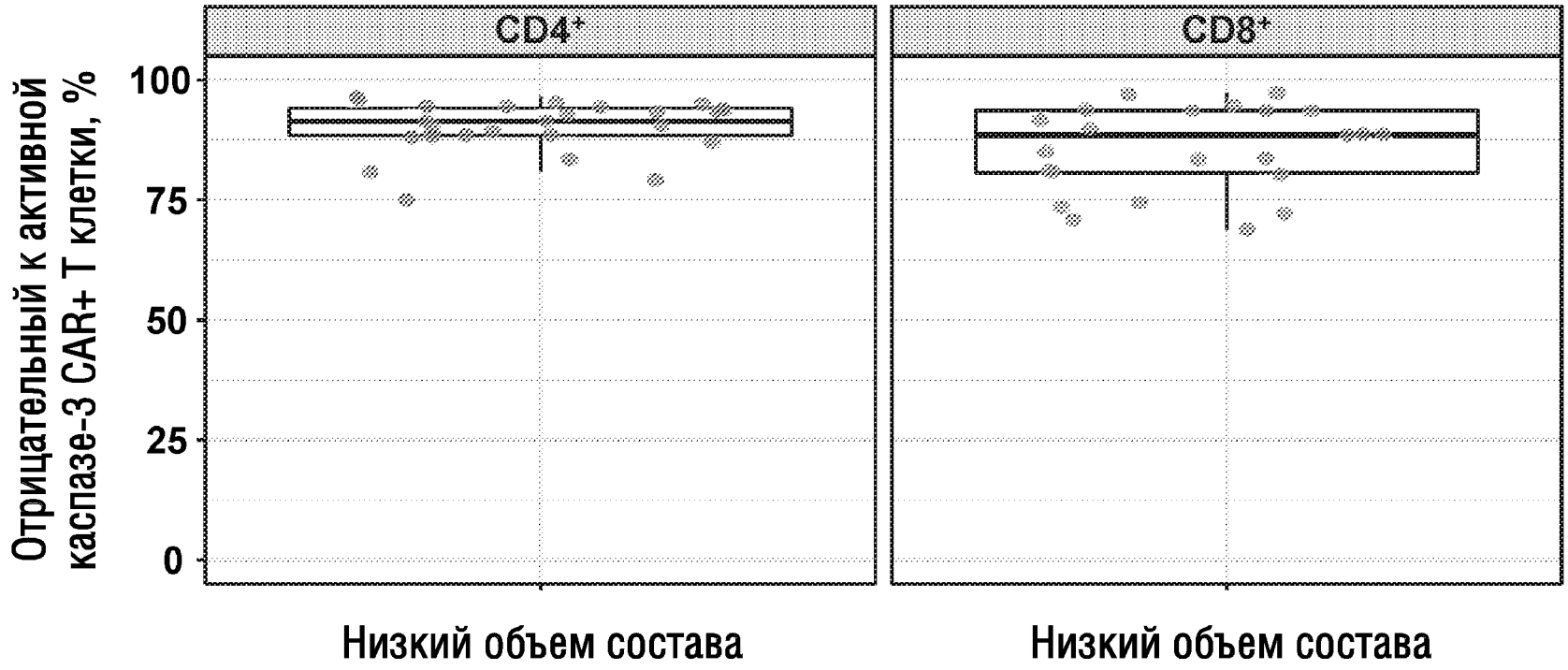
ФИГ.27A



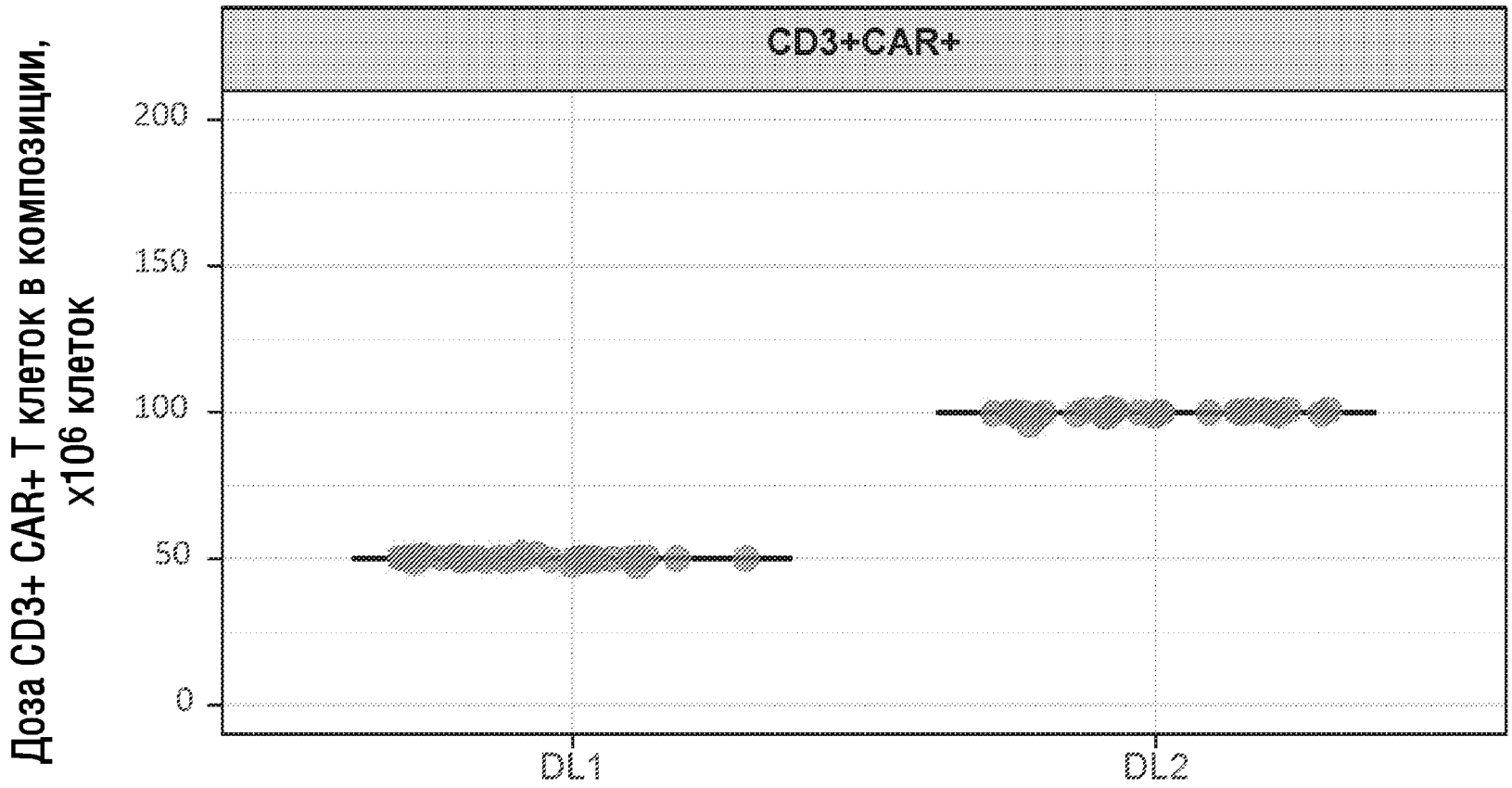
ФИГ.27B



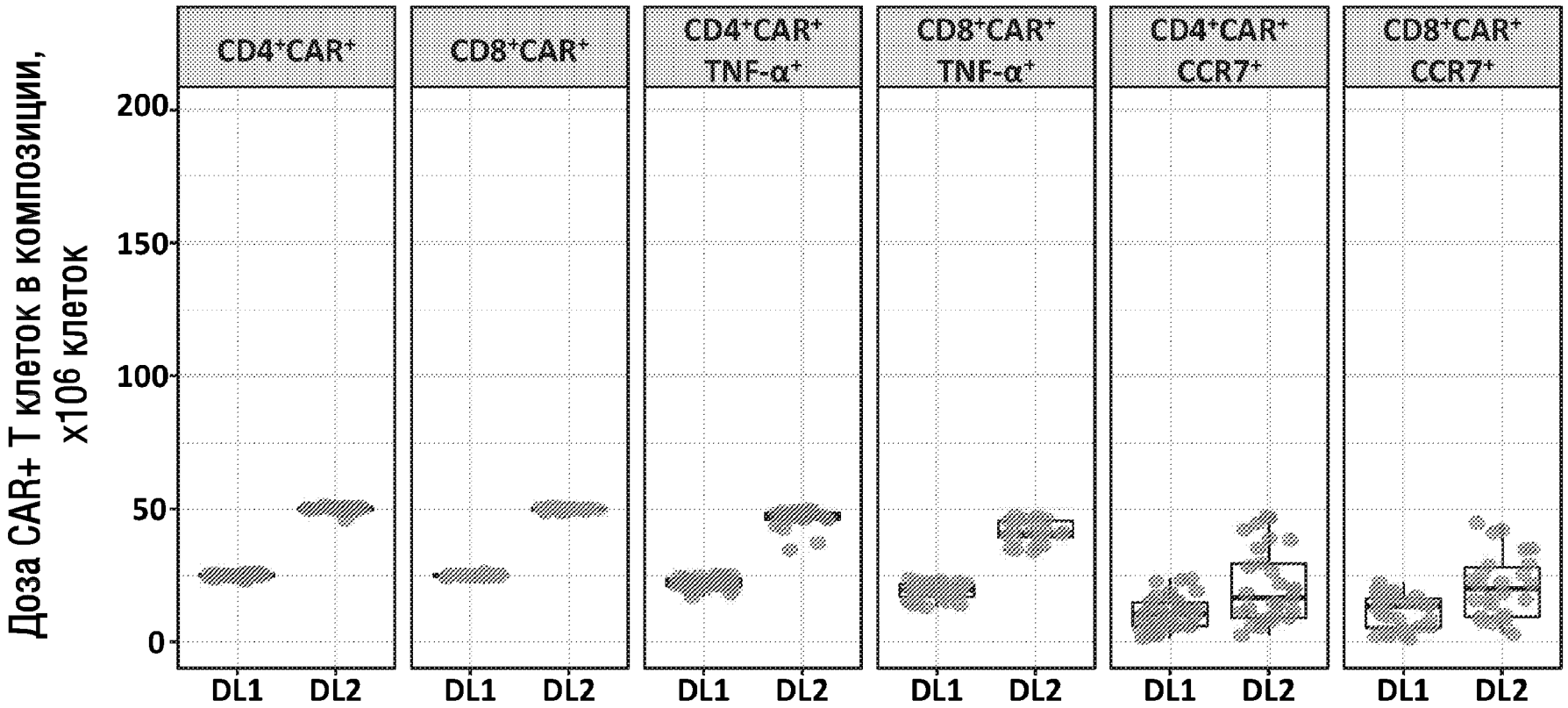
ФИГ.27C


CD4+
CD8+
Отрицательный к активной каспазе-3 CAR+ Т клетки, %
100
75
50
25
0
Низкий объем состава
Низкий объем состава

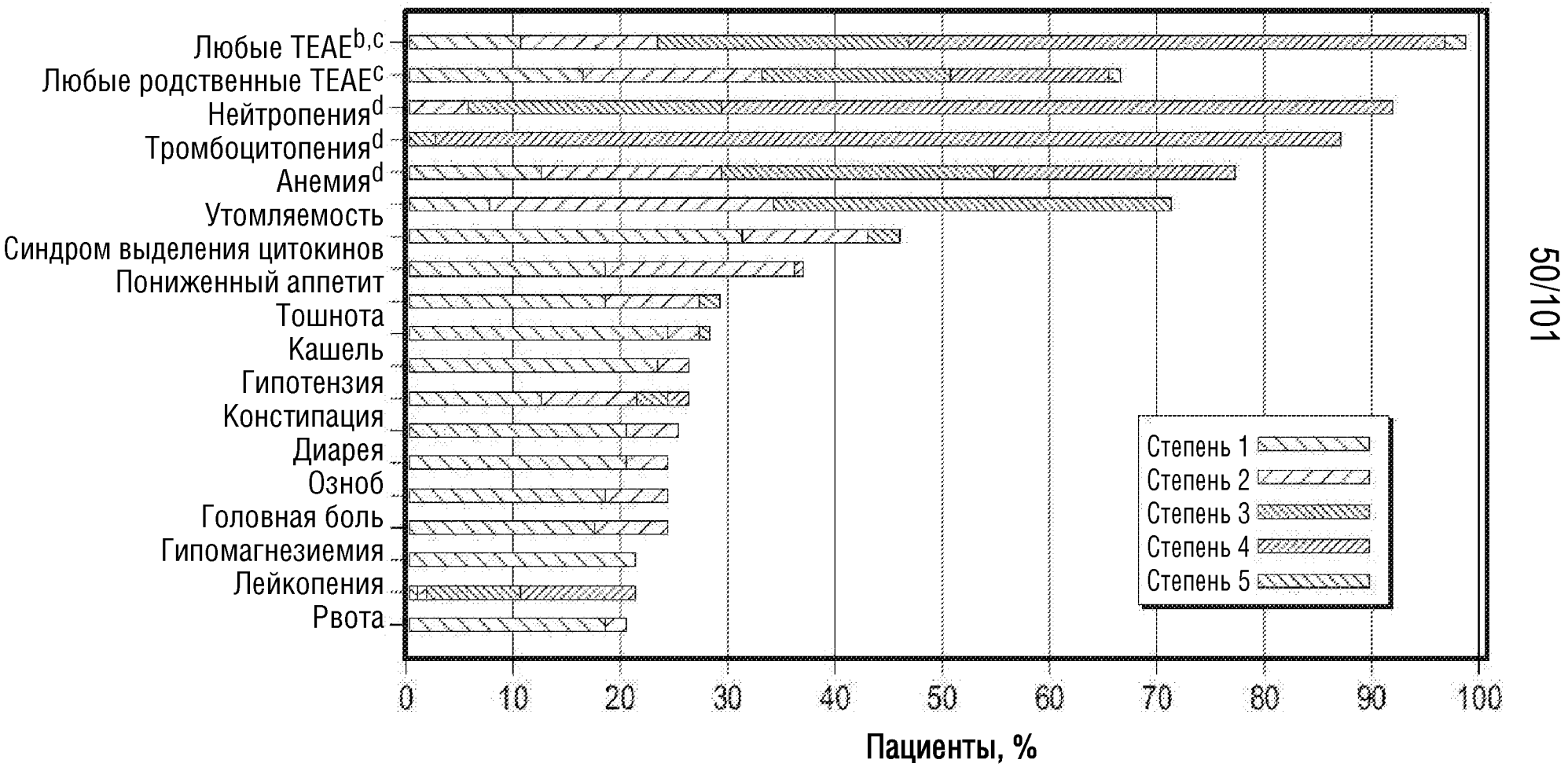
ФИГ.28А


CD3+CAR+
Доза CD3+ CAR+ Т клеток в композиции, x10⁶ клеток
200
150
100
50
0
DL1
DL2

ФИГ.28B

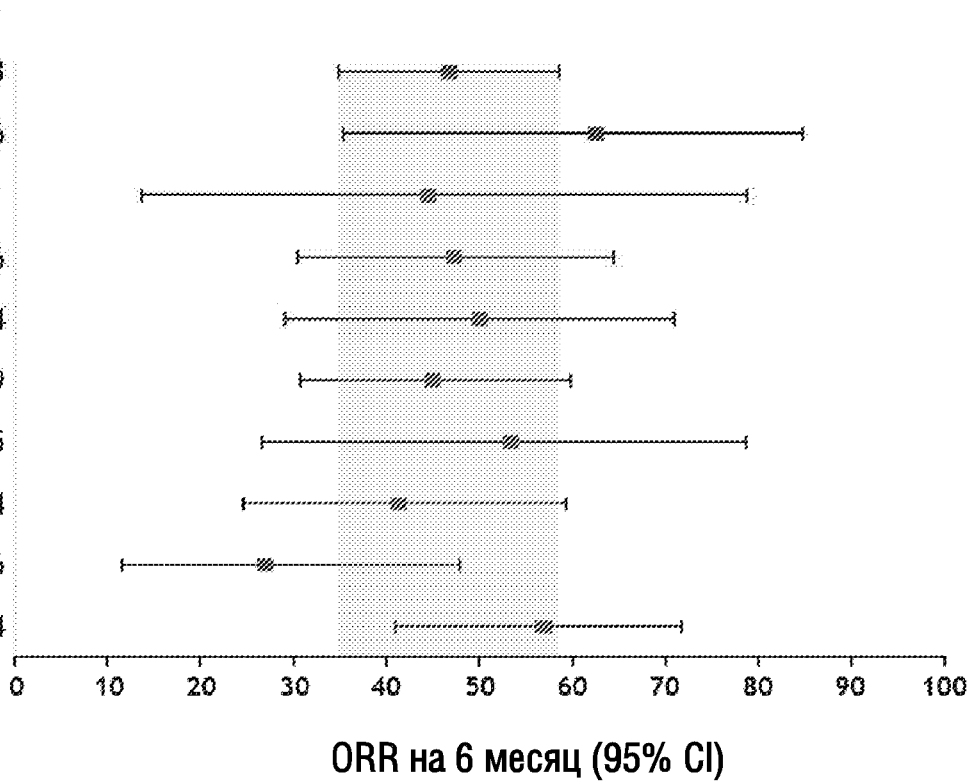

Доза CAR+ Т клеток в композиции, x10⁶ клеток
0
50
100
150
200
CD4⁺CAR⁺
CD8⁺CAR⁺
CD4⁺CAR⁺ TNF-α⁺
CD8⁺CAR⁺ TNF-α⁺
CD4⁺CAR⁺ CCR7⁺
CD8⁺CAR⁺ CCR7⁺
DL1
DL2

ФИГ.29

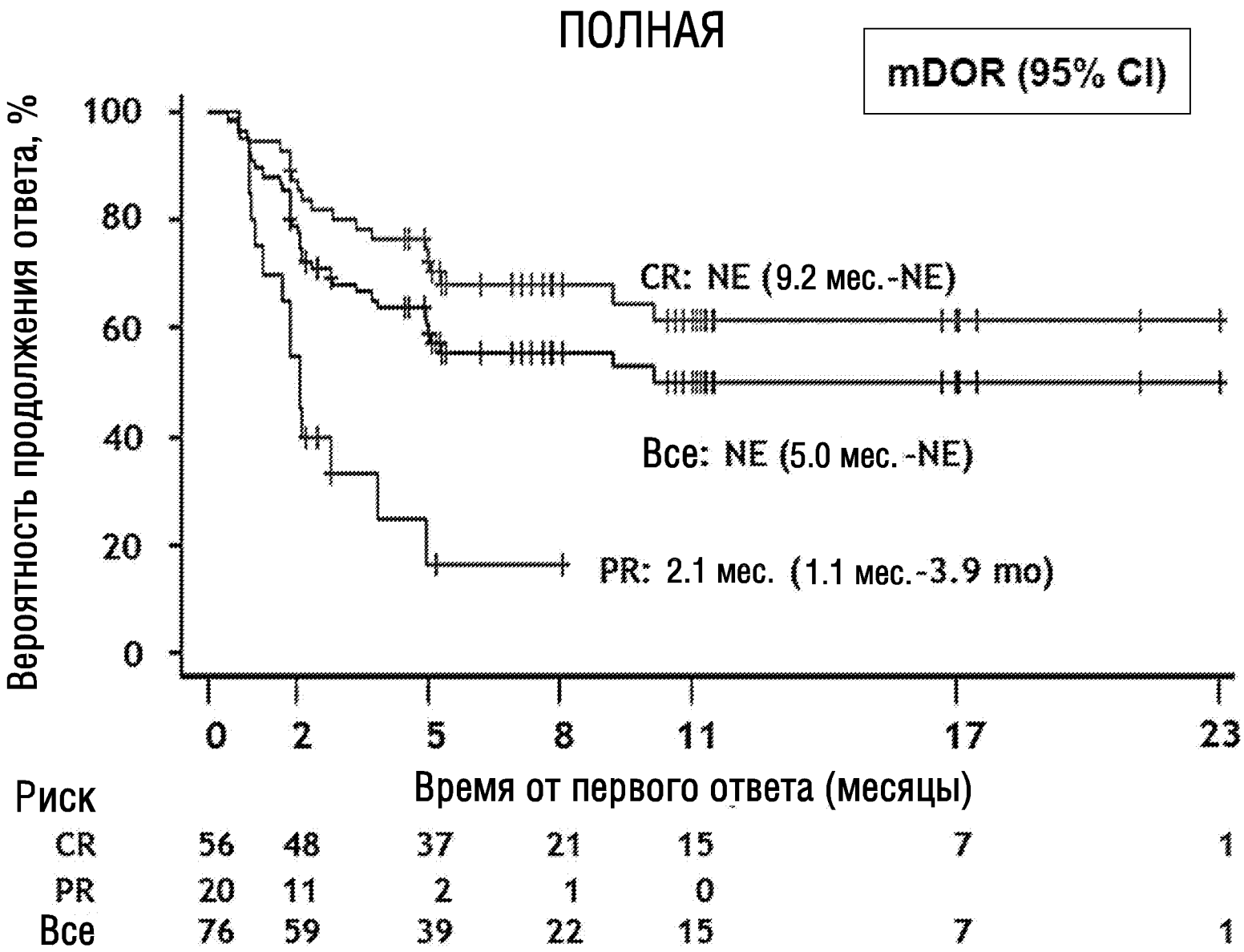

Любые TEAE[b,c]
Любые родственные TEAE[c]
Нейтропения[d]
Тромбоцитопения[d]
Анемия[d]
Утомляемость
Синдром выделения цитокинов
Пониженный аппетит
Тошнота
Кашель
Гипотензия
Констипация
Диарея
Озноб
Головная боль
Гипомагнезиемия
Лейкопения
Рвота
Степень 1
Степень 2
Степень 3
Степень 4
Степень 5
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
Пациенты, %

ФИГ.30

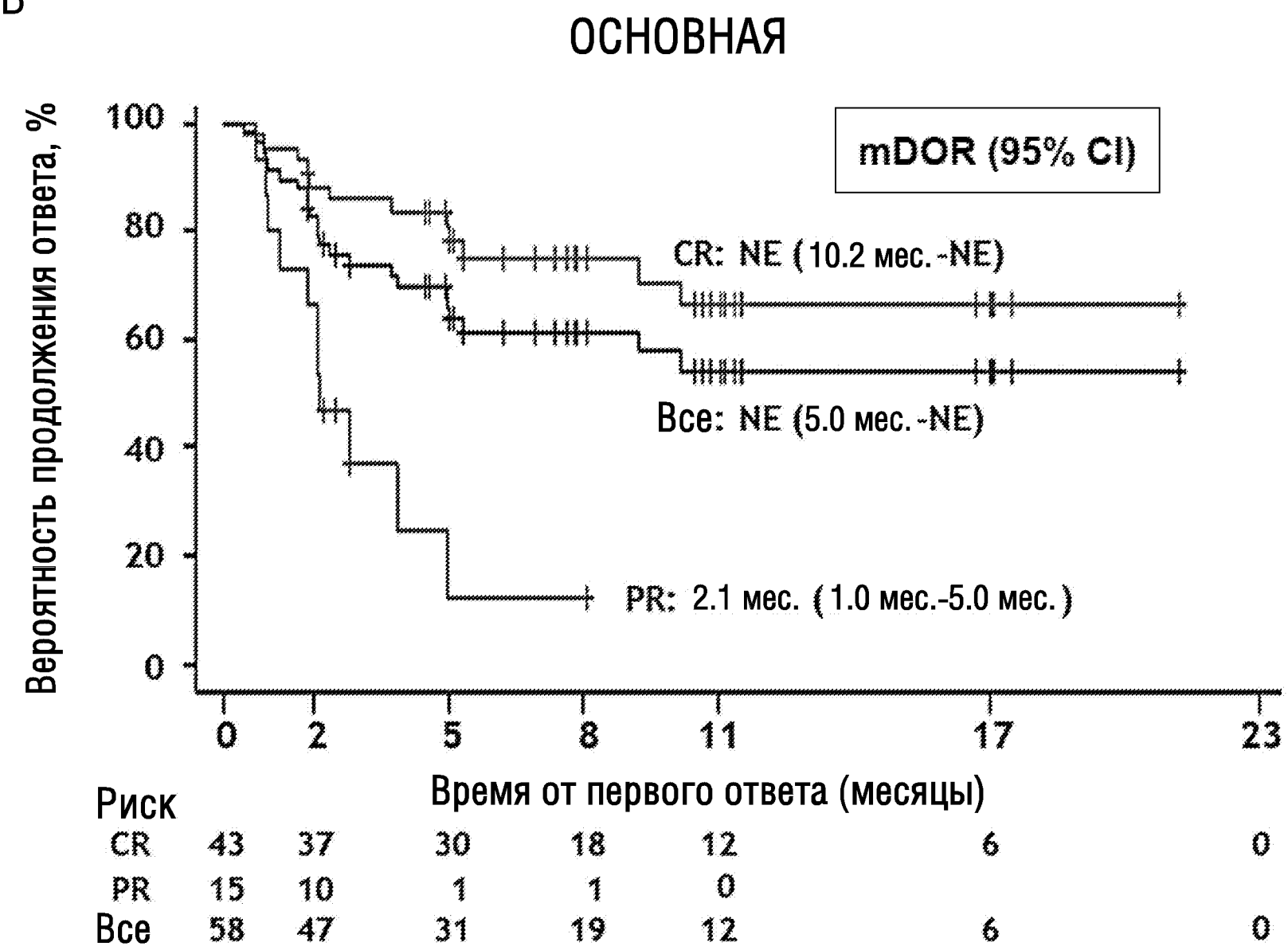
Популяция	ORR (95% CI)	n
Основная популяция пациентов[a]	46.6 (34.8-58.6)	73
Двойная/тройная	62.5 (35.4-84.8)	16
Двойной экспрессор	44.4 (13.7-78.8)	9
Никогда CR	47.2 (30.4-64.5)	36
Химиочувствительная	50 (29.1-70.9)	24
Химиорефракторная	44.9 (30.7-59.8)	49
Рецидив < 12 м после последней ASCT	53.3 (26.6-78.7)	15
SD/D до последней химии	41.2 (24.6-59.3)	34
IPI 3-5	26.9 (11.6-47.8)	26
IPI 0-2	56.8 (41-71.7)	44



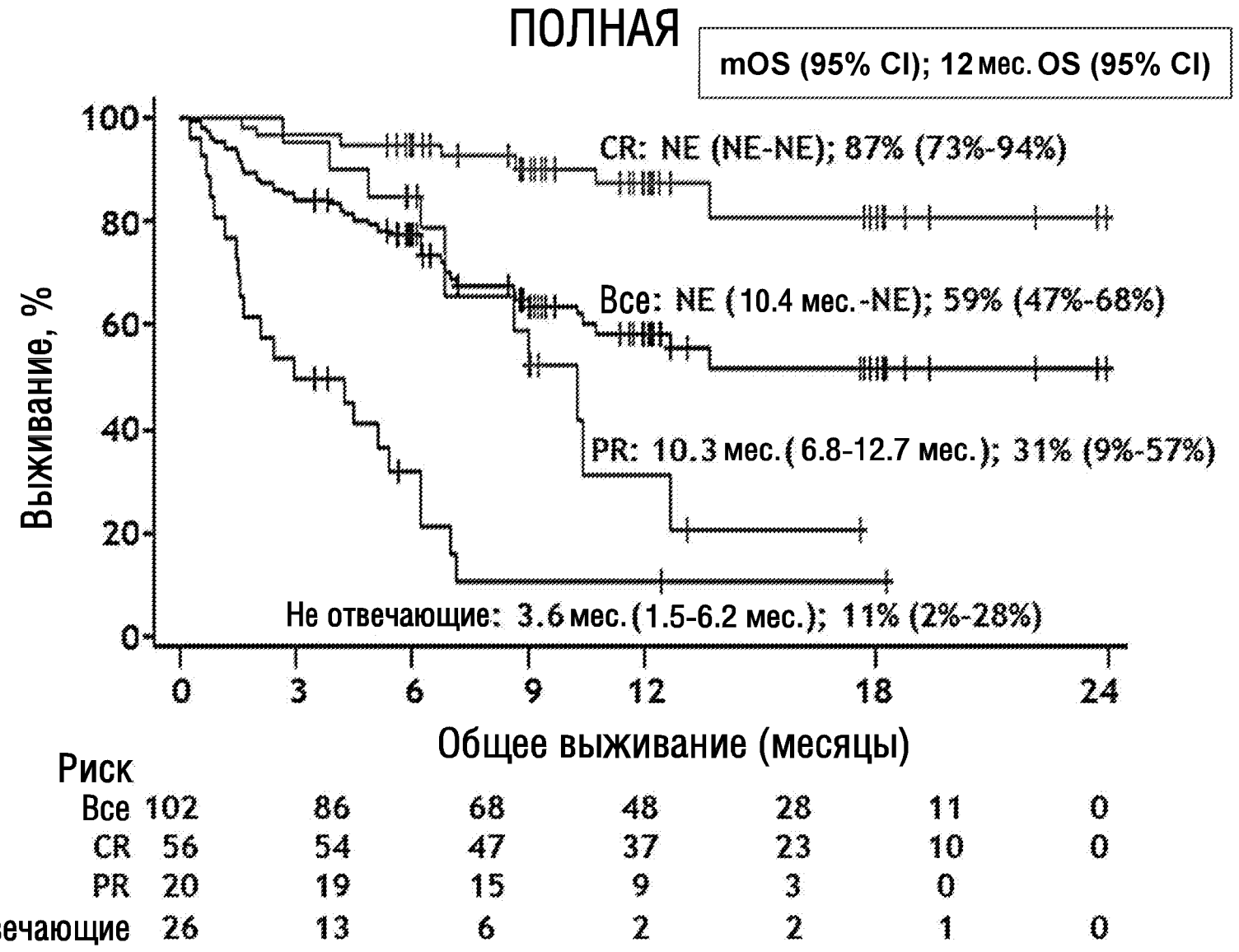
ФИГ.31А


ПОЛНАЯ
mDOR (95% CI)
Вероятность продолжения ответа, %
100
80
60
40
20
0
CR: NE (9.2 мес.-NE)
Все: NE (5.0 мес.-NE)
PR: 2.1 мес. (1.1 мес.-3.9 mo)
0
2
5
8
11
17
23
Время от первого ответа (месяцы)
Риск
CR 56 48 37 21 15 7 1
PR 20 11 2 1 0
Все 76 59 39 22 15 7 1

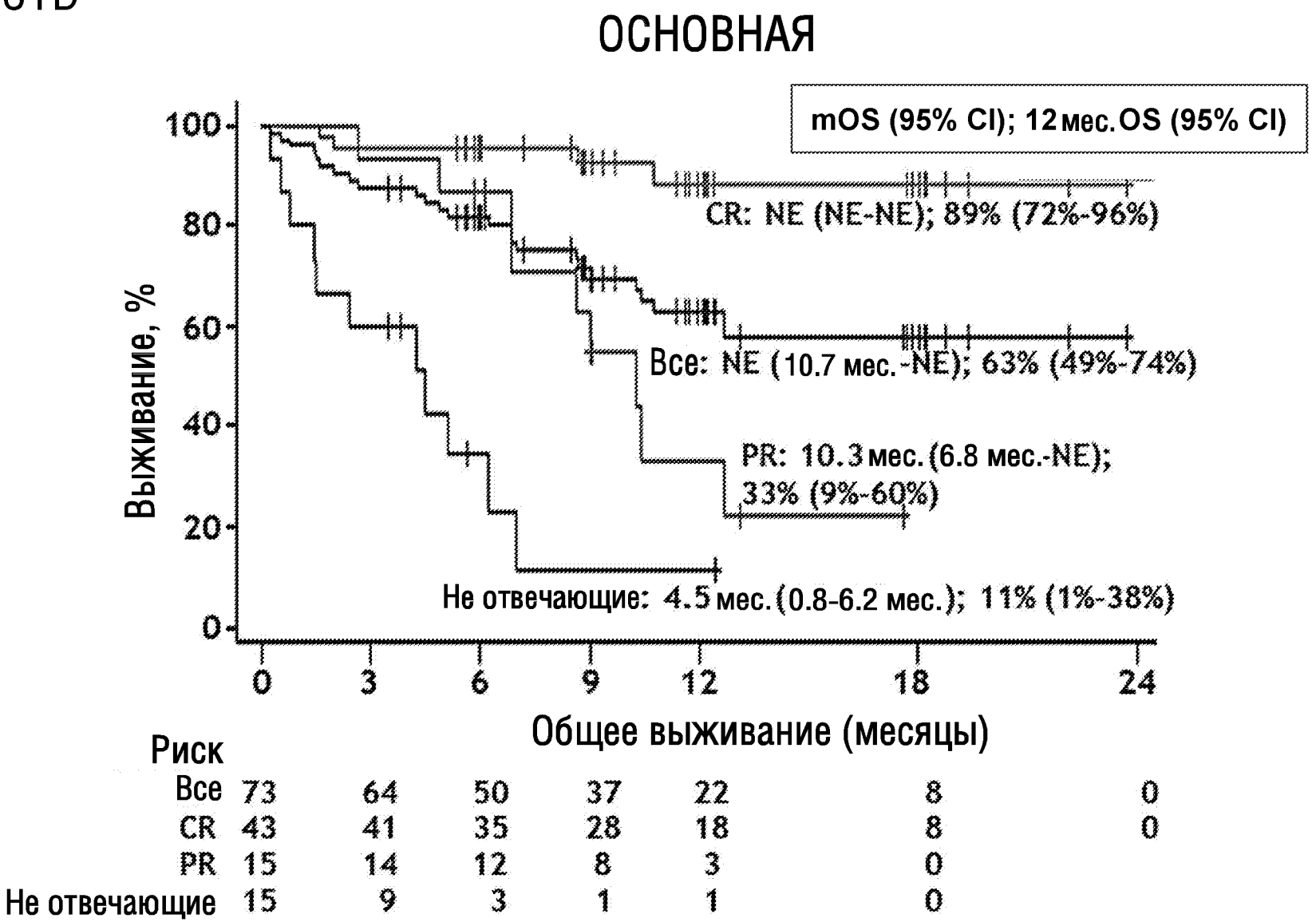
ФИГ.31B


ОСНОВНАЯ
mDOR (95% CI)
CR: NE (10.2 мес.-NE)
Все: NE (5.0 мес.-NE)
PR: 2.1 мес. (1.0 мес.-5.0 мес.)
Вероятность продолжения ответа, %
100
80
60
40
20
0
0
2
5
8
11
17
23
Время от первого ответа (месяцы)
Риск
CR 43 37 30 18 12 6 0
PR 15 10 1 1 0
Все 58 47 31 19 12 6 0

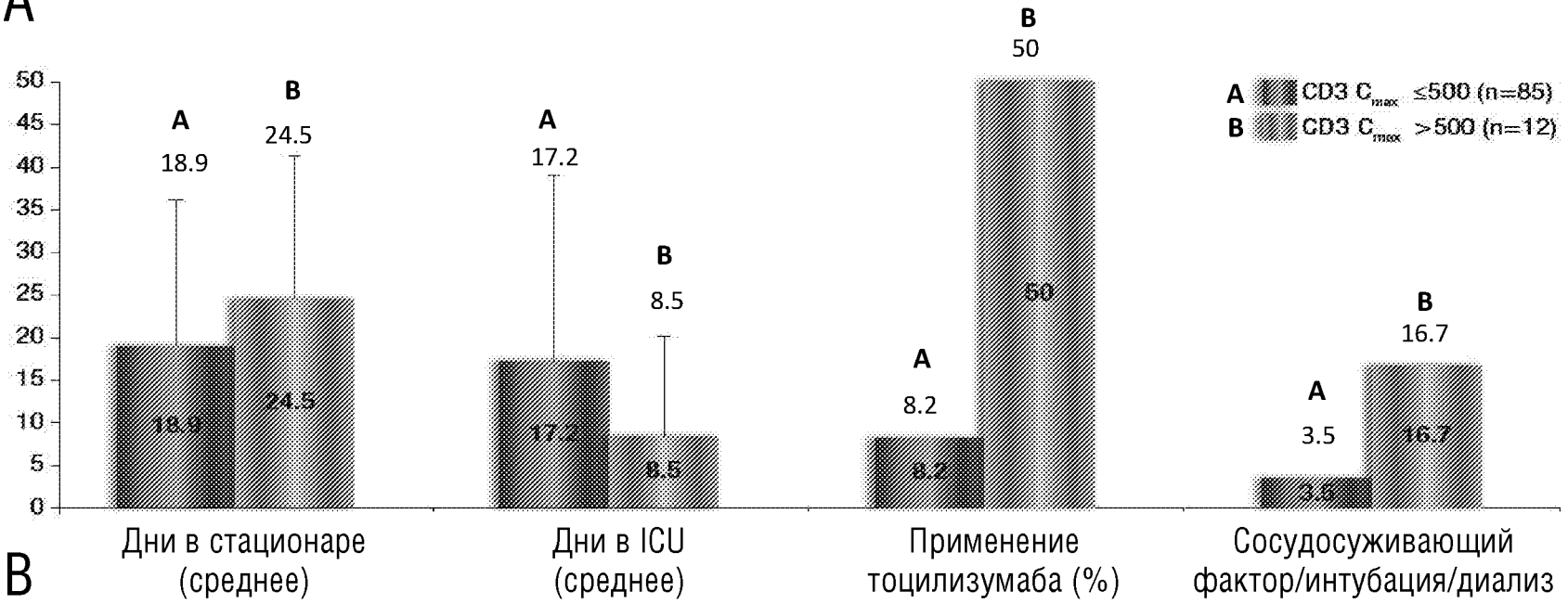
ФИГ.31C


ПОЛНАЯ
mOS (95% CI); 12 мес. OS (95% CI)
CR: NE (NE-NE); 87% (73%-94%)
Все: NE (10.4 мес.-NE); 59% (47%-68%)
PR: 10.3 мес. (6.8-12.7 мес.); 31% (9%-57%)
Не отвечающие: 3.6 мес. (1.5-6.2 мес.); 11% (2%-28%)
Выживание, %
100
80
60
40
20
0
0
3
6
9
12
18
24
Общее выживание (месяцы)
Риск
Все 102 86 68 48 28 11 0
CR 56 54 47 37 23 10 0
PR 20 19 15 9 3 0
Не отвечающие 26 13 6 2 2 1 0

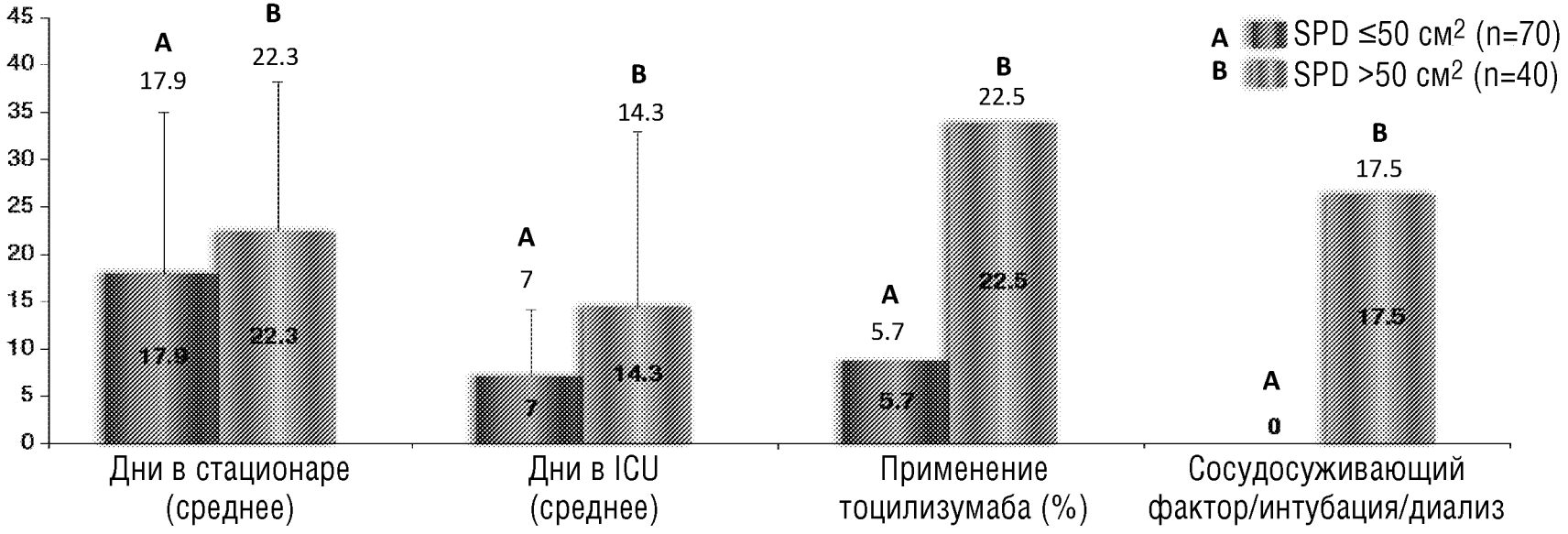
ФИГ.31D


ОСНОВНАЯ
mOS (95% CI); 12 мес. OS (95% CI)
CR: NE (NE-NE); 89% (72%-96%)
Все: NE (10.7 мес.-NE); 63% (49%-74%)
PR: 10.3 мес. (6.8 мес.-NE); 33% (9%-60%)
Не отвечающие: 4.5 мес. (0.8-6.2 мес.); 11% (1%-38%)
Выживание, %
100
80
60
40
20
0
0 3 6 9 12 18 24
Общее выживание (месяцы)
Риск
Все 73 64 50 37 22 8 0
CR 43 41 35 28 18 8 0
PR 15 14 12 8 3 0
Не отвечающие 15 9 3 1 1 0

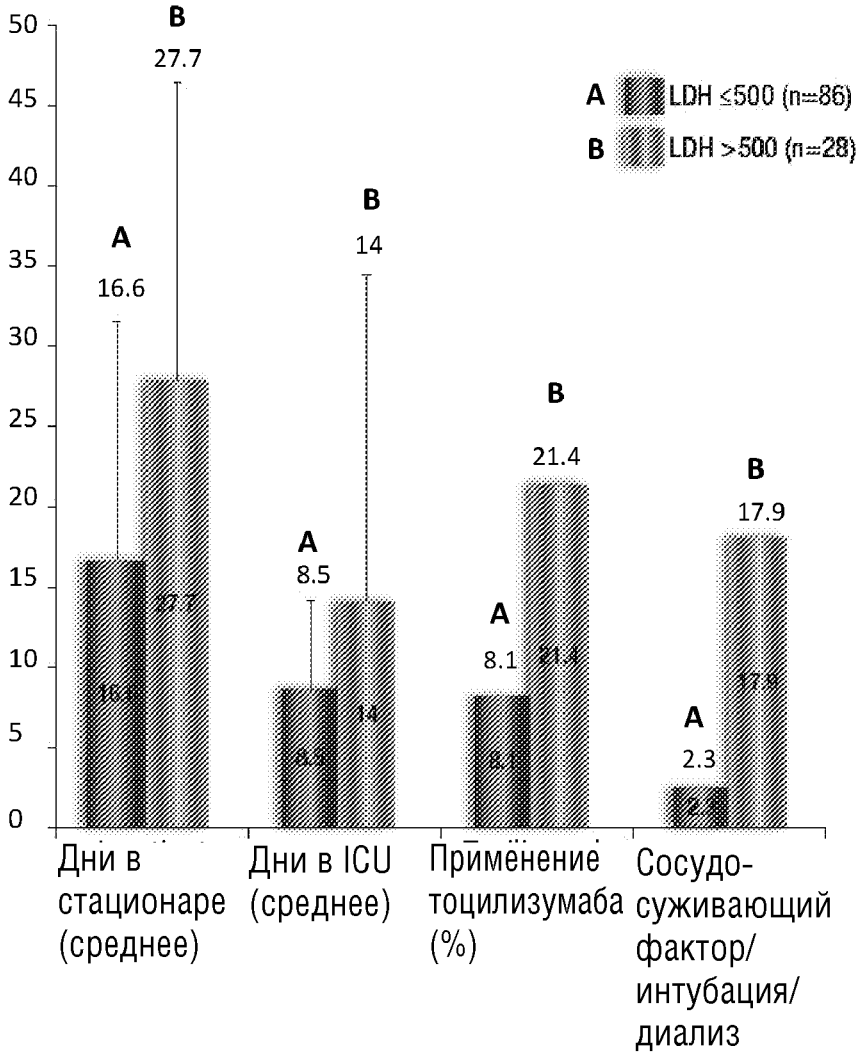
ФИГ.32A



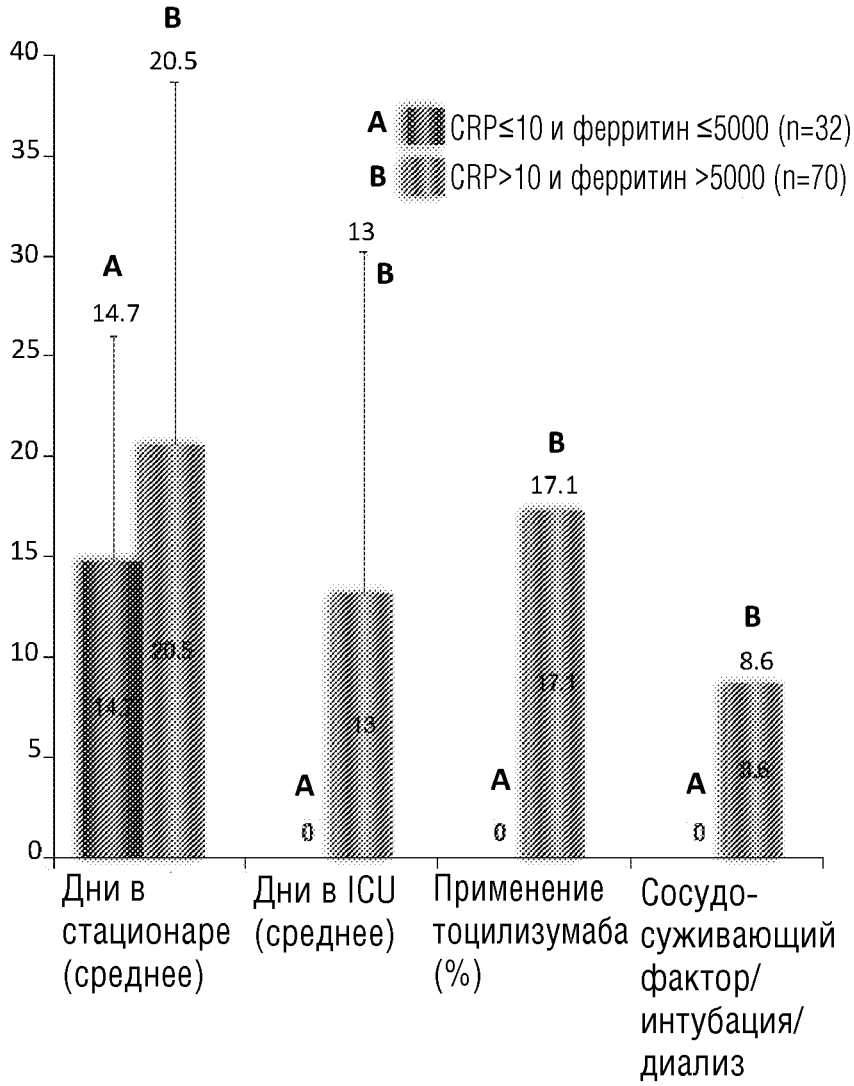
ФИГ.32B



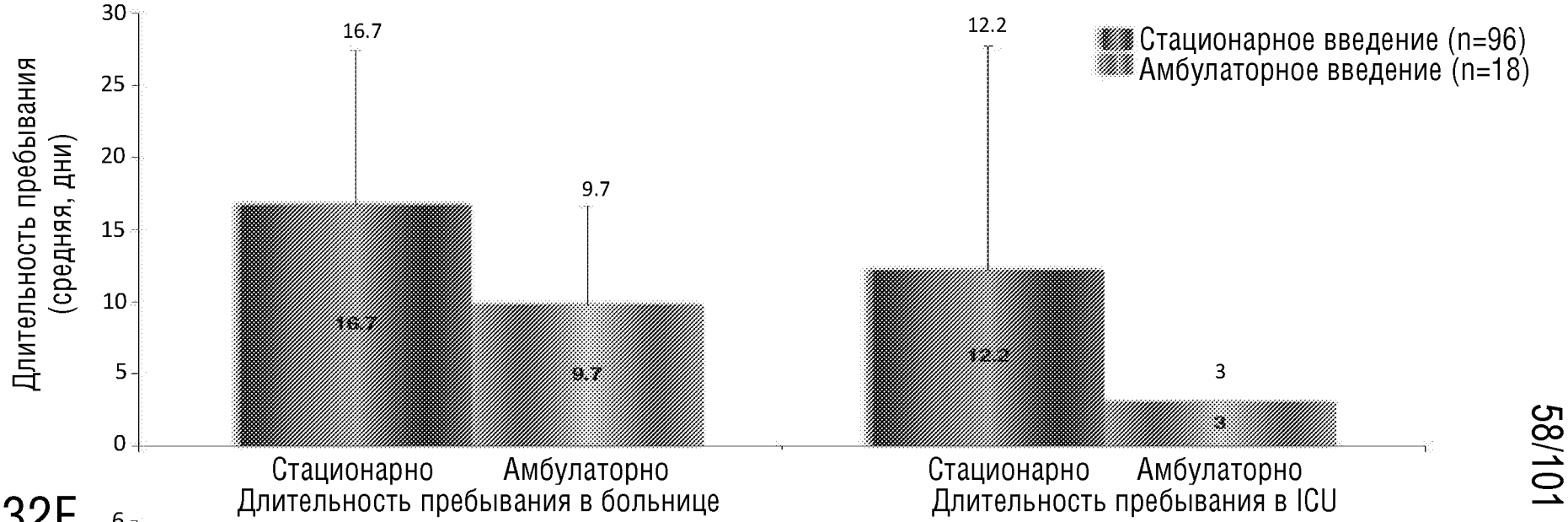
ФИГ.32C



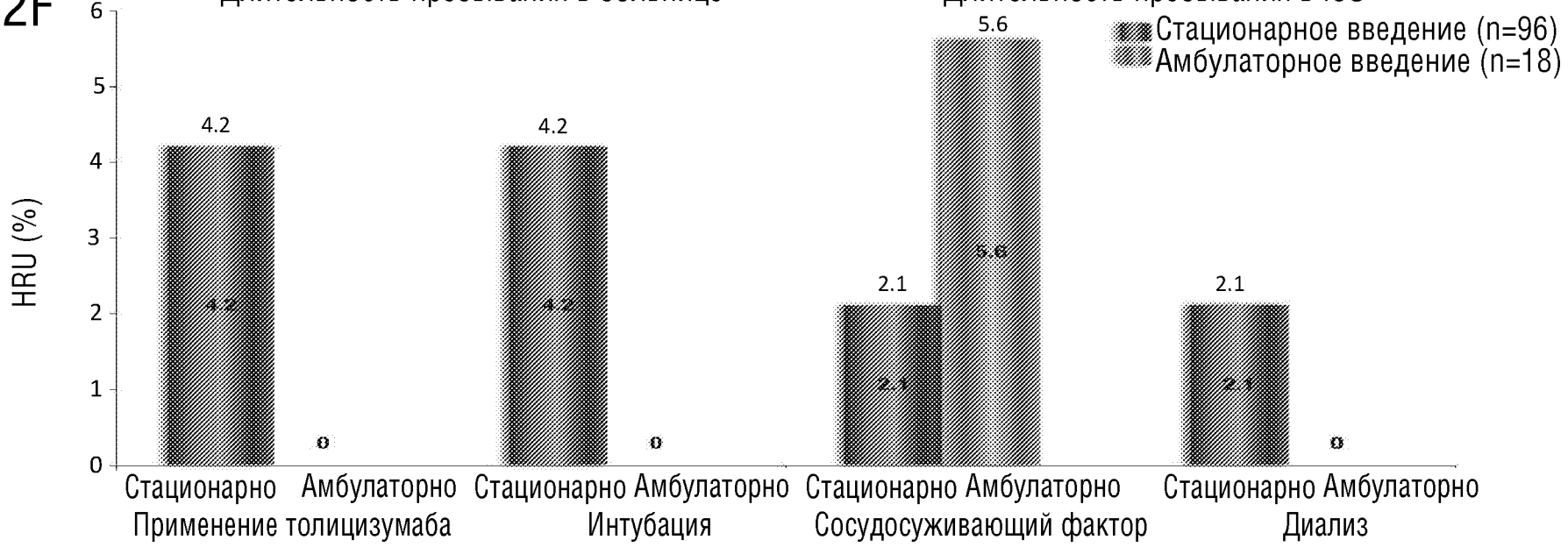
ФИГ.32D



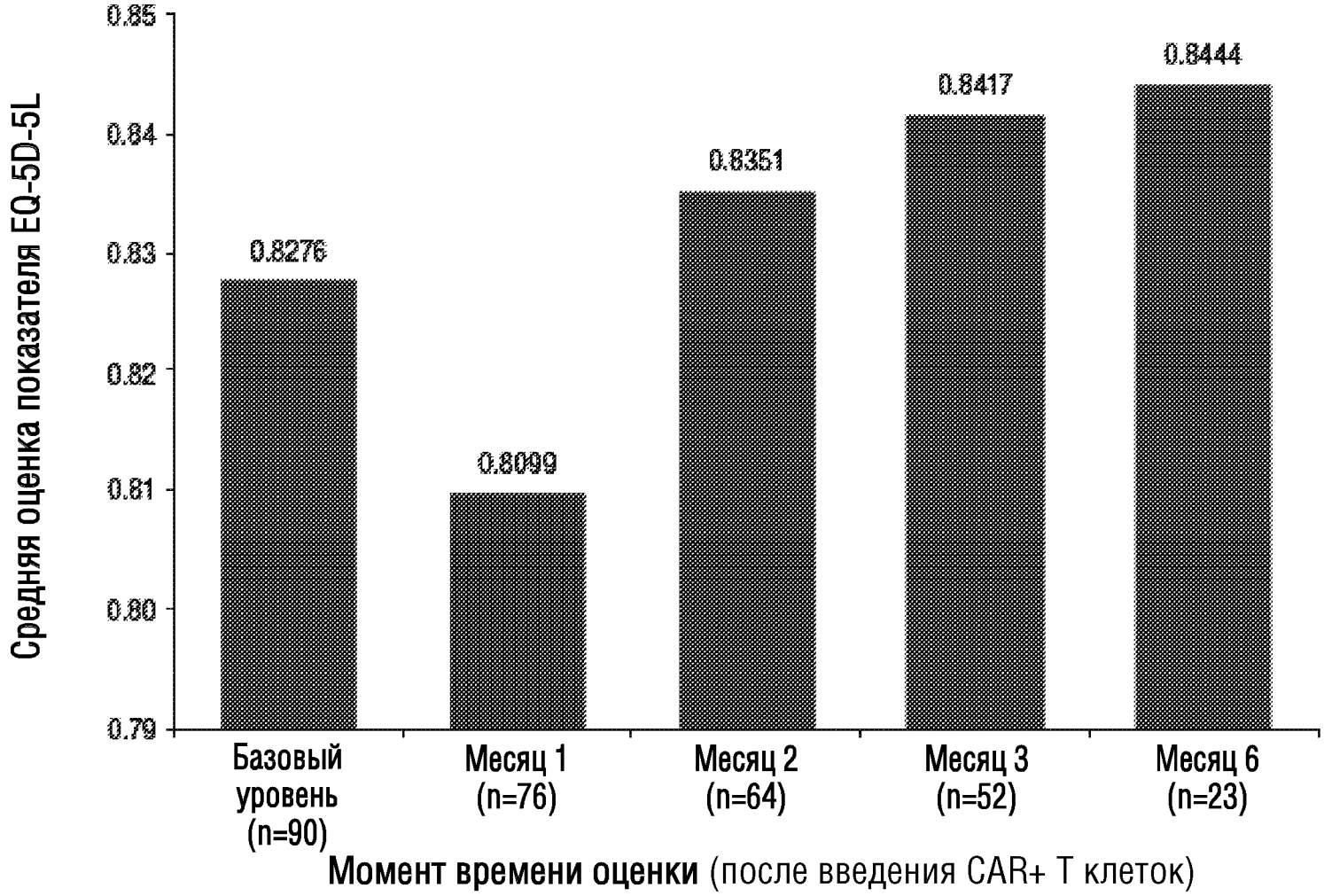
ФИГ.32E



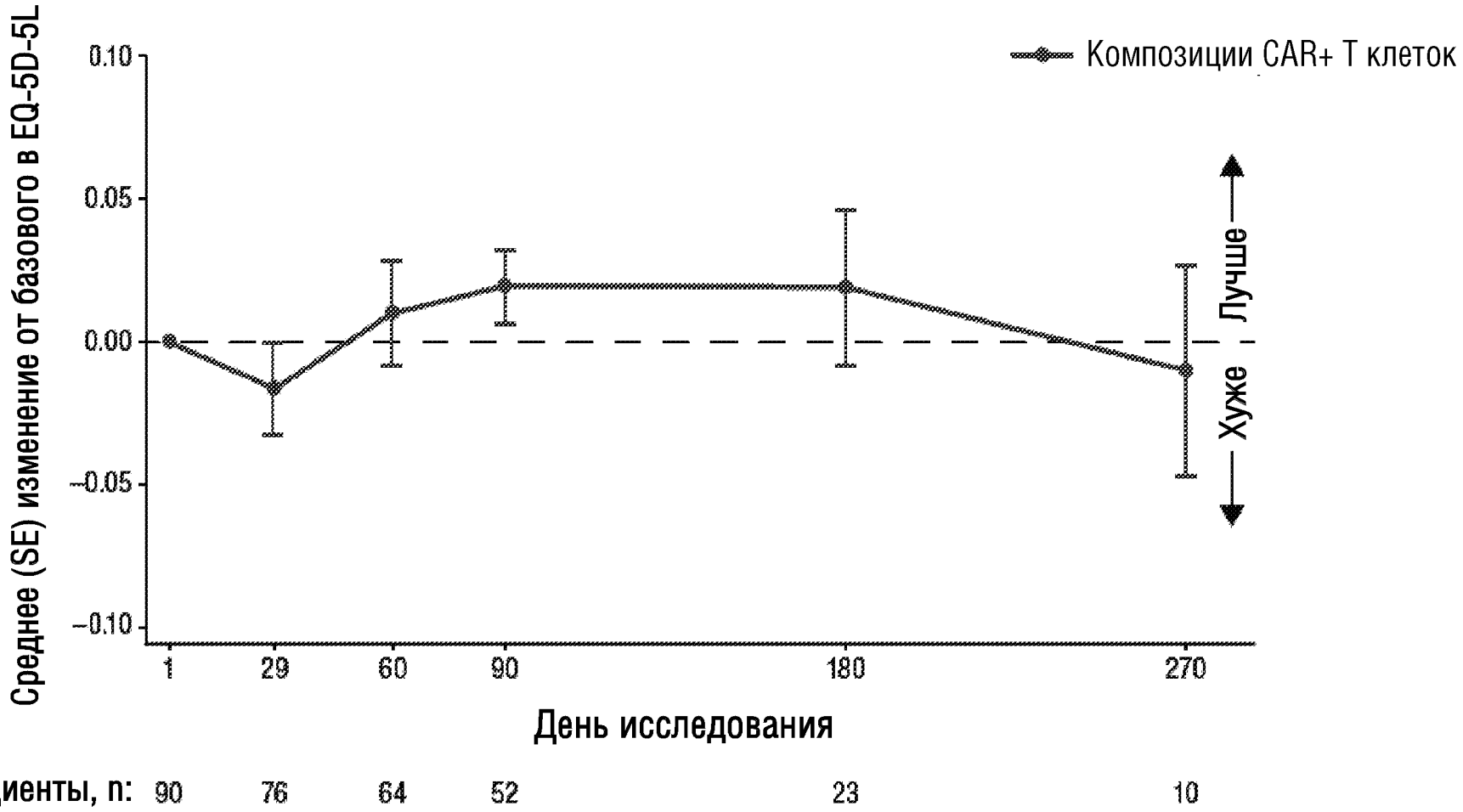
ФИГ.32F



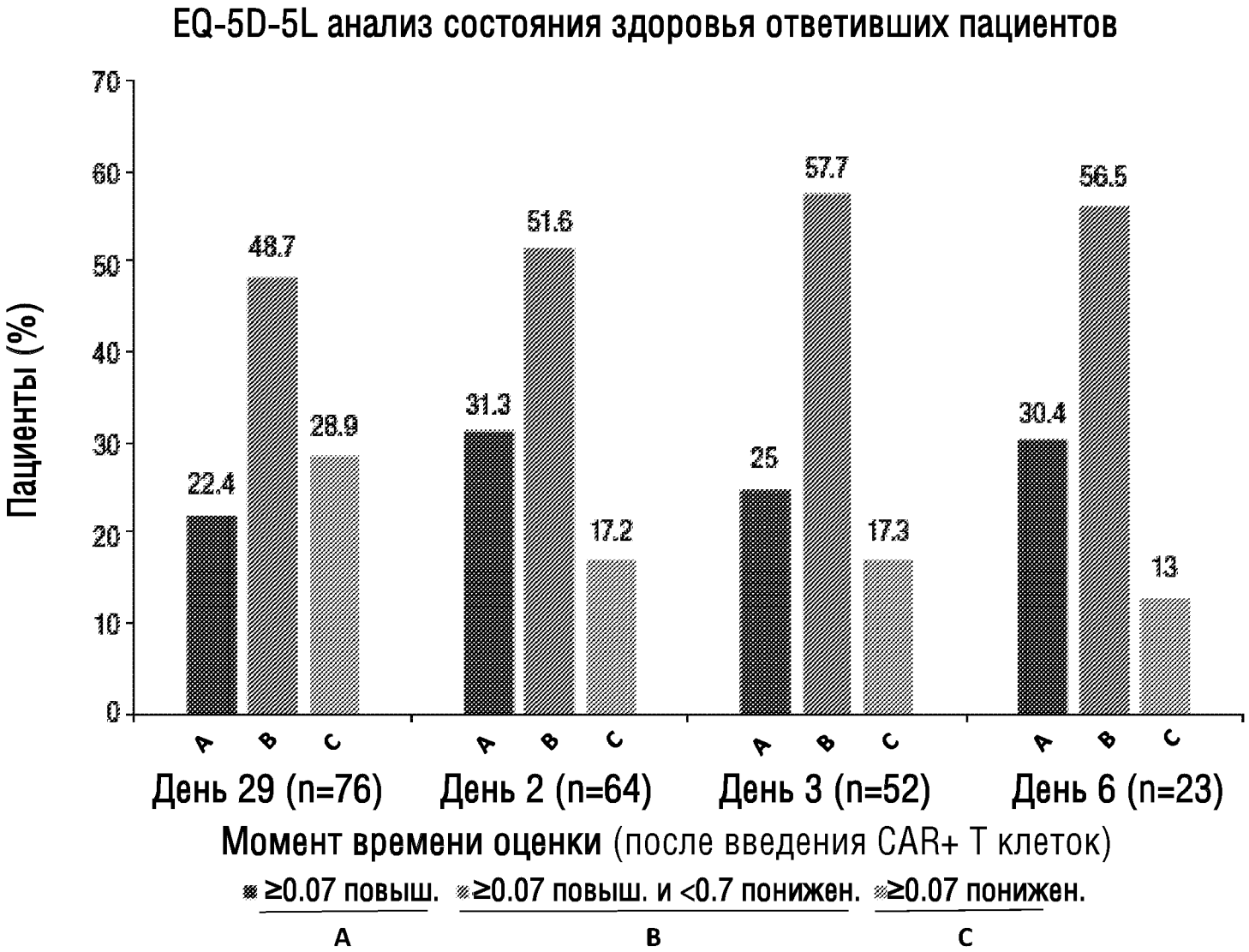
ФИГ.33


Средняя оценка показателя EQ-5D-5L
0.85
0.84
0.83
0.82
0.81
0.80
0.79
0.8276
0.8099
0.8351
0.8417
0.8444
Базовый уровень (n=90)
Месяц 1 (n=76)
Месяц 2 (n=64)
Месяц 3 (n=52)
Месяц 6 (n=23)
Момент времени оценки (после введения CAR+ Т клеток)

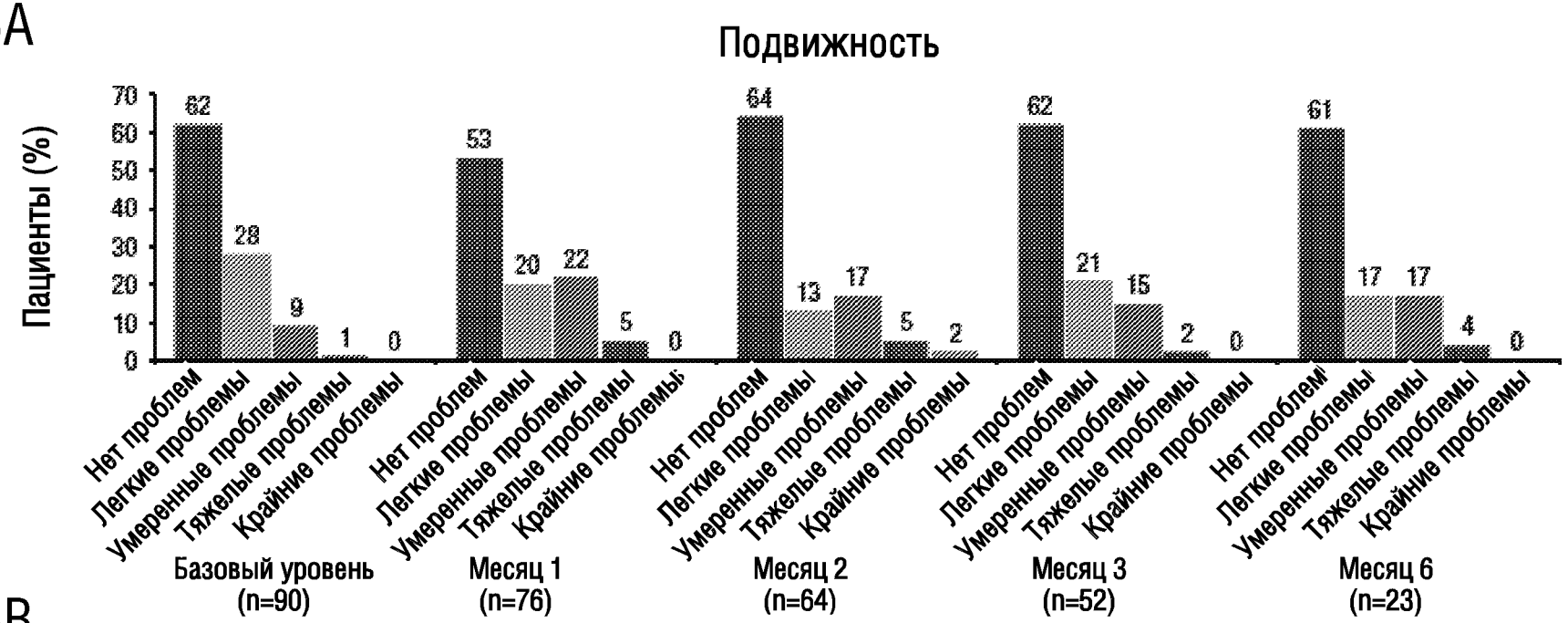
ФИГ.34


Композиции CAR+ T клеток
Среднее (SE) изменение от базового в EQ-5D-5L
0.10
0.05
0.00
−0.05
−0.10
Лучше
Хуже
1
29
60
90
180
270
День исследования
Пациенты, n:
90
76
64
52
23
10

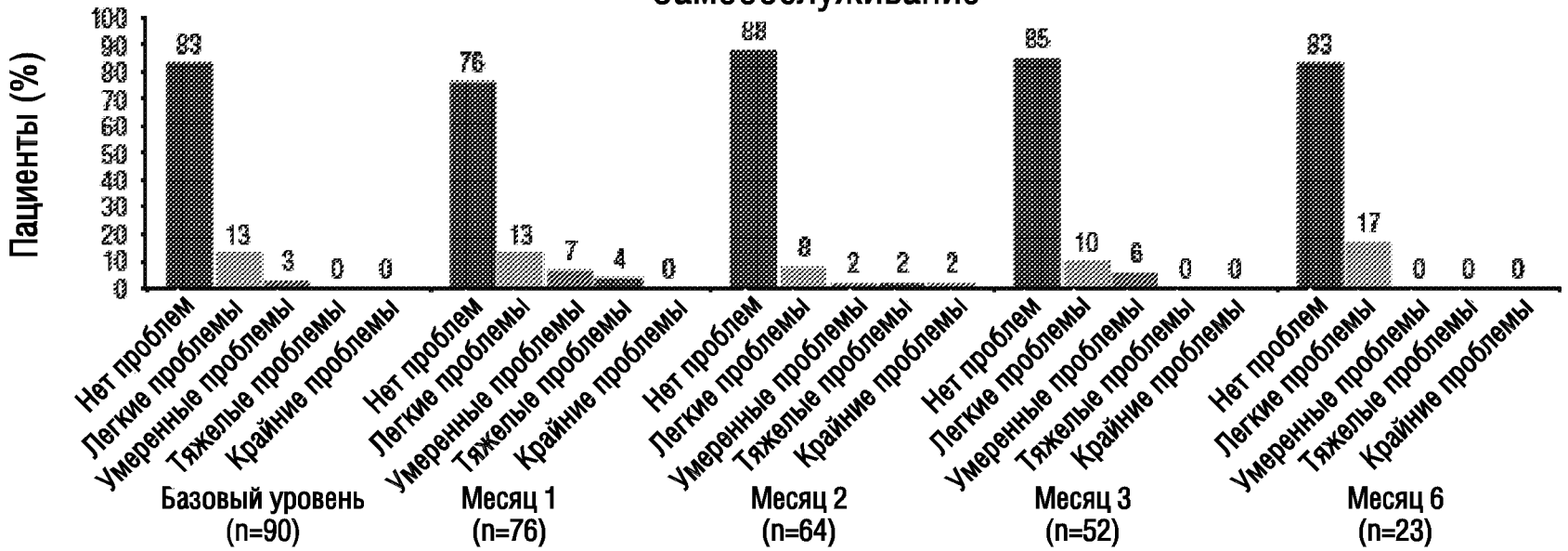
ФИГ.35


EQ-5D-5L анализ состояния здоровья ответивших пациентов
Пациенты (%)
70
60
50
40
30
20
10
0
22.4
48.7
28.9
31.3
51.6
17.2
25
57.7
17.3
30.4
56.5
13
A
B
C
День 29 (n=76)
День 2 (n=64)
День 3 (n=52)
День 6 (n=23)
Момент времени оценки (после введения CAR+ T клеток)
≥0.07 повыш.
≥0.07 повыш. и <0.7 понижен.
≥0.07 понижен.
A
B
C

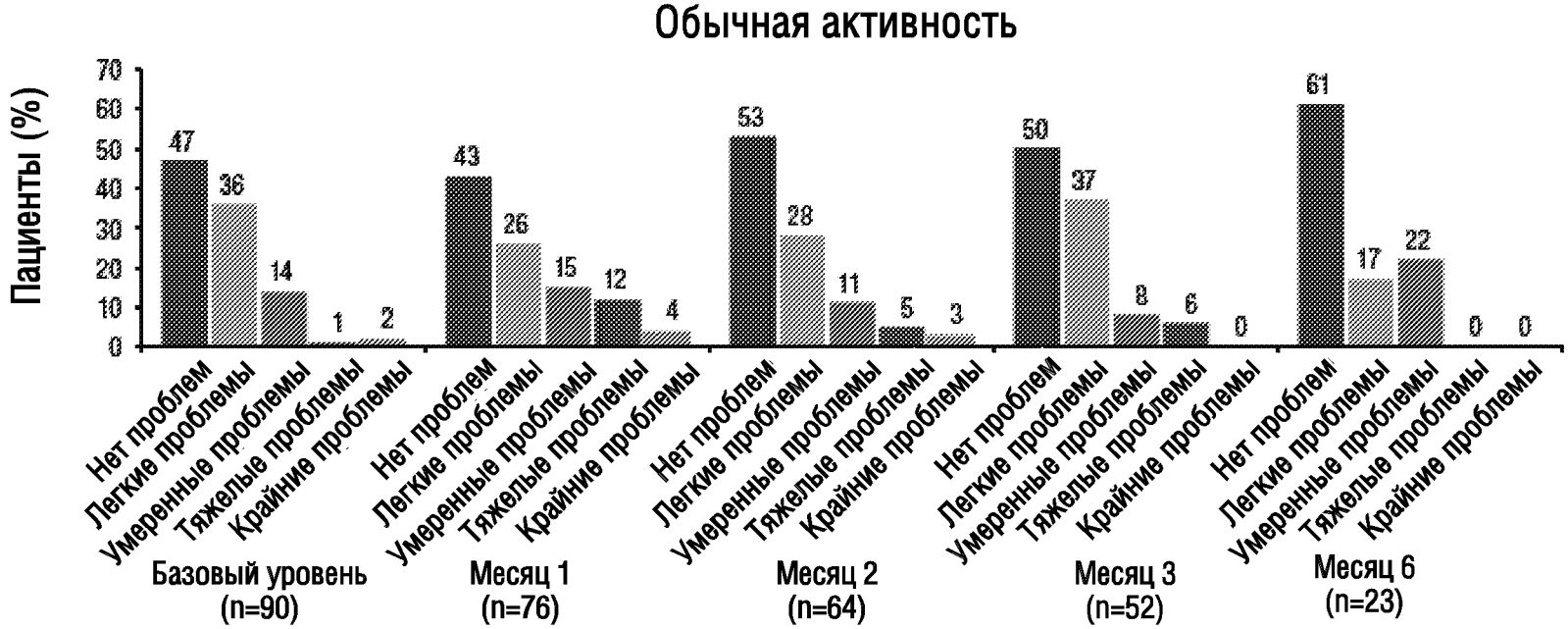
ФИГ.36А



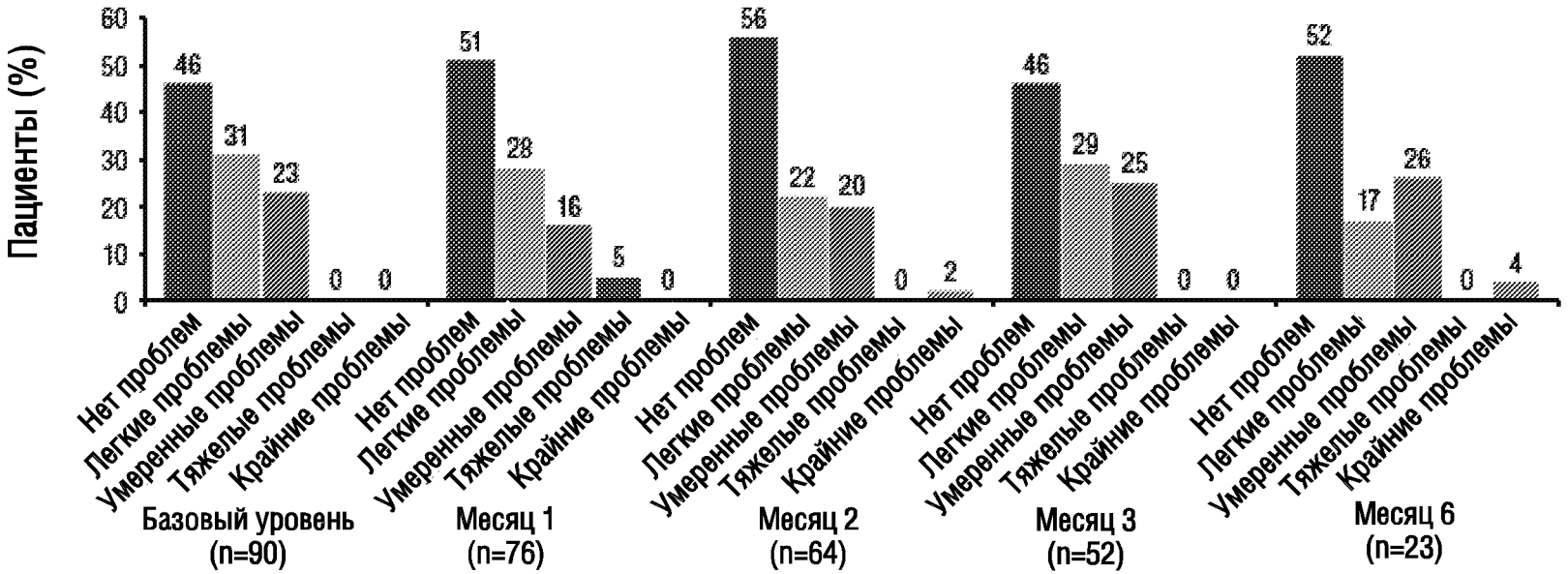
ФИГ.36В



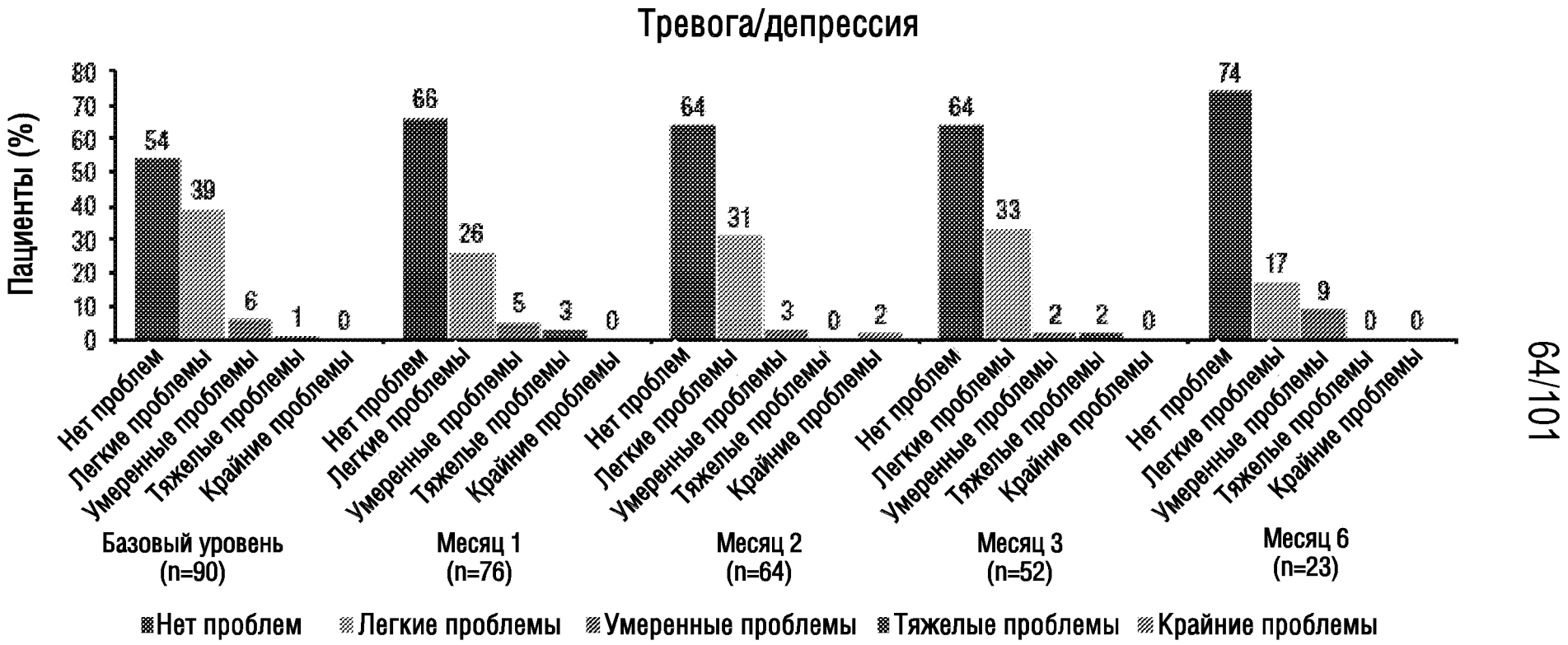
ФИГ.36C



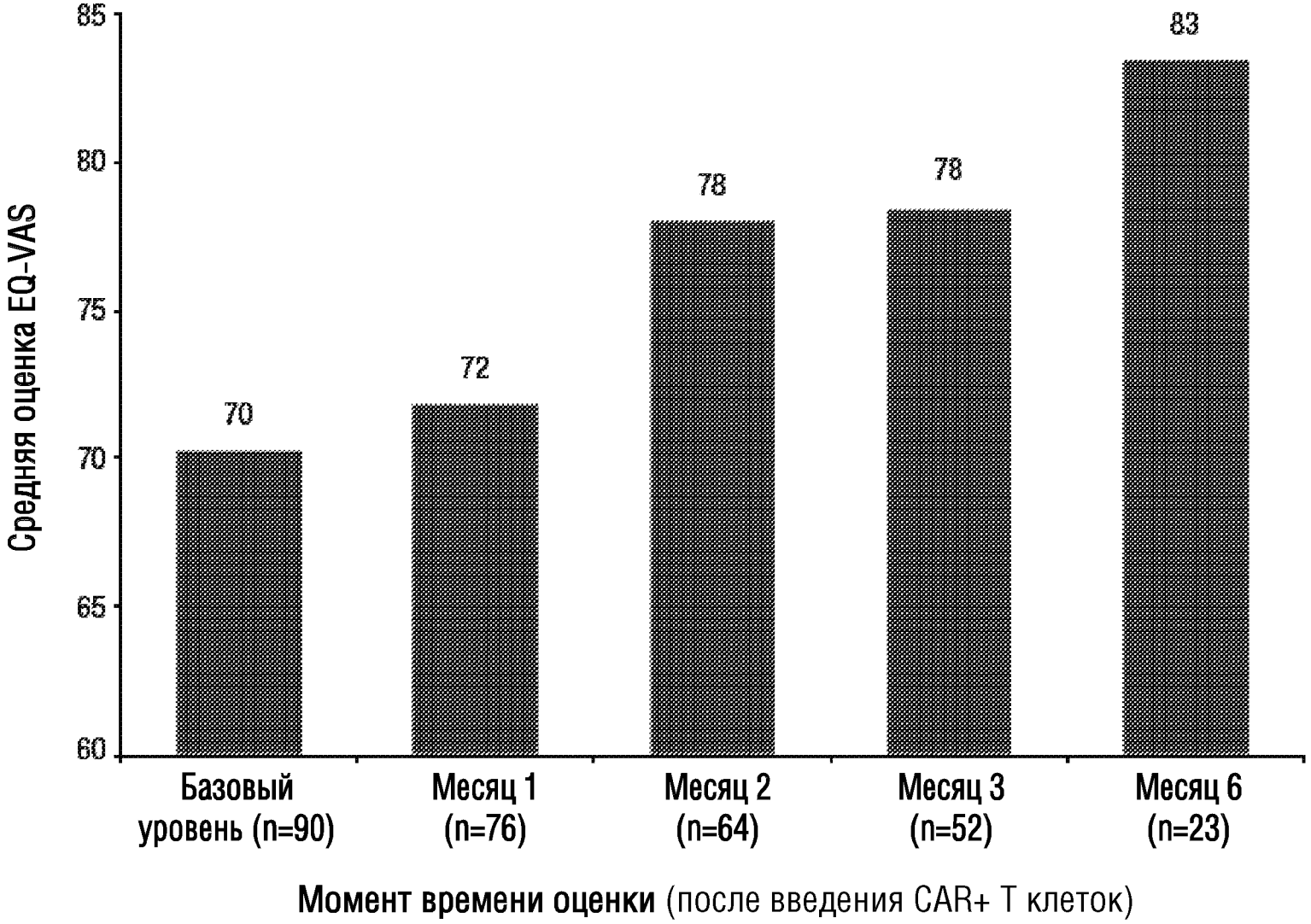
ФИГ.36D



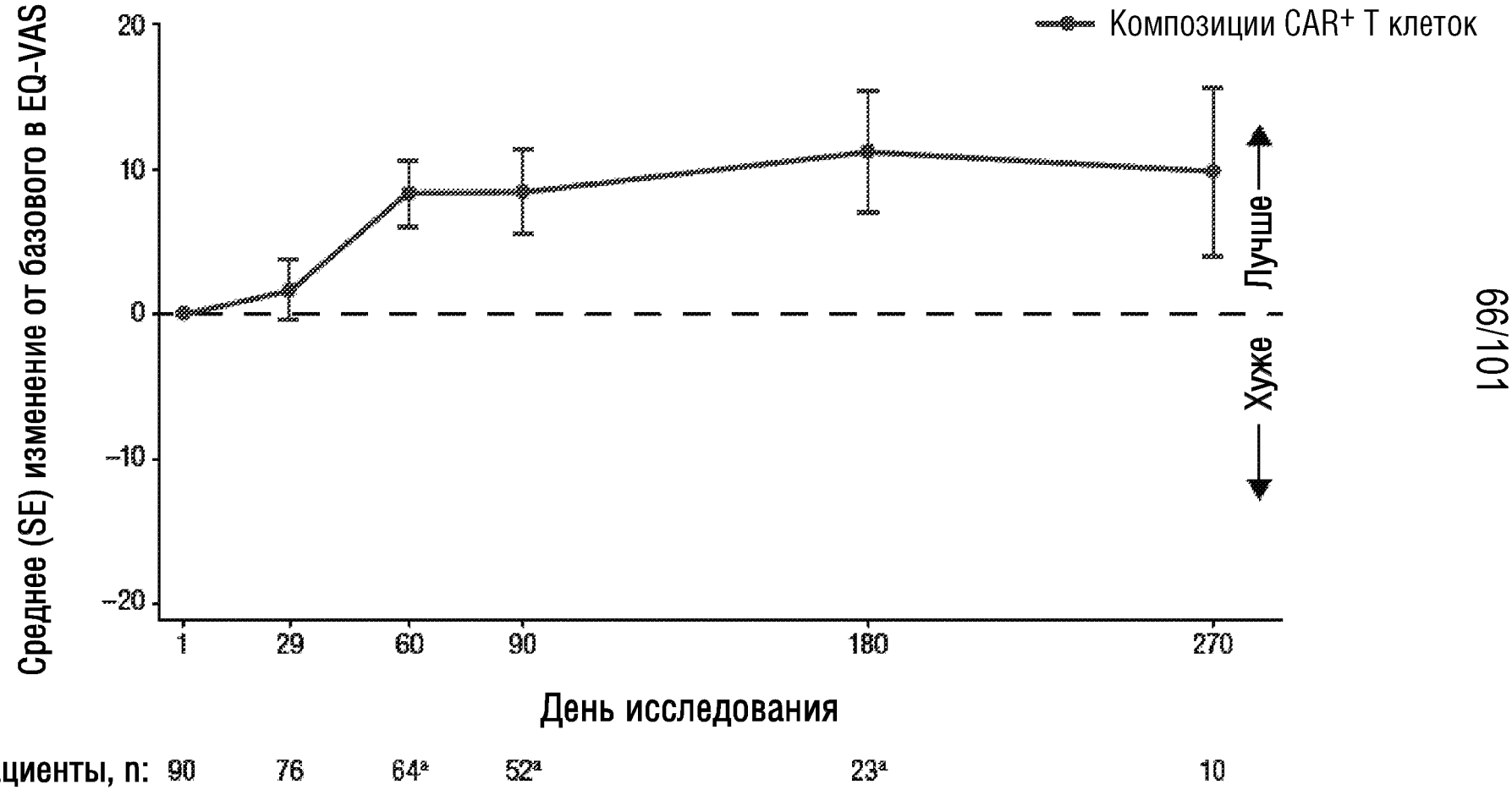
ФИГ.36E


Тревога/депрессия
Пациенты (%)
80
70
60
50
40
30
20
10
0
54
39
6
1
0
66
26
5
3
0
64
31
3
0
2
64
33
2
2
0
74
17
9
0
0
Нет проблем
Легкие проблемы
Умеренные проблемы
Тяжелые проблемы
Крайние проблемы
Базовый уровень (n=90)
Месяц 1 (n=76)
Месяц 2 (n=64)
Месяц 3 (n=52)
Месяц 6 (n=23)
Нет проблем
Легкие проблемы
Умеренные проблемы
Тяжелые проблемы
Крайние проблемы

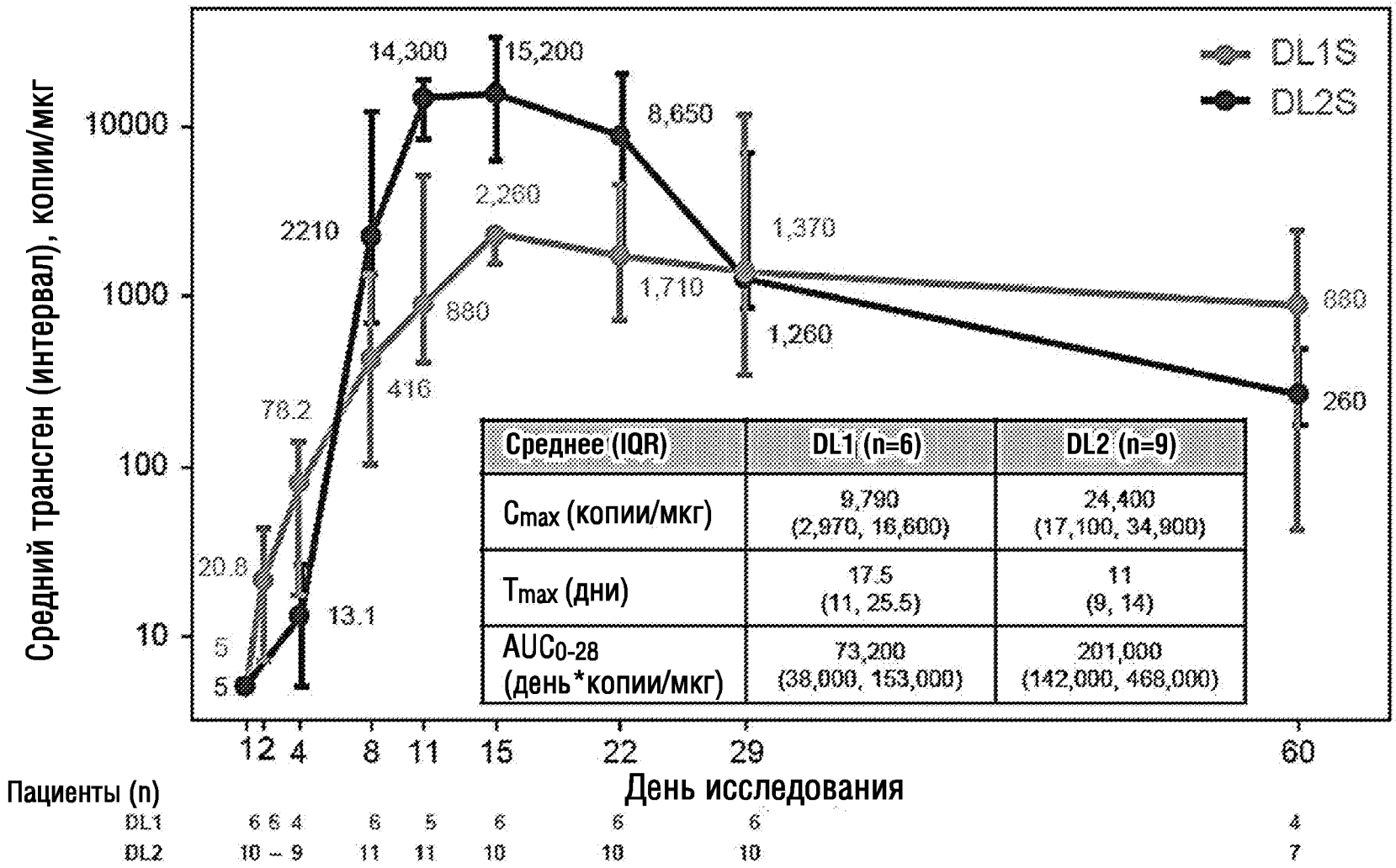
ФИГ.37


85
80
75
70
65
60
Средняя оценка EQ-VAS
70
72
78
78
83
Базовый уровень (n=90)
Месяц 1 (n=76)
Месяц 2 (n=64)
Месяц 3 (n=52)
Месяц 6 (n=23)
Момент времени оценки (после введения CAR+ Т клеток)

ФИГ.38

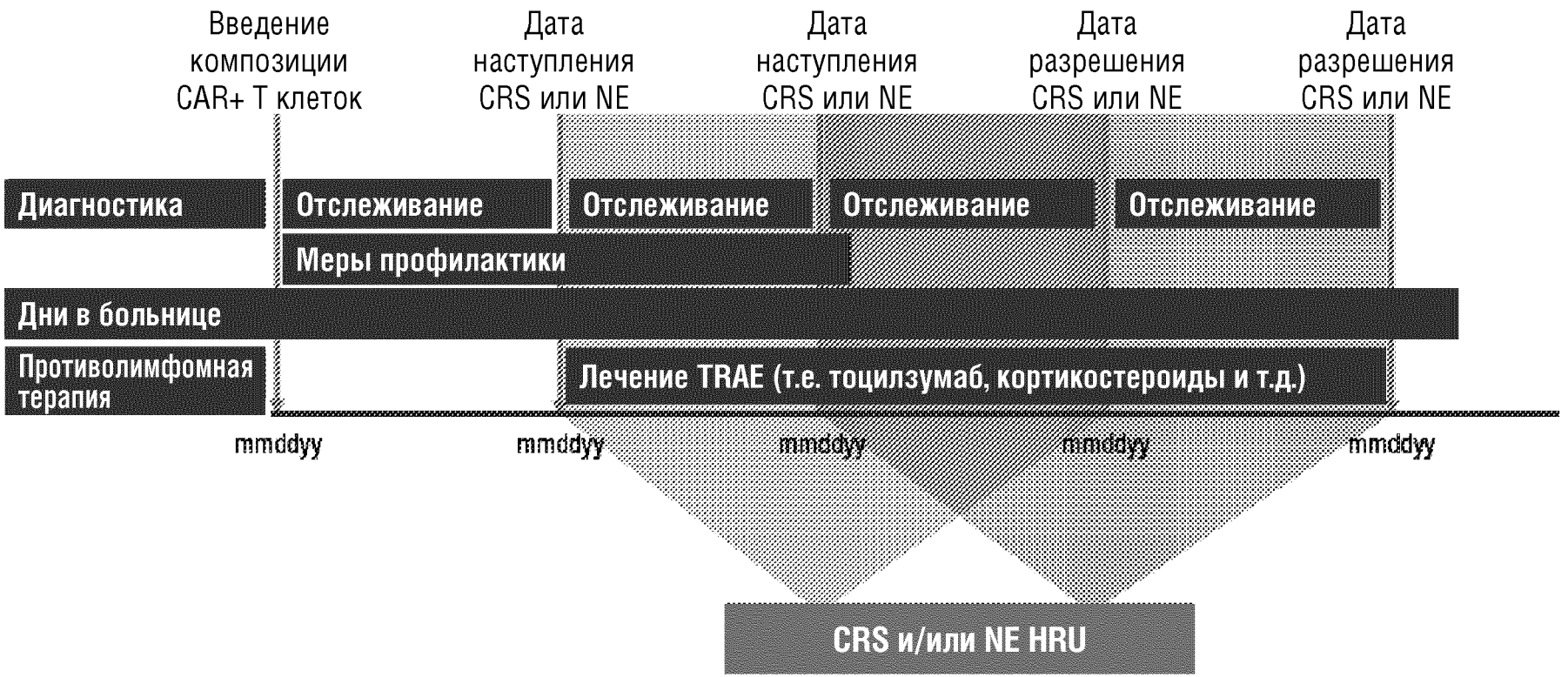

Композиции CAR+ Т клеток
Среднее (SE) изменение от базового в EQ-VAS
20
10
0
–10
–20
Лучше
Хуже
1
29
60
90
180
270
День исследования
Пациенты, n: 90 76 64[a] 52[a] 23[a] 10

ФИГ.39

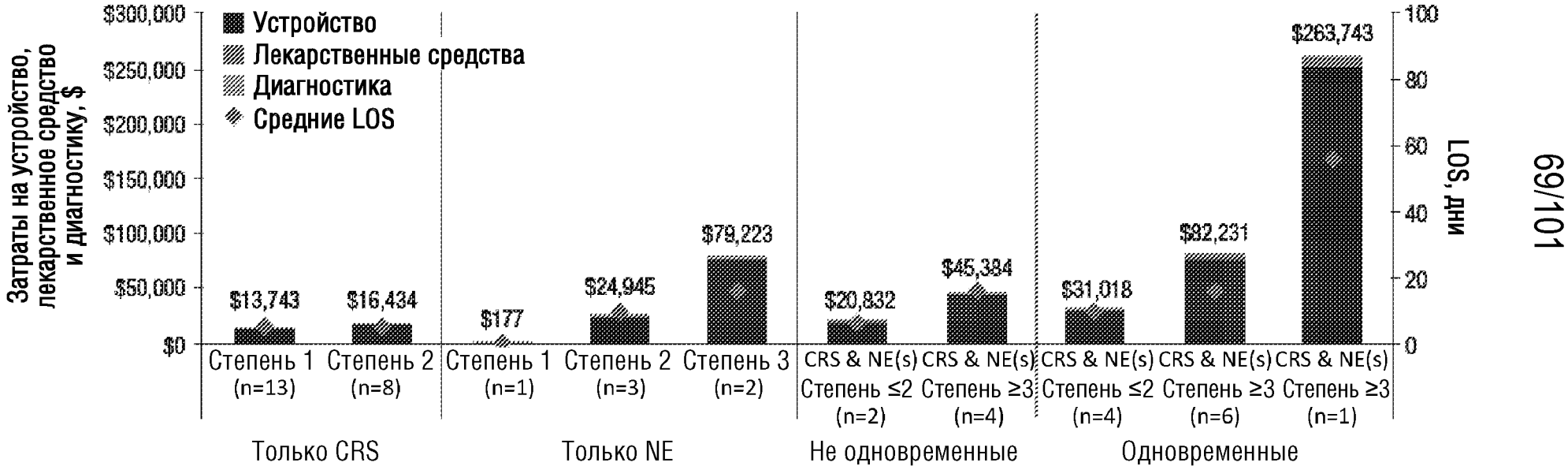


Среднее (IQR)	DL1 (n=6)	DL2 (n=9)
C_{max} (копии/мкг)	9,790 (2,970, 16,600)	24,400 (17,100, 34,900)
T_{max} (дни)	17.5 (11, 25.5)	11 (9, 14)
AUC_{0-28} (день*копии/мкг)	73,200 (38,000, 153,000)	201,000 (142,000, 468,000)

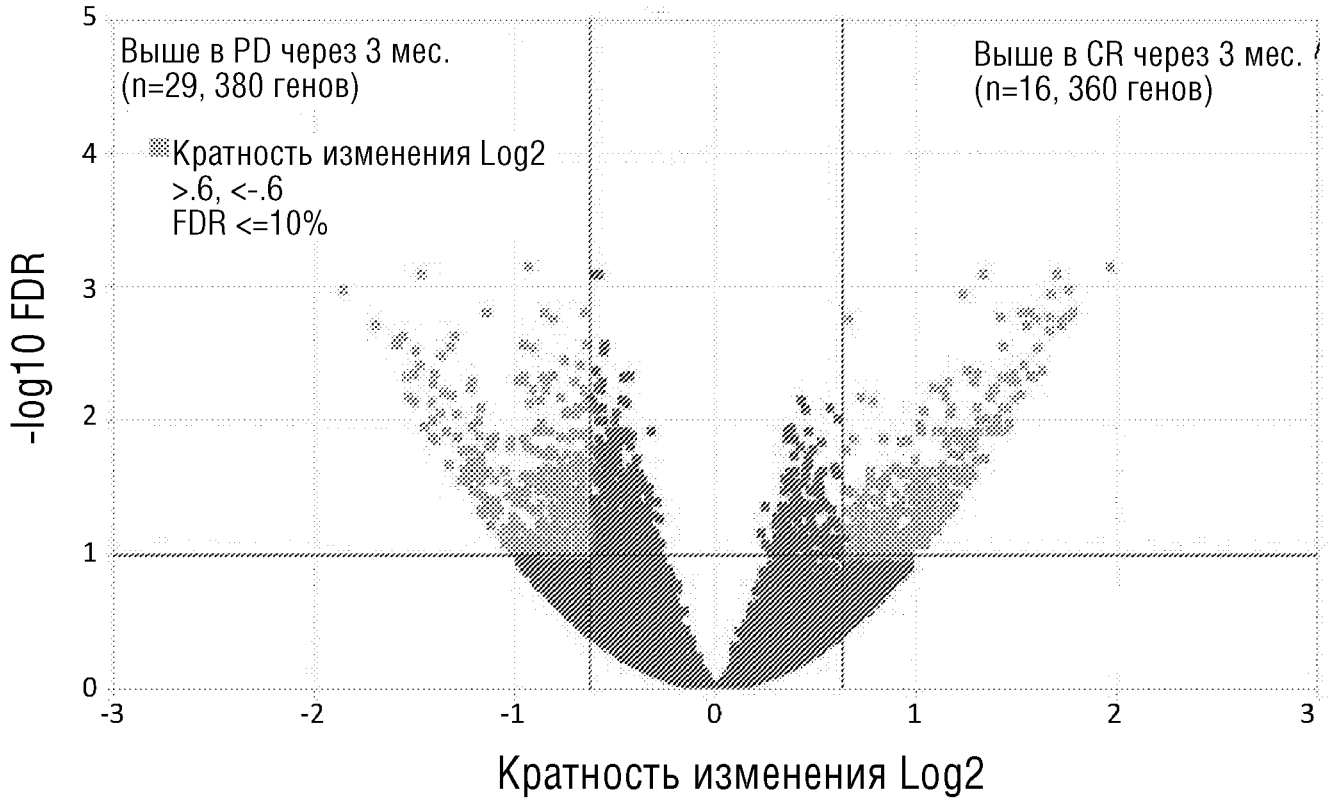
ФИГ.40


Введение композиции CAR+ T клеток
Дата наступления CRS или NE
Дата наступления CRS или NE
Дата разрешения CRS или NE
Дата разрешения CRS или NE
Диагностика
Отслеживание
Отслеживание
Отслеживание
Отслеживание
Меры профилактики
Дни в больнице
Противолимфомная терапия
Лечение TRAE (т.е. тоцилзумаб, кортикостероиды и т.д.)
mmddyy
mmddyy
mmddyy
mmddyy
mmddyy
CRS и/или NE HRU

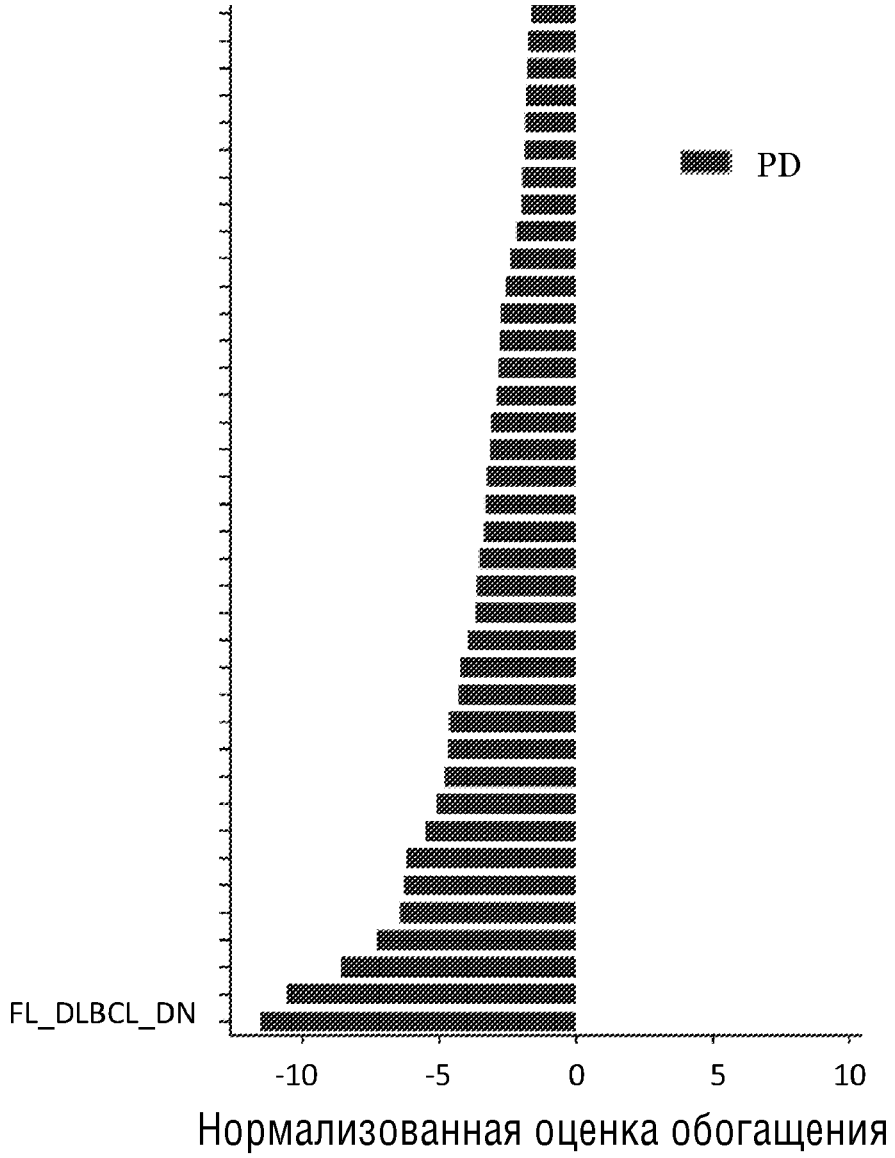
ФИГ.41


Затраты на устройство, лекарственное средство и диагностику, $
$300,000
$250,000
$200,000
$150,000
$100,000
$50,000
$0
Устройство
Лекарственные средства
Диагностика
Средние LOS
$13,743
$16,434
$177
$24,945
$79,223
$20,832
$45,384
$31,018
$82,231
$263,743
100
80
60
40
20
0
LOS, дни
Степень 1 (n=13)
Степень 2 (n=8)
Степень 1 (n=1)
Степень 2 (n=3)
Степень 3 (n=2)
CRS & NE(s) Степень ≤2 (n=2)
CRS & NE(s) Степень ≥3 (n=4)
CRS & NE(s) Степень ≤2 (n=4)
CRS & NE(s) Степень ≥3 (n=6)
CRS & NE(s) Степень ≥3 (n=1)
Только CRS
Только NE
Не одновременные
Одновременные

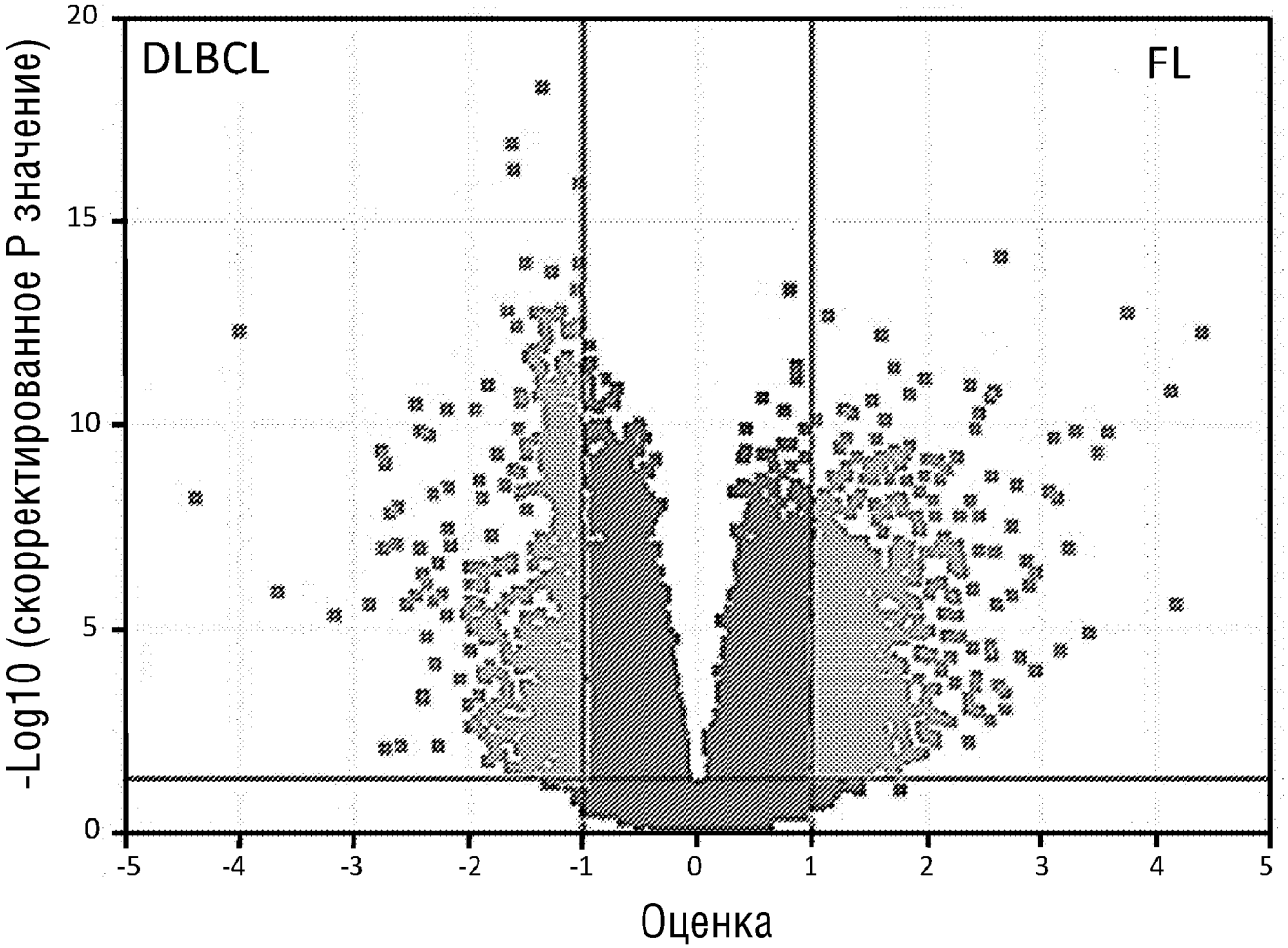
ФИГ.42


Выше в PD через 3 мес.
(n=29, 380 генов)
Выше в CR через 3 мес.
(n=16, 360 генов)
Кратность изменения Log2
>.6, <-.6
FDR <=10%
-log10 FDR
Кратность изменения Log2
5
4
3
2
1
0
-3
-2
-1
0
1
2
3

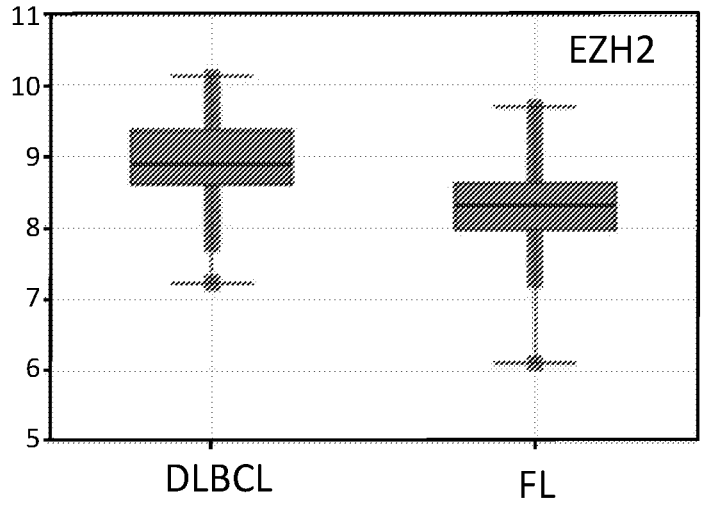
ФИГ.43



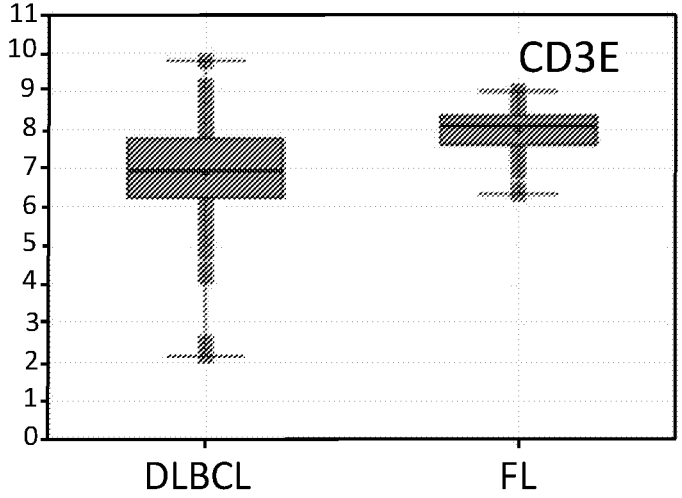
ФИГ.44


DLBCL
FL
-Log10 (скорректированное P значение)
20
15
10
5
0
-5
-4
-3
-2
-1
0
1
2
3
4
5
Оценка

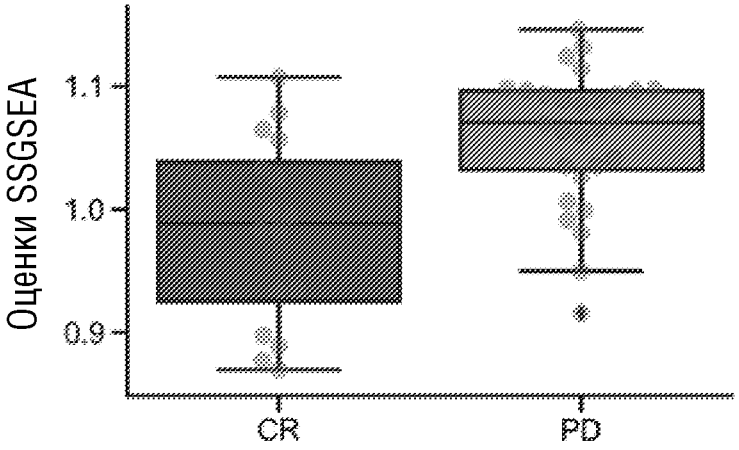
ФИГ.45A



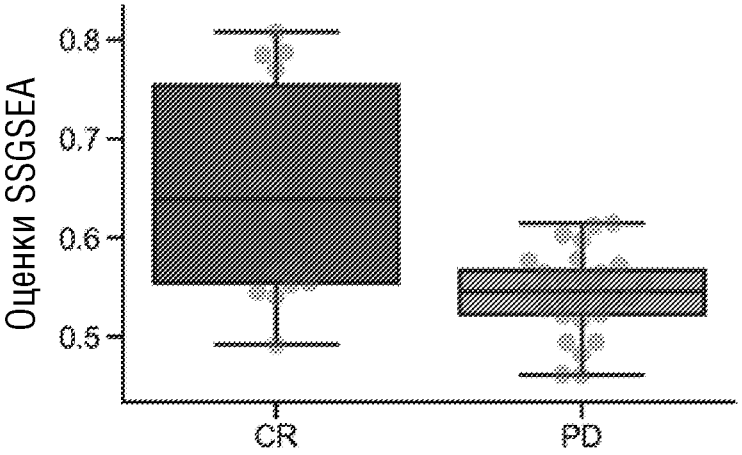
ФИГ.45B



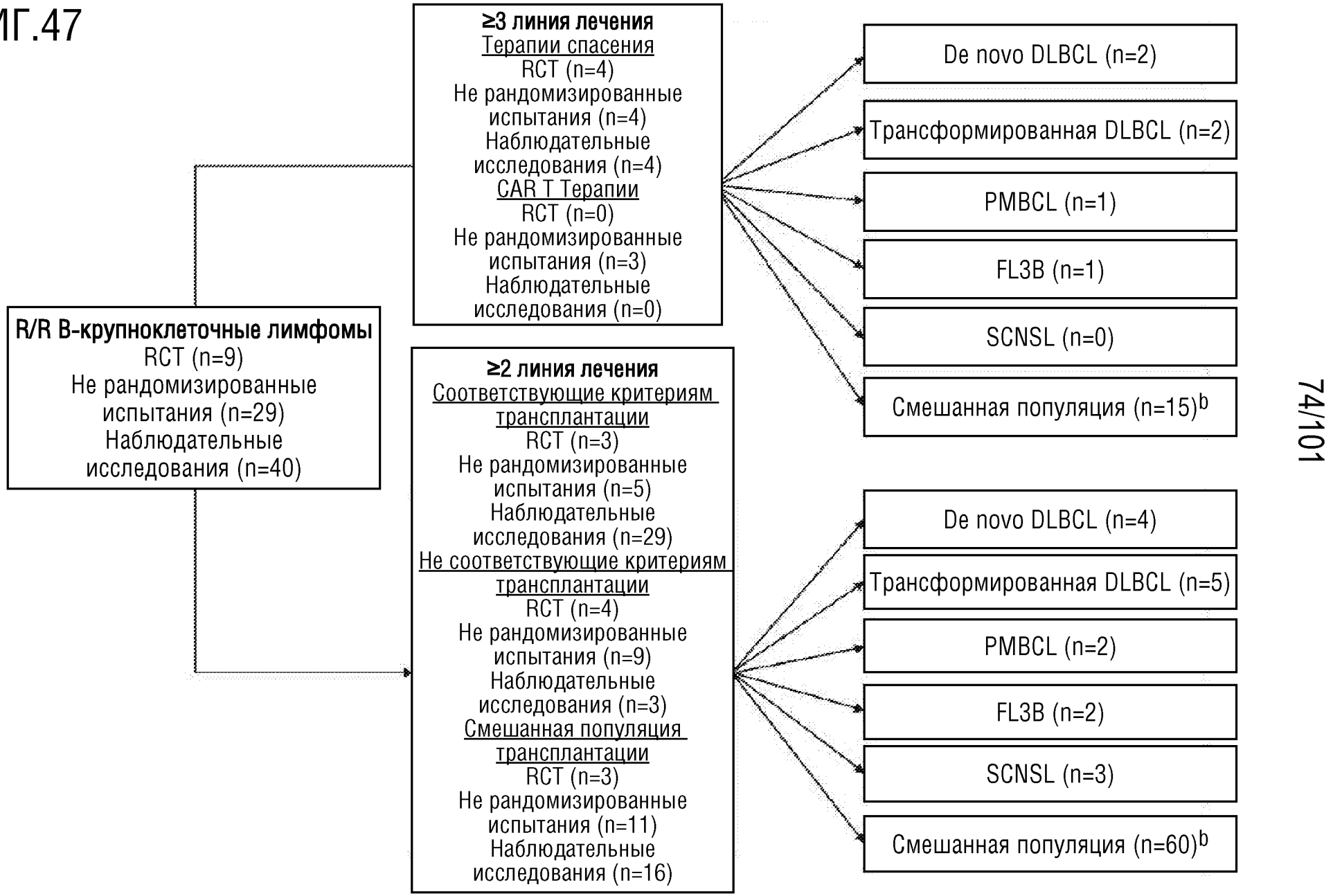
ФИГ.46A



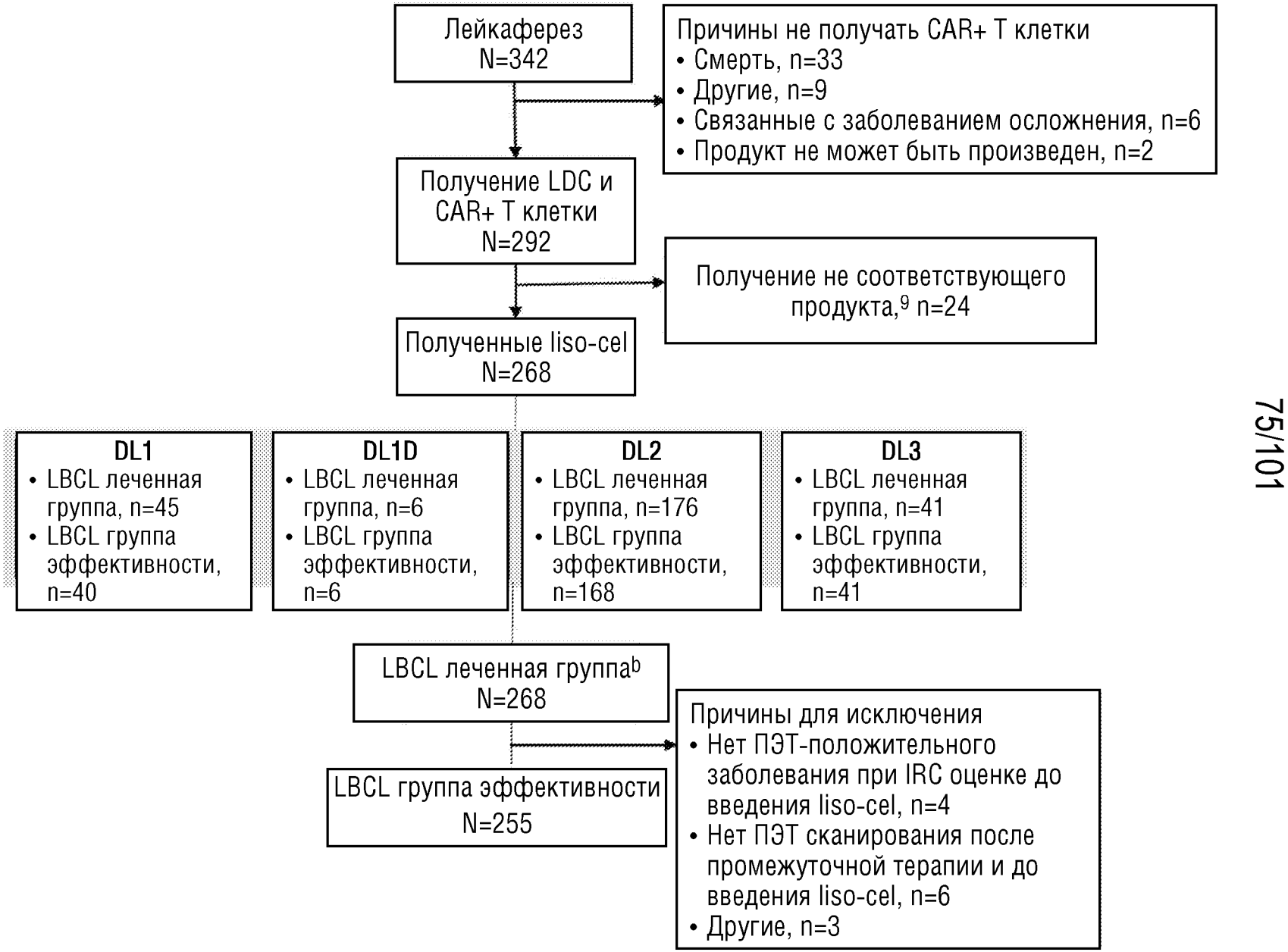
ФИГ.46B



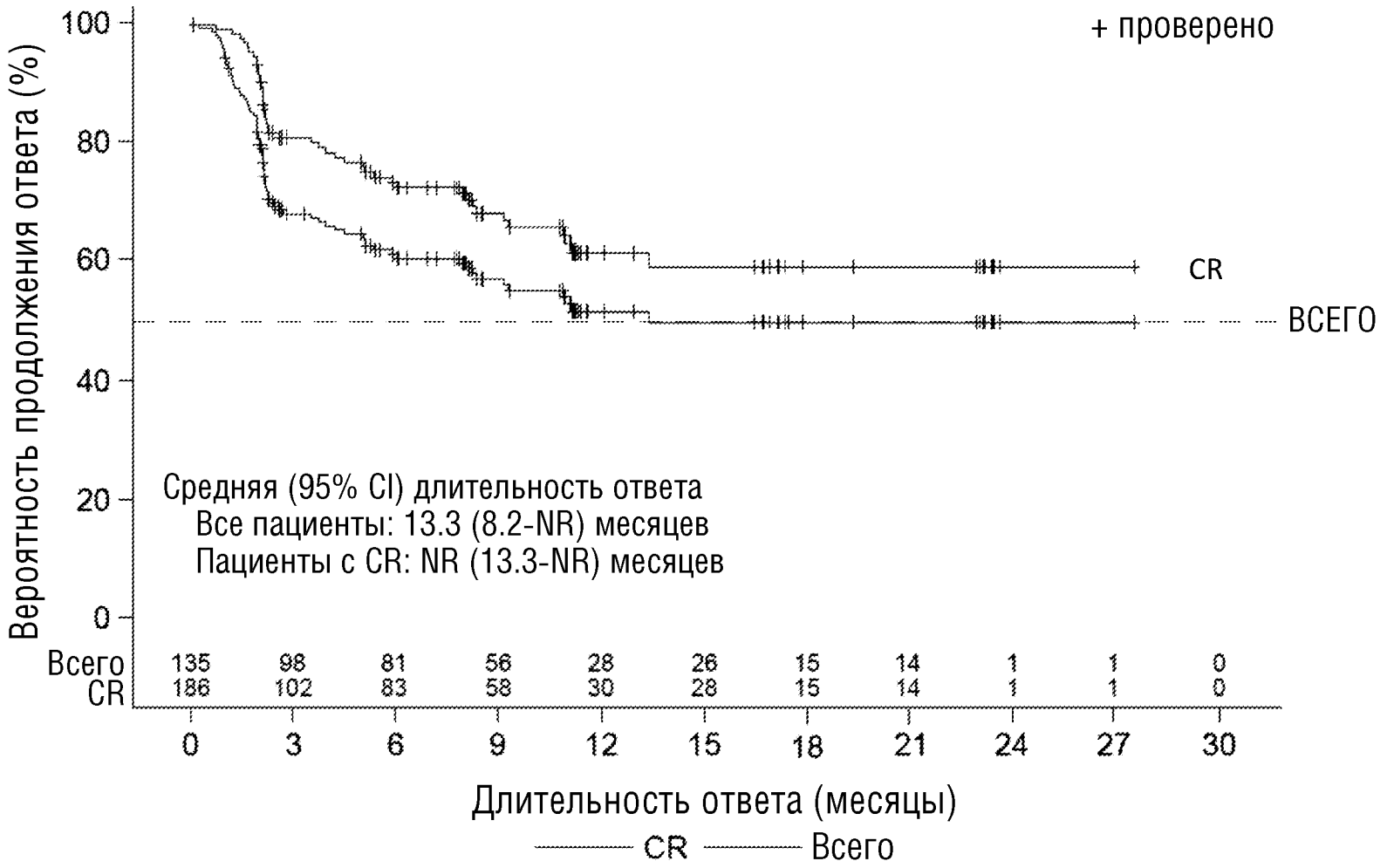
ФИГ.47


R/R B-крупноклеточные лимфомы
RCT (n=9)
Не рандомизированные испытания (n=29)
Наблюдательные исследования (n=40)
≥3 линия лечения
Терапии спасения
RCT (n=4)
Не рандомизированные испытания (n=4)
Наблюдательные исследования (n=4)
CAR T Терапии
RCT (n=0)
Не рандомизированные испытания (n=3)
Наблюдательные исследования (n=0)
≥2 линия лечения
Соответствующие критериям трансплантации
RCT (n=3)
Не рандомизированные испытания (n=5)
Наблюдательные исследования (n=29)
Не соответствующие критериям трансплантации
RCT (n=4)
Не рандомизированные испытания (n=9)
Наблюдательные исследования (n=3)
Смешанная популяция трансплантации
RCT (n=3)
Не рандомизированные испытания (n=11)
Наблюдательные исследования (n=16)
De novo DLBCL (n=2)
Трансформированная DLBCL (n=2)
PMBCL (n=1)
FL3B (n=1)
SCNSL (n=0)
Смешанная популяция (n=15)b
De novo DLBCL (n=4)
Трансформированная DLBCL (n=5)
PMBCL (n=2)
FL3B (n=2)
SCNSL (n=3)
Смешанная популяция (n=60)b

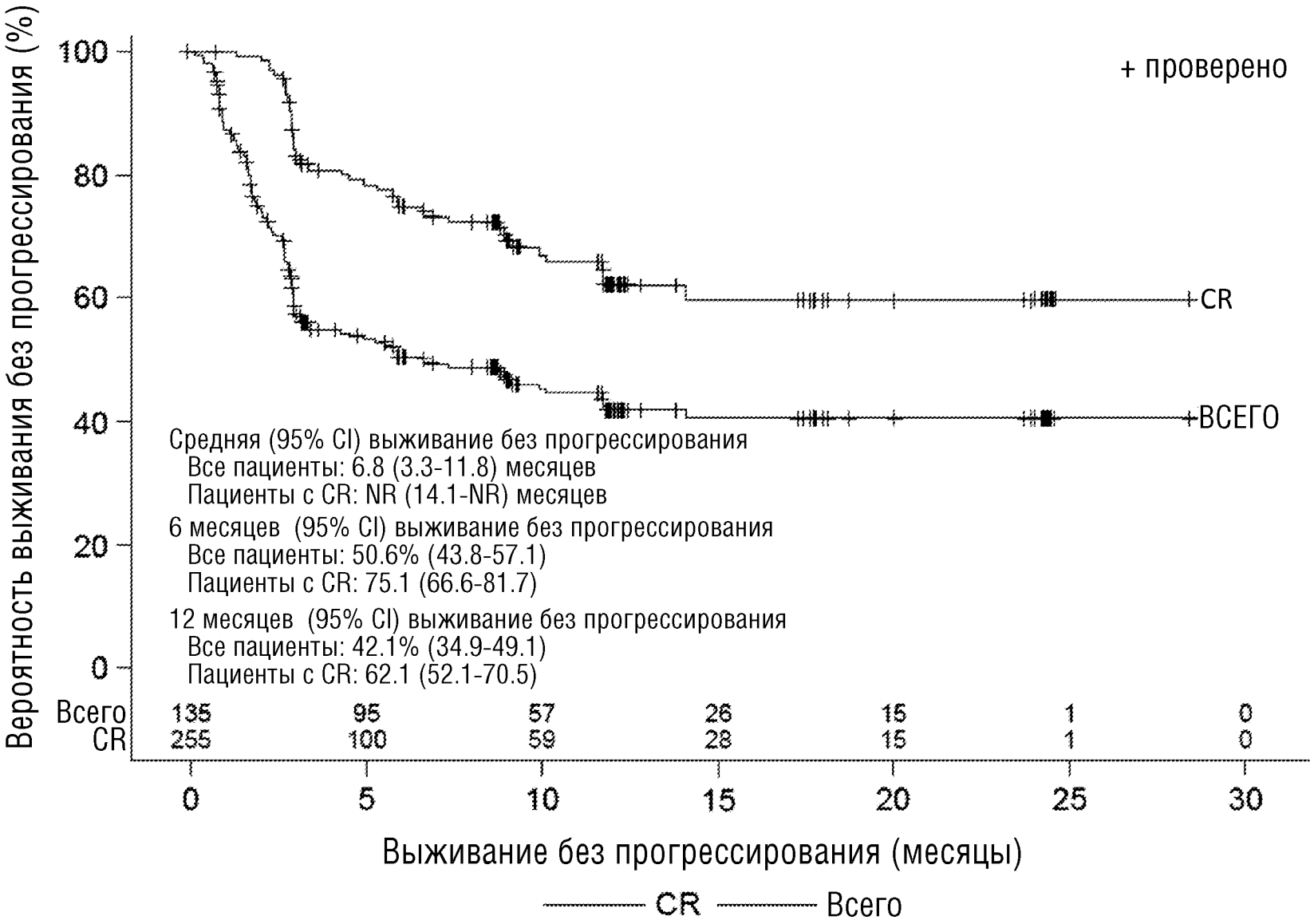
ФИГ.48


Лейкаферез
N=342
Причины не получать CAR+ T клетки
• Смерть, n=33
• Другие, n=9
• Связанные с заболеванием осложнения, n=6
• Продукт не может быть произведен, n=2
Получение LDC и CAR+ T клетки
N=292
Получение не соответствующего продукта,9 n=24
Полученные liso-cel
N=268
DL1
• LBCL леченная группа, n=45
• LBCL группа эффективности, n=40
DL1D
• LBCL леченная группа, n=6
• LBCL группа эффективности, n=6
DL2
• LBCL леченная группа, n=176
• LBCL группа эффективности, n=168
DL3
• LBCL леченная группа, n=41
• LBCL группа эффективности, n=41
LBCL леченная группаb
N=268
Причины для исключения
• Нет ПЭТ-положительного заболевания при IRC оценке до введения liso-cel, n=4
• Нет ПЭТ сканирования после промежуточной терапии и до введения liso-cel, n=6
• Другие, n=3
LBCL группа эффективности
N=255

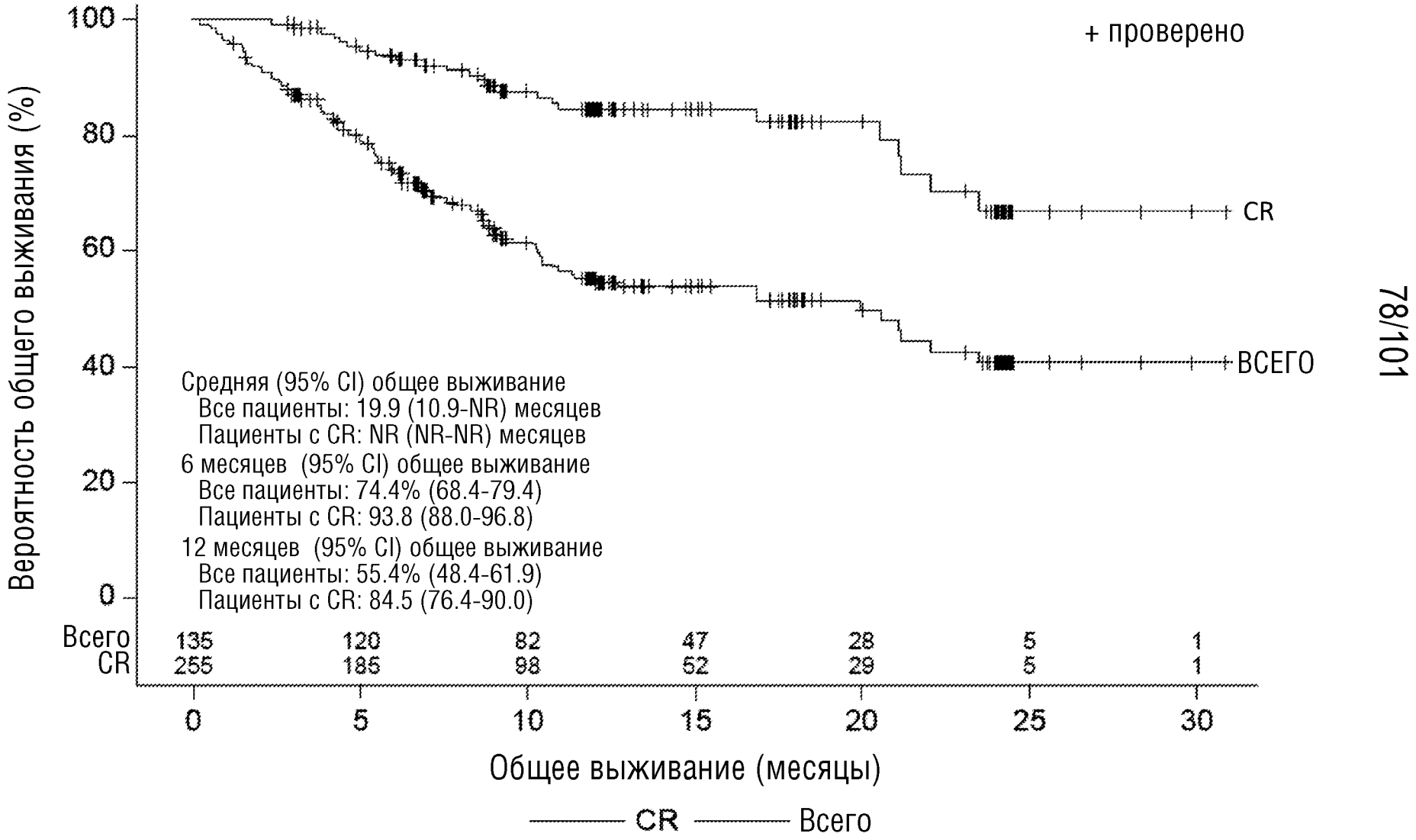
ФИГ.49А


Вероятность продолжения ответа (%)
100
80
60
40
20
0
+ проверено
CR
ВСЕГО
Средняя (95% CI) длительность ответа
Все пациенты: 13.3 (8.2-NR) месяцев
Пациенты с CR: NR (13.3-NR) месяцев
Всего 135 98 81 56 28 26 15 14 1 1 0
CR 186 102 83 58 30 28 15 14 1 1 0
0 3 6 9 12 15 18 21 24 27 30
Длительность ответа (месяцы)
CR Всего

ФИГ.49B

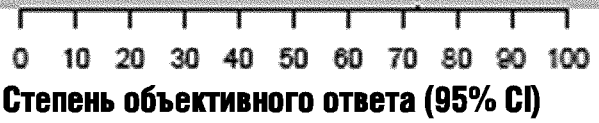

Вероятность выживания без прогрессирования (%)
100
80
60
40
20
0
+ проверено
CR
ВСЕГО
Средняя (95% CI) выживание без прогрессирования
Все пациенты: 6.8 (3.3-11.8) месяцев
Пациенты с CR: NR (14.1-NR) месяцев
6 месяцев (95% CI) выживание без прогрессирования
Все пациенты: 50.6% (43.8-57.1)
Пациенты с CR: 75.1 (66.6-81.7)
12 месяцев (95% CI) выживание без прогрессирования
Все пациенты: 42.1% (34.9-49.1)
Пациенты с CR: 62.1 (52.1-70.5)
Всего 135 95 57 26 15 1 0
CR 255 100 59 28 15 1 0
0 5 10 15 20 25 30
Выживание без прогрессирования (месяцы)
CR
Всего

ФИГ.49C


Вероятность общего выживания (%)
100
80
60
40
20
0
+ проверено
CR
ВСЕГО
Средняя (95% CI) общее выживание
Все пациенты: 19.9 (10.9-NR) месяцев
Пациенты с CR: NR (NR-NR) месяцев
6 месяцев (95% CI) общее выживание
Все пациенты: 74.4% (68.4-79.4)
Пациенты с CR: 93.8 (88.0-96.8)
12 месяцев (95% CI) общее выживание
Все пациенты: 55.4% (48.4-61.9)
Пациенты с CR: 84.5 (76.4-90.0)
Всего 135 120 82 47 28 5 1
CR 255 185 98 52 29 5 1
0 5 10 15 20 25 30
Общее выживание (месяцы)
CR Всего

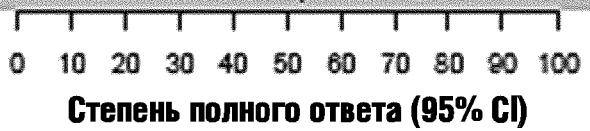
ФИГ.50А

Подгруппа	Оцениваемые пациенты, n	Пациенты с ответом, n	ORR (95% CI)
Всего	255	186	73 (67, 78)
PAS	133	99	74 (66, 82)
DL1	40	27	68 (51, 81)
DL2	168	125	74 (67, 81)
DL3	41	30	73 (57, 86)
≥65 лет	107	83	77 (69, 85)
<65 лет	148	103	70 (62, 77)
Мужчины	169	126	75 (67, 81)
Женщины	86	60	70 (59, 79)
DLBCL NOS	131	89	68 (59, 76)
HGBCL	33	25	76 (58, 89)
tFL	57	48	84 (72, 93)
Трансформированная iNHL	18	11	61 (36, 83)
PMBCL	14	11	79 (49, 95)
Промежуточная терапия – да	150	101	67 (59, 75)
Промежуточная терапия – нет	105	85	81 (72, 88)
SPD[a] ≥50 см²	69	43	62 (50, 74)
SPD[a] <50 см²	177	136	77 (70, 83)
CRP[b] ≥20 мг/л	145	84	70 (62, 77)
CRP[b] <20 мг/л	109	101	77 (68, 85)
Сопутствующие заболев.,[c] да	60	44	73 (60, 84)
Сопутствующие заболев.,[c] нет	195	142	73 (66, 79)
Химиотерапия – чувствительная	85	66	78 (67, 86)
Химиотерапия – рефрактерная	170	120	71 (63, 77)
HSCT, да	87	68	78 (68, 86)
HSCT, нет	168	118	70 (63, 77)
Амбулаторные пациенты	25	20	80 (59, 93)

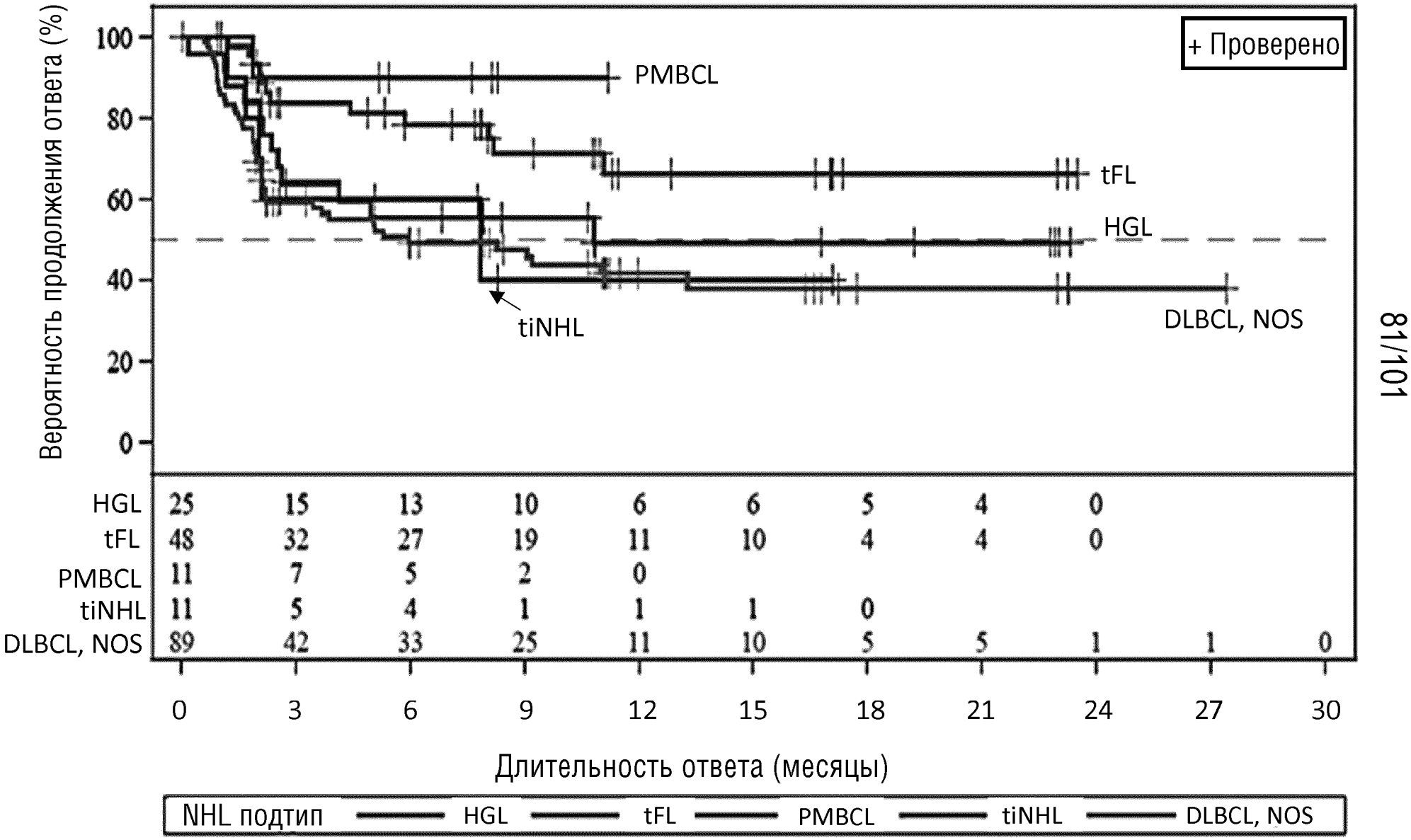


ФИГ.50B

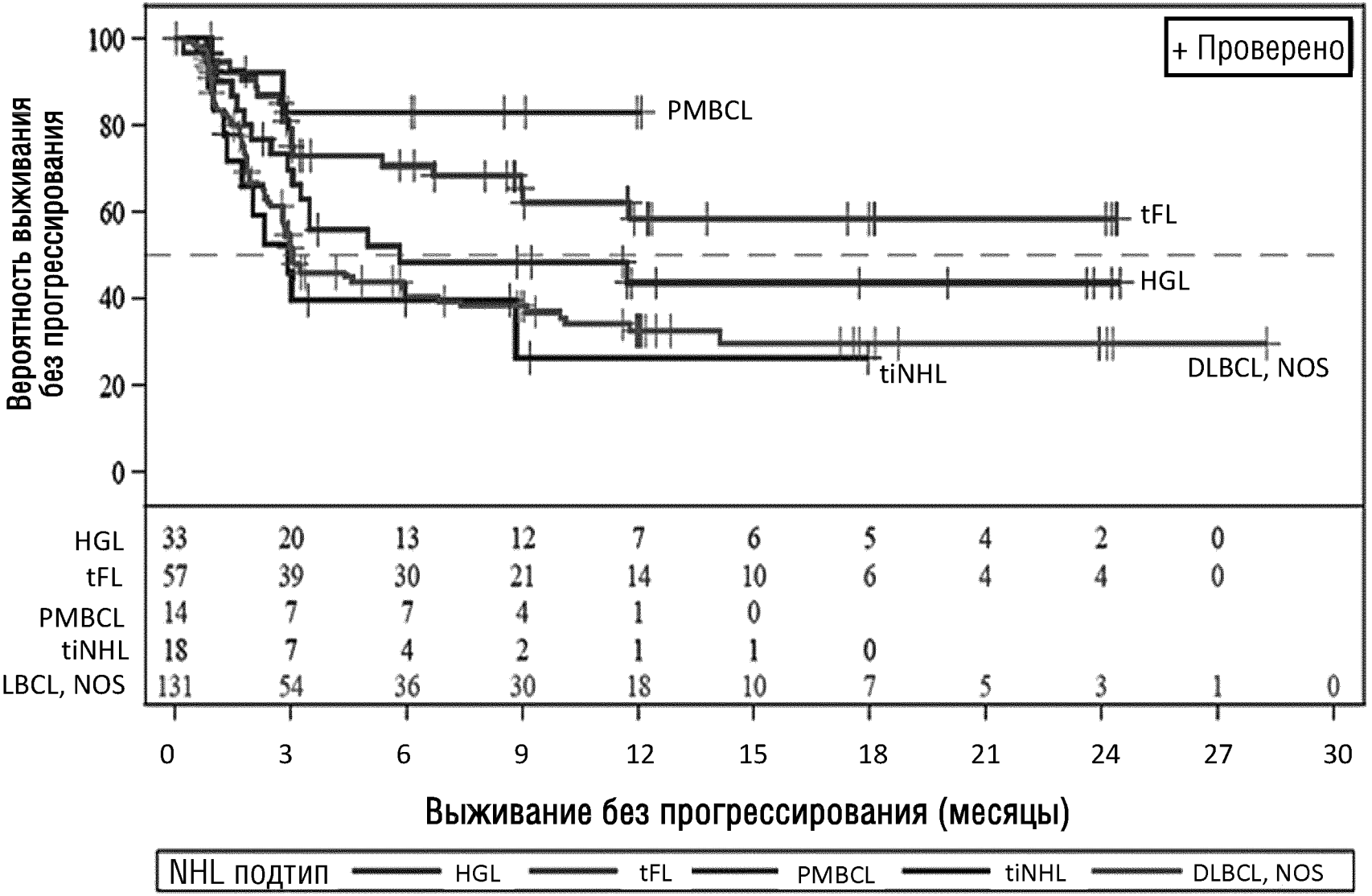
Подгруппа	Оцениваемые пациенты, n	Пациенты с CR, n	Степень CR (95% CI)
Всего	255	135	53 (47, 59)
PAS	133	72	54 (45, 63)
DL1	40	24	60 (43, 75)
DL2	168	88	52 (44, 60)
DL3	41	20	49 (33, 65)
≥65 лет	107	65	61 (51, 70)
<65 лет	148	70	47 (39, 56)
Мужчины	169	90	53 (45, 61)
Женщины	86	45	52 (41, 63)
DLBCL NOS	131	63	48 (39, 57)
HGBCL	33	20	61 (42, 77)
tFL	57	36	63 (49, 76)
Трансформированная iNHL	18	7	39 (17, 64)
PMBCL	14	7	50 (23, 77)
Промежуточная терапия – да	150	67	45 (37, 53)
Промежуточная терапия – нет	105	68	65 (55, 74)
SPD[a] ≥50 см²	69	23	33 (22, 46)
SPD[a] <50 см²	177	107	61 (53, 68)
CRP[b] ≥20 мг/л	145	67	46 (38, 55)
CRP[b] <20 мг/л	109	67	62 (52, 71)
Сопутствующие заболев.,[c] да	60	31	52 (38, 65)
Сопутствующие заболев.,[c] нет	195	104	53 (46, 61)
Химиотерапия – чувствительная	85	46	54 (45, 65)
Химиотерапия – рефрактерная	170	89	52 (45, 60)
HSCT, да	87	55	63 (52, 73)
HSCT, нет	168	80	48 (40, 56)
Амбулаторные пациенты	25	14	56 (35, 76)



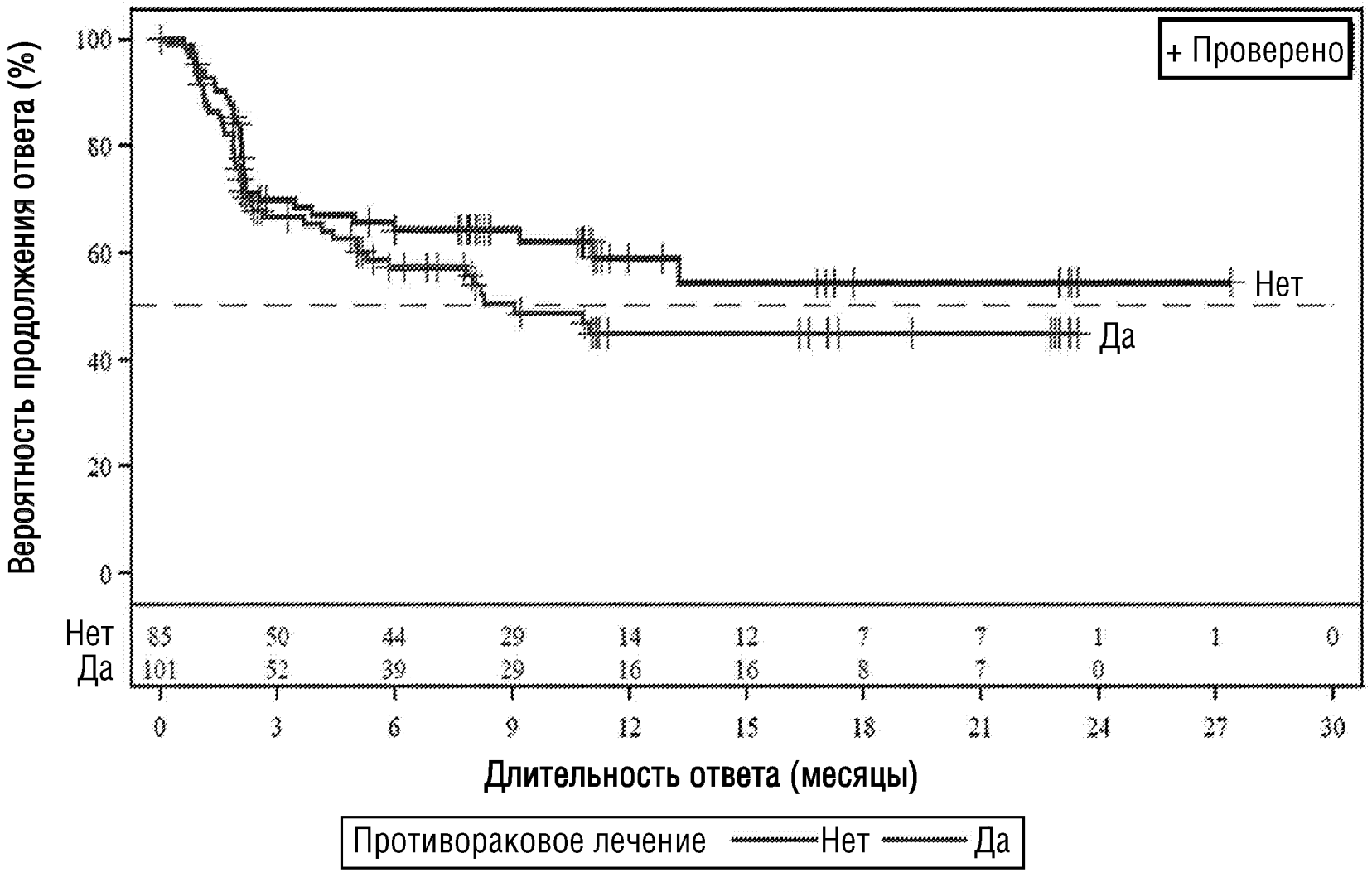
ФИГ.51А


Вероятность продолжения ответа (%)
100
80
60
40
20
0
+ Проверено
PMBCL
tFL
HGL
tiNHL
DLBCL, NOS
HGL 25 15 13 10 6 6 5 4 0
tFL 48 32 27 19 11 10 4 4 0
PMBCL 11 7 5 2 0
tiNHL 11 5 4 1 1 1 0
DLBCL, NOS 89 42 33 25 11 10 5 5 1 1 0
0 3 6 9 12 15 18 21 24 27 30
Длительность ответа (месяцы)
NHL подтип
HGL
tFL
PMBCL
tiNHL
DLBCL, NOS

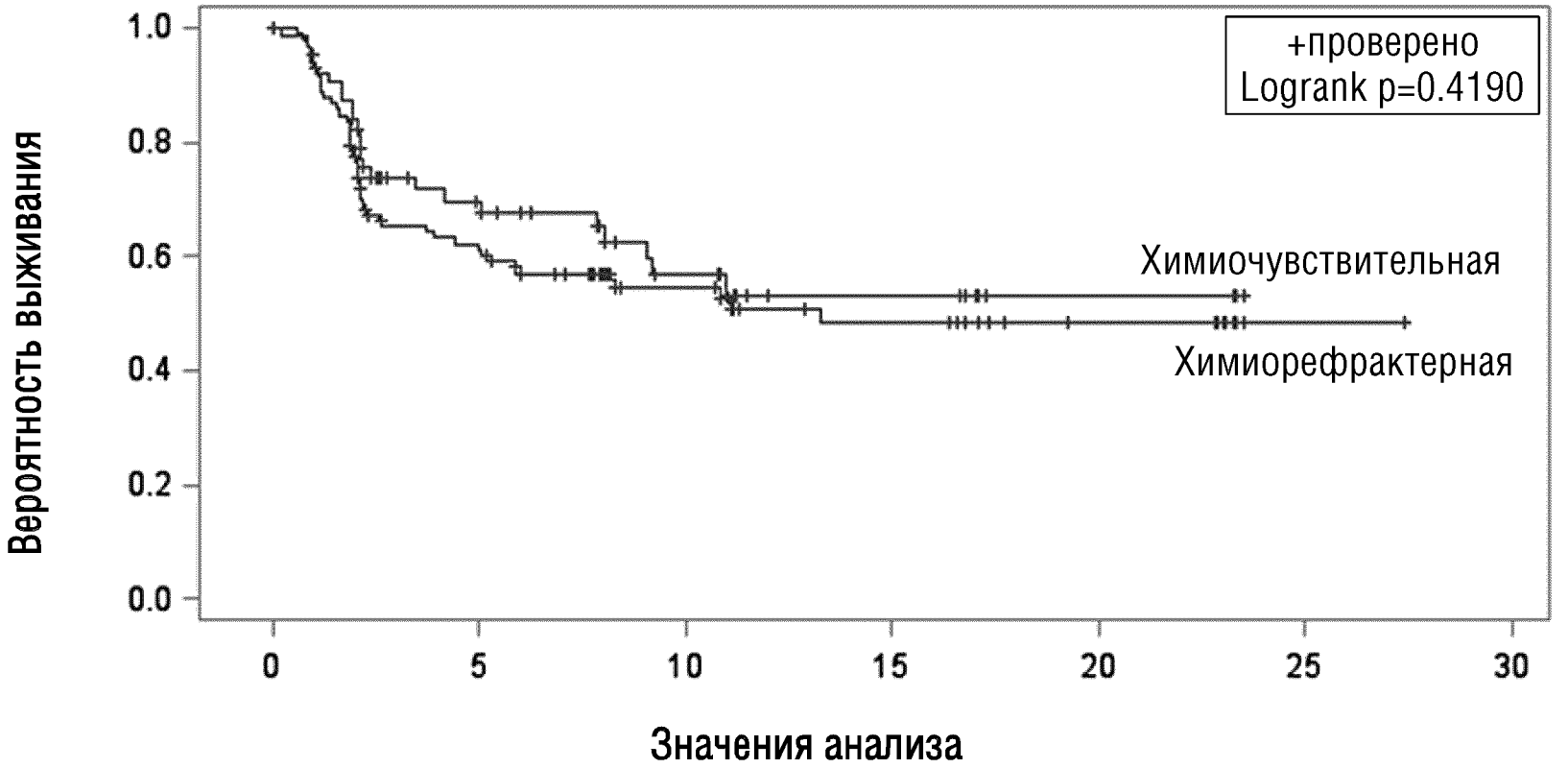
ФИГ.51B


+ Проверено
Вероятность выживания без прогрессирования
100
80
60
40
20
0
PMBCL
tFL
HGL
tiNHL
DLBCL, NOS
HGL 33 20 13 12 7 6 5 4 2 0
tFL 57 39 30 21 14 10 6 4 4 0
PMBCL 14 7 7 4 1 0
tiNHL 18 7 4 2 1 1 0
DLBCL, NOS 131 54 36 30 18 10 7 5 3 1 0
0 3 6 9 12 15 18 21 24 27 30
Выживание без прогрессирования (месяцы)
NHL подтип
HGL
tFL
PMBCL
tiNHL
DLBCL, NOS

ФИГ.51C

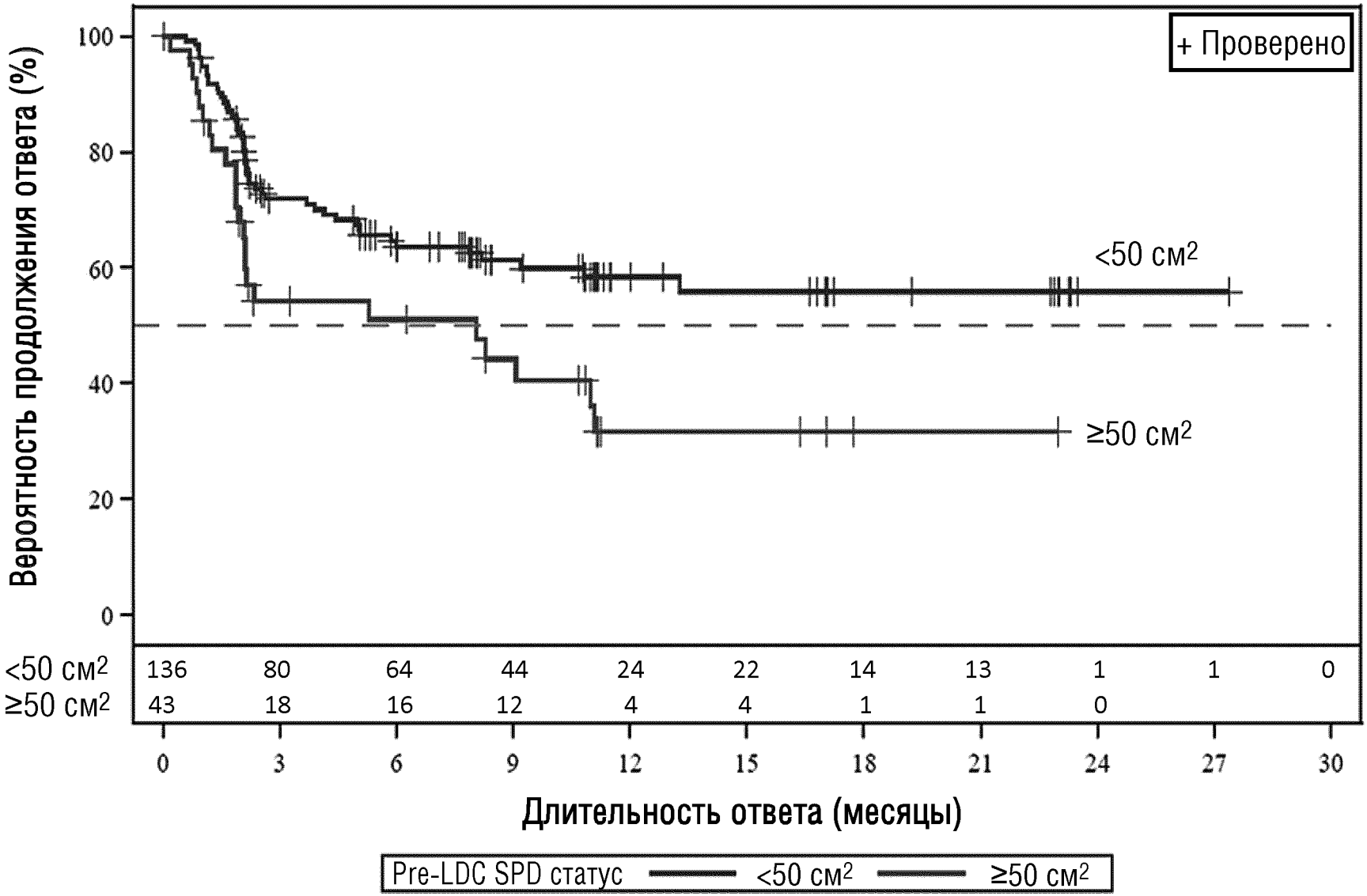

Вероятность продолжения ответа (%)
100
80
60
40
20
0
+ Проверено
Нет
Да
Нет 85 50 44 29 14 12 7 7 1 1 0
Да 101 52 39 29 16 16 8 7 0
0 3 6 9 12 15 18 21 24 27 30
Длительность ответа (месяцы)
Противораковое лечение Нет Да

ФИГ.51D

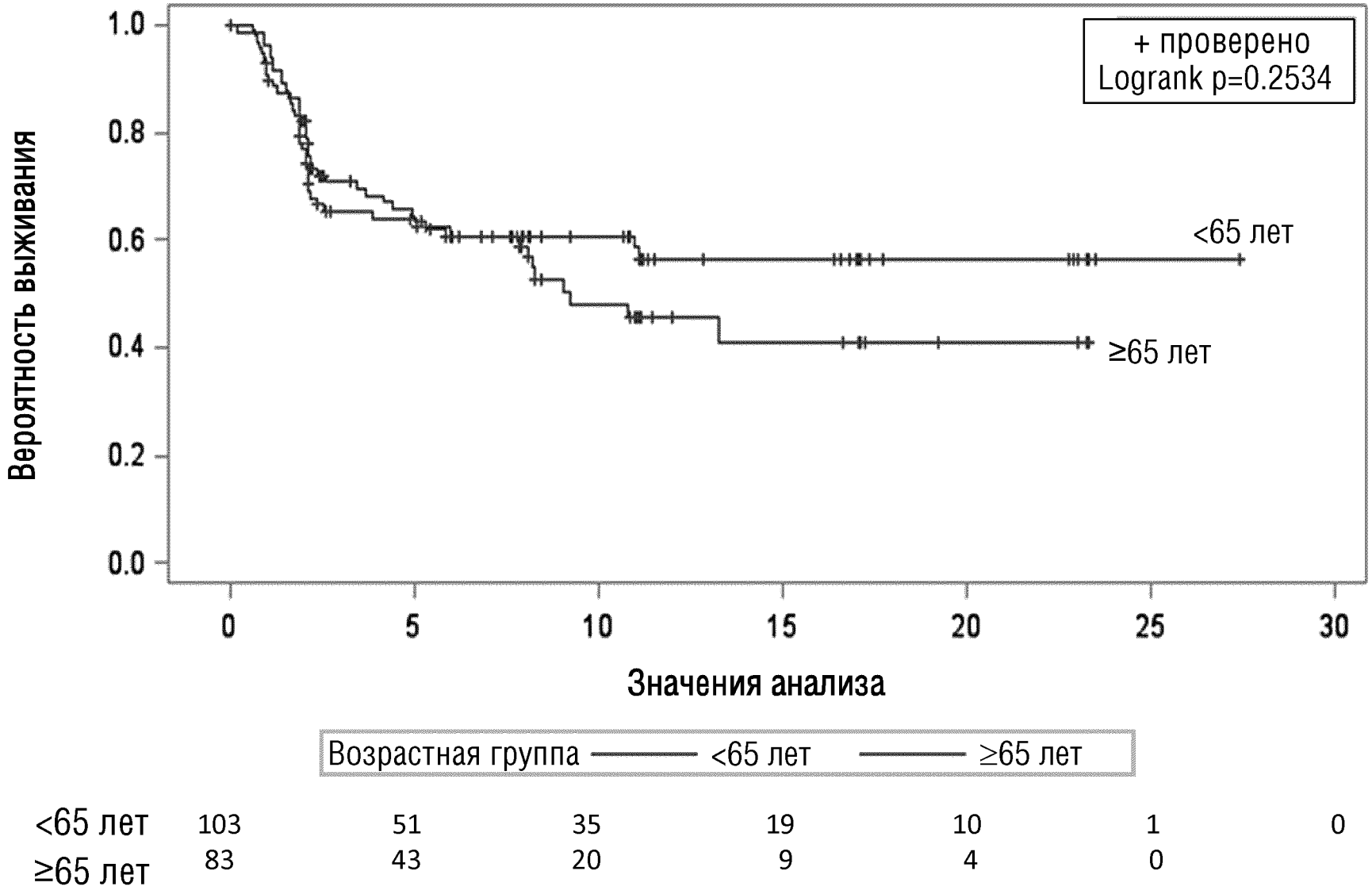


Предшествующий статус химиоответа						
Химиорефрактерная	120	61	36	19	11	1	0
Химиочувствительная	66	33	19	9	3	0	

ФИГ.51E

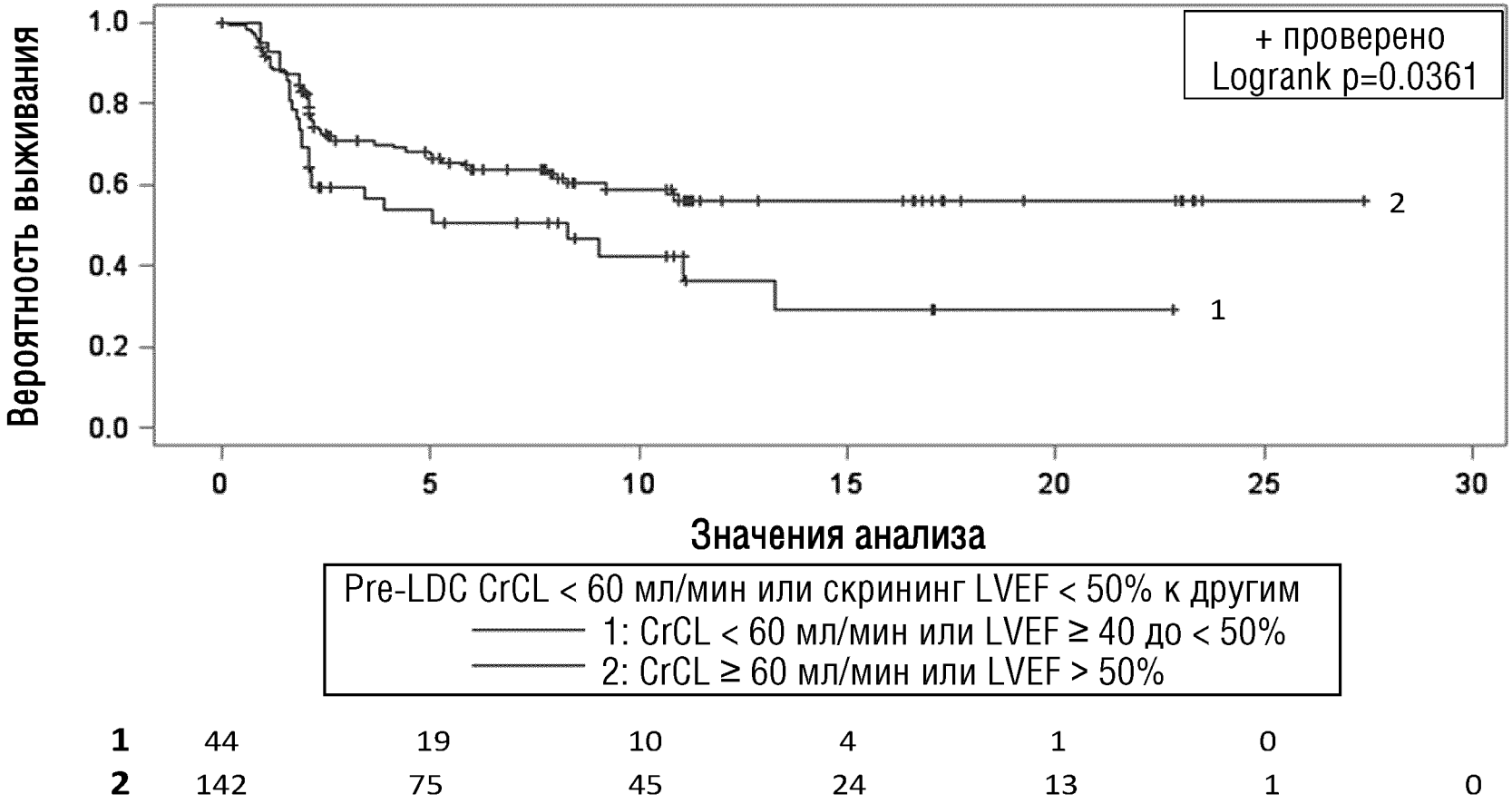

+ Проверено
Вероятность продолжения ответа (%)
100
80
60
40
20
0
<50 см2
≥50 см2
<50 см2 136 80 64 44 24 22 14 13 1 1 0
≥50 см2 43 18 16 12 4 4 1 1 0
0 3 6 9 12 15 18 21 24 27 30
Длительность ответа (месяцы)
Pre-LDC SPD статус <50 см2 ≥50 см2

ФИГ.51F

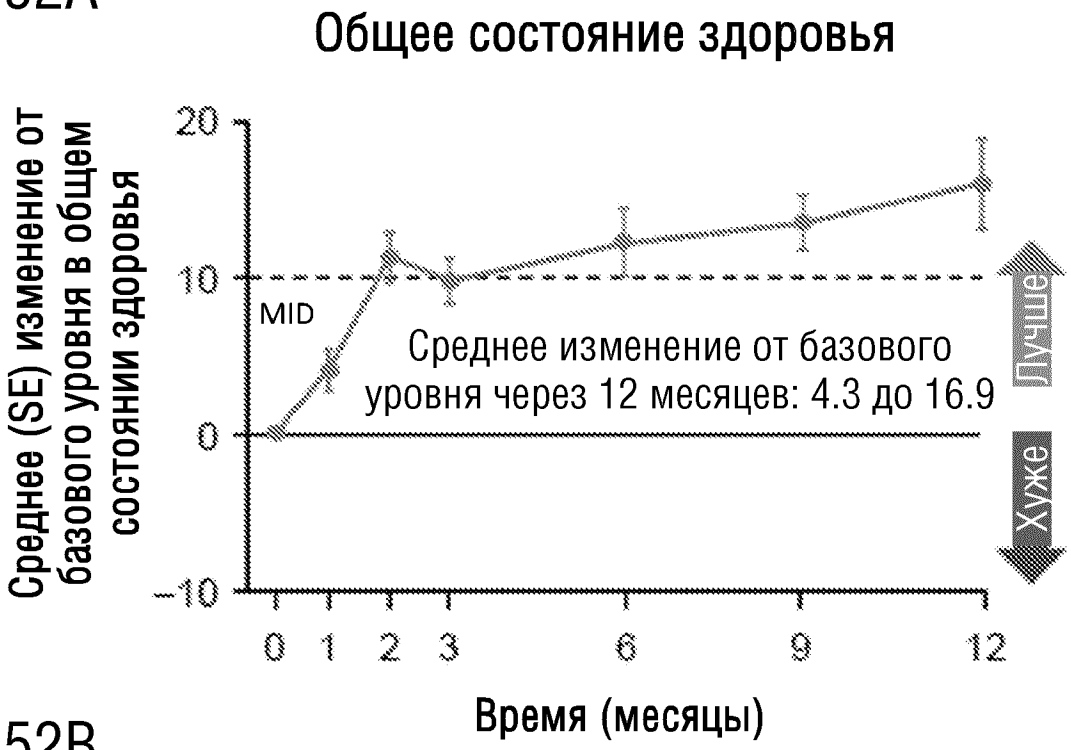


<65 лет	103	51	35	19	10	1	0
≥65 лет	83	43	20	9	4	0	

ФИГ.51G

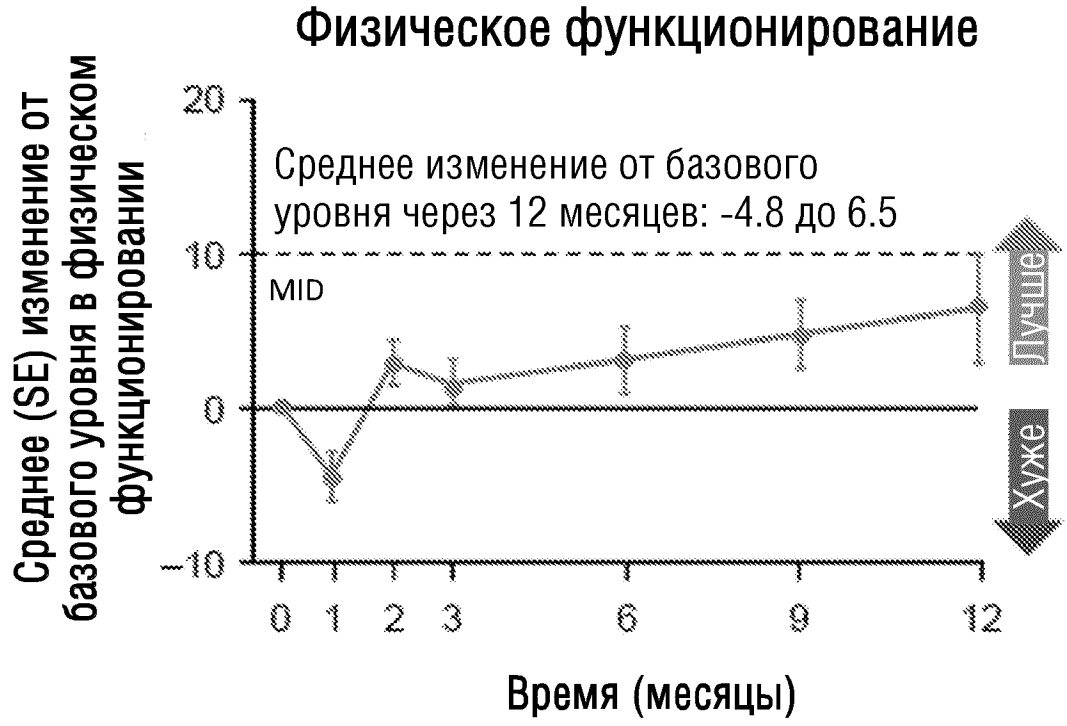

Вероятность выживания
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0
5
10
15
20
25
30
+ проверено
Logrank p=0.0361
2
1
Значения анализа
Pre-LDC CrCL < 60 мл/мин или скрининг LVEF < 50% к другим
1: CrCL < 60 мл/мин или LVEF ≥ 40 до < 50%
2: CrCL ≥ 60 мл/мин или LVEF > 50%
1 44 19 10 4 1 0
2 142 75 45 24 13 1 0

ФИГ.52A



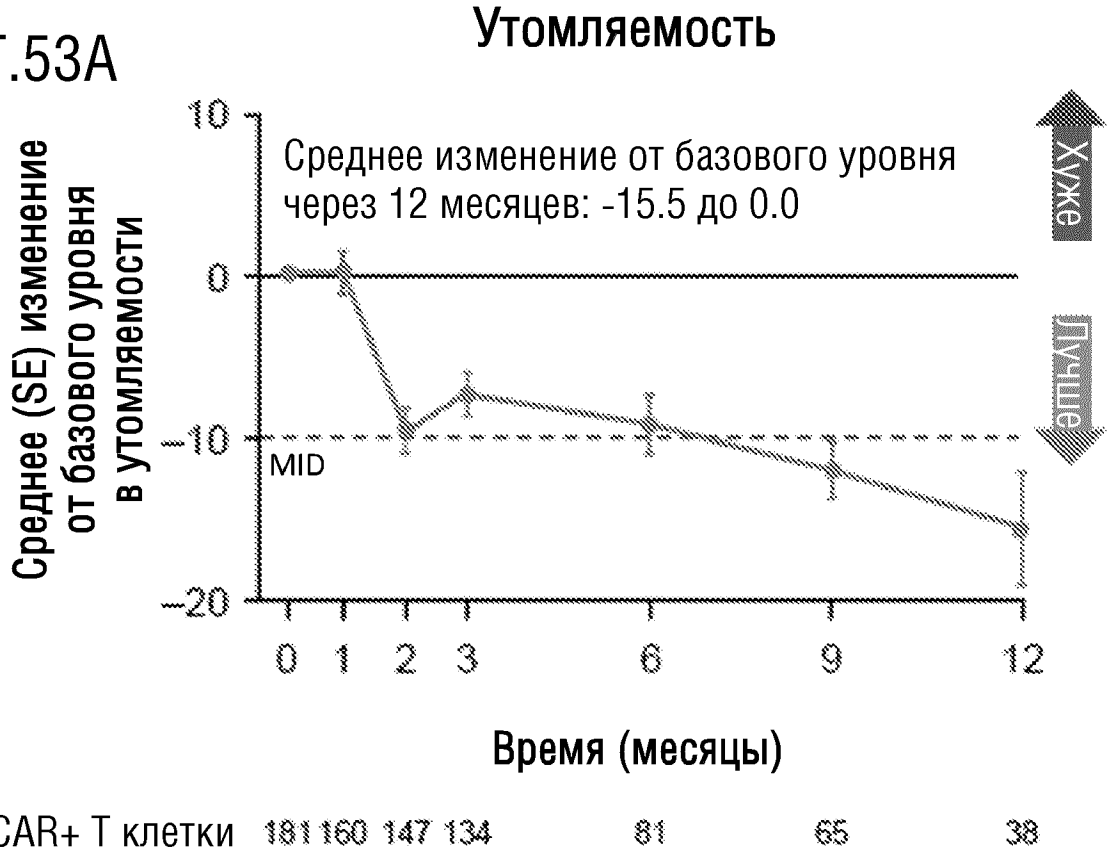
ФИГ.52B

CAR+ T клетки	181	160	146	135	81	65	38

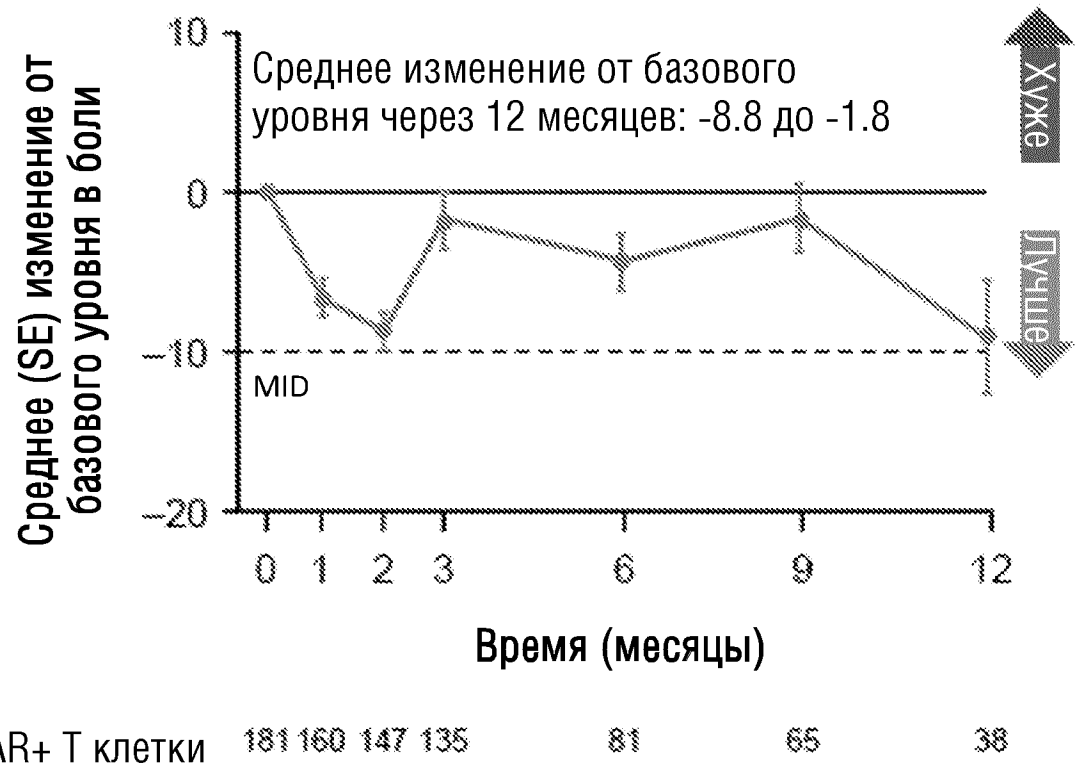


CAR+ T клетки	181	160	147	134	81	65	38

ФИГ.53А

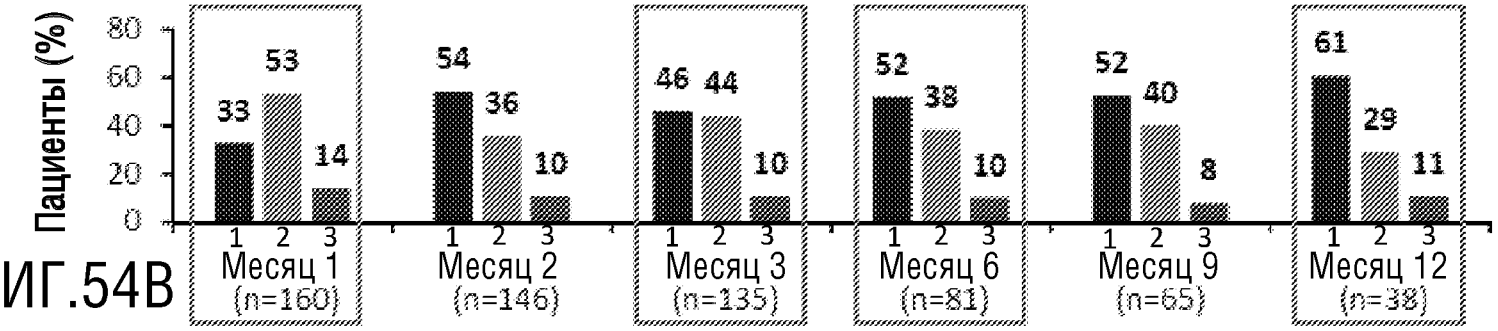


ФИГ.53В



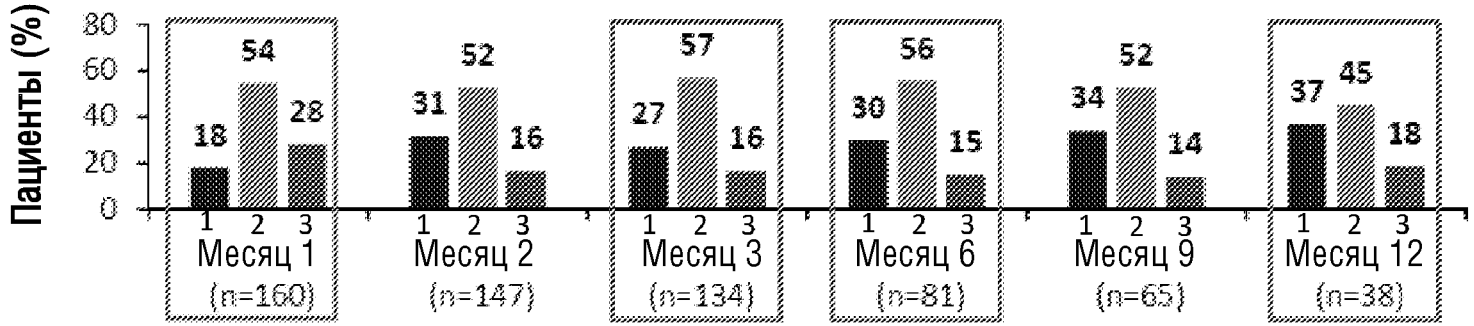
ФИГ.54A

Общее состояние здоровья

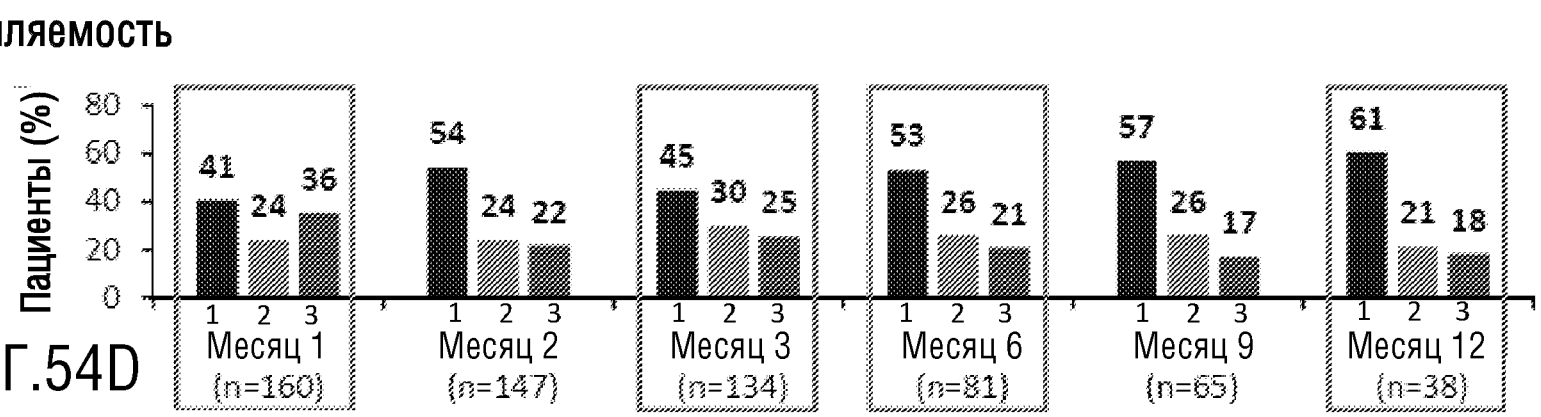


ФИГ.54B

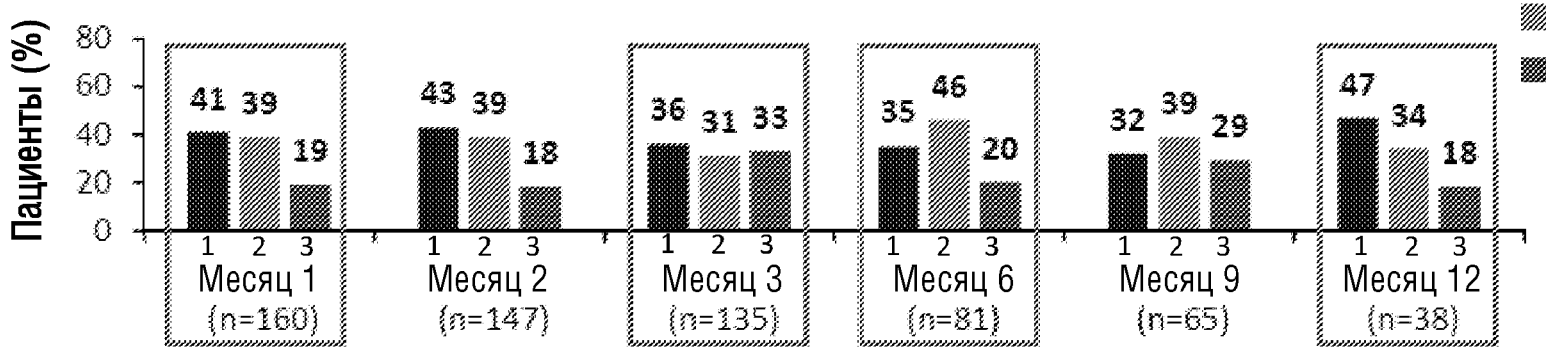
Физическое функционирование

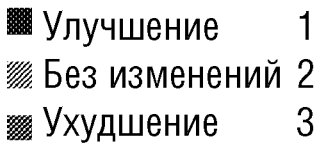


ФИГ.54C

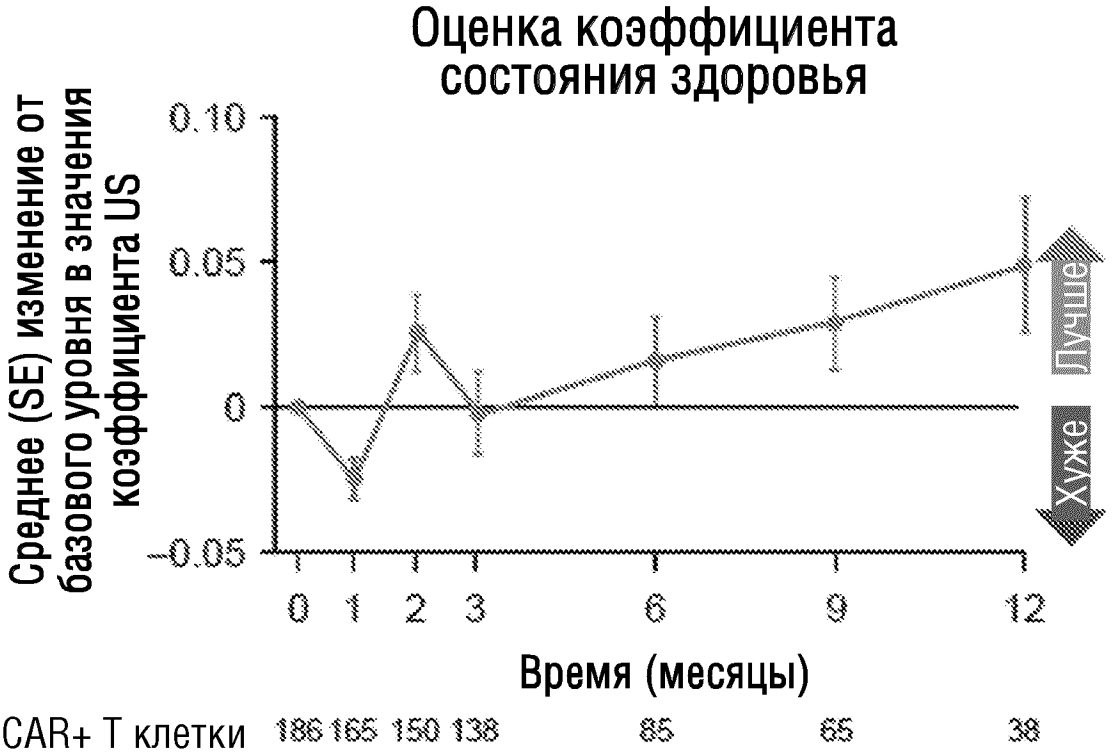


ФИГ.54D

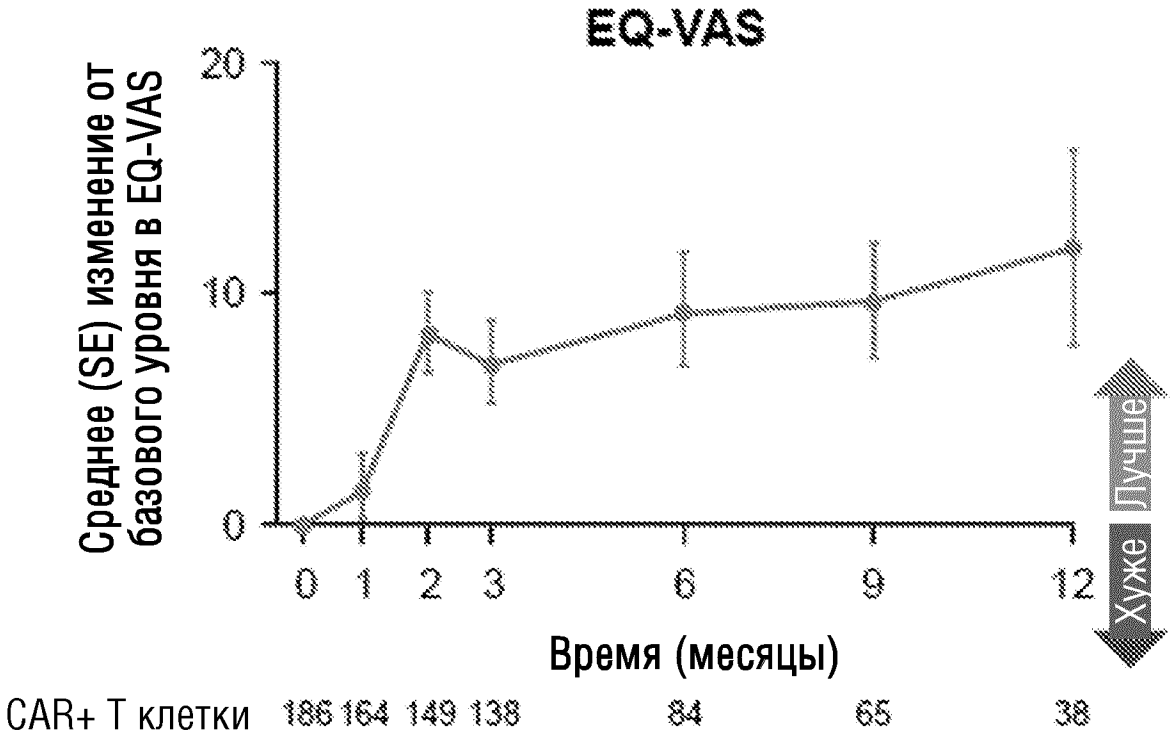




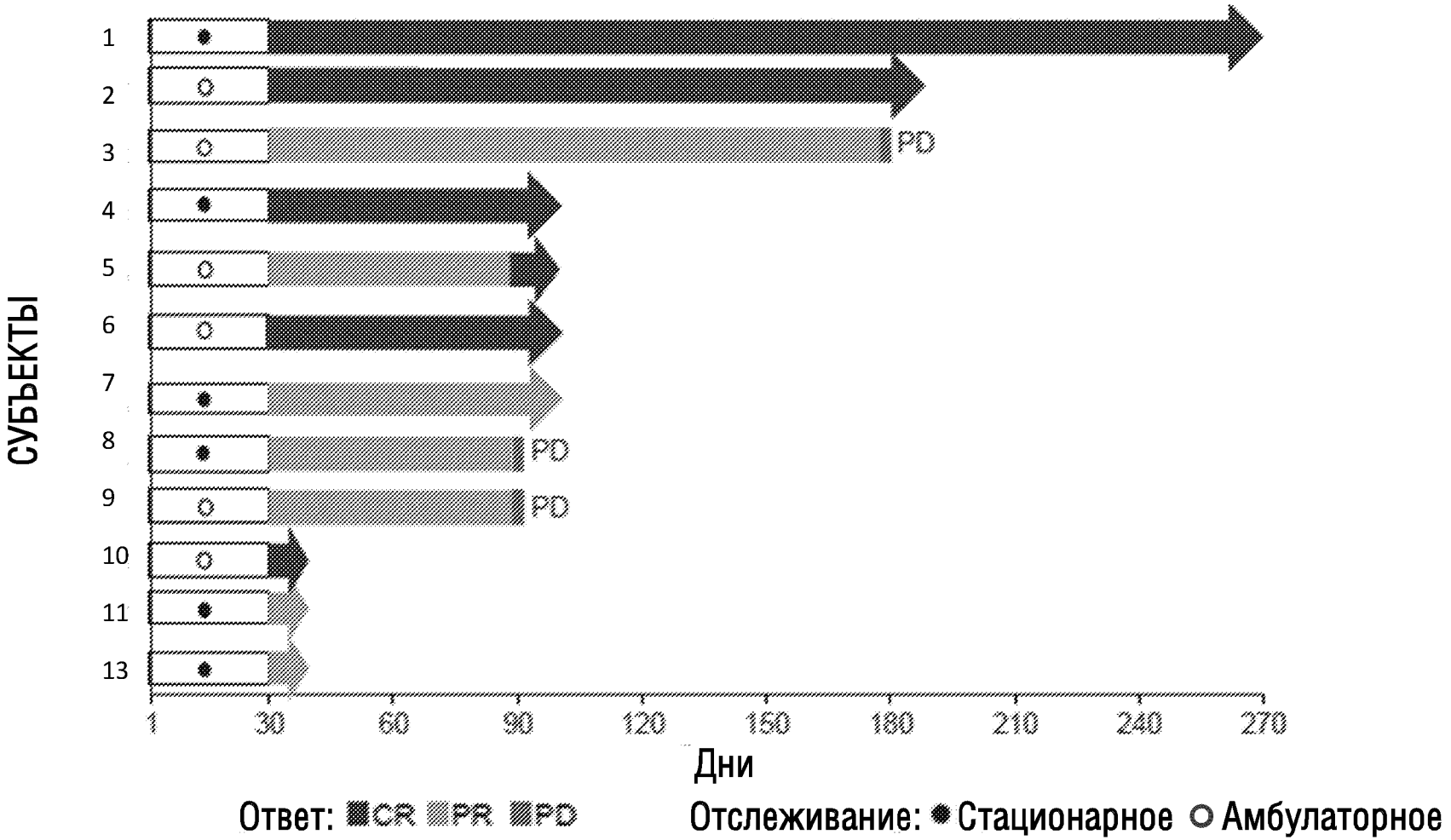
ФИГ.55A



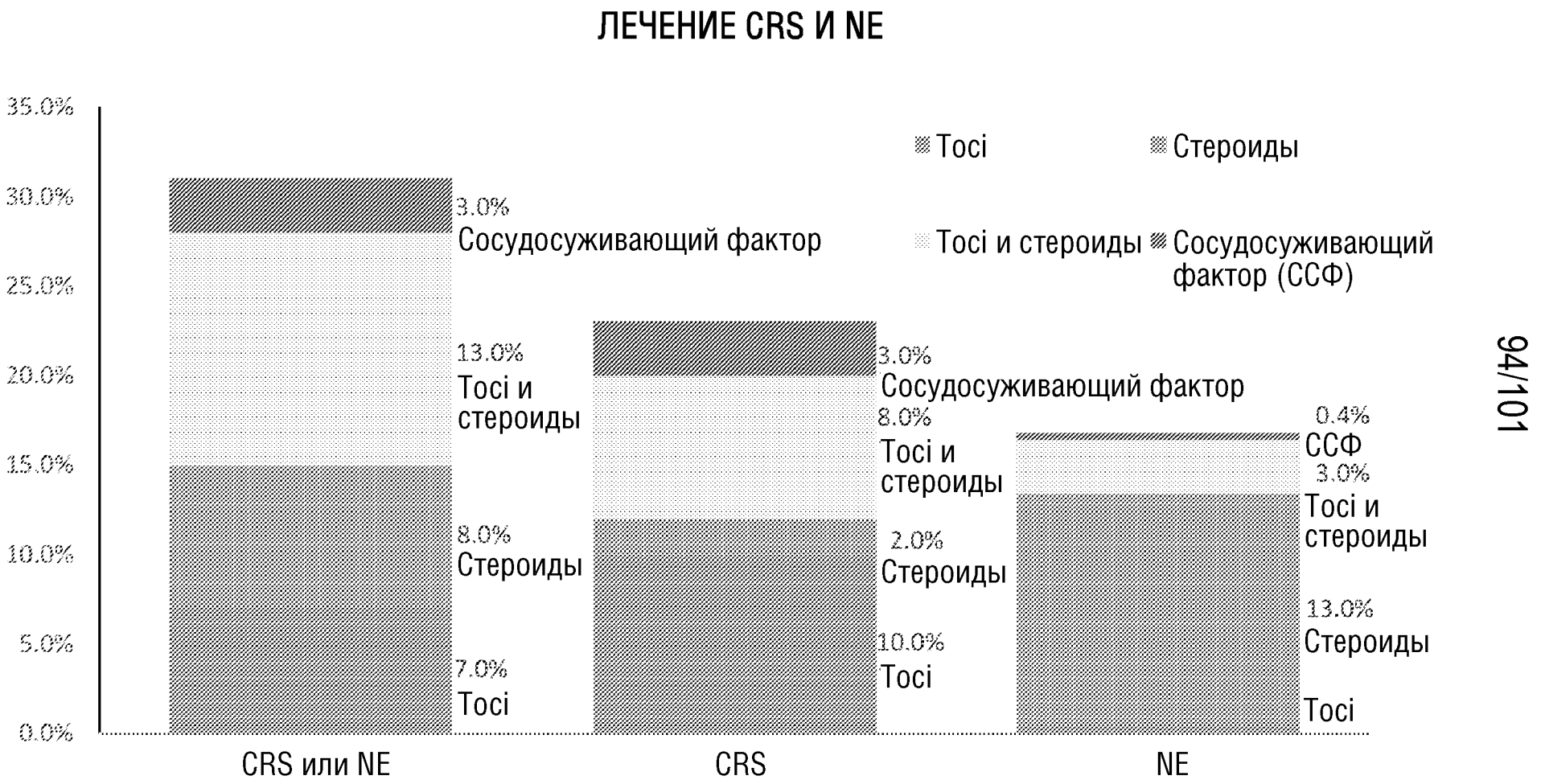
ФИГ.55B



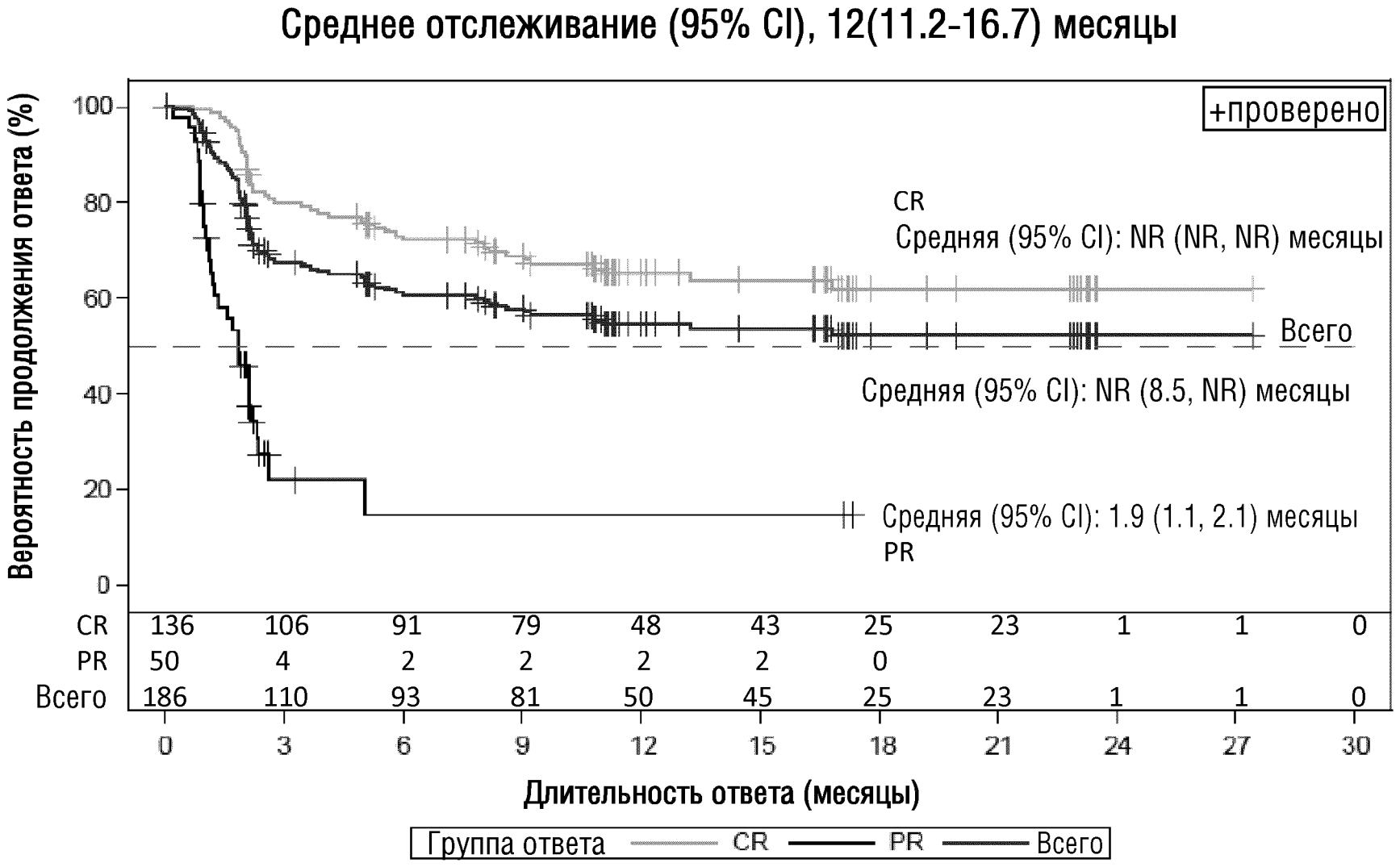
ФИГ.56


СУБЪЕКТЫ
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
13
PD
PD
PD
1
30
60
90
120
150
180
210
240
270
Дни
Ответ: CR PR PD
Отслеживание: Стационарное Амбулаторное

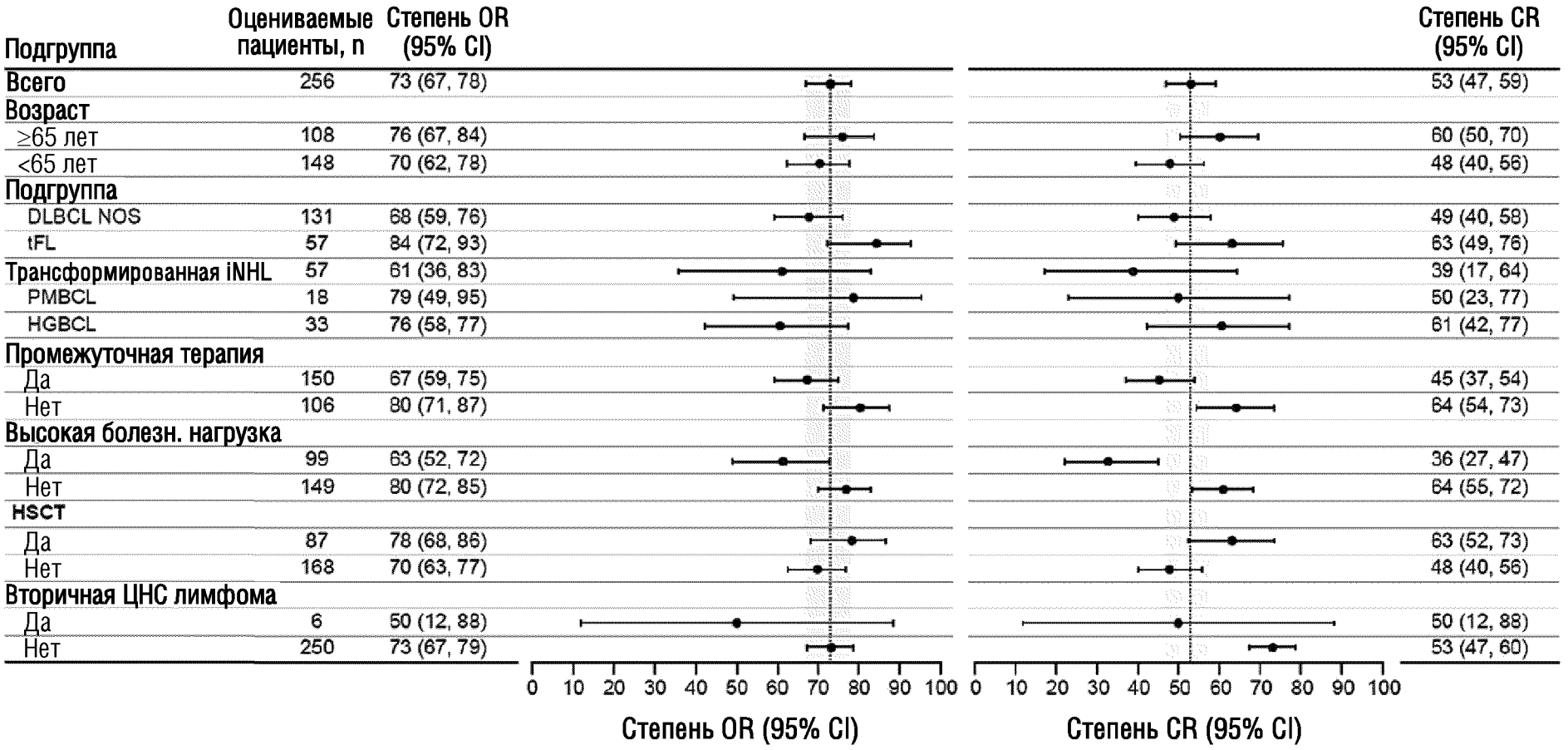
ФИГ.57


ЛЕЧЕНИЕ CRS И NE
35.0%
30.0%
25.0%
20.0%
15.0%
10.0%
5.0%
0.0%
Tocl
Стероиды
Tocl и стероиды
Сосудосуживающий фактор (ССФ)
3.0%
Сосудосуживающий фактор
13.0%
Tocl и стероиды
8.0%
Стероиды
7.0%
Tocl
3.0%
Сосудосуживающий фактор
8.0%
Tocl и стероиды
2.0%
Стероиды
10.0%
Tocl
0.4%
ССФ
3.0%
Tocl и стероиды
13.0%
Стероиды
Tocl
CRS или NE
CRS
NE

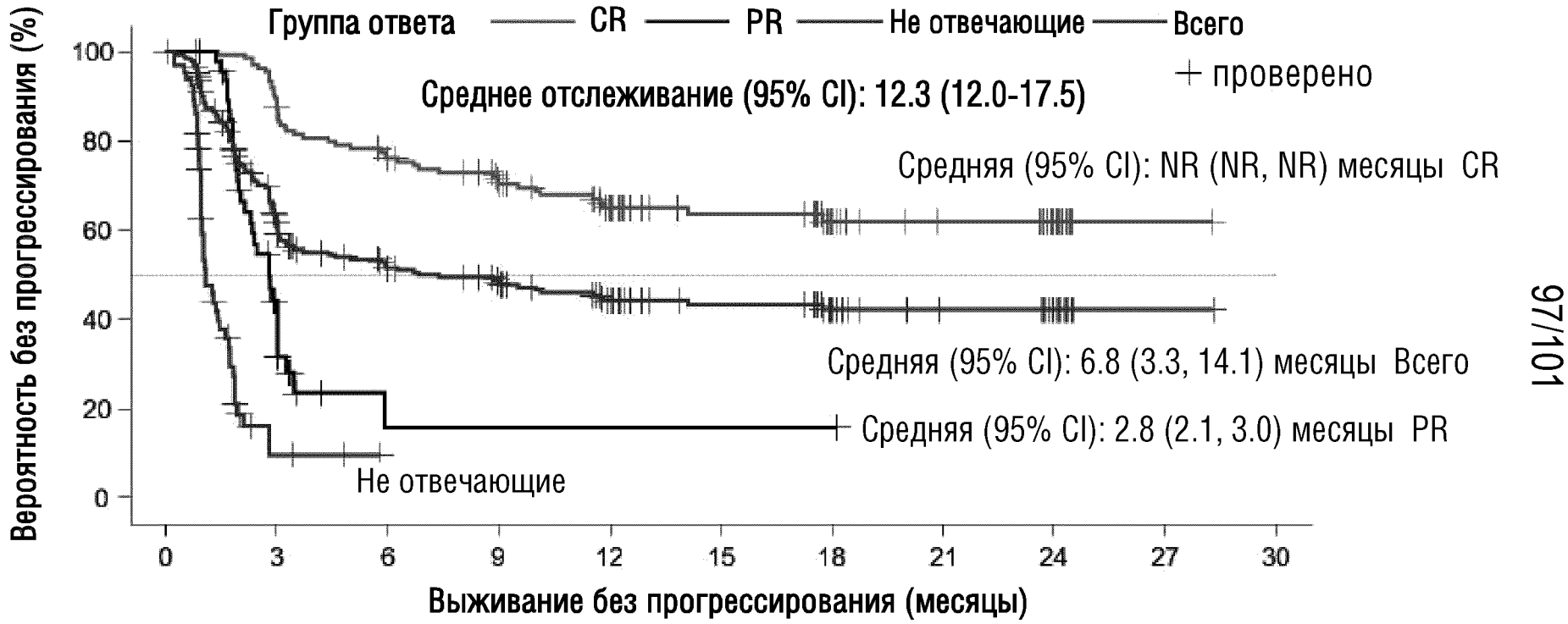
ФИГ.58


Среднее отслеживание (95% CI), 12(11.2-16.7) месяцы
Вероятность продолжения ответа (%)
100
80
60
40
20
0
+проверено
CR
Средняя (95% CI): NR (NR, NR) месяцы
Всего
Средняя (95% CI): NR (8.5, NR) месяцы
Средняя (95% CI): 1.9 (1.1, 2.1) месяцы
PR
CR 136 106 91 79 48 43 25 23 1 1 0
PR 50 4 2 2 2 2 0
Всего 186 110 93 81 50 45 25 23 1 1 0
0 3 6 9 12 15 18 21 24 27 30
Длительность ответа (месяцы)
Группа ответа CR PR Всего

ФИГ.59

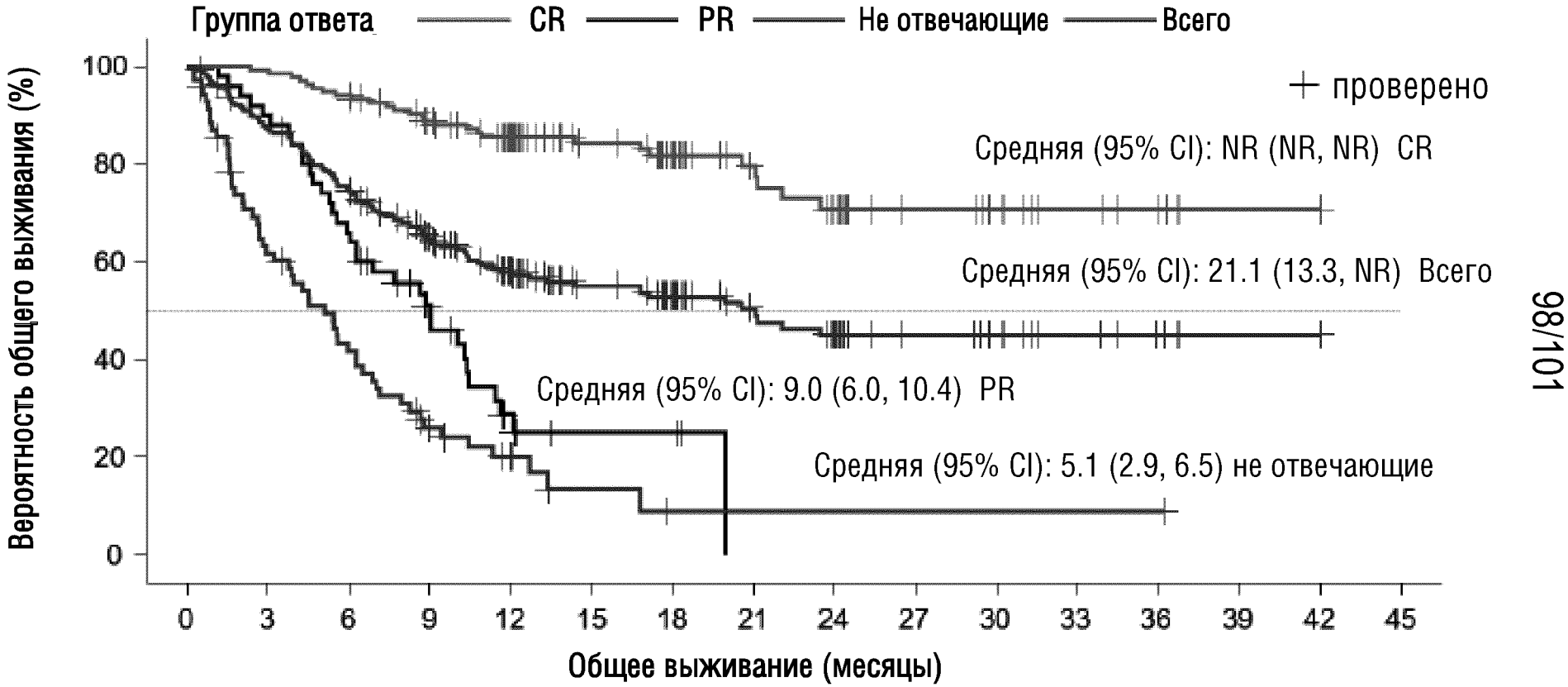

Подгруппа
Оцениваемые пациенты, n
Степень OR (95% CI)
Степень CR (95% CI)
Всего 256 73 (67, 78) 53 (47, 59)
Возраст
≥65 лет 108 76 (67, 84) 60 (50, 70)
<65 лет 148 70 (62, 78) 48 (40, 56)
Подгруппа
DLBCL NOS 131 68 (59, 76) 49 (40, 58)
tFL 57 84 (72, 93) 63 (49, 76)
Трансформированная iNHL 57 61 (36, 83) 39 (17, 64)
PMBCL 18 79 (49, 95) 50 (23, 77)
HGBCL 33 76 (58, 77) 61 (42, 77)
Промежуточная терапия
Да 150 67 (59, 75) 45 (37, 54)
Нет 106 80 (71, 87) 64 (54, 73)
Высокая болезн. нагрузка
Да 99 63 (52, 72) 36 (27, 47)
Нет 149 80 (72, 85) 64 (55, 72)
HSCT
Да 87 78 (68, 86) 63 (52, 73)
Нет 168 70 (63, 77) 48 (40, 56)
Вторичная ЦНС лимфома
Да 6 50 (12, 88) 50 (12, 88)
Нет 250 73 (67, 79) 53 (47, 60)
0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100
Степень OR (95% CI)
0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100
Степень CR (95% CI)

ФИГ.60



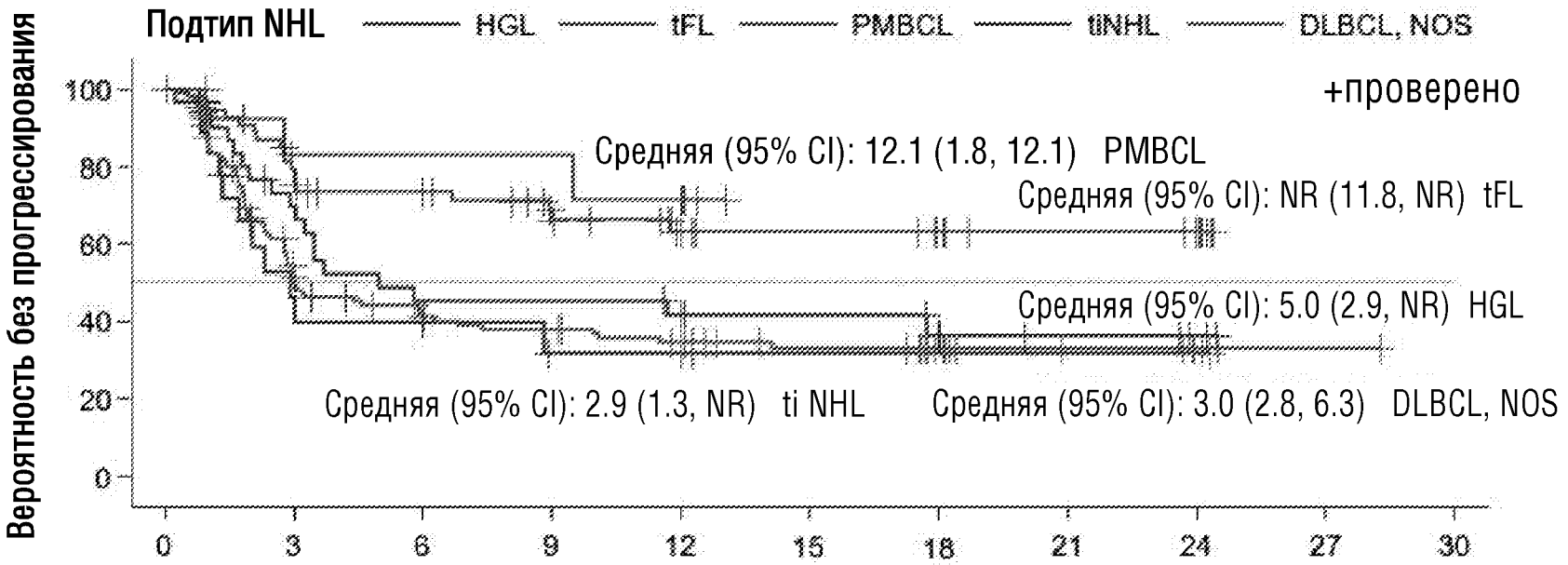
CR	136	116	98	85	63	45	31	23	14	1	0
PR	50	14	2	2	2	2	2	0			
Не отвечающие	70	3	0								
Всего	256	133	100	87	65	47	33	23	14	1	0

ФИГ.61



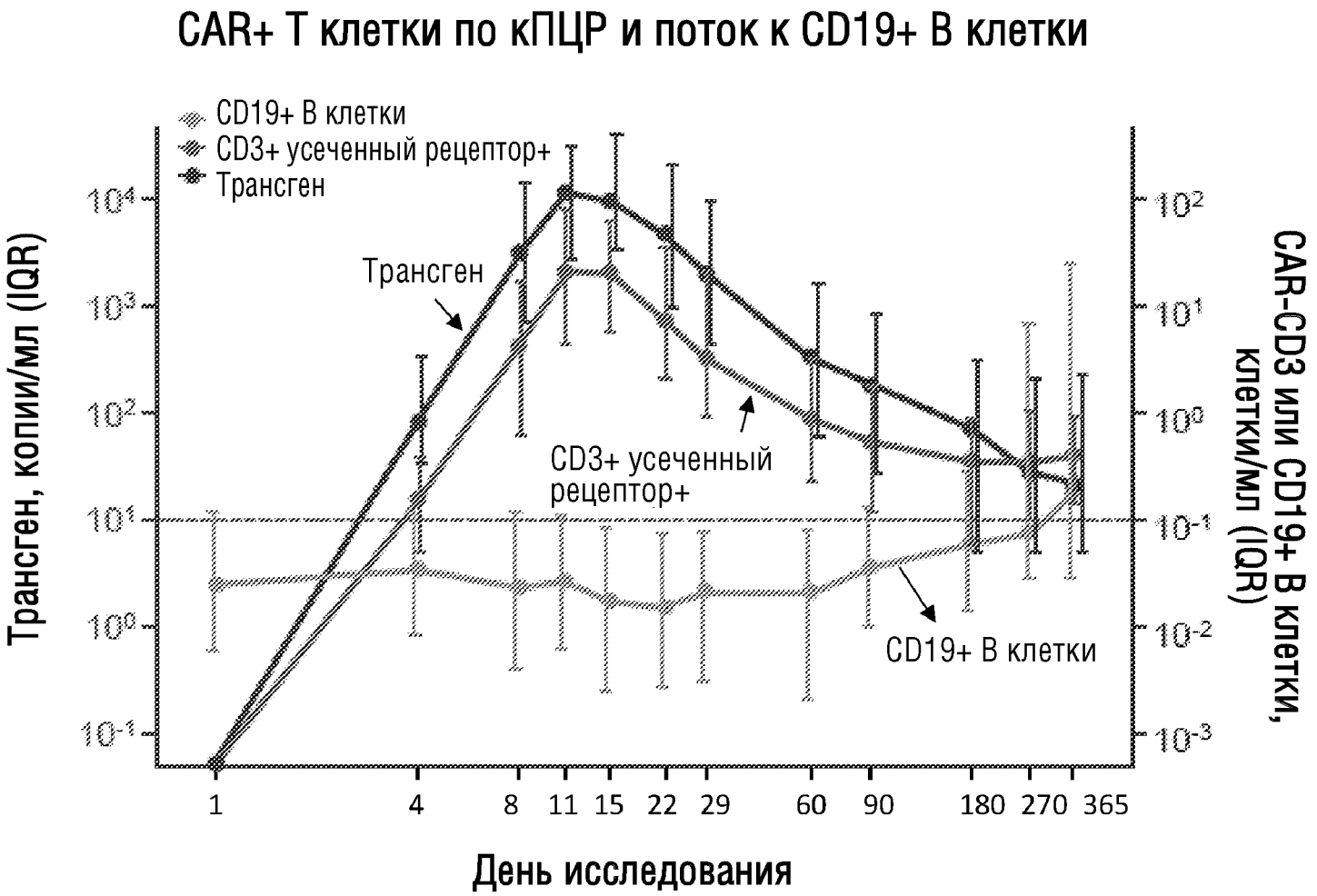
CR	136	135	128	113	94	68	48	36	26	16	13	8	5	1	0
PR	50	45	33	20	8	3	3	0							
Не отвечающие	70	41	27	14	7	3	1	1	1	1	1	1	1	0	
Всего	256	221	188	147	109	74	52	37	27	17	14	9	6	1	0

ФИГ.62

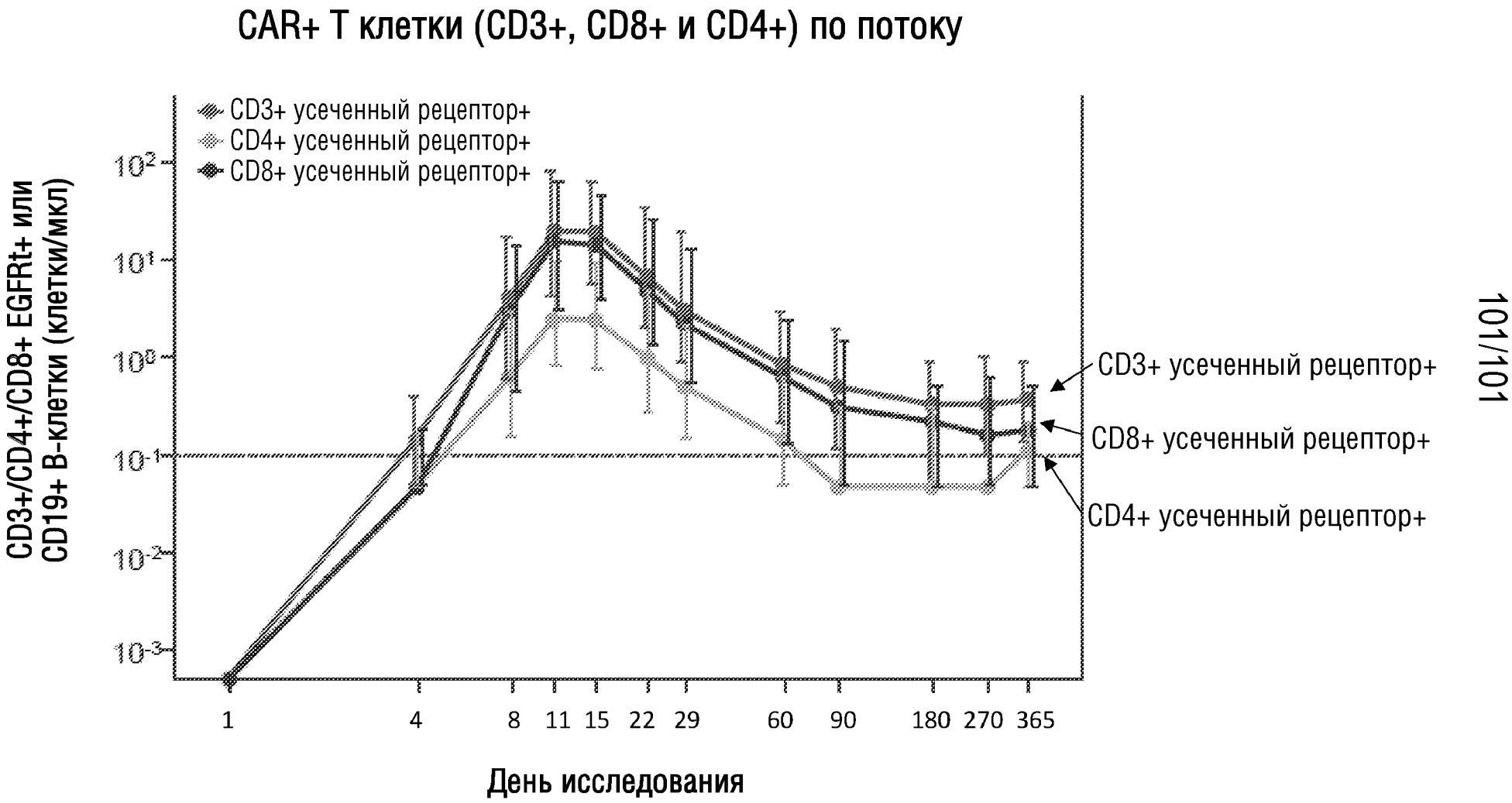


HGL	33	20	13	13	10	9	6	4	2	0	
tFL	57	41	34	27	17	15	12	9	7	0	
PMBCL	14	7	7	7	5	0					
tiNHL	18	7	5	3	3	1	1	1	1	0	
DLBCL, NOS	131	56	40	36	29	21	13	8	4	1	0

ФИГ.63


CAR+ T клетки по кПЦР и поток к CD19+ B клетки
CD19+ B клетки
CD3+ усеченный рецептор+
Трансген
Трансген
CD3+ усеченный рецептор+
CD19+ B клетки
Трансген, копии/мл (IQR)
CAR-CD3 или CD19+ B клетки, клетки/мл (IQR)
10^4
10^3
10^2
10^1
10^0
10^-1
10^2
10^1
10^0
10^-1
10^-2
10^-3
1
4
8
11
15
22
29
60
90
180
270
365
День исследования

ФИГ.64


CAR+ T клетки (CD3+, CD8+ и CD4+) по потоку
CD3+ усеченный рецептор+
CD4+ усеченный рецептор+
CD8+ усеченный рецептор+
CD3+/CD4+/CD8+ EGFRt+ или CD19+ B-клетки (клетки/мкл)
10^2
10^1
10^0
10^{-1}
10^{-2}
10^{-3}
1
4
8
11
15
22
29
60
90
180
270
365
День исследования
CD3+ усеченный рецептор+
CD8+ усеченный рецептор+
CD4+ усеченный рецептор+