

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202291354 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.08.30

(51) Int. Cl. A61K 35/17 (2015.01)

(22) Дата подачи заявки
2020.11.06

(54) ТЕРАПИЯ ПОСРЕДСТВОМ Т-КЛЕТОК С ХИМЕРНЫМИ АНТИГЕННЫМИ РЕЦЕПТОРАМИ

(31) 62/931,636; 62/944,937; 63/031,217;
63/056,369; 63/063,692; 63/089,930

(71) Заявитель:
КАЙТ ФАРМА, ИНК. (US)

(32) 2019.11.06; 2019.12.06; 2020.05.28;
2020.07.24; 2020.08.10; 2020.10.09

(72) Изобретатель:
Бот Эдриан, Росси Джон (US)

(33) US

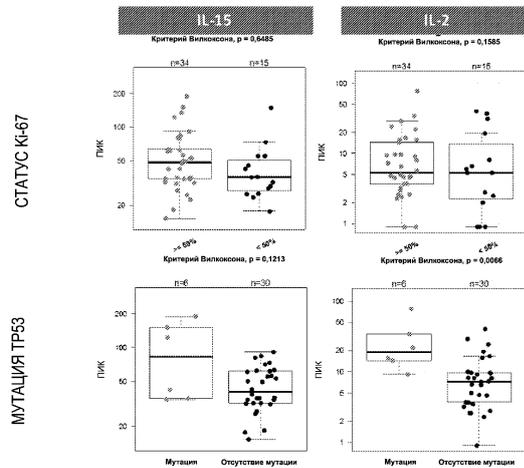
(86) PCT/US2020/059285

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(87) WO 2021/092290 2021.05.14

(57) В данном документе представлены способы приготовления, получения, обработки, культивирования, выделения или создания клеток, подходящих для иммунной или клеточной терапии, и для их применения в клеточной терапии.

ПРОЛИФЕРАТИВНЫЕ



A1

202291354

202291354

A1

ТЕРАПИЯ ПОСРЕДСТВОМ Т-КЛЕТОК С ХИМЕРНЫМИ АНТИГЕННЫМИ РЕЦЕПТОРАМИ

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[0001] Настоящая заявка относится к CAR-T-клеткам, способам их получения и способам их применения для лечения рака.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0002] Злокачественные опухоли человека по своей природе состоят из нормальных клеток, которые подверглись генетическому или эпигенетическому преобразованию, превратившись в аномальные раковые клетки. Раковые клетки экспрессируют белки и другие антигены, которые отличаются от экспрессируемых нормальными клетками. Эти aberrантные опухолевые антигены могут быть использованы врожденной иммунной системой организма для специфического нацеливания и уничтожения раковых клеток. Однако раковые клетки используют различные механизмы для предупреждения успешного нацеливания на раковые клетки иммунных клеток, таких как Т- и В-лимфоциты. Виды терапии на основе Т-клеток человека основаны на обогащенных ex vivo или модифицированных Т-клетках человека для нацеливания и уничтожения раковых клеток у субъекта, например, пациента. Были разработаны различные технологии для получения популяций Т-клеток, обогащенных встречающимися в природе Т-клетками, способными к нацеливанию на опухолевый антиген, удалению циркулирующих опухолевых клеток и/или генетической модификации Т-клеток для специфического нацеливания на известный раковый антиген, в результате чего образуются популяции Т-клеток с химерными антигенными рецепторами (CAR) для терапии рака. Некоторые из этих видов терапии продемонстрировали многообещающие эффекты в отношении размера опухоли и выживаемости пациентов.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0003] Любой аспект или вариант осуществления, описанные в данном документе, могут быть объединены с любым другим аспектом или вариантом осуществления, как раскрыто в данном документе. Хотя настоящее изобретение было описано в сочетании с его подробным описанием, настоящее описание предназначено для иллюстрации, а не для ограничения объема настоящего изобретения, которое частично определяется объемом прилагаемой формулы изобретения. Другие аспекты, преимущества и модификации входят в объем следующих вариантов осуществления/формулы изобретения.

[0004] Вариант осуществления 1. Способ лечения мантийноклеточной лимфомы (МКЛ) или В-клеточного ОЛЛ у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества Т-клеточного продукта, содержащего аутологичные Т-клетки, экспрессирующие химерный антигенный рецептор (CAR), направленный против CD19.

[0005] Вариант осуществления 2. Способ по варианту осуществления 1, причем указанные МКЛ и В-клеточный ОЛЛ представляют собой рецидивирующие или рефрактерные МКЛ и В-клеточный ОЛЛ, необязательно при этом МКЛ представляет собой классический, бластоидный и плеоморфный вариант МКЛ.

[0006] Вариант осуществления 3. Способ по любому из вариантов осуществления 1 и 2, причем указанные МКЛ и В-клеточный ОЛЛ являются рефрактерными к или рецидивирующими после одного или нескольких из

химиотерапии, лучевой терапии, иммунотерапии (в том числе Т-клеточной терапии и/или лечения антителом или конъюгатом антитело-лекарственное средство), трансплантации аутологичных стволовых клеток или любой их комбинации.

[0007] Вариант осуществления 4. Способ по любому из вариантов осуществления 1–3, причем указанный субъект получал 1–5 предшествующих средств лечения, необязательно при этом по меньшей мере одно из предшествующих средств лечения выбрано из аутологичной SCT, антитела к CD20, химиотерапии, включающей антрациклин или бендамустин, и/или ингибитора тирозинкиназы Брутона (ВТКi).

[0008] Вариант осуществления 5. Способ по варианту осуществления 4, причем указанная ВТКi представляет собой ибрутиниб или акалабрутиниб.

[0009] Вариант осуществления 6. Способ по любому из вариантов осуществления 1–5, причем указанный Р/Р В-клеточный ОЛЛ определяется как рефрактерный к терапии первой линии (т. е. первичный рефрактерный), рецидивирующий через ≤ 12 месяцев после первой ремиссии, рецидивирующий или рефрактерный после ≥ 2 предшествующих линий системной терапии или рецидивирующий после аллогенной трансплантации стволовых клеток (SCT), при этом необязательно субъект должен иметь ≥ 5 % бластов костного мозга, оценку общего состояния согласно Восточной объединенной онкологической группе 0 или 1, и/или адекватную почечную, печеночную и сердечную функцию.

[0010] Вариант осуществления 7. Способ по любому из вариантов осуществления 1–6, причем, если указанный субъект с В-клеточным ОЛЛ ранее получал блинатумомаб, субъект должен иметь лейкозные бласты с экспрессией CD19 ≥ 90 %.

[0011] Вариант осуществления 8. Способ по любому из вариантов осуществления 1–7, причем указанный субъект получает переходную терапию после лейкафереза и перед кондиционирующей/лимфодеплецирующей химиотерапией.

[0012] Вариант осуществления 9. Способ по любому из вариантов осуществления 1–8, причем указанный субъект с МКЛ получает схему лимфодеплецирующей химиотерапии, включающей циклофосфамид в дозе 500 мг/м² внутривенно и флударабин в дозе 30 мг/м² внутривенно, при этом оба средства вводятся в каждый из дней, предшествующих пятому, четвертому и третьему дням до инфузии Т-клеток.

[0013] Вариант осуществления 10. Способ по любому из вариантов осуществления 1–9, причем указанный субъект с В-клеточным ОЛЛ получает лимфодеплецирующую схему внутривенного (IV) введения флударабина в дозе 25 мг/м²/день в каждый из дней, предшествующих четвертому, третьему, второму дням до инфузии Т-клеток, и IV введения циклофосфамида в дозе 900 мг/м²/день в день, предшествующий второму дню до инфузии.

[0014] Вариант осуществления 11. Способ по любому из вариантов осуществления 8–10, причем указанная переходная терапия МКЛ выбрана из дексаметазона (например, РО или IV введение в дозе 20–40 мг или эквивалента один раз в день в течение 1–4 дней); метилпреднизолона, ибрутиниба (например, РО введение в дозе 560 мг один раз в день) и/или акалабрутиниба (например, РО введение в дозе 100 мг два раза в день); иммуномодулятора; R-СНОР, бендамустина; алкилирующих средств; и/или средств на основе платины, причем указанная переходная терапия вводится после лейкафереза и завершается, например, за 5 дней или меньше до кондиционирующей химиотерапии.

[0015] Вариант осуществления 12. Способ по любому из вариантов осуществления 8–10, причем указанный субъект с В-клеточной ОЛЛ может принимать любую одну или несколько из следующих схем переходной химиотерапии:

Предварительно определенные схемы переходной химиотерапии	
Аттенуированная схема VAD	Винкристин нелипосомальный (IV введение в дозе 1–2 мг раз в неделю) или липосомальный (IV введение в дозе 2,25 мг/м ² раз в неделю), и дексаметазон (IV или PO введение в дозе 20–40 мг один раз в день × 3–4 дня в неделю). Необязательно доксорубин, IV введение в дозе 50 мг/м ² × 1 (только первая неделя)
Меркаптопурин (6-MP)	В дозе 50–75 мг/м ² /день перорально (перед сном на голодный желудок для улучшения всасывания)
Гидроксимочевина	Дозы подбирали от 15 до 50 мг/кг/день (округляя до ближайшей дозы в виде 500 мг капсулы, 1 раз в сутки внутрь непрерывно)
DOMP	Дексаметазон, PO (или IV) введение в дозе 6 мг/м ² /день, разделенная доза, BID, дни 1–5, винкристин, IV введение в дозе 1,5 мг/м ² (максимальная доза 2 мг) в день 1, метотрексат, PO введение, 20 мг/м ² раз в неделю, 6-MP, PO введение в дозе 50–75 мг/м ² /день один раз в день
Аттенуированная схема FLAG/FLAG-IDA	Флударабин, IV введение в дозе 30 мг/м ² , дни 1–2, цитарабин, IV введение в дозе 2 г/м ² , дни 1–2, G-CSF, SC или IV введение в дозе 5 мкг/кг, начинается в день 3 и может продолжаться до дня, предшествующего началу кондиционирующей химиотерапии. С идарубицином или без него, IV введение в дозе 6 мг/м ² , дни 1–2
Схема Mini-hyper CVAD (курсы А и/или В)	Курс А: циклофосфамид в дозе 150 мг/м ² , каждые 12 ч × 3 дня, дексаметазон, IV или PO введение в дозе 20 мг/день, один раз в день, дни 1–4 и 11–14, винкристин, IV введение в дозе 2 мг × 1 Курс В: метотрексат, IV введение в дозе 250 мг/м ² в течение 24 часов в день 1, цитарабин, IV введение в дозе 0,5г/м ² каждые 12 часов × 4 дозы, дни 2 и 3

[0016] Вариант осуществления 13. Способ по любому из вариантов осуществления 1–12, причем указанный Т-клеточный продукт содержит CD4+ и CD8+ CAR Т-клетки, которые получают из мононуклеарных клеток

периферической крови (PBMC) посредством положительного обогащения и последующей частичной или полной деплеции циркулирующих раковых клеток.

[0017] Вариант осуществления 14. Способ по варианту осуществления 13, причем указанные PBMC обогащают Т-клетками посредством положительного отбора CD4+ и CD8+ клеток, активированных антителами к CD3 и CD28 в присутствии IL-2, а затем трансдуцируют не способным к репликации вирусным вектором, содержащим FMC63-28Z CAR, химерный антигенный рецептор (CAR), содержащий одноцепочечный переменный фрагмент (scFv) к CD19, домены CD28 и CD3-дзета.

[0018] Вариант осуществления 15. Способ по любому из вариантов осуществления 13 и 14, причем указанный Т-клеточный продукт содержит меньше раковых клеток, чем Т-клеточный продукт, содержащий Т-клетки из продукта лейкофереза без положительной селекции CD4+ и CD8+ Т-клеток.

[0019] Вариант осуществления 16. Способ по любому из вариантов осуществления 13–15, причем указанный Т-клеточный продукт характеризуется другими превосходящими свойствами продукта по сравнению с Т-клеточным продуктом, содержащим Т-клетки из продукта лейкофереза без положительной селекции/обогащения CD4+ и CD8+ Т-клетками.

[0020] Вариант осуществления 17. Способ по варианту осуществления 16, причем указанные превосходящие свойства продукта выбирали из повышенного процентного содержания CDRA45+CCR7+ (подобных наивным) Т-клеток, сниженного процентного содержания дифференцированных Т-клеток, повышенного процентного содержания CD3+ клеток, сниженного продуцирования IFN-гамма, сниженного процентного содержания CD3- клеток.

[0021] Вариант осуществления 18. Способ по любому из вариантов осуществления 1–17, причем указанному субъекту с МКЛ вводят одну или несколько доз $1,8 \times 10^6$, $1,9 \times 10^6$ или 2×10^6 CAR-положительных жизнеспособных Т-клеток на кг массы тела, причем максимум составляет 2×10^8 CAR-положительных жизнеспособных Т-клеток (для пациентов с массой тела 100 кг и выше), а указанному субъекту с В-клеточным ОЛЛ вводят $0,5 \times 10^6$, 1×10^6 или 2×10^6 CAR-положительных жизнеспособных Т-клеток на кг массы тела, причем максимум составляет 2×10^8 CAR-положительных жизнеспособных Т-клеток (для пациентов с массой тела 100 кг и выше).

[0022] Вариант осуществления 19. Способ по любому из вариантов осуществления 1–17, причем если указанный субъект достиг полного ответа на первую инфузию, то субъект может получать вторую инфузию Т-клеток с CAR к CD19, если прогрессирование происходит после > 3 месяцев ремиссии, при условии, что экспрессия CD19 была сохранена, а нейтрализующие антитела против CAR не предполагаются, при этом ответ оценивают с использованием классификации Lugano.

[0023] Вариант осуществления 20. Способ по любому из вариантов осуществления 1–19, причем указанным субъектом наблюдают на наличие признаков и симптомов синдрома высвобождения цитокинов (CRS) и неврологической токсичности после введения Т-клеток.

[0024] Вариант осуществления 21. Способ по варианту осуществления 20, причем за указанным субъектом наблюдают один раз в день в течение по меньшей мере семи дней, предпочтительно в течение четырех недель после инфузии, на наличие признаков и симптомов CRS и неврологической токсичности.

[0025] Вариант осуществления 22. Способ по любому из вариантов осуществления 20 и 21, причем указанные признаки или симптомы, ассоциированные с CRS, включают лихорадку, озноб, усталость, тахикардию, тошноту, гипоксию и гипотензию, а признаки или симптомы, ассоциированные с неврологическими явлениями, включают энцефалопатию, судороги, изменения уровня осознанности, расстройства речи, тремор и спутанность сознания.

[0026] Вариант осуществления 23. Способ по любому из вариантов осуществления 20–22, причем указанный синдром высвобождения цитокинов у субъектов с МКЛ лечат в соответствии со следующим протоколом:

Степень тяжести CRS	Тоцилизумаб	Кортикостероиды
<p>Степень тяжести 1</p> <p>Симптомы требуют только симптоматического лечения (например, лихорадка, тошнота, усталость, головная боль, миалгия, недомогание).</p>	<p>В случае отсутствия улучшения через 24 часа введите тоцилизумаб в дозе 8 мг/кг внутривенно в течение 1 часа (не превышая 800 мг).</p>	<p>Неприменимо.</p>
<p>Степень тяжести 2</p> <p>Симптомы требуют умеренного вмешательства и отвечают на умеренное вмешательство.</p> <p>Потребность в кислороде менее 40% FiO₂ или гипотензия, поддающаяся введению жидкостей или одного вазопрессора в низкой дозе, или органная токсичность степени тяжести 2.</p>	<p>Введите тоцилизумаб в дозе 8 мг/кг внутривенно в течение 1 часа (не превышая 800 мг).</p> <p>Повторяйте введение тоцилизумаба каждые 8 часов при необходимости, если нет ответа на внутривенное введение жидкостей или усиление подачи кислорода. Не превышайте максимума 3 доз в течение 24-часового периода; максимума 4 доз, если клиническое улучшение признаков и симптомов CRS отсутствует.</p> <p>При улучшении прекратите введение тоцилизумаба.</p>	<p>Осуществляйте лечение как при степени тяжести 3 при отсутствии улучшения в течение 24 часов после начала введения тоцилизумаба.</p> <p>При улучшении уменьшите дозу кортикостероидов.</p>
<p>Степень тяжести 3</p> <p>Симптомы требуют агрессивного вмешательства и отвечают на агрессивное вмешательство.</p> <p>Потребность в кислороде больше или равна 40% FiO₂ или гипотензия, требующая высокой дозы или нескольких вазопрессоров, или органная токсичность степени тяжести 3, или трансаминит степени тяжести 4.</p>	<p>Как для степени тяжести 2</p>	<p>Вводите метилпреднизолон в дозе 1 мг/кг внутривенно два раза в день или эквивалентную дозу дексаметазона (например, 10 мг внутривенно каждые 6 часов) до достижения степени тяжести 1, затем уменьшите дозу кортикостероидов.</p> <p>При улучшении осуществляйте лечение,</p>

		как описано для степени тяжести 2. В случае отсутствия улучшения осуществляйте лечение, как описано для степени тяжести 4.
Степень тяжести 4 Опасные для жизни симптомы. Потребности в дыхательной поддержке аппаратом ИВЛ или непрерывном вено-венозном гемодиализе (CVVHD), или органная токсичность степени тяжести 4 (за исключением трансамината).	Как для степени тяжести 2	Вводите метилпреднизолон в дозе 1000 мг/день внутривенно в течение 3 дней. При улучшении уменьшите дозу кортикостероидов и осуществляйте лечение, как описано для степени тяжести 3. При отсутствии улучшения рассмотрите альтернативные иммунодепрессанты.

[0027] Вариант осуществления 24. Способ по любому из вариантов осуществления 20–23, причем указанную неврологическую токсичность у субъектов с МКЛ лечат в соответствии со следующим протоколом:

Оценка степени тяжести	Сопутствующий CRS	Сопутствующий CRS отсутствует
Степень тяжести 2	Введите тоцилизумаб по варианту осуществления 15 для лечения CRS степени тяжести 2. В случае отсутствия улучшения в течение 24 часов после начала лечения тоцилизумабом вводите дексаметазон в дозе 10 мг внутривенно каждые 6 часов до тех пор, пока степень тяжести явления не станет равной 1 или меньше, затем уменьшите дозу кортикостероидов. Если улучшение все еще отсутствует, осуществляйте лечение, как описано для степени тяжести 3.	Вводите дексаметазон в дозе 10 мг внутривенно каждые 6 часов до тех пор, пока степень тяжести явления не станет равной 1 или меньше, затем уменьшите дозу кортикостероидов.

	Рассмотрите неседативные противосудорожные лекарственные препараты (например, леветирацетам) для профилактики судорог.	
Степень тяжести 3	<p>Введите тоцилизумаб по варианту осуществления 15 для лечения CRS степени тяжести 2.</p> <p>Кроме того, введите дексаметазон в дозе 10 мг внутривенно с первой дозой тоцилизумаба и повторными дозами дексаметазона каждые 6 часов. Продолжите применение дексаметазона до тех пор, пока степень тяжести явления не станет равной 1 или меньше, затем уменьшите дозу кортикостероидов.</p> <p>При улучшении прекратите введение тоцилизумаба и осуществляйте лечение, как описано для степени тяжести 2.</p> <p>Если улучшение все еще отсутствует, осуществляйте лечение, как описано для степени тяжести 4 (ниже).</p>	<p>Вводите дексаметазон в дозе 10 мг внутривенно каждые 6 часов.</p> <p>Продолжите применение дексаметазона до тех пор, пока степень тяжести явления не станет равной 1 или меньше, затем уменьшите дозу кортикостероидов.</p> <p>В случае отсутствия улучшения осуществляйте лечение, как описано для степени тяжести 4.</p>
	Рассмотрите неседативные противосудорожные лекарственные препараты (например, леветирацетам) для профилактики судорог.	
Степень тяжести 4	<p>Введите тоцилизумаб по варианту осуществления 15 для лечения CRS степени тяжести 2.</p> <p>Введите метилпреднизолон в дозе 1000 мг/день внутривенно с первой дозой тоцилизумаба и продолжайте введение метилпреднизолон в дозе 1000 мг/день внутривенно еще в течение 2 дней.</p> <p>При улучшении осуществляйте лечение, как описано для степени тяжести 3.</p> <p>При отсутствии улучшения рассмотрите альтернативные иммунодепрессанты.</p>	<p>Вводите метилпреднизолон в дозе 1000 мг/день внутривенно в течение 3 дней.</p> <p>При улучшении осуществляйте лечение, как описано для степени тяжести 3.</p> <p>При отсутствии улучшения рассмотрите альтернативные иммунодепрессанты.</p>
	Рассмотрите неседативные противосудорожные лекарственные препараты (например, леветирацетам) для профилактики судорог.	

[0028] Вариант осуществления 25. Способ по любому из вариантов осуществления 1–24, причем указанный субъект с МКЛ представляет собой пациента с высоким риском, как определено по индексу пролиферации опухоли Ki-67 $\geq 50\%$ и/или наличие мутации TP53.

[0029] Вариант осуществления 26. Способ по любому из вариантов осуществления 20–22, причем указанный CRS у субъекта с В-клеточным ОЛЛ лечат в соответствии со следующим протоколом:

Степень тяжести CRS	Тоцилизумаб	Кортикостероиды
<p>Степень тяжести 1</p> <p>Симптомы требуют только симптоматического лечения (например, лихорадка, тошнота, усталость, головная боль, миалгия, недомогание).</p>	<p>В случае отсутствия улучшения через 24 часа введите тоцилизумаб в дозе 8 мг/кг внутривенно в течение 1 часа (не превышая 800 мг).</p>	<p>Неприменимо.</p>
<p>Степень тяжести 2</p> <p>Симптомы требуют умеренного вмешательства и отвечают на умеренное вмешательство.</p> <p>Потребность в кислороде менее 40% FiO₂ или гипотензия, поддающаяся введению жидкостей или одного вазопрессора в низкой дозе, или органная токсичность степени тяжести 2.</p>	<p>Введите тоцилизумаб в дозе 8 мг/кг внутривенно в течение 1 часа (не превышая 800 мг).</p> <p>Повторяйте введение тоцилизумаба каждые 8 часов при необходимости, если нет ответа на внутривенное введение жидкостей или усиление подачи кислорода. Не превышайте максимума 3 доз в течение 24-часового периода; максимума 4 доз, если клиническое улучшение признаков и симптомов CRS отсутствует.</p> <p>При улучшении прекратите введение тоцилизумаба.</p>	<p>Осуществляйте лечение как при степени тяжести 3 при отсутствии улучшения в течение 24 часов после начала введения тоцилизумаба.</p> <p>При улучшении уменьшите дозу кортикостероидов.</p>
<p>Степень тяжести 3</p> <p>Симптомы требуют агрессивного вмешательства и отвечают на агрессивное вмешательство.</p> <p>Потребность в кислороде больше или равна 40% FiO₂ или гипотензия, требующая высокой дозы или нескольких вазопрессоров, или органная токсичность степени тяжести 3, или трансаминалит степени тяжести 4.</p>	<p>Как для степени тяжести 2</p>	<p>Вводите метилпреднизолон в дозе 1 мг/кг внутривенно два раза в день или эквивалентную дозу дексаметазона (например, 10 мг внутривенно каждые 6 часов) до достижения степени тяжести 1, затем уменьшите дозу кортикостероидов.</p> <p>При улучшении осуществляйте лечение, как описано для степени тяжести 2.</p> <p>В случае отсутствия улучшения осуществляйте лечение, как описано для степени тяжести 4.</p>

<p>Степень тяжести 4</p> <p>Опасные для жизни симптомы.</p> <p>Потребности в дыхательной поддержке аппаратом ИВЛ или непрерывном вено-венозном гемодиализе (CVVHD), или органная токсичность степени тяжести 4 (за исключением трансамината).</p>	<p>Как для степени тяжести 2</p>	<p>Вводите метилпреднизолон в дозе 1000 мг/день внутривенно в течение 3 дней.</p> <p>При улучшении уменьшите дозу кортикостероидов и осуществляйте лечение, как описано для степени тяжести 3.</p> <p>При отсутствии улучшения рассмотрите альтернативные иммунодепрессанты.</p>
--	----------------------------------	--

[0030] Вариант осуществления 27. Способ по любому из вариантов осуществления 20–22 и 26, причем указанную неврологическую токсичность у субъекта с В-клеточным ОЛЛ лечат в соответствии с одним из следующих двух протоколов:

Степень тяжести NE	Исходные рекомендации по лечению	Измененные рекомендации по лечению
Степень тяжести 1	<ul style="list-style-type: none"> ● Поддерживающее лечение ● Неврологическое обследование и дополнительное обследование по клиническим показаниям 	<ul style="list-style-type: none"> ● Поддерживающее лечение ● Тщательно наблюдайте за неврологическим статусом ● Рассмотрите профилактические противоэпилептические средства
Степень тяжести 2	<p><i>Поддерживающее лечение и оценка</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ● Неврологическое обследование, МРТ головного мозга и анализ СМЖ; рассмотрите ЭЭГ при наличии клинических показаний ● Рассмотрите профилактические противоэпилептические средства 	<p><i>Поддерживающее лечение и оценка</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ● Непрерывная кардиотелеметрия и пульсовая оксиметрия при наличии клинических показаний ● Последовательные неврологические обследования включают фундоскопию и оценку по шкале комы Глазго, МРТ головного мозга, анализ СМЖ, ЭЭГ; рассмотрите консультацию невропатолога

		<ul style="list-style-type: none"> Введите противосудорожные средства пациентам с судорогами
	<p><u>Тоцилизумаб</u></p> <ul style="list-style-type: none"> Рассмотрите введение тоцилизумаба в дозе 8 мг/кг IV в течение 1 часа (не превышайте 800 мг) для пациентов с сопутствующими нарушениями (например, CRS степени тяжести ≥ 2) 	<p><u>Тоцилизумаб</u></p> <ul style="list-style-type: none"> Для пациентов с сопутствующим CRS, введите тоцилизумаб в дозе 8 мг/кг IV в течение 1 часа (не превышая 800 мг); повторяйте каждые 4–6 часов по мере необходимости, при отсутствии ответа на внутривенное введение жидкостей или усиление подачи кислорода, максимум до 3 доз в течение 24 часов Прекратите введение тоцилизумаба при улучшении состояния пациента
	<p><u>Кортикостероиды</u></p> <ul style="list-style-type: none"> н.п. 	<p><u>Кортикостероиды</u></p> <ul style="list-style-type: none"> Для пациентов без сопутствующего CRS вводите дексаметазон в дозе 10 мг IV каждые 6 часов Для пациентов с сопутствующим CRS, при отсутствии улучшения в течение 24 часов после начала введения тоцилизумаба, вводите дексаметазон в дозе 10 мг IV каждые 6 часов Уменьшите дозу кортикостероидов при улучшении состояния пациента
	<p><u>Поддерживающее лечение и оценка</u></p> <ul style="list-style-type: none"> Как в случае степени тяжести 2 	<p><u>Поддерживающее лечение и оценка</u></p>

Степень тяжести 3	<ul style="list-style-type: none"> ● Наблюдайте за пациентом с помощью непрерывной кардиотелеметрии и пульсовой оксиметрии 	<ul style="list-style-type: none"> ● Осуществляйте лечение в подлежащем мониторингу отделении или ОРИТ
	<p><u>Тоцилизумаб</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ● Рассмотрите тоцилизумаб в дозе 8 мг/кг IV течение 1 часа (не допускается превышение 800 мг); повторяйте каждые 4–6 часов, если симптомы не стабилизируются или не улучшаются 	<p><u>Тоцилизумаб</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ● Как в случае степени тяжести 2 ● Прекратите введение тоцилизумаба при улучшении состояния пациента
	<p><u>Кортикостероиды</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ● Рассмотрите кортикостероиды (например, дексаметазон в дозе 10 мг IV каждые 6 часов или метилпреднизолон в дозе 1 мг/кг BID) в случае ухудшения симптомов, несмотря на введение тоцилизумаба 	<p><u>Кортикостероиды</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ● Вводите дексаметазон в дозе 10 мг IV каждые 6 часов ● Уменьшите дозу кортикостероидов при улучшении состояния пациента
Степень тяжести 4	<p><u>Поддерживающее лечение и оценка</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ● Как в случае степени тяжести 2 ● Наблюдайте за пациентом с помощью непрерывной кардиотелеметрии и пульсовой оксиметрии 	<p><u>Поддерживающее лечение и оценка</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ● Как для степени тяжести 3 ● Может потребоваться искусственная вентиляция легких ● Введите иммунодепрессанты, если состояние пациента не улучшается
	<p><u>Тоцилизумаб</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ● Введите тоцилизумаб, как описано для степени тяжести 3, если ранее его не вводили 	<p><u>Тоцилизумаб</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ● Как в случае степени тяжести 2
	<p><u>Кортикостероиды</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ● Вводите кортикостероиды (например, метилпреднизолон в дозе 1 г/день × 3 дня, затем в дозе 250 мг BID × 2 дня, затем в дозе 125 мг BID × 2 дня, затем в дозе 60 мг BID × 2 дня) 	<p><u>Кортикостероиды</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ● Вводите высокодозовые кортикостероиды (например, метилпреднизолон 1 г/день × 3 дня) ● Уменьшите дозу кортикостероидов при улучшении состояния пациента

[0031] Вариант осуществления 28. Способ по любому из вариантов осуществления 1–27, причем указанный субъект с В-клеточным ОЛЛ может получать любую одну или несколько из следующих схем переходной химиотерапии:

Предварительно определенные схемы переходной химиотерапии	
Аттенуированная схема VAD	Винкристин нелипосомальный (IV введение в дозе 1–2 мг раз в неделю) или липосомальный (IV введение в дозе 2,25 мг/м ² раз в неделю), и дексаметазон (IV или PO введение в дозе 20–40 мг один раз в день × 3–4 дня в неделю). Необязательно доксорубицин, IV введение в дозе 50 мг/м ² × 1 (только первая неделя)
Меркаптопурин (6-MP)	В дозе 50–75 мг/м ² /день перорально (перед сном на голодный желудок для улучшения всасывания)
Гидроксимочевина	Дозы подбирали от 15 до 50 мг/кг/день (округляя до ближайшей дозы в виде 500 мг капсулы, 1 раз в сутки внутрь непрерывно)
DOMP	Дексаметазон, PO (или IV) введение в дозе 6 мг/м ² /день, разделенная доза, BID, дни 1–5, винкристин, IV введение в дозе 1,5 мг/м ² (максимальная доза 2 мг) в день 1, метотрексат, PO введение, 20 мг/м ² раз в неделю, 6-MP, PO введение в дозе 50–75 мг/м ² /день один раз в день
Аттенуированная схема FLAG/FLAG-IDA	Флударабин, IV введение в дозе 30 мг/м ² , дни 1–2, цитарабин, IV введение в дозе 2 г/м ² , дни 1–2, G-CSF, SC или IV введение в дозе 5 мкг/кг, начинается в день 3 и может продолжаться до дня, предшествующего началу кондиционирующей химиотерапии. С идарубицином или без него, IV введение в дозе 6 мг/м ² , дни 1–2
Схема Mini-hyper CVAD (курсы А и/или В)	Курс А: циклофосфамид в дозе 150 мг/м ² , каждые 12 ч × 3 дня, дексаметазон, IV или PO введение в дозе 20 мг/день, один раз в день, дни 1–4 и 11–14, винкристин, IV введение в дозе 2 мг × 1 Курс В: метотрексат, IV введение в дозе 250 мг/м ² в течение 24 часов в день 1, цитарабин, IV введение в дозе 0,5г/м ² каждые 12 часов × 4 дозы, дни 2 и 3

[0032] Вариант осуществления 29. Аутологичные Т-клетки, экспрессирующие CAR к CD19, для применения в способе лечения мантийноклеточной лимфомы (МКЛ) или В-клеточного ОЛЛ по любому из вариантов осуществления 1–28.

[0033] Вариант осуществления 30. Применение аутологичных Т-клеток, экспрессирующих CAR к CD19, при получении лекарственного препарата для лечения мантйноклеточной лимфомы (МКЛ) или В-клеточного ОЛЛ по любому из вариантов осуществления 1–28.

[0034] Вариант осуществления 31. Способ прогнозирования:

- (i) объективного ответа субъекта на лечение CAR Т-клетками (необязательно согласно способу по любому из вариантов осуществления 1–28), включающий измерение уровней пиков CAR Т-клеток и их сравнение с эталонным стандартом, при этом объективный ответ положительно ассоциирован с пиковыми уровнями CAR Т-клеток, при этом объективный ответ включает как полный ответ, так и частичный ответ, и при этом все ответы оценивают с использованием классификации Lugano.
- (ii) минимального остаточного заболевания (например, на неделе 4) в ответ на лечение CAR Т-клетками (необязательно согласно способу по любому из вариантов осуществления 1–28), включающий измерение пиковых уровней CAR Т-клеток и их сравнение с эталонным стандартом, при этом отрицательное минимальное остаточное заболевание ассоциировано с более высокими пиковыми уровнями CAR Т-клеток.
- (iii) CRS степени тяжести ≥ 3 и/или неврологических явлений (NE) степени тяжести ≥ 3 у субъекта, получающего лечение CAR Т-клетками (необязательно согласно способу по любому из вариантов осуществления 1–28), включающий измерение пиковой экспансии CAR Т-клеток после лечения и сравнение уровней с эталонным значением, при этом чем выше экспансия CAR Т-клеток, тем выше вероятность CRS степени тяжести ≥ 3 и/или NE степени тяжести ≥ 3 .
- (iv) CRS степени тяжести ≥ 3 и/или NE степени тяжести ≥ 3 , включающий измерение пиковых уровней GM-CSF и IL-6 после лечения CAR Т-клетками (необязательно согласно способу по любому из вариантов осуществления 1–28) и сравнение их с эталонным уровнем, при этом чем выше пиковый уровень этих цитокинов, тем выше вероятность CRS степени тяжести ≥ 3 и/или NE степени тяжести ≥ 3 .
- (v) CRS степени тяжести ≥ 3 у субъекта, получающего лечение CAR Т-клетками (необязательно согласно способу по любому из вариантов осуществления 1–28), включающий измерение пикового уровня ферритина в сыворотке после лечения CAR Т-клетками и сравнение его с эталонным уровнем, при этом более чем выше пиковый уровень ферритина, тем выше вероятность CRS степени тяжести ≥ 3 .
- (vi) CRS степени тяжести ≥ 3 , включающий измерение пиковых уровней IL-2 и IFN-гамма в сыворотке крови после лечения CAR Т-клетками (необязательно по любому из вариантов осуществления 1–28) и сравнение их с эталонным уровнем, при этом чем выше пиковый уровень IL-2 и IFN-гамма, тем выше вероятность NE степени тяжести ≥ 3 .
- (vii) CRS степени тяжести ≥ 3 , включающий измерение уровней С-реактивного белка, ферритина, IL-6, IL-8 и/или молекулы адгезии сосудистого эндотелия (VCAM) в спинномозговой жидкости после лечения CAR Т-клетками (необязательно по любому из вариантов осуществления 1–28) и сравнение их с эталонным уровнем, при этом чем выше уровни С-реактивного белка, ферритина,

IL-6, IL-8 и/или молекулы адгезии сосудистого эндотелия (VCAM) в спинномозговой жидкости, тем выше вероятность NE степени тяжести ≥ 3 .

- (viii) CRS степени тяжести ≥ 3 после лечения CAR Т-клетками (необязательно согласно способу по любому из вариантов осуществления 1–28), включающий измерение пиковых уровней IL-15, IL-2 R α , IL-6, TNF α , GM-CSF, ферритина, IL-10, IL-8, MIP-1a, MIP-1b, гранзима А, гранзима В и/или перфорина в сыворотке крови после лечения Т-клетками с CAR к CD19 и сравнение уровней с эталонными уровнями, при этом пиковые уровни IL-15, IL-2 R α , IL-6, TNF α , GM-CSF, ферритина, IL-10, IL-8, MIP-1a, MIP-1b, гранзима А, гранзима В и/или перфорина в сыворотке крови положительно ассоциированы с CRS степени тяжести ≥ 3 .
- (ix) CRS степени тяжести ≥ 3 после лечения CAR Т-клетками В-клеточного ОЛЛ (необязательно согласно способу по любому из вариантов осуществления 1–28), включающий измерение пикового уровня IL-15 в сыворотке крови после лечения Т-клетками с CAR к CD19 и сравнение уровней с эталонными уровнями, при этом пиковый уровень IL-15 в сыворотке крови отрицательно ассоциирован с CRS степени тяжести ≥ 3 .
- (x) CRS степени тяжести ≥ 3 и/или NE степени тяжести ≥ 3 после лечения CAR Т-клетками (необязательно согласно способу по любому из вариантов осуществления 1–28), включающий измерение пиковых уровней IL-6, TNF α , GM-CSF, IL-10, MIP-1b и гранзима В в сыворотке крови после лечения Т-клетками с CAR к CD19 и сравнение уровней с эталонными уровнями, при этом пиковые уровни IL-6, TNF α , GM-CSF, IL-10, MIP-1b и гранзима В в сыворотке крови положительно ассоциированы с CRS степени тяжести ≥ 3 и NE степени тяжести ≥ 3 .
- (xi) того, будет ли пациент MRD-отрицательным (чувствительность 10^{-5}) через 4 недели/один месяц после лечения CAR Т-клетками (необязательно по любому из вариантов осуществления 1–28), включающий измерение пиковых уровней IFN- γ , IL-6 и/или IL-2 в сыворотке крови после лечения и сравнение уровня с эталонным стандартом, при этом пиковые уровни IFN- γ , IL-6 и/или IL-2 в сыворотке крови положительно ассоциированы с отрицательным в отношении MRD статусом через один месяц.

[0035] Вариант осуществления 32. Способ по любому из вариантов осуществления 20–24, 26, 27 и 30–31, причем указанные CRS и NE оценивают с помощью способа, описанного в Lee et al., Blood 2014; 124: 188–195.

[0036] Вариант осуществления 33. Способ по варианту осуществления 31, причем указанный эталонный стандарт устанавливают с помощью любого способа, обычно используемого в области биомаркеров, такого как квартильный анализ популяций пациентов с известными ответами, степенями токсичности и уровнями MRD.

[0037] Вариант осуществления 34. Способ по варианту осуществления 31, причем указанные уровни CAR Т-клеток измеряют с помощью копий генов CAR на микрограмм ДНК в крови.

[0038] Вариант осуществления 35. Способ по любому из вариантов осуществления 1–43, дополнительно включающий снижение указанных уровней/активности цитокинов, которые положительно ассоциированы с CRS степени тяжести ≥ 3 и/или NE степени тяжести ≥ 3 после инфузии CAR Т-клеток для снижения CRS степени тяжести ≥ 3 и/или NE степени тяжести ≥ 3 .

[0039] Вариант осуществления 36. Способ повышения эффективности лечения CAR Т-клетками (например, классической, бластоидной и плеоморфной формы МКЛ и В-клеточного ОЛЛ), у субъекта, нуждающегося в этом, включающий манипулирование фенотипом Т-клеток с помощью Т-клеточного продукта, вводимого субъекту, необязательно при этом манипулирование включает повышение количества CD3+ Т-клеток, снижение количества/процентного содержания CD3- клеток, повышение количества/процентного содержания CDRA45+CCR7+ (подобных наивным) Т-клеток и/или снижение количества/процентного содержания дифференцированных клеток в Т-клеточном продукте во время производства, снижение уровней продуцирования IFN-гамма Т-клетками, при этом улучшение наблюдается по сравнению с эффективностью Т-клеточного продукта, который приготовлен без преднамеренного манипулирования количеством/процентным содержанием CDRA45+CCR7+ (подобных наивным) Т-клеток и/или количества/процентного содержания дифференцированных клеток в Т-клеточном продукте.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0040] ФИГ. 1A–1F: Сравнение фармакодинамического профиля в прогностических группах, определенных по индексу пролиферации Ki-67, и тенденции к повышенным уровням цитокинов у пациентов с мутированным TP53.

[0041] ФИГ. 2A–2I: Повышенные пиковые уровни выбранных цитокинов в сыворотке крови у пациентов, которые достигли отрицательного статуса в отношении MRD.

[0042] ФИГ. 3: Схема исследования ZUMA-3. CAR, химерный антигенный рецептор; DLT, дозолимитирующая токсичность.

[0043] ФИГ. 4 : Схема распределения участников исследования ZUMA-3. * АЕ представляли собой легочное объемное образование степени тяжести 3 (n = 1), субдуральную гематому степени тяжести 1 (n = 1) и фебрильную нейтропению степени тяжести 3 (n = 1); † АЕ представляли собой сепсис степени тяжести 4 (n = 1) и сепсис степени тяжести 5 (n = 1); ‡ Один пациент получал КТЕ-Х19 в связи с применением из-за гуманных соображений в связи с тромбозом глубоких вен, который является критерием исключения из исследования. АЕ, нежелательное явление.

[0044] ФИГ. 5: Анализ в подгруппе уровня полного ответа. ВМ, костный мозг; ORR, общая частота ремиссии; SCT, трансплантат стволовых клеток.

[0045] ФИГ. 6: Продолжительность ответа, выживаемость без рецидивов и общая выживаемость в зависимости от уровня дозы.

[0046] ФИГ. 7: Пиковая экспансия CAR Т-клеток и ассоциации с ответом, минимальным остаточным заболеванием и токсичностью.

[0047] ФИГ. 8: Ассоциации площади под кривой CAR Т-клеток с ответом, минимальным остаточным заболеванием и токсичностью. АЕ, нежелательное явление; AUC, площадь под кривой; CAR, химерный антигенный рецептор; CRS, синдром высвобождения цитокинов; MRD, минимальное остаточное заболевание.

[0048] ФИГ. 9: Пиковые уровни цитокинов в динамике.

[0049] ФИГ. 10: Воспалительные маркеры в образцах сыворотки крови при исходном уровне и при пике после инфузии. * Значение представляет собой нижний предел количественной оценки в используемом анализе. † Значение представляет собой верхний предел количественной оценки в используемом анализе. AE, нежелательное явление; CAR, химерный антигенный рецептор; CCL, лиганд с мотивом C-C; CRP, С-реактивный белок; CXCL, хемокиновый лиганд с мотивом C-X-C; FGFBF, основная форма фибробластического фактора роста; FLT-1, рецепторная тирозинкиназа 1, связанная с fms; GM-CSF, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор макрофагов; ICAM-1, молекула межклеточной адгезии 1; IFN, интерферон; IL, интерлейкин; MCP, моноцитарный хемоаттрактантный белок-1; MDC, макрофагальный хемокин; MIP, макрофагальный воспалительный белок; PDL1, лиганд белка запрограммированной клеточной смерти 1; PLGF, плацентарный фактор роста; R α , рецептор альфа; RA, антагонист рецептора; SAA, сывороточный амилоид А; SFASL, растворимый лиганд Fas; TARC, хемокин, регулируемый тимусом и активацией; TNF, фактор некроза опухоли; VCAM, белок адгезии сосудистого эндотелия; VEGF, фактор роста сосудистого эндотелия; VEGFC, фактор роста сосудистого эндотелия C; VEGFD, фактор роста сосудистого эндотелия D.

[0050] ФИГ. 11: Ассоциация биомаркеров сыворотки с синдромом высвобождения цитокинов и неврологическими явлениями. * Значение представляет собой нижний предел количественной оценки в используемом анализе. † Значение представляет собой верхний предел количественной оценки в используемом анализе. CRP, С-реактивный белок; CXCL, хемокиновый лиганд с мотивом C-X-C; GM-CSF, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор макрофагов; IFN γ , интерферон гамма; IL, интерлейкин; IP, интерферон- γ -индуцированный белок; MCP, моноцитарный аттрактантный белок; R α , рецептор альфа; RA, антагонист рецептора; SAA, сывороточный амилоид А.

[0051] ФИГ. 12: Фармакодинамический профиль КТЕ-X19 в подгруппах морфологии МКЛ. AUC, площадь под кривой; CAR, химерный антигенный рецептор; CXCL10, хемокиновый лиганд с мотивом C-X-C 10; IFN-g, интерферон гамма; IL, интерлейкин; МКЛ, мантийноклеточная лимфома; MCP-1, моноцитарный хемоаттрактантный белок-1; MIP-1 β , макрофагальный воспалительный белок-1 бета; PD-L1, лиганд белка запрограммированной клеточной смерти 1; PRF, перфорин; R α , рецептор альфа; TNF- α , фактор некроза опухоли альфа.

[0052] ФИГ. 13: Фармакологический профиль КТЕ-X19 в подгруппах морфологии МКЛ.

[0053] ФИГ. 14: Фармакодинамический профиль КТЕ-X19 в подгруппах до введения ВТКі. AUC, площадь под кривой; CAR, химерный антигенный рецептор; CXCL10, хемокиновый лиганд с мотивом C-X-C 10; IFN-g, интерферон гамма; IL, интерлейкин; МКЛ, мантийноклеточная лимфома; MCP-1, моноцитарный хемоаттрактантный белок-1; MIP-1 β , макрофагальный воспалительный белок-1 бета; PD-L1, лиганд белка запрограммированной клеточной смерти 1; PRF, перфорин; R α , рецептор альфа; TNF- α , фактор некроза опухоли альфа.

[0054] ФИГ. 15: Фармакологический профиль КТЕ-X19 в подгруппах до введения ВТКі.

[0055] ФИГ. 16: Текущий уровень ответа в подгруппах.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0056] Если в данном документе явно не указано иное, каждый из следующих терминов должен характеризоваться значением, изложенным ниже. Дополнительные определения изложены в тексте настоящей заявки. Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют значение, которое обычно понимается специалистом в данной области техники. Например, Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3rd ed., 1999, Academic Press; и Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Press предоставляют специалисту общий словарь многих терминов, используемых в настоящей заявке.

[0057] Единицы, префиксы и символы обозначаются в их общепринятой форме Международной системы единиц измерения (СИ). Числовые диапазоны включают числа, определяющие диапазон. Настоящее изобретение, представленное в данном документе, не является ограничением различных аспектов настоящей заявки, которые могут быть определены со ссылкой на описание в целом. Если не указано иное, все используемые в данном документе технические и научные термины имеют общепринятые значения, понятные специалисту в области техники, к которой относится настоящее изобретение. Например, Juo, “The Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology”, 2nd ed., (2001), CRC Press; “The Dictionary of Cell & Molecular Biology”, 5th ed., (2013), Academic Press; и “The Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology”, Cammack et al. eds., 2nd ed, (2006), Oxford University Press, предоставляют специалистам в данной области техники общий словарь многих терминов, используемых в настоящем изобретении.

[0058] Употребление формы единственного относится к «одному или нескольким» из любого из упомянутых или перечисленных компонентов.

[0059] Термины «приблизительно» или «состоящий по сути из» относятся к значению или составу, которые находятся в пределах допустимого диапазона ошибки для определенного значения или состава, как определено специалистом в данной области техники, что будет частично зависеть от того, как значение или состав измерятся или определяется, т.е., ограничений системы измерения. Например, «приблизительно» или «содержащий по сути» может означать в пределах 1 или более 1 стандартного отклонения при практическом применении в данной области техники. В качестве альтернативы термины «приблизительно» или «содержащий по сути» может означать диапазон до 10% (*m.e.* $\pm 10\%$). Например, приблизительно 3 мг может включать любое количество от 2,7 мг до 3,3 мг (в качестве 10%). В отношении биологических систем или процессов, эти термины могут означать в пределах порядка величины или в пределах 5-кратного значения. Если в настоящей заявке и формуле изобретения предусмотрены определенные значения или композиции, то значение «приблизительно» или «содержащий по сути» включает приемлемый диапазон ошибок для этого значения или композиции. Любой диапазон концентраций, процентный диапазон, диапазон соотношений или целочисленный диапазон включает значение любого целого числа в указанном диапазоне и, при необходимости, части целого числа (например, одной десятой и одной сотой части целого числа), если не указано иное.

[0060] Если специально не указано или не очевидно из контекста, в данном документе термин «или» следует понимать как включающий и он охватывает как «или», так и «и». Термин «и/или» относится к каждому из двух

указанных характеристик или компонентов с другим или без него. Таким образом, термин «и/или» в контексте такой фразы, как «А и/или В», предназначен для включения «А и В», «А или В»; «А» (отдельно) и «В» (отдельно). Аналогичным образом, термин «и/или», используемый в фразе, такой как «А, В и/или С», предназначен для охвата каждого из следующих аспектов: А, В и С; А, В или С; А или С; А или В; В или С; А и С; А и В; В и С; А (отдельно); В (отдельно); и С (отдельно).

[0061] Термины «например», и «т.е.» используются исключительно в качестве примера, без ограничений, и не должны рассматриваться как относящиеся только к тем элементам, которые явно перечислены в описании.

[0062] Термины «или более», «по меньшей мере один», «более чем» и т.п., например, «по меньшей мере один», включают, без ограничения, по меньшей мере 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, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149 или 150, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000 или больше, чем указанное значение. Также включено любое большее количество или доля между ними. Термин «не более чем» включает в себя каждое значение, меньшее, чем указанное значение. Например, «не более чем 100 нуклеотидов» включает в себя 100, 99, 98, 97, 96, 95, 94, 93, 92, 91, 90, 89, 88, 87, 86, 85, 84, 83, 82, 81, 80, 79, 78, 77, 76, 75, 74, 73, 72, 71, 70, 69, 68, 67, 66, 65, 64, 63, 62, 61, 60, 59, 58, 57, 56, 55, 54, 53, 52, 51, 50, 49, 48, 47, 46, 45, 44, 43, 42, 41, 40, 39, 38, 37, 36, 35, 34, 33, 32, 31, 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 и 0 нуклеотидов. Также включено любое меньшее количество или доля между ними.

[0063] Термины «множество», «по меньшей мере два», «два или более», «по меньшей мере второй» и т.п. включают в себя, без ограничения, по меньшей мере 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, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149 или 150, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000 или больше. Также включено любое большее количество или доля между ними.

[0064] Следует понимать, что в тексте описания слово «содержащий» или варианты, такие как «содержит» или «который содержит», подразумевают включение указанного элемента, целого числа или этапа или группы элементов, целых чисел или этапов, но не исключение любого другого элемента, целого числа или этапа или группы элементов, целых чисел или этапов. Следует понимать, что в тех случаях, когда аспекты описаны в данном документе с формулировкой «содержащий», в противном случае также предложены аналогичные аспекты, описанные в терминах «состоящий из» и/или «состоящий по сути из». Термин «состоящий из» исключает любой элемент, этап или ингредиент, не указанные в формуле изобретения. касательно Gray, 53 F.2d 520, 11 USPQ 255 (CCPA 1931); в одностороннем порядке Davis, 80 USPQ 448, 450 (Bd. App. 1948) («состоящий из» определено как

«закрывающий пункт о включении материалов, отличных от тех, которые перечислены, за исключением примесей, обычно ассоциированных с ними»). Термин «состоящий по сути из» ограничивает объем пункта указанными материалами или этапами, и «теми, которые не оказывают существенного влияния на основные и новые характеристики» заявляемого изобретения.

[0065] В контексте данного документа, если специально не указано или не очевидно из контекста, термин «приблизительно» относится к значению или составу, которые находятся в пределах допустимого диапазона ошибки для конкретного значения или состава, как определено специалистом в данной области техники, что будет частично зависеть от того, как значение или состав измеряется или определяется, т.е. ограничений системы измерения. Например, «приблизительно» или «примерно» может означать в пределах одного или более одного стандартного отклонения при практическом применении в данной области техники. «Приблизительно» или «примерно» может означать диапазон до 10% (т.е. $\pm 10\%$). Таким образом, термин «приблизительно» можно понимать как в пределах более или менее 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5%, 0,1%, 0,05%, 0,01% или 0,001% от указанного значения. Например, приблизительно 5 мг может включать любое количество от 4,5 мг до 5,5 мг. Кроме того, в частности, в отношении биологических систем или процессов термины могут означать до порядка величины или до 5-кратного значения. Если определенные значения или композиции приведены в настоящем описании, если не указано иное, следует считать, что значение «приблизительно» или «примерно» должно находиться в пределах приемлемого диапазона ошибок для этого определенного значения или состава.

[0066] В контексте настоящего документа любой диапазон концентраций, процентный диапазон, диапазон соотношений или целочисленный диапазон следует понимать как включающий значение любого целого числа в указанном диапазоне и, при необходимости, части целого числа (например, одной десятой и одной сотой части целого числа), если не указано иное.

[0067] Термин «активация», «активированный» или т.п. относится к состоянию клетки, в том числе, без ограничения, иммунной клетки (*например*, Т-клетки), которая была достаточно стимулирована для индуцирования обнаружимой клеточной пролиферации. Активация может быть ассоциирована с индуцированным продуцированием цитокинов и обнаружимыми эффекторными функциями. Термин «активированные Т-клетки» относится, помимо прочего, к Т-клеткам, которые подвергаются клеточному делению. Активация Т-клеток может характеризоваться повышенной экспрессией Т-клетками одного или нескольких биомаркеров, в том числе, без ограничения, CD57, PD1, CD107a, CD25, CD137, CD69 и/или CD71. Способы активации и экспансии Т-клеток известны из уровня техники и описаны, например, в патентах США №№ 6905874; 6867041; и 6797514; и публикации PCT № WO 2012/079000, содержание которых включено в данный документ посредством ссылки в полном объеме. В целом такие способы включают приведение клеток (таких как Т-клетки) в контакт с активирующим, стимулирующим или костимулирующим средством (таким как антитела к CD3 и/или к CD28), которые могут быть присоединены, покрыты или связаны с гранулой или другой поверхностью, в растворе (таком как подпитка, культура и/или среда для выращивания) с определенными цитокинами (такими как IL-2, IL-7 и/или IL-15). Активирующее средство (например, антитела к CD3 и/или к CD28), присоединенные к одной и той же грануле, выступают в качестве «суррогатной» антигенпрезентирующей клетки (APC). Одним из примеров является система Dynabeads®, система активатора/стимулятора CD3/CD28 для

физиологической активации Т-клеток человека. В одном варианте осуществления Т-клетки активируются и стимулируются для пролиферации определенными антителами и/или цитокинами с помощью способов, описанных в патентах США №№ 6040177 и 5827642 и публикации PCT № WO 2012/129514, содержание которых включено в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

[0068] Термины «введение», «осуществление введения» или т.п. относятся к физическому введению средства субъекту, с помощью любого из различных способов и систем доставки, известных специалистам в данной области техники. Иллюстративные пути введения иммунных клеток, полученных с помощью способов, раскрытых в данном документе, включают внутривенные (i.v. или IV), внутримышечные, подкожные, внутрибрюшинные, спинальные или другие парентеральные пути введения, например, путем инъекции или инфузии. Парентеральный путь введения означает способы введения, отличные от энтерального и местного введения, обычно посредством инъекции, и включают, но не ограничиваясь ими, внутривенную, внутримышечную, внутриартериальную, интратекальную, внутрилимфатическую, внутриочаговую, интракапсулярную, интраорбитальную, внутрисердечную, интрадермальную, внутрибрюшинную, транстрахеальную, подкожную, субкутикулярную, внутрисуставную, субкапсулярную, субарахноидальную, интраспинальную, эпидуральную и интрастеральную инъекцию и инфузию, а также электропорацию *in vivo*. В одном варианте осуществления иммунные клетки (например, Т-клетки), полученные с помощью способов настоящего изобретения, вводят посредством инъекции или инфузии. Непарентеральные пути включают местное, эпидермальное или слизистое введение, например, интраназально, вагинально, ректально, сублингвально или местно. Введение можно осуществлять также один раз, два раза или множество раз в течение одного или более длительных периодов. Если вводят одно или несколько терапевтических средств (например, клеток), введение можно осуществлять одновременно или последовательно. Последовательное введение включает введение одного средства только после завершения введения другого средства или средств.

[0069] Термин «антитело» (Ab) включает, без ограничения, иммуноглобулин, который специфически связывается с антигеном. Как правило, антитело может содержать по меньшей мере две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, соединенные между собой дисульфидными связями. Каждая цепь H содержит переменную область тяжелой цепи (сокращенно описанную в данном документе как VH) и константную область тяжелой цепи. Константная область тяжелой цепи может содержать три или четыре константных домена, CH1, CH2, CH3 и/или CH4. Каждая легкая цепь содержит переменную область легкой цепи (сокращенно описанную в данном документе как VL) и константную область легкой цепи. Константная область легкой цепи может содержать один константный домен, CL. Области VH и VL могут быть дополнительно подразделены на области гипервариабельности, называемые определяющими комплементарность областями (CDR), расположенные между областями, которые являются более консервативными, называемыми каркасными областями (FR). Каждая VH и VL содержат три CDR и четыре FR, расположенные от аминоконца до карбоксиконца в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Иммуноглобулин может быть получен из любого из общеизвестных изоформ, в том числе, без ограничения, IgA, секреторного IgA, IgG и IgM. Подклассы IgG также хорошо известны специалистам в данной области и включают, без ограничения, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 человека. «Изотип» относится к классу или подклассу Ab (например, IgM или IgG1), которые кодируются генами константной области

тяжелой цепи. Термин «антитело» включает в себя, в качестве примера, как встречающиеся в природе, так и не встречающиеся в природе Ab; моноклональные и поликлональные Ab; химерные и гуманизированные Ab; человеческие и отличные от человеческих Ab; полностью синтетические Ab; и одноцепочечные Ab. Отличное от человеческого Ab может быть гуманизировано рекомбинантными способами для снижения его иммуногенности у человека. Если явным образом не указано иное, и если контекст не указывает иное, термин «антитело» также включает антигенсвязывающий фрагмент или антигенсвязывающую часть любого из вышеупомянутых иммуноглобулинов, моновалентный и бивалентный фрагмент или участок, и одноцепочечное Ab.

[0070] «Антигенсвязывающая молекула», «фрагмент антитела» или т.п. относятся к любому участку антитела, который меньше целого. Антигенсвязывающая молекула может включать антигенные определяющие комплементарности области (CDR). Примеры фрагментов антител включают, без ограничения, фрагменты Fab, Fab', F(ab')₂ и Fv, dAb, линейные антитела, антитела в виде scFv и мультиспецифические антитела, образованные из антигенсвязывающих молекул. В одном аспекте конструкция CAR к CD19 содержит одноцепочечный Fv к CD19. Связывающий фрагмент антитела в виде «одноцепочечного Fv» или «scFv» содержит домены варибельной области тяжелой цепи (V_H) и варибельной области легкой цепи (V_L) антитела, где эти домены присутствуют в одной полипептидной цепи. Как правило, полипептид Fv дополнительно содержит полипептидный линкер между доменами V_H и V_L, которые позволяют scFv образовывать требуемую структуру для связывания антигена. Все связанные с антителом термины, используемые в данном документе, имеют общепринятое значение в данной области техники и хорошо понятны специалисту в данной области техники.

[0071] «Антиген» относится к любой молекуле, которая вызывает иммунный ответ или способна связываться с антителом или антигенсвязывающей молекулой. Иммунный ответ может включать либо продуцирование антител, либо активацию специфических иммунологически компетентных клеток, или и то и другое. Специалисту в данной области техники будет понятно, что любая макромолекула, в том числе практически все белки или пептиды, может выступать в качестве антигена. Антиген может быть эндогенно экспрессирован, т.е. экспрессирован геномной ДНК, или может быть рекомбинантно экспрессирован. Антиген может быть специфичным к определенной ткани, такой как раковая клетка, или может быть экспрессирован в широком смысле. Кроме того, фрагменты более крупных молекул могут функционировать в качестве антигенов. В некоторых вариантах осуществления антигены представляют собой опухолевые антигены.

[0072] Термин «нейтрализующий» относится к антигенсвязывающей молекуле, scFv, антителу или ее фрагменту, которые связываются с лигандом и предупреждают или ослабляют биологический эффект этого лиганда. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающая молекула, scFv, антитело или ее фрагмент непосредственно блокируют сайт связывания на лиганде или иным образом изменяют способность лиганда связываться косвенными средствами (такими как структурные или энергетические изменения лиганда). В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающая молекула, scFv, антитело или ее фрагмент предупреждает выполнение белком, с которым они связаны, своей биологической функции.

[0073] Термин «аутологичный» относится к любому материалу, полученному от того же субъекта, к которому он позднее должен быть повторно введен. Например, способ терапии на основе сконструированных аутологичных клеток, описанный в данном документе, включает сбор лимфоцитов у индивидуума (например,

донора или пациента), которые затем конструируют для экспрессии конструкции CAR, а затем вводят обратно тому же субъекту.

[0074] Термин «аллогенный» относится к любому материалу, полученному от одного индивидуума, который затем вводят другому индивидууму того же вида, *например*, аллогенная Т-клеточная трансплантация.

[0075] «Рак» относится к широкой группе различных заболеваний, характеризующихся неконтролируемым ростом аномальных клеток в организме. Нерегулируемое деление и рост клеток приводит к образованию злокачественных опухолей, которые инвазируют соседние ткани и могут также метастазировать к удаленным частям тела через лимфатическую систему или кровоток. «Рак» или «раковая ткань» может включать опухоль на различных стадиях. В одном варианте осуществления рак или опухоль представляют стадию 0, так, *например*, рак или опухоль находятся на очень ранней стадии развития и не метастазировали. В другом варианте осуществления рак или опухоль представляют стадию I, так, *например*, рак или опухоль относительно малы, не распространились в близлежащую ткань и не метастазировали. В другом варианте осуществления рак или опухоль представляет стадию II или стадию III, так, *например*, рак или опухоль больше, чем на стадии 0 или стадии I, и они проросли в соседние ткани, но не метастазировали, за исключением, возможно, лимфатических узлов. В дополнительном варианте осуществления рак или опухоль представляют стадию IV, так, *например*, рак или опухоль метастазировали. Стадия IV также может обозначаться распространенным или метастатическим раком.

[0076] В контексте данного документа термин «противоопухолевый эффект» относится к биологическому эффекту, который может присутствовать, и не ограничен снижением объема опухоли, ингибированием роста опухоли, уменьшением количества опухолевых клеток, снижением пролиферации опухолевых клеток, уменьшением числа/степени метастазов, повышением общей выживаемости или выживаемости без прогрессирования, повышением продолжительности жизни и/или облегчением различных физиологических симптомов, ассоциированных с опухолью. Противоопухолевый эффект также может относиться к предупреждению возникновения опухоли, *например*, вакцине.

[0077] Термин «выживаемость без прогрессирования» (PFS) относится к времени от даты лечения до даты прогрессирования заболевания (в соответствии с общими руководящими принципами, такими как IWG Response Criteria for Malignant Lymphoma) или смерти по любой причине. Термин «прогрессирование заболевания» может быть оценен путем измерения злокачественных очагов на рентгенограммах или другими способами, о которых не следует сообщать как о нежелательных явлениях. Смерть вследствие прогрессирования заболевания при отсутствии признаков и симптомов может указываться как первичный тип опухоли (*например*, DLBCL). Термин «продолжительность ответа» (DOR) относится к периоду времени между первым целевым ответом субъекта на момент даты подтвержденного прогрессирования заболевания (в соответствии с общими рекомендациями, такими как пересмотренные критерии ответа при злокачественной лимфоме (IWG Response Criteria for Malignant Lymphoma)) или смерти. Термин «общая выживаемость» (OS) относится к времени от даты лечения до даты смерти.

[0078] «Цитокин» относится к отличному от антитела белку, который может высвобождаться иммунными клетками, в том числе макрофагами, В-клетками, Т-клетками и тучными клетками, для распространения иммунного ответа. В одном варианте осуществления один или несколько цитокинов высвобождаются в ответ на

терапию. В другом варианте осуществления указанные цитокины, секретируемые в ответ на терапию, могут указывать на эффективную терапию или предполагать ее. В одном варианте осуществления «цитокин» относится к отличному от антитела белку, который высвобождается одной клеткой в ответ на приведение в контакт с конкретным антигеном, при этом цитокин взаимодействует со второй клеткой для опосредования ответа во второй клетке. В контексте данного документа термин «цитокин» относится к белкам, высвобождаемым одной популяцией клеток, которые действуют на другую клетку в качестве межклеточных медиаторов. Цитокин может быть эндогенно экспрессирован клеткой или введен субъекту. Цитокины могут высвобождаться иммунными клетками, в том числе макрофагами, В-клетками, Т-клетками и тучными клетками для распространения иммунного ответа. Цитокины могут индуцировать различные ответы в клетке реципиента. Цитокины могут включать гомеостатические цитокины, хемокины, провоспалительные цитокины, эффекторы и белки острой фазы. Например, гомеостатические цитокины, в том числе интерлейкин (IL) 7 и IL-15, способствуют выживанию и пролиферации иммунных клеток, а провоспалительные цитокины могут способствовать воспалительному ответу. Примеры гомеостатических цитокинов включают, без ограничения, IL-2, IL-4, IL-5, IL-7, IL-10, IL-12p40, IL-12p70, IL-15 и интерферон гамма (IFN). Примеры провоспалительных цитокинов включают, без ограничения, IL-1a, IL-1b, IL-6, IL-13, IL-17a, фактор некроза опухоли (TNF)-альфа, TNF-бета, фибробластический фактор роста (FGF) 2, гранулоцитарный макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), растворимую молекулу межклеточной адгезии 1 (sICAM-1), растворимую молекулу адгезии сосудистого эндотелия 1 (sVCAM-1), фактор роста сосудистого эндотелия (VEGF), VEGF-C, VEGF-D и плацентарный фактор роста (PLGF). Примеры эффекторов включают, без ограничения, гранзим А, гранзим В, растворимый лиганд Fas (sFasL) и перфорин. Примеры белков острой фазы включают, без ограничения, С-реактивный белок (CRP) и сывороточный амилоид А (SAA).

[0079] «Хемокины» представляют собой тип цитокина, который опосредует хемотаксис клеток или направленное перемещение. Примеры хемокинов включают, без ограничения, IL-8, IL-16, эотаксин, эотаксин-3, макрофагальный хемокин (MDC или CCL22), моноцитарный хемотаксический белок 1 (MCP-1 или CCL2), MCP-4, макрофагальный воспалительный белок 1 α (MIP-1 α , MIP-1a), MIP-1 β (MIP-1), гамма-индуцированный белок 10 (IP-10) и хемокин, регулируемый тимусом и активацией (TARC или CCL17).

[0080] «Терапевтически эффективное количество», «терапевтически эффективная дозировка» или т.п. относится к количеству клеток (таких как иммунные клетки или сконструированные Т-клетки), которое получают с помощью способов настоящего изобретения (в результате чего получают Т-клеточный продукт), и которое при использовании отдельно или в комбинации с другим терапевтическим средством защищает или осуществляет лечение субъекта от начала заболевания или способствует регрессии заболевания, о чем свидетельствует снижение тяжести симптомов заболевания, увеличение частоты и продолжительности заболевания без симптомов и/или предупреждение нарушения или недееспособности вследствие заболевания. Способность стимулировать регрессию заболевания может быть оценена с помощью различных способов, известных специалисту по клиническим испытаниям, таких как у субъектов во время клинических испытаний, в животных модельных системах, прогнозирующих эффективность у людей, или путем анализа активности средства в анализах *in vitro*. В некоторых вариантах осуществления Т-клетки донора для применения в Т-клеточной терапии получают от

пациента (например, для аутологичной Т-клеточной терапии). В других вариантах осуществления Т-клетки донора для применения в Т-клеточной терапии получают от субъекта, который не является пациентом. Т-клетки можно вводить в терапевтически эффективном количестве. Например, терапевтически эффективное количество Т-клеток может составлять по меньшей мере приблизительно 10^4 клеток, по меньшей мере приблизительно 10^5 клеток, по меньшей мере приблизительно 10^6 клеток, по меньшей мере приблизительно 10^7 клеток, по меньшей мере приблизительно 10^8 клеток, по меньшей мере приблизительно 10^9 клеток или по меньшей мере приблизительно 10^{10} клеток. В другом варианте осуществления терапевтически эффективное количество Т-клеток составляет приблизительно 10^4 клеток, приблизительно 10^5 клеток, приблизительно 10^6 клеток, приблизительно 10^7 клеток или приблизительно 10^8 клеток. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество CAR Т-клеток составляет приблизительно 2×10^6 клеток/кг, приблизительно 3×10^6 клеток/кг, приблизительно 4×10^6 клеток/кг, приблизительно 5×10^6 клеток/кг, приблизительно 6×10^6 клеток/кг, приблизительно 7×10^6 клеток/кг, приблизительно 8×10^6 клеток/кг, приблизительно 9×10^6 клеток/кг, приблизительно 1×10^7 клеток/кг, приблизительно 2×10^7 клеток/кг, приблизительно 3×10^7 клеток/кг, приблизительно 4×10^7 клеток/кг, приблизительно 5×10^7 клеток/кг, приблизительно 6×10^7 клеток/кг, приблизительно 7×10^7 клеток/кг, приблизительно 8×10^7 клеток/кг или приблизительно 9×10^7 клеток/кг. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество CAR-положительных жизнеспособных Т-клеток составляет от приблизительно 1×10^6 до приблизительно 2×10^6 CAR-положительных жизнеспособных Т-клеток на кг массы тела до максимальной дозы приблизительно 1×10^8 CAR-положительных жизнеспособных Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество CAR-положительных жизнеспособных Т-клеток составляет от приблизительно $0,4 \times 10^8$ до приблизительно 2×10^8 CAR-положительных жизнеспособных Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество CAR-положительных жизнеспособных Т-клеток составляет приблизительно $0,4 \times 10^8$, приблизительно $0,5 \times 10^8$, приблизительно $0,6 \times 10^8$, приблизительно $0,7 \times 10^8$, приблизительно $0,8 \times 10^8$, приблизительно $0,9 \times 10^8$, приблизительно $1,0 \times 10^8$, приблизительно $1,1 \times 10^8$, приблизительно $1,2 \times 10^8$, приблизительно $1,3 \times 10^8$, приблизительно $1,4 \times 10^8$, приблизительно $1,5 \times 10^8$, приблизительно $1,6 \times 10^8$, приблизительно $1,7 \times 10^8$, приблизительно $1,8 \times 10^8$, приблизительно $1,9 \times 10^8$ или приблизительно $2,0 \times 10^8$ CAR-положительных жизнеспособных Т-клеток.

[0081] Используемый в данном документе термин «лимфоцит» может включать естественные клетки-киллеры (NK), Т-клетки, NK-Т-клетки или В-клетки. NK-клетки представляют собой тип цитотоксических (токсичных для клеток) лимфоцитов, которые представляют собой основной компонент врожденной иммунной системы. NK-клетки отторгают опухоли и клетки, инфицированные вирусами, посредством процесса апоптоза или запрограммированной клеточной смерти. Их назвали «естественными киллерами», поскольку они не требуют активации для уничтожения клеток. Т-клетки играют важную роль в клеточноопосредованном иммунитете (без участия антител). Т-клеточные рецепторы (TCR) дифференцируются самостоятельно из других типов лимфоцитов. Тимус, специализированный орган иммунной системы, отвечает главным образом за созревание Т-клеток.

[0082] Существует несколько типов «иммунных клеток», в том числе, без ограничения, макрофаги (например, опухолеассоциированные макрофаги), нейтрофилы, базофилы, эозинофилы, гранулоциты, естественные клетки-киллеры (NK-клетки), В-клетки, Т-клетки, NK-Т-клетки, тучные клетки, опухолев-инфильтрирующие лимфоциты (TIL), миелоидные супрессорные клетки (MDSC) и дендритные клетки. Термин также включает предшественников этих иммунных клеток. Гематопозитические клетки и/или клетки-предшественники могут быть получены из костного мозга, крови пуповины, периферической крови взрослых после мобилизации цитокинов и т.п., с помощью способов, известных из уровня техники. Некоторые клетки-предшественники представляют собой клетки, которые могут дифференцироваться в лимфоидную линию, например, гематопозитические стволовые клетки или клетки-предшественники лимфоидной линии. Дополнительные примеры иммунных клеток, которые можно использовать для иммунной терапии, описаны в публикации США № 20180273601, включенной в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

[0083] Также существует несколько типов Т-клеток, а именно: Т-клетки-хэлперы (например, CD4⁺ клетки, эффекторные T_{EFF} клетки), цитотоксические Т-клетки (также известные как ТС, цитотоксический Т-лимфоцит, CTL, Т-киллерная клетка, цитолитическая Т-клетка, CD8⁺ Т-клетки или Т-клетка-киллер), Т-клетки памяти ((i) стволовые T_{SCM} клетки памяти, подобные наивным клеткам, представляют собой CD45RO⁻, CCR7⁺, CD45RA⁺, CD62L⁺ (L-селектин), CD27⁺, CD28⁺ и IL-7Rα⁺, но они также экспрессируют значительные количества CD95, IL-2Rβ, CXCR3 и LFA-1, и демонстрируют многочисленные функциональные особенности клеток памяти); (ii) центральные T_{CM} клетки памяти экспрессируют L-селектин и представляют собой CCR7⁺ и CD45RO⁺ и они секретируют IL-2, но не IFNγ или IL-4, и (iii) эффекторные T_{EM} клетки памяти, однако, они не экспрессируют L-селектин или CCR7, но экспрессируют CD45RO и продуцируют эффекторные цитокины, такие как IFNγ и IL-4), регуляторные Т-клетки (Treg, Т-клетки-супрессоры или CD4⁺CD25⁺ регуляторные Т-клетки), естественные Т-клетки-киллеры (NKT) и гамма-дельта Т-клетки. Т-клетки, встречающиеся в опухолях, называются «инфильтрирующими опухоль лимфоцитами» (TIL). В-клетки, с другой стороны, играют основную роль в гуморальном иммунитете (с участием антител). Они вырабатывают антитела и антигены, выполняют роль антигенпрезентирующих клеток (APC) и превращаются в В-клетки памяти после активации в результате взаимодействия с антигенами. У млекопитающих незрелые В-клетки образуются в костном мозге, откуда и произошло их название.

[0084] «Наивная» Т-клетка относится к зрелой Т-клетке, которая остается иммунологически недифференцированной. После положительного и отрицательного отбора в тимусе Т-клетки появляются в виде CD4⁺ или CD8⁺ наивных Т-клеток. В своем наивном состоянии Т-клетки экспрессируют L-селектин (CD62L⁺), рецептор IL-7-α (IL-7R-α) и CD132, но они не экспрессируют CD25, CD44, CD69 или CD45RO. В контексте данного документа термин «незрелый» также может относиться к Т-клетке, которая демонстрирует фенотип, характерный для наивных Т-клеток или незрелой Т-клетки, такой как T_{SCM} клетка или T_{CM}-клетка. Например, незрелая Т-клетка может экспрессировать одно или несколько из L-селектина (CD62L⁺), IL-7Rα, CD132, CCR7, CD45RA, CD45RO, CD27, CD28, CD95, IL-2Rβ, CXCR3 и LFA-1. Наивные или незрелые Т-клетки могут быть противопоставлены конечно дифференцированным эффекторным Т-клеткам, таким как T_{EM} клетки и T_{EFF} клетки.

[0085] «Т-клеточная функция», упоминаемая в данном документе, относится к нормальным характеристикам здоровых Т-клеток. Т-клеточная функция может включать пролиферацию Т-клеток, активность Т-клеток и/или цитолитическую активность. В одном варианте осуществления способы настоящей заявки получения Т-клеток при условиях определенного содержания кислорода и/или давления будут приводить к увеличению одной или нескольких Т-клеточных функций, за счет чего Т-клетки становятся более приспособленными и/или более эффективными для терапевтической цели. В некоторых вариантах осуществления Т-клетки, полученные в соответствии со способами настоящего изобретения, характеризуются повышенной Т-клеточной функцией по сравнению с теми, которые находятся в условиях отсутствия определенного содержания кислорода и/или давления. В других вариантах осуществления Т-клетки, полученные в соответствии со способами настоящего изобретения, будут характеризоваться повышенной пролиферацией Т-клеток по сравнению с Т-клетками, культивируемыми в условиях отсутствия определенного содержания кислорода и/или давления. В дополнительных вариантах осуществления Т-клетки, полученные в соответствии со способами настоящего изобретения, характеризуются повышенной активностью Т-клеток по сравнению с Т-клетками, культивируемыми в условиях отсутствия определенного содержания кислорода и/или давления. В дополнительных вариантах осуществления Т-клетки, полученные в соответствии со способами настоящего изобретения, характеризуются повышенной цитолитической активностью по сравнению с Т-клетками, культивируемыми в условиях отсутствия определенного содержания кислорода и/или давления.

[0086] Термины «пролиферация», «пролиферирующий» или т.п. относятся к способности клеток расти в количестве посредством клеточного деления. Пролиферация может быть измерена путем окрашивания клеток сложным эфиром карбоксифлуоресцеинсукцинимидила (CFSE). Пролиферация клеток может происходить *in vitro*, например, во время культивирования Т-клеток, или *in vivo*, например, после осуществления иммунной клеточной терапии (например, Т-клеточной терапии). Пролиферацию клеток можно измерить или определить способами, описанными в данном документе, или известными из уровня техники. Например, пролиферация клеток может быть измерена или определена с помощью плотности жизнеспособных клеток (VCD) или общего количества жизнеспособных клеток (TVC). VCD или TVC могут быть теоретическими (аликвоту или образец удаляют из культуры в определенный момент времени для определения количества клеток, затем количество клеток умножают на объем культуры в начале исследования), или фактическими (аликвоту или образец удаляют из культуры в определенный момент времени для определения количества клеток, затем количество клеток умножают на фактический объем культуры в определенный момент времени). Термин «активность Т-клеток» относится к любой активности, характерной для здоровых Т-клеток. В одном варианте осуществления активность Т-клеток включает продуцирование цитокинов (таких как $INF\gamma$, IL-2 и/или $TNF\alpha$). В другом варианте осуществления активность Т-клеток включает продуцирование одного или нескольких цитокинов, выбранных из интерферона гамма ($INF\gamma$ или $INF-\gamma$), фактора некроза опухоли альфа ($TNF\alpha$ или $INF\alpha$) и обоих. Термины «цитолитическая активность», «цитотоксичность» или т.п. относятся к способности Т-клетки разрушить клетку-мишень. В некоторых вариантах осуществления клетка-мишень представляет собой раковую клетку, например, опухолевую клетку. В другом варианте осуществления Т-клетка экспрессирует химерный антигенный рецептор (CAR) или Т-клеточный рецептор (TCR), а клетка-мишень экспрессирует целевой антиген.

[0087] Термин «генетически сконструированный», «редактирование генов» или «сконструированный» относится к способу модификации генома клетки, в том числе, без ограничения, делеции кодирующей или некодирующей области или ее части или вставке кодирующей области или ее части. В одном варианте осуществления клетка, которую модифицируют, представляет собой лимфоцит, например, Т-клетку, которая может быть получена от пациента или донора. Клетка может быть модифицирована для экспрессии экзогенной конструкции, такой как, например, химерного антигенного рецептора (CAR) или Т-клеточного рецептора (TCR), которые включают в геном клетки.

[0088] Термины «трансдукция» и «трансдуцированный» относятся к процессу, посредством которого чужеродная ДНК вводится в клетку посредством вирусного вектора (см. Jones et al., "Genetics: principles and analysis," Boston: Jones & Bartlett Publ. (1998)). В некоторых вариантах осуществления вектор представляет собой ретровирусный вектор, ДНК-вектор, РНК-вектор, аденовирусный вектор, бакуловирусный вектор, вектор на основе вируса Эпштейна-Барра, вектор на основе паповавируса, вектор на основе осповакцины, вектор на основе вируса простого герпеса, аденовирусный вектор, лентивирусный вектор или любую их комбинацию.

[0089] «Химерные антигенные рецепторы» (CAR или CAR-T) и Т-клеточные рецепторы (TCR) настоящей заявки являются генетически сконструированными рецепторами. Эти сконструированные рецепторы могут быть легко вставлены и экспрессированы иммунными клетками, в том числе Т-клетками, в соответствии с методиками, известными из уровня техники. В случае CAR один рецептор может быть запрограммирован как для распознавания конкретного антигена, так и для, в случае его связывания с этим антигеном, активации иммунной клетки для атаки и разрушения клетки, несущей или экспрессирующей этот антиген. Когда эти антигены существуют на опухолевых клетках, иммунная клетка, экспрессирующая CAR, может нацеливаться и уничтожать опухолевую клетку. В одном варианте осуществления клетка, полученная в соответствии с настоящей заявкой, представляет собой клетку, содержащую химерный антигенный рецептор (CAR) или Т-клеточный рецептор, содержащий антигенсвязывающую молекулу, костимулирующий домен и активирующий домен. Костимулирующий домен может содержать внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный домен. В одном варианте осуществления внеклеточный домен содержит шарнир или усеченный шарнирный домен.

[0090] «Иммунный ответ» относится к действию клетки иммунной системы (например, Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов, естественных клеток-киллеров (NK), макрофагов, эозинофилов, тучных клеток, дендритных клеток и нейтрофилов) и растворимых макромолекул, продуцируемых любой из этих клеток, или печенью (в том числе Ab, цитокинов и комплемента), которое приводит к избирательному нацеливанию, связыванию, повреждению, разрушению и/или устранению из организма позвоночного инвазивных патогенов, клеток или тканей, инфицированных патогенами, раковых или других аномальных клеток, или в случаях аутоиммунитета или патологического воспаления, нормальных клеток или тканей человека.

[0091] Термины «иммунотерапия», «иммунная терапия» или т.п. относятся к лечению субъекта, страдающего или подверженного риску развития заболевания или страдающего рецидивом заболевания, с помощью способа, включающего индуцирование, усиление, подавление или иным образом модификацию иммунного ответа. Примеры иммунотерапии включают, без ограничения, терапию Т-клетками и NK-клетками. Т-

клеточная терапия может включать адаптивную Т-клеточную терапию, иммунотерапию инфильтрирующими опухоль лимфоцитами (TIL), аутологичную клеточную терапию, модифицированную аутологичную клеточную терапию и аллогенную Т-клеточную трансплантацию. Специалисту в данной области техники будет понятно, что способы получения иммунных клеток, раскрытые в данном документе, будут повышать эффективность любой противоопухолевой терапии или терапии на основе трансплантированных Т-клеток. Примеры Т-клеточных видов терапии описаны в патентных публикациях США №№ 2014/0154228 и 2002/0006409; и патентах США №№ 7741465; 6319494; и 5728388; и публикации РСТ № WO 2008/081035, которые включены посредством ссылки в полном объеме.

[0092] Термин «терапия на основе сконструированных аутологичных клеток», который может быть сокращен до «eACT™», также известен как адаптивный клеточный перенос, представляет собой способ, посредством которого собирают собственные Т-клетки пациента, а затем генетически изменяют для распознавания и нацеливания на один или несколько антигенов, экспрессируемых на клеточной поверхности одной или нескольких специфических опухолевых клеток или злокачественных новообразований. Т-клетки могут быть сконструированы для экспрессии, например, химерных антигенных рецепторов (CAR) или Т-клеточного рецептора (TCR). CAR-положительные (+) Т-клетки сконструированы для экспрессии внеклеточного одноцепочечного варибельного фрагмента (scFv) со специфичностью к определенному опухолевому антигену, связанному с внутриклеточной сигнальной частью, содержащей костимулирующий домен и активирующий домен. Костимулирующий домен может представлять собой сигнальную область, полученную из, например, CD28, CTLA4, CD16, OX-40, 4-1BB/CD137, CD2, CD7, CD27, CD30, CD40, белка запрограммированной клеточной смерти-1 (PD-1), лиганда белка запрограммированной клеточной смерти-1 (PD-L1), индуцируемого Т-клеточного костимулятора (ICOS), ICOS-L, лимфоцитарного функционального антигена-1 (LFA-1 (CD1 la/CD18), CD3 гамма, CD3 дельта, CD3 эпсилон, CD247, CD276 (B7-H3), LIGHT (члена 14 суперсемейства фактора некроза опухоли; TNFSF14), NKG2C, Ig альфа (CD79a), DAP-10, Fc-гамма рецептора, молекулы МНС класса I, белков рецептора TNF, иммуноглобулин-подобных белков, цитокиновых рецепторов, интегринов, сигнальных молекул активации лимфоцитов (белков SLAM), активирующих рецепторов NK-клеток, BTLA, рецептора лиганда Toll, ICAM-1, B7-H3, CDS, ICAM-1, GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8, CD8 альфа, CD8 бета, IL2R бета, IL2R гамма, IL7R альфа, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD1 ld, ITGAE, CD103, ITGAL, CD1 la, LFA-1, ITGAM, CD1 lb, ITGAX, CD1 lc, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRT AM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, лиганда, который специфически связывается с CD83 или любой их комбинации. Активирующий домен может быть получен из, например, CD3, такого как CD3 дзета, эпсилон, дельта, гамма или т.п. В одном варианте осуществления CAR разработан так, чтобы содержать два, три, четыре или более костимулирующих доменов. CAR ScFv может быть разработан с возможностью нацеливания, например, на CD19, который представляет собой трансмембранный белок, экспрессируемый клетками В-клеточной линии, в том числе всех нормальных В-клеток и злокачественных В-

клеток, в том числе, без ограничения, НХЛ, ХЛЛ и отличного от Т-клеточного ОЛЛ. Примеры видов терапии и конструкций на основе CAR+ Т-клеток описаны в патентных публикациях США №№ 2013/0287748, 2014/0227237, 2014/0099309 и 2014/0050708, которые включены в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

[0093] В контексте данного документа термин «костимулирующий сигнал» относится к сигналу, который в комбинации с первичным сигналом, таким как лигирование TCR/CD3, приводит к Т-клеточной реакции, такой как, без ограничения, пролиферация и/или повышение экспрессии или снижение экспрессии ключевых молекул.

[0094] В контексте данного документа термин «костимулирующий лиганд» включает молекулу на антигенпрезентирующей клетке, которая специфически связывается с когнатной костимулирующей молекулой на Т-клетке. Связывание костимулирующего лиганда обеспечивает сигнал, который опосредует Т-клеточный ответ, включая, без ограничения, пролиферацию, активацию, дифференцировку и т.п. Костимулирующий лиганд индуцирует сигнал, дополнительный к первичному сигналу, обеспечиваемому стимулирующей молекулой, например, путем связывания комплекса Т-клеточного рецептора (TCR)/CD3 с молекулой главного комплекса гистосовместимости (МНС), нагруженной пептидом. Костимулирующий лиганд может включать, без ограничения, лиганд 3/TR6, лиганд 4-1BB, агонист или антитело, которые связываются с рецептором лиганда Toll, B7-1 (CD80), B7-2 (CD86), лиганд CD30, CD40, CD7, CD70, CD83, медиатор проникновения вируса герпеса (HVEM), человеческий лейкоцитарный антиген G (HLA-G), ILT4, иммуноглобулин-подобный транскрипт (ILT) 3, индуцируемый костимулирующий лиганд (ICOS-L), молекулу межклеточной адгезии (ICAM), лиганд, который специфически связывается с B7-H3, бета-рецептор лимфотоксина, белок А, связанный с цепью МНС класса I (MICA), белок В, связанный с цепью МНС класса I (MICB), лиганд OX40, PD-L2 или L1 белка запрограммированной клеточной смерти (PD). Костимулирующий лиганд включает, без ограничения, антитело, которое специфически связывается с костимулирующей молекулой, присутствующей на Т-клетке, такой как, без ограничения, 4-1BB, B7-H3, CD2, CD27, CD28, CD30, CD40, CD7, ICOS, лиганд, которое специфически связывается с CD83, лимфоцитарный функциональный антиген-1 (LF1), рецептор естественных клеток-киллеров С (NKG2C), OX40, PD-1 или члена 14 суперсемейства фактора некроза опухоли (TNFSF14 или LIGHT).

[0095] «Костимулирующая молекула» представляет собой когнатного партнера по связыванию на Т-клетке, который специфически связывается с костимулирующим лигандом, тем самым опосредуя костимулирующий ответ Т-клеткой, такой как, без ограничения, пролиферация. Костимулирующие молекулы включают, без ограничения, «костимулирующую молекулу», которая представляет собой когнатного партнера по связыванию на Т-клетке, который специфически связывается с костимулирующим лигандом, тем самым опосредуя костимулирующий ответ Т-клеткой, такой как, без ограничения, пролиферация. Костимулирующие молекулы включают, без ограничения, 4-1BB/CD137, B7-H3, BAFFR, BLAME (SLAMF8), BTLA, CD 33, CD 45, CD100 (SEMA4D), CD103, CD134, CD137, CD154, CD16, CD160 (BY55), CD18, CD19, CD19a, CD2, CD22, CD247, CD27, CD276 (B7-H3), CD28, CD29, CD3 (альфа; бета; дельта; эпсилон; гамма; дзета), CD30, CD37, CD4, CD4, CD40, CD49a, CD49D, CD49f, CD5, CD64, CD69, CD7, CD80, лиганд CD83, CD84, CD86, CD8 альфа, CD8 бета, CD9, CD96 (Tactile), CD1-1a, CD1-1b, CD1-1c, CD1-1d, CDS, CEACAM1, CRT AM, DAP-10, DNAM1 (CD226), Fc-гамма-рецептор, GADS, GITR, HVEM (LIGHTR), IA4, ICAM-1, ICAM-1, ICOS, Ig альфа (CD79a), IL2R бета, IL2R гамма,

IL7R альфа, интегрин, ITGA4, ITGA4, ITGA6, ITGAD, ITGAE, ITGAL, ITGAM, ITGAX, ITGB2, ITGB7, ITGB1, KIRDS2, LAT, LFA-1, LFA-1, LIGHT, LIGHT (член 14 суперсемейства фактора некроза опухоли, TNFSF14), LTBR, Ly9 (CD229), лимфоцитарный функциональный антиген-1 (LFA-1 (CD11a/CD18), молекулу MHC класса I, NKG2C, NKG2D, NKp30, NKp44, NKp46, NKp80 (KLRF1), OX40, PAG/Cbp, PD-1, PSGL1, SELPLG (CD162), сигнальную молекулу активации лимфоцитов, SLAM (SLAMF1; CD150; IPO-3), SLAMF4 (CD244; 2B4), SLAMF6 (NTB-A; Ly108), SLAMF7, SLP-76, TNF, TNFr, TNFR2, рецептора лиганда Toll, TRANCE/RANKL, VLA1 или VLA-6 или их фрагментов, усечений или комбинаций.

[0096] В некоторых аспектах клетки настоящей заявки могут быть получены посредством Т-клеток, полученных от субъекта. В одном аспекте Т-клетки могут быть получены, например, из мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC), костного мозга, ткани лимфатического узла, крови пуповины, ткани тимуса, ткани из очага инфекции, асцитов, плеврального выпота, ткани селезенки и опухолей. Кроме того, Т-клетки могут быть получены из одной или нескольких Т-клеточных линий, доступных из уровня техники. Т-клетки также могут быть получены из единицы крови, собранной у субъекта, с использованием любого количества методик, известных специалисту в данной области техники, таких как разделение с помощью FICOLL™ и/или аферез. В некоторых аспектах клетки, собранные с помощью афереза, промывают для удаления фракции плазмы крови и помещают в соответствующий буфер или среду для последующей обработки. В некоторых аспектах клетки промывают любым раствором (например, раствором с нейтральным pH или PBS) или средой для культивирования. Как будет понятно, стадия промывки может быть использована, например, с помощью полуавтоматизированного потока через центрифугу, например, клеточный процессор 2991 Cobe™, Baxter CytoMate™ или т.п. В некоторых аспектах промытые клетки ресуспендируют в одном или нескольких биосовместимых буферах или другом физиологическом растворе с буфером или без него. В некоторых аспектах нежелательные компоненты из образца афереза удаляют. Дополнительные способы выделения Т-клеток для Т-клеточной терапии описаны в патентной публикации США № 2013/0287748, которая включена в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

[0097] В некоторых вариантах осуществления Т-клетки выделяют из PBMC путем лизирования эритроцитов и деплеции моноцитов, например, путем центрифугирования в градиенте PERCOLL™. В некоторых вариантах осуществления специфическую субпопуляцию Т-клеток, таких как CD4+, CD8+, CD28+, CD45RA+ и CD45RO+ Т-клетки, дополнительно выделяют с помощью методик положительного или отрицательного отбора, известных из уровня техники. Например, обогащение популяции Т-клеток путем отрицательного отбора может быть достигнуто комбинацией антител, направленных на поверхностные маркеры, уникальные для отрицательно отобранных клеток. В некоторых вариантах осуществления можно использовать сортировку и/или отбор клеток посредством отрицательной магнитной иммуноадгезии или проточной цитометрии, в которой используется коктейль моноклональных антител, направленных на маркеры клеточной поверхности, присутствующие на отобранных с помощью отрицательного отбора клетках. Например, для обогащения CD4+ клеток с помощью отрицательного отбора коктейль моноклональных антител обычно включает антитела к CD8, CD11b, CD14, CD16, CD20 и HLA-DR. В некоторых вариантах осуществления проточная цитометрия и сортировка клеток

используются для выделения клеточных популяций, представляющих интерес, для применения в настоящем изобретении.

[0098] В одном варианте осуществления CD3⁺ Т-клетки выделяют из PBMC с использованием Dynabeads, покрытых антителом к CD3. CD8⁺ и CD4⁺ Т-клетки дополнительно отдельно выделяют путем положительного отбора с использованием CD8 микрогранул (например, Miltenyi Biotec) или CD4 микрогранул (например, Miltenyi Biotec).

[0099] В некоторых вариантах осуществления PBMC используют непосредственно для генетической модификации иммунных клеток (таких как CAR) с помощью способов, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления после выделения PBMC Т-лимфоциты дополнительно выделяют, и сортируют как цитотоксические Т-лимфоциты, так и Т-лимфоциты-хелперы в субпопуляции наивных Т-клеток, Т-клеток памяти и эффекторных Т-клеток либо до, либо после генетической модификации и/или экспансии.

[0100] Одна или несколько иммунных клеток, описанных в данном документе, могут быть получены из любого источника, включая, например, донора-человека. Донор может представлять собой субъекта, нуждающегося в противоопухолевом лечении, *например*, лечении определенными иммунными клетками, образованными способами, описанными в данном документе (т.е. аутологичного донора), или может представлять собой индивидуума, который дает образец лимфоцитов, который при получении популяции клеток, образованных способами, описанными в данном документе, будет использоваться для лечения другого пациента или пациента, больного раком (т.е. аллогенного донора). Иммунные клетки могут быть дифференцированы *in vitro* из популяции гематопозитических стволовых клеток или иммунные клетки могут быть получены от донора. Популяция иммунных клеток может быть получена от донора любым подходящим способом, используемым в данной области техники. Например, популяция лимфоцитов может быть получена любым подходящим экстракорпоральным способом, венипунктурой или другим способом сбора крови, с помощью которого получают образец крови с лимфоцитами или без них. Популяцию лимфоцитов получают с помощью афереза. Одна или несколько иммунных клеток могут быть собраны из любой ткани, которая содержит одну или несколько иммунных клеток, включая, без ограничения, опухоль. Опухоль или ее часть собирают у субъекта, а одну или несколько иммунных клеток выделяют из опухолевой ткани. Любая Т-клетка может быть использована в способах, описанных в данном документе, включая любые иммунные клетки, подходящие для Т-клеточной терапии. Например, одна или несколько клеток, пригодных для применения, могут быть выбраны из группы, состоящей из опухолеинфильтрирующих лимфоцитов (TIL), цитотоксических Т-клеток, CAR-Т-клеток, сконструированных TCR Т-клеток, естественных Т-клеток-киллеров, дендритных клеток и лимфоцитов периферической крови. Т-клетки могут быть получены, например, из мононуклеарных клеток периферической крови, костного мозга, ткани лимфатического узла, крови пуповины, ткани тимуса, ткани из очага инфекции, асцитов, плеврального выпота, ткани селезенки и опухолей. Кроме того, Т-клетки могут быть получены из одной или нескольких Т-клеточных линий, доступных из уровня техники. Т-клетки также могут быть получены из единицы крови, собранной у субъекта, с использованием любого количества методик, известных специалисту в данной области техники, таких как разделение с помощью FICOLL™ и/или аферез. Т-клетки также могут быть получены из системы культивирования клеток на основе искусственного органоида тимуса (АТО), которая воспроизводит среду тимуса

человека для поддержания эффективной дифференцировки Т-клеток *ex vivo* из первичных и перепрограммированных плюрипотентных стволовых клеток. Дополнительные способы выделения Т-клеток для Т-клеточной терапии описаны в патентной публикации США № 2013/0287748, в публикациях РСТ №№ WO 2015/120096 и WO 2017/070395, все из которых включены в данный документ посредством ссылки в полном объеме для целей описания этих способов и в полном объеме. В одном варианте осуществления Т-клетки представляют собой опухоль-инфильтрирующие лейкоциты. В определенном варианте осуществления одна или несколько Т-клеток экспрессируют CD8, *например*, представляют собой CD8⁺ Т-клетки. В другом варианте осуществления одна или несколько Т-клеток экспрессируют CD4, *например*, представляют собой CD4⁺ Т-клетки. Дополнительные способы выделения Т-клеток для Т-клеточной терапии описаны в патентной публикации США № 2013/0287748, в публикациях РСТ №№ WO 2015/120096 и WO 2017/070395, все из которых включены в данный документ посредством ссылки в полном объеме для целей описания этих способов и в полном объеме.

[0101] Иммуные клетки и их клетки-предшественники могут быть выделены доступными способами (см., например, Rowland-Jones et al., *Lymphocytes: A Practical Approach*, Oxford University Press, New York (1999)). Источники иммунных клеток или их клеток-предшественников включают в себя, без ограничения, периферическую кровь, кровь пуповины, костный мозг или другие источники гематопозитических клеток. Отрицательные способы отбора можно использовать для удаления клеток, которые не являются требуемыми иммунными клетками. Кроме того, с помощью способов положительного отбора можно выделять или обогащать требуемые иммунные клетки или их клетки-предшественники, или можно использовать комбинацию способов положительного и отрицательного отбора. Моноклональные антитела (MAb) пригодны для идентификации маркеров, ассоциированных с определенными клеточными линиями и/или стадиями дифференцировки как для положительных, так и отрицательных вариантов отбора. Если необходимо выделить определенный тип клетки, например, определенный тип Т-клетки, различные маркеры клеточной поверхности или комбинации маркеров, включая, без ограничения, CD3, CD4, CD8, CD34 (для гематопозитических стволовых клеток и клеток-предшественников) и т.п., можно использовать для отделения клеток, как хорошо известно из уровня техники (см. Kearse, *T Cell Protocols: Development and Activation*, Humana Press, Totowa N.J. (2000); De Libero, *T Cell Protocols*, Vol. 514 of *Methods in Molecular Biology*, Humana Press, Totowa N.J. (2009)).

[0102] РВМС могут быть использованы непосредственно для генетической модификации с иммунными клетками (такими как CAR). После выделения РВМС Т-лимфоциты дополнительно выделяют и сортируют как цитотоксические Т-лимфоциты, так и Т-лимфоциты-хелперы в субпопуляции наивных Т- Т-клеток памяти и эффекторных Т-клеток либо до, либо после генетической модификации и/или экспансии. В одном варианте осуществления CD8⁺ клетки могут быть дополнительно отсортированы в наивные клетки, центральные клетки памяти и эффекторные клетки путем идентификации антигенов клеточной поверхности, которые ассоциированы с каждым из этих типов CD8⁺ клеток. В другом варианте осуществления экспрессия фенотипических маркеров центральных Т-клеток памяти включает CCR7, CD3, CD28, CD45RO, CD62L и CD127 и они являются отрицательными по гранзиму В. В некоторых вариантах осуществления центральные Т-клетки памяти представляют собой CD8⁺, CD45RO⁺ и CD62L⁺ Т-клетки. В определенном варианте осуществления эффекторные Т-клетки являются отрицательными в отношении CCR7, CD28, CD62L и CD127 и положительными в отношении

гранзима В и перфорина. В дополнительном варианте осуществления CD4+ Т-клетки могут быть дополнительно отсортированы в субпопуляции. Например, CD4+ Т-клетки-хэлперы могут быть отсортированы в наивные клетки, центральные клетки памяти и эффекторные клетки путем идентификации клеточных популяций, которые содержат антигены клеточной поверхности.

[0103] Способы, описанные в данном документе, дополнительно включают обогащение или получение популяции иммунных клеток, полученных от донора, между сбором от донора и воздействием на одну или несколько клеток, полученных от субъекта-донора. Обогащение популяции иммунных клеток, *например*, одной или нескольких Т-клеток, могут быть выполнены любым подходящим способом разделения, включая, без ограничения, использование разделительной среды (например, FICOLL-PAQUE™, коктейль для обогащения лимфоцитов со всеми типами HLA ROSETTESEP™, среда для разделения лимфоцитов (LSA) (MP Biomedical, кат. №. 0850494X) или т.п.), разделение на основе размера формы или плотности клеток путем фильтрации или элюирования, иммуномагнитное разделение (например, система сортировки клеток с магнитной активацией, mACS), флуоресцентное разделение (например, система сортировки клеток, активируемая флуоресценцией, FACS) или разделение на колонке на основе гранул.

[0104] В одном варианте осуществления Т-клетки получают от субъекта-донора. В другом варианте осуществления субъект-донор представляет собой пациента-человека, страдающего раком или опухолью. В дополнительном варианте осуществления субъект-донор представляет собой пациента-человека, не страдающего раком или опухолью. В настоящей заявке также представлена композиция или состав, которые содержат фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель, солюбилизатор, эмульгатор, консервант и/или адъювант. В определенном варианте осуществления композиция или состав содержат наполнитель. Термины «композиция» и «состав» используются в данном документе взаимозаменяемо. Термины «композиция», «терапевтическая композиция», «терапевтически эффективная композиция», «фармацевтическая композиция», «фармацевтически эффективная композиция» и «фармацевтически приемлемая композиция» используются в данном документе взаимозаменяемо. Композиция может быть выбрана для парентеральной доставки, ингаляции или доставки через пищеварительный тракт, например, перорально. Композиция может быть получена известными способами специалистом в данной области техники. Буферы используют для поддержания композиции при физиологическом значении рН или при немного более низком значении рН, обычно в диапазоне значений рН от приблизительно 5 до приблизительно 8. При рассмотрении парентерального введения композиция находится в форме, содержащей апиогенный, парентерально приемлемый водный раствор, содержащий композицию, описанную в данном документе, с дополнительными терапевтическими средствами или без них, в фармацевтически приемлемом носителе. В качестве примера, носитель для парентеральной инъекции представляет собой стерильную дистиллированную воду, в которой композиция, описанная в данном документе, с по меньшей мере одним дополнительным терапевтическим средством или без него, составлена в виде стерильного изотонического раствора, хранящегося соответствующим образом. Приготовление включает композицию требуемого средства с полимерными соединениями (такими как полимолочная кислота или полигликолевая кислота), гранулы или липосомы, которые обеспечивают контролируемое или замедленное высвобождение продукта, которые затем доставляются посредством депо-инъекции. Кроме того,

имплантируемые устройства для доставки лекарственных средств могут быть использованы для введения требуемого терапевтического средства.

[0105] В некоторых вариантах осуществления Т-клетки донора для применения в Т-клеточной терапии получают от пациента (например, для аутологичной Т-клеточной терапии). В других вариантах осуществления Т-клетки донора для применения в Т-клеточной терапии получают от субъекта, который не является пациентом. Т-клетки можно вводить в терапевтически эффективном количестве. Например, терапевтически эффективное количество Т-клеток может составлять по меньшей мере приблизительно 10^4 клеток, по меньшей мере приблизительно 10^5 клеток, по меньшей мере приблизительно 10^6 клеток, по меньшей мере приблизительно 10^7 клеток, по меньшей мере приблизительно 10^8 клеток, по меньшей мере приблизительно 10^9 клеток или по меньшей мере приблизительно 10^{10} клеток. В другом варианте осуществления терапевтически эффективное количество Т-клеток составляет приблизительно 10^4 клеток, приблизительно 10^5 клеток, приблизительно 10^6 клеток, приблизительно 10^7 клеток или приблизительно 10^8 клеток. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество CAR Т-клеток составляет приблизительно 2×10^6 клеток/кг, приблизительно 3×10^6 клеток/кг, приблизительно 4×10^6 клеток/кг, приблизительно 5×10^6 клеток/кг, приблизительно 6×10^6 клеток/кг, приблизительно 7×10^6 клеток/кг, приблизительно 8×10^6 клеток/кг, приблизительно 9×10^6 клеток/кг, приблизительно 1×10^7 клеток/кг, приблизительно 2×10^7 клеток/кг, приблизительно 3×10^7 клеток/кг, приблизительно 4×10^7 клеток/кг, приблизительно 5×10^7 клеток/кг, приблизительно 6×10^7 клеток/кг, приблизительно 7×10^7 клеток/кг, приблизительно 8×10^7 клеток/кг или приблизительно 9×10^7 клеток/кг. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество CAR-положительных жизнеспособных Т-клеток составляет от приблизительно 1×10^6 до приблизительно 2×10^6 CAR-положительных жизнеспособных Т-клеток на кг массы тела до максимальной дозы приблизительно 1×10^8 CAR-положительных жизнеспособных Т-клеток.

[0106] В контексте данного документа «пациент» включает любого человека, который страдает заболеванием или нарушением, включая рак (например, лимфому или лейкоз). Термины «субъект» и «пациент» используются в данном документе взаимозаменяемо. Термин «субъект-донор» относится в данном документе к субъекту, клетки которого получают для дополнительного *in vitro* конструирования. Субъект-донор может представлять собой пациента, больного раком, который подлежит лечению популяцией клеток, образованных способами, описанными в данном документе (т.е. аутологичного донора), или может представлять собой индивидуума, который дает образец лимфоцитов при получении популяции клеток, образованных способами, описанными в данном документе, будет использоваться для лечения другого пациента или пациента, больного раком (т.е. аллогенного донора). Те субъекты, которые получают клетки, полученные с помощью способов настоящего документа, могут обозначаться «субъектом-реципиентом».

[0107] Термины «стимуляция», «стимулирование» или т.п. относятся к первичному ответу, индуцированному связыванием стимулирующей молекулы с ее когнатным лигандом, при этом связывание опосредует явление трансдукции сигнала. «Стимулирующая молекула» представляет собой молекулу на Т-клетке, например, комплекс Т-клеточного рецептора (TCR)/CD3, который специфически связывается с когнатным стимулирующим лигандом, присутствующим на антигенпрезентирующей клетке. «Стимулирующий лиганд»

представляет собой лиганд, который при присутствии на антигенпрезентирующей клетке (например, искусственной антигенпрезентирующей клетке (aAPC), дендритной клетке, В-клетке и т.п.) может специфически связываться со стимулирующей молекулой на Т-клетке, за счет чего опосредуется первичный ответ Т-клеткой, включая, без ограничения, активацию, инициацию иммунного ответа, пролиферацию и т.п. Стимулирующие лиганды включают, без ограничения, молекулу МНС класса I, нагруженную пептидом, антителом к CD3, суперагонистическим антителом к CD28 и суперагонистическим антителом к CD2. В контексте настоящего документа термин «активированный» или «активный» относится к Т-клетке, которая была стимулирована. Активная Т-клетка может быть охарактеризована экспрессией одного или нескольких маркеров, выбранных из CD137, CD25, CD71, CD26, CD27, CD28, CD30, CD154, CD40L и CD134.

[0108] Термин «экзогенные активирующие материалы» относится к любому активирующему веществу, полученному из внешнего источника. Например, экзогенное антитело к CD3, антитело к CD28, IL-2, экзогенный IL-7 или экзогенный IL-15 могут быть получены коммерчески или получены рекомбинантно. «Экзогенный IL-2», «экзогенный IL-7» или «экзогенный IL-15» при добавлении в одну или несколько Т-клеток или приведении в контакт с ними указывает на то, что такой IL-2, IL-7 и/или IL-15 не продуцируются Т-клетками. Т-клетки перед смешиванием с «экзогенным» IL-2, IL-7 или IL-15 могут содержать следовое количество, которое получали с помощью Т-клеток или выделяли от субъекта с Т-клетками (т.е. эндогенный «экзогенный» IL-2, IL-7 или IL-15). Одна или несколько Т-клеток, описанных в данном документе, могут быть приведены в контакт с экзогенным антителом к CD3, антителом к CD28, «экзогенным» IL-2, IL-7 и/или IL-15 посредством любых известных из уровня техники способов, включая добавление выделенного «экзогенного» IL-2, IL-7 и/или IL-15 к культуре, включение антитела к CD3, антитела к CD28, «экзогенного» IL-2, IL-7 и/или IL-15 в культуральную среду или экспрессию «экзогенного» IL-2, IL-7 и/или IL-15 одной или несколькими клетками в культуре, отличными от одной или нескольких Т-клеток, такой как слой питающих клеток.

[0109] В контексте данного документа термин «*in vitro* клетка» относится к любой клетке, которая культивируется *ex vivo*. В одном варианте осуществления *in vitro* клетка включает Т-клетку.

[0110] Термин «стойкость» относится к способности, например, одной или нескольких трансплантированных иммунных клеток, вводимых субъекту, или их потомков (например, дифференцированных или зрелых Т-клеток), оставаться в организме субъекта на обнаружимом уровне в течение определенного периода времени. В контексте данного документа повышение устойчивости одной или нескольких трансплантированных иммунных клеток или их потомков (например, дифференцированных или зрелых Т-клеток) относится к увеличению количества времени, когда трансплантированные иммунные клетки обнаруживаются у субъекта после введения. Например, *in vivo* устойчивость одной или нескольких трансплантированных иммунных клеток может быть увеличена на по меньшей мере приблизительно 1 день, по меньшей мере приблизительно 2 дня, по меньшей мере приблизительно 3 дня, по меньшей мере приблизительно 4 дня, по меньшей мере приблизительно 5 дней, по меньшей мере приблизительно 6 дней, по меньшей мере приблизительно 7 дней, по меньшей мере приблизительно 8 дней, по меньшей мере приблизительно 9 дней, по меньшей мере приблизительно 10 дней, по меньшей мере приблизительно 11 дней, по меньшей мере приблизительно 12 дней, по меньшей мере приблизительно 13 дней, по меньшей мере приблизительно 14 дней, по меньшей мере приблизительно 3 недели,

по меньшей мере приблизительно 4 недели, по меньшей мере приблизительно 1 месяц, по меньшей мере приблизительно 2 месяца, по меньшей мере приблизительно 3 месяца, по меньшей мере приблизительно 4 месяца, по меньшей мере приблизительно 5 месяцев или по меньшей мере приблизительно 6 месяцев. Кроме того, *in vivo* устойчивость одной или нескольких трансплантированных иммунных клеток может быть увеличена по меньшей мере приблизительно в 1,5 раза, по меньшей мере приблизительно в 2 раза, по меньшей мере приблизительно в 2,5 раза, по меньшей мере приблизительно в 3 раза, по меньшей мере приблизительно в 3,5 раза, по меньшей мере приблизительно в 4 раза, по меньшей мере приблизительно в 4,5 раза, по меньшей мере приблизительно в 5 раз, по меньшей мере приблизительно в 6 раз, по меньшей мере приблизительно в 7 раз, по меньшей мере приблизительно в 8 раз, по меньшей мере приблизительно в 9 раз или по меньшей мере приблизительно в 10 раз по сравнению с одной или несколькими трансплантированными иммунными клетками, которые не были получены с помощью способов настоящего изобретения, раскрытых в данном документе.

[0111] Термины «уменьшение» и «снижение» используются в данном документе взаимозаменяемо и указывают любое изменение, которое меньше исходного значения. «Уменьшение» и «снижение» являются относительными терминами, требующими сравнения между состояниями до и после измерения. «Уменьшение» и «снижение» включает полные деплеции. В контексте данного документа термин «модулирование» созревания Т-клеток относится к применению любого вмешательства, описанного в данном документе, для контроля созревания и/или дифференцировки одной или нескольких клеток, таких как Т-клетки. Например, модулирование относится к инактивации, задержке или ингибированию созревания Т-клеток. В другом примере модулирование относится к ускорению или стимуляции созревания Т-клеток. Термин «задержка или ингибирование созревания Т-клеток» относится к поддержанию одной или нескольких Т-клеток в незрелом или недифференцированном состоянии. Например, «задержка или ингибирование созревания Т-клетки» может относиться к поддержанию Т-клеток в наивном состоянии или состоянии T_{CM} , в отличие от прогрессирования к состоянию T_{EM} или T_{EFF} . Кроме того, «задержка или ингибирование созревания Т-клетки» может относиться к увеличению или обогащению общего процентного содержания незрелых или недифференцированных Т-клеток (*например*, наивных Т-клеток и/или T_{CM} -клеток) в смешанной популяции Т-клеток. Состояние Т-клетки (например, как зрелой или незрелой) можно определить, например, путем скрининга экспрессии различных генов и наличия различных белков, экспрессируемых на поверхности Т-клеток. Например, присутствие одного или нескольких маркеров, выбранных из группы, состоящей из L-селектина (CD62L+), IL-7R- α , CD132, CR7, CD45RA, CD45RO, CD27, CD28, CD95, IL-2R β , CXCR3, LFA-1 и любой их комбинации, может указывать на менее зрелые недифференцированные Т-клетки.

[0112] «Лечение» или «осуществление лечения» субъекта/пациента относится к любому типу вмешательства или процессу, выполняемому в отношении, или введению одной или нескольких Т-клеток, полученных с помощью настоящей заявки, субъекту/пациенту с целью обращения, облегчения, нормализации, ингибирования, замедления или предупреждения возникновения, прогрессирования, развития, тяжести или повторного проявления симптома, осложнения или состояния, или биохимических показателей, ассоциированных с заболеванием. В одном аспекте «лечение» или «осуществление лечения» включает частичную ремиссию. В другом аспекте «лечение» или «осуществление лечения» включает полную ремиссию.

[0113] Различные аспекты применения более подробно описаны в следующих разделах.

[0114] Пациенты со злокачественными В-клеточными новообразованиями, несущими высокие уровни циркулирующих CD19-экспрессирующих опухолевых клеток, представляют собой популяцию с очень высокой неудовлетворенной потребностью. Например, мантийноклеточная лимфома (МКЛ) представляет собой проблему для лечения в рецидивирующей или рефрактерной форме и остается неизлечимой. Для второй и более высокой линии химиотерапии стандарт лечения отсутствует. Варианты лечения включают цитотоксическую химиотерапию, ингибиторы протеасом, иммуномодулирующие лекарственные средства, ингибиторы тирозинкиназы и трансплантацию стволовых клеток (как аутологичную [ASCT], так и аллогенную трансплантацию стволовых клеток [алло-SCT]). Выбор схемы лечения зависит от предшествующей терапии, сопутствующих заболеваний и чувствительно к химиотерапии. Несмотря на высокие начальные уровни ответа, наблюдаемые в случае ингибитора тирозинкиназы Брутона (ингибиторы ВТК), у большинства пациентов в конечном итоге будет развиваться прогрессирующее заболевание. Необходимы новые терапевтические стратегии для улучшения прогноза заболевания у пациентов с р/р МКЛ, заболевание которых не подлежало эффективному лечению химиотерапией, трансплантацией стволовых клеток и ингибиторами ВТК.

[0115] Средство терапии на основе Т-клеток с CAR к CD19 или продукт, используемый в Т-клетках с CAR к CD19, можно производить из собственных Т-клеток пациента посредством лейкафереза, подходящего для злокачественных В-клеточных новообразований, с циркулирующей опухолевой клеточной нагрузкой для сведения к минимуму опухолевых клеток, экспрессирующих CD19, в конечном продукте. Т-клетки из собранных лейкоцитов из продукта лейкафереза могут быть обогащены путем отбора CD4+/CD8+ Т-клеток, активированных антителами к CD3 и антителами к CD28, и/или трансдуцированы вирусным вектором, содержащим ген CAR к CD19. Более подробная информация о способе может быть найдена в PCT/US 2015/014520, опубликованной в виде WO 2015/120096, и в PCT/US 2016/057983, опубликованной в виде WO 2017/070395. В одном варианте осуществления клетки не обрабатывают ингибиторами АКТ, IL-7 и IL-15. Эти сконструированные Т-клетки можно размножать для получения достаточного количества клеток для достижения терапевтического эффекта. Такой процесс удаляет CD19-экспрессирующие злокачественные и нормальные В-клетки, что может снижать активацию, экспансию и истощение Т-клеток с CAR к CD19.

[0116] Активация, трансдукция и/или экспансия иммунных клеток могут быть проведены в любое подходящее время, которое позволяет получать (i) достаточное количество клеток в популяции сконструированных иммунных клеток для по меньшей мере одной дозы для введения пациенту, (ii) популяцию сконструированных иммунных клеток с благоприятной долей ювенильных клеток по сравнению с типичным более длительным процессом, или (iii) как (i), так и (ii). Подходящее время может влиять на несколько параметров, включая популяцию одной или нескольких клеток, рецептор клеточной поверхности, экспрессируемый иммунными клетками, используемый вектор, дозу, необходимую для обеспечения терапевтического эффекта, и/или другие переменные. Время активации может составлять 0 дней, 1 день, 2 дня, 3 дня, 4 дня, 5 дней, 6 дней, 7 дней, 8 дней, 9 дней, 10 дней, 11 дней, 12 дней, 13 дней, 14 дней, 15 дней, 16 дней, 17 дней, 18 дней, 19 дней, 20 дней, 21 день или более 21 дня. Время активации в соответствии со способом настоящей заявки будет уменьшено по сравнению со способами экспансии, известными из уровня техники. Например, время активации может быть меньше на по меньшей мере 5%, по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей

мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75% или может быть меньше на более чем 75%. Кроме того, время экспансии может составлять 0 дней, 1 день, 2 дня, 3 дня, 4 дня, 5 дней, 6 дней, 7 дней, 8 дней, 9 дней, 10 дней, 11 дней, 12 дней, 13 дней, 14 дней, 15 дней, 16 дней, 17 дней, 18 дней, 19 дней, 20 дней, 21 день или более 21 дня. Время экспансии в соответствии со способом настоящей заявки будет уменьшено по сравнению со способами экспансии, известными из уровня техники. Например, время экспансии может быть меньше на по меньшей мере 5%, по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75% или может быть меньше на более чем 75%. В одном варианте осуществления время экспансии клеток составляет приблизительно 3 дня, и время от обогащения популяции клеток до получения сконструированных иммунных клеток составляет приблизительно 6 дней.

[0117] Задержка или ингибирование созревания или дифференцировки одной или нескольких Т-клеток или DC клеток может быть измерена любыми способами, известными из уровня техники. Например, задержка или ингибирование созревания или дифференцировки одной или нескольких Т-клеток или DC клеток могут быть измерены путем обнаружения наличия одного из биомаркеров. Присутствие одного или нескольких биомаркеров может быть обнаружено любым способом, известным из уровня техники, включая, без ограничения, иммуногистохимический анализ и/или сортировку клеток, активируемую флуоресценцией (FACS). Один или несколько биомаркеров выбраны из группы, состоящей из L-селектина (CD62L⁺), IL-7R α , CD132, CCR7, CD45RA, CD45RO, CD27, CD28, CD95, IL-2R β , CXCR3, LFA-1 или любой их комбинации. В определенных аспектах задержка или ингибирование созревания или дифференцировки одной или нескольких Т-клеток или DC клеток могут быть измерены путем обнаружения наличия одного или нескольких из L-селектина (CD62L⁺), IL-7R α и CD132. Специалисту в данной области будет понятно, что, хотя способы настоящего изобретения могут увеличивать относительную долю незрелых и недифференцированных Т-клеток или DC клеток в популяции собранных клеток, некоторые зрелые и дифференцированные клетки все еще могут присутствовать. В результате задержка или ингибирование созревания или дифференцировки одной или нескольких Т-клеток или DC клеток можно измерить путем вычисления общего процента незрелых и недифференцированных клеток в популяции клеток до и после воздействия на одну или несколько клеток, полученных от субъекта-донора, условиям гипоксического культивирования с давлением выше атмосферного давления или без этого. Способы, раскрытые в данном документе, могут увеличивать процентное содержание незрелых и недифференцированных Т-клеток в популяции Т-клеток.

[0118] Способы, описанные в данном документе, дополнительно включают стимуляцию популяции клеток, таких как лимфоциты, одним или несколькими средствами, стимулирующими Т-клетки, для получения популяции активированных Т-клеток в подходящем состоянии. Любая комбинация одного или нескольких подходящих средств для стимуляции Т-клеток может быть использована для получения популяции активированных Т-клеток, включая, без ограничения, антитело или его функциональный фрагмент, которые нацелены на Т-клеточную стимулирующую или костимулирующую молекулу (например, антитело к CD2, антитело к CD3 (такое как ОКТ-

3), антитело к CD28 или его функциональный фрагмент), или любой другой подходящий митоген (например, тетрадеканоилфорболацетат (ТРА), фитогемагглютинин (РНА), конканавалин А (conA), липополисахарид (LPS), митоген лаконоса (PWM)), или природный лиганд с Т-клеточной стимулирующей или костимулирующей молекулой.

[0119] Подходящее условие для стимуляции или активации популяции иммунных клеток, как описано в данном документе, дополнительно включает температуру в течение определенного количества времени и/или в присутствии уровня CO₂. Температура стимуляции может составлять приблизительно 34 °С, приблизительно 35 °С, приблизительно 36 °С, приблизительно 37 °С или приблизительно 38 °С, приблизительно 34–38 °С, приблизительно 35–37 °С, приблизительно 36–38 °С, приблизительно 36–37 °С или приблизительно 37 °С.

[0120] Другое условие для стимуляции или активации популяции иммунных клеток, как описано в данном документе, может дополнительно включать время стимуляции или активации. Время стимуляции составляет приблизительно 24–72 часа, приблизительно 24–36 часов, приблизительно 30–42 часа, приблизительно 36–48 часов, приблизительно 40–52 часа, приблизительно 42–54 часов, приблизительно 44–56 часов, приблизительно 46–58 часов, приблизительно 48–60 часов, приблизительно 54–66 часов или приблизительно 60–72 часа, приблизительно 44–52 часа, приблизительно 40–44 часа, приблизительно 40–48 часов, приблизительно 40–52 часа или приблизительно 40–56 часов. В одном варианте осуществления время стимуляции составляет приблизительно 48 часов или по меньшей мере приблизительно 48 часов.

[0121] Другие условия для стимуляции или активации популяции иммунных клеток, как описано в данном документе, могут дополнительно включать CO₂. Уровень. Уровень CO₂ для стимуляции составляет приблизительно 1,0–10% CO₂, приблизительно 1,0%, приблизительно 2,0%, приблизительно 3,0%, приблизительно 4,0%, приблизительно 5,0%, приблизительно 6,0%, приблизительно 7,0%, приблизительно 8,0%, приблизительно 9,0% или приблизительно 10,0% CO₂, приблизительно 3–7% CO₂, приблизительно 4–6% CO₂, приблизительно 4,5–5,5% CO₂. В одном варианте осуществления уровень CO₂ для стимуляции составляет приблизительно 5% CO₂.

[0122] Условия стимуляции или активации популяции иммунных клеток могут дополнительно включать температуру в течение определенного времени для стимуляции и/или в присутствии уровня CO₂ в любой комбинации. Например, этап стимуляции популяции иммунных клеток может включать стимуляцию популяции иммунных клеток одним или более средствами, стимулирующими иммунную клетку, при температуре приблизительно 36–38 °С в течение определенного времени от приблизительно 44–52 часов и в присутствии уровня CO₂, составляющего 4,5–5,5% CO₂. Одну или несколько иммунных клеток настоящей заявки можно вводить субъекту для применения в иммунной или клеточной терапии. Соответственно, одна или несколько иммунных клеток могут быть собраны у субъекта, нуждающегося в иммунной или клеточной терапии. После сбора одна или несколько иммунных клеток могут быть обработаны в течение любого подходящего периода времени перед введением субъекту.

[0123] Концентрация, количество или популяция лимфоцитов или полученный в результате продукт, полученный способами, описанными в данном документе, составляет приблизительно 1,0–10,0 × 10⁶ клеток/мл. В определенных аспектах концентрация составляет приблизительно 1,0–2,0 × 10⁶ клеток/мл, приблизительно 1,0–

$3,0 \times 10^6$ клеток/мл, приблизительно $1,0-4,0 \times 10^6$ клеток/мл, приблизительно $1,0-5,0 \times 10^6$ клеток/мл, приблизительно $1,0-6,0 \times 10^6$ клеток/мл, приблизительно $1,0-7,0 \times 10^6$ клеток/мл, приблизительно $1,0-8,0 \times 10^6$ клеток/мл, приблизительно $1,0-9,0 \times 10^6$ клеток/мл, приблизительно $1,0-10,0 \times 10^6$ клеток/мл, приблизительно $1,0-1,2 \times 10^6$ клеток/мл, приблизительно $1,0-1,4 \times 10^6$ клеток/мл, приблизительно $1,0-1,6 \times 10^6$ клеток/мл, приблизительно $1,0-1,8 \times 10^6$ клеток/мл, приблизительно $1,0-2,0 \times 10^6$ клеток/мл, по меньшей мере приблизительно $1,0 \times 10^6$ клеток/мл, по меньшей мере приблизительно $1,1 \times 10^6$ клеток/мл, по меньшей мере приблизительно $1,2 \times 10^6$ клеток/мл, по меньшей мере приблизительно $1,3 \times 10^6$ клеток/мл, по меньшей мере приблизительно $1,4 \times 10^6$ клеток/мл, по меньшей мере приблизительно $1,5 \times 10^6$ клеток/мл, по меньшей мере приблизительно $1,6 \times 10^6$ клеток/мл, по меньшей мере приблизительно $1,7 \times 10^6$ клеток/мл, по меньшей мере приблизительно $1,8 \times 10^6$ клеток/мл, по меньшей мере приблизительно $1,9 \times 10^6$ клеток/мл, по меньшей мере приблизительно $2,0 \times 10^6$ клеток/мл, по меньшей мере приблизительно $4,0 \times 10^6$ клеток/мл, по меньшей мере приблизительно $6,0 \times 10^6$ клеток/мл, по меньшей мере приблизительно $8,0 \times 10^6$ клеток/мл или по меньшей мере приблизительно $10,0 \times 10^6$ клеток/мл.

[0124] Антитело к CD3 (или его функциональный фрагмент), антитело к CD28 (или его функциональный фрагмент) или комбинацию антител к CD3 и CD28 можно применять в соответствии с этапом стимуляции популяции лимфоцитов, вместе или независимо от воздействия на одну или несколько клеток, полученных от донора, условий гипоксического культивирования с давлением выше атмосферного или без этого. Можно использовать любое растворимое или иммобилизованное антитело к CD2, антитело к CD3 и/или антитело к CD28 или его функциональный фрагмент (*например*, клон ОКТ3 (антитело к CD3), клон 145-2C11 (антитело к CD3), клон UCNT1 (антитело к CD3), клон L293 (антитело к CD28), клон 15E8 (антитело к CD28)). В некоторых аспектах антитела могут быть приобретены коммерчески у поставщиков, известных из уровня техники, включая, без ограничения, Miltenyi Biotec, BD Biosciences (*например*, MACS GMP, CD3 в чистом виде 1 мг/мл, № изделия 170-076-116) и eBioscience, Inc. Кроме того, специалисту в данной области техники будет понятно, как получить антитело к CD3 и/или CD28 стандартными способами. В некоторых аспектах одно или несколько средств, стимулирующих Т-клетки, которые используются в соответствии с этапом стимуляции популяции лимфоцитов, включают антитело или его функциональный фрагмент, нацеленные на Т-клеточную стимулирующую или костимулирующую молекулу в присутствии Т-клеточного цитокина. В одном варианте осуществления одно или несколько средств для стимуляции Т-клеток включают антитело к CD3 и IL-2. В конкретном варианте осуществления средство, стимулирующее Т-клетку, включает антитело к CD3 в концентрации 50 нг/мл. Концентрация антитела к CD3 составляет приблизительно 20 нг/мл – 100 нг/мл, приблизительно 20 нг/мл, приблизительно 30 нг/мл, приблизительно 40 нг/мл, приблизительно 50 нг/мл, приблизительно 60 нг/мл, приблизительно 70 нг/мл, приблизительно 80 нг/мл, приблизительно 90 нг/мл или приблизительно 100 нг/мл. В альтернативном аспекте активация Т-клеток не требуется.

[0125] Способы, описанные в данном документе, дополнительно включают трансдукцию популяции активированных иммунных клеток вирусным вектором, содержащим молекулу нуклеиновой кислоты, которая кодирует рецептор клеточной поверхности, с помощью одного или нескольких циклов вирусной трансдукции для получения популяции трансдуцированных иммунных клеток. В качестве вирусных векторов использовали

несколько рекомбинантных вирусов для доставки генетического материала в клетку. Вирусные векторы, которые можно использовать в соответствии с этапом трансдукции, могут представлять собой любой экотропный или амфотропный вирусный вектор, в том числе, без ограничения, рекомбинантные ретровирусные векторы, рекомбинантные лентивирусные векторы, рекомбинантные аденовирусные векторы и рекомбинантные аденоассоциированные вирусные (AAV) векторы. Способ дополнительно включает трансдукцию одной или нескольких иммунных клеток ретровирусом. В одном аспекте вирусный вектор, используемый для трансдукции популяции активированных иммунных клеток, представляет собой ретровирусный вектор MSGV1 гамма. В одном варианте осуществления вирусный вектор, используемый для трансдукции популяции активированных иммунных клеток, представляет собой вектор PG13-CD19-H3, описанный Kochenderfer, *J. Immunother.* 32(7): 689–702 (2009). В соответствии с одним аспектом вирусный вектор выращивают в суспензионной культуре в среде, которая специфична для продуцирования вирусного вектора, называемого в данном документе инокулятом вирусного вектора. Любые подходящие среды для выращивания и/или добавки для выращивания вирусных векторов могут быть использованы в инокуляте вирусного вектора в соответствии со способами, описанными в данном документе. В соответствии с некоторыми аспектами, инокулят вирусного вектора добавляют в бессывороточную среду для культивирования, описанную ниже на этапе трансдукции. В некоторых аспектах одна или несколько иммунных клеток могут быть трансдуцированы ретровирусом. В одном варианте осуществления ретровирус содержит гетерологичный ген, кодирующий рецептор клеточной поверхности. В другом варианте осуществления рецептор клеточной поверхности может связывать антиген на поверхности клетки-мишени, например, на поверхности опухолевой клетки. В дополнение к необязательному воздействию на одну или несколько клеток, полученных от субъекта-донора, условий гипоксического культивирования, с давлением выше атмосферного или без этого, условия для трансдукции популяции активированных иммунных клеток, как описано в данном документе, могут включать определенное время при определенной температуре и/или в присутствии определенного уровня CO₂. Температура для трансдукции может составлять приблизительно 34 °C, приблизительно 35 °C, приблизительно 36 °C, приблизительно 37 °C или приблизительно 38 °C, приблизительно 34–38 °C, приблизительно 35–37 °C, приблизительно 36–38 °C или 36–37 °C. В одном варианте осуществления температура для трансдукции составляет приблизительно 37 °C. Предварительно определенная температура для трансдукции может составлять приблизительно 34 °C, приблизительно 35 °C, приблизительно 36 °C, приблизительно 37 °C, приблизительно 38 °C или приблизительно 39 °C, приблизительно 34–39 °C, приблизительно 35–37 °C. В одном варианте осуществления предварительно определенная температура для трансдукции может составлять приблизительно 36–38 °C, приблизительно 36–37 °C или приблизительно 37 °C. Время трансдукции составляет приблизительно 12–36 часов, приблизительно 12–16 часов, приблизительно 12–20 часов, приблизительно 12–24 часа, приблизительно 12–28 часов, приблизительно 12–32 часов, приблизительно 20 часов или по меньшей мере приблизительно 20 часов, приблизительно 16–24 часа, приблизительно 14 часов, по меньшей мере приблизительно 16 часов, по меньшей мере приблизительно 18 часов, по меньшей мере приблизительно 20 часов, по меньшей мере приблизительно 22 часа, по меньшей мере приблизительно 24 часа или по меньшей мере приблизительно 26 часов. Уровень CO₂ для трансдукции составляет приблизительно 1,0–10% CO₂, приблизительно 1,0%, приблизительно 2,0%, приблизительно 3,0%, приблизительно 4,0%,

приблизительно 5,0%, приблизительно 6,0%, приблизительно 7,0%, приблизительно 8,0%, приблизительно 9,0%, приблизительно 10,0% CO₂, приблизительно 3–7% CO₂, приблизительно 4–6% CO₂, приблизительно 4,5–5,5% или приблизительно 5% CO₂.

[0126] Трансдукция популяции активированных иммунных клеток, как описано в данном документе, может проводиться в течение периода времени, при определенной температуре и/или в присутствии определенного уровня CO₂ в любой комбинации: температура приблизительно 36–38 °С в течение определенного времени приблизительно 16–24 часов и в присутствии уровня CO₂, составляющего приблизительно 4,5–5,5% CO₂. Иммунные клетки могут быть получены с помощью комбинации любого из способов применения с любым способом получения Т-клеток для иммунотерапии, включая, без ограничения, описанные в публикациях РСТ № WO 2015/120096 и WO 2017/070395, которые включены в данный документ посредством ссылки в полном объеме для целей описания этих способов; любого и всех способов, используемых при получении аксикаптагена цилолеуцела или Yescarta®; любого и всех способов, используемых при получении тисагенлеклейсель/КумриаTM; любого и всех способов, используемых при получении «имеющихся в продаже» Т-клеток для иммунотерапии; и любых других способов получения лимфоцитов для введения людям. Способ получения может быть адаптирован для удаления циркулирующих опухолевых клеток из клеток, полученных от пациента.

[0127] CAR-Т-клетки могут быть сконструированы для экспрессии других молекул и могут представлять собой любой из следующих иллюстративных типов или других вариантов, доступных в данной области техники: первого, второго, третьего, четвертого, пятого, или более CAR-Т-клеток; армированные CAR-Т-клетки, подвижные CAR-Т-клетки, TRUCK Т-клетки, CAR-Т-клетки с переключателем рецептора; CAR Т-клетки с редактируемым геномом; CAR Т-клетки с двойным рецептором; CAR Т-клетки-самоубийцы, индуцируемые лекарственными средствами CAR-Т-клетки, индуцируемые synNotch CAR Т-клетки, и ингибирующие CAR Т-клетки. В одном аспекте Т-клетки представляют собой аутологичные Т-клетки. В другом аспекте Т-клетки представляют собой аутологичные стволовые клетки (для терапии аутологичными стволовыми клетками или ASCT). В другом аспекте Т-клетки представляют собой неаутологичные Т-клетки.

[0128] Клетки (такие как иммунные клетки или Т-клетки) являются генетически модифицированными после выделения или отбора с использованием известных способов, или активированными и/или экспандированными (или дифференцированными в случае предшественников) *in vitro* перед генетической модификацией. Иммунные клетки, например Т-клетки, генетически модифицируют химерными антигенными рецепторами, описанными в данном документе (например, трансдуцируют вирусным вектором, содержащим одну или несколько нуклеотидных последовательностей, кодирующих CAR) и активируют и/или экспандируют *in vitro*. Способы активации и экспансии Т-клеток можно найти в патентах США №№ 6905874; 6867041; и 6797514; и публикации РСТ № WO 2012/079000, которые включены в данный документ посредством ссылки в полном объеме. Как правило, такие способы могут включать приведение РВМС или выделенных Т-клеток в контакт со стимулирующим средством и костимулирующим средством, таким как антитела к CD3 и/или к CD28, которые могут быть связаны с гранулой или другой поверхностью, в среде для культивирования с определенными цитокинами, такими как IL-2. Можно использовать систему Dynabeads®, систему активатора/стимулятора

CD3/CD28 для физиологической активации Т-клеток человека. Т-клетки можно активировать и стимулировать для пролиферации подходящими питающими клетками, антителами и/или цитокинами, как описано в патентах США №№ 6040177 и 5827642 и публикации РСТ № WO 2012/129514, которые включены в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

[0129] Рецептор клеточной поверхности, экспрессируемый сконструированными иммунными клетками, может представлять собой любой антиген или молекулу, которые должны быть нацелены на CAR, такие как CAR к CD19, CAR к FMC63-28Z или CAR к FMC63-CD828BBZ (Kochenderfer et al., *J Immunother.* 2009, 32(7): 689; Locke et al., *Blood* 2010, 116(20):4099, рассматриваемый вопрос из обоих включен в данный документ посредством ссылки. В определенных аспектах предварительно определенная доза сконструированных иммунных клеток может составлять от более чем приблизительно 1 миллиона до менее чем приблизительно 3 миллионов трансдуцированных сконструированных Т-клеток/кг. В одном варианте осуществления предварительно определенная доза сконструированных Т-клеток может составлять от более чем приблизительно 1 миллиона до приблизительно 2 миллионов трансдуцированных сконструированных Т-клеток на килограмм массы тела (клеток/кг). Предварительно определенная доза сконструированных Т-клеток может составлять от более чем 1 миллиона до приблизительно 2 миллионов, от по меньшей мере приблизительно 2 миллионов до менее чем приблизительно 3 миллионов трансдуцированных сконструированных Т-клеток на килограмм массы тела (клеток/кг). В одном варианте осуществления предварительно определенная доза сконструированных Т-клеток может составлять приблизительно 2 миллиона трансдуцированных сконструированных Т-клеток/кг. В другом варианте осуществления предварительно определенная доза сконструированных Т-клеток может составлять по меньшей мере приблизительно 2 миллиона трансдуцированных сконструированных Т-клеток/кг. Примеры предварительно определенной дозы сконструированных Т-клеток могут составлять приблизительно 2,0 миллиона, приблизительно 2,1 миллиона, приблизительно 2,2 миллиона, приблизительно 2,3 миллиона, приблизительно 2,4 миллиона, приблизительно 2,5 миллиона, приблизительно 2,6 миллиона, приблизительно 2,7 миллиона, приблизительно 2,8 миллиона или приблизительно 2,9 миллиона трансдуцированных сконструированных Т-клеток/кг.

[0130] Способы, описанные в данном документе, включают увеличение или обогащение популяции трансдуцированных одной или нескольких иммунных клеток в течение определенного периода времени для получения популяции сконструированных иммунных клеток. Время экспансии может представлять собой любое подходящее время, которое позволяет получать (i) достаточное количество клеток в популяции сконструированных иммунных клеток для по меньшей мере одной дозы для введения пациенту, (ii) популяцию сконструированных иммунных клеток с благоприятной долей ювенильных клеток по сравнению с типичным более длительным процессом, или (iii) как (i), так и (ii). Это время будет зависеть от рецептора клеточной поверхности, экспрессируемого иммунными клетками, используемого вектора, дозы, необходимой для обеспечения терапевтического эффекта, и других переменных. Предварительно определенное время экспансии может составлять 0 дней, 1 день, 2 дня, 3 дня, 4 дня, 5 дней, 6 дней, 7 дней, 8 дней, 9 дней, 10 дней, 11 дней, 12 дней, 13 дней, 14 дней, 15 дней, 16 дней, 17 дней, 18 дней, 19 дней, 20 дней, 21 день или более 21 дня. В одном варианте осуществления время экспансии способа настоящего изобретения уменьшается по сравнению со

способами, известными из уровня техники. Например, предварительно определенное время экспансии может быть меньше на по меньшей мере 5%, по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75% или может быть меньше на более чем 75%. В одном примере время экспансии составляет приблизительно 3 дня, и время от обогащения популяции лимфоцитов до получения сконструированных иммунных клеток составляет приблизительно 6 дней.

[0131] Условия экспансии трансдуцированных иммунных клеток могут включать температуру и/или присутствие уровня CO₂. В определенных аспектах температура составляет приблизительно 34 °C, приблизительно 35 °C, приблизительно 36 °C, приблизительно 37 °C или приблизительно 38 °C, приблизительно 35–37 °C, приблизительно 36–37 °C или приблизительно 37 °C. Уровень CO₂ составляет 1,0–10% CO₂, приблизительно 1,0%, приблизительно 2,0%, приблизительно 3,0%, приблизительно 4,0%, приблизительно 5,0%, приблизительно 6,0%, приблизительно 7,0%, приблизительно 8,0%, приблизительно 9,0%, приблизительно 10,0% CO₂, приблизительно 4,5–5,5% CO₂, приблизительно 5% CO₂, приблизительно 3,5%, приблизительно 4,0%, приблизительно 4,5%, приблизительно 5,0%, приблизительно 5,5% или приблизительно 6,5% CO₂.

[0132] Каждый этап способов, описанных в данном документе, может быть выполнен в закрытой системе. Закрытая система может представлять собой систему культивирования в закрытых пакетах с использованием любых подходящих пакетов для культивирования клеток (например, пакеты для дифференцировки клеток согласно GMP Miltenyi Biotec MACS®, пакеты для культивирования клеток Origen Biomedical PermaLife). Пакеты для культивирования клеток, используемые в системе культивирования в закрытых пакетах, могут быть покрыты рекомбинантным фрагментом человеческого фибронектина во время этапа трансдукции. Рекомбинантный фрагмент человеческого фибронектина может включать три функциональных домена: центральный домен связывания с клеткой, гепарин-связывающий домен II и последовательность CS1. Рекомбинантный фрагмент человеческого фибронектина можно использовать для повышения эффективности генной трансдукции иммунных клеток путем содействия колокализации клеток-мишеней и вирусного вектора. В одном варианте осуществления рекомбинантный фрагмент человеческого фибронектина представляет собой RETRONECTIN® (Takara Bio, Япония). Пакеты для культивирования клеток покрывают рекомбинантным фрагментом человеческого фибронектина в концентрации приблизительно 1–60 мкг/мл или приблизительно 1–40 мкг/мл, приблизительно 1–20 мкг/мл, 20–40 мкг/мл, 40–60 мкг/мл, приблизительно 1 мкг/мл, приблизительно 2 мкг/мл, приблизительно 3 мкг/мл, приблизительно 4 мкг/мл, приблизительно 5 мкг/мл, приблизительно 6 мкг/мл, приблизительно 7 мкг/мл, приблизительно 8 мкг/мл, приблизительно 9 мкг/мл, приблизительно 10 мкг/мл, приблизительно 11 мкг/мл, приблизительно 12 мкг/мл, приблизительно 13 мкг/мл, приблизительно 14 мкг/мл, приблизительно 15 мкг/мл, приблизительно 16 мкг/мл, приблизительно 17 мкг/мл, приблизительно 18 мкг/мл, приблизительно 19 мкг/мл, приблизительно 20 мкг/мл, приблизительно 2–5 мкг/мл, приблизительно 2–10 мкг/мл, приблизительно 2–20 мкг/мл, приблизительно 2–25 мкг/мл, приблизительно 2–30 мкг/мл, приблизительно 2–35 мкг/мл, приблизительно 2–40 мкг/мл, приблизительно 2–50 мкг/мл, приблизительно 2–60 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 2 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 5 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 10 мкг/мл, по меньшей мере

приблизительно 15 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 20 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 25 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 30 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 40 мкг/мл, по меньшей мере приблизительно 50 мкг/мл или по меньшей мере приблизительно 60 мкг/мл рекомбинантного фрагмента человеческого фибронектина. В одном варианте осуществления пакеты для культивирования клеток покрывают по меньшей мере приблизительно 10 мкг/мл рекомбинантного фрагмента человеческого фибронектина. Пакеты для культивирования клеток, используемые в системе культивирования в закрытых пакетах, могут необязательно быть заблокированы человеческим сывороточным альбумином (HSA) во время этапа трансдукции. В другом варианте осуществления пакеты для культивирования клеток не блокируются HSA во время этапа трансдукции.

[0133] Популяция сконструированных иммунных клеток, продуцируемых с помощью способов, описанных выше, может необязательно быть криоконсервирована для того, чтобы клетки можно было использовать позже. В данном документе также представлен способ криоконсервации популяции сконструированных иммунных клеток. Такой способ может включать этап промывки и концентрирования популяции сконструированных иммунных клеток с раствором разбавителя. Например, раствор разбавителя представляет собой физиологический раствор, 0,9% солевой раствор, PlasmaLyte A (PL), 5% раствор декстрозы/0,45% солевой раствор NaCl (D5), человеческий сывороточный альбумин (HSA) или их комбинацию. Кроме того, hSA можно добавлять к промытым и концентрированным клеткам для улучшения жизнеспособности клеток и восстановления клеток после размораживания. В другом аспекте промывочный раствор представляет собой нормальный физиологический раствор и промытые и концентрированные клетки добавляют с помощью HSA (5%). Способ может также включать этап получения смеси для криоконсервации, при этом смесь для криоконсервации включает в себя разбавленную популяцию клеток в растворе разбавителя и подходящий раствор для криоконсервации. Раствор криоконсерванта может представлять собой любой подходящий раствор криоконсерванта, включая, без ограничения, CryoStor10 (BioLife Solution), смешанный с разбавителем сконструированных иммунных клеток в соотношении 1:1 или 2:1. HSA можно добавлять для получения конечной концентрации, составляющей приблизительно 1,0–10%, приблизительно 1,0%, приблизительно 2,0%, приблизительно 3,0%, приблизительно 4,0%, приблизительно 5,0%, приблизительно 6,0%, приблизительно 7,0%, приблизительно 8,0%, приблизительно 9,0%, приблизительно 10,0%, приблизительно 1–3% HSA, приблизительно 1–4% HSA, приблизительно 1–5% HSA, приблизительно 1–7% HSA, приблизительно 2–4% HSA, приблизительно 2–5% HSA, приблизительно 2–6% HSA, приблизительно 2–7% HAS или приблизительно 2,5% HSA в криоконсервированной смеси. Криоконсервация популяции сконструированных иммунных клеток может включать промывание клеток 0,9% физиологическим раствором, добавление HSA в конечной концентрации 5% к промытым клеткам и разбавление клеток в соотношении 1:1 CryoStor™ CS10 (для конечной концентрации 2,5% HSA в конечной смеси для криоконсервации). В некоторых аспектах способ также включает этап замораживания смеси для криоконсервации. Кроме того, смесь для криоконсервации замораживают в контролируемом морозильном шкафу с использованием определенного цикла замораживания при концентрации клеток от приблизительно 1×10^6 до приблизительно $1,5 \times 10^7$ клеток/мл смеси для криоконсервации. Способ может также включать этап хранения смеси для криоконсервации в жидком азоте паровой фазы.

[0134] Популяция сконструированных иммунных клеток, полученных с помощью способов, описанных в данном документе, может быть криоконсервирована в предварительно определенной дозе. Предварительно определенная доза может представлять собой терапевтически эффективную дозу, которая может представлять собой любую терапевтически эффективную дозу, как указано ниже. Предварительно определенная доза сконструированных иммунных клеток может зависеть от рецептора клеточной поверхности, который экспрессируется иммунными клетками (например, аффинности и плотности рецепторов клеточной поверхности, экспрессируемых на клетке), типа клетки-мишени, природы заболевания или патологического состояния, подлежащего лечению, или комбинации и того и другого.

[0135] В одном варианте осуществления популяцию сконструированных Т-клеток можно криоконсервировать в предварительно определенной дозе, составляющей приблизительно 1 миллион сконструированных Т-клеток на килограмм массы тела (клеток/кг). В определенных вариантах осуществления популяцию сконструированных Т-клеток можно криоконсервировать при предварительно определенной дозе, составляющей от приблизительно 500000 до приблизительно 1 миллиона сконструированных Т-клеток/кг. В определенном варианте осуществления популяцию сконструированных Т-клеток можно криоконсервировать в предварительно определенной дозе, составляющей по меньшей мере приблизительно 1 миллион, по меньшей мере приблизительно 2 миллиона, по меньшей мере приблизительно 3 миллиона, по меньшей мере приблизительно 4 миллиона, по меньшей мере приблизительно 5 миллионов, по меньшей мере приблизительно 6 миллионов, по меньшей мере приблизительно 7 миллионов, по меньшей мере приблизительно 8 миллионов, по меньшей мере приблизительно 9 миллионов, по меньшей мере приблизительно 10 миллионов сконструированных Т-клеток/кг. В других аспектах популяция сконструированных Т-клеток может быть криоконсервирована в предварительно определенной дозе, составляющей менее чем 1 миллион клеток/кг, 1 миллион клеток/кг, 2 миллиона клеток/кг, 3 миллиона клеток/кг, 4 миллиона клеток/кг, 5 миллионов клеток/кг, 6 миллионов клеток/кг, 7 миллионов клеток/кг, 8 миллионов клеток/кг, 9 миллионов клеток/кг, 10 миллионов клеток/кг, более чем 10 миллионов клеток/кг, более чем 20 миллионов клеток/кг, более чем 30 миллионов клеток/кг, более чем 40 миллионов клеток/кг, более чем 50 миллионов клеток/кг, более чем 60 миллионов клеток/кг, более чем 70 миллионов клеток/кг, более чем 80 миллионов клеток/кг, более чем 90 миллионов клеток/кг или более чем 100 миллионов клеток/кг. В определенных аспектах популяцию сконструированных Т-клеток можно криоконсервировать в предварительно определенной дозе, составляющей от приблизительно 1 миллиона до приблизительно 2 миллионов сконструированных Т-клеток/кг. Популяция сконструированных Т-клеток может быть криоконсервирована в предварительно определенной дозе, составляющей от приблизительно 1 миллиона клеток до приблизительно 2 миллионов клеток/кг, от приблизительно 1 миллиона клеток до приблизительно 3 миллионов клеток/кг, от приблизительно 1 миллиона клеток до приблизительно 4 миллионов клеток/кг, от приблизительно 1 миллиона клеток до приблизительно 5 миллионов клеток/кг, от приблизительно 1 миллиона клеток до приблизительно 6 миллионов клеток/кг, от приблизительно 1 миллиона клеток до приблизительно 7 миллионов клеток/кг, от приблизительно 1 миллиона клеток до приблизительно 8 миллионов клеток/кг, от приблизительно 1 миллиона клеток до приблизительно 9 миллионов клеток/кг, от приблизительно 1 миллиона клеток до приблизительно 10 миллионов клеток/кг. Предварительно определенная доза популяции сконструированных Т-клеток может быть рассчитана на

основе массы тела субъекта. В одном примере популяцию сконструированных Т-клеток можно криоконсервировать в среде для криоконсервации, составляющей приблизительно 0,5–200 мл. Кроме того, популяция сконструированных Т-клеток может быть криоконсервирована в среды для криоконсервации, составляющей приблизительно 0,5 мл, приблизительно 1,0 мл, приблизительно 5,0 мл, приблизительно 10,0 мл, приблизительно 20 мл, приблизительно 30 мл, приблизительно 40 мл, приблизительно 50 мл, приблизительно 60 мл, приблизительно 70 мл, приблизительно 80 мл, приблизительно 90 мл или приблизительно 100 мл, приблизительно 10–30 мл, приблизительно 10–50 мл, приблизительно 10–70 мл, приблизительно 10–90 мл, приблизительно 50–70 мл, приблизительно 50–90 мл, приблизительно 50–110 мл, приблизительно 50–150 мл или приблизительно 100–200 мл. В определенных аспектах популяцию сконструированных Т-клеток можно предпочтительно криоконсервировать в среде для криоконсервации, составляющей приблизительно 50–70 мл.

[0136] В одном варианте осуществления по меньшей мере одно из (а) приведения популяции иммунных клеток в контакт с экзогенным IL-2, экзогенным IL-7, экзогенным IL-15 и/или другим (другими) цитокином (citoкинами), (b) стимуляции популяции иммунных клеток, (c) трансдукции популяции активированных иммунных клеток, и (d) экспансии популяции трансдуцированных иммунных клеток осуществляют с использованием бессывороточной культуральной среды, не содержащей добавленной сыворотки. В некоторых аспектах каждое из (а)-(d) проводят с использованием бессывороточной культуральной среды, не содержащей добавленной сыворотки. Как обозначается в данном документе, термин «бессывороточная среда» или «бессывороточная культуральная среда» означает, что используемая среда для выращивания не дополнена сывороткой (например, человеческой сывороткой или бычьей сывороткой). Другими словами, в культуральную среду не добавляют сыворотку в качестве отдельного и определенного ингредиента с целью поддержания жизнеспособности, активации и роста культивируемых клеток. Любая подходящая среда для выращивания иммунных клеток может быть использована для культивирования клеток в суспензии в соответствии со способами, описанными в данном документе. Например, среда для выращивания иммунных клеток может включать в себя, без ограничения, стерильный раствор с низким содержанием глюкозы, который включает подходящее количество буфера, магния, кальция, пирувата натрия и бикарбоната натрия. В одном аспекте среда для выращивания Т-клеток представляет собой OPTMIZER™ (Life Technologies). В отличие от типичных способов получения сконструированных иммунных клеток, в способах, описанных в данном документе, можно использовать культуральную среду, которая не дополнена сывороткой (например, человеческой или бычьей).

[0137] В настоящей заявке представлены различные способы лечения рака с помощью Т-клеток. В одном аспекте Т-клетки представляют собой Т-клетки с CAR к CD19, которые могут быть получены комбинацией любого из способов применения с любым этапом способа получения Т-клеток для иммунотерапии, включая, без ограничения, способы, описанные в публикациях PCT №№ WO 2015/120096 и WO 2017/070395, обе из которых включены в данный документ посредством ссылки в полном объеме для целей описания этих способов; любого и всех способов, используемых при получении аксикаптагена цилолеуцела или Yescarta®; любого и всех способов, используемых при получении тисагенлеклейсель/Кумпiah™; любого и всех способов, используемых при получении «имеющихся в продаже» Т-клеток для иммунотерапии; и любых других способов получения

лимфоцитов для введения людям. В некоторых аспектах процесс получения адаптируют с возможностью специфического удаления циркулирующих опухолевых клеток из клеток, полученных от пациента.

[0138] В одном аспекте Т-клетки представляют собой Т-клетки с CAR к CD19, полученные с помощью способа, описанного в PCT/US 2016/057983. В одном варианте осуществления популяцию Т-клеток, которая является деплетированной в отношении циркулирующих опухолевых клеток, получают из продуктов лейкофереза. Эти клетки могут быть получены, как описано в PCT/US 2016/057983 и дополнительно описано в данном документе, в виде Т-клеток с CAR к CD19. Вкратце, Т-клетка с CAR к CD19 представляет собой аутологичный CAR Т-клеточный продукт, в котором Т-клетки субъекта сконструированы для экспрессии рецепторов, состоящих из одноцепочечного фрагмента антитела к CD19, связанного с активирующими доменами CD28 и CD3 ζ , которые приводят к устранению клеток, экспрессирующих CD19. После взаимодействия CAR с CD19⁺ клетками-мишенями домен CD3 ζ активирует нисходящий сигнальный каскад, который приводит к активации, пролиферации Т-клеток и получению эффекторных функций, таких как цитотоксичность. Внутриклеточный сигнальный домен CD28 обеспечивает костимулирующий сигнал, который функционирует с первичным сигналом CD3 ζ для усиления Т-клеточной функции, включая продуцирование интерлейкина (IL)-2. Совместно эти сигналы могут стимулировать пролиферацию CAR Т-клеток и непосредственное уничтожение клеток-мишеней. Кроме того, активированные Т-клетки могут секретировать цитокины, хемокины и другие молекулы, которые могут приводить к рекрутингу дополнительных противоопухолевых иммунных клеток и активировать их. CAR к CD19 в Т-клетках с CAR к CD19 может содержать FMC63-28Z.

[0139] Из-за наличия циркулирующих опухолевых клеток при определенных видах рака производство Т-клеток с CAR к CD19 включает в себя этап обогащения CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток. Этап обогащения или выделения Т-клеток может приводить к снижению циркулирующих CD19-экспрессирующих опухолевых клеток в материале лейкофереза и может относиться к активации, экспансии и истощению Т-клеток с CAR к CD19 во время производства.

[0140] Способы, описанные в данном документе, могут усиливать результат лечения или эффективность иммунной или клеточной терапии, которая может представлять собой адоптивную Т-клеточную терапию, выбранную из группы, состоящей из иммунотерапии на основе опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов (TIL), аутологичной клеточной терапии, терапии на основе сконструированных аутологичных клеток (eACTTM), аллогенной Т-клеточной трансплантации, трансплантации клеток, отличных от Т-клеток, и любой их комбинации. Адоптивная Т-клеточная терапия в широком смысле включает любой способ отбора, обогащения *in vitro* и введения пациенту аутологичных или аллогенных Т-клеток, которые распознают и способны связывать опухолевые клетки. Иммунотерапия на основе TIL представляет собой тип адоптивной Т-клеточной терапии, причем лимфоциты, способные к инфильтрации опухолевой ткани, выделяют, обогащают *in vitro* и вводят пациенту. Клетки TIL могут быть либо аутологичными, либо аллогенными. Аутологичная клеточная терапия представляет собой адоптивную Т-клеточную терапию, которая включает выделение Т-клеток, способных нацеливаться на опухолевые клетки пациента, обогащение Т-клеток *in vitro* и введение Т-клеток обратно тому же самому пациенту. Аллогенная Т-клеточная трансплантация может включать трансплантацию встречающихся в природе Т-клеток, экспандированных *ex vivo* или генетически сконструированных Т-клеток. Терапия на основе

сконструированных аутологических клеток, как более подробно описано выше, представляет собой адаптивную Т-клеточную терапию, при которой собственные лимфоциты пациента выделяют, генетически модифицируют для экспрессии молекулы, нацеленной на опухоль, экспандируют *in vitro* и вводят обратно пациенту. Трансплантация клеток, отличных от Т-клеток, может включать аутологичные или аллогенные виды терапии на основе отличных от Т-клеток, таких как, без ограничения, естественные клетки-киллеры (NK).

[0141] Терапия на основе иммунных клеток по настоящей заявке представляет собой терапию на основе сконструированных аутологичных клеток (eACT™). В соответствии с этим аспектом способ может включать сбор иммунных клеток от донора. Затем выделенные иммунные клетки можно приводить в контакт с экзогенным реагентом активации (например, цитокином), экспандировать и конструировать для экспрессии химерного антигенного рецептора («сконструированные CAR Т-клетки») или Т-клеточного рецептора («сконструированные TCR Т-клетки»). В некоторых аспектах сконструированные иммунные клетки предназначены для лечения опухоли у субъекта. Например, одну или несколько иммунных клеток трансдуцируют ретровирусом, содержащим гетерологичный ген, кодирующий рецептор клеточной поверхности. В одном варианте осуществления рецептор клеточной поверхности способен связывать антиген на поверхности клетки-мишени, *например*, на поверхности опухолевой клетки. В некоторых вариантах осуществления рецептор клеточной поверхности представляет собой химерный антигенный рецептор или Т-клеточный рецептор. В другом варианте осуществления одна или несколько иммунных клеток могут быть сконструированы для экспрессии химерного антигенного рецептора. Химерный антигенный рецептор может содержать связывающуюся с опухолевым антигеном молекулу. Связывающая молекула может представлять собой антитело или его антигенсвязывающую молекулу. Например, антигенсвязывающая молекула может быть выбрана из scFv, Fab, Fab', Fv, F(ab')₂ и dAb, и любых их фрагментов или комбинаций. Химерный антигенный рецептор может дополнительно содержать шарнирную область. Шарнирная область может быть получена из шарнирной области IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, IgD, IgE, IgM, CD28 или CD8 альфа. В одном варианте осуществления шарнирную область получают из шарнирной области IgG4. Химерный антигенный рецептор может также содержать трансмембранный домен. Трансмембранный домен может представлять собой трансмембранный домен любой трансмембранной молекулы, который представляет собой корецептор на иммунных клетках или трансмембранный домен члена суперсемейства иммуноглобулинов. В конкретном варианте осуществления трансмембранный домен получают из трансмембранного домена CD28, CD28T, CD8 альфа, CD4 или CD19. В другом варианте осуществления трансмембранный домен содержит домен, полученный из трансмембранного домена CD28. В другом варианте осуществления трансмембранный домен содержит домен, полученный из трансмембранного домена CD28T. Химерный антигенный рецептор может дополнительно содержать одну или несколько костимулирующих сигнальных областей. Например, костимулирующая сигнальная область может представлять собой сигнальную область CD28, CD28T, OX-40, 41BB, CD27, индуцируемый Т-клеточный костимулятор (ICOS), CD3 гамма, CD3 дельта, CD3 эпсилон, CD247, Ig альфа (Cd79a) или Fc гамма-рецептор. В дополнительном варианте осуществления костимулирующая сигнальная область представляет собой сигнальную область CD28. В другом варианте осуществления костимулирующая сигнальная область представляет собой сигнальную область CD28T. В дополнительном варианте осуществления химерный антигенный рецептор дополнительно содержит сигнальный домен CD3 дзета.

[0142] В некоторых аспектах опухолевый антиген выбирают из 707-AP (707 аланин-пролина), aFP (альфа (а)-фетопротеина), aRT-4 (антигена аденокарциномы, распознаваемого клетками T4), BAGE (B-антигена; b-катенина/m, b-катенина/мутированного), BCMA (антигена созревания B-клеток), Bcr-abl (области кластера точки разрыва Абельсона), CAIX (карбоангидразы IX), CD19 (кластера дифференцировки 19), CD20 (кластера дифференцировки 20), CD22 (кластера дифференцировки 22), CD30 (кластера дифференцировки 30), CD33 (кластера дифференцировки 33), CD44v7/8 (кластера дифференцировки 44, экзоны 7/8), CAMEL (CTL-распознаваемого антигена меланомы), CAP-1 (карциноэмбрионального антигенного пептида-1), CASP-8 (каспазы-8), CDC27m (мутации 27 цикла клеточного деления), CDK4/m (мутации циклинзависимой киназы 4), CEA (карциноэмбрионального антигена), CT (антигена рака яичек), Cyp-B (циклофилина B), DAM (дифференцирующего антигена меланомы), EGFR (рецептора эпидермального фактора роста), EGFRvIII (рецептора эпидермального фактора роста, вариант III), EGP-2 (эпителиального гликопротеина 2), EGP-40 (эпителиального гликопротеина 40), ErbB2, 3, 4 (гомолога-2, -3, 4 вирусного онкогена эритробластного лейкоза), ELF2M (фактора элонгации 2, мутированного), ETV6-AML1 (варианта Ets гена 6/гена острого миелоидного лейкоза 1 ETS), FBP (фолат-связывающего белка), fAchR (фетального ацетилхолинового рецептора), G250 (гликопротеина 250), GAGE (G-антигена), GD2 (дисialogанглиозида 2), GD3 (дисialogанглиозида 3), GnT-V (N-ацетилглюкозаминилтрансферазы V), Gp100 (гликопротеина с молекулярной массой 100 кДа), HAGE (антигена хеликозы), HER-2/neu (человеческого эпидермального рецептора-2/неврологического; также известного как EGFR2), HLA-A (человеческого лейкоцитарного антигена-A) HPV (вируса папилломы человека), HSP70-2M (белка теплового шока 70-2, мутированного), HST-2 (белка перстневидной опухоли человека-2), hTERT или hTRT (обратной транскриптазы теломеразы человека), iCE (кишечной карбоксиэстеразы), IL-13R-a2 (субъединицы альфа-2 рецептора интерлейкина-13), KIAA0205, KDR (рецептора домена вставки киназы), к-легкой цепи, LAGE (L-антигена), LDLR/FUT (липидного рецептора низкой плотности/GDP-L-фукозы: b-D-галактозидазы 2-a-L-фукозилтрансферазы), LeY (антитела Льюиса-Y), LICAM (молекулы клеточной адгезии L1), MAGE (антигена меланомы), MAGE-A1 (ассоциированного с меланомой антигена 1), MAGE-A3, MAGE-A6, мезотелина, инфицированных мышинными CMV клеток, MART-1/Melan-A (антигена меланомы, распознаваемого T-клетками-1/антигена меланомы A), MC1R (рецептора меланокортина 1), миозина/ m (миозина мутированного), MUC1 (муцина 1), MUM-1, -2, -3 (белка меланомы с универсальными мутациями 1, 2, 3), NA88-A (клона cDNA NA пациента M88), лигандов NKG2D (группы естественных клеток-киллеров 2, члена D), NY-BR-1 (Нью-Йоркского антигена 1 дифференцировки молочной железы), NY-E SO-1 (Нью-Йоркского белка плоскоклеточной карциномы пищевода-1), онкофетального антигена (h5T4), P15 (белка 15), минорного белка p190 bcr-abl (белка bcr-abl с молекулярной массой 190 кД), Pml/RARa (рецептора a промиелоцитарного лейкоза/ретиноевой кислоты), PRAME (преимущественно экспрессируемого антигена меланомы), PSA (простат-специфического антигена), PSCA (антигена стволовых клеток предстательной железы), PSMA (специфического мембранного антигена предстательной железы), RAGE (почечного антигена), RU1 или RU2 (почечного универсального белка 1 или 2), SAGE (антигена саркомы), SART-1 или SART-3 (антигена, отторгающего плоскоклеточные опухоли 1 или 3), SSX1, -2, -3, 4 (белка синовиальной саркомы X1, -2, -3, -4), TAA (опухлеассоциированного антигена), TAG-72 (опухлеассоциированного гликопротеина 72), TEL/AML1 (белка лейкоза семейства транслокации Ets/острого

миелоидного лейкоза 1), TPI/m (триозофосфатизомеразы мутированной), TRP-1 (тирозиназа родственный белок 1 или gp75), TRP-2 (белка 2, родственного тирокиназе), TRP-2/INT2 (TRP-2/интрон 2), VEGF-R2 (рецептора 2 фактора роста эндотелия сосудов), WT1 (гена опухоли Вильмса) и любой их комбинации. В одном варианте осуществления опухолевый антиген представляет собой CD19.

[0143] Т-клеточная терапия включает введение пациентам сконструированных Т-клеток, экспрессирующих Т-клеточный рецептор («сконструированные TCR Т-клетки»). Т-клеточный рецептор (TCR) может содержать связывающуюся с опухолевым антигеном молекулу. В некоторых аспектах опухолевый антиген выбирают из группы, состоящей из 707-AP, AFP, ART-4, BAGE, BCMA, Bcr-abl, CAIX, CD19, CD20, CD22, CD30, CD33, CD44v7/8, CAMEL, CAP-1, CASP-8, CDC27m, CDK4/m, CEA, CT, Cyp-B, DAM, EGFR, EGFRvIII, EGP-2, EGP-40, Erb2, 3, 4, ELF2M, ETV6-AML1, FBP, fAchR, G250, GAGE, GD2, GD3, GnT-V, Gp100, HAGE, HER-2/neu, HLA-A, HPV, HSP70-2M, HST-2, hTERT или hTRT, iCE, IL-13R-a2, KIAA0205, KDR, κ-легкой цепи, LAGE, LDLR/FUT, LeY, L1CAM, MAGE, MAGE-A1, мезотелина, инфицированных мышинным CMV клеток, MART-1/Melan-A, MC1R, миозина/m, MUC1, MUM-1, -2, -3, NA88-A, лигандов NKG2D, NY-BR-1, NY-ESO-1, онкофетального антигена, P15, минорного белка p190 bcr-abl, Pml/RARα, PRAME, PSA, PSCA, PSMA, RAGE, RU1 or RU2, SAGE, SART-1 или SART-3, SSX1, -2, -3, 4, TAA, TAG-72, TEL/AML1, TPI/m, TRP-1, TRP-2, TRP-2/INT2, VEGF-R2, WT1 и любой их комбинации.

[0144] Термин «направленная на CD19 генетически модифицированная аутологичная Т-клеточная иммунотерапия» относится к суспензии положительных в отношении химерных антигенных рецепторов (CAR) иммунных клеток. Примером такой иммунотерапии является Clear CAR-T-терапия, которая использует CAR-T-клетки, которые не содержат циркулирующих опухолевых клеток и обогащены в CD4+/CD8+ Т-клетках. Другой пример представляет собой аксикабтаген цилолеуцел (также известный как Axi-cel™, YESCARTA®). См. Kochenderfer, *et al.*, (J Immunother 2009;32:689 702). Другие неограничивающие примеры включают JCAR017, JCAR015, JCAR014, Кумгiah (тисагенлеклейсель), CAR к CD19 Uppsala U. (NCT02132624) и UCART19 (Cellectis). См. Sadelain et al. Nature Rev. Cancer Vol. 3 (2003), Ruella et al., Curr Hematol Malig Rep., Springer, NY (2016) and Sadelain et al. Cancer Discovery (Apr 2013). Для получения направленной на CD19 генетически модифицированной аутологичной Т-клеточной иммунотерапии можно собирать собственные Т-клетки пациента и генетически модифицировать их *ex vivo* путем ретровирусной трансдукции для экспрессии химерного антигенного рецептора (CAR), содержащего мышинный одноцепочечный варибельный фрагмент (scFv) к CD19, связанный с костимулирующими доменами CD28 и CD3-дзета. В некоторых вариантах осуществления CAR содержит одноцепочечный мышинный варибельный фрагмент (scFv) к CD19, связанный с костимулирующими доменами с 4-1BB и CD3-дзета. Т-клетки с CAR к CD19 могут быть экспандированы и инфузирваны обратно в организм пациента, где они могут распознавать и устранять CD19-экспрессирующие клетки-мишени.

[0145] В одном аспекте TCR содержит связывающуюся с вирусным онкогеном молекулу. В одном варианте осуществления вирусный онкоген выбирают из вируса папилломы человека (HPV), вируса Эпштейна-Барра (EBV) и Т-лимфотропного вируса человека (HTLV). В другом варианте осуществления TCR содержит связывающую молекулу с тестирующим, плацентарным или эмбриональным опухолевым антигеном. В одном варианте осуществления тестикулярный, плацентарный или фетальный опухолевый антиген выбирают из группы,

состоящей из NY-ESO-1, точки 2 разрыва синовиальной саркомы X (SSX2), антигена меланомы (MAGE) и любой их комбинации. В другом варианте осуществления TCR содержит связывающуюся со специфичным в отношении линии дифференцировки антигеном молекулу. В дополнительном варианте осуществления специфический в отношении линии дифференцировки антиген выбирают из группы, состоящей из антигена меланомы, распознаваемого Т-клетками-1 (MART-1), gp100, простатспецифического антигена (PSA), специфического мембранного антигена предстательной железы (PSMA), антигена стволовых клеток предстательной железы (PSCA) и любой их комбинации. В определенных вариантах осуществления Т-клеточная терапия включает введение пациенту сконструированных CAR Т-клеток, экспрессирующих химерный антигенный рецептор, который связывается с CD19 и дополнительно содержит костимулирующий домен CD28 и сигнальную область CD3-дзета. В дополнительном варианте осуществления Т-клеточная терапия включает введение пациенту КТЕ-С19. В одном аспекте антигенные фрагменты также включают, без ограничения, антигена вируса Эпштейна-Барра (EBV) (например, EBNA-1, EBNA-2, EBNA-3, LMP-1, LMP-2), антиген вируса гепатита А (например, VP1, VP2, VP3), антиген вируса гепатита В (например, HBsAg, HBcAg, HBeAg), антиген вируса гепатита С (например, оболочечные гликопротеины Е1 и Е2), антиген вируса простого герпеса типа 1, типа 2 или типа 8 (HSV1, HSV2 или HSV8) (например, гликопротеины gB, gC, gC, gE, gG, gH, gI, gJ, gK, gL, gM, UL20, UL32, US43, UL45, UL49A), вирусный антиген цитомегаловируса (CMV) (например, гликопротеины gB, gC, gC, gE, gG, gH, gI, gJ, gK, gL, gM или другие оболочечные белки), вирусный антиген вируса иммунодефицита человека (HIV) (гликопротеины gp120, gp41 или p24), вирусный антиген вируса гриппа (например, гемагглютинин (HA) или нейраминидазу (NA)), антиген вируса кори или эпидемического паротита, вирусный антиген папилломавируса человека (HPV) (например, L1, L2), вирусный антиген вируса парагриппа, вирусный антиген вируса краснухи, вирусный антиген респираторного синцитиального вируса (RSV) или вирусный антиген вируса варицеллы-зостер. В таких аспектах рецептор клеточной поверхности может представлять собой любой TCR или любой CAR, который распознает любой из вышеупомянутых вирусных антигенов на целевой инфицированной вирусом клетке. В других аспектах антигенный фрагмент ассоциирован с клетками, характеризующимися иммунной или воспалительной дисфункцией. Такие антигенные фрагменты могут включать, без ограничения, миелиновый основной белок (MBP), миелиновый протеолипидный белок (PLP), миелиновый олигодендроцитарный гликопротеин (MOG), карциноэмбриональный антиген (CEA), проинсулин, глутаминдекарбоксилазу (GAD65, GAD67), белки теплового шока (HSP) или любой другой тканеспецифический антиген, который вовлечен в патогенный аутоиммунный процесс или ассоциирован с ним.

[0146] Способы, описанные в данном документе, могут включать Т-клеточную терапию, включающую перенос одной или нескольких Т-клеток пациенту. Т-клетки можно вводить в терапевтически эффективном количестве. Например, терапевтически эффективное количество Т-клеток, например, сконструированных CAR+ Т-клеток или сконструированных TCR+ Т-клеток, может составлять по меньшей мере приблизительно 10^4 клеток, по меньшей мере приблизительно 10^5 клеток, по меньшей мере приблизительно 10^6 клеток, по меньшей мере приблизительно 10^7 клеток, по меньшей мере приблизительно 10^8 клеток, по меньшей мере приблизительно 10^9 клеток или по меньшей мере приблизительно 10^{10} клеток. В другом аспекте терапевтически эффективное количество Т-клеток, например, сконструированных CAR+ Т-клеток или сконструированных TCR+ Т-клеток,

составляет приблизительно 10^4 клеток, приблизительно 10^5 клеток, приблизительно 10^6 клеток, приблизительно 10^7 клеток или приблизительно 10^8 клеток. В одном варианте осуществления терапевтически эффективное количество Т-клеток, например, сконструированных CAR+ Т-клеток или сконструированных TCR+ Т-клеток, составляет приблизительно 2×10^6 клеток/кг, приблизительно 3×10^6 клеток/кг, приблизительно 4×10^6 клеток/кг, приблизительно 5×10^6 клеток/кг, приблизительно 6×10^6 клеток/кг, приблизительно 7×10^6 клеток/кг, приблизительно 8×10^6 клеток/кг, приблизительно 9×10^6 клеток/кг, приблизительно 1×10^7 клеток/кг, приблизительно 2×10^7 клеток/кг, приблизительно 3×10^7 клеток/кг, приблизительно 4×10^7 клеток/кг, приблизительно 5×10^7 клеток/кг, приблизительно 6×10^7 клеток/кг, приблизительно 7×10^7 клеток/кг, приблизительно 8×10^7 клеток/кг или приблизительно 9×10^7 клеток/кг. В одном варианте осуществления количество Т-клеток с CAR к CD19 составляет 2×10^6 клеток/кг с максимальной дозой 2×10^8 клеток для субъектов с массой тела ≥ 100 кг. В другом варианте осуществления количество Т-клеток с CAR к CD19 составляет $0,5 \times 10^6$ клеток/кг с максимальной дозой $0,5 \times 10^8$ клеток для субъектов с массой тела ≥ 100 кг.

[0147] Перед введением Т-клеточной терапии пациенты могут быть подвергнуты предкондиционированию или лимфодеплеции. Пациент может быть подвергнут предкондиционированию в соответствии с любыми способами, известными из уровня техники, включая, без ограничения, лечение одним или несколькими химиотерапевтическими средствами и/или лучевой терапией. В некоторых аспектах предкондиционирование может включать любое лечение, которое снижает количество эндогенных лимфоцитов, удаляет цитокиновый слив, увеличивает уровень в сыворотке крови одного или нескольких гомеостатических цитокинов или провоспалительных факторов, усиливает эффекторную функцию Т-клеток, вводимых после кондиционирования, усиливает активацию и/или доступность антигенпрезентирующих клеток или любую их комбинацию перед Т-клеточной терапией. Предкондиционирование может включать повышение уровня в сыворотке крови одного или нескольких цитокинов у субъекта. Способы дополнительно включают введение химиотерапевтического средства. Химиотерапевтическое средство может представлять собой лимфодеплецирующее (предкондиционирующее) химиотерапевтическое средство. Эффективные схемы предкондиционирования, наряду с корреляционными эффективными биомаркерами, описаны в патенте США № 9855298, который включен в данный документ посредством ссылки в полном объеме. В них описаны, например, способы кондиционирования пациента, нуждающегося в Т-клеточной терапии, включающей введение пациенту определенных эффективных доз циклофосфида (от $200 \text{ мг/м}^2/\text{день}$ до $2000 \text{ мг/м}^2/\text{день}$) и определенных доз флударабина (от $20 \text{ мг/м}^2/\text{день}$ до $900 \text{ мг/м}^2/\text{день}$). Одна такая схема введения доз включает лечение пациента, включающее введение пациенту один раз в день приблизительно $500 \text{ мг/м}^2/\text{день}$ циклофосфида и приблизительно $60 \text{ мг/м}^2/\text{день}$ флударабина в течение трех дней до введения терапевтически эффективного количества клеточного сконструированных Т-клеток пациенту. В одном аспекте режим кондиционирования включает циклофосфамид в дозе 500 мг/м^2 + флударабин в дозе 30 мг/м^2 в течение 3 дней. Их можно вводить в дни -4, -3 и -2 или в дни -5, -4 и -3 (день 0 представляет собой день введения клеток). В одном варианте осуществления режим кондиционирования включает циклофосфамид в дозе 200 мг/м^2 , 250 мг/м^2 , 300 мг/м^2 , 400 мг/м^2 , 500 мг/м^2 один раз в день течение 2, 3 или 4 дней, и флударабина в дозе 20 мг/м^2 , 25 мг/м^2 или 30 мг/м^2 в течение 2, 3 или 4 дней. В одном варианте осуществления и после лейкофереза кондиционирующую химиотерапию (флударабин в дозе $30 \text{ мг/м}^2/\text{день}$ и циклофосфамид в дозе 500

мг/м²/день) вводят в дни -5, -4 и -3 перед внутривенной инфузией суспензии Т-клеток с CAR к CD19. В некоторых вариантах осуществления время внутривенной инфузии составляет от 15 до 120 минут. В одном варианте осуществления время внутривенной инфузии составляет от 1 до 240 минут. В некоторых вариантах осуществления время внутривенной инфузии составляет до 30 минут. В некоторых вариантах осуществления время внутривенной инфузии составляет до 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или до 100 минут. В некоторых вариантах осуществления объем инфузии составляет от 50 до 100 мл. В некоторых вариантах осуществления объем инфузии составляет от 20 до 100 мл. В некоторых вариантах осуществления объем инфузии составляет приблизительно 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60 или приблизительно 65 мл. В некоторых вариантах осуществления объем инфузии составляет приблизительно 68 мл. В некоторых вариантах осуществления суспензию замораживали и использовали в пределах 6, 5, 4, 3, 2, 1 часа после размораживания. В некоторых вариантах осуществления суспензию не замораживали. В некоторых вариантах осуществления иммунотерапевтическое средство инфузируют из пакета для инфузии. В некоторых вариантах осуществления пакет для инфузии перемешивают во время инфузии. В некоторых вариантах осуществления иммунотерапевтическое средство вводят в течение 3 часов после размораживания. В некоторых вариантах осуществления суспензия дополнительно содержит альбумин. В некоторых вариантах осуществления альбумин присутствует в количестве приблизительно 2–3% (об./об.). В некоторых вариантах осуществления альбумин присутствует в количестве приблизительно 2,5% (об./об.). В некоторых вариантах осуществления альбумин присутствует в количестве приблизительно 1%, 2%, 3%, 4% или 5% (об./об.). В некоторых вариантах осуществления альбумин представляет собой человеческий альбумин. В некоторых вариантах осуществления суспензия дополнительно содержит DMSO. В некоторых вариантах осуществления DMSO присутствует в количестве приблизительно 4–6% (об./об.). В некоторых вариантах осуществления DMSO присутствует в количестве приблизительно 5% (об./об.). В некоторых вариантах осуществления присутствует в количестве 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9% или 10% (об./об.).

[0148] Способы, раскрытые в данной документе, можно применять для лечения рака у субъекта, уменьшения размера опухоли, уничтожения опухолевых клеток, предупреждения пролиферации опухолевых клеток, предупреждения роста опухоли, устранения опухоли у пациента, предупреждения рецидива опухоли, предупреждения метастазирования опухоли, индукции ремиссии у пациента или любой их комбинации. В определенных аспектах способы могут индуцировать полный ответ. В других аспектах способы могут индуцировать частичный ответ.

[0149] Различные виды рака, которые могут подлежать лечению, включают опухоли, которые не являются васкуляризованными, не являются по сути васкуляризованными или являются васкуляризованными. Рак также может также включать солидные или несоллидные опухоли.

[0150] В одном варианте осуществления способ можно применять для лечения злокачественного В-клеточного новообразования, характеризующегося высокими уровнями циркулирующих CD19-экспрессирующих опухолевых клеток, и он будет показан для отдельной популяции пациентов с высокой неудовлетворенной потребностью.

[0151] Иллюстративное лечение МКЛ

[0152] В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование может представлять собой мантийноклеточные лимфомы (МКЛ). МКЛ представляет собой агрессивный подтип неходжкинской лимфомы (НХЛ). МКЛ составляет примерно 6% всех новых случаев НХЛ в Соединенных Штатах Америки (США) и от 5% до 7% злокачественной лимфомы в западной Европе. По оценкам ежегодная заболеваемость МКЛ составляет примерно 1–2 на 100000 человек в США и Европе. МКЛ более вероятна у мужчин, чем у женщин, а средний возраст при диагнозе составляет 68 лет. В некоторых вариантах осуществления р/р МКЛ является р/р к лечению трансплантатом аллогенных стволовых клеток (алло-SCT), который сам по себе может приводить к длительной ремиссии у примерно 25% пациентов с рецидивирующей или рефрактерной (р/р) МКЛ, если заболевание у них, как было показано, является химиочувствительным перед трансплантацией, но алло-SCT также ассоциируется с показателями смертности, связанной с лечением, составляющими до 40%.

[0153] В некоторых вариантах осуществления р/р МКЛ является р/р к лечению бортезомибом, леналидомидом и темсилолимусом, что само по себе приводит к значению ORR в диапазоне от 22% до 32%. Ингибиторы тирозинкиназы Брутона (ВТК), такие как ибрутиниб и акалабрутиниб, приводят к значению ORR, составляющему 68% и 81% соответственно у пациентов с р/р МКЛ. Однако большинство пациентов прогрессируют после лечения ингибиторами ВТК и имеют неудовлетворительные результаты терапии спасения, при этом значение ORR находится в диапазоне от 20% до 42%, медианные продолжительности ответа (DOR) находятся в диапазоне от 3 до 5,4 месяцев, и медианное значение OS находится в диапазоне от 2,5 до 9 месяцев. В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлена возможность использования CAR Т-клеточных вмешательств для лечения различных видов рака с неблагоприятными прогностическими факторами, такими как высокая экспрессия индекса пролиферации опухоли Ki67 ($\geq 30\%$ или $\geq 50\%$) и мутированный TP53. В некоторых вариантах осуществления рак представляет МКЛ. В некоторых вариантах осуществления морфология МКЛ представляет собой классической, плеоморфной или бластоидной. В некоторых вариантах осуществления индекс Ki-67 может составлять от 5% до 80%. В некоторых вариантах осуществления индекс Ki-67 составляет приблизительно 38%. В некоторых вариантах осуществления пациенты с высоким риском имеют Ki-67 $\geq 50\%$ и/или мутацию TP53, определенную с помощью секвенирования следующего поколения. В некоторых вариантах осуществления возраст пациента составляет ≥ 18 лет. В некоторых вариантах осуществления МКЛ является патологически подтвержденным документально сверхэкспрессией циклина D1 и/или наличием t(11:14).

[0154] В некоторых вариантах осуществления CAR Т-клеточные вмешательства включают Т-клетки, которые экспандируют из популяции Т-клеток, деплецированной в отношении циркулирующих клеток лимфомы, и обогащенных CD4+/CD8+ Т-клетками посредством положительного отбора мононуклеарных клеток из образца лейкофереза, которые активируются антителами к CD3 и к CD28 в присутствии IL-2, а затем трансдуцируются неспособным к репликации вирусным вектором, содержащим конструкцию на основе CAR к CD19. В некоторых вариантах осуществления конструкция CAR представляет собой CAR к FMC63-28Z. CAR Т-клетка, полученная с использованием этого способа, может обозначаться в виде КТЕ-X19. В некоторых вариантах осуществления клетки являются аутологичными. В некоторых вариантах осуществления клетки являются гетерологичными. В некоторых вариантах осуществления доза CAR-положительных Т-клеток составляет 2×10^6 Т-клеток с CAR к

CD19/кг. В некоторых вариантах осуществления доза CAR-положительных Т-клеток составляет 1×10^6 Т-клеток с CAR к CD19/кг. В некоторых вариантах осуществления доза CAR-положительных Т-клеток составляет $1,6 \times 10^6$ Т-клеток с CAR к CD19/кг, $1,8 \times 10^6$ Т-клеток с CAR к CD19/кг или $1,9 \times 10^6$ Т-клеток с CAR к CD19/кг. В некоторых вариантах осуществления конструкция на основе CAR к CD19 содержит домен активации Т-клеток CD3 ζ и сигнальный домен CD28.

[0155] В некоторых вариантах осуществления CAR Т-клетки вводят в виде однократной инфузии в день 0 после кондиционирующей терапии с помощью 25 мг/м²/день флударабина в дни -5, -4 и -3 и 900 мг/м²/день циклофосфида в день -2 после лейкафереза. В некоторых вариантах осуществления кондиционирующая терапия включает 300 мг/м²/день циклофосфида и 30 мг/м²/день флударабина в течение 3 дней. В некоторых вариантах осуществления кондиционирующая химиотерапия включает 30 мг/м²/день флударабина и 500 мг/м²/день циклофосфида в дни -5, -4 и -3. В некоторых вариантах осуществления пациент также может получать ацетаминофен и дифенгидрамин или другой H1-антигистамин за примерно 30–60 минут до инфузии Т-клеток с CAR к CD19. В некоторых вариантах осуществления пациенты получают одну или несколько дополнительных доз Т-клеток с CAR к CD19.

[0156] В некоторых вариантах осуществления рак в виде МКЛ представляет собой рецидивирующую/рефрактерную МКЛ (р/р МКЛ). В некоторых вариантах осуществления пациент получал одно или несколько предшествующих видов лечения. В некоторых вариантах осуществления пациент получал 1–5 предшествующих видов лечения. В некоторых вариантах осуществления предшествующие виды лечения могли включать аутологичную SCT, антитело к CD20, химиотерапию, включающую антрациклин или бендамустин, и/или ингибитор тирозинкиназы Брутона (ВТКі). В некоторых вариантах осуществления ВТКі представляет собой ибрутиниб (Ibr). В некоторых вариантах осуществления ВТКі представляет собой акалабрутиниб (Acala). В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлено, что пациенты с МКЛ, которые ранее получали лечение ибрутинибом, имели более выраженный ответ на терапию Т-клетками с CAR к CD19 по сравнению с пациентами, ранее получавшими акалабрутиниб. Соответственно, в настоящем изобретении представлен способ лечения р/р МКЛ с помощью Т-клеток с CAR к CD19, при этом пациент ранее получал лечение ибрутинибом или акалабрутинибом и рак которого предпочтительно является рецидивирующим/рефрактерным. В некоторых вариантах осуществления ВТКі представляет собой тирабрутиниб (ONO-4059), занубрутиниб (BGB-3111), CGI-1746 или спебрутиниб (AVL-292, CC-292).

[0157] В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлено, что для пациентов с предшествующим лечением Ibr, Acala или и тем и другим, медианные (диапазон) пиковые уровни CAR Т-клеток составляли 95,9 (0,4–2589,5), 13,7 (0,2–182,4) или 115,9 (17,2–1753,6) соответственно. В некоторых вариантах осуществления частоты ORR/CR для терапии Т-клетками с CAR к CD19 у пациентов с МКЛ составляли 94%/65% у пациентов с предыдущим применением Ibr, 80%/40% у пациентов с предыдущим применением Acala и 100%/100% у пациентов с обоими ВТКі. В некоторых вариантах осуществления 12-месячная выживаемость у пациентов с предыдущим применением Ibr, Acala или и того и другого составляла 81%, 80% или 100% соответственно. В некоторых вариантах осуществления экспансия CAR Т-клеток ассоциирована с частотой ORR/CR у пациентов, ранее получавших лечение Ibr и/или Acala. Соответственно, в одном варианте

осуществления пациент получает лечение как Ibr, так и Acala. В одном варианте осуществления в настоящем изобретении представлен способ прогнозирования ORR/CR у пациента с МКЛ, ранее получавшего лечение Ibr и/или Acala, путем измерения пиковых уровней CAR Т-клеток и их сравнения с эталонным стандартом. В одном варианте осуществления в настоящем изобретении представлен способ прогнозирования текущего ответа на основе измерения пиковых уровней CAR Т-клеток/исходной опухолевой нагрузки (CEN и INV). В одном варианте осуществления более высокое соотношение представляет собой более высокую вероятность текущего ответа в/через 12 месяцев. В одном варианте осуществления соотношение между 0,00001 и 0,005 является прогностическим для отсутствия ответа в/через 12 месяцев. В одном варианте осуществления соотношение 0,006 и 0,3 является прогностическим для рецидива в/через 12 месяцев. В одном варианте осуществления соотношение между 0,4 и 1 является прогностическим для текущего ответа в/через 12 месяцев. В одном варианте осуществления соотношения могут быть определены специалистом в данной области техники на основе средних значений популяций.

[0158] В некоторых вариантах осуществления дополнительные критерии включения включают критерии, которые перечислены в Примере 2. В некоторых вариантах осуществления дополнительные критерии исключения включают критерии, которые перечислены в Примере 2.

[0159] В некоторых вариантах осуществления пациент может перенести переходную терапию (после лейкафереза и до химиотерапии) дексаметазоном (например, в дозе 20–40 мг или PO или IV введение эквивалента один раз в день в течение 1–4 дней), метилпреднизолоном, ибрутинибом (например, 560 мг PO один раз в день) и/или акалабрутибом (например, 100 мг PO два раза в день) после лейкафереза, которая может завершаться, например, через 5 дней или меньше до кондиционирующей химиотерапии. В некоторых вариантах осуществления такой пациент мог иметь высокое бремя заболеваний. В некоторых вариантах осуществления переходную терапию выбирают из иммуномодулятора, R-CHOP, бендамустина, алкилирующих средств и/или средств на основе платины.

[0160] В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлено то, что все пациенты с МКЛ, которые отвечали на инфузию CAR Т-клеток, достигали экспансии Т-клеток, в то время как у пациентов, не отвечающих на лечение, экспансия не наблюдалась. В некоторых вариантах осуществления ответ представляет собой объективный ответ (полный ответ + частичный ответ). В настоящем изобретении представлено, что уровни CAR Т-клеток коррелируют с ORR в первые 28 дней, где площадь под кривой в дни от 0 до 28 (AUC_{0-28}) и пиковые уровни составляли в > 200 раз выше у пациентов, отвечавших на лечение, по сравнению с пациентами, не отвечавшими на лечение, что свидетельствует о том, что более высокая экспансия приводила к лучшему и, возможно, более глубокому ответу, как также указано по > 80 раз высоким пиковым уровням/уровням AUC CAR Т-клеток у отрицательных в отношении минимального остаточного заболевания (MRD, чувствительность 10^{-5}) пациентов по сравнению с положительными в отношении MRD пациентами (на неделе 4). Соответственно, в настоящем изобретении представлен способ прогнозирования ответа пациента и MRD на лечение CAR Т-клетками МКЛ, включающий измерение пиковых уровней/уровней AUC CAR Т-клеток и сравнение их с эталонным стандартом. В некоторых вариантах осуществления пиковая экспансия CAR Т-клеток наблюдается между днями 8 и 15 после введения CAR Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления уровни CAR Т-клеток

измеряют с помощью qPCR. В некоторых вариантах осуществления пиковые уровни CAR Т-клеток, AUC_{0-28} и/или MRD подвергают мониторингу с помощью секвенирования следующего поколения. В некоторых примерах количество CAR Т-клеток измеряют в клетках/микролитрах крови. В некоторых примерах количество CAR Т-клеток измеряют с помощью количества копий генов CAR/мкг ДНК хозяина. В некоторых примерах количество CAR Т-клеток измеряют, как описано в Kochenderfer J.N et al. *J. Clin. Oncol.* 2015;33:540–549. В одном варианте осуществления уровни CAR Т-клеток измеряют, как описано в Locke FL et al. *Mol Ther.* 2017;25(1):285-295.

[0161] В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлено, что имеет место разница между экспансией Т-клеток у лиц, отвечающих на лечение, и лиц, не отвечающих на лечение. В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлено, что медианный пиковый уровень Т-клеток с CAR к CD19 у лиц, отвечающих на лечение (с полной ремиссией и частичной ремиссией), составил 102,4 клеток/мкл (диапазон: от 0,2 до 2589,5 клеток/мкл; $n = 51$), и у лиц, не отвечающих на лечение, составил 12,0 клеток/мкл (диапазон: от 0,2 до 1364,0 клеток/мкл; $n = 8$). В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлено, что медианное значение AUC в дни 0–28 (AUC_{0-28}) у пациентов с объективным ответом составляло 1487,0 клеток/мкл•дней (диапазон: $3,8-2,77 \times 10^4$ клеток/мкл • дней; $n = 51$) и 169,5 клеток/мкл • дней у пациентов, не отвечающих на лечение (диапазон: от 1,8 до $1,17 \times 10^4$ клеток/мкл • дней; $n=8$). Медианный пик (24,7 клеток/мкл) Т-клеток с CAR к CD19 (пиковые и AUC_{0-28} уровни (360,4 клеток/мкл • дней) у пациентов ($n = 18$), которые не получали ни кортикостероидов, ни тоцилизумаба, был аналогичным с теми пациентами ($n = 2$), которые получали только кортикостероиды (пик: 24,2 клеток/мкл; AUC_{0-28} : 367,8 клеток/мкл • дней). У пациентов, которые получали только тоцилизумаб ($n = 10$), средние пиковые уровни Т-клеток с CAR к CD19 составляли 86,5 клеток/мкл, а уровни AUC_{0-28} составляли 1188,9 клеток/мкл • дней. У пациентов, которые получали как кортикостероиды, так и тоцилизумаб ($n = 37$), средний пик составлял 167,2 клеток/мкл и AUC_{0-28} составлял 1996,0 клеток/мкл • дней. Медианные пиковые значения Т-клеток с CAR к CD19 составляли 74,1 клеток/мкл у пациентов в возрасте ≥ 65 лет ($n = 39$) и 112,5 клеток/мкл у пациентов в возрасте < 65 лет ($n = 28$). Медианные значения AUC_{0-28} Т-клеток с CAR к CD19 составляли 876,5 клеток/мкл • день у пациентов в возрасте ≥ 65 лет и 1640,2 клеток/мкл • день у пациентов в возрасте < 65 лет. Пол не оказывал существенного влияния на AUC_{0-28} и C_{max} Т-клеток с CAR к CD19. Соответственно, в настоящем изобретении представлен способ прогнозирования ответа при МКЛ, включающий измерение экспансии Т-клеток после лечения Т-клетками с CAR к CD19 и сравнение уровня с эталонным стандартом.

[0162] В некоторым вариантах осуществления в настоящем изобретении представлено, что экспансия CAR Т-клеток была выше у пациентов с МКЛ со степенью ≥ 3 , чем у пациентов со степенью тяжести CRS и NE ≤ 3 . Соответственно, в настоящем изобретении представлен способ прогнозирования CRS и NE со степенью тяжести ≥ 3 , включающий измерение экспансии CAR Т-клеток после обработки CAR Т-клетками и сравнение уровней с эталонным значением, причем чем более высокой является экспансия CAR Т-клеток, тем выше вероятность развития CRS и NE степени тяжести ≥ 3 .

[0163] В некоторых вариантах осуществления уровни цитокинов измеряют по уровням белка или мРНК (белков) или представляют ими. В некоторых вариантах осуществления уровни цитокинов измеряют, как описано в Locke FL et al. *Mol Ther.* 2017;25(1):285-295.

[0164] В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлено, что пиковые уровни GM-CSF и IL-6 в сыворотке крови (достигаемые через приблизительно 8 дней после введения CAR Т-клеток) были положительно ассоциированы с CRS степени тяжести ≥ 3 и NE степени тяжести ≥ 3 у пациентов с МКЛ. Соответственно, в настоящем изобретении представлен способ прогнозирования CRS степени тяжести ≥ 3 и NE степени тяжести ≥ 3 , включающий измерение пиковых уровней GM-CSF и IL-6 после введения CAR Т-клеток и сравнение их с эталонным уровнем, при этом чем более высоким является пиковый уровень этих цитокинов, тем выше вероятность CRS и NE степени тяжести ≥ 3 .

[0165] В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлено, что ферритин сыворотки крови был положительно ассоциирован с CRS степени тяжести ≥ 3 у пациентов с МКЛ. Соответственно, в настоящем изобретении представлен способ прогнозирования CRS степени тяжести ≥ 3 , включающий измерение пиковых уровней ферритина в сыворотке крови после введения CAR Т-клеток и сравнение их с эталонным уровнем, при этом чем более высоким является пиковый уровень ферритина, тем выше вероятность CRS степени тяжести ≥ 3 .

[0166] В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлено, что IL-2 и IFN-гамма в сыворотке крови были положительно ассоциированы с NE степени тяжести ≥ 3 у пациентов с МКЛ. Соответственно, в настоящем изобретении представлен способ прогнозирования CRS степени тяжести ≥ 3 , включающий измерение пиковых уровней IL-2 и IFN-гамма в сыворотке крови после введения CAR Т-клеток и сравнение их с эталонным уровнем, при этом чем более высоким является пиковый уровень IL-2 и IFN-гамма, тем выше вероятность CRS степени тяжести ≥ 3 .

[0167] В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлено, что уровни С-реактивного белка, ферритина, IL-6, IL-8 и молекулы адгезии сосудистого эндотелия (VCAM) в спинномозговой жидкости положительно ассоциированы с NE степени тяжести ≥ 3 у пациентов с МКЛ. Соответственно, в настоящем изобретении представлен способ прогнозирования CRS степени тяжести ≥ 3 , включающий измерение уровней С-реактивного белка, ферритина, IL-6, IL-8 и/или молекулы адгезии сосудистого эндотелия (VCAM) в спинномозговой жидкости после введения CAR Т-клеток и сравнение их с эталонным уровнем, при этом чем более высокими являются уровни С-реактивного белка, ферритина, IL-6, IL-8 и/или молекулы адгезии сосудистого эндотелия (VCAM) в спинномозговой жидкости, тем выше вероятность NE степени тяжести ≥ 3 . В некоторых вариантах осуществления одно или несколько нежелательных явлений лечили в соответствии с **Таблицей 13** и/или **Таблицей 14**.

[0168] В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлено, что пиковые уровни цитокинов в сыворотке крови, положительно ассоциированные с CRS степени тяжести ≥ 3 , включали IL-15, IL-2 R α , IL-6, TNF α , GM-CSF, ферритин, IL-10, IL-8, MIP-1a, MIP-1b, гранзим А, гранзим В и перфорин. В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлено, что пиковые уровни цитокинов, ассоциированные с NE степени тяжести ≥ 3 , включали IL-2, IL-1 R α , IL-6, TNF α , GM-CSF, IL-12p40, IFN- γ , IL-10, MCP-4, MIP-1b и гранзим В. В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлено, что цитокины, ассоциированные как с CRS, так и с NE степени тяжести ≥ 3 , включали IL-6, TNF α , GM-CSF, IL-10, MIP-1b и гранзим В. В некоторых вариантах осуществления уровни цитокинов в сыворотке крови достигают пика

в течение 7 дней после введения CAR Т-клеток. Соответственно, в настоящем изобретении представлен способ прогнозирования CRS степени тяжести ≥ 3 после введения CAR Т-клеток, включающий измерение пиковых уровней IL-15, IL-2 R α , IL-6, TNF α , GM-CSF, ферритина, IL-10, IL-8, MIP-1a, MIP-1b, гранзима А, гранзима В и/или перфорина в сыворотке крови после лечения Т-клетками с CAR к CD19 и сравнения уровней с эталонным стандартом. Соответственно, в настоящем изобретении также представлен способ прогнозирования CRS степени тяжести ≥ 3 и NE степени тяжести ≥ 3 при МКЛ, включающий измерение пиковых уровней IL-6, TNF α , GM-CSF, IL-10, MIP-1b и гранзима В в сыворотке крови после лечения Т-клетками с CAR к CD19 и сравнения уровней с эталонным стандартом.

[0169] В некоторых вариантах в настоящем изобретении представлено, что существует тенденция к увеличению пиковых уровней пролиферативных (IL-15, IL-2) и воспалительных (IL-6, IL-2R α , sPD-L1 и VCAM-1) цитокинов у пациентов с МКЛ с мутированным *TP53* по сравнению с *TP53* дикого типа. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлен способ улучшения ответа на лечение CAR Т-клетками при МКЛ, включающий манипулирование уровнями пролиферативных и/или воспалительных цитокинов после введения CAR Т-клеток.

[0170] В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлено, что для пациентов, которые были MRD-отрицательными через один месяц после введения CAR Т-клеток, наблюдалось повышение пиковых уровней IFN-гамма и IL-6, а также тенденция к повышению IL-2 по сравнению с пациентами, которые были MRD-положительными через один месяц. Соответственно, в настоящем изобретении представлен способ прогнозирования того, является ли пациент с МКЛ MRD-отрицательным, включающий измерение пиковых уровней IFN-гамма, IL-6 и/или IL-2 в сыворотке крови после лечения Т-клетками с CAR к CD19 и сравнения уровня с эталонным стандартом.

[0171] В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлено, что фенотип Т-клеточного продукта варьировался среди типов МКЛ. В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлено, что в полученном продукте на основе Т-клеток с CAR к CD19, медианные (диапазон) соотношения CD4⁺/CD8⁺ Т-клеток для пациентов с классической, бластоидной или плеоморфной формой МКЛ составляли 0,7 (0,04–2,8), 0,6 (0,2–1,1) или 0,7 (0,5–2,0) соответственно. Фенотипы Т-клеточного продукта (медиана [диапазон]) включали менее дифференцированные CCR7⁺ Т-клетки (классическая форма 40,0% [2,6–88,8]; бластоидная форма 35,3% [14,3–73,4]; плеоморфная форма 80,8% [57,3–88,8]) и эффекторные Т-клетки и эффекторные CCR7⁻ Т-клетки памяти (классическая форма 59,9% [11,1–97,4]; бластоидная форма 64,8% [26,6–85,7]; плеоморфная форма 19,2% [11,1–42,7]). В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлено, что 12-месячная выживаемость у пациентов с классической, бластоидной или плеоморфной формой МКЛ составляла 86,7%, 67,9% или 100% соответственно. Соответственно, в настоящем изобретении представлен способ улучшения лечения классической, бластоидной или плеоморфной формы МКЛ путем манипулирования фенотипом Т-клеточного продукта, вводимого пациенту.

[0172] Иллюстративное лечение В-клеточного ОЛЛ

[0173] В-ОЛЛ клетки, как правило, экспрессируют CD19, а CAR Т-клеточные виды терапии, нацеленные на CD19, представляют собой подход к лечению P/P В-AAL. Pehlivan K.C. et al. *Curr Hematol Malign Rep.*

2018;13(5):396-406 An anti-CD19 CAR T-cell therapy containing a CD3 ζ and CD28 co-stimulatory domain developed at the National Cancer Institute (Kochenderfer JN et al. *J Immunother.* 2009;32(7):689-702; Kochenderfer JN et al. *Blood.* 2010;116(19):3875-3886) продемонстрировали общую частоту ремиссии, составляющей 70% после медианной 10-месячного последующего наблюдения в испытании фазы I у детей и взрослых в возрасте ≤ 30 лет с Р/Р В-ОЛЛ. Lee DW et al. *Lancet.* 2015;385(9967):517-528. Аналогичная конструкция на основе CAR, оцениваемая в испытании фазы I у взрослых с Р/Р В-ОЛЛ, обеспечивала 83% частоту полной ремиссии (CR) и медианную 12,9-месячную выживаемость OS с медианой, составляющей 29 месяцев последующего наблюдения. Park JH et al. *N Engl J Med.* 2018;378(5):449-459. В этих исследованиях CAR-T-клетки получали из образцов лейкофереза, которые не обогащали CD4+/CD8+ Т-клетками.

[0174] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение направлено на Т-клеточный продукт, при этом Т-клетки экспандируют из популяции Т-клеток, деплецированной в отношении циркулирующих клеток лимфомы, и обогащенных CD4+/CD8+ Т-клетками посредством положительного отбора моноклеарных клеток из образца лейкофереза, который активируется антителами к CD3 и к CD28 в присутствии IL-2, а затем трансдуцируется неспособным к репликации вирусным вектором, содержащим конструкцию на основе CAR к CD19. В некоторых вариантах осуществления такой Т-клеточный продукт можно использовать для лечения ОЛЛ, ХЛЛ, ОМЛ. В некоторых вариантах осуществления конструкция CAR представляет собой CAR к FMC63-28Z. В некоторых вариантах осуществления клетки являются аутологичными. В некоторых вариантах осуществления клетки являются гетерологичными. В некоторых вариантах осуществления доза CAR-положительных Т-клеток составляет 2×10^6 Т-клеток с CAR к CD19/кг. В некоторых вариантах осуществления доза CAR-положительных Т-клеток составляет 1×10^6 Т-клеток с CAR к CD19/кг. В некоторых вариантах осуществления доза CAR-положительных Т-клеток составляет $1,6 \times 10^6$ Т-клеток с CAR к CD19/кг, $1,8 \times 10^6$ Т-клеток с CAR к CD19/кг или $1,9 \times 10^6$ Т-клеток с CAR к CD19/кг. В некоторых вариантах осуществления конструкция на основе CAR к CD19 содержит домен активации Т-клеток CD3 ζ и сигнальный домен CD28. В некоторых вариантах осуществления Т-клеточный продукт представляет собой КТЕ-X19. В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлено, что CAR Т-клеточный продукт, полученный, как описано в предыдущем параграфе, может быть использован при В-клеточном ОЛЛ и В-клеточной НХЛ. В одном варианте осуществления Т-клеточный продукт имеет характеристики продуктов из Таблицы 23. В некоторых вариантах осуществления характеристики продукта могут быть выбраны из процентного содержания Т-клеток конкретных подгрупп (наивных, центральных памяти, эффекторных и эффекторных памяти), процентного содержания CD4+ клеток, процентного содержания CD8+ клеток и соотношения CD4/CD8. В некоторых вариантах осуществления характеристика продукта представляет собой уровень продуцирования IFN γ в совместной культуре клеток (пг/мл) с целевыми CD19-экспрессирующими раковыми клетками (например, Toledo), смешанной в соотношении 1:1 с продуктами на основе Т-клеток с CAR к CD19. В одном варианте осуществления IFN γ можно измерять в среде для культивирования клеток через 24 ч после инкубации с использованием отвечающего критериям ELISA. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько из этих характеристик продукта превосходят характеристики CAR Т-клеток, полученных в результате лейкофереза без обогащения CD4+/CD8+ положительными клетками. В некоторых вариантах осуществления превосходящая характеристика продукта

может быть выбрана из повышенного процентного содержания клеток с наивным фенотипом (CD45RA+CCR7+), сниженного процентного содержания клеток с дифференцированным фенотипом (CCR7-), сниженного уровня IFN γ -продуцирующих клеток и повышенного уровня CD8+ клеток. В некоторых вариантах осуществления продукт на основе Т-клеток, направленных на CD19, содержит T_{CM}, центральные Т-клетки памяти (CD45RA-CCR7+); T_{EFF}, эффекторные Т-клетки (CD45RA+CCR7-); T_{EM}, эффекторные Т-клетки памяти (CD45RA-CCR7-); и/или T_N, наивные Т-клетки (CD45RA+CCR7+). В некоторых вариантах осуществления продукт содержит подобные наивным T_NT-клетки, которые обозначают Т-клетки, которые представляют собой CD45RA+CCR7+ и содержат подобные стволовым клеткам клетки памяти. В некоторых вариантах осуществления Т-клеточный продукт представляет собой КТЕ-X19. В некоторых вариантах осуществления КТЕ-X19 характеризуется продуцированием IFN- γ , составляющим ≥ 190 пг/мл. В определенном варианте осуществления КТЕ-X19 характеризуется наличием $\geq 90\%$ CD3+ клеток. В некоторых других вариантах осуществления процентное содержание NK-клеток в КТЕ-X19 составляет 0,1% (диапазон 0,0%-2,8%). В некоторых дополнительных вариантах осуществления процентное содержание CD3⁻ клеточных примесей в КТЕ-X19 составляет 0,5% (диапазон 0,3-3,9%).

[0175] В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рецидивирующий/рефрактерный В-клеточный ОЛЛ. В некоторых вариантах осуществления возраста пациента составляет ≤ 21 года. В некоторых вариантах осуществления возраста пациента составляет ≤ 21 года, масса тела ≥ 10 кг и у него имеется В-клеточный ОЛЛ, который является первичным рефрактерным, рецидивирующим в течение 18 месяцев после первой постановки диагноза, Р/Р после ≥ 2 линий системной терапии или Р/Р после аллогенной трансплантации стволовых клеток за по меньшей мере 100 дней до включения в исследование. В одном варианте осуществления рак представляет собой вялотекущую лимфому или лейкоз. В одном варианте осуществления рак представляет собой агрессивную В-клеточную лимфому, которая включает в себя многие типы, подтипы и варианты диффузной крупноклеточной лимфомы (DLBCL), лимфома Беркитта (BL), лимфомы из клеток мантийной зоны и ее бластоидного варианта и В-лимфобластной лимфомы. DLBCL может представлять собой DLBCL не уточненной природы, крупноклеточную лимфому с высоким содержанием Т-клеток/гистоцитов, первичную DLBCL ЦНС, первичную кожную DLBCL, тип нижних конечностей, EBV-положительную DLBCL у пожилых людей. Другие крупноклеточные лимфомы В-клеток включают первичную медиастинальную (тимическую) опосредованную LBCL, DLBCL, ассоциированную с хроническим воспалением, лимфоматозный грануломатоз, ALK-положительную LBCL, плазмабластическую лимфому, крупноклеточную В-клеточную лимфому, возникающую в отношении HHV8-ассоциированного мультицентрического заболевания Кастанельмана, и первичную выпотную лимфому. Другие типы лимфом включают в себя В-клеточную лимфому, неклассифицируемую, с характеристиками, промежуточными между DLBCL и лимфомой Беркитта, и В-клеточную лимфому, неклассифицируемую, с характеристиками, промежуточными между DLBCL и классической лимфомой Ходжкина, В-клеточную лимфому из клеток маргинальной зоны селезенки, экстранодальной лимфомы из В-клеток маргинальной зоны MALT, нодальной лимфомы из В-клеток маргинальной зоны, волосатоклеточного лейкоза, лимфоплазмоцитарной лимфомы (макроглобулинемии Вальденстрема) и первичной выпотной лимфомы. Рак может быть любой стадии, от стадии 1 до стадии 4.

[0176] ОЛЛ представляет собой распространенное злокачественное новообразование в детском возрасте, составляющее примерно 80% лейкозов у детей и примерно 25% всех видов рака у детей. Примерно 20% пациентов детского возраста не достигают долгосрочной ремиссии после начальной терапии, при этом 5-летняя выживаемость OS составляет приблизительно 55%. Hunger SP, et al. *N Engl J Med*. 2015;373:1541–1552; Sun W, et al. *Leukemia*. 2018;32:2316-2325; Rheingold SR, et al. *J Clin Oncol*. 2019;37(suppl, abstr):10008, и Oskarsson T, et al. *Haematologica*. 2016;101:68-76. Результаты являются неблагоприятными для пациентов, которые рецидивируют раньше или имеют первичное рефрактерное заболевание после первоначального лечения; пациентов с P/P заболеванием после трансплантации; и пациентов с многочисленными рецидивами. Sun W, et al. *Leukemia*. 2018;32:2316-2325; Rheingold SR, et al. *J Clin Oncol*. 2019;37(suppl, abstr):10008; Oskarsson T, et al. *Haematologica*. 2016;101:68-76; Nguyen K, et al. *Leukemia*. 2008;22:2142–2150; Crotta A, et al. *Curr Med Res Opin*. 2018;34:435-440; Schrappe M, et al. *N Engl J Med*. 2012;366:1371–1381. Пациенты, которые рецидивируют в течение 18 месяцев после первоначальной постановки диагноза, обычно имеют 5-летнюю выживаемость OS 21-28%. Rheingold SR, et al. *J Clin Oncol*. 2019;37(suppl, abstr):10008; Nguyen K, et al. *Leukemia*. 2008;22:2142–2150. Вероятность достижения ремиссии и продолжительность EFS снижается с каждой последующей линией терапии спасения. Sun W, et al. *Leukemia*. 2018;32:2316-2325. Результаты остаются неблагоприятными у пациентов детского и подросткового возраста с P/P ОЛЛ после лечения новыми терапевтическими средствами блинатумомабом и инотузумабом озогамидином, при этом выживаемость в течение 1 года составляет примерно 36%, что подчеркивает необходимость более эффективных терапевтических вариантов. von Stackelberg A, et al. *J Clin Oncol*. 2016;34:4381–4389. 10; Bhojwani D, et al. *Leukemia*. 2019;33:884-892.

[0177] В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой В-клеточную НХЛ, а ключевые критерии включения в исследования включают в себя возраст < 18 лет, массу тела ≥ 10 кг, гистологически подтвержденную диффузную В-клеточную лимфому (DLBCL), в ином отношении не уточненной природы, первичную медиастинальную крупноклеточную В-клеточную лимфому, лимфому Беркитта (BL), лимфому, подобную лимфоме Беркитта, или неклассифицированные В-клеточные лимфомы, промежуточные между DLBCL и BL, при этом показатель измеряемого поражения составляет ≥ 1 . В одном варианте осуществления для лечения НХЛ заболевание могло быть первичным рефрактерным, P/P после ≥ 2 линий системной терапии, или P/P после аутологичной или аллогенной трансплантации стволовых клеток за ≥ 100 дней до включения в исследование. Пациенты с острой реакцией «трансплантат против хозяина» или хронической реакцией «трансплантат против хозяина», требующей лечения в течение 4 недель после включения, могут не отвечать критериям включения в исследования.

[0178] В некоторых вариантах осуществления эти пациенты с В-клеточным ОЛЛ и/или В-клеточной НХЛ получают кондиционирующую химиотерапию флударабином в дозе 25 мг/м²/день в дни -4, -3 и -2, и циклофосфамидом в дозе 900 мг/м²/день в день -2, затем однократную инфузию CD4+/CD8+-обогащенных Т-клеток с CAR к CD19 (приготовленных, как описано непосредственно выше) в целевой дозе 1×10^6 Т-клеток/кг с CAR к CD19 в день 0.

[0179] В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлено применение обогащенных CD4+/CD8+/деплементированных в отношении раковых клеток Т-клеток с CAR к CD19, для успешного

лечения В-клеточного ОЛЛ, где возраст пациента составляет ≥ 18 лет, у него имеется Р/Р В-клеточный ОЛЛ, определяемый как рефрактерный к терапии первой линии (т.е. первичный рефрактерный), рецидивирующий через ≤ 12 месяцев после первой ремиссии, рецидивирующий или рефрактерный после ≥ 2 предыдущих линий системной терапии или рецидивирующий после аллогенной трансплантации стволовых клеток (SCT). В некоторых вариантах осуществления пациенты должны были иметь $\geq 5\%$ бластов костного мозга, оценку общего состояния согласно Восточной объединенной онкологической группе 0 или 1, и адекватную почечную, печеночную и сердечную функцию. Для пациентов, которые ранее получали блинатумомаб, требовались лейкозные бласты с экспрессией CD19 $\geq 90\%$. Пациенты с положительным в отношении филадельфийской хромосомы (Ph+) заболеванием, сопутствующим экстрамедуллярным заболеванием, заболеванием центральной нервной системы (ЦНС)-2 (бластные клетки в спинномозговой жидкости [СМЖ] с < 5 лейкоцитов/мм³) без неврологических изменений и пациенты с синдромом Дауна могли быть включены в исследование. Исключениями были заболевания ЦНС-3 (бластные клетки в спинномозговой жидкости с ≥ 5 лейкоцитов/мм³), независимо от неврологических изменений и расстройств ЦНС в анамнезе. В некоторых вариантах осуществления в Примере 9 описаны дополнительные критерии включения и исключения.

[0180] В некоторых вариантах осуществления пациент может иметь рак, который является первичным рефрактерным. В некоторых вариантах осуществления пациент может иметь рак, который является рецидивирующим после SCT. В некоторых вариантах осуществления пациент мог ранее получать блинатумомаб, который мог представлять собой последнюю терапию, применяемую до терапии на основе Т-клеток с CAR к CD19. В некоторых вариантах осуществления характеристики исходного уровня пациента являются таковыми, как у любого из пациентов, описанных в Таблице 18.

[0181] В некоторых вариантах осуществления этим пациентам с В-клеточным ОЛЛ вводят 2×10^6 , 1×10^6 или $0,5 \times 10^6$ CAR Т-клеток/кг. В некоторых вариантах осуществления $0,5 \times 10^6$ CAR Т-клеток/кг вводят в составе с общим объемом 40 мл. В другом варианте осуществления $0,5 \times 10^6$ CAR Т-клеток/кг вводят в составе с общим объемом 68 мл. В некоторых вариантах осуществления CAR Т-клеточный продукт составляют в общем объеме, составляющем 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 200, 300, 400, 500, 500, 700, 800, 900 или 1000 мл. В некоторых вариантах осуществления состав объемом 40 мл предназначен для поддержания плотности клеток и жизнеспособности клеток во время процесса замораживания/размораживания.

В некоторых вариантах осуществления лечение ассоциировано с нежелательными явлениями. В некоторых вариантах осуществления одно или несколько нежелательных явлений лечат в соответствии с любым средством из Таблицы 13, 14, 16 или их комбинациями. В некоторых вариантах осуществления одно или несколько нежелательных явлений лечат в соответствии с исходными рекомендациями по лечению из Таблицы 16. В некоторых вариантах осуществления одно или несколько нежелательных явлений лечат в соответствии с пересмотренными рекомендациями по лечению из Таблицы 16. В некоторых вариантах осуществления можно вводить вазопрессоры для лечения CRS. В некоторых вариантах осуществления признаки или симптомы, ассоциированные с CRS, включают в себя лихорадку, озноб, усталость, тахикардию, тошноту, гипоксию и гипотензию. В некоторых вариантах осуществления признаки или симптомы, ассоциированные с

неврологическими явлениями, включают энцефалопатию, судороги, изменение уровня сознания, расстройства речи, тремор и спутанность сознания.

[0182] В некоторых вариантах осуществления пациент может иметь высокое бремя заболеваний на исходном уровне, которое определяется как наличие $> 25\%$ лейкозных бластов в костном мозге или ≥ 1000 бластов/ мм^3 в периферическом кровотоке на основе локального обзора. В некоторых вариантах осуществления пациенты могут получать переходную химиотерапию после лейкафереза и до кондиционирующей химиотерапии. В некоторых вариантах осуществления переходная химиотерапия соответствует одному из предварительно определенных переходных схем химиотерапии из **Таблицы 17**.

[0183] В некоторых вариантах осуществления схему кондиционирующей химиотерапии/лимфодеплекции осуществляют после периода вымывания ≥ 7 дней или после 5 периодов полужизни (если они короче) от начала переходной химиотерапии. В некоторых вариантах осуществления схема кондиционирующей химиотерапии/лимфодеплекции состоит из внутривенного введения (IV) флударабина в дозе $25 \text{ мг/м}^2/\text{день}$ в дни -4, -3 и -2 и IV введения циклофосфида в дозе $900 \text{ мг/м}^2/\text{день}$ в день -2. В день 0 можно вводить одну инфузию Т-клеток к CAR к CD19. В некоторых вариантах осуществления дополнительные инфузии Т-клеток с CAR к CD19 можно вводить позднее. В некоторых вариантах осуществления пациенты, достигшие полного ответа на первую инфузию, могут получать вторую инфузию Т-клеток с CAR к CD19, если прогрессирование происходит после > 3 месяцев ремиссии, при условии, что экспрессия CD19 была сохранена, а нейтрализующие антитела против CAR не предполагаются.

[0184] В некоторых вариантах осуществления для измерения наличия, экспансии и устойчивости трансдуцированных Т-клеток с CAR+ к CD19 в крови можно использовать цифровую капельную полимеразную цепную реакцию. В некоторых вариантах осуществления процедура описана в Locke F.L. et al. *Mol Ther.* 2017;25(1):285-295. В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлен способ лечения, в котором уровни CAR Т-клеток соответствуют описанным в **Таблице 22**. В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлено, что CAR Т-клетки могут быть необнаружимыми при рецидиве. Медианные пиковые уровни CAR Т-клеток могут быть наиболее высокими в случае 1×10^6 CAR Т-клеток/кг и могут быть аналогичными у пациентов, которые получали исходное лечение по сравнению с пересмотренным лечением АЕ. В некоторых вариантах осуществления пациенты, достигшие CR/CRi, имели более высокую медианную пиковую экспансию, чем лица, не отвечающие на лечение, как и пациенты с необнаруживаемым по сравнению с обнаружимым MRD. Более высокий медианный пик экспансии также наблюдали у пациентов с NE степени тяжести ≥ 3 по сравнению с пациентам с NE со степенью тяжести ≤ 2 . Некоторые пациенты, у которых наступает рецидив, могут иметь обнаружимые CD19-положительные клетки при рецидиве или могут не иметь обнаружимых CD19-положительных клеток. В некоторых вариантах осуществления необнаружимое MRD, определяемое как < 1 лейкозная клетка на 10000 жизнеспособных клеток, может быть оценено с помощью проточной цитометрии (NeoGenomics, Fort Myers, FL) согласно способам, описанным в Borowitz MJ, Wood BL, Devidas M, et al. *Blood.* 2015;126(8):964-971; Bruggemann M. et al. *Blood Adv.* 2017;1(25):2456-2466; или Gupta S. et al. *Leukemia.* 2018;32(6):1370-1379.

[0185] В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлено, что пиковые уровни некоторых цитокинов, хемокинов и провоспалительных маркеров наблюдали в день 7. В некоторых вариантах осуществления некоторые из них имели тенденцию к более высоким уровням у пациентов, которым вводили 2×10^6 по сравнению с 1×10^6 CAR Т-клеток/кг (IL-15, CRP, SAA, CXCL10, IFN γ) или более низким уровням у пациентов, получавших пересмотренное лечение АЕ по сравнению с исходным лечением АЕ (IL-6, ферритин, IL-1RA, IFN γ , IL-8, CXCL10, MCP-1). В некоторых вариантах осуществления уровни этих белков/изменений биомаркеров изменяются, как описано на Фиг. 9; Фиг. 10; и Фиг. 11). Соответственно, в некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены способы применения этих уровней белка в качестве биомаркеров для CRS степени тяжести ≥ 3 и/или степени тяжести 0–2. В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены способы применения этих уровней белка в качестве биомаркеров для CRS степени тяжести ≥ 3 и/или степени тяжести 0–2, в соответствии с их значениями на Фиг. 11.

[0186] В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлено, что пиковые уровни IL-15 в сыворотке крови ниже у пациентов с CRS степени тяжести ≥ 3 . В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлено, что медианные пиковые уровни нескольких провоспалительных маркеров имели тенденцию к более высоким уровням у пациентов с CRS степени тяжести ≥ 3 и у пациентов с NE степени тяжести ≥ 3 (IFN γ , IL-8, GM-CSF, IL-1RA, CXCL10, MCP-1, гранзим В), как описано на Фиг. 11. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлен способ прогнозирования того, разовьется ли у пациента CRS степени тяжести ≥ 3 , путем измерения пиковых уровней IL-15 в сыворотке крови и сравнения с эталонным стандартом. В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлен способ прогнозирования того, собирается ли пациент иметь CRS степени тяжести ≥ 3 и/или NE степени тяжести ≥ 3 путем измерения пиковых уровней IFN γ , IL-8, GM-CSF, IL-1RA, CXCL10, MCP-1 и/или гранзима В и сравнения с эталонным стандартом. В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлен способ улучшения терапии на основе Т-клеток с CAR к CD19 посредством введения средств, которые уменьшают уровни одного или нескольких из этих биомаркеров.

[0187] Эталонные уровни/стандарты могут быть установлены любым способом, известным специалисту в данной области техники. Они служат для идентификации пороговых значений или групп значений (например, квартилей), на основании которых можно выполнить сравнение, чтобы определить, в какой группе, или выше или ниже порогового значения находится измеряемое значение (уровень цитокинов, количество CAR Т-клеток и т.д.) для каждого рассматриваемого снижения. Эти группы определяют из сравнения различных популяций, выбранных в качестве типичных в данной области техники. В зависимости от того, снижается ли измеренное значение, можно прогнозировать количество характеристик лечения, таких как объективный ответ, степень тяжести CRS, степень тяжести NE и т.п.

[0188] В определенных вариантах осуществления рак может быть выбран из опухоли, происходящей из острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ), острого миелоидного лейкоза (ОМЛ), аденоидной кистозной карциномы, аденокортикальной карциномы, видов рака, связанных со СПИДом, рака анального канала, рака аппендикса, астроцитом, атипичной тератоидной/рабдоидной опухоли, центральной нервной система, В-клеточного лейкоза, лимфомы или других В-клеточных злокачественных новообразований, базально-клеточной карциномы, рака

желчных протоков, рака мочевого пузыря, рака кости, остеосаркомы и злокачественной фиброзной гистиоцитомы, глиомы ствола головного мозга, опухолей головного мозга, рака молочной железы, опухолей бронхов, лимфомы Беркитта, карциноидных опухолей, видов рака центральной нервной системы, рака шейки матки, хордомы, хронического лимфолейкоза (ХЛЛ), хронического миелогенного лейкоза (ХМЛ), хронических миелопролиферативных заболеваний, рака толстой кишки, колоректального рака, краниофарингиомы, кожных Т-клеточных лимфом, эмбриональных опухолей, центральная нервная система, рака эндометрия, эпендимобластомы, эпендимомы, рака пищевода, эстезионейробластомы, опухолей семейства саркомы Юинга, экстракраниальной герминогенной опухоли, внегонадной герминогенной опухоли, рака внепеченочных желчных протоков, рака глаза, фиброзной гистиоцитомы кости, злокачественной, и остеосаркомы, рака желчного пузыря, рака желудка (желудочно-кишечного тракта), карциноидной опухоли желудочно-кишечного тракта, стромальных опухолей желудочно-кишечного тракта (GIST), саркомы мягких тканей, герминогенной опухоли, гестационной трофобластической опухоли, глиомы, волосатоклеточного лейкоза, рака головы и шеи, рака сердца, гепатоцеллюлярного (печеночного) рака, гистиоцитоза, лимфомы Ходжкина, гипофарингеального рака, внутриглазной меланомы, опухолей островковых клеток (эндокринных поджелудочной железы), саркомы Капоши, рака почки, гистиоцитоза клеток Лангерганса, рака гортани, лейкоза, рака губы и полости рта, рака печени (первичного), дольковой карциномы *in situ* (LCIS), рака легкого, лимфомы, макроглобулинемии, рака молочной железы у мужчин, злокачественной фиброзной гистиоцитомы кости и остеосаркомы, медуллобластомы, медуллоэпителиомы, меланомы, карциномы клеток Меркеля, мезотелиомы, метастатического плоскоклеточного рака шеи со скрытой первичной карциномой срединного тракта с участием гена NUT, рака ротовой полости, синдромов множественной эндокринной неоплазии, множественной миеломы/неоплазии плазматических клеток, грибовидного микоза, миелодиспластических синдромов, миелодиспластических/миелопролиферативных новообразований, миелолейкоза, хронического (ХМЛ), миелоидного лейкоза, острого миелоидного лейкоза (АМЛ), миеломы, множественной, миелопролиферативных нарушений, рака полости носа и околоносовых пазух, рака носоглотки, нейробластомы, неходжкинской лимфомы, немелкоклеточного рака легкого, рака рта, рака полости рта, рака ротоглотки, остеосаркомы и злокачественной фиброзной гистиоцитомы кости, рака яичников, рака поджелудочной железы, папилломатоза, параганглиомы, рака придаточных пазух носа и полости носа, рака парашитовидной железы, рака полового члена, рака глотки, феохромоцитомы, паренхиматозных опухолей шишковидной железы промежуточной дифференцировки, пинеобластомы и супратенториальных примитивных нейроэктодермальных опухолей, опухоли гипофиза, плазмоклеточного новообразования/множественной миеломы, плевропульмональной бластомы, беременности и рак молочной железы, первичной лимфомы центральной нервной системы (ЦНС), рака предстательной железы, рака прямой кишки, рака почки (почечного рака), почечной лоханки и мочеточника, переходно-клеточного рака, ретинобластомы, рабдомиосаркомы, рака слюнных желез, саркомы, синдрома Сезари, мелкоклеточного рака легкого, рака тонкой кишки, саркомы мягких тканей, плоскоклеточного рака, плоскоклеточного рака шеи, рака желудка (желудочно-кишечного тракта), супратенториальных примитивных нейроэктодермальных опухолей, Т-клеточной лимфомы, рака кожи, рака яичка, рака горла, тимомы и карциномы тимуса, рака щитовидной железы, переходно-клеточного рака почечной лоханки и мочеточника, трофобластической опухоли, рака мочеточника и почечной лоханки, рака уретры, рака

матки, саркомы матки, рака влагалища, рака вульвы, макроглобулинемии Вальденстрема, опухоли Вильмса. В определенных вариантах осуществления рак лечат с помощью КТЕ-Х19.

[0189] В одном варианте осуществления способ можно применять для лечения опухоли, при этом опухоль представляет собой лимфому или лейкоз. Лимфома и лейкоз представляют собой виды рака крови, которые специфически влияют на лимфоциты. Все лейкоциты в крови происходят из одного типа мультипотентной гемопоэтической стволовой клетки, обнаруживаемой в костном мозге. Эта стволовая клетка продуцирует как миелоидные клетки-предшественники, так и лимфоидные клетки-предшественники, которые затем позволяют получить различные типы лейкоцитов, присутствующих в организме. Лейкоциты, полученные из миелоидных клеток-предшественников, включают Т-лимфоциты (Т-клетки), В-лимфоциты (В-клетки), естественные клетки-киллеры и плазматические клетки. Лейкоциты, полученные из лимфоидных клеток-предшественников, включают мегакариоциты, тучные клетки, базофилы, нейтрофилы, эозинофилы, моноциты и макрофаги. Лимфомы и лейкозы могут влиять на одну или несколько из этих типов клеток у пациента. В определенных вариантах осуществления опухоль лечат с помощью КТЕ-Х19.

[0190] Как правило, лимфомы могут быть разделены на по меньшей мере две подгруппы: лимфому Ходжкина и неходжкинскую лимфому. Неходжкинская лимфома (НХЛ) представляет собой гетерогенную группу видов рака, происходящую из В-лимфоцитов, Т-лимфоцитов или естественных клеток-киллеров. В Соединенных Штатах Америки В-клеточные лимфомы представляют 80–85% от зарегистрированных случаев. В 2013 г. по оценкам произошло примерно 69740 новых случаев НХЛ и более 19000 смертей, связанных с заболеванием. Неходжкинская лимфома является наиболее распространенным гематологическим злокачественным новообразованием, занимает седьмое место среди новых видов рака у мужчин и женщин и является причиной 4% всех новых случаев рака и 3% смертей, связанных с раком. В определенных вариантах осуществления лимфому лечат с помощью КТЕ-Х19.

[0191] Диффузная крупноклеточная Т-клеточная лимфома (DLBCL) является наиболее распространенным подтипом НХЛ, что составляет приблизительно 30% случаев НХЛ. Каждый год в Соединенных Штатах Америки насчитывается примерно 22000 вновь диагностированных случаев DLBCL. Она классифицируется как агрессивная лимфома, причем большинство пациентов излечивается с помощью традиционной химиотерапии (руководство NCCN по НХЛ от 2014 г.). Первая линия терапии для DLBCL, как правило, включает в себя схему, содержащую антрациклин с ритуксимабом, такую как R-CHOP (ритуксимаб, циклофосфамид, доксорубицин, винкристин и преднизон), которая имеет частоту объективного ответа приблизительно 80% и частоту полного ответа приблизительно 50%, при этом приблизительно треть пациентов имеет рефрактерное заболевание или рецидивирующее заболевание после R-CHOP. В случае пациентов, которые рецидивируют после ответа на первую линию терапии, примерно 40–60% пациентов могут достичь второго ответа при дополнительной химиотерапии. Стандарт лечения пациентов, подходящих для второй линии терапии, для пациентов с аутологичными стволовыми клетками (ASCT), включает ритуксимаб и комбинированную химиотерапию, такую как R-ICE (ритуксимаб, ифосфамид, карбоплатин и этопозид) и R-DHAP (ритуксимаб, дексаметазон, цитарабин и цисплатин), каждая из которых имеет частоту объективного ответа приблизительно 63% и частоту полного ответа приблизительно 26%. Пациенты, которые отвечают на терапию второй линии и которые считаются достаточно подходящими для

трансплантации, получают консолидацию с помощью высокодозной химиотерапии и ASCT, что приводит к излечению у приблизительно половины пациентов с трансплантацией. Пациенты, для которых ASCT оказалась неэффективной, имеют очень неблагоприятный прогноз и не имеют вариантов лечения. Первичная медиастинальная крупноклеточная В-клеточная лимфома (PMBCL) имеет отличные клинические, патологические и молекулярные характеристики по сравнению с DLBCL. Считается, что PMBCL возникает из тимусных (медуллярных) В-клеток и представлена у примерно 3% пациентов с диагнозом DLBCL. PMBCL обычно выявляют у более молодого взрослого населения на четвертом десятилетии жизни с небольшим преобладанием женского пола. Профилирование экспрессии генов предполагает, что нерегулируемые пути в PMBCL перекрываются с лимфомой Ходжкина. Начальная терапия PMBCL обычно включает схемы, содержащие антрациклин с ритуксимабом, такие как этопозид в дозе, скорректированной в зависимости от инфузии, доксорубин и циклофосфамид с винкристином, преднизолоном и ритуксимабом (DA-EPOCH-R), с включенной лучевой терапией поля или без нее. Фолликулярная лимфома (ФЛ), В-клеточная лимфома, является наиболее распространенной индолентной (медленно растущей) формой НХЛ, на которую приходится примерно 20–30% всех НХЛ. У некоторых пациентов с ФЛ будет происходить гистологическая трансформация (ТФЛ) в DLBCL, которая является более агрессивной и ассоциирована с неблагоприятным исходом. Гистологическая трансформация в DLBCL происходит с ежегодной скоростью примерно 3% в течение 15 лет, при этом риск трансформации продолжает снижаться в последующие годы. Биологический механизм гистологической трансформации неизвестен. Начальное лечение ТФЛ зависит от предшествующей терапии фолликулярной лимфомы, но обычно включает схемы, содержащие антрациклины с ритуксимабом для устранения агрессивного компонента заболевания. Варианты лечения рецидивирующей/рефрактерной PMBCL и ТФЛ аналогичны таковым при DLBCL. Учитывая низкую распространенность этих заболеваний, крупных проспективных рандомизированных исследований в этих популяциях пациентов не проводилось. Пациенты с рефрактерным к химиотерапии заболеванием имеют такой же или более неблагоприятный прогноз, что и пациенты с рефрактерной DLBCL. Например, субъекты, которые имеют рефрактерную, агрессивную НХЛ (например, DLBCL, PMBCL и ТФЛ), имеют серьезные неудовлетворенные медицинские потребности, и в этих популяциях оправданы дальнейшие исследования новых видов лечения. В некоторых вариантах осуществления DLBCL лечат с помощью КТЕ-Х19.

[0192] Лечение CAR Т-клетками по настоящему изобретению можно осуществлять в качестве первой линии лечения или второй или более поздней линии лечения. В некоторых вариантах осуществления лечение CAR Т-клетками проводят в качестве третьей линии, четвертой линии, пятой линии и т.д. и т.п. Линии предшествующей терапии могут представлять собой любую предшествующую противораковую терапию, включая, без ограничения, ингибитор тирозинкиназы Брутона (ВТКi), ингибиторы контрольных точек (например, антитела к PD1, пембролизумаб (Keytruda), цемиплимаб (Libtayo), ниволумаб (Opdivo); антитела к PD-L1, атезолизумаб (Tecentriq), авелумаб (Bavencio), дурвалумаб (Imfinzi); антитела к CTLA-4, ипилимумаб (Yervoy)), антитела к CD19 (например, блинатумомаб), антитела к CD52 (например, алентузумаб); аллогенную трансплантацию стволовых клеток, антитела к CD20 (например, ритуксимаб), системную химиотерапию, ритуксимаб, антрациклин, офатумумаб и их комбинацию. Предшествующие виды терапии также можно использовать в

комбинации с видами терапии Т-клетками с CAR к CD19 по настоящей заявке. В одном аспекте подходящие пациенты могут иметь рефрактерное заболевание к самой последней терапии или рецидив в течение 1 года после аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (HSCT/ASCT). Лечение CAR Т-клетками можно назначать пациентам, у которых имеются или подозреваются виды рака, которые являются рефрактерными и/или которые рецидивировали после одной или нескольких линий предыдущей терапии. Рак может быть рефрактерным к терапии первой линии (т.е. первичным рефрактерным) или рефрактерным к одной или нескольким линиям терапии. Рак может рецидивировать через двенадцать месяцев после первой ремиссии, рецидивировать или быть рефрактерным после двух или более линий предшествующей терапии или рецидивировать после HSCT/ASCT. В некоторых вариантах осуществления рак является рефрактерным к лечению ибрутинибом или акалабрутинибом. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой НХЛ, и заболевание должно быть первичным рефрактерным, Р/Р после двух или более линий системной терапии или Р/Р после аутологичной или аллогенной трансплантации стволовых клеток за ≥ 100 дней до осуществления CAR Т-клеточной терапии и отказ от иммунодепрессантов в течение ≥ 4 недель. В определенных вариантах осуществления терапия CAR Т-клетками представляет собой КТЕ-Х19.

[0193] Соответственно, способ может быть использован для лечения лимфомы или лейкоза, при этом лимфома или лейкоз представляет собой В-клеточное злокачественное новообразование. Примеры В-клеточных злокачественных новообразований включают, без ограничения, неходжкинскую лимфому (НХЛ), меклоцитарную лимфоцитарную лимфому (МКЛЛ/ХЛЛ), мантийноклеточную лимфому (МКЛ), ФЛ, лимфому из клеток маргинальной зоны (ЛМЗ), экстранодальную (MALT-лимфому), нодальную (моноцитойдную В-клеточную лимфому), диффузную крупноклеточную лимфому селезенки, В-клеточный хронический лимфолейкоз/лимфому, лимфому Беркитта и лимфобластную лимфому. В некоторых аспектах лимфома или лейкоз выбраны из В-клеточного хронического лимфоцитарного лейкоза/мелкоклеточной лимфомы, В-клеточного пролимфоцитарного лейкоза, лимфоплазмоцитарной лимфомы (*например*, макроглобулинемии Вальденстрема), лимфомы маргинальной зоны селезенки, волосатоклеточного лейкоза, новообразований плазматических клеток (*например*, миеломы плазматических клеток (*например*, множественной миеломы) или плазмоцитом), экстранодальной В-клеточной лимфомы маргинальной зоны (*например*, MALT-лимфомы), нодальной В-клеточной лимфомы маргинальной зоны, фолликулярной лимфомы (ФЛ), трансформированной фолликулярной лимфомы (ТФЛ), первичной лимфомы центра кожных фолликулов, лимфомы из клеток мантийной зоны, диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы (DLBCL), положительной в отношении вируса Эпштейна-Барр DLBCL, лимфоматоидного гранулематоза, первичной медиастинальной (тимусной) крупноклеточной В-клеточной лимфомы (PMBCL), внутрисосудистой крупноклеточной В-клеточной лимфомы, ALK+ крупноклеточной В-клеточной лимфомы, плазмобластной лимфомы, первичной выпотной лимфомы, крупноклеточной В-клеточной лимфомы, возникающей при HHV8-ассоциированном мультицентрическом заболевании Кастаньяна, лимфомы/лейкоза Беркитта, Т-клеточного пролимфоцитарного лейкоза, Т-клеточного крупнозернистого лимфоцитарного лейкоза, агрессивного Nk-клеточного лейкоза, Т-клеточного лейкоза/лимфомы взрослых, экстранодальной NK/Т-клеточной лимфомы, Т-клеточной лимфомы, ассоциированной с энтеропатией, гепатолиенальной Т-клеточной лимфомы, бластной NK-клеточной лимфомы, грибвидного микоза/синдрома

Сезари, первичной кожной анапластической крупноклеточной лимфомы, лимфоматоидного папулеза, периферической Т-клеточной лимфомы, ангиоиммуобластной Т-клеточной лимфомы, анапластической крупноклеточной лимфомы, В-лимфобластного лейкоза/лимфомы, В-лимфобластного лейкоза/лимфомы с рецидивирующими генетическими аномалиями, Т-лимфобластного лейкоза/лимфомы и лимфомы Ходжкина. В некотором аспекте рак является рефрактерным к одному или нескольким предшествующим видам лечения, и/или рак рецидивировал после одного или нескольких предшествующих видов лечения. В определенных вариантах осуществления лейкоз или лимфому лечат с помощью КТЕ-Х19.

[0194] В одном варианте осуществления рак выбран из фолликулярной лимфомы, трансформированной фолликулярной лимфомы, диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы и первичной медиастинальной (тимусной) крупноклеточной В-клеточной лимфомы. В другом варианте осуществления рак представляет собой диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому. В некоторых вариантах осуществления рак является рефрактерным или рецидивировал после одного или нескольких из химиотерапии, лучевой терапии, иммунотерапии (включая терапию Т-клетками и/или лечение антителом или конъюгатом антитело-лекарственное средство), аутологичной трансплантации стволовых клеток или любой их комбинации. В одном варианте осуществления рак представляет собой рефрактерную диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому. В определенных вариантах осуществления рак лечат с помощью КТЕ-Х19.

[0195] В некоторых вариантах осуществления лечение CAR Т-клетками представляет собой КТЕ-Х19, и рак выбран из МКЛ, ОЛЛ, ХЛЛ и МКЛЛ. В некоторых вариантах осуществления лечение CAR Т-клетками представляет собой КТЕ-Х19, а рак представляет собой НХЛ. В некоторых вариантах осуществления рак выбран из диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы (DLBCL) неутонченной природы, первичной медиастинальной крупноклеточной В-клеточной лимфомы, лимфомы Беркитта (BL), подобной лимфоме Беркитта лимфомы или неклассифицированных В-клеточных лимфом, промежуточных между DLBCL и BL. В некоторых вариантах осуществления рак является рецидивирующим/рефрактерным. В некоторых вариантах осуществления лечение КТЕ-Х19 осуществляют в качестве первой линии, второй линии или после 1 или нескольких предшествующих линий терапии. В некоторых вариантах осуществления пациент представляет собой пациента-ребенка, пациента-подростка, взрослого пациента в возрасте до 65 лет, старше 65 лет или любой другой возрастной группы.

[0196] В некоторых вариантах осуществления композиции, содержащие иммунные клетки, раскрытые в данном документе, можно вводить в сочетании с любым количеством дополнительных терапевтических средств. В одном варианте осуществления дополнительное терапевтическое средство вводят одновременно с Т-клеточной терапией. В одном варианте осуществления дополнительное терапевтическое средство вводят до, во время и/или после Т-клеточной терапии. В одном варианте осуществления одно или несколько дополнительных терапевтических средств вводят профилактически. В одном аспекте композиции, содержащие иммунные клетки, вводят вместе со средствами для лечения нежелательных явлений (многие из которых описаны в другом разделе настоящей заявки, включая раздел «Примеры»). Эти средства могут лечить один или несколько признаков и симптомов побочных реакций, таких как лихорадка, гипотензия, тахикардия, гипоксия и озноб, включая сердечные аритмии (включая мерцательную аритмию и желудочковую тахикардию), остановку сердца,

сердечную недостаточность, почечную недостаточность, синдром капиллярной утечки, гипотензию, гипоксию, органную токсичность, гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз/синдром активации макрофагов (HLH/MAS), судороги, энцефалопатию, головную боль, тремор, головокружение, афазию, делирий, бессонницу, анафилаксию, фебрильную нейтропению, тромбоцитопению, нейтропению и анемию.

[0197] Примеры таких средство включают, без ограничения, тоцилизумаб, стероиды (например, метилпреднизолон), кроличий антигистимочитарный глобулин. В некоторых аспектах ванкомицин и азтреонам (каждый по 1 г IV два раза в день) можно вводить при ненейтропенической лихорадке. В некоторых аспектах способ дополнительно включает введение неседативного противосудорожного лекарственного средства для профилактики судорог; введение по меньшей мере одного из эритропоетина, дарбэпоетина альфа, переливания тромбоцитов, филграстима или пегфилграстима; и/или введение тоцилизумаба, силтуксимаба. В одном аспекте средство представляет собой члена семейства CSF, такого как GM-CSF (гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, также известный как CSF2). GM-CSF может продуцироваться рядом гемопоэтических и отличных от гемопоэтических типов клеток при стимуляции, и он может активировать/«примировать» миелоидные популяции для продуцирования медиаторов воспаления, таких как TNF и интерлейкин 1 β (IL1 β). В некоторых вариантах осуществления ингибитор GM-CSF представляет собой антитело, которое связывается с циркулирующим GM-CSF и нейтрализует его. В некоторых вариантах осуществления антитело выбрано из ленилумаба; намилиумаба (AMG203); GSK3196165/MOR103/отилимаб а(GSK/MorphoSys), KB002 и KB003 (KaloBios), MT203 (Micromet и Nycomed) и MORAb-022/гимсилумаба (Morphotek). В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой его биоаналог. В некоторых вариантах осуществления антагонист представляет собой E21R, модифицированную форму GM-CSF, которая антагонизирует функцию GM-CSF. В некоторых вариантах осуществления ингибитор/антагонист представляет собой малую молекулу. В одном варианте осуществления член семейства CSF представляет собой M-CSF (также известный как макрофагальный колониестимулирующий фактор или CSF1). Неограничивающие примеры средств, которые ингибируют CSF1 или антагоизируют его, включают малые молекулы, антитела, химерные антигенные рецепторы, слитые белки и другие средства. В одном варианте осуществления ингибитор или антагонист CSF1 представляет собой антитело к CSF1. В одном варианте осуществления антитело к CSF1 выбрано из антител, произведенных Roche (например, RG7155), Pfizer (PD-0360324), Novartis (MCS110/лакнотузамаб) или версии биоаналога любого из них. В некоторых вариантах осуществления ингибитор или антагонист инактивирует активность либо рецепторов GM-CSF-R-альфа (также известного как CSF2R), либо рецепторов CSF1R. В некоторых вариантах осуществления ингибитор выбран из маврилиумаба (ранее известного как CAM-3001), полностью человеческого моноклонального антитела к α -рецептору GM-CSF, в настоящее время разрабатываемого MedImmune, Inc.; кабирализумаба (Five Prime Therapeutics); LY3022855 (IMC-CS4) (Eli Lilly), эмактузамаба, также известного как RG7155 или RO5509554; FPA008, гуманизированного mAb (Five Prime/BMS); AMG820 (Amgen); ARRY-382 (Array Biopharma); MCS110 (Novartis); PLX3397 (Plexxikon); ELB041/AFS98/TG3003 (ElsaLys Bio, трансген), sNDX-6352 (Syndax). В некоторых вариантах осуществления ингибитор или антагонист экспрессируется в CAR-T-клетках. В некоторых вариантах осуществления ингибитор представляет собой малую молекулу (например, гетероариламиды, серии хинолинонов, серии пиридопиримидов); BLZ945 (Novartis), PLX7486, ARRY-382,

пексидртиниб (также известный как PLX3397) или 5-((5-хлор-1H-пирроло[2,3-b]пиридин-3-ил)метил)-N-06-(трифторметил)пиридин-3-ил)метил)пиридин-2-амин; GW 2580 (CAS 870483-87-7), Kİ20227 (CAS 623142-96-1), AC708 от Ambit Siosciences или любой ингибитор CSF1R, указанный в Cannarile et al. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer* 2017, 5:53, и US20180371093, включенные в данный документ посредством ссылки для раскрываемых ими ингибиторов. Дополнительные нейтрализующие антитела к GM-CSF или его рецептору были описаны в данной области техники, в том числе, например, в “GM-CSF as a target in inflammatory/autoimmune disease: current evidence and future therapeutic potential” Hamilton, J. A. *Expert Rev. Clin. Immunol.*, 2015; и “Targeting GM-CSF in inflammatory diseases” Wicks, I. P., Roberts, A. W. *Nat. Rev. Rheumatol.*, 2016. В других вариантах осуществления средство представляет собой средство, блокирующее рецептор IL6 или IL-6, включая тоцилизумаб и силтуксимаб.

[0198] В одном аспекте терапевтическое средство представляет собой химиотерапевтическое средство. Примеры химиотерапевтических средств включают алкилирующие средства, такие как тиотепа и циклофосфамид (СУТОХАНТМ); алкилсульфонаты, такие как бусульфан, импросульфан и пипосульфан; азиридины, такие как бензодопа, карбокон, метуредопа и уредопа; этиленимины и метиламеламины, включая альтретамин, триэтиленмеламин, триэтиленфосфорамида, триэтилендиофосфорамида и триметилломеламин; азотистые иприты, такие как хлорамбуцил, хлорнафазин, холофосфамид, эстрамустин, ифосфамид, мехлорэтамин, гидрохлорид мехлорэтамина оксида, мелфалан, новембихин, фенестерин, преднимустин, трофосфамид, урацил иприт; нитромочевины, такие как кармустин, хлорзотоцин, фотемустин, ломустин, нимустин, ранимустин; антибиотики, такие как аклациномицины, актиномицин, аутрамицин, азасерин, блеомицины, кактиномицин, калихеамицин, карабин, карминомицин, карзинофиллин, хромомицины, дактиномицин, даунорубицин, деторубицин, 6-диазо-5-оксо-L-норлейцин, доксорубицин, эпирубицин, эзорубицин, марцелломицин, митомицины, микофеноловая кислота, ногаламицин, оливомоцины, пепломицин, потфиромицин, пурамицин, келамицин, родорубицин, стрептонигрин, стрептозоцин, туберцидин, убенимекс, зиностатин, зорубицин; антиметаболиты, например, метотрексат и 5-фторурацил (5-FU); аналоги фолиевой кислоты, такие как деноптерин, метотрексат, птероптерин, триметотрексат; аналоги пуринов, такие как флударабин, 6-меркаптопурин, тиамиприн, тиогуанин; аналоги пиримидинов, такие как анцитабин, азацитидин, 6-азауридин, кармофур, цитарабин, дидезоксиуридин, доксифлуридин, эноцитабин, флоксуридин, 5-FU; андрогены, такие как калустерон, дромостанолон пропионат, эпителиостанол, мепитиостан, тестостерон; средства, угнетающие функции надпочечников, такие как аминоглутетимид, митотан, трилостан; восполнитель фолиевой кислоты, такой как фролиновая кислота; ацеглатон; гликозид альдофосфамида; аминоклевулиновая кислота; амсакрин; бестрабуцил; бисантрен; эдатраксат; дефофамин; демеколцин; диазиквон; эльформитин; эллиптиния ацетат; этоглуцид; нитрат галлия; гидроксимочевина; лентинан; лонидамин; митогуазон; митоксантрон; мопидамол; нитракрин; пентостатин; фенамет; пирарубицин; подофиллиновая кислота; 2-этилгидразид; прокарбазин; PSK®; разоксан; сизофиран; спирогерманий; тенауазоновая кислота; триазиквон; 2,2',2"-трихлортриэтиламин; уретан; виндезин; дакарбазин; манномустин; митобронитол; митолактол; пипоброман; гацитозин; арабинозид (“Ara-C”); циклофосфамид; тиотепа; таксоиды, например, паклитаксел (TAXOLTM, Bristol-Myers Squibb) и доксетаксел (TAXOTERE®, Rhone-Poulenc Rorer); хлорамбуцил; гемцитабин; 6-тиогуанин; меркаптопурин; метотрексат; аналоги платины, например, цисплатин и карбоплатин; винбластин; платина; этопозид (VP-16); ифосфамид; митомицин C;

митоксантрон; винкристин; винорелбин; навельбин; новантрон; тенипозид; дауномицин; аминокперин; кселода; ибандронат; СРТ-11; ингибитор топоизомеразы RFS2000; дифторметилометин (DMFO); производные ретиноевой кислоты, такие как Targretin™ (бексаротен), Panretin™ (алитретиноин); ONTAK™ (денилейкин дифтитокс); эсперамицины; капецитабин; и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из вышеперечисленного. В некоторых аспектах композиции, содержащие CAR- и/или TCR-экспрессирующие иммунные эффекторныe клетки, раскрытые в данном документе, можно вводить в сочетании с антигормональным средством, которое регулирует или ингибирует действие гормонов в отношении опухолей, таким как антиэстрогены, включая, например, тамоксифен, ралоксифен, ингибирующие ароматазу 4(5)-имидазолы, 4-гидрокситамоксифен, триоксифен, кеоксифен, LY117018, онапристон и торемифен (Fareston); и антиандрогены, такие как флутамид, нилутамид, бикалутамид, лейпролид и гозерелин; и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из вышеперечисленного. При необходимости также вводят комбинации химиотерапевтических агентов, включая, без ограничения, СНОР, т.е. циклофосфамид (Cytoxan®), доксорубин (гидроксидоксорубин), винкристин (Oncovin®) и преднизолон.

[0199] (Химио)терапевтическое средство можно вводить одновременно или в течение одной недели после введения сконструированной клетки или нуклеиновой кислоты. В других аспектах (химио)терапевтическое средство вводят от 1 до 4 недель или от 1 недели до 1 месяца, от 1 недели до 2 месяцев, от 1 недели до 3 месяцев, от 1 недели до 6 месяцев, от 1 недели до 9 месяцев или от 1 недели до 12 месяцев после введения сконструированной клетки или нуклеиновой кислоты. В некоторых аспектах (химио)терапевтическое средство вводят по меньшей мере за 1 месяц до введения клетки или нуклеиновой кислоты. В некоторых аспектах способы дополнительно включают введение двух или более химиотерапевтических средств.

[0200] Различные дополнительные терапевтические средства могут быть использованы в сочетании/в комбинации с композициями или средствами/видами лечения, описанными в данном документе. Например, потенциально применимые дополнительные терапевтические средства включают ингибиторы PD-1, такие как ниволумаб (OPDIVO®), пембролизумаб (KEYTRUDA®), пембролизумаб, пидилизумаб (CureTech) и атезолизумаб (Roche), тоцилизумаб (с кортикостероидами и без них), ингибиторы GM-CSF, CSF1, GM-CSFR или CSF1R GM-CSF, CMЖ1, GM-CSFR или CSF1R (антитело к CSF1, выбранное из антител, произведенных Roche (например, RG7155), Pfizer (PD-0360324), Novartis (MCS110/лактозумаб), маврилимумаб (ранее CAM-3001), полностью человеческое моноклональное антитело к α -рецептору GM-CSF, в настоящее время разрабатываемое MedImmune, Inc.; кабирализумаб (Five Prime Therapeutics); LY3022855 (IMC-CS4) (Eli Lilly), эмактузумаб, также известный как RG7155 или RO5509554; FPA008, гуманизированное mAb (Five Prime/BMS); AMG820 (Amgen); ARRY-382 (Array Biopharma); MCS110 (Novartis); PLX3397 (Plexxikon); ELB041/AFS98/TG3003 (ElsaLys Bio, трансен), sNDX-6352 (Syndax). В некоторых аспектах ингибитор или антагонист экспрессируется в CAR-T-клетках. В некоторых аспектах ингибитор представляет собой малую молекулу (например, гетероариламида, серии хинолинонов, серии пиридопиримидов); BLZ945 (Novartis), PLX7486, ARRY-382, пексидртиниб (также известный как PLX3397) или 5-((5-хлор-1H-пирроло[2,3-b]пиридин-3-ил)метил)-N-06-(трифторметил)пиридин-3-ил)метил)пиридин-2-амин; GW 2580 (CAS 870483-87-7), KĪ20227 (CAS 623142-96-1), AC708 от Ambit Siosciences или любой ингибитор CSF1R, указанный в Cannarile et al. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer* 2017, 5:53, и

US20180371093, включенные в данный документ в качестве ссылки для раскрываемых ими ингибиторов. Дополнительные нейтрализующие антитела к GM-CSF или его рецептору описаны в данной области техники. Дополнительные терапевтические средства, подходящие для применения в комбинации с композициями или средствами/видами лечения и способами, раскрытыми в данном документе, включают, без ограничения, ибрутиниб (IMBRUVICA®), офатумумаб (ARZERRA®), ритуксимаб (RITUXAN®), бевацизумаб (AVASTIN®), трастузумаб (HERCEPTIN®), трастузумаб эмтансин (KADCYLA®), иматиниб (GLEEVEC®), цетуксимаб (ERBITUX®), панитумумаб (VECTIBIX®), катумаксамаб, ибритумомаб, офатумумаб, тозитумомаб, брентуксимаб, алемтузумаб, гемтузумаб, эрлотиниб, гефитиниб, вандетаниб, афатиниб, лопатиниб, нератиниб, леналидомид, акситиниб, маситиниб, пазопаниб, сунитиниб, сорафениб, тоцилизумаб, тоцераниб, лестауртиниб, акситиниб, цедираниб, ленватиниб, нинтеданиб, пазопаниб, регорафениб, семаксаниб, сорафениб, сунитаниб, сунитиниб, тоцераниб, тивозиниб энтректиниб, кабозантиниб, иматиниб, дазатиниб, нилотиниб, понатиниб, радотиниб, бозутиниб, лестауртиниб, руксолитиниб, пакритиниб, кобиметиниб, селуметиниб, траметиниб, биниметиниб, алектиниб, церитиниб, кризотиниб, афлиберцепт, адипотид, денилэйкин дифтитокс, ингибиторы mTOR, такие как эверолимус и темсиролимус, ингибиторы hedgehog, такие как сонидегиб и висмодегиб, ингибиторы CDK, такие как ингибитор CDK (палбоциклиб).

[0201] Композицию или средства/виды лечения, содержащие иммунные клетки, вводят или могут вводить с противовоспалительным средством. Противовоспалительные средства или лекарственные средства могут включать, без ограничения, стероиды и глюкокортикоиды (включая бетаметазон, будесонид, дексаметазон, ацетат гидрокортизона, кортикостероид, гидрокортизон, гидрокортизон, метилпреднизолон, преднизолон, преднизон, триамцинолон), нестероидные противовоспалительные средства (NSAID), включая аспирин, ибупрофен, напроксен, метотрексат, сульфасалазин, лефлуномид, лекарственные против TNF, циклофосфамид и микофенолат. Примеры NSAID включают ибупрофен, напроксен, напроксен натрия, ингибиторы Cox-2 и салилаты. Иллюстративные анальгетики включают ацетаминофен, оксикодон, трамадол или гидрохлорид пропороксифена. Иллюстративные глюкокортикоиды включают кортизон, дексаметазон, гидрокортизон, метилпреднизолон, преднизолон или преднизолон. Иллюстративные модификаторы биологического ответа включают молекулы, направленные против маркеров клеточной поверхности (например, CD4, CD5 и т.д.), ингибиторы цитокинов, такие как антагонисты TNF (например, этанерцепт (ENBREL®), адалимумаб (HUMIRA®) и инфликсимаб (REMICADE®), ингибиторы хемокинов и ингибиторы молекул адгезии. Модификаторы биологического ответа включают моноклональные антитела, а также рекомбинантные формы молекул. Примеры DMARD включают азатиоприн, циклофосфамид, циклоспорин, метотрексат, пеницилламин, лефлуномид, сульфасалазин, гидроксихлорохин, золото (перорально (ауранофин) и внутримышечно) и миноциклин.

[0202] Композиции или средства/виды лечения, описанные в данном документе, можно вводить в сочетании с цитокином и/или модулятором цитокина в качестве дополнительного терапевтического средства. Примерами цитокинов являются лимфокины, монокины и традиционные полипептидные гормоны. Цитокины включают гормоны роста, такие как гормон роста человека, N-метионилловый гормон роста человека и бычий гормон роста; паратгормон; тироксин; инсулин; проинсулин; релаксин; прорелаксин; гликопротеиновые гормоны, такие как фолликулостимулирующий гормон (FSH), тиреотропный гормон (TSH) и лютеинизирующий гормон

(LH); фактор роста печени (HGF); фактор роста фибробластов (FGF); пролактин; плацентарный лактоген; мюллеров ингибирующий фактор; мышинный гонадотропин-ассоциированный пептид; ингибин; активин; фактор роста эндотелия сосудов; интегрин; тромбопоэтин (TPO); факторы роста нервов (NGF), такие как NGF-бета; фактор роста тромбоцитов; трансформирующие факторы роста (TGF), такие как TGF-альфа и TGF-бета; инсулиноподобный фактор роста-I и -II; эритропоэтин (EPO, Erogen[®], Procrit[®]); 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-1 альфа, 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, включая лиганд LIF и лиганд kit (KL). В контексте данного документа термин «цитокин» включает белки из природных источников или из культуры рекомбинантных клеток и биологически активные эквиваленты цитокинов нативной последовательности. В одном варианте осуществления композиции, описанные в данном документе, вводят в сочетании со стероидом или кортикостероидом.

[0203] Кортикостероидное лечение можно использовать для лечения нежелательных явлений. Кортикостероиды (или любые другие стероиды, а также любое другое лечение нежелательных явлений) можно использовать профилактически, до обнаружения любых симптомов нежелательных явлений и/или после обнаружения нежелательных явлений. Их можно вводить за один или несколько дней до введения Т-клеток, в день введения Т-клеток (до, после введения Т-клеток) и/или после введения Т-клеток. Их можно вводить до, во время или после кондиционирующей терапии. Для этого применения может подходить любой кортикостероид. В одном варианте осуществления кортикостероид представляет собой дексаметазон. В некоторых вариантах осуществления кортикостероид представляет собой метилпреднизолон. В некоторых вариантах осуществления оба соединения вводят в комбинации. В некоторых вариантах осуществления глюкокортикоиды включают синтетические и несинтетические глюкокортикоиды. Иллюстративные глюкокортикоиды включают, без ограничения: алклометазоны, алгестоны, 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 ацетат натрия), дифлоразоны (например, дифлоразона диацетат), дифлукортолоны, дифлупреднаты, эноксолон, флуазакорты, флуклорониды, флудрокортизоны (например, флудрокортизона ацетат), флуметазоны (например, флуметазона пивалат), флунизолиды, флуоцинолоны (например, флуоцинолона ацетонид), флуоцинониды, флуокортины, флуокортолоны, фторметолоны (например, фторметолона ацетат), флуперолоны (например, флуперолона ацетат), флупредниден, флупреднизолон, флурандренолиды, флутиказоны (например, флутиказона пропионат), формокорталы, гальцинониды, галобетазолы, галометазоны, галопредоны, гидрокортаматы, гидрокортизоны (например, гидрокортизон 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, метилпреднизолон (метилпреднизолон ацепонат, метилпреднизолон ацетат, метилпреднизолон гемисукцинат, метилпреднизолон натрия сукцинат), мометазоны (например, мометазон фураат), параметазоны (например, ацетат параметазона), предникарбаты, преднизолон (например, преднизолон 25-диэтиламиноацетат, преднизолон фосфат натрия, преднизолон 21-гемисукцинат, преднизолон ацетат; преднизолон фарнезилат, преднизолон гемисукцинат, преднизолон-21 (бета-D-глюкуронид), преднизолон метасульфобензоат, преднизолон стеаглат, преднизолон тебутат, преднизолон тетрагидрофталаат), преднизоны, преднивалы, преднилилены, римексолон, тиксокортолы, триамцинолоны (например, триамцинолон ацетонид, триамцинолон бенетонид, триамцинолон гексацетонид, триамцинолон ацетонид 21 пальмитат, триамцинолон 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), и Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 22nd Edition, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Pa. (2013), и любых других изданиях, которые тем самым включены в посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления глюкокортикоид выбирают из кортизонов, дексаметазонов, гидрокортизонов, метилпреднизолонов, преднизолонов и преднизонов. В одном варианте осуществления глюкокортикоид представляет собой дексаметазон. В других вариантах осуществления стероид представляет собой минералокортикоид. Любой другой стероид может быть использован в способах, представленных в данном документе.

[0204] Один или несколько кортикостероидов можно вводить в любой дозе и с любой частотой введения, которые можно регулировать в зависимости от тяжести/степени нежелательного явления (например, CRS и NE). В таблицах 13, 14 и 16 приведены примеры схем введения доз для лечения CRS и NE. В другом варианте осуществления введение кортикостероидов включает пероральное или IV введение 10 мг дексаметазона 1–4 раза в день. Другой вариант осуществления, иногда называемый «высокодозовые» кортикостероиды, включает IV введение метилпреднизона в дозе 1 г в день отдельно или в комбинации с дексаметазоном. В некоторых вариантах осуществления один или несколько кортикостероидов вводят в дозах 1–2 мг/кг в день.

[0205] Кортикостероид можно вводить в любом количестве, эффективном для облегчения одного или нескольких симптомов, ассоциированных с нежелательными явлениями, такими как CRS или нейротоксичность. Кортикостероид, например, глюкокортикоид, можно вводить, например, в количестве или приблизительно от 0,1 до 100 мг на дозу, от 0,1 до 80 мг, от 0,1 до 60 мг, от 0,1 до 40 мг, от 0,1 до 30 мг, 0,1 до 20 мг, от 0,1 до 15 мг, от 0,1 до 10 мг, от 0,1 до 5 мг, от 0,2 до 40 мг, от 0,2 до 30 мг, от 0,2 до 20 мг, от 0,2 до 15 мг, от 0,2 до 10 мг, от 0,2 до 5 мг, 0,4 до 40 мг, от 0,4 до 30 мг, от 0,4 до 20 мг, от 0,4 до 15 мг, от 0,4 до 10 мг, от 0,4 до 5 мг, от 0,4 до 4 мг, от 1 до 20 мг, от 1 до 15 мг или от 1 до 10 мг взрослому человеку массой 70 кг. Обычно кортикостероид, такой как глюкокортикоид, вводят в количестве или приблизительно от 0,4 до 20 мг, например, в количестве или приблизительно 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 субъекту-человеку.

[0206] В некоторых вариантах осуществления кортикостероид можно вводить, например, в дозе в количестве или приблизительно 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 субъекту-человеку, обычно весящему от 70 до 75 кг.

[0207] Как правило, доза вводимого кортикостероида зависит от конкретного кортикостероида, поскольку существует разница в эффективности между различными кортикостероидами. Обычно считается, что лекарственные средства различаются по эффективности и, следовательно, дозы могут варьироваться для получения эквивалентных эффектов. Эквивалентность с точки зрения эффективности для различных глюкокортикоидов и путей введения является хорошо известной. Информацию об эквивалентных дозах стероидов (не хронотерапевтическим образом) можно найти в British National Formulary (BNF) 37, March 1999.

[0208] В некоторых вариантах осуществления нежелательные явления/реакции могут быть выбраны из одного или нескольких из следующих:

Нежелательное явление/реакция	<i>Нарушения со стороны иммунной системы</i>
<i>Нарушения со стороны кровеносной и лимфатической систем</i>	Синдром высвобождения цитокинов
Коагулопатия ^a	Гипогаммаглобулинемия ^k
<i>Нарушения со стороны сердца</i>	<i>Инфекции и инвазии</i>
Тахикардии ^b	Инфекция – патоген не указан
Брадикардии ^c	Вирусные инфекции
Нежелудочковые аритмии ^d	Бактериальные инфекции
<i>Нарушения со стороны желудочно-кишечного тракта</i>	<i>Нарушения со стороны обмена веществ и питания</i>
Тошнота	Снижение аппетита
Запор	Скелетно-мышечная боль ^l
Диарея	Двигательная дисфункция ^m
Боль в животе ^e	<i>Психические расстройства</i>
Боль в ротовой полости ^f	<i>Расстройства со стороны нервной системы</i>
Рвота ^g	Энцефалопатия ⁿ
Дисфагия	Гремор
Пирексия	Головная боль ^o
Усталость ^h	Афазия ^p
Озноб	Головокружение ^q
Отек ⁱ	Нейропатия ^r
Сухость во рту	Бессонница
Боль ^j	Делирий ^s
<i>Нарушения со стороны иммунной системы</i>	Тревожность
Синдром высвобождения цитокинов	<i>Нарушения со стороны почек и мочевыводящих путей</i>
Гипогаммаглобулинемия ^k	Почечная недостаточность ^t
<i>Инфекции и инвазии</i>	Снижение диуреза ^u
Инфекция – патоген не указан	Гипоксия
Вирусные инфекции	Кашель ^v
Бактериальные инфекции	Дисноз ^w

<i>Нарушения со стороны обмена веществ и питания</i>	Плевральный выпот
Снижение аппетита	<i>Нарушения со стороны кожи и подкожных тканей</i>
Скелетно-мышечная боль ¹	Сыпь ^x
Двигательная дисфункция ^m	<i>Сосудистые нарушения</i>
<i>Психические расстройства</i>	Гипотензия ^y
<i>Расстройства со стороны нервной системы</i>	Гипертензия
Энцефалопатия ⁿ	Тромбоз ^z
Тремор	Кровоизлияние
Головная боль ^o	
Афазия ^p	
Головокружение ^q	
Нейропатия ^r	
Бессонница	
Делирий ^s	
Тревожность	

[0209] Другие нежелательные реакции включают: Нарушения со стороны желудочно-кишечного тракта: сухость во рту; Инфекции и инвазии: грибковая инфекция; Нарушения со стороны обмена веществ и питания: обезвоживание; Нарушения системы нервной системы: атаксия, судороги, повышенное внутричерепное давление; Респираторные, торакальные и медиастинальные нарушения: дыхательная недостаточность, отек легких; Нарушения со стороны кожи и подкожных тканей: сыпь; Сосудистые нарушения: кровоизлияние.

[0210] В одном варианте осуществления симптомы синдрома высвобождения цитокинов включают, без ограничения, лихорадку, озноб, усталость, анорексию, миалгии, арталгии, тошноту, рвоту, головную боль, сыпь, диарею, тахипноэ, гипоксемию, тахикардию, гипотензию, расширенный диапазон пульсового давления, ранний повышенный сердечный выброс, поздний сниженный сердечный выброс, галлюцинации, тремор, изменение походки, судороги и смерть. В одном варианте осуществления способ классификации CRS описан в Neelu et al. *Nat Rev Clin Oncol.* 15(1):47-62 (2018), и Lee, et al., *Blood* 2014; 124:188–195. В одном варианте осуществления нейротоксичность/неврологические явления могут быть оценены способом, описанным в Lee, et al, *Blood* 2014; 124: 188–195.

[0211] В некоторых вариантах осуществления нежелательные явления лечат тоцилизумабом (или другим средством, направленным против IL6/средством, направленным против IL6R/антагонистом), кортикостероидной терапией или противосудорожным лекарственным препаратом для профилактики токсичности. В некоторых вариантах осуществления нежелательные явления лечат одним или несколькими средствами, выбранными из ингибиторов GM-CSF, CSF1, GM-CSFR или CSF1R, антитимоцитарного глобулина, лензилумаба, маврилиумаба, цитокинов и противовоспалительных средств.

[0212] В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены способы предупреждения развития или снижения тяжести побочных реакций на виды лечения Т-клетками по настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления клеточную терапию осуществляют с одним или несколькими средствами, которые предупреждают, задерживают начало, уменьшают симптомы, лечат

нежелательные явления, которые включают синдромы высвобождения цитокинов и неврологическую токсичность. В одном варианте осуществления средство было описано выше. В других вариантах осуществления средство описано ниже. В некоторых вариантах осуществления средство вводят с помощью одного из способов и доз, описанных в другом разделе настоящего описания, до, после или одновременно с введением клеток. В одном варианте осуществления средство (средства) вводят субъекту, который может быть предрасположен к заболеванию, но у которого заболевание еще не диагностировано.

[0213] В этом отношении раскрытый способ может включать введение «профилактически эффективного количества» тоцилизумаба, кортикостероидной терапии и/или противосудорожного лекарственного препарата для профилактики токсичности. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение ингибиторов GM-CSF, CSF1, GM-CSFR или CSF1R, лензилумаба, маврилиумаба, цитокинов и/или противовоспалительных средств. Фармакологический и/или физиологический эффект может быть профилактическим, т.е. эффект полностью или частично предупреждает заболевание или его симптом. «Профилактически эффективное количество» может относиться к количеству, эффективному в дозах и в течение периодов времени, необходимых для достижения требуемого профилактического результата (например, предупреждения возникновения побочных реакций).

[0214] В некоторых вариантах осуществления способ включает лечение побочных реакций у любого субъекта. В некоторых вариантах осуществления побочная реакция выбрана из группы, состоящей из синдрома высвобождения цитокинов (CRS), неврологической токсичности, реакции гиперчувствительности, серьезной инфекции, цитопении и гипогаммаглобулинемии. В некоторых вариантах осуществления признаки и симптомы побочных реакций выбраны из группы, состоящей из лихорадки, гипотензии, тахикардии, гипоксии и озноба, включая сердечные аритмии (включая мерцательную аритмию и желудочковую тахикардию), остановку сердца, сердечную недостаточность, почечную недостаточность, синдром капиллярной утечки, гипотензию, гипоксию, органную токсичность, гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз/синдром активации макрофагов (HLH/MAS), судороги, энцефалопатию, головную боль, тремор, головокружение, афазию, делирий, бессонницу, анафилаксию, фебрильную нейтропению, тромбоцитопению, нейтропению и анемию. В некоторых вариантах осуществления пациента идентифицировали и отбирали на основании одного или нескольких биомаркеров нежелательных явлений. В некоторых вариантах осуществления пациента идентифицировали и отбирали только на основе клинической картины (например, по наличию и степени симптома токсичности). В некоторых вариантах осуществления нежелательные явления лечат с помощью любого из протоколов, приведенных в Таблицах 13, 14, 16 и 17.

[0215] В некоторых вариантах осуществления способ включает предупреждение или снижение тяжести CRS при лечении химерным рецептором. В некоторых вариантах осуществления сконструированные CAR T-клетки деактивируются после введения пациенту. В некоторых вариантах осуществления способ включает идентификацию CRS на основании клинических проявлений. В некоторых вариантах осуществления способ включает оценку и лечение других причин лихорадки, гипоксии и гипотензии. Пациенты, которые испытывают CRS степени тяжести ≥ 2 (например, гипотензию, не отвечающую на введение жидкостей, или гипоксию, требующую дополнительной оксигенации), требуют наблюдения в виде непрерывной кардиотелеметрии и

пульсовой оксиметрии. В некоторых вариантах осуществления для пациентов, испытывающих тяжелый CRS, следует рассмотреть возможность проведения эхокардиограммы для оценки сердечной функции. При тяжелом или опасном для жизни CRS может быть рассмотрена поддерживающая терапия в виде интенсивной терапии. В некоторых вариантах осуществления способ включает наблюдение за пациентами по меньшей мере один раз в день в течение 7 дней в сертифицированном медицинском учреждении после инфузии в отношении признаков и симптомов CRS. В некоторых вариантах осуществления способ включает наблюдение за пациентами в отношении признаков или симптомов CRS в течение 4 недель после инфузии. В некоторых вариантах осуществления способ включает консультирование пациентов о необходимости немедленного обращения за медицинской помощью в случае появления признаков или симптомов CRS в любое время. В некоторых вариантах осуществления способ включает назначение поддерживающей терапии тоцилизумабом или тоцилизумабом и кортикостероидами в соответствии с показаниями при первых признаках CRS.

[0216] В некоторых вариантах осуществления способ включает наблюдение за пациентами в отношении признаков и симптомов неврологической токсичности. В некоторых вариантах осуществления способ включает исключение других причин неврологических симптомов. Пациенты, которые испытывают неврологическую токсичность степени тяжести ≥ 2 , требуют наблюдения в виде непрерывной кардиотелеметрии и пульсовой оксиметрии. Следует обеспечить поддерживающую терапию в виде интенсивной терапии при тяжелой или опасной для жизни неврологической токсичности. В некоторых вариантах осуществления симптом неврологической токсичности выбран из энцефалопатии, головной боли, тремора, головокружения, афазии, делирия, бессонницы и тревожности.

[0217] В некоторых вариантах осуществления лечение клетками проводят до, во время/одновременно и/или после введения одного или нескольких средств (например, стероидов) или видов лечения (например, уменьшения объема), которые лечат и/или предупреждают (являются профилактическими) один или несколько симптомов нежелательных явлений. «Профилактически эффективное количество» относится к количеству, эффективному в дозах и в течение периодов времени, необходимых для достижения требуемого профилактического результата. В одном варианте осуществления профилактически эффективное количество применяют у субъектов до заболевания или на более ранней стадии заболевания. В одном варианте осуществления профилактически эффективное количество будет меньше, чем терапевтически эффективное количество. В одном варианте осуществления лечение или профилактику нежелательного явления осуществляют любому пациенту, который будет получать, получает или получал клеточную терапию. В некоторых вариантах осуществления способ лечения нежелательных явлений включает наблюдение за пациентами по меньшей мере один раз в день в течение 7 дней в сертифицированном медицинском учреждении после инфузии в отношении признаков и симптомов неврологической токсичности. В некоторых вариантах осуществления способ включает наблюдение за пациентами в отношении признаков или симптомов неврологической токсичности и/или CRS в течение 4 недель после инфузии.

[0218] В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены два способа лечения нежелательных явлений у субъектов, получающих лечение CAR T-клетками со стероидами и антителом (антителами) к IL6/IL-6R. В одном варианте осуществления в настоящем изобретении представлен способ лечения

нежелательных явлений, посредством которого кортикостероидную терапию начинают для лечения всех случаев CRS степени тяжести 1, если улучшение через 3 дня отсутствовало, и для всех неврологических явлений степени тяжести ≥ 1 . В одном варианте осуществления тоцилизумаб начинают вводить для всех случаев CRS степени тяжести 1, если улучшение через 3 дня отсутствует, и для всех неврологических явлений степени тяжести ≥ 2 . В одном варианте осуществления в настоящем изобретении представлен способ снижения общего воздействия стероидов у пациентов, получающих лечение нежелательных явлений после введения CAR T-клеток, при этом способ включает начало осуществления кортикостероидной терапии для лечения всех случаев CRS степени тяжести 1, если улучшение через 3 дня отсутствовало, и для всех неврологических явлений степени тяжести ≥ 1 и/или начала терапии тоцилизумабом для всех случаев CRS степени тяжести 1, если улучшение через 3 дня отсутствует, и для всех неврологических явлений степени тяжести ≥ 2 . В одном варианте осуществления кортикостероид и тоцилизумаб вводят по схеме, выбранной из тех, которые приведены в качестве примеров в разделе «Примеры». В одном варианте осуществления в настоящем изобретении представлено, что более раннее применение стероидов не ассоциировано с повышенным риском тяжелой инфекции, сниженной экспансией CAR T-клеток или снижением опухолевого ответа.

[0219] В одном варианте осуществления в настоящем изобретении подтверждается безопасность профилактического применения леветирацетама при лечении рака с помощью CAR T-клеток. В одном варианте осуществления рак представляет НХЛ. В одном варианте осуществления рак представляет собой P/P LBCL, и пациенты получают КТЕ-X19. Соответственно, в одном варианте осуществления в настоящем изобретении представлен способ лечения нежелательных явлений у пациентов, получавших лечение CAR T-клетками, включающий введение пациенту профилактической дозы противосудорожного лекарственного препарата. В некоторых вариантах осуществления пациенты получают леветирацетам (например, 750 мг перорально или внутривенно два раза в день), начиная с дня 0 лечения CAR T-клетками (после кондиционирования), а также в начале неврологической токсичности степени тяжести ≥ 2 , если возникают неврологические явления после прекращения профилактического введения леветирацетама. В одном варианте осуществления, если у пациента не наблюдается какой-либо неврологической токсичности степени тяжести ≥ 2 , введение леветирацетама снижают и прекращают по клиническим показаниям. В одном варианте осуществления профилактику леветирацетамом комбинируют с любым другим протоколом лечения нежелательных явлений.

[0220] В одном варианте осуществления пациенты могут получать леветирацетам (750 мг перорально или внутривенно два раза в день), начиная с дня 0. При появлении неврологических явлений степени тяжести ≥ 2 дозу леветирацетама увеличивают до 1000 мг два раза в день. Если пациент не испытывал какого-либо неврологического явления степени тяжести ≥ 2 , дозу леветирацетама снижали и прекращали его введение по клиническим показаниям. Пациенты также получают тоцилизумаб (8 мг/кг IV в течение 1 часа [не более 800 мг]) в день 2. Дополнительное применение тоцилизумаба (\pm кортикостероиды) может быть рекомендовано в начале CRS степени тяжести 2 у пациентов с сопутствующими заболеваниями или в пожилом возрасте, или иным образом в случае степени тяжести CRS ≥ 3 . Пациентам, испытывающим неврологические явления степени тяжести ≥ 2 , начинают вводить тоцилизумаб, а кортикостероиды добавляют пациентам с сопутствующими заболеваниями или

в пожилом возрасте, или при возникновении неврологического явления степени тяжести ≥ 3 при ухудшении симптомов, несмотря на применение тоцилизумаба.

[0221] В одном варианте осуществления в настоящем изобретении представлено, что профилактическое применение стероидов, по-видимому, снижает частоту тяжелых CRS и NE в той же степени, что и раннее применение стероидов. Соответственно, в настоящем изобретении представлен способ лечения нежелательных явлений при терапии CAR T-клетками, при котором пациенты получают 10 мг дексаметазона PO в дни 0 (до инфузии), 1 и 2. Стероиды также можно вводить, начиная с NE степени тяжести 1 и CRS степени тяжести 1, когда улучшение после 3 дней поддерживающей терапии отсутствует. Тоцилизумаб также можно вводить при CRS степени тяжести ≥ 1 , если улучшение после 24 часов поддерживающей терапии отсутствует. В одном варианте осуществления в настоящем изобретении представлено, что лечение нежелательных явлений при терапии CAR T-клетками с помощью антитела, которое нейтрализует и/или приводит к деплеции GM-CSF, предупреждает или уменьшает связанные с лечением CRS и/или NE у пациентов, получающих лечение. В одном варианте осуществления антитело представляет собой лензилумаб.

[0222] В некоторых вариантах осуществления нежелательные явления лечат с помощью введения средства/средств, которое (которые) является/являются антагонистом или ингибитором IL-6 или рецептора IL-6 (IL-6R). В некоторых вариантах осуществления средство представляет собой антитело, которое нейтрализует активность IL-6, такое как антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с IL-6 или IL-6R. Например, в некоторых вариантах осуществления средство представляет собой или содержит тоцилизумаб (атлизумаб) или сарилумаб, антитела к IL-6R. В некоторых вариантах осуществления средство представляет собой антитело к IL-6R, описанное в патенте США №: 8562991. В некоторых случаях средство, которое нацелено на IL-6, представляет собой антитело к IL-6, такое как силтуксимаб, элсилимомаб, ALD518/BMS-945429, сирукумаб (CNTO 136), CPSI-2634, ARGX 109, FE301, FM101 или олокизумаб (CDP6038) и их комбинации. В некоторых вариантах осуществления средство может нейтрализовать активность IL-6 путем ингибирования взаимодействий лиганд-рецептор. В некоторых вариантах осуществления антагонист или ингибитор IL-6/IL-6R представляет собой мутеин IL-6, такой как описанный в патенте США № 5591827. В некоторых вариантах осуществления средство, которое представляет собой антагонист или ингибитор IL-6/IL-6R, представляет собой малую молекулу, белок или пептид или нуклеиновую кислоту.

[0223] В некоторых вариантах осуществления другие средства, которые можно использовать для лечения побочных реакций и их симптомов, включают антагонист или ингибитор цитокинового рецептора или цитокина. В некоторых вариантах осуществления цитокин или рецептор представляет собой IL-10, TL-6, рецептор TL-6, IFN γ , IFNGR, IL-2, IL-2R/CD25, MCP-1, CCR2, CCR4, MIP13, CCR5, TNF альфа, TNFR1, такой как рецептор IL-6 (IL-6R), рецептор IL-2 (IL-2R/CD25), рецептор MCP-1 (CCL2) (CCR2 или CCR4), рецептор TGF-бета (TGF-бета I, II или III), рецептор IFN-гамма (IFNGR), рецептор MIP1P (например, CCR5), рецептор TNF-альфа (например, TNFR1), рецептор IL-1 (IL-1Ra/IL-1RP) или рецептор IL-10 (IL-10R), IL-1 и IL-1R-альфа/IL-1-бета. В некоторых вариантах осуществления средство содержит ситуксимаб, сарилумаб, олокизумаб (CDP6038), элсилимомаб, ALD518/BMS-945429, сирукумаб (CNTO 136), CPSI-2634, ARGX 109, FE301 или FM101. В некоторых вариантах осуществления средство представляет собой антагонист или ингибитор цитокина, такого как трансформирующий

фактор роста бета (TGF-бета), интерлейкин 6 (IL-6), интерлейкин 10 (IL-10), IL-2, MIP13 (CCL4), TNF-альфа, IL-1, интерферон-гамма (IFN-гамма) или моноцитарный хемоаттрактантный белок-1 (MCP-1). В некоторых вариантах осуществления средство нацеливается (например, ингибирует или является антагонистом) на цитокиновый рецептор, такой как рецептор IL-6 (IL-6R), рецептор IL-2 (IL-2R/CD25), рецептор MCP-1 (CCL2) (CCR2 или CCR4), рецептор TGF-бета (TGF-бета I, II или III), рецептор IFN-гамма (IFNGR), рецептор MIP1P (например, CCR5), рецептор TNF-альфа (например, TNFR1), рецептор IL-1 (IL1-Ra/IL-1RP) или рецептор IL-10 (IL-10R) и их комбинации. В некоторых вариантах осуществления средство вводят с помощью одного из способов и доз, описанных в другом разделе настоящего описания, до, после или одновременно с введением клеток.

[0224] В некоторых вариантах осуществления средство вводят в количестве дозы или приблизительно от 1 мг/кг до 10 мг/кг, от 2 мг/кг до 8 мг/кг, от 2 мг/кг до 6 мг/кг, от 2 мг/кг до 4 мг/кг или от 6 мг/кг до 8 мг/кг, каждое включительно, или средство вводят в количестве дозы по меньшей мере или по меньшей мере приблизительно или приблизительно 2 мг/кг, 4 мг/кг, 6 мг /кг или 8 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления средство вводят в дозе от приблизительно 1 мг/кг до 12 мг/кг, например, в дозе или приблизительно 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления средство вводят путем внутривенной инфузии. В одном варианте осуществления средство представляет собой тоцилизумаб. В некоторых вариантах осуществления средство (средства) (например, в частности, тоцилизумаб) вводят с помощью одного из способов и доз, описанных в других разделах настоящего описания, до, после или одновременно с введением клеток.

[0225] В некоторых вариантах осуществления способ включает идентификацию CRS на основании клинических проявлений. В некоторых вариантах осуществления способ включает оценку и лечение других причин лихорадки, гипоксии и гипотензии. Если наблюдается или подозревается CRS, его можно лечить в соответствии с рекомендациями протокола А, который также можно использовать в комбинации с другими видами лечения по настоящему изобретению, включая нейтрализацию или уменьшение оси CSF/CSFR1. Пациенты, которые испытывают CRS степени тяжести ≥ 2 (например, гипотензию, не отвечающую на введение жидкостей, или гипоксию, требующую дополнительной оксигенации), требуют наблюдения в виде непрерывной кардиотелеметрии и пульсовой оксиметрии. В некоторых вариантах осуществления для пациентов, испытывающих тяжелый CRS, следует рассмотреть возможность проведения эхокардиограммы для оценки сердечной функции. При тяжелом или опасном для жизни CRS может быть рассмотрена поддерживающая терапия в виде интенсивной терапии. В некоторых вариантах осуществления вместо тоцилизумаба в способах, раскрытых в данном документе, можно использовать биоаналог или эквивалент тоцилизумаба. В других вариантах осуществления вместо тоцилизумаба можно использовать другое антитело к IL6R.

[0226] В некоторых вариантах осуществления нежелательные явления лечат в соответствии со следующим протоколом (протоколом А):

Степень CRS (a)	Тоцилизумаб	Кортикостероиды
<p>Степень тяжести 1</p> <p>Симптомы требуют только симптоматического лечения (например, лихорадка, тошнота, усталость, головная боль, миалгия, недомогание).</p>	<p>н.п.</p>	<p>н.п.</p>
<p>Степень тяжести 2</p> <p>Симптомы требуют умеренного вмешательства и отвечают на умеренное вмешательство.</p> <p>Потребность в кислороде менее 40% FiO₂ или гипотензия, поддающаяся введению жидкостей или низкой дозы одного вазопрессора, или органная токсичность степени тяжести 2 (b).</p>	<p>Введите тоцилизумаб (c) в дозе 8 мг/кг внутривенно в течение 1 часа (не превышая 800 мг).</p> <p>Повторяйте введение тоцилизумаба каждые 8 часов при необходимости, если отсутствует ответ на внутривенное введение жидкостей или усиление подачи кислорода.</p> <p>Не превышайте максимума 3 доз в течение 24-часового периода; максимума 4 доз, если клиническое улучшение признаков и симптомов CRS отсутствует.</p>	<p>Осуществляйте лечение как при степени тяжести 3 при отсутствии улучшения в течение 24 часов после начала введения тоцилизумаба.</p>
<p>Степень тяжести 3</p> <p>Симптомы требуют агрессивного вмешательства и отвечают на агрессивное вмешательство.</p> <p>Потребность в кислороде больше или равна 40% FiO₂ или гипотензия, требующая высокой дозы или нескольких вазопрессоров, или органная токсичность степени тяжести 3,</p>	<p>Как для степени тяжести 2</p>	<p>Вводите метилпреднизолон в дозе 1 мг/кг IV два раза в день или эквивалентную дозу дексаметазона (например, 10 мг IV каждые 6 часов).</p> <p>Продолжайте применение кортикостероидов до тех пор, пока степень тяжести явления не станет равной 1 или меньше, затем уменьшите дозу в течение 3 дней.</p>

или трансаминит степени тяжести 4.		В случае отсутствия улучшения осуществляйте лечение, как описано для степени тяжести 4.
Степень тяжести 4 Опасные для жизни симптомы. Потребности в дыхательной поддержке аппаратом ИВЛ или непрерывном вено-венозном гемодиализе (CVVHD), или органный токсичности степени тяжести 4 (за исключением трансаминита).	Как для степени тяжести 2	Вводите метилпреднизолон в дозе 1000 мг/день IV в течение 3 дней; При улучшении осуществляйте лечение, как описано выше. Рассмотрим альтернативные иммунодепрессанты при отсутствии улучшения или в случае ухудшения состояния.

(a) Lee DW et al., (2014). *Current concepts in the diagnosis and management of cytokine release syndrome*. Blood. 2014 Jul 10; 124(2): 188–195.

(b) См. Таблицу 2 для лечения неврологической токсичности.

(c) См. подробную информацию по применению ACEMTRA® (тоцилизумаб),

https://www.gene.com/download/pdf/actemra_prescribing.pdf (last accessed Oct. 18, 2017). Исходное одобрение США, как указано, имело место в 2010 г.

Неврологическая токсичность

[0227] В некоторых вариантах осуществления способ включает наблюдение за пациентами в отношении признаков и симптомов неврологической токсичности. В некоторых вариантах осуществления способ включает исключение других причин неврологических симптомов. Пациенты, которые испытывают неврологическую токсичность степени тяжести ≥ 2 , требуют наблюдения в виде непрерывной кардиотелеметрии и пульсовой оксиметрии. Следует обеспечить поддерживающую терапию в виде интенсивной терапии при тяжелой или опасной для жизни неврологической токсичности. Рассмотрите неседативные противосудорожные лекарственные препараты (например, леветирацетам) для профилактики судорог для неврологической токсичности степени тяжести ≥ 2 . Следующие виды лечения могут быть связаны с признаками других заболеваний по настоящему описанию, включая нейтрализацию или уменьшение оси CSF/CSFR1.

[0228] В некоторых вариантах осуществления нежелательные явления лечат в соответствии со следующим протоколом (протоколом В):

Оценка степени тяжести	Сопутствующий CRS	Сопутствующий CRS отсутствует
Степень тяжести 2	<p>Введите тоцилизумаб согласно таблице выше (протокол А) для лечения CRS степени тяжести 2.</p> <p>При отсутствии улучшения в течение 24 часов после начала введения тоцилизумаба вводят дексаметазон в дозе 10 мг IV каждые 6 часов, при отсутствии введения других стероидов.</p> <p>Продолжайте применение дексаметазона до тех пор, пока степень тяжести явления не станет равной 1 или меньше, затем уменьшите дозу в течение 3 дней.</p>	<p>Вводите дексаметазон в дозе 10 мг IV каждые 6 часов.</p> <p>Продолжайте применение дексаметазона до тех пор, пока степень тяжести явления не станет равной 1 или меньше, затем уменьшите дозу в течение 3 дней.</p>
	<p>Рассмотрите неседативные противосудорожные лекарственные препараты (например, леветирацетам) для профилактики судорог.</p>	
Степень тяжести 3	<p>Введите тоцилизумаб согласно протоколу А для лечения CRS степени тяжести 2.</p> <p>Кроме того, введите дексаметазон в дозе 10 мг IV с первой дозой тоцилизумаба и повторяйте дозу каждые 6 часов. Продолжайте применение дексаметазона до тех пор, пока степень тяжести явления не станет равной 1 или меньше, затем уменьшите дозу в течение 3 дней.</p>	<p>Вводите дексаметазон в дозе 10 мг IV каждые 6 часов.</p> <p>Продолжайте применение дексаметазона до тех пор, пока степень тяжести явления не станет равной 1 или меньше, затем уменьшите дозу в течение 3 дней.</p>
	<p>Рассмотрите неседативные противосудорожные лекарственные препараты (например, леветирацетам) для профилактики судорог.</p>	
Степень тяжести 4	<p>Введите тоцилизумаб согласно протоколу А для лечения CRS степени тяжести 2.</p> <p>Введите метилпреднизолон в дозе 1000 мг/день IV с первой дозой тоцилизумаба и продолжайте введение метилпреднизолона в</p>	<p>Вводите метилпреднизолон в дозе 1000 мг/день IV в течение 3 дней; При улучшении осуществляйте лечение, как описано выше.</p>

Оценка степени тяжести	Сопутствующий CRS	Сопутствующий CRS отсутствует
	дозе 1000 мг/день IV еще в течение 2 дней; При улучшении осуществляйте лечение, как описано выше.	
	Рассмотрите неседативные противосудорожные лекарственные препараты (например, левитирацетам) для профилактики судорог.	

[0229] Дополнительные стратегии обеспечения безопасности при применении кортикостероидов

[0230] Введение кортикостероидов и/или тоцилизумаба при степени тяжести I можно считать профилактическим. Поддерживающая терапия может быть представлена во всех протоколах при CRS и NE всех степеней тяжести. В одном варианте осуществления протокола лечения нежелательных явлений, связанных с CRS, тоцилизумаб и/или кортикостероиды вводят следующим образом: CRS степени тяжести 1: тоцилизумаб отсутствует; кортикостероиды отсутствуют; CRS степени тяжести 2: тоцилизумаб (только в случае сопутствующих заболеваний или в пожилом возрасте); и/или кортикостероиды (только в случае сопутствующих заболеваний или в пожилом возрасте); CRS степени тяжести 3: тоцилизумаб; и/или кортикостероиды; CRS степени тяжести 4: тоцилизумаб; и/или кортикостероиды. В другом варианте осуществления протокола лечения нежелательных явлений, связанных с CRS, тоцилизумаб и/или кортикостероиды вводят следующим образом: CRS степени тяжести 1: тоцилизумаб (при отсутствии улучшения через 3 дня); и/или кортикостероиды (при отсутствии улучшения через 3 дня); CRS степени тяжести 2: тоцилизумаб; и/или кортикостероиды; CRS степени тяжести 3: тоцилизумаб; и/или кортикостероиды; CRS степени тяжести 4: тоцилизумаб; и/или кортикостероиды, высокодозовые.

[0231] В одном варианте осуществления протокола лечения нежелательных явлений, связанных с NE, тоцилизумаб и/или кортикостероиды вводят следующим образом: NE степени тяжести 1: тоцилизумаб отсутствует; кортикостероиды отсутствуют; NE степени тяжести 2: тоцилизумаб отсутствует; кортикостероиды отсутствуют; NE степени тяжести 3: тоцилизумаб; и/или кортикостероиды (только в случае отсутствия улучшения при введении тоцилизумаба, стандартная доза); NE степени тяжести 4: тоцилизумаб; и/или кортикостероиды. В другом варианте осуществления протокола лечения нежелательных явлений, связанных с NE, тоцилизумаб и/или кортикостероиды вводят следующим образом: NE степени тяжести 1: тоцилизумаб отсутствует; и/или кортикостероиды; NE степени тяжести 2: тоцилизумаб; и/или кортикостероиды; NE степени тяжести 3: тоцилизумаб; и/или кортикостероиды, высокодозовые; NE степени тяжести 4: тоцилизумаб; и/или кортикостероиды, высокодозовые. В одном варианте осуществления лечение кортикостероидами начинают при CRS степени тяжести ≥ 2 , а лечение тоцилизумабом начинают при CRS степени тяжести ≥ 2 . В одном варианте осуществления лечение кортикостероидами начинают при CRS степени тяжести ≥ 1 , а лечение тоцилизумабом начинают при CRS степени тяжести ≥ 1 . В одном варианте осуществления лечение кортикостероидами начинают при NE степени тяжести ≥ 3 , а лечение тоцилизумабом начинают при CRS степени тяжести ≥ 3 . В одном варианте

осуществления лечение кортикостероидами начинают при CRS степени тяжести ≥ 1 , а лечение тоцилизумабом начинают при CRS степени тяжести ≥ 2 . В некоторых вариантах осуществления профилактическое применение тоцилизумаба в день 2 может снижать частоту CRS степени тяжести ≥ 3 . Один или несколько кортикостероидов можно вводить в любой дозе и с любой частотой введения, которые можно регулировать в зависимости от тяжести/степени нежелательного явления (например, CRS и NE). В Таблицах 1 и 2 приведены примеры схем введения доз для лечения CRS и NE соответственно. В другом варианте осуществления введение кортикостероидов включает пероральное или IV введение 10 мг дексаметазона 1–4 раза в день. Другой вариант осуществления, иногда называемый «высокодозовые» кортикостероиды, включает IV введение метилпреднизона в дозе 1 г в день отдельно или в комбинации с дексаметазоном. В некоторых вариантах осуществления один или несколько кортикостероидов вводят в дозах 1–2 мг/кг в день. Как правило, доза вводимого кортикостероида зависит от конкретного кортикостероида, поскольку между различными кортикостероидами существует разница в силе действия. Обычно считается, что лекарственные средства различаются по эффективности и, следовательно, дозы могут варьироваться для получения эквивалентных эффектов. Эквивалентность с точки зрения эффективности для различных глюкокортикоидов и путей введения является хорошо известной. Информацию, относящуюся к эквивалентным дозам стероидов (нехронотерапевтическим способом), можно найти в Британском национальном формуляре (BNF), части 37, март 1999 г. В заявке также указаны дозы и способы введения клеток, приготовленных способами, указанными в заявке, например, инфузионный пакет CD19-направленной генетически модифицированной аутологичной Т-клеточной иммунотерапии содержит суспензию положительных в отношении химерных антигенных рецепторов (CAR) Т-клеток в объеме примерно 68 мл для инфузии. В некоторых вариантах осуществления CAR Т-клетки находятся в объеме приблизительно 40 мл для инфузии. В некоторых вариантах осуществления CAR Т-клеточный продукт готовят в общем объеме 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 мл. В одном аспекте доза и введение клеток, приготовленных с помощью способов настоящей заявки, например, пакет для инфузии CD19-направленной генетически модифицированной аутологичной Т-клеточной иммунотерапии, включает суспензию 1×10^6 CAR-Т положительных клеток в объеме примерно 40 мл. Целевая доза может составлять от приблизительно 1×10^6 до приблизительно 2×10^6 CAR-положительных жизнеспособных Т-клеток на кг массы тела, при этом максимум составляет 2×10^8 CAR-положительных жизнеспособных Т-клеток.

[0232] В некоторых вариантах осуществления лекарственная форма включает клеточную суспензию для инфузии в одноразовом пакете для инфузии для конкретного пациента; путь введения является внутривенным; все содержимое каждого одноразового пакета для конкретного пациента вводится под действием силы тяжести или с помощью перистальтической помпы в течение 30 минут. В одном варианте осуществления схема введения дозы представляет собой однократную инфузию, состоящую из $2,0 \times 10^6$ Т-клеток/кг массы тела с CAR к CD19 ($\pm 20\%$), при этом максимальная доза составляет 2×10^8 Т-клеток/кг с CAR к CD19 (для субъектов ≥ 100 кг). В некоторых вариантах осуществления Т-клетки, которые составляют дозу, представляют собой Т-клетки с CAR к CD19.

[0233] В некоторых вариантах осуществления CD19-направленная Т-клеточная иммунотерапия представляет собой КТЕ-X19, который получают, как описано в другом разделе в настоящей заявке. В одном

варианте осуществления КТЕ-Х19 можно использовать для лечения МКЛ, ОЛЛ, ХЛЛ, МКЛЛ и любого другого злокачественного новообразования из В-клеток. В некоторых вариантах осуществления CD19-направленная генетически модифицированная аутологичная Т-клеточная иммунотерапия представляет собой Axi-cel™ (YESCARTA®, аксикабтаген цилолеуцел), полученный с помощью одного из способов применения. Количества CAR Т-клеток, схемы введения дозы, способы введения, субъекты, виды рака, которые подпадают под объем этих способов, описаны в других разделах настоящей заявки, отдельно или в комбинации с другим химиотерапевтическим средством, с предкондиционированием или без него, и с любым из патентов, описанных в других разделах настоящей заявки.

[0234] Следующие примеры предназначены для иллюстрации различных аспектов настоящей заявки. Таким образом, обсуждаемые конкретные аспекты не следует рассматривать как ограничения объема настоящей заявки. Например, хотя приведенные ниже примеры относятся к Т-клеткам, трансдуцированным химерным антигенным рецептором (CAR), направленным против CD19, специалисту в данной области техники должно быть понятно, что способы, описанные в данном документе, могут применяться в отношении иммунных клеток, трансдуцированных любым CAR. Специалисту в данной области техники должно быть очевидно, что могут быть выполнены различные эквиваленты, изменения и модификации, без отклонения от объема настоящей заявки, и понятно, что такие эквивалентные аспекты должны быть включены в данный документ. Кроме того, все ссылки, цитируемые в настоящей заявке, тем самым включены посредством ссылки в полном объеме, как если бы они были полностью изложены в данном документе.

[0235] Патентная и научная литература, упомянутая в данном документе, определяет знания, доступные специалистам в данной области техники. Все патенты Соединенных Штатов Америки и опубликованные или неопубликованные заявки на патенты Соединенных Штатов Америки, цитируемые в данном документе, включены посредством ссылки. Все опубликованные иностранные патенты и патентные заявки, цитируемые в данном документе, тем самым включены посредством ссылки. Все другие опубликованные ссылки, словари, документы, рукописи, последовательности геномных баз данных и научная литература, цитируемые в данном документе, тем самым включены посредством ссылки.

[0236] Другие особенности и преимущества настоящего изобретения будут очевидны из графических материалов и следующего подробного описания, включая примеры.

ПРИМЕРЫ

ПРИМЕР 1

[0237] В этом исследовании пациенты с Р/Р МКЛ, которые получали от 1 до 5 предшествующих видов терапии, включая ингибитор тирозинкиназы Брутона (ВТКi), получали аутологичные Т-клетки с CAR к CD19.

[0238] Подходящие пациенты (в возрасте ≥ 18 лет) с Р/Р МКЛ имели оценку ECOG 0–1 и ≤ 5 предшествующих видов терапии, включая химиотерапию, антитело к CD20 и ингибитор ВТК (ВТКi). Пациентов подвергали лейкоферезу и химиотерапии (циклофосфамид в дозе 300 мг/м²/день и флударабин в дозе 30 мг/м²/день в течение 3 дней) с последующей инфузией Т-клеток с CAR к CD19 в целевой дозе 2×10^6 CAR Т-клеток/кг. Пациенты могли получать переходную терапию дексаметазоном, ибрутинибом или акалабрутинибом после

лейкафереза и перед химиотерапией. Первичной конечной точкой была частота объективного ответа (ORR [полный ответ (CR) + частичный ответ (PR)]) в соответствии с классификацией Lugano. Промежуточные конечные точки эффективности оценивали исследователями с использованием пересмотренных критериев ответа злокачественной лимфомы (IWG Response Criteria for Malignant Lymphoma). Ключевыми вторичными конечными точками были продолжительность ответа (DOR), выживаемость без прогрессирования (PFS), OS, частота нежелательных явлений (AE), уровни CAR Т-клеток в крови и уровни цитокинов в сыворотке крови.

[0239] 28 пациентов получили Т-клетки с CAR к CD19 в течение периода последующего наблюдения ≥ 1 года (медиана 13,2 месяца [диапазон 11,5–18,5]). Сорок три процента пациентов имели оценку ECOG 1, 21% имели бластоидную морфологию, 82% имели заболевание на стадии IV, 50% имели промежуточный/высокий риск MIPI, 86% получали медианное значение предшествующих терапий, составляющее 4 (диапазон 1–5) и 57% были рефрактерными к последней предшествующей терапии. У 20/28 пациентов медиана индекса Ki-67 составляла 38% (диапазон 5–80%). Восемь пациентов получали переходную терапию; у всех было заболевание, присутствующее после переходной терапии. ORR составляла 86% (95% CI, 67–96%), при этом частота CR составляла 57% (95% CI, 37–76%). 75% пациентов, ответивших на лечение, сохраняли ответ, а у 64% пациентов, получивших лечение, наблюдался текущий ответ. 12-месячные оценки DOR, PFS и OS составляли 83% (95% CI, 60–93%), 71% (95% CI, 50–84%), 86% (95% CI, 66–94%) соответственно, и медианы не были достигнуты. AE степени тяжести ≥ 3 ($\geq 20\%$ пациентов) представляли собой анемию (54%), снижение количества тромбоцитов (39%), нейтропению (36%), снижение количества нейтрофилов (32%), снижение количества лейкоцитов (29%), энцефалопатию (25%) и гипертензию (21%). Синдром высвобождения цитокинов (CRS) степени тяжести 3/4 по оценке Lee DW, et al. *Blood* 2014;124:188, отмечали у 18% пациентов, что проявлялось гипотензией (14%), гипоксией (14%) и пирексией (11%). Неврологические явления (NE) степени тяжести 3/4 отмечали у 46% пациентов и они включали энцефалопатию (25%), спутанность сознания (14%) и афазию (11%). CRS или NE степени тяжести 5 не возникали. Все явления CRS и большинство NE (15/17 пациентов) были обратимыми. Медианное время до начала и устранения CRS составляло 2 дня (диапазон 1–7) и 13 дней (диапазон 4–60) соответственно. Медианное времени до начала NE составляло 6 дней (диапазон 1–15), а медианное время до устранения составляло 20 дней (диапазон 9–99). Медианные уровни CAR Т-клеток, измеренные по пику и площади под кривой, составляли 99 клеток/мкл (диапазон 0,4–2589) и 1542 клеток/мкл (диапазон 5,5–27239) соответственно. Пиковую экспансию CAR Т-клеток наблюдали между днями 8 и 15 и со временем она снижалась.

ПРИМЕР 2

[0240] В этом примере представлен дополнительный анализ исследований, описанных выше. Возраст пациентов, которые отвечали требованиям включения в исследование, составлял ≥ 18 лет, у них имелась патологически подтвержденная МКЛ с документально подтвержденными либо сверхэкспрессией циклина D1, либо наличием t(11;14), и отмечался рецидив/рефрактерность к 1–5 предшествующим схемам лечения МКЛ. Предшествующая терапия должна была включать химиотерапию, содержащую антрациклин или бендамустин, моноклональное антитело к CD20 и ибрутиниб или акалабрутиниб. Все пациенты ранее получали ВТКi. Хотя

пациенты должны были пройти предшествующую терапию ВТКі, она не требовалась в качестве последней линии терапии перед включением в исследование, и пациенты не должны были быть рефрактерными к терапии ВТКі. Требованиям включения в исследование отвечали пациенты, имевшие абсолютное количество лимфоцитов ≥ 100 /мкл. Пациентов, перенесших аутологичную SCT в течение 6 недель после инфузии CD19 CAR-T или ранее получавших CD19-направленную терапию или аллогенную SCT, исключали.

[0241] Дополнительные критерии включения включали: по меньшей мере 1 измеримый очаг. Очаги, которые ранее подвергались облучению, считались измеримыми только в том случае, если прогрессирование было документально подтверждено после завершения лучевой терапии; Если единственным измеримым заболеванием было заболевание лимфатических узлов, по меньшей мере 1 лимфатический узел должен был иметь размер ≥ 2 см; Магнитно-резонансная томография (МРТ) головного мозга, не показывающая признаков лимфомы центральной нервной системы (ЦНС); По меньшей мере 2 недели или 5 периодов полужизни, в зависимости от того, что короче, должно было пройти после любой предшествующей системной терапии или ВТКі (ибрутиниб или акалабрутиниб) в момент планирования пациенту лейкофереза, за исключением системной ингибирующей/стимулирующей терапии иммунных контрольных точек; По меньшей мере 3 периода полужизни должны были пройти от момента любой предшествующей системной ингибирующей/стимулирующей терапии молекулами иммунных контрольных точек в момент планирования пациенту лейкофереза (например, ипилимумаб, ниволумаб, пембролизумаб, атезолизумаб, агонисты OX40, агонисты 4-1BB); Токсичность, вызванная предшествующей терапией, должна была быть стабильной и восстановиться до степени тяжести ≤ 1 (за исключением клинически незначимой токсичности, такой как алопеция); Статус общего состояния согласно Восточной объединенной онкологической группе (ECOG) от 0 до 1; Абсолютное количество нейтрофилов (ANC) ≥ 1000 /мкл, Количество тромбоцитов ≥ 75000 /мкл, Абсолютное количество лимфоцитов ≥ 100 /мкл, Адекватная почечная, печеночная, легочная и сердечная функция определяется как: Клиренс креатинина (по оценке Кокрофта-Голта) ≥ 60 см³/мин.; Уровень аланинаминотрансферазы/аспартатаминотрансферазы в сыворотке крови $\leq 2,5$ верхней границы нормы (ULN); Общий билирубин $\leq 1,5$ мг/дл, за исключением пациентов с синдромом Жильбера; Фракция сердечного выброса $\geq 50\%$, отсутствие признаков перикардального выпота по данным эхокардиограммы (ЕЧО) и отсутствие клинически значимых отклонений на электрокардиограмме (ЭКГ); Отсутствие клинически значимого плеврального выпота; Исходное насыщение кислородом $> 92\%$ при комнатном воздухе; и женщины детородного возраста должны были иметь отрицательный результат теста на беременность по сыворотке крови или моче. Женщины, которые подверглись хирургической стерилизации или находящиеся в постменопаузе в течение по меньшей мере 2 лет, не считались имеющими детородный потенциал.

[0242] Дополнительные критерии исключения включали: Наличие в анамнезе злокачественного новообразования, отличного от немеланоматозного рака кожи или карциномы in situ (например, шейки матки, мочевого пузыря, молочной железы), за исключением случаев отсутствия признаков заболевания в течение по меньшей мере 3 лет; Наличие в анамнезе аллогенной трансплантации стволовых клеток; Предшествующая терапия CAR или другая терапия генетически модифицированными Т-клетками; Наличие в анамнезе тяжелой реакции гиперчувствительности немедленного типа, связанной с аминокликозидами; Наличие грибковой, бактериальной, вирусной или другой инфекции, которая была неконтролируемой или требующей внутривенного

(IV) введения противомикробных средств для лечения. Простая инфекция мочевыводящих путей (UTI) и неосложненный бактериальный фарингит допускались при ответе на активное лечение и после консультации с медицинским монитором; В анамнезе инфекция вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) или острая или хроническая активная инфекция гепатита В или С. Пациенты с гепатитом в анамнезе должны были излечиться от инфекции по результатам стандартного серологического и генетического тестирования; Наличие любого полостного протока или дренажа (например, чрескожная нефростомическая трубка, встроенный катетер Фолея, желчный дренаж или плевральный/перитонеальный/перикардальный катетер). Были разрешены резервуары Оммаи и специальные центральные венозные катетеры, такие как катетер Port-a-Cath или катетер Nickman; Пациенты с обнаружимыми злокачественными клетками в спинномозговой жидкости или метастазами в головной мозг или с лимфомой ЦНС, злокачественными клетками в спинномозговой жидкости или метастазами в головной мозг в анамнезе; Наличие в прошлом или настоящем расстройства ЦНС, такого как судорожное расстройство, цереброваскулярная ишемия/кровоизлияние, деменция, заболевание мозжечка, отек головного мозга, синдром задней обратимой энцефалопатии или любое аутоиммунное заболевание с поражением ЦНС; Инфаркт миокарда, сердечная ангиопластика или стентирование, нестабильная стенокардия, активные аритмии или другие клинически значимые заболевания сердца в анамнезе в течение 12 месяцев после включения в исследование; Пациенты с поражением предсердий или желудочков лимфомой; Симптоматический тромбоз глубоких вен или легочная эмболия в анамнезе в течение последних 6 месяцев после включения в исследование; Возможная потребность в неотложной терапии вследствие имеющегося или угрожающего неотложного состояния, связанного с онкологическим заболеванием (например, эффект массы опухоли, синдром лизиса опухоли); Первичный иммунодефицит; Любое медицинское состояние, которое может помешать оценке безопасности или эффективности исследуемого лечения; Тяжелая немедленная реакция гиперчувствительности на любой из средств, используемых в этом исследовании, в анамнезе; Живая вакцина за ≤ 6 недель до запланированного начала схемы кондиционирования; Женщины детородного возраста, беременные или кормящие грудью, вследствие потенциально опасного воздействия препаративной химиотерапии на плод или младенца; Пациенты обоего пола, не желающие использовать противозачаточные средства с момента согласия до 6 месяцев после завершения лечения Т-клетками с CAR к CD19; По мнению исследователя, маловероятно, что пациент завершит все визиты или процедуры исследования, предусмотренные протоколом, включая визиты последующего наблюдения, или будет соответствовать требованиям исследования для участия; и аутоиммунные заболевания в анамнезе (например, болезнь Крона, ревматоидный артрит, системная волчанка), приводящие к повреждению органов-мишеней или требующие системной иммуносупрессии/средств, модифицирующих системное заболевание, в течение последних 2 лет.

[0243] Всем пациентам проводили лейкоферез для получения клеток с целью изготовления препарата на основе Т-клеток с CAR к CD19. Процесс производства модифицировали по сравнению с процессом производства аксикабтагена цилолеуцела для удаления циркулирующих клеток лимфомы посредством положительного обогащения клетками CD4⁺/CD8⁺. Кондиционирующую химиотерапию флударабином (30 мг/м²/день) и циклофосфамидом (500 мг/м²/день) проводили в дни -5, -4 и -3 перед однократной внутривенной инфузией 2×10^6 CAR Т-клеток/кг из Т-клеток с CAR к CD19 в день 0. Дозу устанавливали на основании исследований

аксикабтагена цилолеуцела при крупноклеточной В-клеточной лимфоме и Т-клеток с CAR к CD19 при остром лимфобластном лейкозе. Neelapu SS et al. *The New England journal of medicine* 2017;377:2531; Locke FL et al. *Mol Ther* 2017;25:285; Shah BD et al. *Journal of Clinical Oncology* 2019;37:(suppl; abstr 7006); и Lee DW et al. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO* 2017;28:1008PD, все из которых включены в данный документ посредством ссылки в полном объеме. После лейкафереза и перед кондиционирующей терапией пациентам с высоким бременем заболевания разрешалось получать переходную терапию дексаметазоном или эквивалентным кортикостероидом, ибрутинибом или акалабрутинибом по усмотрению исследователя, после чего выполняли повторную исходную позитронно-эмиссионную томографию-компьютерную томографию (PET-CT). Цель переходной терапии заключалась не в излечении, а в поддержании стабильного состояния пациентов в течение периода получения. Госпитализация после инфузии Т клеток с CAR к CD19 требовалась до дня 7.

[0244] Первичной конечной точкой была частота объективного ответа (ORR [полный ответ (CR) + частичный ответ] (PR)) по оценке Независимого наблюдательного радиологического комитета (IRRC) с использованием классификации Lugano. Cheson et al., *J Clin Oncol* 2014;32:3059-68. Для подтверждения CR требовалось исследование костного мозга в дополнение к PET-CT. Вторичные конечные точки включали продолжительность ответа (DOR), выживаемость без прогрессирования (PFS), OS, ORR по оценке исследователя в соответствии с Cheson, et al, *J Clin Oncol* 2007;25:579-86, частоту нежелательных явлений (AE), уровни CAR Т-клеток в крови и цитокинов в сыворотке крови, а также изменение показателей с течением времени по Европейской оценке качества жизни в 5 категориях с 5 уровнями на категорию (EQ-5D-5L). Присутствие, экспансия и устойчивость к цитокинам CAR Т-клеток, а также их ассоциации с клиническими исходами оценивали как сообщалось ранее. Kochenderfer JN et al. *J Clin Oncol* 2017;35:1803-13; Locke FL et al. *Mol Ther* 2017;25:285-95, оба из которых включены в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

[0245] Оценивали изменения баллов EQ-5D-5L от исходного уровня до месяца 6. Синдром высвобождения цитокинов (CRS) оценивали в соответствии с Lee et al. *Blood* 2014;124:188, включенной в данный документ посредством ссылки в полном объеме. Тяжесть AE, включая неврологические явления и симптомы CRS, оценивали с использованием Общих терминологических критериев нежелательных явлений Национального института рака, версия 4.03. Минимальное остаточное заболевание (MRD; чувствительность 10^{-5}) представляло собой исследовательский анализ, оцениваемый в криоконсервированных мононуклеарных клетках периферической крови при исходном уровне и через 1, 3 и 6 месяцев, и его анализировали путем секвенирования следующего поколения с использованием анализа clonoSEQ (Adaptive Biotechnologies, Сиэтл, Вашингтон).

[0246] Для всех пациентов требовались изображения позитронно-эмиссионной томографии-компьютерной томографии (PET-CT) пораженных болезнью участков в начале исследования, через 4 недели после инфузии и через регулярные промежутки времени в период после лечения. Аспирация/биопсия костного мозга требовалась для подтверждения полного ответа у пациентов с поражением костного мозга на исходном уровне и у пациентов с неопределенным поражением костного мозга на исходном уровне, или если исходную биопсию костного мозга не проводили или результаты были недоступны. Пациентам с симптомами злокачественных новообразований ЦНС выполняли люмбальную пункцию при скрининге для исследования спинномозговой жидкости (СМЖ).

Люмбальную пункцию также выполняли у пациентов с впервые возникшей неврологической токсичностью степени тяжести ≥ 2 после инфузии Т-клеток с CAR к CD19. Кроме того, для пациентов, которые подписали необязательную часть формы согласия, люмбальную пункцию для сбора спинномозговой жидкости выполняли на исходном уровне до инфузии Т-клеток с CAR к CD19 и после инфузии Т-клеток с CAR к CD19 (день 5 ± 3 дня); образцы отправляли в центральную лабораторию и анализировали на изменения уровней цитокинов.

[0247] Первичный анализ эффективности проводили после того, как 60 пациентов включили в исследование, пролечили и оценили ответ через 6 месяцев после оценки заболевания на неделе 4, согласно протоколу. Этот анализ характеризовался мощностью $\geq 96\%$ для различения активной терапии с частотой истинного ответа 50% и терапии с частотой ответа $\leq 25\%$ с односторонним альфа-уровнем 0,025. Для анализа ORR использовали точный биномиальный критерий. Все конечные точки эффективности, включая конечные точки времени до наступления события, оцененные с использованием оценок Каплана-Мейера, анализировали у 60 пациентов, поддающихся оценке эффективности, описанных выше. Анализы безопасности проводили у всех пациентов, получавших лечение ($n = 68$). Ассоциации между результатами и уровнями CAR Т-клеток и цитокинов измеряли с использованием критерия суммы рангов Уилкоксона; р-значения корректировали с использованием процедуры Холма. Выборка для полного анализа ($N = 74$): состояла из всех включенных в исследование/получивших лейкаферез пациентов и использовалась для краткого описания состояния пациентов. Выборка для анализа безопасности ($n = 68$): определяли как всех пациентов, получивших любую дозу Т-клеток с CAR к CD19. Эту выборку для анализа использовали для обобщения демографических и исходных характеристик, а также для всего анализа безопасности. Выборка для логически обоснованного анализа (поддающаяся оценке эффективности) ($n = 60$): состояла из первых 60 пациентов, получавших лечение Т-клетками с CAR к CD19. Эту выборку для анализа использовали для проверки гипотезы о первичной конечной точке частоты объективного ответа во время первичного анализа, а также для всех других анализов эффективности. Гипотеза для первичной конечной точки заключалась в том, что ORR для Т-клеток с CAR к CD19 с использованием центральной оценки будет выше, чем предварительно определенная историческая контрольная частота в 25% при одностороннем уровне значимости 0,025 с использованием точного биномиального критерия. Эту гипотезу должны были проверять в совокупности для логически обоснованного анализа. Историческую контрольную частоту ORR определяли априори на основе 2 ретроспективных исследований, которые публиковали во время разработки протокола исследования. В этих 2 исследованиях исходы после терапии спасения оценивали у пациентов с рецидивирующей/рефрактерной МКЛ, у которых наблюдали прогрессирование после лечения ВТК_i (требуемая предшествующая терапия для включения в исследование). Эти исследования показали, что у пациентов с рецидивирующей/рефрактерной МКЛ, у которых было ≥ 3 предшествующих линий терапии до получения ВТК_i, ORR до терапии спасения составляла примерно 25%. Wang M et al. *Lancet* 2018;391:659; Martin P et al. *Blood* 2016;127:1559, оба из которых включены в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

[0248] В исследование включали семьдесят четыре пациента; Т-клетки с CAR к CD19 получали для 71 индивидуума и вводили 68 индивидуумам. Первичный анализ эффективности, проведенный после лечения 60 пациентов, показал ORR 93% (67% полных ответов). При медианном периоде последующего наблюдения, составляющем 12,3 месяца (диапазон 7,0–32,3), у 57% пациентов сохранялась ремиссия, а медиана

продолжительности ответа не была достигнута. По оценкам 12-месячная выживаемость без прогрессирования и общая выживаемость составляла 61% и 83% соответственно. Частыми нежелательными явлениями степени тяжести ≥ 3 были цитопения (94%) и инфекции (32%). Синдром высвобождения цитокинов степени тяжести ≥ 3 и неврологические явления возникали у 15% и 31% пациентов соответственно; ни один не был летальным. Имели место два инфекционных нежелательных явления степени тяжести 5.

[0249] Т-клетки с CAR к CD19 получали для 71 пациента (96%) и вводили 68 пациентам (92%). Медианное время от лейкофереза до доставки Т-клеток с CAR к CD19 в исследовательский центр составляло 16 дней (диапазон 11–128). Один пациент, у которого были получены Т-клетки с CAR к CD19, получал лечение бендамустином-ритуксимабом из-за быстрого развития болезни Паркинсона после лейкофереза, что сделало пациента непригодным для участия в исследовании. После более позднего развития PD исходный продукт пациента отправляли из участка производства через 127 дней после даты первоначального лейкофереза; он прибывал в лечебный центр через 1 день. Трое пациентов с проблемами получения клеток не приступили к дополнительному аферезу в связи с АЕ (n = 1; тромбоз глубоких вен), смерть вследствие прогрессирующего заболевания (PD; n = 1) или отзыв согласия (n = 1). Два дополнительных пациента прекратили участие в исследовании до проведения кондиционирующей химиотерапии вследствие смерти от болезни Паркинсона. После получения кондиционирующей химиотерапии 1 пациента с продолжающейся мерцательной аритмией, критерием исключения, признали не подходящим для инфузии Т-клеток с CAR к CD19. Медианный период наблюдения за пациентами, поддающимися оценке эффективности, составлял 12,3 месяца (диапазон 7,0–32,3); у 28 пациентов период последующего наблюдения составлял ≥ 24 месяцев.

[0250] Медианный возраст составлял 65 лет (диапазон 38-79), 57 (84%) пациентов были мужчинами. (Таблица 1) 65% имели оценку статуса общего состояния согласно ECOG, составляющую 0, и 35% – 1. На исходном уровне пациенты имели признаки высокого риска, включая заболевание IV стадии (85%), бластоидную или плеоморфную морфологию (31%), индекс пролиферации Ki-67 $\geq 30\%$ (40/49 [82%]) (Wang ML et al. *The Lancet Oncology* 2016;17:48) и мутацию TP53 (6/36 [17%]). Восемьдесят один процент пациентов ранее получали ≥ 3 линий терапии (медиана 3 [диапазон 1–5]).

[0251] Таблица 1. Исходные характеристики пациентов

Характеристика	N = 68
Возраст, медиана (диапазон), у	65 [38-79]
≥ 65 лет, n (%)	39 (57)
Мужчины, n (%)	57 (84)
Оценка статуса общего состояния согласно ECOG, n (%)	
0	44 (65)
1	24 (35)

Заболевание стадии IV, n (%)	58 (85)
Поражение костного мозга, n (%)	37 (54)
Поражение селезенки, n (%)	23 (34)
Экстранодальное заболевание, n (%)*	38 (56)
Массивное поражение лимфатических узлов (≥ 10 см), n (%)	7 (10)
Упрощенный МПР, n (%)[†]	
Низкий риск	28 (41)
Промежуточный риск	29 (43)
Высокий риск	9 (13)
Отсутствует	2 (3)
Морфология МКЛ, n (%)	
Классическая форма	40 (59)
Плеоморфная форма	17 (25)
Бластоидная форма	4 (6)
Другое/неизвестно ^{††}	11 (16)
Индекс пролиферации Ki-67, медиана (диапазон), %[§]	65 (1–95)
$\geq 30\%$, n/n (%)	40/49 (82)
$\geq 50\%$, n/n (%)	34/49 (69)
Мутация TP53, n (%)	6/36 (17%)
Статус CD19, n/n (%)	
Положительный	47/51 (92)
Отрицательный	4/51 (8)
Количество предшествующих видов терапии, медиана (диапазон)	3 (1–5)
≥ 3 предшествующих линий терапии, n (%)	55 (81)
Предшествующая терапия,[¶] n (%)	
Антитело к CD20	68 (100)
ВТКi	68 (100)

Ибрутиниб	58 (85)
Акалабрутиниб	16 (24)
Оба	6 (9)
Антрациклин или бендамустин	67 (99)
Антрациклин	49 (72)
Бендамустин	37 (54)
Аутологичная SCT	29 (43)
Бортезомиб	24 (35)
Линалидомид	19 (28)
Другое исследуемое средство	11 (16)
Венетоклакс	6 (9)
Подгруппа рецидивирующего/рефрактерного состояния, n (%)	
Рецидивирующие после аутологичной SCT	29 (43)
Рефрактерные к последней предшествующей терапии	27 (40)
Рецидивирующие после последней предшествующей терапии	12 (18)
Рефрактерный к ибрутинибу, n (%)	38 (56)
Рефрактерный к акалабрутинибу, n (%)	8 (12)

* Исключается поражение костного мозга и селезенки. † При диагностике. †† Исследователь сообщил, что у одного пациента был ограниченный по каппа-легкой цепи МКЛ при диагностике. Морфология указана как неизвестная у 10 пациентов. § Данные Ki-67 были доступны для 49 пациентов при диагностике. † Индукцию плюс консолидацию/поддержание и/или все способы лечения, происходящие между последовательными полными ответами, подсчитывали как 1 схему. ВТКi, ингибитор тирозинкиназы Брутона; ECOG, Восточная объединенная онкологическая группа; МКЛ, мантийноклеточная лимфома; МIP1, Международный прогностический индекс лимфомы из клеток мантийной зоны; SCT, трансплантат стволовых клеток.

[0252] У всех пациентов наблюдалось прогрессирование во время ВТКi (ибрутиниб, n = 58; акалабрутиниб n = 16; оба n = 6), и 43% имели предшествующую аутологичную SCT (Таблица 2). Медианное время от окончания последней терапии ВТКi, исключая переход к инфузии Т-клеток с CAR к CD19, составляло 88 дней (диапазон 25–1047). Сорок процентов пациентов были рефрактерными к последней терапии, в том числе 3 пациента с непереносимостью ибрутиниба с подтвержденным прогрессированием после последней терапии. Двадцать пять пациентов (37%) получали переходную терапию ибрутинибом (n = 14), акалабрутинибом (n = 5), дексаметазоном

(n = 12) и/или метилпреднизолоном (n = 2). Изображения после переходной терапии показали, что у большинства пациентов опухолевая нагрузка была выше, чем медиана при скрининге.

[0253] Таблица 2. Виды переходной терапии

Характеристика	N = 68
Любая переходная терапия, n (%)	25 (37)
Ибрутиниб	14 (21)
Акалабрутиниб	5 (7)
Дексаметазон	12 (18)
Метилпреднизолон	2 (3)
Как ВТКі, так и стероиды, n (%)	6 (9)
Ибрутиниб + стероид	4 (6)
Акалатрутиниб + стероид	2 (3)

ВТКі, ингибитор тирозинкиназы Брутона.

[0254] ORR, оцененная IRRC, среди указанных в протоколе 60 пациентов, получавших лечение Т-клетками с CAR к CD19 с минимальным последующим периодом наблюдения 7 месяцев, составляла 93% (95% CI, 84–98), при этом частота CR составляла 67% и частота PR составляла 27%. Высокое совпадение (95%) наблюдали между ORR по оценке IRRC и по оценке исследователя (Таблица 3).

[0255] Таблица 3. Ответ у пациентов, подлежащих оценке эффективности, на основе оценки исследователя согласно Cheson BD et al. *J Clin Oncol* 2007;25:57, и у пациентов в соответствии с назначенным лечением согласно обзору IRRC в соответствии с классификацией Lugano (2014).

n (%)	Оценка исследователя Подлежащие оценке эффективности N = 60	Оцениваемые согласно IRRC среди пациентов соответствии с назначенным лечением N = 74
Частота объективного ответа	53 (88)	63 (85)
Полный ответ	42 (70)	44 (59)
Частичный ответ	11 (18)	19 (26)
Стабильное заболевание	5 (8)	3 (4)
Прогрессирование заболевания	2 (3)	2 (3)
Не оценено*	0 (0)	6 (8)
Совпадение с ORR, оцененной IRRC, %[†]	95	н.п.
Коэффициент каппа (95% CI)	0,7 (0,4–1,0)	н.п.
Совпадение с частотой CR, оцененной IRRC, %[†]	90	н.п.

Коэффициент каппа (95% CI)	0,8 (0,6–0,9)	н.п.
----------------------------	---------------	------

^a В момент анализа оценку не проводили. [†] Совпадение представляет собой процент субъектов, у которых считанная оценка IRRC соответствует считанной оценке исследователя. CR, полный ответ; IRRC, Независимый наблюдательный радиологический комитет; н.п., не применимо; ORR, частота объективного ответа.

[0256] ORR, оцененная IRRC, для всех включенных в исследование пациентов ($n = 74$) составляла 85% (95% CI, 75–92), при этом частота полного ответа составляла 59%. ORR была одинаковой в ключевых подгруппах, включая возраст, подгруппу с рецидивами/резистентностью, количество предшествующих терапий, морфологию МКЛ, стадию заболевания, экстранодальное заболевание, поражение костного мозга, упрощенный MIPI, положительный результат в отношении CD19, опухолевую массу, уровни лактатдегидрогеназы в сыворотке крови, мутационный статус *TP53*, индекс Ki-67, использование тоцилизумаба или стероидов для лечения АЕ и использование переходной терапии. Среднее время до первоначального ответа составляло 1,0 месяц (диапазон 0,8–3,1), а среднее время до полного ответа составляло 3,0 месяца (диапазон 0,9–9,3). Из 42 пациентов, которые изначально достигали PR или SD, 24 пациента (57%), в том числе 21 с начальным ответом PR и 3 с начальным ответом SD, впоследствии преобразовались в CR через медианный период 2,2 месяца (диапазон 1,8–8,3) после первоначального ответа; 18 из этих 24 пациентов остаются в ремиссии. Анализ MRD проводили у 29/60 пациентов (48%); 24/29 пациентов (83% [19 CR; 5 PR]) были отрицательными в отношении MRD на неделе 4, а 15/19 пациентов (79%) с доступными данными оставались отрицательными в отношении MRD в месяц 6. MRD не удалось оценить у всех пациентов из-за отсутствия фиксированного формалином биоптата опухоли, залитого парафином, для калибровки, который требовался согласно методологии и использовался для установления доминантных реаранжированных последовательностей гена рецептора IgH (VDJ или DJ), IgK, или IgL, отслеженных с течением времени в крови. Два пациента, которые прогрессировали после ответа на Т-клетки с CAR к CD19, получали вторую инфузию через примерно 1 год и 2,6 года после первоначальной инфузии; анализ этих пациентов продолжается.

[0257] Медиану DOR не достигали после медианного периода наблюдения, составляющего 12,3 месяца (медиана (95% CI); не достигали (8,6, NE). Медиану выживаемости без прогрессирования (95% CI) не достигали (9,2, NE). Медиану общей выживаемости (95% CI) также не достигали (24,0, NE). В ремиссии остаются пятьдесят семь процентов всех пациентов и 78% пациентов с CR. Однако у первых 28 пациентов, получавших лечение, медианный период последующего наблюдения составлял 27,0 месяцев (диапазон; 25,3–32,3), при этом 43% сохраняют ремиссию без дополнительной терапии. Частоты текущего ответа были одинаковыми по ключевым ковариатам, включая возраст, морфологию МКЛ, подгруппу с рецидивом/рефрактерностью, индекс Ki-67, стадию заболевания, экстранодальное заболевание, поражение костного мозга, упрощенный MIPI, мутацию *TP53*, положительный результат в отношении CD19, промежуточную терапию, опухолевую нагрузку и применение тоцилизумаба или стероидов. 3 пациента с CD19- опухолями на исходном уровне достигали CR и сохраняли текущие ответы в момент окончания сбора данных. Медианы PFS и OS не достигали, по оценкам 12-месячные частоты составляли 61% (95% CI, 45–74) и 83% (95% CI, 71–91) соответственно. Несмотря на ограниченный размер выборки, анализ PFS в подгруппах показал, что 6-месячная частота PFS была постоянной среди пациентов с бластоидной или плеоморфной морфологией, мутацией *TP53* или индексом Ki-67 $\geq 50\%$. В момент проведения

этого анализа в живых остаются 76% всех пациентов. Из пациентов, у которых имел место ответ, у 14 была PD. Один пациент, у которого имел место PR, подвергался аллогенной SCT.

[0258] Это исследование показало ORR 93% у 60 пациентов с рецидивирующим/рефрактерным МКЛ по протоколу, у всех из которых возник рецидив после терапии ВТКi или они были рефрактерны к ней. Эта ORR включала 67% CR после однократной инфузии. После медианного периода последующего наблюдения, составляющего 12,3 месяца, медиану DOR не достигали; 57% всех пациентов и 78% пациентов с CR сохраняли ответ. Двадцать восемь (28) пациентов, получавших лечение Т-клетками с CAR к CD19, имели более длительный медианный период последующего наблюдения, составляющий 27 месяцев (диапазон 25,3–32,3), а 43% продолжали находиться в ремиссии без дополнительной терапии. Показатели ответа, включая текущий ответ, в целом были одинаковыми среди ключевых подгрупп, включая пациентов с признаками высокого риска. Пациенты с Ki-67 $\geq 50\%$, а также пациенты с бластоидной/плеоморфной морфологией или мутацией *TP53* имели высокие частоты ORR и 6-месячные частоты PFS, сходные с общей популяцией, что позволяет предположить, что лечение Т-клетками с CAR к CD19 было эффективным для пациентов с обычно более неблагоприятным прогнозом.

[0259] Все пациенты, которые отвечали после инфузии CAR Т-клеток, достигали экспансии Т-клеток. Эту экспансию не наблюдали у пациентов, не отвечавших на лечение, что позволяет предположить, что ответ мог быть связан с достаточной экспансией CAR Т-клеток. Как и в предыдущих исследованиях, уровни CAR Т-клеток коррелировали с ORR в первые 28 дней, предполагая, что более высокая экспансия приводила к лучшим и, возможно, более глубоким ответам, о чем свидетельствует более чем в 80 раз более высокий пик/AUC CAR Т-клеток у MRD отрицательных по сравнению с положительными пациентами. Частоты ответа также были одинаковыми независимо от того, применялась ли переходная терапия, и большинство пациентов с изображениями после переходной терапии (87%) имели повышение SPD по сравнению с изображениями, выполненными до переходной терапии.

[0260] Все пациенты, получившие лечение, испытывали ≥ 1 АЕ любой степени тяжести, при этом АЕ степени тяжести ≥ 3 имели место у 99% (Таблица 2). Наиболее частыми АЕ любой степени тяжести были пирексия (94%), нейтропения (87%), тромбоцитопения (74%) и анемия (68%). Наиболее частыми АЕ степени тяжести ≥ 3 были нейтропения (85%), тромбоцитопения (51%), анемия (50%) и инфекции (32%). Двадцать шесть процентов пациентов имели цитопению степени тяжести ≥ 3 , присутствующую более чем через 90 дней после лечения Т-клетками с CAR к CD19, включая нейтропению (16%), тромбоцитопению (16%) и анемию (12%). CRS возникал у 91% пациентов (Таблица 4). Ни один пациент не умер в связи с CRS. Большинство случаев были 1/2 степени тяжести (76%), при этом CRS степени тяжести ≥ 3 встречался у 15% пациентов. Наиболее частыми симптомами CRS степени тяжести ≥ 3 были гипотензия (22%), гипоксия (18%) и пирексия (11%). Для лечения CRS 59% пациентов получали тоцилизумаб, 22% получали стероиды и 16% получали вазопрессоры. Медианное время после инфузии до начала CRS любой степени тяжести и степени тяжести ≥ 3 составляло 2 дня (диапазон 1–13) и 4 дня (диапазон 1–9) соответственно; все явления нормализовались в среднем в течение 11 дней.

[0261] Таблица 4. Нежелательные явления, синдром высвобождения цитокинов и неврологические явления

	N = 68					
n (%) *	Любая степень тяжести	Степень тяжести 1	Степень тяжести 2	Степень тяжести 3	Степень тяжести 4	Степень тяжести 5
Любое нежелательное явление	68 (100)	0 (0)	1 (1)	11 (16)	52 (76)	2 (3)
Пирексия	64 (94)	14 (21)	41 (60)	9 (13)	0	0
Нейтропения	59 (87)	0 (0)	1 (1)	11 (16)	47 (69)	0 (0)
Тромбоцитопения	50 (74)	9 (13)	6 (9)	11 (16)	24 (35)	0 (0)
Анемия	46 (68)	0	12 (18)	34 (50)	0	0
Гипотензия	35 (51)	4 (6)	16 (24)	13 (19)	2 (3)	0
Озноб	28 (41)	17 (25)	11 (16)	0	0	0
Гипоксия	26 (38)	2 (3)	10 (15)	8 (12)	6 (9)	0
Кашель	25 (37)	14 (21)	11 (16)	0	0	0
Гипофосфатемия	25 (37)	2 (3)	8 (12)	15 (22)	0	0
Усталость	24 (35)	10 (15)	13 (19)	1 (1)	0	0
Головная боль	24 (35)	15 (22)	8 (12)	1 (1)	0	0
Тремор	24 (35)	19 (28)	5 (7)	0	0	0
Гипоальбуминемия	23 (34)	5 (7)	17 (25)	1 (1)	0	0
Гипонатриемия	22 (32)	15 (22)	0	7 (10)	0	0
Тошнота	22 (32)	11 (16)	10 (15)	1 (1)	0	0
Повышенный уровень аланинаминотрансферазы	21 (31)	13 (19)	2 (3)	5 (7)	1 (1)	0
Энцефалопатия	21 (31)	5 (7)	3 (4)	7 (10)	6 (9)	0
Гипокалиемия	21 (31)	12 (18)	4 (6)	3 (4)	2 (3)	0
Тахикардия	21 (31)	14 (21)	7 (10)	0	0	0

CRS[†]	62 (91)	20 (29)	32 (47)	8 (12)	2 (3)	0
Симптомы						
Пирексия	62 (100)	15 (24)	40 (65)	7 (11)	0	0
Гипотензия	35 (56)	4 (6)	16 (26)	14 (23)	1 (2)	0
Гипоксия	23 (37)	1 (2)	10 (16)	8 (13)	4 (6)	0
Озноб	21 (34)	12 (19)	9 (15)	0	0	0
Тахикардия	16 (26)	11 (18)	5 (8)	0	0	0
Головная боль	15 (24)	7 (11)	8 (13)	0	0	0
Повышенный уровень аланинаминотрансферазы	10 (16)	5 (8)	1 (2)	3 (5)	1 (2)	0
Повышенный уровень аспартатаминотрансферазы	9 (15)	4 (6)	0 (0)	5 (8)	0	0
Усталость	9 (15)	6 (10)	2 (3)	1 (2)	0	0
Тошнота	9 (15)	5 (8)	4 (6)	0	0	0
Любое неврологическое явление	43 (63)	13 (19)	9 (13)	15 (22)	6 (9)	0
Тремор	24 (35)	19 (28)	5 (7)	0	0	0
Энцефалопатия	21 (31)	5 (7)	3 (4)	7 (10)	6 (9)	0
Спутанность сознания	14 (21)	3 (4)	3 (4)	8 (12)	0	0
Афазия	10 (15)	3 (4)	4 (6)	3 (4)	0	0

* Включены нежелательные явления, встречающиеся у $\geq 30\%$ пациентов, и симптомы CRS и неврологических явлений, происходящих у $\geq 15\%$ пациентов. [†] Проценты в строках CRS вычисляли на основе 62 пациентов, которые испытывали CRS.

[0262] Шестидесят три процента пациентов испытывали NE (Таблица 4). Ни один пациент не умер от NE. NE степени тяжести 1/2 встречалось у 32% пациентов, а NE степени тяжести ≥ 3 – у 31%. Распространенными NE степени тяжести ≥ 3 были энцефалопатия (19%), спутанность сознания (12%) и афазия (4%). У одного пациента развился отек головного мозга степени тяжести 4, и он полностью выздоровел после агрессивной комплексной терапии, включая вентрикулостомию. Тоцилизумаб и стероиды использовали для лечения NE у 26% и 38% пациентов соответственно. Медианное время до начала NE любой степени тяжести и степени тяжести ≥ 3 составляло 7 дней (диапазон 1–32) и 8 дней (диапазон 5–24) соответственно. Медианная продолжительность NE

составляла 12 дней, при этом явления полностью нормализовались у 37/43 пациентов (86%). В момент этого анализа у 4 пациентов наблюдали текущие явления, в том числе тремор степени тяжести 1 (n = 3), нарушение концентрации степени тяжести 2 (n = 1) и дизестезию степени тяжести 1 (n = 1). Серьезные АЕ возникали у 68% пациентов (Таблица 5).

[0263] Таблица 5. Серьезные нежелательные явления, возникающие у по меньшей мере 3 пациентов

	N = 68					
Серьезное нежелательное явление, n (%)	Любая степень тяжести	Степень тяжести 1	Степень тяжести 2	Степень тяжести 3	Степень тяжести 4	Степень тяжести 5
Любое	46 (68)	2 (3)	7 (10)	20 (29)	13 (19)	2 (3)
Энцефалопатия	15 (22)	2 (3)	1 (1)	6 (9)	6 (9)	0
Пирексия	15 (22)	7 (10)	5 (7)	3 (4)	0	0
Гипотензия	11 (16)	0	3 (4)	6 (9)	2 (3)	0
Гипоксия	8 (12)	0	0	4 (6)	4 (6)	0
Острое повреждение почек	5 (7)	0	0	1 (1)	4 (6)	0
Спутанность сознания	5 (7)	0	0	5 (7)	0	0
Пневмомония	5 (7)	0	0	5 (7)	0	0
Анемия	4 (6)	0	0	4 (6)	0	0
Дыхательная недостаточность	4 (6)	0	0	0	4 (6)	0
Сепсис	4 (6)	0	0	1 (1)	3 (4)	0
Афазия	3 (4)	0	0	3 (4)	0	0
Плевральный выпот	3 (4)	0	1 (1)	1 (1)	1 (1)	0
Тахикардия	3 (4)	0	3 (4)	0	0	0

[0264] Тридцать два процента пациентов испытывали инфекции степени тяжести ≥ 3 . Наиболее распространенной была пневмония (9%) (Таблица 6).

[0265] Таблица 6. Инфекции, встречающиеся у по меньшей мере 2 пациентов

	N = 68					
Инфекция, n (%)	Любая степень тяжести	Степень тяжести 1	Степень тяжести 2	Степень тяжести 3	Степень тяжести 4	Степень тяжести 5
Любое	38 (56)	1 (1)	15 (22)	17 (25)	4 (6)	2 (2)*
Инфекция верхних дыхательных путей	9 (13)	0 (0)	8 (12)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
Пневмомония	7 (10)	0 (0)	1 (1)	6 (9)	0 (0)	0 (0)
Синусит	5 (7)	0 (0)	5 (7)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

Сепсис	4 (6)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	3 (4)	0 (0)
Кандидоз ротовой полости	4 (6)	0 (0)	4 (6)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Герпес зостер	3 (4)	0 (0)	3 (4)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Грипп	3 (4)	0 (0)	3 (4)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Стафилококковая бактериемия	3 (4)	0 (0)	0 (0)	2 (3)	0 (0)	1 (1)
Цитомегаловирусная инфекция	2 (3)	0 (0)	2 (3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Грибковая инфекция кожи	2 (3)	1 (1)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Флегмона	2 (3)	0 (0)	2 (3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Бронхит	2 (3)	0 (0)	1 (1)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
Назофарингит	2 (3)	2 (3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Инфекция зубов	2 (3)	0 (0)	0 (0)	2 (3)	0 (0)	0 (0)

* Один пациент умер вследствие стафилококковой бактериемии. Один пациент умер от организующейся пневмонии (развилось острое поражение почек на фоне инфекции и при вскрытии помимо организующейся пневмонии была обнаружена ранее не диагностированная тромбоэмболия легочной артерии).

[0266] Имели место два случая цитомегаловирусной инфекции степени тяжести 2 (3%). Гипогаммаглобулинемия степени тяжести 3 и синдром лизиса опухоли степени тяжести 3 встречались у 1 пациента (1%). Двадцать два пациента (32%) получали внутривенную иммуноглобулиновую терапию. Не отмечали ни одного случая ассоциированной со способным к репликации ретровирусом EBV лимфопролиферации, гемофагоцитарного лимфогистиоцитоза или вторичных видов рака, связанных Т-клетками с CAR к CD19. Оценки EQ-5D выявили снижение по сравнению с исходным уровнем качества жизни, связанного со здоровьем, по сообщениям пациентов, на неделе 4, однако к месяцу 3 наблюдали улучшения в подвижности, самообслуживании, обычной деятельности и общем состоянии здоровья (визуально-аналоговая шкала EQ-5D), при этом общее состояние здоровья возвращалось к исходному уровню или улучшалось у большинства пациентов к месяцу 6 (Таблица 7).

[0267] Таблица 7. Обобщение EQ-5D в зависимости от визита

EQ-5D	Скрининг	Неделя 4	Месяц 3	Месяц 6
Подвижность, n/n (%)				
Пациенты, сообщающие об отсутствии проблем	53/62 (85)	25/51 (49)	37/54 (69)	30/40 (75)
Пациенты с ухудшением состояния после скрининга	н.п.	21/51 (41)	13/54 (24)	8/40 (20)
Самообслуживание, n/n (%)				
Пациенты, сообщающие об отсутствии проблем	59/62 (95)	35/52 (67)	45/54 (83)	37/40 (93)

Пациенты с ухудшением состояния после скрининга	н.п.	16/52 (31)	9/54 (17)	3/40 (8)
Обычная активность, n/n (%)				
Пациенты, сообщающие об отсутствии проблем	53/65 (82)	22/51 (43)	38/55 (69)	30/41 (73)
Пациенты с ухудшением состояния после скрининга	н.п.	25/51 (49)	13/55 (24)	8/41 (20)
Боль/дискомфорт, n/n (%)				
Пациенты, сообщающие об отсутствии проблем	43/65 (66)	34/54 (63)	33/55 (60)	28/42 (67)
Пациенты с ухудшением состояния после скрининга	н.п.	9/54 (17)	13/55 (24)	5/42 (12)
Тревожность/депрессия, n/n (%)				
Пациенты, сообщающие об отсутствии проблем	49/65 (75)	36/54 (67)	38/55 (69)	26/42 (62)
Пациенты с ухудшением состояния после скрининга	н.п.	11/54 (20)	12/55 (22)	10/42 (24)
VAS EQ-5D*				
n	65	52	55	42
Среднее (SD)	82,0 (15,4)	74,5 (15,6)	80,1 (15,6)	84,8 (17,5)
Медиана (диапазон)	85 (75 – 95)	78 (60 – 89)	83 (70 – 92)	90 (80 – 95)
Значение VAS снижено на ≥ 10 с момента скрининга, n/n (%)	н.п.	26/52 (50)	16/55 (29)	5/42 (12)

* Визуально-аналоговая шкала (VAS) EQ-5D оценивает общее состояние здоровья по шкале от 0 до 100, причем более высокие баллы указывают на лучшее состояние здоровья. EQ-5D, Европейская оценка качества жизни в 5 категориях; н.п., не применимо; SD, стандартное отклонение

[0268] Шестнадцать пациентов (24%), получавших Т-клетки с CAR к CD19, умерли, главным образом, от PD (n = 14 [21%]). У двух пациентов были АЕ степени тяжести 5 (3%), в том числе у 1 пациента с организуемой пневмонией, связанной с кондиционирующей химиотерапией, и у 1 пациента со стафилококковой бактериемией, связанной с кондиционирующей химиотерапией и лечением Т-клетками с CAR к CD19.

[0269] Медианное время до пиковых уровней Т-клеток с CAR к CD19 составляло 15 дней (диапазон 8–31) после инфузии Т-клеток CAR к CD19, и клетки все еще обнаруживались через 24 месяца у некоторых пациентов с подлежащими оценке образцами в момент окончания сбора данных (6/10 [60%]) в присутствии нормальных

медианных уровней В-клеток. Сохранение CAR Т-клеток в крови в динамике, измеренное с помощью qPCR, показало снижение в динамике у пациентов с текущим ответом и у пациентов с рецидивом.

[0270] Быстрая экспансия, нормализация до исходного уровня и клиренс с течением времени согласуются с известным механизмом действия Т-клеток с CAR к CD19, несущих костимулирующие домены CD28 и CD3 ζ . Все 4 пациента с отсутствием ответа на лечение Т-клетками с CAR к CD19 имели обнаружимые В-клетки на исходном уровне; ни у одного не наблюдали В-клеточную аплазию ни в какой момент исследования. Хотя какая-либо ассоциация с исходной опухолевой массой отсутствовала, экспансия было ассоциирована с ответом ($P = 0,0036$), с площадью под кривой (AUC) и пиком, которые были в > 200 раз выше среди ответивших на лечение по сравнению с не ответившими на лечение, с аналогичной тенденцией среди MRD-отрицательных по сравнению с положительными пациентами на неделе 4. Как для CRS, так и для NE экспансия была выше у пациентов со степенью тяжести ≥ 3 по сравнению с пациентами со степенью тяжести ≤ 2 , а наиболее высокий пик и AUC отмечали у пациентов, которые получали тоцилизумаб \pm стероиды после инфузии Т-клеток CAR к CD19. Медианное время достижения пика для подлежащих оценке цитокинов составляло 8 дней; большинство нормализовалось до исходного уровня к дню 28. Гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор и интерлейкин (IL)-6 в сыворотке крови были ассоциированы с CRS и NE степени тяжести ≥ 3 . Ферритин в сыворотке крови был ассоциирован только с CRS степени тяжести ≥ 3 , тогда как IL-2 и интерферон- γ в сыворотке крови были ассоциированы только с NE степени тяжести ≥ 3 . Кроме того, цитокиновый анализ спинномозговой жидкости выявил более высокие уровни С-реактивного белка, ферритина, IL-6, IL-8 и молекулы адгезии сосудистого эндотелия 1 у пациентов с NE степени тяжести ≥ 3 . Индукцию антител к CAR не наблюдали ни у одного пациента.

[0271] Частота CRS и NE степени тяжести ≥ 3 была аналогична таковой, о которой сообщалось ранее при терапии Т-клетками с CAR к CD19 при агрессивной НХЛ. Neelapu SS et al. *The New England journal of medicine* 2017;377:2531; Schuster SJ et al. *The New England journal of medicine* 2019;380:45. Случаи смерти от CRS или NE отсутствовали, и большинство симптомов возникали в начале лечения и, как правило, были обратимы, без долгосрочных клинических последствий, нарушающих повседневную активность. Связь, наблюдаемая между пиковыми уровнями цитокинов в сыворотке крови и CRS степени тяжести ≥ 3 и/или неврологических явлений степени тяжести ≥ 3 , предполагает роль Т-клеток с CAR к CD19 в этих токсических эффектах, учитывая, что они наблюдались соразмерно повышению и пиковым уровням CAR Т-клеток в крови. Ассоциации пиковых уровней CAR и сывороточных цитокинов, хемокинов и эффекторных молекул, связанных с миелоидными клетками, с токсичностью согласуется с ранее опубликованными данными об использовании аналогичной конструкции CAR в условиях НХЛ.^{10,13} Имел место один случай отека мозга степени тяжести 4, но пациент полностью выздоровел и сохраняет CR через 24 месяца последующего наблюдения без не разрешенных неврологических осложнений. Результаты, о которых сообщают пациенты, также предполагают отсутствие долгосрочного дефицита качества жизни после терапии Т-клетками с CAR к CD19.

ПРИМЕР 3

[0272] В этом примере представлен дополнительный анализ исследований, описанных выше. Подходящие пациенты (в возрасте ≥ 18 лет) с Р/Р МКЛ имели оценку ECOG 0–1 и ≤ 5 предшествующих видов терапии, включая химиотерапию, антитело к CD20 и ВТКi. Пациентов подвергали лейкаферезу и кондиционирующей химиотерапии (циклофосфамид в дозе 300 мг/м²/день и флударабин в дозе 30 мг/м²/день в течение 3 дней, в дни -5, -4, -3) с последующей однократной инфузией Т-клеток с CAR к CD19 в целевой дозе 2×10^6 CAR Т-клеток/кг путем однократной IV инфузии в день 0. Конструкция CAR к CD19 содержит домен активации Т-клеток CD3 ζ и сигнальный домен CD28. В процессе производства из продукта лейкафереза удаляли циркулирующие CD19-экспрессирующие лейкозные клетки. Sabatino M, et al. *Blood* 2016;128:1227.

[0273] Некоторые пациенты получали переходную терапию дексаметазоном (20–40 мг или эквивалента РО или IV один раз в день в течение 1–4 дней), ибрутинибом (560 мг РО один раз в день) или акалабрутинибом (100 мг РО два раза в день), которые вводили после лейкафереза и завершили за ≤ 5 дней до начала кондиционирующей химиотерапии; после переходной терапии требовалась PET-СТ. Первичной конечной точкой была частота объективного ответа (ORR [полный ответ (CR) + частичный ответ]). Ключевыми вторичными конечными точками были продолжительность ответа (DOR), выживаемость без прогрессирования (PFS), OS, частота нежелательных явлений (AE), уровни CAR Т-клеток в крови и уровни цитокинов в сыворотке крови. Анализы эффективности и безопасности включали всех пациентов, получавших терапию Т-клетками с CAR к CD19.

[0274] Ключевые критерии включения включали Р/Р МКЛ, определяемую как прогрессирование заболевания после последней схемы лечения или отсутствие CR или PR до последней схемы лечения; от одного до пяти предшествующих видов терапии, которые должны были включать химиотерапию, содержащую антрациклин или бендамустин, терапию моноклональными антителами к CD20 и ибрутиниб или акалабрутиниб; ≥ 1 поддающегося измерению поражения; возраст ≥ 18 лет; ECOG 0 или 1; адекватная функция костного мозга, почечная, печеночная, легочная и сердечная функция. Ключевые критерии исключения включали предшествующую трансплантацию аутологичных стволовых клеток (алло-SCT); предшествующую CD19-направленную терапию; предшествующую терапию CAR Т-клетками; клинически значимую инфекцию; и поражение ЦНС в результате МКЛ или других нарушений ЦНС в настоящем или прошлом.

[0275] В общей сложности 68 пациентов получали терапию Т-клетками с CAR к CD19. В данном документе представлены обновленные результаты по безопасности (68 пациентов) и эффективности (60 пациентов) с медианным периодом последующего наблюдения 12,3 месяца [диапазон 7,0–32,3]. В общей сложности 28 пациентов (47%) наблюдали в течение ≥ 24 месяцев. Медианное время до первоначального ответа составило 1,0 месяца [диапазон 0,8–3,1], а до полного ответа составляло 3,0 месяца [диапазон 0,9–9,3]. В общей сложности 24 пациента (40%) перешли с PR/SD на CR, 21 пациент (35%) перешел с PR на CR и 3 пациента (5%) перешли с SD на CR.

[0276] Медианный возраст составлял 65 лет (диапазон 38–79), 39 (57%) пациентов были мужчинами. У ста процентов (100%) пациентов оценка по шкале ECOG составляла 0/1, у 25% имела место морфология бластоидов, у 85% имело место заболевание стадии IV, у 56% имел место MIPi промежуточного/высокого риска, 81% ранее

получали 3 или более вида терапии, при этом медиана составляла 3 (диапазон 1–5) предшествующих видов терапии, 99% ранее получали антрациклин или бендамустин, 100 % ранее получали моноклональные антитела к CD20 и 100% ранее получали ВТКi (85% ибрутиниб, 24% акалабрутиниб и 9% и то и другое). У сорока трех (43%) пациентов возник рецидив после ауто-SCT, 56% были рефрактерны к ибрутинибу и 12% были рефрактерны к акалабрутинибу. У 34/49 пациентов, по которым имеются данные, индекс Ki-67 составлял $\geq 50\%$. Двадцать пять (37%) пациентов получали переходную терапию (21% ибрутиниб, 7% акалабрутиниб, 18% дексаметазон, 3% метилпреднизолон, 9% как ВТКi, так и стероиды, 6% ибрутиниб и стероид, 3% акалабрутиниб и стероид); 23/25 пациентов прошли PET-CT после переходной терапии для документирования подлежащего измерению заболевания перед инфузией Т-клеток с CAR к CD19 (20/23 имели увеличение SPD в мм² после скрининга; 3/23 имели небольшое снижение SPD в мм² после скрининга).

[0277] Высокую ORR наблюдали как у пациентов из группы, подлежащих оценке эффективности, так и у пациентов из группы ИТТ. 95% совпадение наблюдали для ORR; 90% совпадение наблюдали для CR. ORR на основании оценки исследователя у 60 пациентов, подлежащих оценке эффективности, составила 88% (95% CI, 77–95%), при этом частота CR составила 70% (95% CI, 57–81%) и частота PR составила 18% (95% CI, 10%–30%). ORR у 60 пациентов, подлежащих оценке эффективности по оценке ИРРС, составила 93% (95% CI, 84–98%), при этом частота CR составила 67% (95% CI, 53–78%) и частота PR составила 27% (95% CI, 16–40%). ORR совпадала в ключевых подгруппах (возраст, морфология МКЛ, индекс Ki-67, стадия заболевания, упрощенный MIPI, применение стероидов для лечения АЕ, применение тоцилизумаба и применение переходной терапии). ORR на основании оценки исследователя у пациентов из группы ИТТ составила 80% (95% CI, 69–88%), при этом частота CR составила 59% (95% CI, 47–71%) и частота PR составила 20% (95% CI, 12%–31%). ORR у пациентов из группы ИТТ по оценке ИРРС составила 85% (95% CI, 75–92%), при этом частота CR составила 59% (95% CI, 47–71%) и частота PR составила 26% (95% CI, 16–37%).

[0278] Медиану DOR не достигали после медианного периода наблюдения, составляющего 12,3 месяца. Пятьдесят семь процентов (57%) всех пациентов и 78% пациентов с CR сохраняли ремиссию. Первые 28 пациентов, получавших лечение, имели медиану периода последующего наблюдения 27,0 месяцев (диапазон 25,3–32,3), 43% из которых сохраняли постоянную ремиссию без дополнительной терапии. Медиана PFS и медиана OS не были достигнуты после медианного периода последующего наблюдения, составляющего 12,3 месяца. 12-месячная частота PFS (95% CI) составила 61% (45–74%). 12-месячная частота OS (95% CI) составила 83% (71–91%).

[0279] Более чем у 35% пациентов возникали нежелательные явления, возникшие на фоне лечения (у 0 % – степени тяжести 1; у 1% – степени тяжести 2; у 16% – степени тяжести 3; у 76% – степени тяжести 4 и 3% – степени тяжести 5). Наиболее распространенными АЕ степени тяжести ≥ 3 (≥ 20 % пациентов) были нейтропения (69%, степень тяжести 4), тромбоцитопения (35%, степень тяжести 4), анемия (50%, степень тяжести 3), гипофосфатемия (22%, степень тяжести 3). Ни один пациент не умер от синдрома высвобождения цитокинов (CRS). CRS степени тяжести ≥ 3 по оценке Lee DW, et al. *Blood*. 2014, 124:188, отмечали у 15% пациентов. Наиболее распространенными симптомами любой степени тяжести CRS были гипотензия (51%), гипоксия (34%) и пирексия (91%). Лечение нежелательных явлений включало применение тоцилизумаба (59%) и

кортикостероидов (22%). Медианное время до начала заболевания составляло 2 дня (диапазон 1–13), медианная продолжительность составляла 11 дней, и у 62/62 (100%) пациентов с CRS любой степени тяжести наблюдали нормализованные явления.

[0280] Неврологические явления (NE) любой степени тяжести отмечали у 63% пациентов (31% имели NE степени тяжести ≥ 3) и включали энцефалопатию (31%), спутанность сознания (21%) и тремор (35%). Ни один пациент не умер от неврологических явлений. У одного пациента имел место отек головного мозга степени тяжести 4, который полностью нормализовался с помощью агрессивной комплексной терапии, включая вентрикулостомию и внутривенное введение антитимоцитарного глобулина (ATG). Все явления CRS и большинство NE (37/43 пациентов) были обратимыми. Медианное время до начала и продолжительность NE составляло 7 дня (диапазон 1–32) и 12 дней соответственно.

[0281] У индивидуумов, отвечающих на лечение, обнаружен более высокий пиковый уровень CAR Т-клеток по сравнению с не отвечающими на лечение (объективный ответ). При отрицательном MRD отмечен более высокий уровень пика CAR-Т-клеток в сравнении с положительным MRD на неделе 4. Медианное время до пиковых уровней Т-клеток с CAR к CD19 после инфузии Т-клеток с CAR к CD19 составляло 15 дней (диапазон, 8–31). Т-клетки с CAR к CD19 были обнаружимы через 24 месяцев у большинства пациентов с подходящими для оценки образцами (6/10 [60%]). Экспансия была ассоциирована с ответом и статусом MRD. Экспансия была выше у пациентов с CRS и неврологическими явлениями степени тяжести ≥ 3 по сравнению со степенью тяжести ≤ 2 .

[0282] Наблюдали несколько ассоциаций между пиковыми уровнями биомаркеров в сыворотке крови и токсичностью. Аналиты, ассоциированные с CRS степени тяжести ≥ 3 , включали IL-15, IL-2 R α , IL-6, TNF α , GM-CSF, ферритин, IL-10, IL-8, MIP-1a, MIP-1b, гранзим А, гранзим В и перфорин. Аналиты, ассоциированные с неврологическими явлениями степени тяжести ≥ 3 , включали IL-2, IL-1 R α , IL-6, TNF α , GM-CSF, IL-12p40, IFN- γ , IL-10, MCP-4, MIP-1b и гранзим В. Аналиты, ассоциированные как с CRS, так и с неврологическими явлениями степени тяжести ≥ 3 , включали IL-6, TNF α , GM-CSF, IL-10, MIP-1b и гранзим В.

[0283] Лечение Т-клетками с CAR к CD19, описанное в данном документе, вводимыми в виде однократной инфузии, показало высокую частоту устойчивых ответов при Р/Р МКЛ. 93% ORR, которая включала 67% частоту CR, является наиболее высоким отмеченным показателем контроля заболевания у пациентов с предшествующим неэффективным лечением ВТКі. Из исходных 28 пациентов, получавших лечение, 43% оставались в ремиссии через ≥ 24 месяца периода последующего наблюдения. Профиль безопасности согласуется с тем, о чем сообщали в предыдущих исследованиях видов терапии на основе Т-клеток с CAR к CD19 при агрессивной НХЛ. Имело место отсутствие летальных исходов в связи с CRS или неврологическими явлениями; большинство симптомов возникали в начале лечения и в целом были обратимы. Эффективность, надежное и быстрое получение, а также управляемая токсичность определяют роль лечения Т-клетками с CAR к CD19, описанного в данном документе, в лечении пациентов с Р/Р МКЛ, у которых имеется неудовлетворенная медицинская потребность.

ПРИМЕР 4

[0284] В этом примере представлен дополнительный анализ клинических исследований, описанных выше. Возраст пациентов, которые отвечали требованиям включения в исследование, составлял ≥ 18 лет, у них имелась патологически подтвержденная МКЛ с документально подтвержденными либо сверхэкспрессией циклина D1, либо наличием t(11;14), и отмечался рецидив/рефрактерность к 1–5 предшествующим схемам лечения МКЛ. Предшествующая терапия должна была включать химиотерапию, содержащую антрациклин или бендамустин, моноклональное антитело к CD20 и ибрутиниб или акалабрутиниб. Все пациенты ранее получали ВТКi. Хотя пациенты должны были пройти предшествующую терапию ВТКi, она не требовалась в качестве последней линии терапии перед включением в исследование, и пациенты не должны были быть рефрактерными к терапии ВТКi. Требованиям включения в исследование отвечали пациенты, имевшие абсолютное количество лимфоцитов ≥ 100 /мкл. Пациентов, перенесших аутологичную SCT в течение 6 недель после инфузии CD19 CAR-T или ранее получавших CD19-направленную терапию или аллогенную SCT, исключали. Всем пациентам проводили лейкоферез для получения клеток с целью изготовления препарата на основе Т-клеток с CAR к CD19. Пациенты получали необязательную переходную терапию, которая включала дексаметазон (20–40 мг или эквивалент PO или IV один раз в день в течение 1–4 дней), ибрутиниб (560 мг перорально (PO) один раз в день) или акалабрутиниб (100 мг PO два раза в день). Процесс производства модифицировали по сравнению с процессом производства аксикабтагена цилолеуцела для удаления циркулирующих клеток лимфомы посредством положительного обогащения клетками CD4⁺/CD8⁺. Этот продукт обозначается в данном документе как «CAR Т-клетки». Этот продукт также может обозначаться как КТЕ-Х19. Кондиционирующую химиотерапию флударабином (30 мг/м²/день) и циклофосфамидом (500 мг/м²/день) проводили в дни -5, -4 и -3 перед однократной внутривенной инфузией 2×10^6 CAR Т-клеток/кг из Т-клеток с CAR к CD19 в день 0. Более подробную информацию о лечении пациентов можно найти в Примере 2.

[0285] Цели этого исследования были двойственными. Во-первых, сравнение фармакологического профиля CAR Т-клеточного продукта у пациентов с низким и высоким риском в клиническом испытании ZUMA-2, определяемым мутационным статусом гена *TP53* (опухольный белок p53) и индексом пролиферации опухоли Ki-67. Пациенты с характеристиками МКЛ высокого риска, включая мутацию гена опухолевого белка p53 (*TP53*) и высокий индекс пролиферации Ki-67, обычно имеют неблагоприятный прогноз при использовании современных стандартных видов терапии. Cheah CY, et al. *J Clin Oncol*. 2016;34:1256-1269. Пациенты с более низким риском в этом анализе имели индекс пролиферации Ki-67 <50% (по центральной оценке) или *TP53* дикого типа; пациенты с более высоким риском имели Ki-67 $\geq 50\%$ или мутацию *TP53* при секвенировании следующего поколения. В первичном анализе эффективности ZUMA-2 (N = 60) ORR составил 93% (67% CR) после медианного периода последующего наблюдения, составляющего 12,3 месяца. 57% всех пациентов и 78% пациентов с CR имели текущие ответы. ORR была в целом сопоставима между пациентами с более низким и более высоким риском в ZUMA-2, в том числе у пациентов с индексом пролиферации Ki-67 < или $\geq 50\%$ и немутированным по сравнению с мутированным статусом *TP53*. Wang M, et al. *New Engl J Med*. 2020;382:1331–1342.

[0286] Вторая цель заключалась в том, чтобы охарактеризовать фармакодинамический профиль у пациентов с ранним (день 28) отрицательным статусом минимального остаточного заболевания (MRD) и у пациентов с нейротоксичностью степени тяжести 4. В предыдущем анализе результатов ZUMA-2 уровни CAR T-клеток в крови по пику и площади под кривой (AUC) в дни 0–28 были ассоциированы с ORR (включая неопределяемое MRD) и CRS и неврологическими явлениями степени тяжести ≥ 3 . Wang M, et al. *New Engl J Med.* 2020;382:1331–1342. В этом анализе CRS и неврологические явления были в основном обратимыми (N = 68 пациентов, получивших лечение): 15% имели CRS степени тяжести ≥ 3 ; 31% имели неврологические явления степени тяжести ≥ 3 ; и двое имели АЕ степени тяжести 5 (одно из которых было связано с CAR T-клеточным продуктом). MRD (чувствительность 10^{-5}) оценивали с помощью секвенирования следующего поколения, как сообщалось ранее. Wang M, et al. *New Engl J Med.* 2020;382:1331–1342.

[0287] В этой обновленной версии представлены фармакологические данные для всех 68 пациентов в ZUMA-2, которые получали лечение CAR T-клетками. Характеристики продукта, уровни CAR T-клеток в крови и уровни цитокинов в сыворотке крови, а также их связь с клиническими исходами анализировали с использованием ранее описанных способов. Locke FL, et al. *Mol Ther.* 2017;25:285–295. Критерий суммы рангов Уилкоксона использовали для измерения ассоциаций между результатами подгруппы и уровнями CAR T-клеток и цитокинов. P-значения не были скорректированы для критериев множественного сравнения.

[0288] Характеристики CAR T-клеточного продукта в целом были сопоставимы в прогностических группах, определяемых индексом пролиферации Ki-67 и мутационным статусом TP53. Наблюдали тенденция к более дифференцированному фенотипу в подгруппе с высоким Ki-67 и фенотипам на основе CD4 у пациентов с мутацией TP53. (Таблица 8).

[0289] Таблица 8

Медиана (диапазон)	Пациенты, получившие лечение ^a (n = 65)	Индекс пролиферации Ki-67		TP53	
		<50% (n = 14)	$\geq 50\%$ (n = 34)	Мутация (n = 6)	Отсутствие мутации (n = 30)
Соотношение CD4/CD8	0,7 (0,04, 3,7)	0,8 (0,4, 1,7)	0,7 (0,04, 3,7)	1,2 (0,7, 3,7)	0,7 (0,04, 1,9)
Наивные T- клетки, %	24,5 (0,3, 80,7)	30,4 (11,0, 57,0)	20,1 (0,3, 68,8)	23,0 (11,8, 46,5)	25,2 (0,3, 78,1)
Центральные T-клетки памяти, %	12,8 (2,3, 51,6)	10,1 (8,4, 45,0)	12,0 (2,3, 51,6)	13,2 (6,0, 51,6)	10,2 (2,3, 45,0)
Эффекторные T-клетки памяти, %	24,5 (0,8, 70,3)	19,4 (6,3, 56,1)	29,1 (5,8, 70,3)	25,9 (7,0, 38,2)	29,4 (2,2, 70,3)

Эффекторные Т-клетки, %	28,7 (2,8, 65,2)	23,7 (11,5, 49,30)	32,4 (2,8, 65,2)	29,1 (2,8, 44,7)	29,1 (8,4, 54,5)
--------------------------------	------------------	--------------------	------------------	------------------	------------------

^a Из всех 68 пациентов, получавших лечение, были доступны данные о характеристиках продукта для 65 пациентов. Данные о характеристиках продукта были доступны для 48/49 пациентов с доступными данными Ki-67 и данные были доступны для всех 36 пациентов с мутацией *TP53*. *TP53*, ген опухолевого белка p53

[0290] Также наблюдали сопоставимую экспансию CAR Т-клеток в группах с разными прогностическими факторами, определяемыми индексом пролиферации Ki-67 и мутационным статусом *TP53*. Как пиковые уровни, так и AUC CAR Т-клеток в крови после введения были сопоставимы у пациентов с индексом пролиферации дикого типа по сравнению с мутированным *TP53* или Ki-67 <50% по сравнению с ≥50%, что согласуется с сопоставимой эффективностью в этих подгруппах. Первичная конечная точка частоты объективного ответа (ORR) у пациентов показана в **Таблице 9**. Медианное время ответа составило 28 дней (диапазон: от 24 до 92 дней), при этом медианный период последующего наблюдения составлял 12,3 месяца. 28 пациентов имели потенциальный период последующего наблюдения в течение ≥ 24 месяцев, и 12 из этих пациентов сохраняли ремиссию. Эффективность устанавливали на основе полного ответа и продолжительности ответа (DOR).

[0291] ORR составляла 100% по сравнению с 94% у пациентов с индексом пролиферации Ki-67 <50% по сравнению с ≥50%, тогда как частота CR составляла 64% по сравнению с 78% у пациентов с индексом пролиферации Ki-67 <50% по сравнению с ≥50%. **Таблица 9**. Количество пациентов с доступными данными для индекса пролиферации Ki-67 составляло 49.

[0292] Таблица 9

	ORR (95% CI), %	Частота CR (95% CI), %
Ki-67 PI < 50%	100 (77 – 100)	64 (35 – 87)
Ki-67 PI ≥ 50%	94 (79 – 99)	78 (60 – 91)

[0293] ORR составляла 100% для обоих пациентов с диким типом по сравнению с мутированным *TP53*, в то время как частота CR составляла 67% по сравнению с 100% в случае дикого типа *TP53* по сравнению с мутированным *TP53*. **Таблица 10**. Количество пациентов с доступными данными для *TP53* составляло 36. Все шесть пациентов с мутацией *TP53* и все 30 пациентов без мутации отвечали на лечение. Среди шести пациентов с мутацией *TP53* трое имели нейротоксичность степени тяжести ≥ 3 и двое имели степень тяжести CRS ≥ 3

[0294] Таблица 10

	ORR (95% CI), %	Частота CR (95% CI), %
Мутация <i>TP53</i>	100 (54 – 100)	100 (54 – 100)
Отсутствие мутации <i>TP53</i>	100 (88 – 100)	67 (47 – 83)

[0295] До 44 биомаркеров в сыворотке крови измеряли до лечения, в день 0 и в различные временные точки до дня 28 после инфузии CAR Т-клеток, включая IL (интерлейкины); INF- γ (интерферон гамма), MCP-1 (монокитарный хемотаксисный белок 1), IL-2R α (рецептор IL-2 альфа), sPD-L1 (растворимый лиганд белка запрограммированной клеточной смерти 1) и sVCAM (растворимая молекула адгезии сосудистого эндотелия). Фармакодинамический профиль для двух прогностических групп с индексом пролиферации Ki-67 <50% по сравнению с $\geq 50\%$ был сопоставим в отношении пролиферативных (IL-15, IL-2), воспалительных (IL-6, IL-2R α , sPD-L1 и VCAM-1), иммуномодулирующих (INF- γ , IL-10), хемокиновых (IL-8 и MCP-1) и эффекторных цитокинов (гранзим В). Кроме того, существует тенденция к увеличению уровней пролиферативных (IL-15, IL-2) и воспалительных (IL-6, IL-2R α , sPD-L1 и VCAM-1) цитокинов у пациентов с мутированным *TP53* по сравнению с *TP53* дикого типа. Фиг. 1A-1F.

[0296] Также имели место повышенные пиковые уровни отдельных цитокинов в сыворотке крови у пациентов, которые достигли отрицательного статуса в отношении MRD. MRD анализировали у 29 из 68 пациентов (43%); 24 из этих пациентов (83% [19 пациентов с полным ответом и 5 с частичным ответом]) были MRD отрицательными через один месяц после введения CAR Т-клеток. Через один месяц после введения CAR Т-клеток MRD отрицательные (n = 24/29) по сравнению с положительными пациентами (n = 5/29) имели повышенные медианные пиковые уровни интерферона (INF)- γ и интерлейкина (IL)-6 и тенденцию к повышению увеличению IL-2. Уровни цитокинов достигали пика в сыворотке крови в течение 7 дней лечения. Постоянные тенденции наблюдали для PD-L1 и гранзима В. Повышенные пиковые уровни CAR Т-клеток, измеренные в течение 14 дней после лечения, также наблюдали у пациентов, которые через 1 месяц были MRD отрицательными. Фиг. 2A-2I.

[0297] У шести пациентов появились неврологические явления степени тяжести 4, в том числе одно в виде отека головного мозга. Три пациента имели сопутствующий CRS степени тяжести 4. Пациенты с неврологическими явлениями степени тяжести 4 демонстрировали повышенные пиковые уровни воспалительных биомаркеров (например, INF- γ , MCP-1, TNF- α , IL-2 и IL-6) по сравнению с пациентами без неврологических явлений.

[0298] Отек головного мозга полностью нормализовался после агрессивной комплексной терапии. Wang M, et al. *New Engl J Med.* 2020;382:1331–1342. Экспансия CAR Т-клеток и пиковые уровни IL-2 в сыворотке крови были наиболее высокими у этого пациента; повышение нескольких цитокинов было в несколько раз выше у этого

пациента по сравнению со медианным значением у других исследуемых пациентов/пациентов ZUMA-2. Таблица 11.

Таблица 11

	Пациент с отеком головного мозга		Другие пациенты ZUMA-2 (n = 67), медиана (IQR)	
	Исходный уровень (День 0)	Пик (после введения CAR T-клеток)	Исходный уровень (День 0)	Пик (после введения CAR T-клеток)
Уровни CAR T-клеток, клеток/мкл	0	431,3	0	83,1 (17,2 – 264,3) ^a
IFN-γ, пг/мл	7,5	584,4	7,5 (7,5 – 17,7)	411,2 (144,8 – 1876)
MCP-1, пг/мл	462,6	1500	882,9 (557,2 – 1164,8)	1084,3 (804,2 – 1500)
TNFα, пг/мл	1,9	10,4	5,7 (3,2 – 10,6)	9,5 (5,5 – 23,2)
sVCAM-1, нг/мл	527,5	1659,7	1195,9 (791,7 – 2533,1)	1900,7 (1032,4 – 3646,7)
IL-2, нг/мл	0,9	16,7	0,9 (0,9 – 0,9)	6,0 (3,0 – 14,4)
IL-6, пг/мл	1,6	159,5	1,6 (1,6 – 6,4)	87,9 (12,9 – 879,1)
CRP, мг/л	6,8	18,2	30,5 (15,1 – 63,0)	119,4 (54,6 – 173,8)
Ферритин, нг/мл	606,3	824,2	502,4 (273,5 – 877,7)	1265 (597,8 – 2970,1)
IL-15, нг/мл	29,1	56,1	33,2 (25,4 – 48)	38,4 (29,7 – 61,7)

^a Из 66 пациентов с доступными данными.

[0299] Фармакокинетические и фармакодинамические профили CAR T-клеток были сопоставимы в группах пациентов с МКЛ с разным статусом прогностических маркеров, ассоциированных с более низким и более высоким риском (определяемым Ki-67 и мутированным TP53), что согласуется с сопоставимыми частотами клинического ответа. Отмечалась тенденция к более высокому уровню провоспалительных маркеров у пациентов с мутированным TP53.

[0300] Фармакодинамический профиль введения CAR T-клеток был ассоциирован с эффективностью (статус MRD через 1 месяц) и неврологическими явлениями степени тяжести 4, возникшими в связи с лечением. Пациент, у которого развился отек головного мозга, имел наиболее высокие пиковые уровни CAR T-клеток и IL-2 в сыворотке крови, а также повышенные уровни провоспалительных маркеров после лечения.

ПРИМЕР 5

[0301] Одногрупповое клиническое исследование фазы 2 проводили для CD19-направленной генетически модифицированной аутологичной Т-клеточной иммунотерапии для лечения пациентов с рецидивирующей или рефрактерной мантийноклеточной лимфомой (МКЛ), уже получивших один или несколько видов лечения (которые могли включать антитело к CD20, химиотерапию, содержащую антрациклин или бендамустин, и/или ингибитор тирозинкиназы Брутона (BTKi), такой как ибрутиниб или акалабрутиниб). Отвечающие критериям

исследования пациенты также имели прогрессирование заболевания после последнего лечения или рефрактерное заболевание к последнему лечению. В исследование не включали пациентов с активными или серьезными инфекциями, ранее перенесших аллогенную трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток (HSCT), обнаруживаемыми злокачественными клетками в спинномозговой жидкости или метастазами в головной мозг, а также любой лимфомой центральной нервной системы (ЦНС) или расстройствами ЦНС в анамнезе.

[0302] Мононуклеарные клетки периферической крови пациента получали с помощью процедуры лейкофереза. Мононуклеарные клетки обогащали в отношении Т-клеток посредством отбора в отношении CD4+ и CD8+ клеток, активированных антителами к CD3 и CD28 в присутствии IL-2, затем трансдуцировали неспособным к репликации вирусным вектором, содержащим FMC63-28Z CAR, химерный антигенный рецептор (CAR), содержащий одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv) к CD19, домены CD28 и CD3-дзета. Не ограничиваясь какой-либо гипотезой, отбор CD4+ и CD8+ клеток мог снижать потенциальное количество циркулирующих CD19-экспрессирующих опухолевых клеток в материале лейкофереза пациентов, который подлежит включению в процесс получения *ex vivo*. Т-клеточный продукт этого способа может быть идентифицирован в виде КТЕ-Х19. Т-клетки с CAR к CD19 размножали, промывали, готовили в форме суспензии и криоконсервировали. Перед терапией на основе Т-клеток с CAR к CD19 пациенты получали лимфодеплезирующую схему химиотерапии циклофосфамидом в дозе 500 мг/м² внутривенно и флударабином в дозе 30 мг/м² внутривенно в каждый из пятого, четвертого и третьего дней перед инфузией CAR Т-клеток; пациенты также могли получать ацетаминофен и дифенгидрамин или другой H1-антигистамин примерно за 30–60 минут до инфузии Т-клеток с CAR к CD19. Профилактического применения системных кортикостероидов избегали, поскольку они могут оказывать влияние на активность CAR Т-клеток.

[0303] Целевая доза составляла 2×10^6 CAR положительных жизнеспособных Т-клеток или Т-клеток с CAR к CD19 на кг массы тела, при этом максимум составлял 2×10^8 Т-клеток с CAR к CD19 (для пациентов с массой тела 100 кг и выше). 68 пациентов получали однократную инфузию (под действием силы тяжести или с помощью перистальтической помпы в течение 30 минут) Т-клеток с CAR к CD19, и 60 из этих пациентов наблюдали в течение по меньшей мере 6 месяцев после оценки заболевания на неделе 4, что квалифицировало их как подходящих для оценки эффективности. 56 пациентов получали 2×10^6 Т-клеток/кг с CAR к CD19; 1 пациент получал дозу 1×10^6 Т-клеток/кг с CAR к CD19, 1 пациент получал дозу $1,6 \times 10^6$ Т-клеток/кг с CAR к CD19, 2 пациента получали дозу $1,8 \times 10^6$ Т-клеток/кг с CAR к CD19 и 2 пациента получали дозу $1,9 \times 10^6$ Т-клеток/кг с CAR к CD19. У этих 60 пациентов медианный возраст составлял 65 лет (диапазон: от 38 до 79 лет), 51 мужчина и 56 белых. 50 пациентов имели стадию заболевания IV. На основании упрощенного Международного прогностического индекса мантийноклеточной лимфомы (s-MPI) 25 пациентов относили к группе низкого риска, 25 пациентов относили к группе среднего риска, 8 пациентов относили к группе высокого риска и 2 пациента имели статус неизвестного риска. У 20 пациентов выполняли исходное исследование костного мозга в соответствии с протоколом; из них 10 были отрицательными, 8 были положительными и 2 были неопределенными. Медианное количество предшествующих видов терапии среди всех 60 пациентов, подлежащих оценке эффективности, составляло 3 (диапазон: от двух до пяти). 26 пациентов имели рецидив после аутологичной HSCT или были рефрактерны к ней. 21 пациент имел рецидив после последней терапии МКЛ, в то время как 36

пациентов были рефрактерными к последней терапии по поводу МКЛ. 14 пациентов имели бластоидную форму МКЛ. После лейкафереза и до инфузии Т-клеток с CAR к CD19 21 пациент получил переходную терапию. 19 пациентов получали лечение ВТКi, 14 пациентов получали лечение кортикостероидами и 6 пациентов получали лечение как ВТКi, так и кортикостероидами. 53 пациента получали лимфодеплецирующую схему химиотерапии циклофосфамидом в дозе 500 мг/м² внутривенно и флударабином в дозе 30 мг/м² внутривенно, оба средства вводили в пятый, четвертый и третий дни до терапии на основе Т-клеток с CAR к CD19 (день 0). Остальные 7 пациентов получали ту же дозу лимфодеплецирующей химиотерапии в течение 4 или более дней до CAR Т-клеточной терапии. Первичная конечная точка частоты объективного ответа (ORR) у пациентов показана в **Таблице 12**. Медианное время ответа составило 28 дней (диапазон: от 24 до 92 дней), при этом медианный период последующего наблюдения составлял 12,3 месяца. Двадцать восемь пациентов имели потенциальный период последующего наблюдения в течение ≥ 24 месяцев, и двенадцать из этих пациентов сохраняли ремиссию. Эффективность устанавливали на основе полного ответа и продолжительности ответа (DOR).

[0304] Таблица 12

	Пациенты, подлежащие оценке эффективности, N = 60	Пациенты после лейкафереза N = 74
Частота ответа		
Частота объективного ответа (ORR) [95% CI]	52 [75, 94]	59 [69, 88]
Частота полной ремиссии (CR) [95% CI]	37 [48, 74]	41 [43, 67]
Частота частичной ремиссии (PR) [95% CI]	15 [15, 38]	18 [15, 36]
Продолжительность ответа (DOR)^a		
Медиана в месяцах [95% CI] Диапазон в месяцах	NR [8,6, NE] 0,0 ^b , 29,2 ^b	NR [11,8, NE] 0,0 ^b , 29,2 ^b
DOR, если наилучший ответ представляет собой CR, медиана в месяцах [95% CI] Диапазон в месяцах	NR [13,6, NE] 1,9 ^b , 29,2 ^b	NR [13,6, NE] 0,0 ^b , 29,2 ^b
DOR, если наилучший ответ представляет собой PR, медиана в днях [95% CI] Диапазон в месяцах	2,2 [1,5, 5,1] 0,0 ^b , 22,1 ^b	4,2 [1,5, 5,1] 0,0 ^b , 22,1 ^b
Медианный период последующего наблюдения для DOR в месяцах	8,6	8,1

CI, доверительный интервал; NE, не подлежит оценке; NR, не достигнуто; PR, частичная ремиссия.

a. Среди всех, ответивших на лечение. DOR измеряется от даты первого объективного ответа до даты прогрессирования или смерти.

b. Цензурированное значение.

[0305] CRS (синдром высвобождения цитокинов) наблюдали у 75 из 82 пациентов, в том числе CRS степени тяжести ≥ 3 (система оценки Lee) у 15 из 82 пациентов. Медианное время до начала CRS составило 3 дня (диапазон: от 1 до 13 дней), а медианная продолжительность CRS составила 10 дней (диапазон: от 1 до 50 дней). Среди пациентов с CRS основные проявления (т.е. проявления, которые возникали у $>10\%$ пациентов) включали лихорадку (99% пациентов), гипотензию (60% пациентов), гипоксию (37% пациентов), озноб (33% пациентов), тахикардию (37% пациентов), головную боль (24% пациентов), повышенную усталость (19% пациентов), тошноту (13% пациентов), повышение уровня аланинаминотрансферазы (13% пациентов), повышение уровня аспартатаминотрансферазы (12% пациентов) и диарею (11% пациентов). Серьезные явления, ассоциированные с CRS, включали гипотензию, лихорадку, гипоксию, острую почечную недостаточность и тахикардию. В ответ на CRS пациенты могли получать тоцилизумаб и/или кортикостероиды по показаниям, указанным в **Таблице 13**.

Таблица 13

Степень тяжести CRS ^a	Тоцилизумаб	Кортикостероиды
<p>Степень тяжести 1</p> <p>Симптомы требуют только симптоматического лечения (например, лихорадка, тошнота, усталость, головная боль, миалгия, недомогание).</p>	<p>В случае отсутствия улучшения через 24 часа введите тоцилизумаб в дозе 8 мг/кг внутривенно в течение 1 часа (не превышая 800 мг).</p> <p>(для других видов рака, это может быть не применимо)</p>	<p>Неприменимо.</p>
<p>Степень тяжести 2</p> <p>Симптомы требуют умеренного вмешательства и отвечают на умеренное вмешательство.</p> <p>Потребность в кислороде менее 40% FiO₂ или гипотензия, поддающаяся введению жидкостей или низкой дозы одного вазопрессора, или органная токсичность степени тяжести 2^b.</p>	<p>Введите тоцилизумаб в дозе 8 мг/кг внутривенно в течение 1 часа (не превышая 800 мг).</p> <p>Повторяйте введение тоцилизумаба каждые 8 часов при необходимости, если нет ответа на внутривенное введение жидкостей или усиление подачи кислорода. Не превышайте максимума 3 доз в течение 24-часового периода; максимума 4 доз, если клиническое улучшение признаков и симптомов CRS отсутствует.</p> <p>При улучшении прекратите введение тоцилизумаба.</p>	<p>Осуществляйте лечение как при степени тяжести 3 при отсутствии улучшения в течение 24 часов после начала введения тоцилизумаба.</p> <p>При улучшении уменьшите дозу кортикостероидов.</p>

<p>Степень тяжести 3</p> <p>Симптомы требуют агрессивного вмешательства и отвечают на агрессивное вмешательство.</p> <p>Потребность в кислороде больше или равна 40% FiO₂ или гипотензия, требующая высокой дозы или нескольких вазопрессоров, или органная токсичность степени тяжести 3, или трансаминалит степени тяжести 4.</p>	<p>Как для степени тяжести 2</p>	<p>Вводите метилпреднизолон в дозе 1 мг/кг внутривенно два раза в день или эквивалентную дозу дексаметазона (например, 10 мг внутривенно каждые 6 часов) до достижения степени тяжести 1, затем уменьшите дозу кортикостероидов.</p> <p>При улучшении осуществляйте лечение, как описано для степени тяжести 2.</p> <p>В случае отсутствия улучшения осуществляйте лечение, как описано для степени тяжести 4.</p>
<p>Степень тяжести 4</p> <p>Опасные для жизни симптомы.</p> <p>Потребности в дыхательной поддержке аппаратом ИВЛ или непрерывном вено-венозном гемодиализе (CVVHD), или органная токсичность степени тяжести 4 (за исключением трансаминалита).</p>	<p>Как для степени тяжести 2</p>	<p>Вводите метилпреднизолон в дозе 1000 мг/день внутривенно в течение 3 дней.</p> <p>При улучшении уменьшите дозу кортикостероидов и осуществляйте лечение, как описано для степени тяжести 3.</p> <p>При отсутствии улучшения рассмотрите альтернативные иммунодепрессанты.</p>

- a. Lee DW et al (2014). Current concepts in the diagnosis and management of cytokine release syndrome. Blood. 2014 Jul 10; 124(2): 188–195.
- b. Лечение неврологической токсичности см. в **Таблице 14**.
- c. См. подробную информацию по назначению тоцилизумаба

[0306] Неврологические явления наблюдали у 53 пациентов, 20 из которых испытывали нежелательные реакции степени тяжести 3 или выше (тяжелые или опасные для жизни). Медианное время до начала неврологических явлений составляло 6 дней (диапазон: от 1 до 32 дней). Неврологические явления нормализовались у 52 из 66 пациентов с медианной продолжительностью 21 день (диапазон: от 2 до 454 дней). 3 пациента имели текущие неврологические явления в момент смерти, в том числе 1 пациент с тяжелой энцефалопатией. Оставшиеся неразрешившиеся неврологические явления относились либо к степени тяжести 1, либо к степени тяжести 2. 54 пациента испытывали CRS к моменту начала неврологических явлений. 5 пациентов не испытывали CRS с неврологическими явлениями и у 8 пациентов развились неврологические явления после разрешения CRS. 56 пациентов испытали первый CRS или неврологическое явление в течение 7 дней после инфузии Т-клеток с CAR к CD19.

[0307] Наиболее частые неврологические явления (возникающие у >10% пациентов) включали энцефалопатию (51% пациентов), головную боль (35% пациентов), тремор (у 38 пациентов), афазию (23% пациентов) и делирий (16% больных). Серьезные явления, включая энцефалопатию, афазию и судороги, происходили после лечения. Некоторые побочные реакции, наблюдаемые у по меньшей мере десяти процентов пациентов, получавших лечение, включали: нарушения со стороны кровеносной и лимфатической систем

(коагулопатии, нарушения сердечной деятельности, тахикардии, брадикардии, нежелудочковые аритмии); нарушения со стороны желудочно-кишечного тракта (тошнота, запор, диарея, боль в животе, боль в полости рта, рвота, дисфагия); общие нарушения и реакции в месте введения (пирексия, усталость, озноб, отек, боль); нарушения со стороны иммунной системы (синдром высвобождения цитокинов, гипогаммаглобулинемия); инфекции и инвазии (инфекция – патоген не указан, вирусные инфекции, бактериальные инфекции); нарушения со стороны обмена веществ и питания (снижение аппетита), нарушения опорно-двигательного аппарата и соединительной ткани (скелетно-мышечные боли, двигательная дисфункция); расстройства со стороны нервной системы (энцефалопатия, тремор; головная боль, афазия, головокружение, нейропатия); психические расстройства (бессонница, делирий, тревожность); нарушения со стороны почек и мочевыводящих путей (почечная недостаточность, снижение диуреза); респираторные, торакальные и медиастинальные нарушения (гипоксия, кашель, одышка, плевральный выпот); нарушения со стороны кожи и подкожных тканей (сыпь); и сосудистые нарушения (гипотония, гипертония, тромбоз). Пациенты, которые испытывают неврологическую токсичность степени тяжести 2 или выше, могли получать лечение в соответствии с показаниями, указанными в Таблица 14.

[0308] Таблица 14

Оценка степени тяжести ^a	Сопутствующий CRS	Сопутствующий CRS отсутствует
Степень тяжести 2	<p>Введите тоцилизумаб согласно Таблице 13 для лечения CRS степени тяжести 2.</p> <p>В случае отсутствия улучшения в течение 24 часов после начала лечения тоцилизумабом вводите дексаметазон в дозе 10 мг внутривенно каждые 6 часов до тех пор, пока степень тяжести явления не станет равной 1 или меньше, затем уменьшите дозу кортикостероидов.</p> <p>Если улучшение все еще отсутствует, осуществляйте лечение, как описано для степени тяжести 3.</p>	<p>Вводите дексаметазон в дозе 10 мг внутривенно каждые 6 часов до тех пор, пока степень тяжести явления не станет равной 1 или меньше, затем уменьшите дозу кортикостероидов.</p>
	<p>Рассмотрите неседативные противосудорожные лекарственные препараты (например, леветирацетам) для профилактики судорог.</p>	

Степень тяжести 3	<p>Введите тоцилизумаб согласно Таблице 13 для лечения CRS степени тяжести 2.</p> <p>Кроме того, введите дексаметазон в дозе 10 мг внутривенно с первой дозой тоцилизумаба и повторными дозами дексаметазона каждые 6 часов. Продолжите применение дексаметазона до тех пор, пока степень тяжести явления не станет равной 1 или меньше, затем уменьшите дозу кортикостероидов.</p> <p>При улучшении прекратите введение тоцилизумаба и осуществляйте лечение, как описано для степени тяжести 2.</p> <p>Если улучшение все еще отсутствует, осуществляйте лечение, как описано для степени тяжести 4 (ниже).</p>	<p>Вводите дексаметазон в дозе 10 мг внутривенно каждые 6 часов.</p> <p>Продолжите применение дексаметазона до тех пор, пока степень тяжести явления не станет равной 1 или меньше, затем уменьшите дозу кортикостероидов.</p> <p>В случае отсутствия улучшения осуществляйте лечение, как описано для степени тяжести 4.</p>
	<p>Рассмотрите неседативные противосудорожные лекарственные препараты (например, леветирацетам) для профилактики судорог.</p>	
Степень тяжести 4	<p>Введите тоцилизумаб согласно Таблице 13 для лечения CRS степени тяжести 2.</p> <p>Введите метилпреднизолон в дозе 1000 мг/день внутривенно с первой дозой тоцилизумаба и продолжайте введение метилпреднизолона в дозе 1000 мг/день внутривенно еще в течение 2 дней.</p> <p>При улучшении осуществляйте лечение, как описано для степени тяжести 3.</p> <p>При отсутствии улучшения рассмотрите альтернативные иммунодепрессанты.</p>	<p>Вводите метилпреднизолон в дозе 1000 мг/день внутривенно в течение 3 дней.</p> <p>При улучшении осуществляйте лечение, как описано для степени тяжести 3.</p> <p>При отсутствии улучшения рассмотрите альтернативные иммунодепрессанты.</p>
	<p>Рассмотрите неседативные противосудорожные лекарственные препараты (например, леветирацетам) для профилактики судорог.</p>	

а. Тяжесть на основании общих терминологических критериев нежелательных явлений.

[0309] После инфузии Т-клеток с CAR к CD19 фармакодинамические ответы оценивали в течение четырехнедельного интервала путем измерения временного повышения уровня цитокинов, хемокинов и других молекул в крови. Анализировали уровни IL-6, IL-8, IL-10, IL-15, TNF- α , IFN- γ и/или sIL2R α . Пиковое повышение уровней этих цитокинов обычно наблюдали между днями 4 и 8 после инфузии, и уровни обычно возвращались к исходному уровню в течение 28 дней. Ожидался период В-клеточной аплазии. После инфузии за первоначальной экспансией Т-клеток с CAR к CD19 последовало снижение до уровня, близкого к исходному, через 3 месяца. Пиковые уровни Т-клеток с CAR к CD19 наблюдали в течение первых 7-15 дней после инфузии. Результаты показали, что уровни Т-клеток с CAR к CD19 в крови были ассоциированы с объективным ответом (т.е. полной ремиссией (CR) или частичной ремиссией (PR)). Медианный пиковый уровень Т-клеток с CAR к CD19 у лиц, отвечающих на лечение (с полной ремиссией и частичной ремиссией), составил 102,4 клеток/мкл (диапазон: от

0,2 до 2589,5 клеток/мкл; $n = 51$), и у лиц, не отвечающих на лечение, составил 12,0 клеток/мкл (диапазон: от 0,2 до 1364,0 клеток/мкл, $n = 8$). Медианное значение AUC в дни 0–28 (AUC_{0-28}) у пациентов с объективным ответом составляло 1487,0 клеток/мкл•дней (диапазон: $3,8-2,77 \times 10^4$ клеток/мкл • дней; $n = 51$) и 169,5 клеток/мкл • дней у пациентов, не отвечающих на лечение (диапазон: от 1,8 до $1,17 \cdot 10^4$ клеток/мкл • дней; $n=8$). Медианный пик (24,7 клеток/мкл) Т-клеток с CAR к CD19 (пиковые и AUC_{0-28} уровни (360,4 клеток/мкл • дней) у пациентов ($n = 18$), которые не получали ни кортикостероидов, ни тоцилизумаба, был аналогичным с теми пациентами ($n = 2$), которые получали только кортикостероиды (пик: 24,2 клеток/мкл; AUC_{0-28} : 367,8 клеток/мкл • дней). У пациентов, которые получали только тоцилизумаб ($n = 10$), средние пиковые уровни Т-клеток с CAR к CD19 составляли 86,5 клеток/мкл, а уровни AUC_{0-28} составляли 1188,9 клеток/мкл • дней. У пациентов, которые получали как кортикостероиды, так и тоцилизумаб ($n = 37$), средний пик составлял 167,2 клеток/мкл и AUC_{0-28} составлял 1996,0 клеток/мкл • дней. Медианные пиковые значения Т-клеток с CAR к CD19 составляли 74,1 клеток/мкл у пациентов в возрасте ≥ 65 лет ($n = 39$) и 112,5 клеток/мкл у пациентов в возрасте < 65 лет ($n = 28$). Медианные значения AUC_{0-28} Т-клеток с CAR к CD19 составляли 876,5 клеток/мкл • день у пациентов в возрасте ≥ 65 лет и 1640,2 клеток/мкл • день у пациентов в возрасте < 65 лет. Пол не оказывал существенного влияния на AUC_{0-28} и C_{max} Т-клеток с CAR к CD19.

ПРИМЕР 6

[0310] У пациентов с МКЛ, которые прогрессируют после терапии ВТКi, медиана общей выживаемости составляет всего 5,8 месяца при терапии спасения. ZUMA-2 (идентификатор ClinicalTrials.gov: NCT02601313) представляет собой регистрационное многоцентровое исследование фазы 2 пациентов с Р/Р МКЛ после 1–5 предшествующих видов терапии, включая ВТКi. Пациентам вводили средство терапии на основе аутологичных Т-клеток с химерным антигенным рецептором (CAR) к CD19, полученную и введенную, как описано в Примере 5. Этот Т-клеточный продукт с CAR к CD19 может обозначаться в виде КТЕ-Х19. В первичном анализе ZUMA-2 ($N = 60$) частота объективного ответа (ORR) при лечении Т-клетками с CAR к CD19 (медиана периода последующего наблюдения составила 12,3 месяца) составляла 93% (67% частота полного ответа [CR]). В этом примере описан сравнительный анализ фармакологического профиля средства лечения на основе Т-клеток с CAR к CD19, полученного, как описано в Примере 5, а также результатов по морфологии МКЛ и предшествующего воздействия ВТКi (ибрутиниб [Ibr] и/или акалабрутиниб [Acala]), сопровождаемого характеристикой основных характеристик продукта.

[0311] Отвечающих критериям исследования пациентов с Р/Р МКЛ подвергали лейкоферезу и кондиционирующей химиотерапии с последующей однократной инфузией 2×10^6 Т-клеток/кг с CAR к CD19. Характеристики продукта (например, продуцирование $IFN\gamma$ Т-клетками с CAR к CD19 при кокультивировании с CD19+ клетками), уровни CAR Т-клеток в крови и уровни цитокинов в сыворотке крови оценивали с использованием ранее описанных способов (см. предыдущие примеры). Клинические исходы описаны у 60 пациентов, подлежащих оценке эффективности; характеристики продукта и фармакологические данные сообщаются для всех 68 пациентов, получавших лечение.

[0312] На исходном уровне 40 пациентов (59%) имели классическую форму МКЛ, 17 (25%) имели бластоидную форму МКЛ и 4 (6%) имели плеоморфную форму МКЛ, по оценке исследователя. Перед включением в исследование 52 пациента (76%) ранее получали Ibr, 10 (15%) ранее получали Acala, и 6 (9%) ранее получали и то, и другое; 88% имели рефрактерное к ВТКі заболевание. В полученном продукте на основе Т-клеток с CAR к CD19, медианные (диапазон) соотношения CD4+/CD8+ Т-клеток для пациентов с классической, бластоидной или плеоморфной формой МКЛ составляли 0,7 (0,04–2,8), 0,6 (0,2–1,1) или 0,7 (0,5–2,0) соответственно. Фенотипы Т-клеточного продукта (медиана [диапазон]) включали менее дифференцированные CCR7+ Т-клетки (классическая форма 40,0% [2,6–88,8]; бластоидная форма 35,3% [14,3–73,4]; плеоморфная форма 80,8% [57,3–88,8]) и эффекторные Т-клетки и эффекторные CCR7- Т-клетки памяти (классическая форма 59,9% [11,1–97,4]; бластоидная форма 64,8% [26,6–85,7]; плеоморфная форма 19,2% [11,1–42,7]). Медианные (диапазон) уровни интерферона (IFN)- γ , полученные на основе сокультивирования у пациентов с классической, бластообразной или плеоморфной формой МКЛ составляли 6309,5 пг/мл (424,0 – 20000), 6510,0 пг/мл (2709,0 – 18000) или 7687,5 пг/мл (424,0 – 12000) соответственно. У пациентов с классической, бластообразной или плеоморфной формой МКЛ, медианные (диапазон) пиковые уровни CAR Т-клеток составляли 77,6 клеток/мкл (0,2 – 2241,6), 35,0 клеток/мкл (0,2 – 2589,5) или 144,9 клеток/мкл (39,2 – 431,3) соответственно. Частоты ORR/CR составляли 93%/65% у пациентов с классической формой МКЛ, 88%/53% у пациентов с бластоидной формой МКЛ и 100%/75% у пациентов с плеоморфной формой МКЛ. 12-месячная выживаемость у пациентов с классической, бластоидной или плеоморфной формой МКЛ составляла 86,7%, 67,9% или 100% соответственно. Синдром высвобождения цитокинов (CRS) и неврологические явления степени тяжести ≥ 3 наблюдали у 15% и 38% пациентов с классической формой МКЛ, у 6 и 8% пациентов с бластоидной формой МКЛ и у 25% и 50 % пациентов с плеоморфной формой МКЛ.

[0313] Для пациентов, ранее получавших Ibr, Acala или и то и другое, медианное соотношение CD4+/CD8+ Т-клеток в получаемом продукте на основе Т-клеток с CAR к CD19 составляло 0,7 (диапазон 0,04 – 3,7), 0,6 (диапазон 0,3 – 1,2) или 1,0 (диапазон 0,7 – 1,9) соответственно. Фенотипы Т-клеточного продукта (медиана [диапазон]) включали менее дифференцированные Т-клетки CCR7+ (Ibr 39,3% [2,6 – 86,4]; Acala 42,7% [16,3 – 88,8]; как 49,5% [14,3 – 83,0]), так и CCR7- эффекторные и эффекторные Т-клетки памяти (Ibr 60,6 [13,7 – 97,4]; Acala 57,3% [11,1 – 83,8]; в обоих случаях 50,6% [17,0 – 85,7]). Медианные (диапазон) уровни IFN- γ при совместном культивировании у пациентов, ранее получавших Ibr, Acala или и то и другое, составляли 6496,0 пг/мл (424,0 – 20000), 5972,5 пг/мл (2502,0 – 18000) или 7985,5 пг/мл (2709,0 – 12000) соответственно. Для пациентов с предшествующим лечением Ibr, Acala или и тем и другим, медианные (диапазон) пиковые уровни CAR Т-клеток составляли 95,9 (0,4–2589,5), 13,7 (0,2–182,4) или 115,9 (17,2–1753,6) соответственно. Частоты ORR/CR составляли 94%/65% у пациентов с предшествующей терапией Ibr, 80%/40% у пациентов с предшествующей терапией Acala и 100%/100% у пациентов предшествующей терапией обоими ВТКі. 12-месячная частота выживаемости у пациентов с предыдущим применением Ibr, Acala или и того и другого составляла 81%, 80% или 100% соответственно. CRS степени тяжести и неврологические осложнения ≥ 3 наблюдали у 17% и 31% пациентов с предшествующим лечением Ibr, у 10% и 10% пациентов с предшествующим лечением Acala и у 0 и 67% пациентов с предшествующим лечением обоими ВТКі. В то время как уровни CAR Т-клеток после лечения были

ниже у пациентов с бластоидной морфологией или ранее получавших лечение только Acala, что отражалось аналогичными тенденциями в клинических исходах, все подгруппы, определенные морфологией МКЛ или предшествующей терапией ВТКі, получали клинический эффект от лечения Т-клетками с CAR к CD19.

ПРИМЕР 7

[0314] В этом примере представлен обновленный анализ эффективности, безопасности и фармакологии для всех пациентов в ZUMA-2 с минимальным периодом последующего наблюдения в течение 1 года. Отвечающих критериям исследования пациентов с Р/Р МКЛ подвергали лейкаферезу и кондиционирующей химиотерапии с последующей однократной инфузией Т-клеток с CAR к CD19 (2×10^6 CAR Т-клеток/кг), как описано в предыдущих примерах. Первичной конечной точкой была ORR (CR + частичный ответ) по оценке независимого экспертного комитета в соответствии с классификацией Lugano. Данные об эффективности представлены для 60 пациентов, получавших лечение, с периодом последующего наблюдения ≥ 1 года; данные по безопасности представлены для всех 68 пациентов, получавших лечение.

[0315] Медианный период последующего наблюдения составил 17,5 месяцев (диапазон 12,3 – 37,6). ORR составляла 92% (95% CI, 81,6 – 97,2), при этом частота CR составляла 67% (95% CI, 53,3 – 78,3). Из всех пациентов, подлежащих оценке эффективности, 48% имели текущий ответ в момент окончания сбора данных. Медианы не были достигнуты для продолжительности ответа, выживаемости без прогрессирования (PFS) или общей выживаемости; 15-месячные оценки составляли 58,6% (95% CI, 42,5 – 71,7), 59,2% (95% CI, 44,6 – 71,2) или 76,0% (95% CI, 62,8 – 85,1) соответственно. У пациентов, которые достигли полного ответа, медиана PFS не была достигнута (15-месячная частота, 75,1% [95% CI, 56,8 – 86,5]); у пациентов, которые достигли частичного ответа, медиана PFS составляли 3,1 месяца (95% CI, 2,3 – 5,2). Медиана PFS составляла 1,1 месяца (95% CI, 0,9 – 3,0) у пациентов, не отвечающих на лечение. У первых 28 пациентов, получавших лечение, медианный период последующего наблюдения составлял 32,3 месяцев (диапазон 30,6 – 37,6); 39,3% этих пациентов сохраняли непрерывную ремиссию без дополнительной терапии.

[0316] Распространенными нежелательными явлениями степени тяжести ≥ 3 были нейтропения (85%), тромбоцитопения (53%), анемия (53%) и инфекции (34%). О цитопении степени тяжести ≥ 3 сообщалось у 60% пациентов через ≥ 30 дней после инфузии. Синдром высвобождения цитокинов степени тяжести ≥ 3 наблюдали у 15% пациентов; 59% получали тоцилизумаб для лечения CRS. Неврологические явления (NE) степени тяжести ≥ 3 отмечали у 31% пациентов, и 38% получали стероиды для лечения NE. Все явления CRS и большинство NE (37/43) нормализовались. Явления CRS или NE степени тяжести 5 и новые явления степени тяжести 5 при дополнительном периоде последующего наблюдения отсутствовали. Имели место 2 случая цитомегаловирусной инфекции степени тяжести 2, по 1 случаю гипогаммаглобулинемии степени тяжести ≥ 3 и синдрома лизиса опухоли степени тяжести ≥ 3 , и ни одного случая ассоциированной с вирусом Эпштейна-Барр лимфопролиферации, неспособного к репликации ретровируса, гемофагоцитарного лимфогистиоцитоза или вторичных видов рака, связанных с Т-клетками с CAR к CD19.

[0317] Медианные пиковые уровни CAR Т-клеток и медиана площади под кривой (дни 0 – 28) составляли 98,9 клеток/мкл (диапазон 0,2 – 2565,8) и 1394,9 клеток/мкл (диапазон 3,8 – 27700) у пациентов с текущим ответом через 12 месяцев, 202,6 клеток/мкл (диапазон 1,6 – 2589,5) и 2312,3 клеток/мкл (диапазон 19,0 – 27200) у пациентов

с рецидивом через 12 месяцев и 0,4 клеток/мкл (диапазон 0,2 – 95,9) и 5,5 клеток/мкл (диапазон 1,8 – 1089,1) у пациентов, не отвечавших на лечение. Из 57 пациентов, подлежащих оценке эффективности с доступными данными, 84% имели В-клетки, обнаруживаемые с помощью проточной цитометрии. Среди пациентов с текущим ответом через 12 месяцев, 10 из 26 пациентов (38%) с подлежащими оценке образцами имели В-клетки, обнаруживаемые через 3 месяца, а 10 из 18 (56%) имели В-клетки, обнаруживаемые через 12 месяцев; маркированные геном CAR Т-клетки больше не обнаруживались через 12 месяцев у 5 из 28 пациентов, подлежащих оценке (17%). Исследование ZUMA-2 продолжает демонстрировать существенное и длительное клиническое преимущество терапии на основе Т-клеток с CAR к CD19 с контролируемой безопасностью у пациентов с Р/Р МКЛ. В этой популяции пациентов, у которых отсутствовали варианты излечения, большинство пациентов достигали стойкого полного ответа, и не сообщалось о новых сигналах безопасности. Хотя ранняя экспансия CAR Т-клеток была выше у пациентов, которые достигли объективного ответа, у тех, у кого позже возник рецидив, наблюдались повышенные уровни CAR Т-клеток, что указывает на альтернативные механизмы вторичной неэффективности лечения при МКЛ.

ПРИМЕР 8

[0318] Хотя примерно 80–85% пациентов с ОЛЛ достигают стойкой полной ремиссии (CR) после исходного лечения, остальные 15–20% пациентов с рецидивирующим или рефрактерным (Р/Р) ОЛЛ имеют неблагоприятные исходы, при этом 2-летняя бессобытийная выживаемость составляла $\leq 40\%$ у пациентов с рецидивом заболевания. Терапия на основе Т-клеток с CAR к CD19, полученная, как описано выше, показала высокие показатели полных ответов с контролируемым профилем безопасности для взрослых пациентов с Р/Р В-клеточной лимфомой (см. предыдущие примеры). В частности, см., например, Пример 5. ZUMA-4 (идентификатор ClinicalTrials.gov: NCT02625480) представляет собой исследование фазы I/2, в котором оценивается терапия Т-клетками с CAR к CD19 у детей и подростков с Р/Р В-клеточным ОЛЛ или НХЛ. Промежуточный анализ ZUMA-4 в конечной фазе I показал осуществимость терапии на основе Т-клеток с CAR к CD19 оптимизированными дозами и стратегиями лечения нежелательных явлений (АЕ) для лечения пациентов детского возраста с Р/Р ОЛЛ. В протокол фазы 2 исследования ZUMA-4 вносили поправки, включающие более широкие критерии включения В-клеточных ОЛЛ с акцентом на пациентов с ранним рецидивом, ассоциированным с более неблагоприятными исходами, и добавляли когорту НХЛ.

[0319] Ключевые критерии включения в случае В-клеточного ОЛЛ включали возраст пациента ≤ 21 года, масса тела ≥ 10 кг и наличие В-клеточного ОЛЛ, который являлся первичным рефрактерным, рецидивирующим в течение 18 месяцев после первой постановки диагноза, Р/Р после ≥ 2 линий системной терапии или Р/Р после аллогенной трансплантации стволовых клеток за по меньшей мере 100 дней до включения в исследование. В-клеточный ОЛЛ также представлял собой В-клеточный ОЛЛ Р/Р после аутологичной трансплантации стволовых клеток за по меньшей мере 100 дней до включения в исследование и при отсутствии иммунодепрессантов в течение ≥ 4 недель. Статус общего состояния согласно Lansky (возраст < 16 лет) или Karnofsky (возраст ≥ 16 лет) составлял PS ≥ 80 , масса тела ≥ 6 кг. Подходящими считались пациенты с заболеванием ЦНС-1, пациенты с заболеванием ЦНС-2 без клинически очевидных неврологических изменений и пациенты с $> 5\%$ бластов ВМ

костного мозга или MRD-положительным заболеванием (порог 10^{-4} согласно проточной цитометрии или ПЦР). Заболевание ЦНС-1 определяли отсутствием определяемых лимфобластов в СМЖ; заболевание ЦНС-2 определяли по выявляемому заболеванию и содержанию лейкоцитов $< 5/\text{мкл}$ в СМЖ. Заболевание ЦНС-3 определяли по содержанию лейкоцитов $\geq 5/\text{мкл}$ в СМЖ. Критерии бремена заболевания были исправлены, чтобы также включать пациентов с минимальным остаточным заболеванием, положительным при включении в исследование. Пациенты с ОЛЛ, положительным в отношении филадельфийской хромосомы, отвечали критериям участия в исследовании, если у них была непереносимость терапии ингибиторами тирозинкиназы или при наличии Р/Р после ≥ 2 курсов терапии ингибиторами тирозинкиназы. Также включали пациентов, которые ранее получали лечение блинатумомабом. Пациенты с хроническим миелогенным лейкозом, лимфоидным бластным кризом или клинически значимыми инфекциями не соответствовали критериям участия в исследовании. Пациенты с лейкозом/лимфомой Беркитта также не отвечали критериям участия в исследовании.

[0320] В случае В-клеточной НХЛ ключевые критерии включения в исследование включали в себя возраст < 18 лет, массу тела ≥ 10 кг, гистологически подтвержденную диффузную В-клеточную лимфому (DLBCL) без дальнейших уточнений, первичную медиастинальную крупноклеточную В-клеточную лимфому, лимфому Беркитта (BL), лимфому, подобную лимфоме Беркитта, или неклассифицированные В-клеточные лимфомы, промежуточные между DLBCL и BL, с количеством измеримых очагов ≥ 1 . В случае НХЛ заболевание должно было быть первичным рефрактерным, Р/Р после ≥ 2 линий системной терапии, или Р/Р после аутологичной или аллогенной трансплантации стволовых клеток за ≥ 100 дней до включения в исследование. Пациенты не должны были принимать иммунодепрессанты в течение ≥ 4 недель. Статус общего состояния согласно Lansky (возраст < 16 лет) или Karnofsky (возраст ≥ 16 лет) составлял $PS \geq 80$, масса тела ≥ 6 кг. Также включали пациентов, которые ранее получали лечение блинатумомабом. Пациенты должны были получать адекватную предшествующую терапию, как минимум mAb к CD20 и химиотерапию, включающую антрациклин, и иметь один или несколько измеримых очагов. Пациенты с острой реакцией «трансплантат против хозяина» или хронической реакцией «трансплантат против хозяина», требующей лечения в течение 4 недель после включения, не отвечали критериям включения в исследования. Пациентов с предшествующей терапией CAR Т-клетками или другими генетически модифицированными Т-клетками исключали, хотя пациенты, получавшие КТЕ-X19 в этом исследовании, соответствовали критериям повторного лечения. Пациентов с поражением сердца лимфомой или нуждающихся в неотложной терапии вследствие массовых эффектов опухоли также исключали. Кроме того, из когорт ОЛЛ и НХЛ исключали: пациентов с клинически значимой инфекцией; Пациентов с острой или хронической GVHD, нуждающихся в лечении в течение 4 недель после включения в исследование; получавших алемтузумаб (или другое антитело к CD52) в течение последних 6 месяцев, клофарабин или кладрибин в течение последних 3 месяцев, PEG-аспарагиназу в течение последних 3 недель или инфузию донорских лейкоцитов (DLI) в течение последних 28 дней.

[0321] Пациентов с поражением ЦНС и определенными аномалиями исключали. Пациенты с заболеванием центральной нервной системы-1 (отсутствие обнаружимых лимфобластов в спинномозговой жидкости), заболеванием центральной нервной системы-2 (выявляемое заболевание, но содержание лейкоцитов $< 5/\text{мкл}$ в спинномозговой жидкости) с наличием лимфобластов и с неврологическими симптомами и без клинически

очевидных неврологических изменений, которые ранее получали лечение блинатумомабом, могли быть включены в когорты ОЛЛ и НХЛ. Пациентов с наличием лимфобластов и неврологическими симптомами, заболеванием центральной нервной системы-3 (лейкоциты ≥ 5 /мкл в СМЖ), заболеванием с наличием лимфобластов с неврологическими симптомами или без них, пациентов с любой опухолевой массой ЦНС по данным визуализации и/или параменингеальной массой, в анамнезе или наличие любого расстройства ЦНС, такого как цереброваскулярная ишемия/кровоизлияние, деменция, заболевание мозжечка или любое аутоиммунное заболевание с поражением ЦНС, синдром задней обратимой энцефалопатии или отек головного мозга со структурными дефектами, в анамнезе инсульт или транзиторная ишемическая атака в течение последних 12 месяцев и судорожное расстройство, требующее активных противосудорожных препаратов, исключали. Пациентов, ранее получавших терапию, направленную на CD19, за исключением блинатумомаба, исключали.

[0322] Пациенты получали кондиционирующую химиотерапию флударабином в дозе 25 мг/м² в дни -4, -3 и -2 и циклофосфамидом в дозе 900 мг/м² в день -2 с последующей однократной инфузией Т-клеток с CAR к CD19 в целевой дозе 1×10^6 Т-клеток/кг с CAR к CD19 в день 0. В случае ОЛЛ основная цель фазы 2 заключалась в оценке эффективности Т-клеток с CAR к CD19, оцениваемой по общей частоте CR (CR и CR с неполным гематологическим восстановлением). В случае НХЛ основная цель фазы 2 заключалась в оценке эффективности терапии на основе Т-клеток с CAR к CD19 по частоте объективного ответа (CR + частичный ответ). Вторичные цели фазы 2 для когорт ОЛЛ и НХЛ включали безопасность и переносимость, дополнительные конечные точки эффективности и изменения в оценках исходов, сообщаемых пациентами.

[0323] Терапия CAR Т-клетками, используемая в этом исследовании, была описана в предыдущих примерах, таких как Пример 5 (также известная в виде КТЕ-X19), которая представляет собой аутологичную терапию на основе Т-клеток с CAR к CD19 для лечения P/P лимфомы из клеток мантийной зоны и другие P/P гематологические злокачественные новообразования. РВМС из продукта афереза обогащают Т-клетками за счет положительного отбора CD4⁺/CD8⁺, что приводит к удалению злокачественных клеток. Полученные Т-клетки активируют антителами к CD3/к CD28 в присутствии IL-2, ретровирусно трансдуцируют для введения конструкции гена анти-CAR (CAR FMC63-28Z) и экспандируют до требуемой дозы. Размноженные Т-клетки могут быть заморожены для транспортировки и возвращены пациенту для инфузии. Аксикаптаген цилолеуцел получают другим способом, описанным, например, в Park J.H. et al. *N Engl J Med.* 2018;378(5):449-459; и Lee D.W. et al. *Lancet.* 2015;385(9967):517-528. У взрослых пациентов с P/P В-ОЛЛ лечение КТЕ-X19 улучшало частоту CR, частоту CRi или профиль безопасности в фазе 1. Shah BD, et al. *J Clin Oncol.* 2019;37(suppl, abstr):7006.

[0324] Во время оценки DLT в фазе 1 начальная доза составляла 2×10^6 Т-клеток/кг с CAR к CD19. DLT определяли как негематологические АЕ степени тяжести 3 продолжительностью > 7 дней и негематологические АЕ степени тяжести 4 независимо от продолжительности, с исключениями, указанными в протоколе, или гематологические АЕ степени тяжести 4 с продолжительностью > 30 дней. Также исследовали дозу 1×10^6 CAR Т-клеток в объеме 68 мл или в объеме 40 мл. Когорта пациентов, получавших в 40 мл 1×10^6 клеток, получала модифицированное лечение АЕ. На основании имеющихся данных в фазе 2 использовали 1×10^6 клеток/кг в 40 мл. Результаты исследования фазы 1 показали, что у детей и подростков с P/P В-ОЛЛ наблюдали 94% MRD-отрицательных и 73% CR + StI явления. Результаты также показали профиль АЕ, поддающихся лечению и

соответствующих известной токсичности, и более низкую частоту и тяжесть АЕ с оптимизированной дозировкой и пересмотренным контролем безопасности. Wayne AS, et al. *Pediatr Blood Cancer*. 2019;66(suppl):S24.

[0325] В фазе 2 пациентов подвергали скринингу и лейкаферезу с последующей кондиционирующей химиотерапией, начиная с дня 4. Переходную терапию можно было назначать после лейкафереза по усмотрению исследователя и она должна была быть завершена в течение ≥ 7 дней или 5 периодов полувыведения перед кондиционирующей химиотерапией. КТЕ-Х19 инфузирвали в день 0. Первую оценку заболевания проводили в день 28. Оценку безопасности и эффективности после лечения проводили на неделе 2, неделе 4, в месяц 2 и месяц 3. Пациентов наблюдали каждые 3 месяца до 18 месяцев и каждые 6 месяцев между месяцами 24 и 60. Начиная с года 6 частота визитов составляет один раз в год до 15 лет включительно. В общей сложности 50 пациентов с Р/Р ОЛЛ и 16 пациентов с Р/Р НХЛ включали в исследование с 40 мл составов 1×10^6 КТЕ-Х19 клеток/кг. Пациенты в фазе 2 текущего исследования включали также когорту НХЛ и расширенные критерии включения в исследование для Р/Р В-ОЛЛ, чтобы включить пациентов с ранним первым рецидивом, который был ассоциирован с более неблагоприятными исходами, а также пациентов с MRD-положительным заболеванием. Первичной целью была эффективность, оцениваемая по общей частоте CR (CR и Cri) для ОЛЛ и по ORR (CR + PR) для НХЛ. Второстепенные цели включали оценку безопасности, переносимости, DOR, OS, безрецидивной выживаемости (RFS)/выживаемости без прогрессирования (PFS) и исходов, сообщаемых пациентами (PRO). В случае ОЛЛ дополнительные вторичные цели включали оценку частоты MRD-отрицательных результатов и частоты алло-SCT. В случае общей частоты CR (только для когорты ОЛЛ) будут определять заболеваемость и точные двусторонние 95% CI. Ее будут сравнивать с частотой ответов на уровне 35% при одностороннем α -уровне 0,025 с использованием точного биномиального критерия. В случае MRD-отрицательных показателей (только для когорты ОЛЛ) будут определять заболеваемость и точные двусторонние 95% CI. Если статистическое тестирование общей частоты CR является значимым, частоту MRD-отрицательных результатов будут сравнивать с частотой на уровне 30% при одностороннем α -уровне 0,025 с использованием точного биномиального критерия. В случае DOR и OS будут определять оценки Каплана-Мейера и двусторонние 95% CI. В случае частоты алло-SCT (только для когорты ОЛЛ) будут определять заболеваемость в группе mITT и точные двусторонние 95% CI. С точки зрения безопасности будут определять показатели частоты АЕ, включая все серьезные, летальные степени тяжести ≥ 3 по версии СТСАЕ 4.03 и связанные с лечением АЕ с началом в день инфузии или после нее. Какой-либо конкретной гипотезы для когорты НХЛ проверять не будут. При запланированном размере выборки в этой когорте при наблюдаемой ORR 63% (10/16 пациентов), 69% (11/16), 75% (12/16) и 81% (13/16), нижняя граница 95% точного CI для расчетной ORR будет составлять 35%, 41%, 48% и 54% соответственно.

ПРИМЕР 9

[0326] В этом примере представлены результаты фазы 1 для ZUMA-3 (идентификатор ClinicalTrials.gov: NCT02614066), исследования фазы 1/2, оценивающего аутологичное средство терапии на основе Т-клеток с химерным антигенным рецептором (CAR) к CD19, которое включает костимулирующие домены CD3 ζ и CD28 и которую получают, как описано в предыдущих примерах (обогащение CD4+/CD8+/- удаление злокачественных клеток) у взрослых с рецидивирующим/рефрактерным (Р/Р) В-клеточным ОЛЛ. Этот протокол подготовки Т-

клеток с CAR к CD19 с удалением раковых клеток снижает вероятность активации и истощения Т-клеток с CAR к CD19 во время получения *ex vivo*. Присутствие лейкозных бластов в периферической крови может ограничивать количество Т-клеток, доступных для получения CAR Т-клеточных продуктов, что потенциально может приводить к производственным сбоям. Sabatino M. et al. *Blood*. 2016;128(22):1227. Продукт на основе Т-клеток с CAR к CD19, использованный в этом исследовании, был описан в Wang M. et al. *N Engl J Med*. 2020;382(14):1331–1342 для применения при МКЛ. Он отличается от используемого в Sabatino M. et al. *Blood*. 2016;128(22):1227, Park J.H. et al. *N Engl J Med*. 2018;378(5):449–459; и Lee D.W. et al. *Lancet*. 2015;385(9967):517–528. Этот продукт на основе Т-клеток с CAR к CD19 имеет другие характеристики продукта с точки зрения фенотипа Т-клеток, чем продукт, полученный ранее описанными способами. Этот CAR к CD19 также упоминается в виде КТЕ-Х19 в этом примере и в других местах настоящей заявки.

[0327] После лимфодеплеции флударабином/циклофосфамидом пациенты получали Т-клетки с CAR к CD19 в количестве 2, 1 или $0,5 \times 10^6$ клеток/кг. Первичной конечной точкой была частота дозолимитирующей токсичности (DLT) в течение 28 дней после инфузии CAR Т-клеток. Т-клетки с CAR к CD19 получали для 54 включенных в исследование пациентов и вводили 45 пациентам (медианный возраст 46 лет [диапазон 18–77]). В когорте, подлежащей оценке DLT, не произошло ни одного явления DLT. Синдром высвобождения цитокинов (CRS) степени тяжести ≥ 3 и неврологические явления (NE) возникали у 31% и 38% пациентов. Для оптимизации соотношения польза-риск, пересмотренное лечение нежелательных явлений (АЕ) при CRS и NE (ранее применение стероидов в случае NE и только тоцилизумаба в случае CRS) оценивали при 1×10^6 клеток/кг Т-клеток с CAR к CD19. Из 9 пациентов, получавших лечение в рамках пересмотренного лечения АЕ, 33% имели CRS степени тяжести 3 и 11% имели NE степени тяжести 3, при этом NE степени тяжести 4/5 отсутствовали. Общая частота полной ремиссии коррелировала с экспансией CAR Т-клеток и составила 83% у пациентов, получавших 1×10^6 клеток/кг, и 69% у всех пациентов. Минимальное остаточное заболевание у всех ответивших на лечение пациентов было необнаружимым. При медиане периода последующего наблюдения 22,1 месяца (диапазон 7,1–36,1) медиана DOR составляла 17,6 месяца (диапазон 5,8–17,6) у пациентов, получавших 1×10^6 клеток/кг, и 14,5 месяца (диапазон 5,8–18,1) у всех пациентов. Лечение Т-клетками с CAR к CD19 обеспечивало высокую частоту ответа и приемлемую безопасность у взрослых с Р/Р В-ОЛЛ. Фаза 2 продолжалась при 1×10^6 клеток/кг с пересмотренным лечением АЕ.

[0328] Пациенты

[0329] Возраст отвечающих критериям участия в исследовании пациентов составлял ≥ 18 лет с Р/Р В-клеточным ОЛЛ, определяемым как рефрактерный к терапии первой линии (т.е. первично-резистентный), рецидив ≤ 12 месяцев после первой ремиссии, рецидивирующий или рефрактерный после ≥ 2 предшествующих линий системной терапии, или рецидивирующий после аллогенной трансплантации стволовых клеток (SCT). Пациенты должны иметь $\geq 5\%$ бластов костного мозга, оценку общего состояния согласно Восточной объединенной онкологической группе 0 или 1, и адекватную почечную, печеночную и сердечную функцию. Для первых шести пациентов, включенных в исследование, требовалось $\geq 25\%$ бластов в костном мозге. Для пациентов, которые ранее получали блинатумомаб, требовались лейкозные бласты с экспрессией CD19 $\geq 90\%$. Пациенты с положительным в отношении филадельфийской хромосомы (Ph+) заболеванием, сопутствующим

экстремедулярным заболеванием, заболеванием центральной нервной системы (ЦНС)-2 (бластные клетки в спинномозговой жидкости [СМЖ] $c < 5$ лейкоцитов/ мм^3) без неврологических изменений и пациенты с синдромом Дауна могли быть включены в исследование. Исключениями были заболевания ЦНС-3 (бластные клетки в спинномозговой жидкости $c \geq 5$ лейкоцитов/ мм^3), независимо от неврологических изменений и расстройств ЦНС в анамнезе.

[0330] Дополнительные критерии соответствия для участия в исследовании включали: субъекты с заболеванием, вызванным филадельфийской хромосомой (Ph)⁺, отвечали критериям участия в исследовании, если у них было заболевание, характеризующееся непереносимостью терапии ингибитором тирозинкиназы (ТКИ), или если у них имело место рецидивирующее/рефрактерное заболевание, несмотря на лечение ≥ 2 различными ТКИ; абсолютное содержание нейтрофилов ≥ 500 /мкл, если только, по мнению исследователя, цитопения не является следствием основного лейкоза и потенциально обратима при терапии лейкоза; содержание тромбоцитов $\geq 50\,000$ /мкл, если только, по мнению исследователя, цитопения не является следствием основного лейкоза и потенциально обратима при терапии лейкоза; абсолютное содержание лимфоцитов ≥ 100 /мкл; адекватная почечная, печеночная, легочная и сердечная функция [клиренс креатинина (по оценке Кокрофта-Голта) ≥ 60 $\text{см}^3/\text{мин}$; уровень аланинаминотрансферазы/аспартатаминотрансферазы в сыворотке крови $\leq 2,5 \times$ верхней границы нормы; общий билирубин $\leq 1,5$ мг/дл, за исключением субъектов с синдромом Жильбера; фракция выброса левого желудочка $\geq 50\%$, отсутствие перикардального выпота по данным эхокардиограммы, отсутствие функциональной классификации III или IV класса Нью-Йоркской кардиологической ассоциации и отсутствие клинически значимых аритмий; отсутствие клинически значимого плеврального выпота; исходное насыщение кислородом $> 92\%$ при комнатном воздухе]; женщины детородного возраста должны были иметь отрицательный результат теста на беременность по сыворотке крови или моче; женщины детородного возраста должны были иметь отрицательный результат теста на беременность по сыворотке крови или моче.

[0331] Дополнительные критерии исключения включали: диагноз лейкоза/лимфомы Беркитта по классификации Всемирной организации здравоохранения или хронического миелогенного лейкоза, лимфоидного бластного криза; наличие в анамнезе злокачественного новообразования, отличного от немеланоматозного рака кожи или карциномы *in situ* (например, шейки матки, мочевого пузыря, молочной железы), за исключением случаев отсутствия признаков заболевания в течение ≥ 3 лет; тяжелая реакция гиперчувствительности на аминогликозиды или любое из средств, используемых в этом исследовании, в анамнезе; аномалии центральной нервной системы (ЦНС) [наличие заболевания ЦНС-3, определяемых как обнаружимые цереброспинальные бластные клетки в образце спинномозговой жидкости (СМЖ) $c \geq 5$ лейкоцитами (WBC) на мм^3 с неврологическими изменениями или без них, и; наличие заболевания ЦНС-2, определяемое как обнаружимые бластные клетки в образце СМЖ $c < 5$ лейкоцитов на мм^3 с неврологическими изменениями. Примечание: Субъекты с ЦНС-1 (без обнаружимого лейкоза в СМЖ) и с ЦНС-2 без клинически очевидных неврологических изменений отвечают критериям участия в исследовании; наличие любого расстройства ЦНС, такого как судорожное расстройство, цереброваскулярная ишемия/кровоизлияние, деменция, заболевание мозжечка, любое аутоиммунное заболевание с поражением ЦНС, синдром задней обратимой энцефалопатии или отек головного мозга в настоящем или прошлом; тяжелая реакция гиперчувствительности на аминогликозиды или любое из средств, используемых в

этом исследовании, в анамнезе; сопутствующий генетический синдром, ассоциированный с недостаточностью костного мозга, в анамнезе; клинически значимое заболевание сердца в течение 12 месяцев после включения в исследование в анамнезе; симптоматический тромбоз глубоких вен или легочная эмболия в течение 6 месяцев после включения в исследование в анамнезе; первичный иммунодефицит; известная инфекция ВИЧ, вирусом гепатита В или гепатита С. Гепатит В или гепатит С в анамнезе допускается, если вирусная нагрузка не определяется количественной полимеразной цепной реакцией и/или тестом на нуклеиновые кислоты; простая инфекция мочевыводящих путей и неосложненный бактериальный фарингит разрешены при ответе на активное лечение и после консультации с монитором Kite Medical; острая реакция «трансплантат против хозяина» (GVHD) степени тяжести II-IV по критериям Глюксберга или степени тяжести B-D по индексу Международного реестра трансплантатов костного мозга; острая или хроническая GVHD, требующая системного лечения в течение 4 недель до включения в исследование; предшествующее лечение [системная терапия спасения (включая химиотерапию, ТК1 для лечения Rh+ и блинатумомаб) ≤ 1 терапии блинатумомабом; в анамнезе общие терминологические критерии нежелательных явлений в случае неврологического явления степени тяжести 4 или синдрома высвобождения цитокинов степени тяжести 4 степени с предшествующей CD19-направленной терапией; лечение алемтузумабом ≤ 6 месяцев до включения, клофарабином или кладрибином ≤ 3 месяца до включения или PEG-аспарагиназой ≤ 3 месяцев до включения; инфузия донорских лимфоцитов за ≤ 4 недели до включения в исследование; лечение любым лекарственным средством для лечения GVHD и любыми иммуносупрессорными антителами за 4 недели до включения в исследование; перед включением в исследование должно пройти по меньшей мере 3 периода полувыведения после любой предшествующей системной терапии ингибирующими/стимулирующими молекулами иммунных контрольных точек; терапии кортикостероидами в фармакологической дозе (> 5 мг/день преднизолона или эквивалентных доз других кортикостероидов) и других иммунодепрессантов следует избегать в течение 1 недели до включения; наличие любого полостного протока или дренажа. Были разрешены резервуары Оммайя и специальные центральные венозные катетеры; живая вакцина за ≤ 4 недель до включения в исследование; женщины детородного возраста, беременные или кормящие грудью, вследствие потенциально опасного воздействия препаративной химиотерапии на плод или младенца; субъекты обоего пола, способные к зачатию, которые не желают практиковать противозачаточные средства с момента согласия до 6 месяцев после завершения терапии Т-клетками с CAR к CD19; субъекты, которые, по мнению исследователя, вряд ли завершат все визиты или процедуры исследования, требуемые протоколом, или выполняют требования исследования для участия [аутоиммунное заболевание в анамнезе, приводящее к повреждению органа-мишени или требующее системной иммуносупрессии или системных модифицирующих заболевание средств в течение последних 2 лет].

[0332] *Схема исследования и лечение*

[0333] Цель фазы 1 состояла в том, чтобы оценить безопасность лечения Т-клетками с CAR к CD19 и определить оптимальную дозу для фазы 2 на основе частоты дозолимитирующей токсичности (DLT) и общего профиля безопасности. DLT определяли как нежелательные явления (AE), связанные с Т-клетками с CAR к CD19, возникающими в течение первых 28 дней после инфузии Т-клеток с CAR к CD19, включая негематологические AE степени тяжести 3 продолжительностью >7 дней, негематологические AE степени тяжести 4 независимо от

продолжительности, за исключением предварительно определенных ожидаемых явлений (например, синдром лизиса опухоли) и гематологических АЕ степени тяжести 4 продолжительностью >30 дней, за исключением лимфопении (Таблица 15).

[0334] Таблица 15. Дозолимитирующая токсичность

<ul style="list-style-type: none"> ● DLT определяли как следующие явления, связанные с Т-клетками с CAR к CD19, с началом в течение первых 28 дней после инфузии Т-клеток с CAR к CD19:
<ul style="list-style-type: none"> ● Гематологическая токсичность степени тяжести 4 продолжительностью более 30 дней (за исключением лимфопении), если она не связана с основным заболеванием
<ul style="list-style-type: none"> ● Все виды негематологической токсичности степени тяжести 3, связанные с Т-клетками с CAR к CD19, продолжительностью >7 дней, и все виды негематологической токсичности степени тяжести 4, связанные с Т-клетками с CAR к CD19, независимо от продолжительности, считались DLT, за исключением следующего: <ul style="list-style-type: none"> ○ Афазия/дисфагия или спутанность сознания/когнитивные нарушения, которые нормализовались до по меньшей мере степени тяжести 1 или до исходного уровня в течение 2 недель и по меньшей мере до исходного уровня в течение 4 недель ○ Лихорадка степени тяжести 3 или 4 ○ Незамедлительные реакции гиперчувствительности, возникающие в течение 2 часов после инфузии Т-клеток с CAR к CD19 (связанные с инфузией Т-клеток с CAR к CD19), которые являются обратимыми до степени тяжести 2 или меньше в течение 24 часов после инфузии Т-клеток с CAR к CD19 со стандартной терапией ○ Почечная токсичность, которая требовала диализа в течение ≤ 7 дней ○ Интубация для защиты дыхательных путей, если ≤ 7 дней ○ TLS, включая сопутствующие проявления, связанные с TLS (например, нарушение электролитного баланса, нарушение функции почек, гиперурикемия) ○ Повышение уровня трансаминаз, щелочной фосфатазы, билирубина или других показателей функции печени степени тяжести 3, при условии, что в течение 14 дней имела место нормализация до степени тяжести ≤ 2 ○ Временные отклонения активности печеночных ферментов в сыворотки 4 степени, при условии нормализации до степени тяжести ≤ 3 в течение <72 часов ○ Гипогамаглобулинемия степени тяжести 3 или 4 ○ Тошнота и/или анорексия степени тяжести 3
<ul style="list-style-type: none"> ○ Нежелательные явления, связанные с CRS, были сопоставимы с общей оценкой степени тяжести CRS для определения DLT

- Все случаи CRS степени тяжести 3 продолжительностью >7 дней и все случаи CRS степени 4 считались DLT, за исключением случаев CRS вследствие исключений, перечисленных выше

CRS, синдром высвобождения цитокинов; DLT, дозолимитирующая токсичность; TLS, синдром лизиса опухоли

[0335] Исходных пациентов включали в исследование с начальной дозой 2×10^6 CAR T-клеток/кг (**Фиг. 3**). Основываясь на общем профиле безопасности, последующие пациенты получали 2×10^6 , 1×10^6 или $0,5 \times 10^6$ CAR T-клеток/кг. По $0,5 \times 10^6$ CAR T-клеток/кг. Исследовали два состава с участием пациентов, получавших более низкую дозу $0,5 \times 10^6$ CAR T-клеток/кг, один общим объемом 40 мл, а другой объемом 68 мл. Состав объемом 40 мл был предназначен для поддержания плотности и жизнеспособности клеток в процессе замораживания/размораживания.

[0336] Для снижения риска синдрома высвобождения цитокинов (CRS) и неврологических явлений (NE) рекомендации по лечению АЕ пересматривали, чтобы ограничить тоцилизумаб лечением CRS (а не изолированной нейротоксичности) и начать лечение кортикостероидами при возникновении NE степени тяжести 2, а не степени тяжести 3 (**Таблица 16**).

[0337] Таблица 16. Исходные и пересмотренные руководства по лечению нейротоксичности

Степень тяжести NE	Исходные рекомендации по лечению	Измененные рекомендации по лечению
Степень тяжести 1	<ul style="list-style-type: none"> ● Поддерживающее лечение ● Неврологическое обследование и дополнительное обследование по клиническим показаниям 	<ul style="list-style-type: none"> ● Поддерживающее лечение ● Тщательно наблюдайте за неврологическим статусом ● Рассмотрите профилактические противосудорожные средства
Степень тяжести 2	<p><i>Поддерживающее лечение и оценка</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ● Неврологическое обследование, МРТ головного мозга и анализ СМЖ; рассмотрите ЭЭГ при наличии клинических показаний ● Рассмотрите профилактические противосудорожные средства 	<p><i>Поддерживающее лечение и оценка</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ● Непрерывная кардиотелеметрия и пульсовая оксиметрия при наличии клинических показаний ● Последовательные неврологические обследования включают фундоскопию и оценку по шкале комы Глазго, МРТ головного мозга, анализ СМЖ, ЭЭГ; рассмотрите консультацию невропатолога ● Введите противосудорожные средства пациентам с судорогами

	<p><u>Тоцилизумаб</u></p> <ul style="list-style-type: none"> Рассмотрите введение тоцилизумаба в дозе 8 мг/кг IV в течение 1 часа (не превышайте 800 мг) для пациентов с сопутствующими нарушениями (например, CRS степени тяжести ≥ 2) 	<p><u>Тоцилизумаб</u></p> <ul style="list-style-type: none"> Для пациентов с сопутствующим CRS, введите тоцилизумаб в дозе 8 мг/кг IV в течение 1 часа (не превышая 800 мг); повторяйте каждые 4–6 часов по мере необходимости, при отсутствии ответа на внутривенное введение жидкостей или усиление подачи кислорода, максимум до 3 доз в течение 24 часов Прекратите введение тоцилизумаба при улучшении состояния пациента
	<p><u>Кортикостероиды</u></p> <ul style="list-style-type: none"> н.п. 	<p><u>Кортикостероиды</u></p> <ul style="list-style-type: none"> Для пациентов без сопутствующего CRS вводите дексаметазон в дозе 10 мг IV каждые 6 часов Для пациентов с сопутствующим CRS, при отсутствии улучшения в течение 24 часов после начала введения тоцилизумаба, вводите дексаметазон в дозе 10 мг IV каждые 6 часов Уменьшите дозу кортикостероидов при улучшении состояния пациента
Степень тяжести 3	<p><u>Поддерживающее лечение и оценка</u></p> <ul style="list-style-type: none"> Как в случае степени тяжести 2 Наблюдайте за пациентом с помощью непрерывной кардиотелеметрии и пульсовой оксиметрии 	<p><u>Поддерживающее лечение и оценка</u></p> <ul style="list-style-type: none"> Осуществляйте лечение в подлежащем мониторингу отделении или ОРИТ
	<p><u>Тоцилизумаб</u></p> <ul style="list-style-type: none"> Рассмотрите тоцилизумаб в дозе 8 мг/кг IV течение 1 часа (не допускается превышение 800 мг); повторяйте каждые 4–6 часов, если симптомы не стабилизируются или не улучшаются 	<p><u>Тоцилизумаб</u></p> <ul style="list-style-type: none"> Как в случае степени тяжести 2 Прекратите введение тоцилизумаба при улучшении состояния пациента
	<p><u>Кортикостероиды</u></p> <ul style="list-style-type: none"> Рассмотрите кортикостероиды (например, дексаметазон в дозе 10 мг IV каждые 6 часов или метилпреднизолон в дозе 1 мг/кг BID) в случае ухудшения 	<p><u>Кортикостероиды</u></p> <ul style="list-style-type: none"> Вводите дексаметазон в дозе 10 мг IV каждые 6 часов Уменьшите дозу кортикостероидов при улучшении состояния пациента

	симптомов, несмотря на введение тоцилизумаба	
Степень тяжести 4	<u>Поддерживающее лечение и оценка</u> <ul style="list-style-type: none"> • Как в случае степени тяжести 2 • Наблюдайте за пациентом с помощью непрерывной кардиотелеметрии и пульсовой оксиметрии 	<u>Поддерживающее лечение и оценка</u> <ul style="list-style-type: none"> • Как для степени тяжести 3 • Может потребоваться искусственная вентиляция легких • Введите иммунодепрессанты, если состояние пациента не улучшается
	<u>Тоцилизумаб</u> <ul style="list-style-type: none"> • Введите тоцилизумаб, как описано для степени тяжести 3, если ранее его не вводили 	<u>Тоцилизумаб</u> <ul style="list-style-type: none"> • Как для степени тяжести 2
	<u>Кортикостероиды</u> <ul style="list-style-type: none"> • Вводите кортикостероиды (например, метилпреднизолон в дозе 1 г/день × 3 дня, затем в дозе 250 мг BID × 2 дня, затем в дозе 125 мг BID × 2 дня, затем в дозе 60 мг BID × 2 дня) 	<u>Кортикостероиды</u> <ul style="list-style-type: none"> • Вводите высокодозовые кортикостероиды (например, метилпреднизон 1 г/день × 3 дня) • Уменьшите дозу кортикостероидов при улучшении состояния пациента

[0338] Пересмотренные рекомендации по лечению АЕ применяли к дополнительной группе пациентов, получавших 1×10^6 CAR Т-клеток/кг. Группа по анализу безопасности (SRT) постоянно анализировала данные о безопасности и эффективности и давала рекомендации относительно дальнейшего включения в фазу 1 и рекомендуемой дозы фазы 2 (RP2D) на этапах, определенных в протоколе и уставе SRT.

[0339] Пациенты подвергались лейкаферезу при включении в исследование для получения $5-10 \times 10^9$ мононуклеарных клеток для получения Т-клеток с CAR к CD19. Предварительно определенную переходную химиотерапию (Таблица 17) рекомендовали после лейкафереза, в частности, для пациентов с тяжелым бременем заболеваний на исходном уровне ($> 25\%$ лейкозных бластов в костном мозге или ≥ 1000 бластов/ мм^3 в периферическом кровообращении согласно местному анализу).

[0340] Таблица 17. Переходная химиотерапия

Предварительно определенные схемы переходной химиотерапии	
Аттенуированная схема VAD	Винкристин нелипосомальный (IV введение в дозе 1–2 мг раз в неделю) или липосомальный (IV введение в дозе 2,25 мг/ м^2 раз в неделю), и дексаметазон (IV или PO введение в дозе 20–40 мг один раз в день × 3–4 дня в неделю). Необязательно доксорубицин, IV введение в дозе 50 мг/ м^2 × 1 (только первая неделя)

Меркаптопурин (6-MP)	В дозе 50–75 мг/м ² /день перорально (перед сном на голодный желудок для улучшения всасывания)
Гидроксимочевина	Дозы подбирали от 15 до 50 мг/кг/день (округляя до ближайшей дозы в виде 500 мг капсулы, 1 раз в сутки внутрь непрерывно)
DOMP	Дексаметазон, PO (или IV) введение в дозе 6 мг/м ² /день, разделенная доза, BID, дни 1–5, винкристин, IV введение в дозе 1,5 мг/м ² (максимальная доза 2 мг) в день 1, метотрексат, PO введение, 20 мг/м ² раз в неделю, 6-MP, PO введение в дозе 50–75 мг/м ² /день один раз в день
Аттенуированная схема FLAG/FLAG-IDA	Флударабин, IV введение в дозе 30 мг/м ² , дни 1–2, цитарабин, IV введение в дозе 2 г/м ² , дни 1–2, G-CSF, SC или IV введение в дозе 5 мкг/кг, начинается в день 3 и может продолжаться до дня, предшествующего началу кондиционирующей химиотерапии. С идарубицином или без него, IV введение в дозе 6 мг/м ² , дни 1–2
Схема Mini-hyper CVAD (курсы А и/или В)	Курс А: циклофосфамид в дозе 150 мг/м ² , каждые 12 ч × 3 дня, дексаметазон, IV или PO введение в дозе 20 мг/день, один раз в день, дни 1–4 и 11–14, винкристин, IV введение в дозе 2 мг × 1 Курс В: метотрексат, IV введение в дозе 250 мг/м ² в течение 24 часов в день 1, цитарабин, IV введение в дозе 0,5г/м ² каждые 12 часов × 4 дозы, дни 2 и 3

BID, два раза в день; CVAD, циклофосфамид, винкристин, доксорубин и дексаметазон; DOMP, дексаметазон, 6-меркаптопурин, метотрексат и винкристин; FLAG, флударабин, высокодозовый цитарабин и G-CSF; G-CSF, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор; IDA, идарубин; IV, внутривенно; MP, 6-меркаптопурин; PO, перорально; SC, подкожно; VAD, винкристин, доксорубин и дексаметазон.

[0341] После ≥ 7 дней или 5 периодов полужизни (если они короче) после переходной химиотерапии пациенты получали лимфодеплетирующую схему флударабина внутривенно (IV) в дозе 25 мг/м²/день в дни -4, -3 и -2 и циклофосфамид IV в дозе 900 мг/м²/день в день -2. В день 0 вводили однократную инфузию Т-клеток с CAR к CD19.

[0342] *Результаты и оценки*

[0343] Первичной конечной точкой фазы 1 была частота DLT у пациентов, подлежащих оценке DLT. Вторичные конечные точки включали безопасность, общую частоту ремиссии по оценке исследователя (CR + CR с неполным гематологическим восстановлением [CRi]), продолжительность ремиссии (DOR), безрецидивную выживаемость, OS и частоту неопределяемого минимального остаточного заболевания (MRD) в костном мозге. Уровни CAR Т-клеток и цитокинов в крови представляли собой исследовательские конечные точки. АЕ, включая

симптомы CRS и NE, оценивали в соответствии с Общими терминологическими критериями для AE версии 4.03. CRS оценивали в соответствии с критериями Lee, et al. *Blood*. 2014;124(2):188-195. Для пациентов с экстрамедуллярным заболеванием ответ оценивали в соответствии с критериями ответа для экстрамедуллярного заболевания и заболевания ЦНС в пересмотренных критериях Международной рабочей группы для злокачественной лимфомы. Cheson BD et al. *J Clin Oncol*. 2007;25(5):579-586. Неопределяемое MRD, что определяется как <1 лейкозной клетки на 10000 жизнеспособных клеток, оценивали централизованно с использованием проточной цитометрии (NeoGenomics, Форт Майерс, Флорида). Borowitz MJ et al *Blood*. 2015;126(8):964-971; Bruggemann M. et al. *Blood Adv*. 2017;1(25):2456-2466; и Gupta S. et al. *Leukemia*. 2018;32(6):1370–1379.

[0344] После инфузии требовалась госпитализация в течение ≥ 7 дней. Пациентов оценивали в дни 14 и 28 и в месяцы 2 и 3 путем физического осмотра, измерения основных показателей жизнедеятельности, а также неврологических и лабораторных исследований. Оценки костного мозга и оценку ответа проводили в день 7-14 (необязательно) и в день 28, а также в месяцы 2 и 3. Для пациентов, которые подвергались SCT после инфузии Т-клеток с CAR к CD19, оценка костного мозга не требовалась в течение первых 100 дней после SCT. Сбор и анализ СМЖ был необходим для подтверждения CR у пациентов с исходным заболеванием ЦНС-2. Пациентов, завершивших оценки в месяц 3 после лечения, оценивали на выживаемость и статус заболевания каждые 3 месяца до месяца 18, каждые 6 месяцев в течение месяцев 24–60 и один раз в год в течение 15 лет. Пациенты, достигшие CR, могли получить вторую инфузию Т-клеток с CAR к CD19 при прогрессировании после > 3 месяцев ремиссии, при условии, что экспрессия CD19 сохранялась и отсутствовало подозрение на наличие нейтрализующих антител к CAR.

[0345] Анализы биомаркеров проводили в отношении образцов крови и сыворотки крови для оценки прогностических фармакокинетических и фармакодинамических маркеров для Т-клеток с CAR к CD19. Как описано ранее, полимеразную цепную реакцию на основе цифровых капель использовали для измерения присутствия, экспансии и устойчивости трансдуцированных Т-клеток с CAR+ к CD19 в крови, согласно Locke FL et al. *Mol Ther*. 2017;25(1):285-295. Сыворотку крови исследовали на содержание цитокинов, хемокинов, иммунных эффекторных молекул и маркеров синдрома активации макрофагов с использованием ранее описанных способов. Locke FL et al. *Mol Ther*. 2017;25(1):285-295.

[0346] *Статистический анализ*

[0347] Когорта для оценки DLT включала первых 3 пациентов, получавших лечение при уровне дозы 2×10^6 . Анализы безопасности и эффективности включали всех пациентов, получавших любую дозу Т-клеток с CAR к CD19. Оценки Каплана-Мейера и двусторонние 95% доверительные интервалы получали для конечных точек времени до события. DOR определяли в виде времени от CR до рецидива или смерти без зарегистрированного рецидива. DOR для пациентов, которые подвергались аллогенной SCT в период ремиссии, цензурировали по дате трансплантации. ОС определяли как время от инфузии Т-клеток с CAR к CD19 до даты смерти от любой причины. Данные представлены по состоянию на 1 апреля 2019 г. Все статистические анализы проводили в SAS (версия 9.4).

[0348] *Результаты*

[0349] *Пациенты*

[0350] В период с 9 марта 2016 г. по 12 июля 2018 г. в исследование включали 54 пациента, которым проводили лейкаферез в фазе 1 (**Фиг. 4**). Продукт на основе Т-клеток с CAR к CD19 успешно получали для всех 54 пациентов; 1 пациенту потребовалось 2 процедуры лейкафереза и 1 пациенту потребовалось 3 процедуры для получения продукта. Среднее время от лейкафереза до доставки Т-клеток с CAR к CD19 в исследовательский центр составляло 15 дней. Пять пациентов прекратили лечение до лимфодеплекции в связи с АЕ (n = 3; **Фиг. 4**), отзыв согласия (n = 1) или неприемлемость после лейкафереза (n = 1). Еще четыре пациента прекратили лечение после лимфодеплекции. Трое не получали Т-клетки с CAR к CD19 вследствие сепсиса степени тяжести 4 (n = 1), начала новой терапии (n = 1) и смерти от сепсиса степени тяжести 5 (n = 1). Один пациент прекратил исследование до инфузии вследствие тромбоза глубоких вен (критерий исключения), но получал Т-клетки с CAR к CD19 из-за гуманных соображений. Сорок пять из 54 пациентов (83%) получали Т-клетки с CAR к CD19 в следующих дозах: 2×10^6 (n = 6), 1×10^6 (n = 23) или $0,5 \times 10^6$ CAR Т-клеток/кг (n = 16). Девять из 23 пациентов в когорте с применением 1×10^6 CAR Т-клеток/кг получали лечение в соответствии с пересмотренными рекомендациями по лечению АЕ, требующими более раннего применения стероидов для НЕ и резервирования тоцилизумаба только для лечения CRS. Сорок четыре пациента получили целевую дозу Т-клеток с CAR к CD19; 1 пациента включали в исследование для получения 1×10^6 Т-клеток/кг с CAR к CD19 и в его отношении применяли пересмотренное лечение АЕ с помощью $0,5 \times 10^6$ клеток/кг, однако его включали в анализ при уровне дозы 1×10^6 .

[0351] Средний возраст всех пациентов, получивших лечение, составлял 46 лет (диапазон 18–77), и 67% ранее получали ≥ 3 линий терапии (**Таблица 18**). До включения в исследование 16 пациентов (40%) имели первичную рефрактерность, 13 (29%) рецидивировали после SCT и 21 (47%) ранее получали блинатумомаб. Блинатумомаб был последней терапией, использованной перед включением в исследование у 8 пациентов (18%), при этом только у 1 из них был достигнут ответ (CR) на блинатумомаб.

[0352] Таблица 18. Исходные характеристики пациентов

Исходные характеристики	N = 45
Возраст, медиана (диапазон), у	46 (18 – 77)
Мужчины, n (%)	22 (49)
Оценка статуса общего состояния согласно ECOG, n (%)	
0	15 (33)
1	29 (64)
Отсутствует	1 (2)
Положительные в отношении филадельфийской хромосомы, n (%)	8 (18)
Экстремедуллярное заболевание, n (%)	4 (9)
Заболевание ЦНС при скрининге, n (%)	
ЦНС-1	42 (93)

ЦНС-2	3 (7)
Предшествующие схемы терапии, n (%)	
1	6 (13)
2	9 (20)
≥ 3	30 (67)
Предшествующая терапия блинатумомабом, n (%)	21 (47)
Предшествующая терапия инотузумабом озогамицином, n (%)	6 (13)
Рефрактерные, n (%)	
Первичные рефрактерные	16 (36)
Первый рецидив с ремиссией ≤ 12 месяцев	2 (4)
Рецидивирующие или рефрактерные после аллогенной SCT	13 (29)
Бласты ВМ при скрининге, медиана (диапазон), %	61 (5 – 100)
Бласты ВМ при предкондиционировании после переходной терапии, медиана (диапазон), %	70 (0 – 97)

ВМ, костный мозг; ЦНС, центральная нервная система; ECOG, Восточная объединенная онкологическая группа; SCT, трансплантация стволовых клеток

[0353] *Безопасность*

[0354] DLT не наблюдали среди совокупности, подлежащей оценке DLT (n = 3). Девяносто восемь процентов пациентов испытывали АЕ степени тяжести ≥3 (Таблица 19). Наиболее частыми АЕ любой степени были пирексия (89%), гипотензия (69%), диарея (42%) и озноб (42%). Распространенными АЕ степени тяжести ≥3 (≥20% пациентов) были пирексия (42%), гипотензия (40%), снижение содержания тромбоцитов (33%), анемия (31%), гипофосфатемия (31%), гипоксия (24%), энцефалопатия (22%), фебрильная нейтропения (22%) и снижение содержания нейтрофилов (22%). Серьезные АЕ любой степени развились у 84% пациентов.

[0355] Таблица 19. Нежелательные явления

n (%) *	2 × 10 ⁶ (n = 6)		1 × 10 ⁶ (n = 23)		0,5 × 10 ⁶ (n = 16)		Все пациенты (N = 45)	
	Любая степень тяжести	Степень тяжести ≥3	Любая степень тяжести	Степень тяжести ≥3	Любая степень тяжести	Степень тяжести ≥3	Любая степень тяжести	Степень тяжести ≥3
Любое нежелательное явление	6 (100)	6 (100)	23 (100)	23 (100)	16 (100)	15 (94)	45 (100)	44 (98)
Пирексия	6 (100)	3 (50)	22 (96)	11 (48)	12 (75)	5 (31)	40 (89)	19 (42)
Гипотензия	5 (83)	3 (50)	17 (74)	11 (48)	9 (56)	4 (25)	31 (69)	18 (40)
Озноб	3 (50)	0	13 (57)	0	3 (19)	0	19 (42)	0 (0)
Диарея	3 (50)	0	10 (43)	1 (4)	6 (38)	0	19 (42)	1 (2)

Головная боль	1 (17)	0	10 (43)	1 (4)	7 (44)	1 (6)	18 (40)	2 (4)
Анемия	4 (67)	4 (67)	10 (43)	8 (35)	3 (19)	2 (13)	17 (38)	14 (31)
Энцефалопатия	4 (67)	2 (33)	11 (48)	6 (26)	2 (13)	2 (13)	17 (38)	10 (22)
Гипофосфатемия	2 (33)	1 (17)	12 (52)	10 (43)	3 (19)	3 (19)	17 (38)	14 (31)
Тошнота	1 (17)	0	13 (57)	1 (4)	3 (19)	0	17 (38)	1 (2)
Спутанность сознания	2 (33)	1 (17)	9 (39)	1 (4)	5 (31)	2 (13)	16 (36)	4 (9)
Гипоксия	2 (33)	1 (17)	8 (35)	6 (26)	6 (38)	4 (25)	16 (36)	11(24):
Сниженное содержание тромбоцитов	3 (50)	3 (50)	8 (35)	8 (35)	5 (31)	4 (25)	16 (36)	15 (33)
Запор	2 (33)	0	10 (43)	0	2 (13)	0	14 (31)	0 (0)
Усталость	1 (17)	0	7 (30)	1 (4)	6 (38)	0	14 (31)	1 (2)
Синусовая тахикардия	2 (33)	0	10 (43)	1 (4)	2 (13)	0	14 (31)	1 (2)
Гипокалиемия	1 (17)	0	11 (48)	0	1 (6)	0	13 (29)	0 (0)
Тахикардия	1 (17)	1 (17)	6 (26)	1 (4)	6 (38)	0	13 (29)	2 (4)
Тремор	1 (17)	0	8 (35)	0	4 (25)	0	13 (29)	0 (0)
Снижение аппетита	0	0	9 (39)	2 (9)	3 (19)	0	12 (27)	2 (4)
Гипергликемия	1 (17)	0	6 (26)	0	5 (31)	1 (6)	12 (27)	1 (2)
Гипомагниемия	2 (33)	0	8 (35)	0	2 (13)	0	12 (27)	0 (0)
Гипонатриемия	3 (50)	2 (33)	7 (30)	3 (13)	2 (13)	0	12 (27)	5 (11)
Периферический отек	1 (17)	0	7 (30)	1 (4)	4 (25)	0	12 (27)	1 (2)

*Таблица включает нежелательные явления любой степени тяжести, встречающиеся у $\geq 25\%$ всех пациентов

[0356] CRS отмечали у 42 пациентов (93%); 14 пациентов (31%) испытывали CRS степени тяжести ≥ 3 (Таблица 19). Распространенными симптомами CRS степени тяжести ≥ 3 были пирексия (45%), гипотензия (36%) и гипоксия (17%). Вазопрессоры применяли для лечения CRS у 12 пациентов (27%). Медианное время до начала CRS после инфузии составляло 2 дня (диапазон 1–12); медианные продолжительности CRS любой степени тяжести и степени тяжести ≥ 3 составляли 9 и 4,5 дня соответственно. Ассоциированные с CRS явления нормализовались у всех, кроме 2 пациентов, которые испытывали АЕ степени тяжести 5, связанные с Т-клетками с CAR к CD19. У одного пациента, получавшего 2×10^6 CAR Т-клеток/кг, развилась полиорганная недостаточность на фоне CRS (день 6). У одного пациента, получавшего $0,5 \times 10^6$ клеток/кг, развилось

расстройство мозгового кровообращения (инсульт) в контексте CRS и NE (день 7). О других АЕ степени тяжести 5, связанных с Т-клетками с CAR к CD19, не сообщалось.

[0357] NE отмечали у 35 пациентов (78%); явления степени тяжести ≥ 3 произошли у 17 пациентов (38%; **Таблица 19**). NE степени тяжести ≥ 3 , встречающиеся у $\geq 5\%$ пациентов, представляло собой энцефалопатию (22%), афазию (16%) и спутанность сознания (9%). Случаи отека головного мозга и NE степени тяжести 5 отсутствовали. Медианное время до начала NE составляло 6 дней (диапазон 1–31) после инфузии; средняя продолжительность NE любой степени тяжести и степени тяжести ≥ 3 составляла 12 и 9 дней соответственно. NE нормализовались у 31/35 пациентов (89%); 1 пациент умер от прогрессирующего заболевания и 3 пациента умерли от АЕ, которые считались не связанными с Т-клетками с CAR к CD19 (сепсис [n = 1], нарушение мозгового кровообращения [n = 1], вирус герпеса [n = 1]) до нормализации неврологического явления.

[0358] Пятьдесят три процента всех пациентов получали тоцилизумаб, а 36% также получали стероиды для лечения CRS; 31% и 44% получали тоцилизумаб и стероиды соответственно по поводу NE. Повышенная общая безопасность наблюдалась у 9 пациентов, получавших лечение в соответствии с пересмотренными рекомендациями по лечению АЕ, по сравнению с 14 пациентами, получавшими ту же дозу в соответствии с первоначальными рекомендациями (**Таблица 20**). Четыре из 14 пациентов, получавших 1×10^6 CAR Т-клеток/кг в соответствии с первоначальными рекомендациями, имели CRS степени тяжести 3 или 4. При пересмотренном лечении АЕ 3/9 пациента, получавшие лечение в дозе 1×10^6 CAR Т-клеток/кг, имели CRS степени тяжести 3, при этом о CRS степени тяжести 4 не сообщалось. У этих пациентов также была более короткая средняя продолжительность CRS степени тяжести ≥ 3 (4 дня по сравнению с 7 днями), чем у пациентов, получавших 1×10^6 CAR Т-клеток/кг в соответствии с первоначальными рекомендациями по АЕ, и более длительное время до появления симптомов степени тяжести ≥ 3 (6 дней по сравнению с 4,5 дня соответственно). Примечательно, что у 9/14 пациентов в когорте с дозой 1×10^6 CAR Т-клеток/кг, получавших лечение в соответствии с первоначальными рекомендациями, наблюдали NE степени тяжести 3/4, по сравнению с одним явлением степени тяжести 3 и отсутствием явлений степени тяжести 4 у пациентов, получавших ту же дозу в соответствии с пересмотренными рекомендациями по лечению (**Таблица 20**). На основании обзора всех доступных данных по безопасности и эффективности, соотношение польза/риск было наилучшим при дозе 1×10^6 CAR Т-клеток/кг, в результате чего эта доза представляла собой RP2D. Все пациенты фазы 2 получали лечение в соответствии с пересмотренными рекомендациями по лечению АЕ.

[0359] **Таблица 20.** Синдром высвобождения цитокинов и неврологические явления в соответствии с пересмотренными рекомендациями по лечению АЕ

n (%)	2×10^6 (n = 6)	1×10^6 Исходное лечение АЕ (n = 14)	1×10^6 Пересмотренное лечение АЕ (N = 9)	$0,5 \times 10^6$ (n = 16)
Стероиды				
Для лечения CRS	1 (17)	5 (36)	5 (56)	5 (31)

Для лечения NE	3 (50)		7 (50)		5 (56)		5 (31)	
Тоцилизумаб								
Для лечения CRS	1 (17)		9 (64)		9 (100)		5 (31)	
Для лечения NE	4 (67)		5 (36)		4 (44)		1 (6)	
Нежелательное явление, n (%)	Любая степень тяжести	Степень тяжести ≥ 3	Любая степень тяжести	Степень тяжести ≥ 3	Любая степень тяжести	Степень тяжести ≥ 3	Любая степень тяжести	Степень тяжести ≥ 3
Синдром высвобождения цитокинов	6 (100)	3 (50)	14 (100)	4 (29)	9 (100)	3 (33)	13 (81)	4 (25)
Пирексия	6 (100)	3 (50)	12 (86)	5 (36)	9 (100)	6 (67)	10 (77)	5 (31)
Гипотензия	4 (67)	3 (50)	11 (79)	6 (43)	6 (67)	3 (33)	8 (62)	3 (19)
Синусовая тахикардия	2 (33)	0	6 (43)	0	4 (44)	1 (11)	2 (15)	0
Озноб	1 (17)	0	5 (36)	0	4 (44)	0	2 (15)	0
Тахикардия	1 (17)	1 (17)	4 (29)	1 (7)	2 (22)	0	4 (31)	0
Тахипноэ	0	0	4 (29)	1 (7)	0	0	0	0
Гипоксия	2 (33)	1 (17)	2 (14)	2 (14)	3 (33)	2 (22)	3 (23)	2 (15)
Тошнота	0	0	2 (14)	0	0	0	0	0
Усталость	0	0	1 (7)	0	3 (33)	0	1 (8)	0
Головная боль	0	0	1 (7)	0	2 (22)	0	3 (23)	0
Гипонатриемия	0	0	1 (7)	0	1 (11)	0	1 (8)	0
Любое неврологическое явление	5 (83)	3 (50)	13 (93)	9 (64)	7 (78)	1 (11)	10 (63)	4 (25)
Спутанность сознания	2 (33)	1 (17)	3 (21)	0	6 (67)	1 (11)	5 (31)	2 (13)
Тремор	1 (17)	0	4 (29)	0	4 (44)	0	4 (25)	0
Афазия	0	0	6 (43)	4 (29)	2 (22)	1 (11)	2 (13)	2 (13)
Энцефалопатия	4 (67)	2 (33)	9 (64)	6 (43)	2 (22)	0	2 (13)	2 (13)

Летаргия	0	0	1 (7)	0	2 (22)	0	2 (13)	0
Изменения психического состояния	0	0	0	0	2 (22)	0	0	0
Возбуждение	0	0	4 (29)	1 (7)	1 (11)	1 (11)	2 (13)	0
Дизартрия	0	0	1 (7)	1 (7)	1 (11)	0	0	0
Беспокойство	0	0	1 (7)	1 (7)	1 (11)	1 (11)	0	0
Судороги	1 (17)	0	2 (14)	2 (14)	1 (11)	0	1 (6)	0
Атаксия	0	0	1 (7)	0	1 (11)	0	0	0

АЕ, нежелательное явление; CRS, синдром высвобождения цитокинов; NE, неврологические явления

[0360] Двадцать шесть пациентов, получивших лечение (58%), умерли от причин, которые включали прогрессирование заболевания у 19 (42%) и АЕ у 7 пациентов (16%), включая 2 вышеупомянутых смерти, связанных с лечением. Оставшиеся 5 смертей, связанных с АЕ, происходили в среднем через 63 дня (диапазон 48–579) после инфузии Т-клеток с CAR к CD19 и считались не связанными с Т-клетками с CAR к CD19. Они включали сепсис (n = 2), нарушение мозгового кровообращения (n = 1), вирусную простую герпеса (n = 1) и бактериемию (n = 1).

[0361] *Эффективность*

[0362] Все 45 пациентов, получавших лечение, соответствовали критериям включения в исследования для анализа эффективности. При медианном периоде последующего наблюдения, составляющем 22,1 месяца (диапазон 7,1–36,1), общая частота ремиссии (ORR) составляла 69%, при этом 51% пациентов достигали CR и 18% CRi (Таблица 21). Среди 23 пациентов, получавших лечение 1×10^6 CAR Т-клеток/кг, ORR составляла 83%, при этом 14 достигали CR (61%) и 5 (22%) CRi. Шесть из 9 пациентов, которые получали пересмотренное лечение АЕ, достигали CR/CRi (4 CR, 2 CRi). Медианное время до достижения CR/CRi в зависимости от уровня дозы составляло 30 дней (диапазон 26–192), включая 1 пациента с не содержащим бластов гипопластическим/апластическим костным мозгом (BFBM) в день 28, который не соответствовал критериям CR до месяца 6. ORR в целом была одинаковой по ключевым ковариатам, включая пациентов с рефрактерностью (56%), предшествующим трансплантатом (77%), предшествующей терапией блинатумомабом (57%) или инотузумабом озогамицином (50%), а также пациентов с Ph+ заболеванием (100%) (Фиг. 5). Неопределяемый показатель MRD костного мозга был достигнут на 28 день у 100% пациентов, отвечающих на лечение, включая 31 пациента с CR/CRi, 1 пациента с частичным ответом и 1 с BFBM. Оценка остаточного заболевания была недоступна у 1 пациента с BFBM. У двух из 6 пациентов, которые подвергались необязательной оценке костного мозга в день 7-14, имело место неопределяемое MRD; 5 пациентов с данными, доступными в день 30, имели неопределяемое MRD.

[0363] Таблица 21. Ответ на Т-клетки с CAR к CD19

Категория ответа, n (%)	2×10^6 (n = 6)	1×10^6 (n = 23)	$0,5 \times 10^6$ (n = 16)	Всего (N = 45)
Полная ремиссия	4 (67)	19 (83)	8 (50)	31 (69)
Полная ремиссия	3 (50)	14 (61)	6 (38)	23 (51)
Полная ремиссия с неполным гематологическим восстановлением	1 (17)	5 (22)	2 (13)	8 (18)
Не содержащий бластов гистопластичный/апластичный костный мозг	0	1 (4)	1 (6)	2 (4)
Частичная ремиссия	0	1 (4)*	0	1 (2)
Ответ отсутствует	1 (17)	2 (9)	6 (3)	8 (18)
Неизвестный или не подлежащий оценке	1 (17) [†]	0	1 (6) [‡]	2 (4)

* Пациент имел экстрамедуллярное заболевание при оценке ответа.

[†] Пациент умер в день 6 вследствие полиорганной недостаточности на фоне CRS.

[‡] Пациент умер в день 7 вследствие нарушения мозгового кровообращения (инсульта) в контексте CRS и неврологических явлений

[0364] Медианная DOR для 31 пациента, достигшего CR/CRi, составляла 14,5 месяцев (95% CI, 5,8–18,1; **Фиг. 6А**) и 17,6 месяца (95% CI, 5,8–17,6) у пациентов, получавших лечение 1×10^6 CAR Т-клеток/кг. Медианная DOR была одинаковой независимо от цензурирования по SCT после введения Т-клеток с CAR к CD19 (**Фиг. 6В**). В момент окончания сбора данных 8 пациентов (26%) имели текущий CR, в том числе 2, которые получали $0,5 \times 10^6$ CAR Т-клеток/кг, и 6, которые получали 1×10^6 CAR Т-клеток/кг, при этом медианный период последующего наблюдения составлял 6,3 месяца (диапазон 5,9–18,2). Шесть пациентов (2 CR и 1 частичный ответ, получавшие 1×10^6 CAR Т-клеток/кг; 3 CR, получавшие $0,5 \times 10^6$ клеток/кг), подвергались SCT в среднем через 2,7 месяца (диапазон 1,7-4,3) после инфузии. В момент этого анализа 3 из них сохраняли CR (2, получавшие 1×10^6 CAR Т-клеток/кг и 1 – $0,5 \times 10^6$ клеток/кг). При всех уровнях доз медиана продолжительности безрецидивной выживаемости составляла 7,3 месяца (95% CI, 2,7-18,7) по сравнению с 7,7 месяца (95% CI, 3,2–18,7) у пациентов, получавших 1×10^6 CAR Т-клеток/кг (**Фиг. 6С**). Медиана OS составляла 12,1 месяца (95% CI, 6,1–19,1) для всех уровней доз и 16,1 месяца (95% CI, 10,2 – не поддается оценке) при 1×10^6 CAR Т-клеток/кг (**Фиг. 6D**).

[0365] В момент остановки сбора данных 1 пациент (2%) отозвал согласие, 1 (2%) был недоступен для последующего наблюдения и 17 (38%) были живы, включая 11/23 пациентов (50%), получавших 1×10^6 клеток/кг. Четверо пациентов получали вторую инфузию Т-клеток с CAR к CD19; один имел CR через 15 месяцев после повторной дозы, 2 рецидивировали к моменту оценки через 3 месяца и 1 отозвал согласие до первой оценки ответа.

[0366] *Клиническая фармакология*

[0367] Уровни CAR Т-клеток, измеренные в копиях гена CAR на мкг ДНК в крови, достигали пика через 7-14 дней после инфузии Т-клеток с CAR к CD19 для большинства пациентов и оставались определяемыми у 2/12 подлежащих оценке пациентов через 12 месяцев, оба из которых имели CR (Фиг. 7А; Таблица 22).

[0368] Таблица 22. Копии гена CAR в крови в динамике

Копии гена CAR на мкг ДНК в крови	2×10^6	1×10^6 Исходное лечение АЕ	1×10^6 Пересмотренное лечение АЕ	$0,5 \times 10^6$
Исходный уровень	(n = 6) 0	(n = 14) 0	(n = 9) 0	(n = 16) 0
Медиана	0 – 0	0 – 0	0 – 0	0 – 0
Диапазон				
День 7	(n = 4)	(n = 12)	(n = 9)	(n = 15)
Медиана	62411	154386	91287	3702
Диапазон	11097 – 162972	12231 – 443880	0 – 353160	0 – 375030
Неделя 2	(n = 5)	(n = 14)	(n = 8)	(n = 13)
Медиана	44064	48114	60507	3669
Диапазон	2228 – 106110	7614 – 283500	10935 – 224370	0 – 100845
Неделя 4	(n = 5)	(n = 11)	(n = 9)	(n = 13)
Медиана	1304	3119	16200	1588
Диапазон	405 – 4860	1029 – 95580	235 – 56052	0 – 27540
Неделя 8	(n = 0)	(n = 5)	(n = 7)	(n = 7)
Медиана	-	0	527	219
Диапазон	-	0 – 907	0 – 972	0 – 9882
Месяц 3	(n = 4)	(n = 11)	(n = 6)	(n = 9)
Медиана	0	203	99	0
Диапазон	0 – 0	0 – 1458	0 – 478	0 – 5508
Месяц 6	(n = 3)	(n = 8)	(n = 0)	(n = 7)
Медиана	0	0	-	0
Диапазон	0 – 0	0 – 105	-	0 – 518
Месяц 9	(n = 1)	(n = 6)	(n = 0)	(n = 4)
Медиана	0	0	-	0
Диапазон	0 – 0	0 – 138	-	0 – 0
Месяц 12	(n = 1)	(n = 4)	(n = 0)	(n = 3)
Медиана	65	0	-	0
Диапазон	65 – 65	0 – 0	-	0 – 57

АЕ, нежелательное явление; CAR, химерный антигенный рецептор

[0369] CAR Т-клетки были необнаружимы у 5 пациентов с доступными данными в момент рецидива. Медианные пиковые уровни CAR Т-клеток были наиболее высокими в случае 1×10^6 CAR Т-клеток/кг и были аналогичными у пациентов, которые получали исходное лечение по сравнению с пересмотренным лечением АЕ (Фиг. 7В; Фиг. 8). Пациенты, достигшие CR/CRi, имели более высокую медианную пиковую экспансию, чем лица, не отвечающие на лечение, как и пациенты с необнаружимым MRD по сравнению с обнаружимым (Фиг. 7С-Д; Фиг. 8АВ-С). Более высокий медианный пик экспансии также наблюдали у пациентов с степени тяжести ≥ 3 по сравнению с пациентам с NE со степенью тяжести ≤ 2 (Фиг. 7Е-Ф; Фиг. 8D-E). Из 13 пациентов с рецидивом у 7 обнаруживались CD19-положительные клетки при рецидиве, у 3 не обнаруживались CD19-положительные клетки и у 3 не было доступных данных.

[0370] Пиковые уровни ключевых цитокинов, хемокинов и провоспалительных маркеров наблюдались к дню 7, при этом некоторые из них имели тенденцию к более высоким уровням у пациентов, которым вводили 2×10^6 по сравнению с 1×10^6 CAR Т-клеток/кг (IL-15, CRP, SAA, CXCL10, IFN γ) или более низким уровням у пациентов, получавших пересмотренное лечение АЕ по сравнению с исходным лечением АЕ (IL-6, ферритин, IL-1RA, IFN γ IL-8, CXCL10, MCP-1), Фиг. 9; Фиг. 10). В то время как пиковые уровни IL-15 в сыворотке крови были неожиданно ниже у пациентов с CRS степени тяжести ≥ 3 , медианные пиковые уровни нескольких провоспалительных маркеров имели тенденцию к более высоким уровням у пациентов с CRS степени тяжести ≥ 3 и у пациентов с NE степени тяжести ≥ 3 (IFN γ , IL-8, GM-CSF, IL-1RA, CXCL10, MCP-1, гранзим В, Фиг. 11).

[0371] Четыре пациента продемонстрировали положительный результат во время скрининговых анализов на антитела к CAR, но все они были отрицательными в подтверждающих анализах при лейкоферезе. Характеристики полученных CAR Т-клеточных продуктов были такими, как предполагалось и сообщалось ранее (Таблица 23).

[0372] Таблица 23. Характеристики продукта

Медианные характеристики (диапазон)	2×10^6 (n = 6)	1×10^6 Исходное лечение АЕ (n = 14)	1×10^6 Пересмотренное лечение АЕ (n = 9)	$0,5 \times 10^6$ (n = 16)
Подсовокупности Т-клеток, %				
Наивные	32,9 (16,4–60,5)	41,1 (9,9–73,2)	30,2 (0,1–65,0)	33,1 (12,5–80,9)
Центральные памяти	34,5 (15,1–42,7)	21,9 (14,6–40,7)	19,3 (3,2–36,3)	18,0 (3,0–48,2)
Эффекторные	8,9 (3,7–13,4)	8,9 (4,5–41,6)	14,5 (2,4–20,9)	14,3 (2,4–38,1)
Эффекторные памяти	20,7 (15,5–52,4)	18,4 (4,8–60,0)	19,9 (3,9–94,3)	22,6 (1,0–45,3)
CD4, %	44,7 (33,9–58,8)	47,6 (21,9–76,8)	56,8 (41,0–93,7)	58,8 (28,5–85,9)

CD8, %	55,4 (41,2–66,2)	49,0 (23,2–78,1)	43,3 (6,3–59,0)	41,2 (14,1–71,4)
Соотношение CD4/CD8	0,8 (0,5–1,4)	1,0 (0,3–3,3)	1,4 (0,7–14,9)	1,4 (0,4–6,1)
Продуцирование IFNγ в кокультуре (пг/мл) *	7944,0 (1679,5–11214,4)	9980,5 (3025,0–37921,9)	10317,3 (5255,0–45235,7)	9059,5 (1040,6–27859,1)

* Эксперименты по совместному культивированию проводили с использованием клеток Толедо, смешанных в соотношении 1:1 с продуктом на основе Т-клеток с CAR к CD19. IFN γ измеряли в среде для культивирования клеток через 24 ч после инкубации с использованием отвечающего критериям ELISA. АЕ, нежелательное явление; IFN γ , интерферон гамма

[0373] ZUMA-3 представляет собой первое многоцентровое исследование, оценивающее терапию CAR Т-клетками у взрослых с Р/Р В-ОЛЛ, завершивших фазу 1. В фазе 1 не наблюдали каких-либо признаков DLT, определенных протоколом, при применении Т-клеток с CAR к CD19, а описанные нежелательные явления согласовались с предыдущими исследованиями терапии на основе Т-клеток с CAR к CD19. Neelapu SS. et al. *N Engl J Med.* 2017;377(26):2531–2544; Maude SL et al. *N Engl J Med.* 2018;378(5):439-448. Доза 1×10^6 CAR Т-клеток/кг в сочетании с пересмотренными рекомендациями по лечению АЕ имела наиболее благоприятное соотношение риск/польза без снижения активности. Несмотря на то, что пациенты имели тяжелое бремя заболеваний и получали интенсивное предварительное лечение, были достигнуты высокие показатели ремиссии и неопределяемый показатель MRD костного мозга, в частности, у пациентов, получавших лечение дозой 1×10^6 ; ORR составляла 83%, включая 61% CR и 22% CRi, все из которых имели неопределяемый показатель MRD. На основании этих результатов, показывающих, что Т-клетки с CAR к CD19 безопасны и обладают перспективной эффективностью, для дальнейшей оценки в фазе 2 ZUMA-3 выбирали дозу 1×10^6 CAR Т-клеток/кг.

[0374] Использование Т-клеток с CAR к CD19 для лечения Р/Р В-ОЛЛ у взрослых оказалось затруднительным в связи с высокопролиферативной природой этого заболевания и неспособностью переносить связанные с лечением АЕ. Предыдущее исследование CAR Т-клеток в этой популяции было закрыто досрочно в связи с летальным NE, включая 5 случаев отека головного мозга. DeAngelo DJ, Ghobadi A, Park JH, et al. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer.* 2017;5(Suppl 2):P217. В соответствии с исходными рекомендациями по лечению АЕ в ZUMA-3, 2 пациента умерли от АЕ степени тяжести 5, которые считались связанными с Т-клетками с CAR к CD19, либо вторичными по отношению к CRS, либо в контексте CRS и NE вне временных рамок оценки DLT. В дополнение к оценке многократных доз для определения дозы с наиболее контролируемой токсичностью, среди 9 пациентов, включенных в исследование при дозе 1×10^6 CAR Т-клеток/кг, применяли пересмотренные рекомендации по лечению АЕ, требующие более раннего введения стероидов для лечения нейротоксичности и использования тоцилизумаба только для CRS. Это приводило к меньшей продолжительности явлений CRS и более низкой частоте, тяжести и продолжительности NE по сравнению с 14 пациентами, получавшими ту же дозу в соответствии с исходными рекомендациями.

[0375] При медианном периоде последующего наблюдения 22,1 месяца ответ сохранялся у 26% пациентов, большинство из которых получали 1×10^6 CAR Т-клеток/кг (32% текущий CR/CRi). Ответы, как правило,

возникали вскоре после лечения. В большинстве случаев это происходило в течение первого месяца, хотя 1 пациент с экстрамедуллярным заболеванием достиг CR через 6 месяцев. Высокие частоты ответа наблюдали во всех предварительно определенных подгруппах, включая 100% CR у пациентов с Ph+ заболеванием. Ответ (CR/CRi) был ассоциирован с более высокой экспансией CAR Т-клеток, измеренной в течение 2 недель после лечения. Аналогичным образом, в одноцентровом исследовании фазы I с использованием терапии на основе Т-клеток с CAR к CD19, также содержащей костимулирующий домен CD3 ζ и CD28 (Park JH et al. *N Engl J Med.* 2018;378(5):449-459), общая частота CR составляла 83%, хотя после переходной терапии только половина пациентов имели \geq 5% бластов в костном мозге, 28% имели MRD и 11% имели неопределяемое MRD. Тем не менее, результаты этих исследований в значительной степени соответствовали результатам настоящего исследования, что еще раз подтверждает потенциальную применимость средства терапии на основе Т-клеток с CAR к CD19 с использованием костимулирующего домена CD3 ζ и CD28 при P/P В-ОЛЛ у взрослых.

[0376] Тисагенлеклейсель, средство терапии на основе Т-клеток с CAR к CD19, содержащая активирующий домен CD3 ζ Т-клеток и костимулирующий домен 4-1BB, одобрен для лечения P/P В-ОЛЛ у детей и молодых людей (\leq 25 лет). Maude SL et al. *N Engl J Med.* 2018;378(5):439-448; КУМПАТАН (tisagenlecleucel) [вкладыш в упаковку]. Novartis. East Hanover, NJ; 2018. Однако схема введения дозы тисагенлеклейселя у более молодых пациентов приводила к значительной токсичности и смерти, связанной с CRS, у взрослых с P/P В-ОЛЛ. Frey NV et al. *J Clin Oncol.* 2020;38(5):415-422. В одноцентровом исследовании P/P В-ОЛЛ у взрослых в двух клинических испытаниях введение дозы фракциями приводило к контролируемому CRS и частоте CR 90%. Frey NV et al. *J Clin Oncol.* 2020;38(5):415-422. Подобно наблюдениям в ZUMA-3, оптимизированные стратегии введения доз и контроля токсичности могут позволить пациентам, подверженным опасным для жизни токсическим эффектам, связанным с лечением, получать пользу от CAR Т-клеточной терапии.

[0377] Несмотря на различия в схемах исследования, популяциях пациентов и методологии оценки OS, медиана OS при уровне 1×10^6 CAR Т-клеток/кг в настоящем исследовании составляла 16,1 месяца, в то время как медиана OS, о которой сообщалось ранее для блинатумомаба, который также нацелен на CD19, составляла 6,1-7,7 месяцев у взрослых с P/P В-ОЛЛ. Torp MS et al. *Lancet Oncol.* 2015;16(1):57-66; Kantarjian H. et al. *N Engl J Med.* 2017;376(9):836-847. Из 10 пациентов, у которых при рецидиве оценивали экспрессию бластов CD19, у 3 наблюдалось отсутствие экспрессии CD19, что сходно с другими отчетами, связывающими потерю мишени с отбором вариантов сплайсинга экзонов и мутаций. Sotillo E et al. *Cancer Discov.* 2015;5(12):1282-1295. В настоящем исследовании только 1/8 пациентов (13%), получавших блинатумомаб в качестве последней предшествующей терапии, отвечали на блинатумомаб. Это может свидетельствовать об иммунологической некомпетентности среди Т-клеток, с которыми не проводили манипуляций, у некоторых пациентов с P/P ОЛЛ, что, возможно, ограничивает применимость терапии биспецифическими Т-клеточными рекрутерами. Из 21 пациента, ранее получавшего блинатумомаб в любой линии, 12 (57%) достигли CR/CRi после терапии на основе Т-клеток с CAR к CD19. Как сообщалось ранее (Shah BD. et al. *J Clin Oncol.* 2018;36(suppl):abstr 7006), ответы на Т-клетки с CAR к CD19 были аналогичными независимо от предшествующего воздействия блинатумомаба у пациентов с сохраняющимся CD19-положительным статусом. Кроме того, 6 пациентов, достигших CR, подвергались SCT и подвергались цензурированию во время SCT; 3 сохранили ремиссию.

[0378] Взрослые с Р/Р В-ОЛЛ достигали высоких частот CR и неопределяемого MRD костного мозга с приемлемым профилем безопасности после лечения Т-клетками с CAR к CD19. Успешное производство для всех включенных в исследование пациентов и относительно быстрое время выполнения подтверждали осуществимость этого лечения в форме клеточной терапии для пациентов с быстро прогрессирующим заболеванием, которые нуждаются в быстром лечении. Тщательно оценив диапазон доз и приняв стратегии безопасности, включая применение тоцилизумаба или стероидов и условия, при которых их следует вводить для лечения АЕ, удалось перевести исследование с фазы 1 на фазу 2 международного исследования. В фазе 1 летальные случаи отека головного мозга отсутствовали, что является ограничением предыдущих исследований в этой популяции. Фазу 2 ZUMA-3 продолжали при дозе 1×10^6 CAR Т-клеток/кг с пересмотренными рекомендациями по лечению АЕ.

ПРИМЕР 10

[0379] В этом примере описаны результаты CD19ΔTyr260 в CD19 при В-ОЛЛ, ассоциированном с устойчивостью к лечению CAR Т-клетками. После отсутствия эффективности нескольких видов терапии, включая блинатумомаб до введения КТЕ-X19, пациент с В-ОЛЛ получал целевую дозу 1×10^6 CAR Т-клеток/кг. У пациента не было клинического ответа; CAR Т и CD19-экспрессирующие лимфоциты не обнаруживали в день 28. Мононуклеарные клетки периферической крови (PBMC) собирали у пациентов с В-ОЛЛ до и после введения КТЕ-X19 в различные временные точки. Многоцветную проточную цитометрию использовали для изучения поверхностной экспрессии CD19 (клон FMC63, H1B19, SJ25C1) на клеточных линиях PBMC и Jurkat пациентов, сконструированных в виде дикого типа (WT) CD19 или экспрессирующих CD19ΔTyr260. Наличие генетических вариантов оценивали с помощью расширенного секвенирования всего генома и РНК (TruSeq Stranded Total RNA). Место экспрессии клеточного белка оценивали с помощью вестерн-блоттинга с дегликозилирующими ферментами и без них.

[0380] Хотя в местной патологической лаборатории был сделан вывод, что В-лимфоциты до инфузии были однородной популяцией CD19^{dim}, дополнительные анализы того же образца с FMC63 (однопочечный переменный фрагмент КТЕ-X19) показали, что CD19 не обнаруживался в В-лимфоцитах до инфузии. Результаты секвенирования РНК показали внутриклеточную делецию во внутриклеточном домене CD19 в Tyr260 (CD19ΔTyr260) в циркулирующих лейкозных клетках. Дополнительный анализ с использованием проточной цитометрии показал, что экспрессия CD19 отсутствовала на клетках Jurkat CD19ΔTyr260, но присутствовала на клетках Jurkat CD19-WT, что предполагает отсутствие визуализации клеток, несущих эту точечную мутацию, и их устойчивость к CAR Т-клеточной терапии. Лонгитюдный анализ секвенирования РНК и ДНК показал, что мутация возникла до введения CAR-Т терапии. Фракционированные клеточные лизаты показали, что CD19 WT в клеточной мембране имеет полосу высокой и низкой молекулярной массы, а также CD19ΔTyr260, экспрессированный на поверхности с одной полосой низкой молекулярной массы. В условиях дегликозилирования в клеточных фракциях CD19 WT и CD19ΔTyr260 присутствовала только 1 полоса. Не придерживаясь каких-либо научных теорий или гипотез, вполне вероятно, что мутация CD19ΔTyr260 может

привести к отсутствию обнаружения подходящего или функционального гликозилирования CD19 и/или ингибирования. Мутация в злокачественных клетках В-ОЛЛ может иметь потенциальное значение для терапии другими клетками с CAR к CD19 или отличными от клеток с CAR к CD19 клетками.

ПРИМЕР 11

[0381] Пациенты с МКЛ, прогрессирующим после терапии ВТКi, обычно имеют неблагоприятный прогноз, при этом общая выживаемость составляет всего 5,8 месяца при терапии спасения. Martin P, et al. *Blood*. 2016;127:1559-1563. В фазе 2 исследования ZUMA-2 КТЕ-Х19 оценивали у пациентов с МКЛ, у которых была резистентность к 1–5 предшествующим видам терапии, включая ВТКi. Wang M, et al. *N Engl J Med*. 2020;382:1331–1342. При медианном периоде последующего наблюдения 12,3 месяца ORR составляла 93% (67% полных ответов) в первичном анализе эффективности ZUMA-2 (N = 60). Агрессивные варианты заболевания, включая бластоидную или плеоморфную форму МКЛ, обычно ассоциированы с неблагоприятными клиническими исходами, однако ORR была сопоставима у пациентов с различными гистологическими исследованиями в ZUMA-2. Wang M, et al. *N Engl J Med*. 2020;382:1331–1342; Jain P and Wang M. *Am J Hematol*. 2019;94:710–725. В этом исследовании сравнивали фармакологический профиль и клинические результаты в подгруппах пациентов, определенных по морфологии МКЛ и предшествующему воздействию ВТКi в ZUMA-2, сопровождая это характеристикой свойств продукта и других факторов до лечения. Пациентов подвергали лейкоферезу и кондиционирующей химиотерапии с последующей однократной инфузией Т-клеток с CAR к CD19 в целевой дозе 2×10^6 CAR Т-клеток/кг путем однократной IV инфузии в день 0. Некоторые пациенты получали переходную терапию дексаметазоном (20–40 мг или эквивалента РО или IV один раз в день в течение 1–4 дней), ибрутинибом (560 мг РО один раз в день) или акалабрутинибом (100 мг РО два раза в день), которые вводили после лейкофереза и завершили за ≤ 5 дней до начала кондиционирующей химиотерапии; после переходной терапии требовалась ПЕТ-СТ. Первичной конечной точкой была частота объективного ответа (ORR [полный ответ (CR) + частичный ответ]). Вторичными конечными точками были продолжительность ответа (DOR), выживаемость без прогрессирования (PFS), OS, частота нежелательных явлений (AE), уровни CAR Т-клеток в крови и уровни цитокинов в сыворотке крови. Анализы эффективности и безопасности включали всех пациентов, получавших терапию Т-клетками с CAR к CD19. Первую оценку опухоли проводили в день 28. Биопсию костного мозга выполняли при скрининге, и если она была положительной, не выполненной или неопределенной, то требовалась для подтверждения CR.

[0382] Из 60 пациентов в ZUMA-2 с МКЛ, получавших КТЕ-Х19, с медианным периодом последующего наблюдения, составляющим 12,3 месяца, ORR составляла 93%, частота CR – 67% и полный ответ имел место у 57% всех пациентов и 78% пациентов ответы были текущими. CRS и неврологические явления были в основном обратимыми (N = 68 пациентов получивших лечение). Приблизительно 15% имели CRS степени тяжести ≥ 3 , 31% – неврологические явления степени тяжести ≥ 3 и 2 АЕ степени тяжести 5 (1 связанное с КТЕ-Х19). Подгруппы пациентов определяли по морфологическим характеристикам (классическая, бластоидная или плеоморфная форма МКЛ) и по предшествующему применению только ибрутиниба, только акалабрутиниба или как

ибрутиниба, так и акалабрутиниба. **Таблица 24.** Исходные характеристики в целом были сопоставимы между этими группами. Наблюдали тенденцию к увеличению опухолевой массы до лечения у пациентов, ранее получавших ибрутиниб. Характеристики продукта, уровни CAR T-клеток в крови и уровни цитокинов в сыворотке крови анализировали с использованием ранее описанных способов. Locke FL, et al. *Mol Ther.* 2017;25:285–295. Характеристики Т-клеточного продукта в целом были сопоставимы в подгруппах морфологии МКЛ. Отмечали тенденции к повышению содержания IFN- γ в продуктах кокультивирования и процентного содержания CCR7+ клеток в продуктах, полученных от пациентов с плеоморфной морфологией. **Таблица 25.** Характеристики Т-клеточного продукта в целом были сопоставимы в подгруппах с предшествующим лечением ВТКи. Наблюдали тенденцию к повышению IFN- γ кокультуры продукта у пациентов, ранее получавших ибрутиниб. **Таблица 26.**

[0383]

[0384] Таблица 24. Исходные характеристики пациентов.

	Ибрутиниб (n = 52)	Акалабрутиниб (n = 10)	Оба (n = 6)
Медианный возраст (диапазон), лет	65 (45 – 79)	57 (38 – 73)	62 (55 – 72)
≥ 65 лет, n (%)	32 (62)	4 (40)	3 (50)
Мужчины, n (%)	43 (83)	9 (90)	5 (83)
Заболевание стадии IV, n (%)	44 (85)	9 (90)	5 (83)
ECOG 0/1, n (%)	52 (100)	10 (100)	6 (100)
Медианная опухолевая нагрузка ^a (диапазон), мм ²	2697 (386 – 16878)	1144 (293 – 14390)	536 (260 – 1174)
Индекс пролиферации Ki-67, n/N (%)			
≥ 50	25/38 (66)	3/5 (60)	6/6 (100)
< 50	13/38 (34)	2/5 (40)	0
Морфология МКЛ			
Классическая форма	30 (58)	6 (60)	4 (67)
Плеоморфная форма	1 (2)	2 (20)	1 (17)
Бластоидная форма	12 (23)	3 (30)	2 (33)
Поражение костного мозга, n (%)	28 (54)	3 (30)	6 (100)
Экстраадальное заболевание, n (%)	31 (60)	3 (30)	4 (67)
Медианное количество предшествующих видов (диапазон)	3 (1 – 5)	3 (2 – 5)	3 (3 – 4)
Предшествующая терапия бендамустином, n (%)	28 (54)	7 (70)	2 (33)

^aКак измерено с помощью суммы размеров продукта всех целевых очагов на исходном уровне. Для субъектов, которые имели переходную терапию, измерение после переходной терапии используется в качестве исходного уровня.

[0385] Таблица 25. Характеристики клеток и морфология МКЛ.

Медиана (диапазон)	Морфология МКЛ		
	Классическая форма (n = 40)	Бластоидная форма (n = 17)	Плеоморфная форма (n = 4)
Скорость трансдукции, %	58,1 (35,0 – 82,4)	60,0 (46,0 – 79,4)	61,9 (50,0 – 77,1)
Соотношение CD4/CD8	0,7 (0,04 – 2,8) ^a	0,6 (0,2 – 1,1) ^a	0,7 (0,5 – 2,0)
CCR7+ Т-клетки, %	40,0 (2,6 – 88,8) ^a	35,3 (14,3 – 73,4) ^a	80,8 (57,3 – 88,8)
CCR7- эффекторные Т-клетки + эффекторные Т-клетки памяти, %	59,9 (11,1 – 97,4) ^a	64,8 (26,6 – 85,7) ^a	19,2 (11,1 – 42,7)
Соотношение (CCR7+ Т- клетки)/(CCR7- эффекторные Т- клетки + эффекторные Т-клетки памяти)	0,7 (0,03 – 8,0) ^a	0,5 (0,2 – 2,8) ^a	4,7 (1,3 – 8,0)
Уровень IFN-γ, определенный путем совместного культивирования, пг/мл	6309,5 (424,0 – 2,0 × 10 ⁴)	6510,0 (2709,0 – 1,8 × 10 ⁴)	7687,5 (424,0 – 1,2 × 10 ⁴)

^aНа основании доступных данных: классическая форма, n = 38; бластоидная форма, n = 16

[0386] Таблица 26. Характеристики клеток и подгруппы ВТКі.

Медиана (диапазон)	Воздействие ВТКі		
	Ибрутиниб (n = 52)	Акалабрутиниб (n = 10)	Оба (n = 6)
Скорость трансдукции, %	56,7 (32,0 – 82,4)	65,0 (35,0 – 74,0)	58,5 (46,0 – 67,0)
Соотношение CD4/CD8	0,7 (0,04 – 3,7) ^a	0,6 (0,3 – 1,2)	1,0 (0,7 – 1,9)
CCR7+ Т-клетки, %	39,3 (2,6 – 86,4) ^a	42,7 (16,3 – 88,8)	49,5 (14,3 – 83,0)
CCR7- эффекторные Т-клетки + эффекторные Т-клетки памяти, %	60,6 (13,7 – 97,4) ^a	57,3 (11,1 – 83,8)	50,6 (17,0 – 85,7)
Соотношение (CCR7+ Т- клетки)/(CCR7- эффекторные Т-клетки + эффекторные Т-клетки памяти)	0,7 (0,03 – 6,3) ^a	0,8 (0,2 – 8,0)	1,2 (0,2 – 4,9)
Уровень IFN-γ, определенный путем совместного культивирования, пг/мл	6496,0 (424,0 – 2,0 × 10 ⁴)	5972,5 (2502,0 – 1,8 × 10 ⁴)	7985,5 (2709,0 – 1,2 × 10 ⁴)

^aНа основании доступных данных: ибрутиниб, n = 49

[0387] Высокие частоты ответа были достигнуты по морфологии МКЛ и подгруппам предшествующего лечения ВТКі. Таблица 27. Клиническую пользу от лечения КТЕ-Х19 наблюдали во всех подгруппах, определенных по морфологии МКЛ или предшествующему лечению ВТКі. У пациентов, ранее получавших ибрутиниб, наблюдалась тенденция к более высокому уровню текущего ответа через 6 месяцев. Таблица 27. CRS и неврологические явления в целом были сопоставимы по морфологии МКЛ и подгруппам предшествующего

лечения ВТКі. Таблица 28. Тенденцию к повышению частоты неврологических явлений степени тяжести ≥ 3 наблюдали у пациентов с небластоидной морфологией или ранее получавших ибрутиниб. Таблица 28.

[0388] Таблица 27. Частота ответа

	Морфология МКЛ			Воздействие ВТКі		
	Классическая форма (n = 35)	Бластоидная форма (n = 14)	Плеоморфная форма (n = 4)	Ибрутиниб (n = 45)	Акалабрутиниб (n = 9)	Оба (n = 6)
ORR, n (%)	32 (91) ¹	13 (93) ¹	4 (100) ¹	43 (96)	7 (78)	6 (100)
CR, n (%)	22 (63) ¹	9 (64) ¹	3 (75) ¹	30 (67)	4 (44)	6 (100)
Текущий ответ через 6 месяцев, n (%)	18 (51)	8 (57)	3 (75)	25 (56)	3 (33)	6 (100)
12-месячная OS, %(95% CI)	85,7 (69,0 – 93,8) ¹	71,4 (40,6 – 88,2) ¹	100,0 (NE – NE) ¹	82,0 (67,2 – 90,6)	77,8 (36,5 – 93,9)	100,0 (NE – NE)

¹Wang M, et al. *N Engl J Med.* 2020;382:1331–1342. CR, полный ответ; МКЛ, мантийноклесточная лимфома; NE, не оцененный; ORR, частота объективного ответа; OS, общая выживаемость

[0389] Таблица 28. Нежелательные явления

n (%)	Морфология МКЛ			Воздействие ВТКі		
	Классическая форма (n = 40)	Бластоидная форма (n = 17)	Плеоморфная форма (n = 4)	Ибрутиниб (n = 52)	Акалабрутиниб (n = 10)	Оба (n = 6)
CRS						
Любая степень тяжести	36 (90)	15 (88)	4 (100)	50 (96)	6 (60)	6 (100)
Степень тяжести ≥ 3	6 (15)	1 (6)	1 (25)	9 (17)	1 (10)	0
Неврологические явления						
Любая степень тяжести	25 (63)	11 (65)	3 (75)	33 (63)	4 (40)	6 (100)
Степень тяжести ≥ 3	15 (38)	3 (18)	2 (50)	16 (31)	1 (10)	4 (67)

[0390] Сравнения подгрупп проводили с использованием критерия Крускала-Уоллиса. Для сравнения групп использовали апостериорный критерий Данна. Фармакологический профиль, характеристики продукта и данные по безопасности представляли для всех 68 пациентов, получавших лечение КТЕ-Х19 (2×10^6 клеток/кг). Фармакологический и фармакодинамический профиль КТЕ-Х19 в подгруппах с морфологией МКЛ предполагает повышенную экспансию CAR Т-клеток и некоторые провоспалительные цитокины у пациентов с классической морфологией по сравнению с пациентами с бластоидной морфологией (Фиг. 12 и 13) или у пациентов, ранее получавших ибрутиниб по сравнению с акалабрутинибом в отдельности (Фиг. 14 и 15). Характеристики пациентов и продуктов до лечения в целом были сопоставимы для морфологий МКЛ и подгрупп с различными предшествующими видами терапии. У пациентов с бластоидной морфологией наблюдали снижение экспансии CAR Т-клеток, циркулирующих миелоидных цитокинов и хемокинов и частоты CRS степени тяжести ≥ 3 степени и неврологических явлений, в то время как клиническая эффективность была сопоставима с таковой у пациентов с классической морфологией. Тенденция к улучшению профиля безопасности у пациентов с бластоидной морфологией была соизмерима с более низкой пиковой экспансией CAR Т-клеток и снижением пиковых уровней цитокинов, ассоциированных с миелоидным воспалением. Пациенты, ранее получавшие лечение ибрутинибом, демонстрировали повышение экспансии CAR Т-клеток, циркулирующих воспалительных цитокинов и хемокинов и частоты неврологических явлений степени тяжести ≥ 3 ; а также повышенную частоту текущего ответа через 6 месяцев и ORR, сопоставимую с таковой у пациентов, ранее получавших акалабрутиниб в отдельности. У пациентов, ранее получавших акалабрутиниб, наблюдали снижение экспансии CAR Т-клеток и циркулирующих Т1-связанных цитокинов и хемокинов, что согласуется с улучшенным профилем безопасности.

ПРИМЕР 12

[0391] В этом примере описаны два вида терапии на основе Т-клеток с CAR к CD19, КТЕ-Х19, полученный в соответствии с Примером 5, и аксикабтаген цилолеуцел. Клетки метили флуоресцентно-конъюгированными антителами к CD3 (маркер всех типов Т-клеток), CD14, CD19 (маркер всех типов В-клеток), CD45 (маркер всех типов лейкоцитов) и CD56 (маркер активации и NK) и оценивали с помощью проточной цитометрии. Жизнеспособность клеток оценивали с использованием отрицательного окрашивания красителем для оценки жизнеспособности (SYTOX в ближней ИК-области). Нижний предел количественного определения (LLOQ) анализа составлял 0,2%, а для NK-клеток и моноцитов составлял 5%. Определяли процент NK-клеток (NK-клетки представляли собой CD45⁺, CD14⁻, CD3⁻ и CD56⁺; Т-клетки представляли собой CD45⁺, CD14⁻ и CD3⁻). Медианное процентное содержание NK-клеток из 23 партий аксикабтагена цилолеуцела и 97 партий КТЕ-Х19 составляло 1,9% (диапазон 0,8% – 3,2%) и 0,1% (диапазон 0,0% – 2,8%) соответственно. Медианное процентное содержание CD3⁻ клеточных примесей из тех же партий аксикабтагена цилолеуцела и КТЕ-Х19 составляло 2,4% (диапазон 0,9% – 4,6%) и 0,5% (диапазон 0,3% – 3,9%) соответственно. Результаты КТЕ-Х19 и аксикабтагена цилолеуцела в отношении жизнеспособности клеток составляли $\geq 72\%$ и $\geq 80\%$ соответственно; в отношении экспрессии CAR к CD19 составляли $\geq 24\%$ и $\geq 15\%$ соответственно; в отношении продуцирования IFN- γ составляли ≥ 190 пг/мл и ≥ 520 пг/мл соответственно; и в отношении процентного содержания CD3⁺ клеток составляли $\geq 90\%$ и $\geq 85\%$ соответственно.

ПРИМЕР 13

[0392] Были представлены дополнительные результаты пациентов, получавших 2×10^6 клеток КТЕ-Х19/кг в виде однократной инфузии в предыдущих примерах, включая Пример 2 и Пример 7. ORR по оценке IRRC составляла 92% (95% CI, 82 – 97), а частота CR составляла 67% (95% CI, 53 – 78). При медианном периоде последующего наблюдения 17,5 месяцев (диапазон 12,3 – 37,6) у 29 пациентов сохранялся текущий ответ. Частоты текущего ответа были в основном одинаковыми среди пациентов с характеристиками заболевания высокого риска. У первых 28 пациентов, получавших лечение, медианный период последующего наблюдения составлял 32,3 месяцев (диапазон 30,6 – 37,6). 39% пациентов сохраняли непрерывную ремиссию без дополнительной терапии. У всех включенных в исследование пациентов (N = 74) ORR составляла 84% (частота CR 59%). Медианы для DOR, PFS и OS не были достигнуты после медианного периода последующего наблюдения, составляющего 17,5 месяцев. **Таблица 29.** Частота текущего ответа была постоянной во всех группах с неблагоприятным прогнозом. **Фиг. 16.** При медианном периоде последующего наблюдения, составляющем 17,5 месяцев, исследование ZUMA-2 продолжало демонстрировать существенный и устойчивый клинический эффект терапии КТЕ-Х19 у пациентов с Р/Р МКЛ. Никаких новых сигналов безопасности во время дополнительного периода последующего наблюдения не отмечено. Никаких новых CRS или новых явлений степени тяжести 5 со времени предыдущих отчетов не отмечено. **Таблица 30.** Частоты АЕ снижались со временем. Терапия КТЕ-Х19 показала контролируемый профиль безопасности при расширенном периоде последующего наблюдения.

[0393] Таблица 29. Продолжительность ответа, выживаемость без прогрессирования и общая выживаемость.

	DOR		PFS		OS	
	Медиана (95% CI), месяцев	15-месячная частота (95% CI)	Медиана (95% CI), месяцев	15-месячная частота (95% CI)	Медиана (95% CI), месяцев	15-месячная частота (95% CI)
Подлежащие оценке пациенты (N = 60)	NR (13,6 – NE) ^a	58,6 (42,5 – 71,7) ^a	NR (9,6 – NE)	59,2 (44,6 – 71,2)	NR (NE, NE)	76,0 (62,8, 85,1)
Пациенты с CR (n = 40)	NR (14,4 – NE)	69,7 (49,3 – 83,2)	NR (15,3 – NE)	75,1 (56,8 – 86,5)	NR (NE, NE)	91,7 (76,2, 97,2)
Пациенты с PR (n = 15)	2,2 (1,4 – 4,3)	24,1 (5,9 – 48,9)	3,1 (2,3 – 5,2)	24,1 (5,9 – 48,9)	12,6 (3,3, NE)	46,7 (21,2, 68,7)

^a Из 55 всех пациентов, получавших ответ.

[0394] Таблица 30. Анализ безопасности

	Все пациенты, получившие лечение (N = 68)			
	В 3 месяца/через 3 месяца после инфузии		В 6 месяцев/через 6 месяцев после инфузии	
	Любая степень тяжести	Степень тяжести ≥ 3	Любая степень тяжести	Степень тяжести ≥ 3
АЕ, n (%)^a				
Любое АЕ	55 (81)	33 (48)	49 (72)	25 (37)
Анемия	22 (32)	9 (13)	13 (19)	4 (6)
Нейтропения	20 (29)	16 (24)	14 (21)	11 (16)
Тромбоцитопения	20 (29)	14 (21)	14 (21)	9 (13)
Снижение содержания лейкоцитов в крови	16 (24)	9 (13)	12 (18)	6 (9)
Усталость	10 (15)	0	10 (15)	0
Пневмомония	9 (13)	5 (7)	6 (9)	4 (6)
Кашель	8 (12)	0	7 (10)	0
Гипогаммаглобулинемия	8 (12)	0	7 (10)	0
Инфекция верхних дыхательных путей	7 (10)	2 (3)	5 (7)	1 (1)

^a Включает АЕ любой степени тяжести, встречающиеся у $\geq 10\%$ пациентов.

[0395] Из 57 пациентов, подлежащих оценке эффективности с доступными данными, 48 (84%) имели В-клетки, обнаружимые на исходном уровне. Среди пациентов с текущим ответом через 12 месяцев более чем у 50% пациентов, подлежащих оценке, обнаруживались В-клетки и маркированные геном CAR Т-клетки через 6, 12, 15 и 24 месяца. Среди пациентов с текущим ответом через 12 месяцев процентная доля пациентов с маркированными генами CAR Т-клетками, как правило, со временем снижалась: 100%, 93%, 82%, 89%, 80% и 56% через 3, 6, 12, 15, 18 и 24 месяца соответственно. У пациентов, которые не отвечали на КТЕ-Х19, наблюдали снижение пиковой экспансии CAR Т-клеток. Пиковая экспансия CAR Т-клеток повышалась у пациентов с текущим ответом через 12 месяцев или у пациентов с рецидивом через 12 месяцев по сравнению с пациентами, не отвечающими на лечение. Повышенные уровни CAR Т-клеток изначально наблюдали у пациентов, у которых позже возник рецидив, что, возможно, указывает на альтернативные механизмы вторичной неэффективности лечения. Пиковые уровни CAR Т-клеток, нормализованные в зависимости от исходной опухолевой массы и текущего ответа при прекращении сбора данных в 12 месяцев, показаны на Фиг. 17А (INV) и 17В (CEN).

[0396] Все публикации, патенты, патентные заявки и другие документы, процитированные в настоящей заявке, настоящим включены в качестве ссылки в полном объеме для всех целей в той же степени, как если бы каждая отдельная публикация, патент, заявка на патент или другой документ были индивидуально указаны для включения посредством ссылки для всех целей.

[0397] Хотя были проиллюстрированы и описаны различные конкретные варианты осуществления, следует понимать, что могут быть внесены различные изменения, без отклонения от сущности и объема настоящего изобретения.

Формула изобретения

1. Способ лечения мантийноклеточной лимфомы (МКЛ) или В-клеточного ОЛЛ у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества Т-клеточного продукта, содержащего аутологичные Т-клетки, экспрессирующие химерный антигенный рецептор (CAR), направленный против CD19.
2. Способ по п. 1, причем указанные МКЛ и В-клеточный ОЛЛ представляют собой рецидивирующие или рефрактерные МКЛ и В-клеточный ОЛЛ, необязательно при этом МКЛ представляет собой классический, бластоидный и плеоморфный вариант МКЛ.
3. Способ по любому из пп. 1 и 2, причем указанные МКЛ и В-клеточный ОЛЛ являются рефрактерными в отношении или рецидивирующими после одного или нескольких из химиотерапии, лучевой терапии, иммунотерапии (в том числе Т-клеточной терапии и/или лечения антителом или конъюгатом антитело-лекарственное средство), трансплантации аутологичных стволовых клеток или любой их комбинации.
4. Способ по любому из пп. 1–3, причем указанный субъект получал 1–5 предшествующих средств лечения, необязательно при этом по меньшей мере одно из предшествующих средств лечения выбрано из аутологичной SCT, антитела к CD20, химиотерапии, включающей антрациклин или бендамустин, и/или ингибитора тирозинкиназы Брутона (ВТКі).
5. Способ по п. 4, причем указанная ВТКі представляет собой ибрутиниб или акалабрутиниб.
6. Способ по любому из пп. 1-5, причем указанный Р/Р В-клеточный ОЛЛ определяется в виде рефрактерного к терапии первой линии (т. е. первичного рефрактерного), рецидивирующего через ≤ 12 месяцев после первой ремиссии, рецидивирующего или рефрактерного после ≥ 2 предшествующих линий системной терапии или рецидивирующего после аллогенной трансплантации стволовых клеток (SCT), при этом необязательно субъект должен иметь $\geq 5\%$ бластов костного мозга, оценку общего состояния согласно Восточной объединенной онкологической группе 0 или 1, и/или адекватную почечную, печеночную и сердечную функцию.
7. Способ по любому из пп. 1–6, причем, если указанный субъект с В-клеточным ОЛЛ ранее получал блинатумаб, субъект должен иметь лейкозные бласты с экспрессией CD19 $\geq 90\%$.
8. Способ по любому из пп. 1–7, причем указанный субъект получает переходную терапию после лейкофереза и перед кондиционирующей/лимфодеплецирующей химиотерапией.
9. Способ по любому из пп. 1–8, причем указанный субъект с МКЛ получает схему лимфодеплецирующей химиотерапии, включающей циклофосфамид в дозе 500 мг/м² внутривенно и флударабин в дозе 30 мг/м²

внутривенно, при этом оба средства вводятся в каждый из дней, предшествующих пятому, четвертому и третьему дням до инфузии Т-клеток.

10. Способ по любому из пп. 1–9, причем указанный субъект с В-клеточным ОЛЛ получает лимфодеплецирующую схему внутривенного (IV) введения флударабина в дозе 25 мг/м²/день в каждый из дней, предшествующих четвертому, третьему, второму дням до инфузии Т-клеток, и IV введения циклофосфида в дозе 900 мг/м²/день в день, предшествующий второму дню до инфузии.
11. Способ по любому из пп. 8–10, причем указанная переходная терапия МКЛ выбрана из дексаметазона (например, РО или IV введение в дозе 20–40 мг или эквивалента один раз в день в течение 1–4 дней); метилпреднизолона, ибрутиниба (например, РО введение в дозе 560 мг один раз в день) и/или акалабрутиниба (например, РО введение в дозе 100 мг два раза в день); иммуномодулятора; R-СНОР, бендамустина; алкилирующих средств, и/или средств на основе платины, причем указанная переходная терапия вводится после лейкафереза и завершается, например, за 5 дней или меньше до кондиционирующей химиотерапии.
12. Способ по любому из пп. 8–10, причем указанный субъект с В-клеточной ОЛЛ может принимать любую одну или несколько из следующих схем переходной химиотерапии:

Предварительно определенные схемы переходной химиотерапии	
Аттенуированная схема VAD	Винкристин нелипосомальный (IV введение в дозе 1–2 мг раз в неделю) или липосомальный (IV введение в дозе 2,25 мг/м ² раз в неделю), и дексаметазон (IV или РО введение в дозе 20–40 мг один раз в день × 3–4 дня в неделю). Необязательно доксорубицин, IV введение в дозе 50 мг/м ² × 1 (только первая неделя)
Меркаптопурин (6-MP)	В дозе 50–75 мг/м ² /день перорально (перед сном на голодный желудок для улучшения всасывания)
Гидроксимочевина	Дозы подбирали от 15 до 50 мг/кг/день (округляя до ближайшей дозы в виде 500 мг капсулы, 1 раз в сутки внутрь непрерывно)
DOMP	Дексаметазон, РО (или IV) введение в дозе 6 мг/м ² /день, разделенная доза, BID, дни 1–5, винкристин, IV введение в дозе 1,5 мг/м ² (максимальная доза 2 мг) в день 1, метотрексат, РО введение, 20 мг/м ² раз в неделю, 6-MP, РО введение в дозе 50–75 мг/м ² /день один раз в день

Аттенуированная схема FLAG/FLAG- IDA	Флударабин, IV введение в дозе 30 мг/м ² , дни 1–2, цитарабин, IV введение в дозе 2 г/м ² , дни 1–2, G-CSF, SC или IV введение в дозе 5 мкг/кг, начинается в день 3 и может продолжаться до дня, предшествующего началу кондиционирующей химиотерапии. С идарубицином или без него, IV введение в дозе 6 мг/м ² , дни 1–2
Схема Mini-hyper CVAD (курсы А и/или В)	Курс А: циклофосфамид в дозе 150 мг/м ² , каждые 12 ч × 3 дня, дексаметазон, IV или PO введение в дозе 20 мг/день, один раз в день, дни 1–4 и 11–14, винкристин, IV введение в дозе 2 мг × 1 Курс В: метотрексат, IV введение в дозе 250 мг/м ² в течение 24 часов в день 1, цитарабин, IV введение в дозе 0,5г/м ² каждые 12 часов × 4 дозы, дни 2 и 3

13. Способ по любому из пп. 1–12, причем указанный Т-клеточный продукт содержит CD4+ и CD8+ CAR Т-клетки, которые получают из мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC) посредством положительного обогащения и последующей частичной или полной деплеции циркулирующих раковых клеток.
14. Способ по п. 13, причем указанные PBMC обогащают Т-клетками посредством положительного отбора в отношении CD4+ и CD8+ клеток, активированных антителами к CD3 и CD28 в присутствии IL-2, а затем трансдуцируют неспособным к репликации вирусным вектором, содержащим FMC63-28Z CAR, химерный антигенный рецептор (CAR), содержащий одноцепочечный варибельный фрагмент (scFv) к CD19, домены CD28 и CD3-дзета.
15. Способ по любому из пп. 13 и 14, причем указанный Т-клеточный продукт содержит меньше раковых клеток, чем Т-клеточной продукт, содержащий Т-клетки из продукта лейкофереза, который не был положительно отобран в отношении CD4+ и CD8+ Т-клеток.
16. Способ по любому из пп. 13–15, причем указанный Т-клеточный продукт характеризуется другими превосходящими свойствами продукта по сравнению с Т-клеточным продуктом, содержащим Т-клетки из продукта лейкофереза, который не был положительно отобран/обогащен в отношении CD4+ и CD8+ Т-клеток.
17. Способ по п. 16, причем указанные превосходящие свойства продукта выбирали из повышенного процентного содержания CDRA45+CCR7+ (подобных наивным) Т-клеток, сниженного процентного содержания дифференцированных Т-клеток, повышенного процентного содержания CD3+ клеток, сниженного продуцирования IFN-гамма, сниженного процентного содержания CD3- клеток.

18. Способ по любому из пп. 1–17, причем указанному субъекту с МКЛ вводят одну или несколько доз $1,8 \times 10^6$, $1,9 \times 10^6$ или 2×10^6 CAR положительных жизнеспособных Т-клеток на кг массы тела, причем максимум составляет 2×10^8 CAR положительных жизнеспособных Т-клеток (для пациентов с массой тела 100 кг и выше), а указанному субъекту с В-клеточным ОЛЛ вводят $0,5 \times 10^6$, 1×10^6 или 2×10^6 CAR положительных жизнеспособных Т-клеток на кг массы тела, причем максимум составляет 2×10^8 CAR положительных жизнеспособных Т-клеток (для пациентов с массой тела 100 кг и выше).
19. Способ по любому из пп. 1–17, причем если указанный субъект достиг полного ответа на первую инфузию, то субъект может получать вторую инфузию Т-клеток с CAR к CD19, если прогрессирование происходит после > 3 месяцев ремиссии, при условии, что экспрессия CD19 была сохранена, а нейтрализующие антитела против CAR не предполагаются, при этом ответ оценивают с использованием классификации Lugano.
20. Способ по любому из пп. 1–19, причем за указанным субъектом наблюдают на предмет признаков и симптомов синдрома высвобождения цитокинов (CRS) и неврологической токсичности после введения Т-клеток.
21. Способ по п. 20, причем за указанным субъектом наблюдают один раз в день в течение по меньшей мере семи дней, предпочтительно в течение четырех недель после инфузии, на предмет признаков и симптомов CRS и неврологической токсичности.
22. Способ по любому из пп. 20 и 21, причем указанные признаки или симптомы, ассоциированные с CRS, включают лихорадку, озноб, усталость, тахикардию, тошноту, гипоксию и гипотензию, а признаки или симптомы, ассоциированные с неврологическими явлениями, включают энцефалопатию, судороги, изменения уровня осознанности, расстройства речи, тремор и спутанность сознания.
23. Способ по любому из пп. 20–22, причем указанный синдром высвобождения цитокинов у субъектов с МКЛ лечат в соответствии со следующим протоколом:

Степень тяжести CRS	Тоцилизумаб	Кортикостероиды
Степень тяжести 1 Симптомы требуют только симптоматического лечения (например, лихорадка, тошнота, усталость, головная боль, миалгия, недомогание).	В случае отсутствия улучшения через 24 часа введите тоцилизумаб в дозе 8 мг/кг внутривенно в течение 1 часа (не превышая 800 мг).	Неприменимо.

<p>Степень тяжести 2</p> <p>Симптомы требуют умеренного вмешательства и отвечают на умеренное вмешательство.</p> <p>Потребность в кислороде менее 40% FiO₂ или гипотензия, поддающаяся введению жидкостей или одного вазопрессора в низкой дозе, или органная токсичность степени тяжести 2.</p>	<p>Введите тоцилизумаб в дозе 8 мг/кг внутривенно в течение 1 часа (не превышая 800 мг).</p> <p>Повторяйте введение тоцилизумаба каждые 8 часов при необходимости, если нет ответа на внутривенное введение жидкостей или усиление подачи кислорода. Не превышайте максимума 3 доз в течение 24-часового периода; максимума 4 доз, если клиническое улучшение признаков и симптомов CRS отсутствует.</p> <p>При улучшении прекратите введение тоцилизумаба.</p>	<p>Осуществляйте лечение как при степени тяжести 3 при отсутствии улучшения в течение 24 часов после начала введения тоцилизумаба.</p> <p>При улучшении уменьшите дозу кортикостероидов.</p>
<p>Степень тяжести 3</p> <p>Симптомы требуют агрессивного вмешательства и отвечают на агрессивное вмешательство.</p> <p>Потребность в кислороде больше или равна 40% FiO₂ или гипотензия, требующая высокой дозы или нескольких вазопрессоров, или органная токсичность степени тяжести 3, или трансаминит степени тяжести 4.</p>	<p>Как для степени тяжести 2</p>	<p>Вводите метилпреднизолон в дозе 1 мг/кг внутривенно два раза в день или эквивалентную дозу дексаметазона (например, 10 мг внутривенно каждые 6 часов) до достижения степени тяжести 1, затем уменьшите дозу кортикостероидов.</p> <p>При улучшении осуществляйте лечение, как описано для степени тяжести 2.</p> <p>В случае отсутствия улучшения осуществляйте лечение, как описано для степени тяжести 4.</p>
<p>Степень тяжести 4</p> <p>Опасные для жизни симптомы.</p> <p>Потребности в дыхательной поддержке аппаратом ИВЛ или непрерывном вено-венозном гемодиализе (CVVHD), или органная токсичность степени тяжести 4 (за исключением трансаминита).</p>	<p>Как для степени тяжести 2</p>	<p>Вводите метилпреднизолон в дозе 1000 мг/день внутривенно в течение 3 дней.</p> <p>При улучшении уменьшите дозу кортикостероидов и осуществляйте лечение, как описано для степени тяжести 3.</p>

		При отсутствии улучшения рассмотрите альтернативные иммунодепрессанты.
--	--	--

24. Способ по любому из пп. 20–23, причем указанную неврологическую токсичность у субъектов с МКЛ лечат в соответствии со следующим протоколом:

Оценка степени тяжести	Сопутствующий CRS	Сопутствующий CRS отсутствует
Степень тяжести 2	<p>Введите тоцилизумаб по п. 15 для лечения CRS степени тяжести 2.</p> <p>В случае отсутствия улучшения в течение 24 часов после начала лечения тоцилизумабом вводите дексаметазон в дозе 10 мг внутривенно каждые 6 часов до тех пор, пока степень тяжести явления не станет равной 1 или меньше, затем уменьшите дозу кортикостероидов.</p> <p>Если улучшение все еще отсутствует, осуществляйте лечение, как описано для степени тяжести 3.</p>	<p>Вводите дексаметазон в дозе 10 мг внутривенно каждые 6 часов до тех пор, пока степень тяжести явления не станет равной 1 или меньше, затем уменьшите дозу кортикостероидов.</p>
	<p>Рассмотрите неседативные противосудорожные лекарственные препараты (например, леветирацетам) для профилактики судорог.</p>	
Степень тяжести 3	<p>Введите тоцилизумаб по п. 15 для лечения CRS степени тяжести 2.</p> <p>Кроме того, вводите дексаметазон в дозе 10 мг внутривенно с первой дозой тоцилизумаба и повторными дозами дексаметазона каждые 6 часов. Продолжите применение дексаметазона до тех пор, пока степень тяжести явления не станет равной 1 или меньше, затем уменьшите дозу кортикостероидов.</p> <p>При улучшении прекратите введение тоцилизумаба и осуществляйте лечение, как описано для степени тяжести 2.</p> <p>Если улучшение все еще отсутствует, осуществляйте лечение, как описано для степени тяжести 4 (ниже).</p>	<p>Вводите дексаметазон в дозе 10 мг внутривенно каждые 6 часов.</p> <p>Продолжите применение дексаметазона до тех пор, пока степень тяжести явления не станет равной 1 или меньше, затем уменьшите дозу кортикостероидов.</p> <p>В случае отсутствия улучшения осуществляйте лечение, как описано для степени тяжести 4.</p>
	<p>Рассмотрите неседативные противосудорожные лекарственные препараты (например, леветирацетам) для профилактики судорог.</p>	

Степень тяжести 4	<p>Введите тоцилизумаб по п. 15 для лечения CRS степени тяжести 2.</p> <p>Введите метилпреднизолон в дозе 1000 мг/день внутривенно с первой дозой тоцилизумаба и продолжайте введение метилпреднизолона в дозе 1000 мг/день внутривенно еще в течение 2 дней.</p> <p>При улучшении осуществляйте лечение, как описано для степени тяжести 3.</p> <p>При отсутствии улучшения рассмотрите альтернативные иммунодепрессанты.</p>	<p>Вводите метилпреднизолон в дозе 1000 мг/день внутривенно в течение 3 дней.</p> <p>При улучшении осуществляйте лечение, как описано для степени тяжести 3.</p> <p>При отсутствии улучшения рассмотрите альтернативные иммунодепрессанты.</p>
	<p>Рассмотрите неседативные противосудорожные лекарственные препараты (например, леветирацетам) для профилактики судорог.</p>	

25. Способ по любому из пп. 1–24, причем указанный субъект с МКЛ представляет собой пациента с высоким риском, как определено по индексу пролиферации опухоли Ki-67 $\geq 50\%$ и/или наличие мутации TP53.
26. Способ по любому из пп. 20–22, причем указанный CRS у субъекта с В-клеточным ОЛЛ лечат в соответствии со следующим протоколом:

Степень тяжести CRS	Тоцилизумаб	Кортикостероиды
<p>Степень тяжести 1</p> <p>Симптомы требуют только симптоматического лечения (например, лихорадка, тошнота, усталость, головная боль, миалгия, недомогание).</p>	<p>В случае отсутствия улучшения через 24 часа введите тоцилизумаб в дозе 8 мг/кг внутривенно в течение 1 часа (не превышая 800 мг).</p>	<p>Неприменимо.</p>
<p>Степень тяжести 2</p> <p>Симптомы требуют умеренного вмешательства и отвечают на умеренное вмешательство.</p> <p>Потребность в кислороде менее 40% FiO₂ или гипотензия, поддающаяся введению жидкостей или низкой дозы одного вазопрессора, или органная токсичность степени тяжести 2.</p>	<p>Введите тоцилизумаб в дозе 8 мг/кг внутривенно в течение 1 часа (не превышая 800 мг).</p> <p>Повторяйте введение тоцилизумаба каждые 8 часов при необходимости, если нет ответа на внутривенное введение жидкостей или усиление подачи кислорода. Не превышайте максимума 3 доз в течение 24-часового периода; максимума 4 доз, если клиническое улучшение признаков и симптомов CRS отсутствует.</p> <p>При улучшении прекратите введение тоцилизумаба.</p>	<p>Осуществляйте лечение как при степени тяжести 3 при отсутствии улучшения в течение 24 часов после начала введения тоцилизумаба.</p> <p>При улучшении уменьшите дозу кортикостероидов.</p>

<p>Степень тяжести 3</p> <p>Симптомы требуют агрессивного вмешательства и отвечают на агрессивное вмешательство.</p> <p>Потребность в кислороде больше или равна 40% FiO₂ или гипотензия, требующая высокой дозы или нескольких вазопрессоров, или органная токсичность степени тяжести 3, или трансаминит степени тяжести 4.</p>	<p>Как для степени тяжести 2</p>	<p>Вводите метилпреднизолон в дозе 1 мг/кг внутривенно два раза в день или эквивалентную дозу дексаметазона (например, 10 мг внутривенно каждые 6 часов) до достижения степени тяжести 1, затем уменьшите дозу кортикостероидов.</p> <p>При улучшении осуществляйте лечение, как описано для степени тяжести 2.</p> <p>В случае отсутствия улучшения осуществляйте лечение, как описано для степени тяжести 4.</p>
<p>Степень тяжести 4</p> <p>Опасные для жизни симптомы.</p> <p>Потребности в дыхательной поддержке аппаратом ИВЛ или непрерывном вено-венозном гемодиализе (CVVHD), или органная токсичность степени тяжести 4 (за исключением трансаминита).</p>	<p>Как для степени тяжести 2</p>	<p>Вводите метилпреднизолон в дозе 1000 мг/день внутривенно в течение 3 дней.</p> <p>При улучшении уменьшите дозу кортикостероидов и осуществляйте лечение, как описано для степени тяжести 3.</p> <p>При отсутствии улучшения рассмотрите альтернативные иммунодепрессанты.</p>

27. Способ по любому из пп. 20–22 и 26, причем указанную неврологическую токсичность у субъекта с В-клеточным ОЛЛ лечат в соответствии с одним из следующих двух протоколов:

Степень тяжести NE	Исходные рекомендации по лечению	Измененные рекомендации по лечению
-----------------------	----------------------------------	------------------------------------

<p>Степень тяжести 1</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Поддерживающее лечение ● Неврологическое обследование и дополнительное обследование по клиническим показаниям 	<ul style="list-style-type: none"> ● Поддерживающее лечение ● Тщательно наблюдайте за неврологическим статусом ● Рассмотрите профилактические противоэпилептические средства
<p>Степень тяжести 2</p>	<p><u>Поддерживающее лечение и оценка</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ● Неврологическое обследование, МРТ головного мозга и анализ СМЖ; рассмотрите ЭЭГ при наличии клинических показаний ● Рассмотрите профилактические противоэпилептические средства 	<p><u>Поддерживающее лечение и оценка</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ● Непрерывная кардиотелеметрия и пульсовая оксиметрия при наличии клинических показаний ● Последовательные неврологические обследования включают фундоскопию и оценку по шкале комы Глазго, МРТ головного мозга, анализ СМЖ, ЭЭГ; рассмотрите консультацию невропатолога ● Введите противоэпилептические средства пациентам с судорогами
	<p><u>Тоцилизумаб</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ● Рассмотрите введение тоцилизумаба в дозе 8 мг/кг IV в течение 1 часа (не превышайте 800 мг) для пациентов с сопутствующими нарушениями (например, CRS степени тяжести ≥ 2) 	<p><u>Тоцилизумаб</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ● Для пациентов с сопутствующим CRS, введите тоцилизумаб в дозе 8 мг/кг IV в течение 1 часа (не превышая 800 мг); повторяйте каждые 4–6 часов по мере необходимости, при отсутствии ответа на внутривенное введение жидкостей или усиление подачи кислорода, максимум до 3 доз в течение 24 часов ● Прекратите введение тоцилизумаба при улучшении состояния пациента
	<p><u>Кортикостероиды</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ● н.п. 	<p><u>Кортикостероиды</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ● Для пациентов без сопутствующего CRS вводите дексаметазон в дозе 10 мг IV каждые 6 часов

		<ul style="list-style-type: none"> • Для пациентов с сопутствующим CRS, при отсутствии улучшения в течение 24 часов после начала введения тоцилизумаба, вводите дексаметазон в дозе 10 мг IV каждые 6 часов • Уменьшите дозу кортикостероидов при улучшении состояния пациента
Степень тяжести 3	<u>Поддерживающее лечение и оценка</u> <ul style="list-style-type: none"> • Как для степени тяжести 2 • Наблюдайте за пациентом с помощью непрерывной кардиотелеметрии и пульсовой оксиметрии 	<u>Поддерживающее лечение и оценка</u> <ul style="list-style-type: none"> • Осуществляйте лечение в подлежащем мониторингу отделении или ОРИТ
	<u>Тоцилизумаб</u> <ul style="list-style-type: none"> • Рассмотрите тоцилизумаб в дозе 8 мг/кг IV течение 1 часа (не допускается превышение 800 мг); повторяйте каждые 4–6 часов, если симптомы не стабилизируются или не улучшаются 	<u>Тоцилизумаб</u> <ul style="list-style-type: none"> • Как для степени тяжести 2 • Прекратите введение тоцилизумаба при улучшении состояния пациента
	<u>Кортикостероиды</u> <ul style="list-style-type: none"> • Рассмотрите кортикостероиды (например, дексаметазон в дозе 10 мг IV каждые 6 часов или метилпреднизолон в дозе 1 мг/кг BID) в случае ухудшения симптомов, несмотря на введение тоцилизумаба 	<u>Кортикостероиды</u> <ul style="list-style-type: none"> • Вводите дексаметазон в дозе 10 мг IV каждые 6 часов • Уменьшите дозу кортикостероидов при улучшении состояния пациента
Степень тяжести 4	<u>Поддерживающее лечение и оценка</u> <ul style="list-style-type: none"> • Как для степени тяжести 2 • Наблюдайте за пациентом с помощью непрерывной кардиотелеметрии и пульсовой оксиметрии 	<u>Поддерживающее лечение и оценка</u> <ul style="list-style-type: none"> • Как для степени тяжести 3 • Может потребоваться искусственная вентиляция легких • Введите иммунодепрессанты, если состояние пациента не улучшается
	<u>Тоцилизумаб</u> <ul style="list-style-type: none"> • Введите тоцилизумаб, как описано для степени тяжести 3, если ранее его не вводили 	<u>Тоцилизумаб</u> <ul style="list-style-type: none"> • Как для степени тяжести 2
	<u>Кортикостероиды</u>	<u>Кортикостероиды</u>

	<ul style="list-style-type: none"> • Вводите кортикостероиды (например, метилпреднизолон в дозе 1 г/день × 3 дня, затем в дозе 250 мг BID × 2 дня, затем в дозе 125 мг BID × 2 дня, затем в дозе 60 мг BID × 2 дня) 	<ul style="list-style-type: none"> • Вводите высокодозовые кортикостероиды (например, метилпреднизон 1 г/день × 3 дня) • Уменьшите дозу кортикостероидов при улучшении состояния пациента
--	--	---

28. Способ по любому из пп. 1–27, причем указанный субъект с В-клеточной ОЛЛ может принимать любую одну или несколько из следующих схем переходной химиотерапии:

Предварительно определенные схемы переходной химиотерапии	
Аттенуированная схема VAD	Винкристин нелипосомальный (IV введение в дозе 1–2 мг раз в неделю) или липосомальный (IV введение в дозе 2,25 мг/м ² раз в неделю), и дексаметазон (IV или PO введение в дозе 20–40 мг один раз в день × 3–4 дня в неделю). Необязательно доксорубицин, IV введение в дозе 50 мг/м ² × 1 (только первая неделя)
Меркаптопурин (6-MP)	В дозе 50–75 мг/м ² /день перорально (перед сном на голодный желудок для улучшения всасывания)
Гидроксимочевина	Дозы подбирали от 15 до 50 мг/кг/день (округляя до ближайшей дозы в виде 500 мг капсулы, 1 раз в сутки внутрь непрерывно)
DOMP	Дексаметазон, PO (или IV) введение в дозе 6 мг/м ² /день, разделенная доза, BID, дни 1–5, винкристин, IV введение в дозе 1,5 мг/м ² (максимальная доза 2 мг) в день 1, метотрексат, PO введение, 20 мг/м ² раз в неделю, 6-MP, PO введение в дозе 50–75 мг/м ² /день один раз в день
Аттенуированная схема FLAG/FLAG-IDA	Флударабин, IV введение в дозе 30 мг/м ² , дни 1–2, цитарабин, IV введение в дозе 2 г/м ² , дни 1–2, G-CSF, SC или IV введение в дозе 5 мкг/кг, начинается в день 3 и может продолжаться до дня, предшествующего началу кондиционирующей химиотерапии. С идарубицином или без него, IV введение в дозе 6 мг/м ² , дни 1–2

Схема Mini-hyper CVAD (курсы А и/или В)	<p>Курс А: циклофосфамид в дозе 150 мг/м², каждые 12 ч × 3 дня, дексаметазон, IV или PO введение в дозе 20 мг/день, один раз в день, дни 1–4 и 11–14, винкрестин, IV введение в дозе 2 мг × 1</p> <p>Курс В: метотрексат, IV введение в дозе 250 мг/м² в течение 24 часов в день 1, цитарабин, IV введение в дозе 0,5г/м² каждые 12 часов × 4 дозы, дни 2 и 3</p>
--	--

29. Аутологичные Т-клетки, экспрессирующие CAR к CD19, для применения в способе лечения лимфомы из клеток мантийной зоны (МКЛ) или В-клеточного ОЛЛ по любому из пп. 1–28.
30. Применение аутологичных Т-клеток, экспрессирующих CAR к CD19, при получения лекарственного препарата для лечения лимфомы из клеток мантийной зоны (МКЛ) или В-клеточного ОЛЛ по любому из пп. 1–28.
31. Способ прогнозирования:
- (i) объективного ответа субъекта на лечение CAR Т-клетками (необязательно согласно способу по любому из пп. 1–28), включающий измерение уровней пиков CAR Т-клеток и их сравнение с эталонным стандартом, при этом объективный ответ положительно ассоциирован с пиковыми уровнями CAR Т-клеток, при этом объективный ответ включает как полный ответ, так и частичный ответ, и при этом все ответы оценивают с использованием классификации Lugano.
 - (ii) минимального остаточного заболевания (например, на неделе 4) в ответ на лечение CAR Т-клетками (необязательно согласно способу по любому из пп. 1–28), включающий измерение пиковых уровней CAR Т-клеток и их сравнение с эталонным стандартом, при этом отрицательное минимальное остаточное заболевание ассоциировано с более высокими пиковыми уровнями CAR Т-клеток.
 - (iii) CRS степени тяжести ≥ 3 и/или неврологических явлений (NE) степени тяжести ≥ 3 у субъекта, получающего лечение CAR Т-клетками (необязательно согласно способу по любому из пп. 1–28), включающий измерение пиковой экспансии CAR Т-клеток после лечения и сравнение уровней с эталонным значением, при этом чем более высокой является экспансия CAR Т-клеток, тем выше вероятность CRS степени тяжести ≥ 3 и/или NE степени тяжести ≥ 3 .
 - (iv) CRS степени тяжести ≥ 3 и/или NE степени тяжести ≥ 3 , включающий измерение пиковых уровней GM-CSF и IL-6 после лечения CAR Т-клетками (необязательно согласно способу по любому из пп. 1–28) и сравнение их с эталонным уровнем, при этом чем более высоким является пиковый уровень этих цитокинов, тем выше вероятность CRS степени тяжести ≥ 3 и/или NE степени тяжести ≥ 3 .

- (v) CRS степени тяжести ≥ 3 у субъекта, получающего лечение CAR Т-клетками (необязательно согласно способу по любому из пп. 1–28), включающий измерение пикового уровня ферритина в сыворотке после лечения CAR Т-клетками и сравнение его с эталонным уровнем, при этом более чем более высоким является пиковый уровень ферритина, тем выше вероятность CRS степени тяжести ≥ 3 .
- (vi) CRS степени тяжести ≥ 3 , включающий измерение пиковых уровней IL-2 и IFN-гамма в сыворотке крови после лечения CAR Т-клетками (необязательно по любому из пп. 1–28) и сравнение их с эталонным уровнем, при этом чем более высоким является пиковый уровень IL-2 и IFN-гамма, тем выше вероятность NE степени тяжести ≥ 3 .
- (vii) CRS степени тяжести ≥ 3 , включающий измерение уровней С-реактивного белка, ферритина, IL-6, IL-8 и/или молекулы адгезии сосудистого эндотелия (VCAM) в спинномозговой жидкости после лечения CAR Т-клетками (необязательно по любому из пп. 1–28) и сравнение их с эталонным уровнем, при этом чем более высокими являются уровни С-реактивного белка, ферритина, IL-6, IL-8 и/или молекулы адгезии сосудистого эндотелия (VCAM) в спинномозговой жидкости, тем выше вероятность NE степени тяжести ≥ 3 .
- (viii) CRS степени тяжести ≥ 3 после лечения CAR Т-клетками (необязательно согласно способу по любому из пп. 1–28), включающий измерение пиковых уровней IL-15, IL-2 R α , IL-6, TNF α , GM-CSF, ферритина, IL-10, IL-8, MIP-1a, MIP-1b, гранзима А, гранзима В и/или перфорина в сыворотке крови после лечения Т-клетками с CAR к CD19 и сравнение уровней с эталонными уровнями, при этом пиковые уровни IL-15, IL-2 R α , IL-6, TNF α , GM-CSF, ферритина, IL-10, IL-8, MIP-1a, MIP-1b, гранзима А, гранзима В и/или перфорина в сыворотке крови положительно ассоциированы с CRS степени тяжести ≥ 3 .
- (ix) CRS степени тяжести ≥ 3 после лечения CAR Т-клетками В-клеточного ОЛЛ (необязательно согласно способу по любому из пп. 1–28), включающий измерение пикового уровня IL-15 в сыворотке крови после лечения Т-клетками с CAR к CD19 и сравнение уровней с эталонными уровнями, при этом пиковый уровень IL-15 в сыворотке крови отрицательно ассоциирован с CRS степени тяжести ≥ 3 .
- (x) CRS степени тяжести ≥ 3 и/или NE степени тяжести ≥ 3 после лечения CAR Т-клетками (необязательно согласно способу по любому из пп. 1–28), включающий измерение пиковых уровней IL-6, TNF α , GM-CSF, IL-10, MIP-1b и гранзима В в сыворотке крови после лечения Т-клетками с CAR к CD19 и сравнение уровней с эталонными уровнями, при этом пиковые уровни IL-6, TNF α , GM-CSF, IL-10, MIP-1b и гранзима В в сыворотке крови положительно ассоциированы с CRS степени тяжести ≥ 3 и NE степени тяжести ≥ 3 .
- (xi) того, будет ли пациент MRD-отрицательным (чувствительность 10^{-5}) через 4 недели/один месяц после лечения CAR Т-клетками (необязательно по любому из пп. 1–28), включающий измерение пиковых уровней IFN- γ , IL-6 и/или IL-2 в сыворотке крови после лечения и сравнение уровня с

эталонным стандартом, при этом пиковые уровни IFN- γ , IL-6 и/или IL-2 в сыворотке крови положительно ассоциированы с MRD-отрицательным статусом через один месяц.

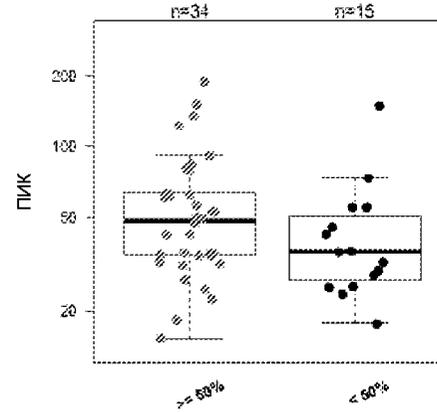
32. Способ по любому из пп. 20–24, 26, 27 и 30–31, причем указанные CRS и NE оценивают с помощью способа, описанного в Lee et al., Blood 2014; 124: 188–195.
33. Способ по п. 31, причем указанный эталонный стандарт устанавливают с помощью любого способа, обычно используемого в области биомаркеров, такого как квартильный анализ популяций пациентов с известными ответами, степенями токсичности и уровнями MRD.
34. Способ по п. 31, причем указанные уровни CAR Т-клеток измеряют с помощью копий генов CAR на микрограмм ДНК в крови.
35. Способ по любому из пп. 1–34, дополнительно включающий снижение указанных уровней/активности цитокинов, которые положительно ассоциированы с CRS степени тяжести ≥ 3 и/или NE степени тяжести ≥ 3 после инфузии CAR Т-клеток для снижения CRS степени тяжести ≥ 3 и/или NE степени тяжести ≥ 3 .
36. Способ повышения эффективности лечения CAR Т-клетками (например, классической, бластоидной и плеоморфной формы МКЛ и В-клеточного ОЛЛ), у субъекта, нуждающегося в этом, включающий манипулирование фенотипом Т-клеток с помощью Т-клеточного продукта, вводимого субъекту, необязательно при этом манипулирование включает повышение количества CD3+ Т-клеток, снижение количества/процентного содержания CD3- клеток, повышение количества/процентного содержания CDRA45+CCR7+ (подобных наивным) Т-клеток и/или снижение количества/процентного содержания дифференцированных клеток в Т-клеточном продукте во время производства, снижение уровней продуцирования IFN-гамма Т-клетками, при этом улучшение наблюдается по сравнению с эффективностью Т-клеточного продукта, который приготовлен без преднамеренного манипулирования количеством/процентным содержанием CDRA45+CCR7+ (подобных наивным) Т-клеток и/или количества/процентного содержания дифференцированных клеток в Т-клеточном продукте.

ПРОЛИФЕРАТИВНЫЕ

СТАТУС Ki-67

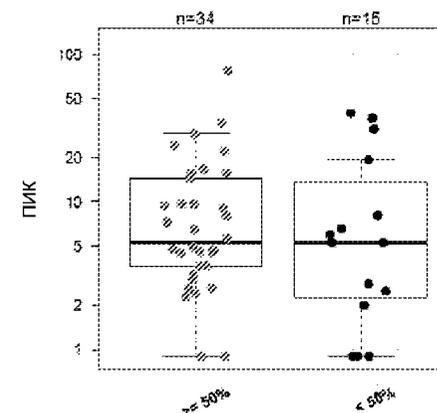
IL-15

Критерий Вилкоксона, $p = 0,6485$

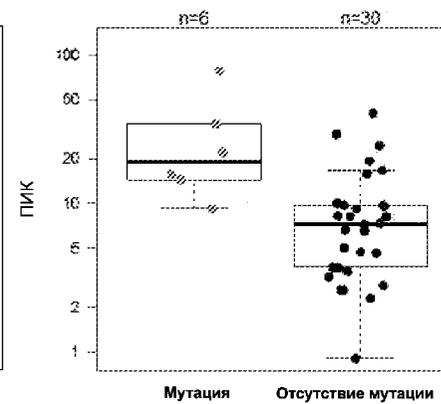
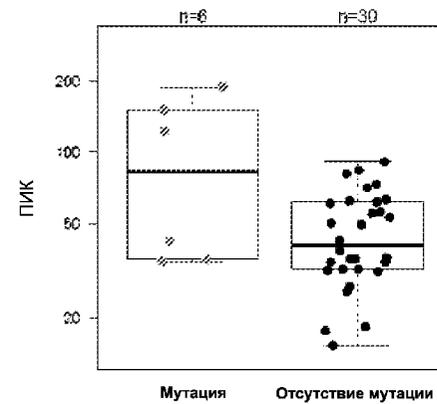


IL-2

Критерий Вилкоксона, $p = 0,1585$



МУТАЦИЯ TP53



ФИГ. 1А

ВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ

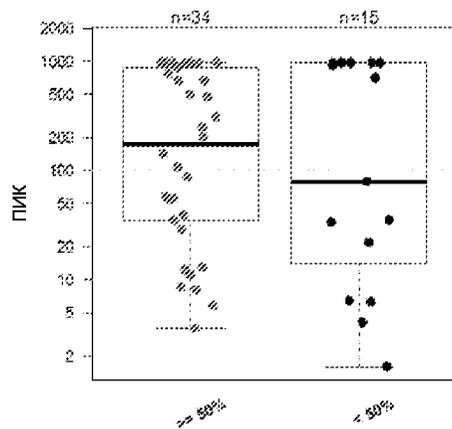
IL-6

Критерий Вилкоксона, $p = 0,8012$

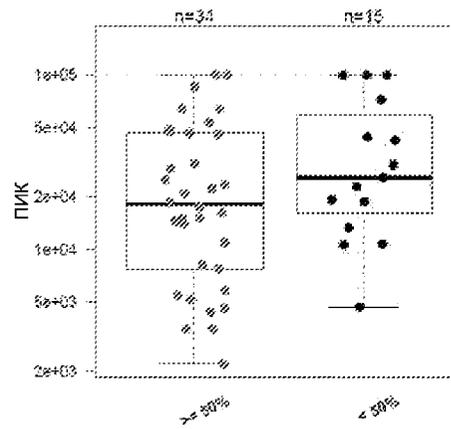
IL-2R α

Критерий Вилкоксона, $p = 0,1966$

СТАТУС Kі-67

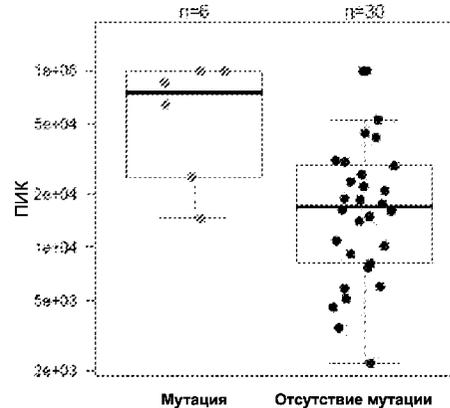
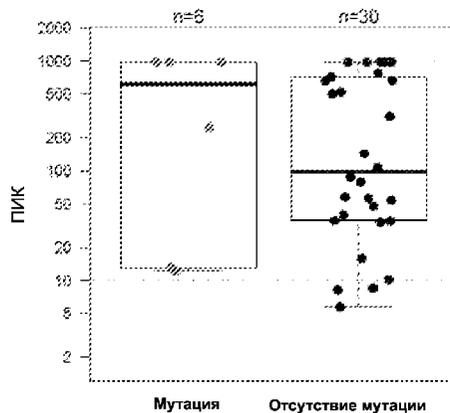


Критерий Вилкоксона, $p = 0,5073$



Критерий Вилкоксона, $p = 0,0164$

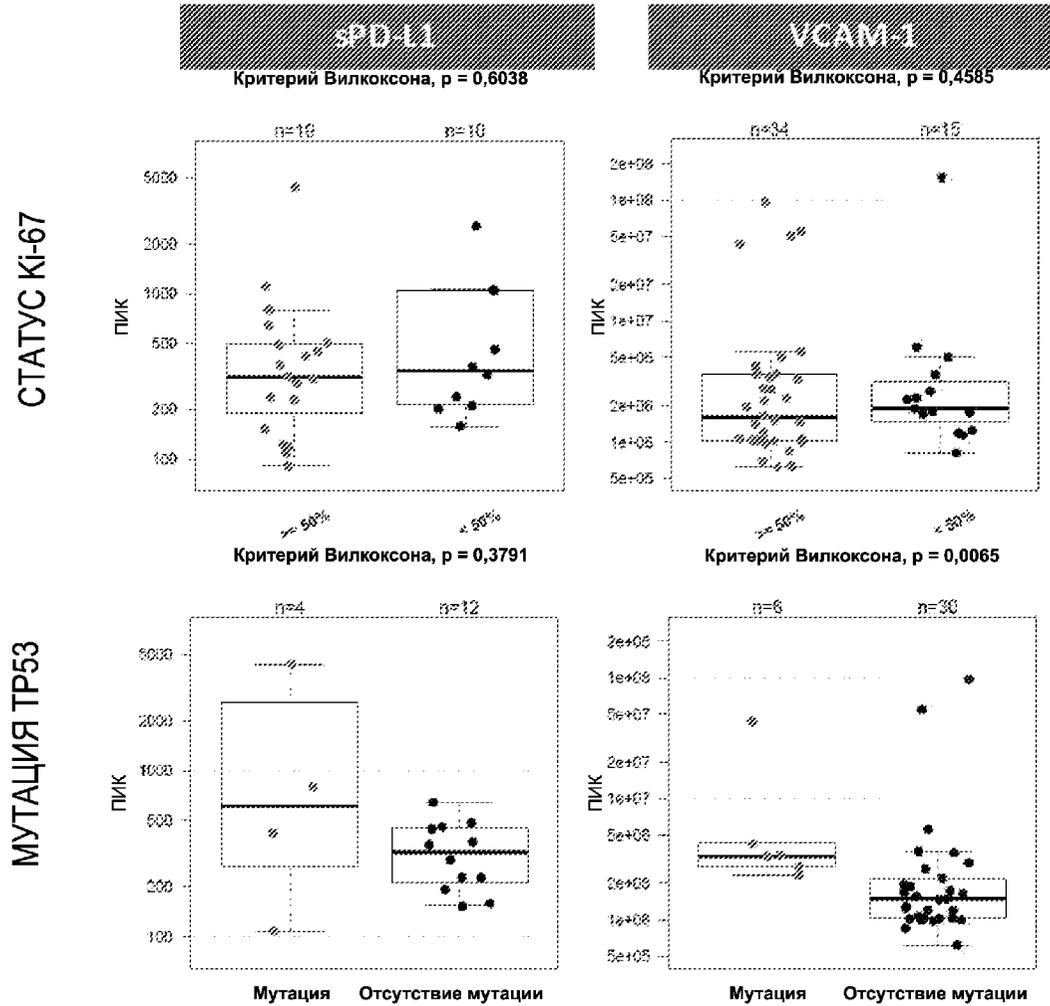
МУТАЦИЯ TP53



ФИГ. 1В

ВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ

3/44



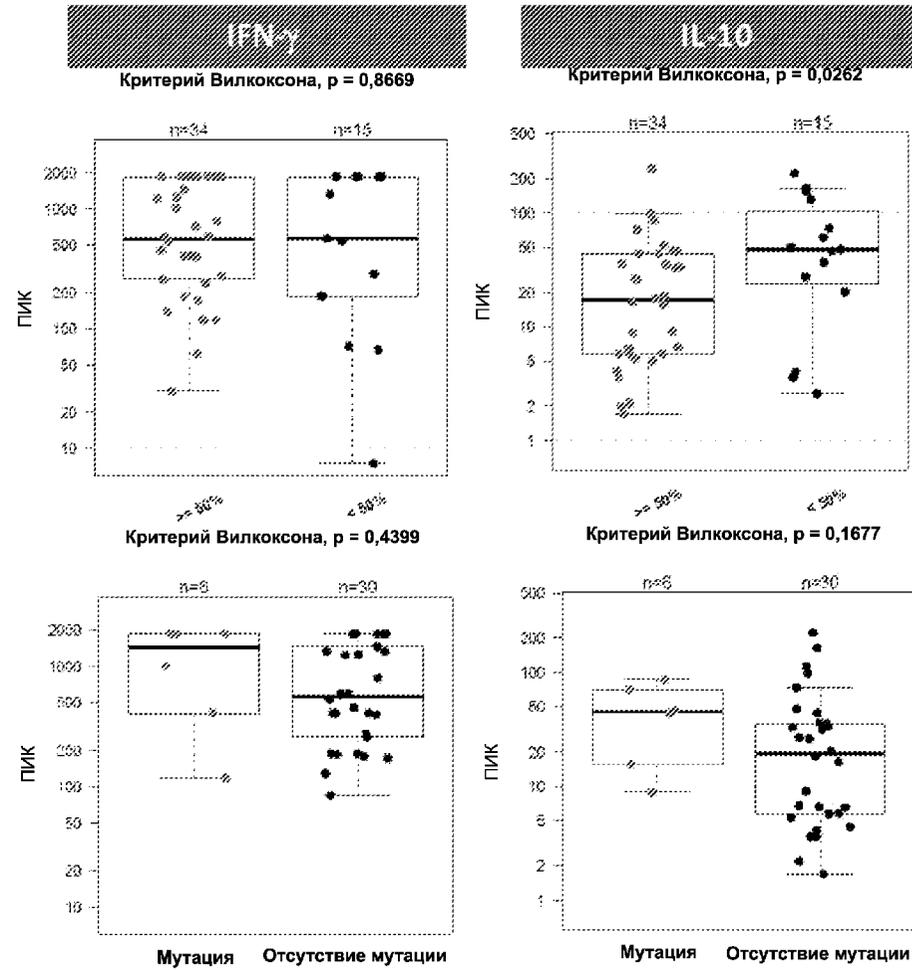
ФИГ. 1С

ИММУНОДУЛИРУЮЩИЕ

4/44

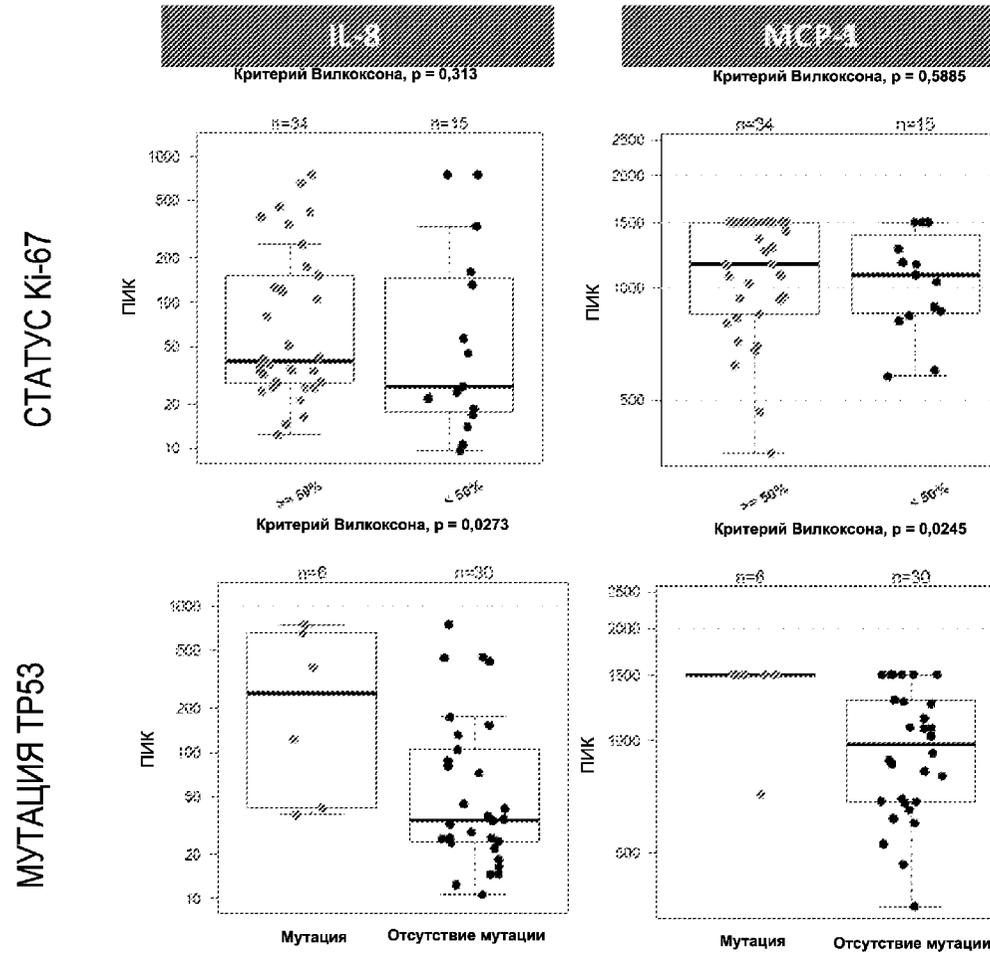
СТАТУС Ki-67

МУТАЦИЯ TP53



ФИГ. 1D

ХЕМОКИНЫ

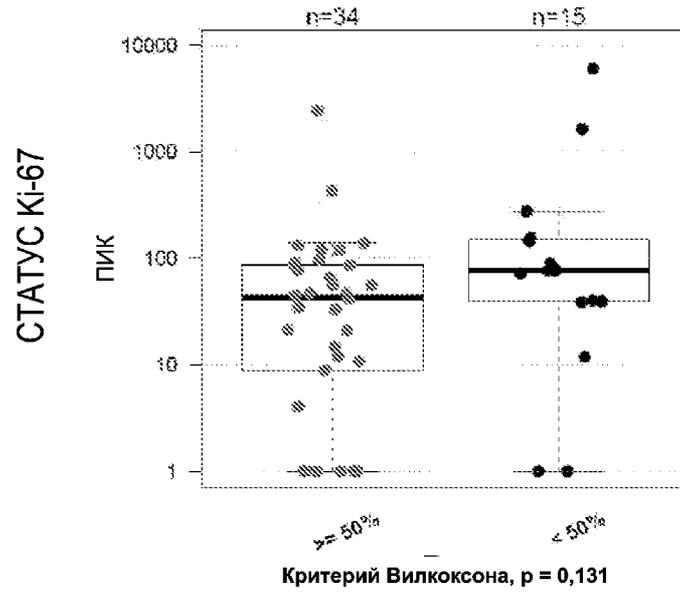


ФИГ. 1E

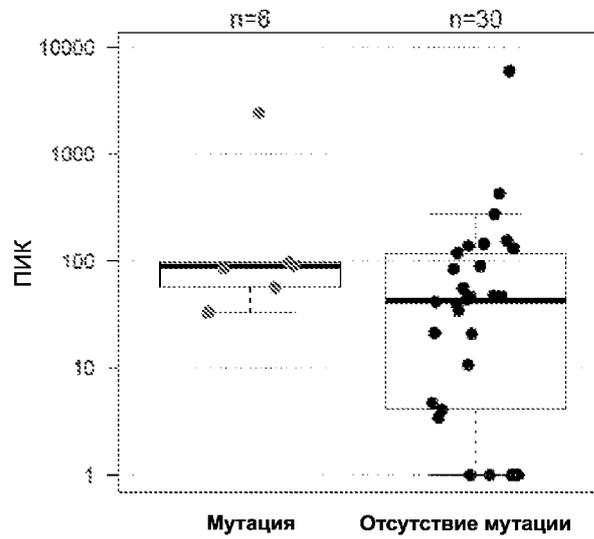
ЭФФЕКТОРЫ

Гранзим В

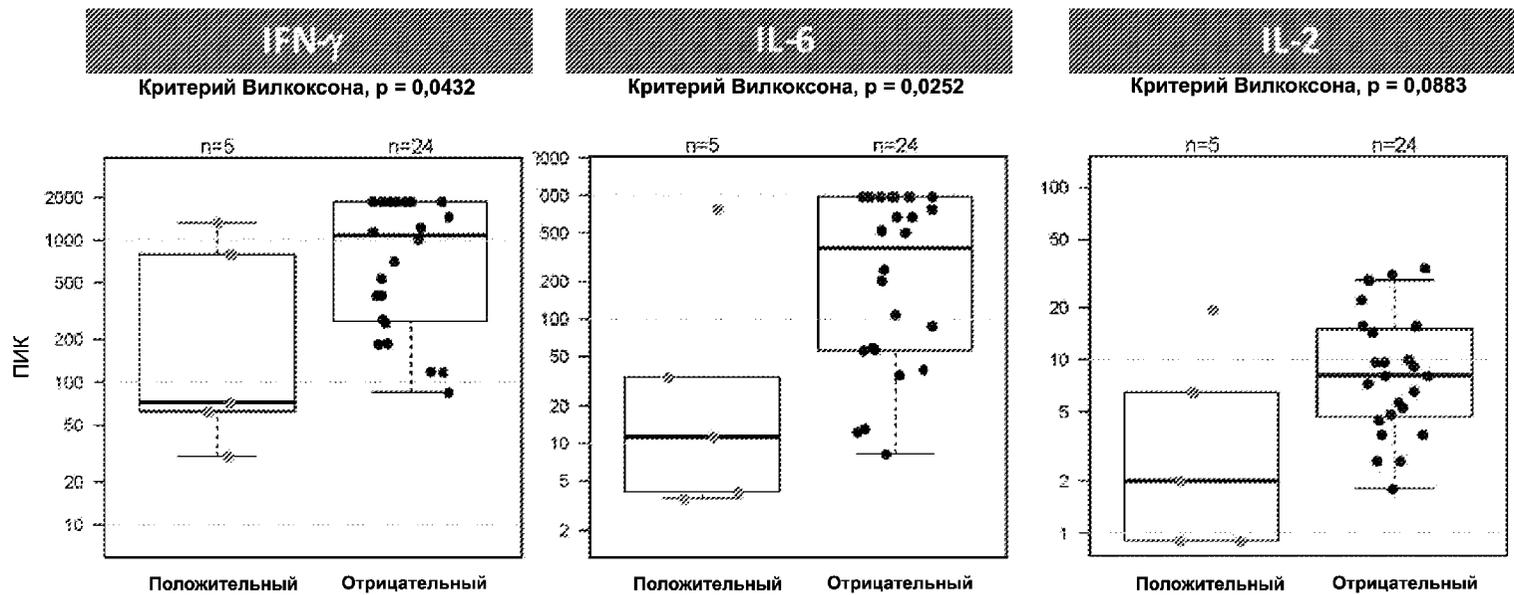
Критерий Вилкоксона, $p = 0,1419$



МУТАЦИЯ TP53



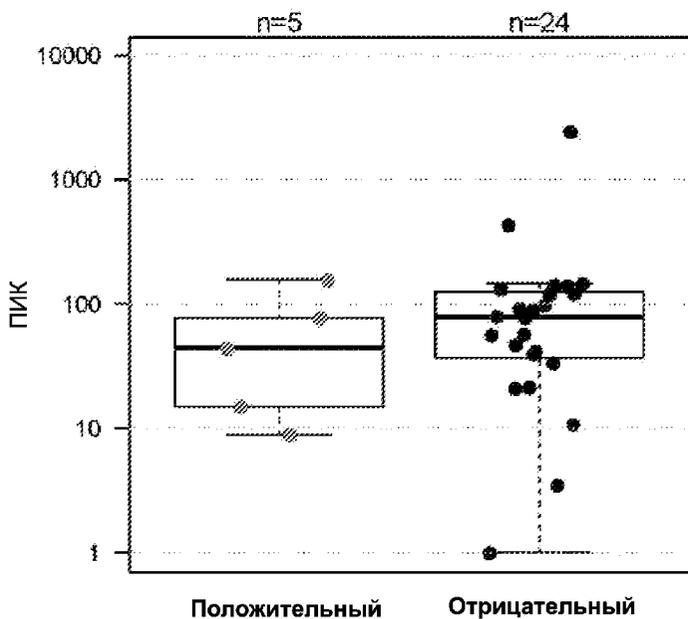
ФИГ. 1F



ФИГ. 2А

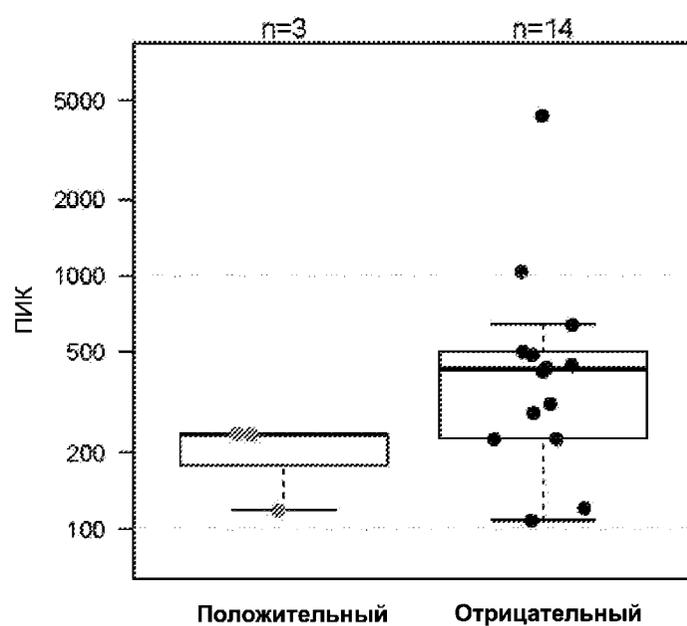
Гранзим В

Критерий Вилкоксона, $p = 0,4476$



sPD-L1

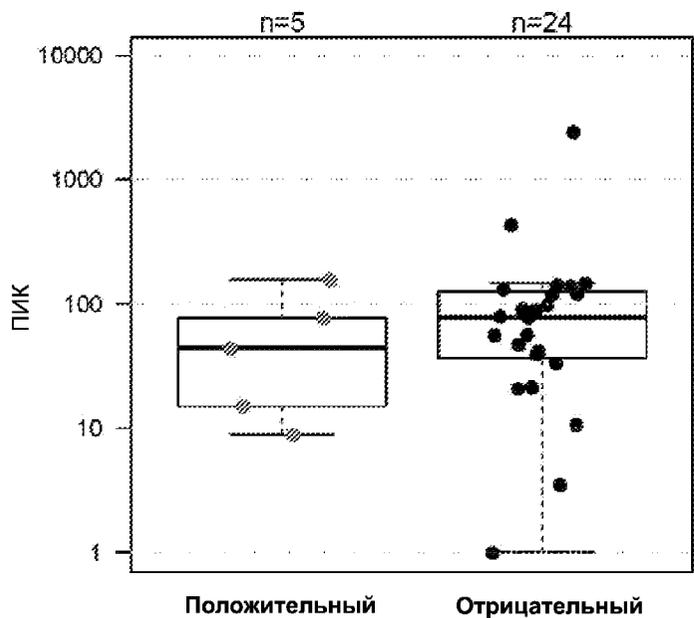
Критерий Вилкоксона, $p = 0,1559$



ФИГ. 2В

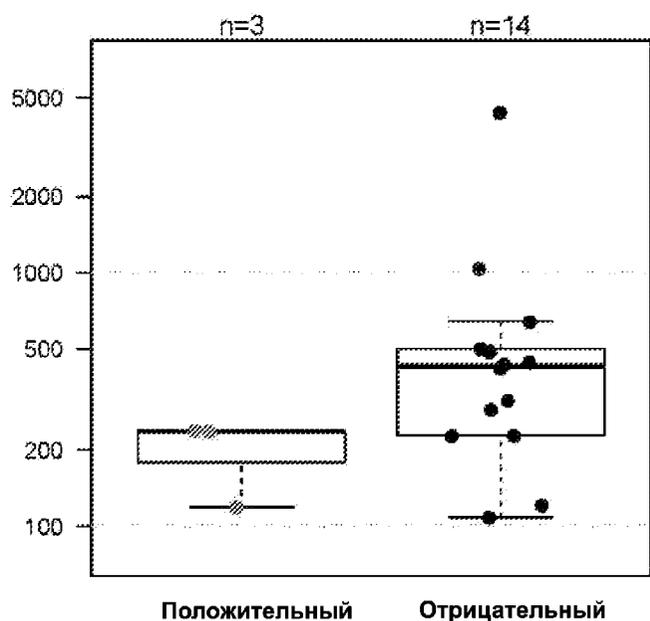
Гранзим В

Критерий Вилкоксона, $p = 0,4476$



sPD-L1

Критерий Вилкоксона, $p = 0,1559$



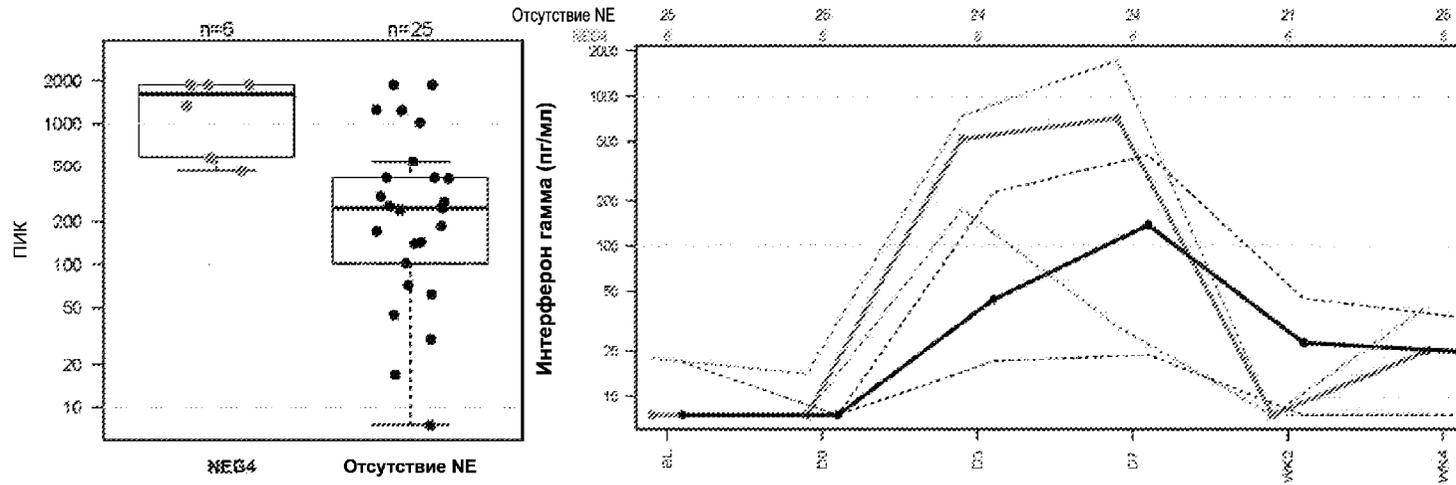
ФИГ. 2С

IFN- γ

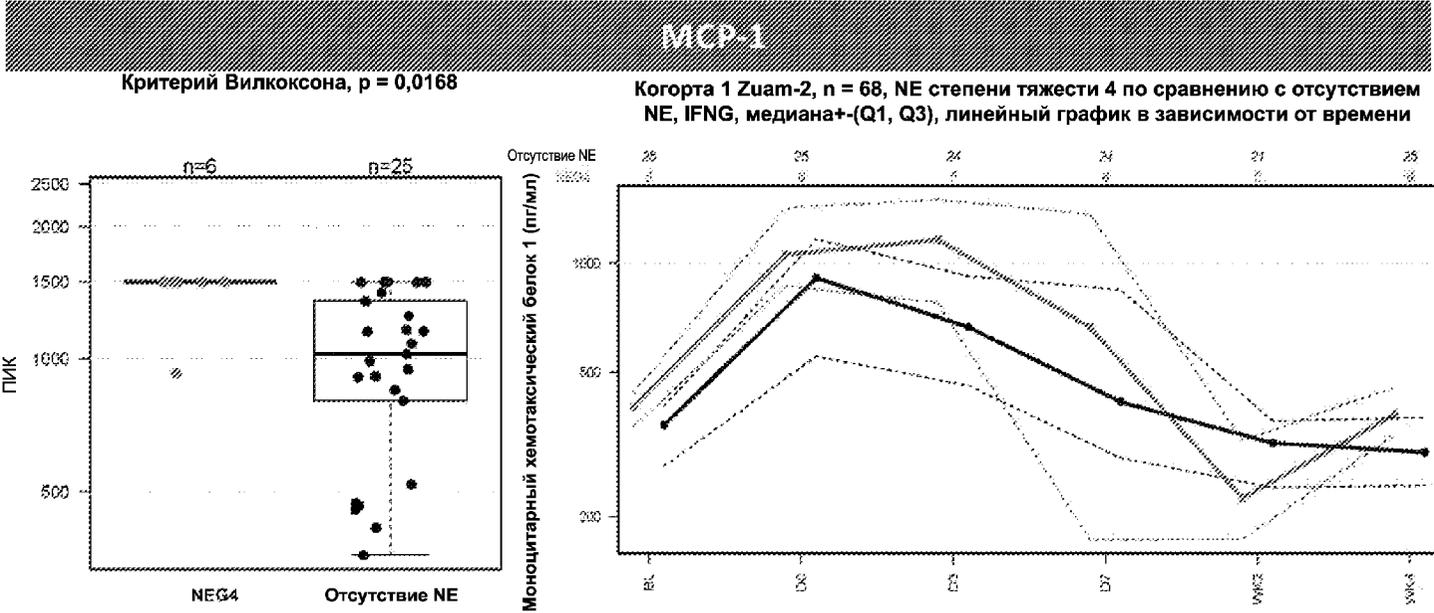
Критерий Вилкоксона, $p = 0,0034$

Когорта 1 Zuam-2, $n = 68$, NE степени тяжести 4 по сравнению с отсутствием NE, IFNG, медиана+-(Q1, Q3), линейный график в зависимости от времени

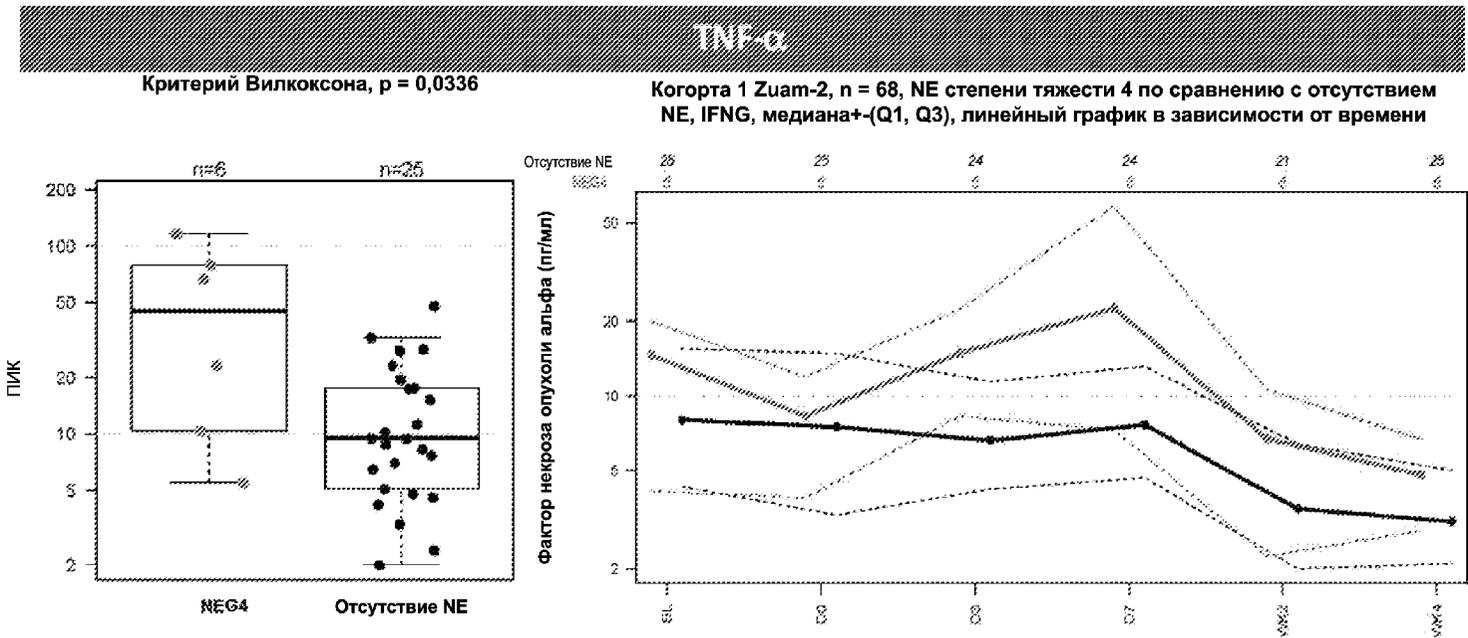
10/44



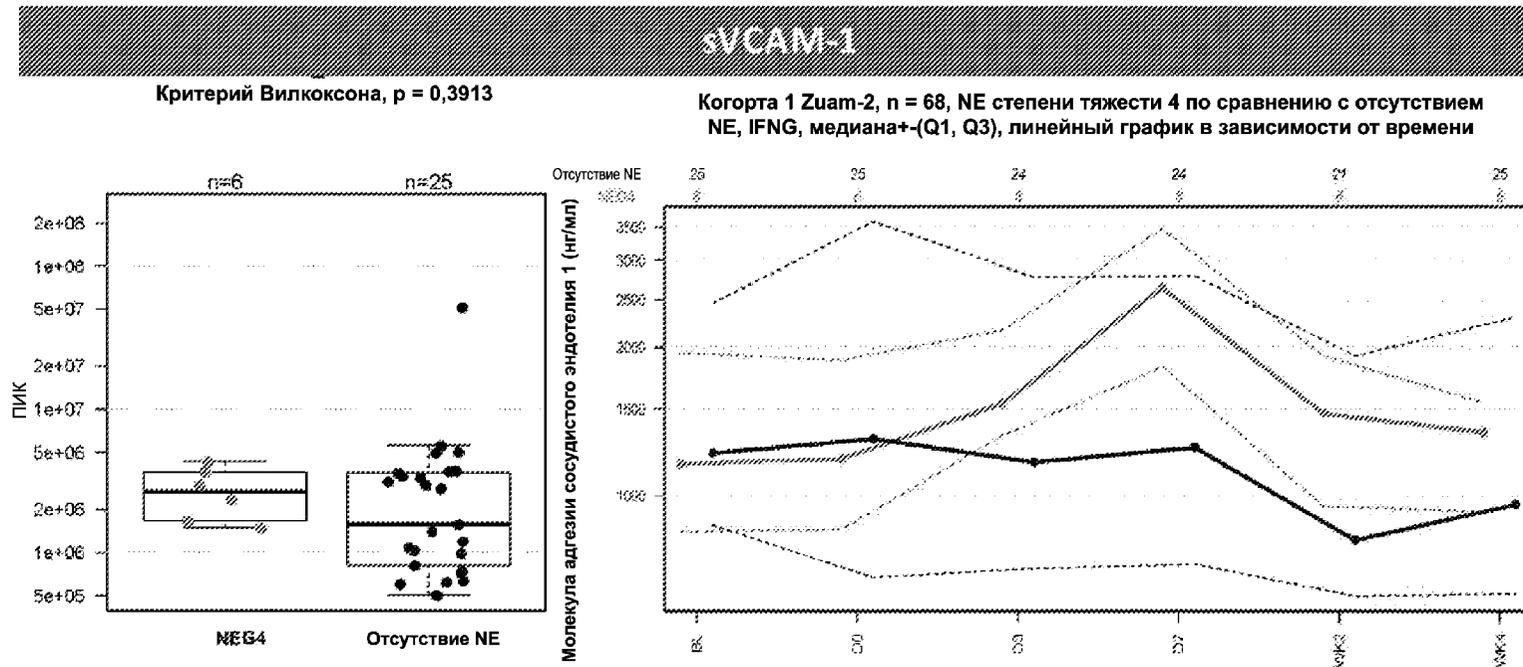
ФИГ. 2D



ФИГ. 2E



ФИГ. 2F

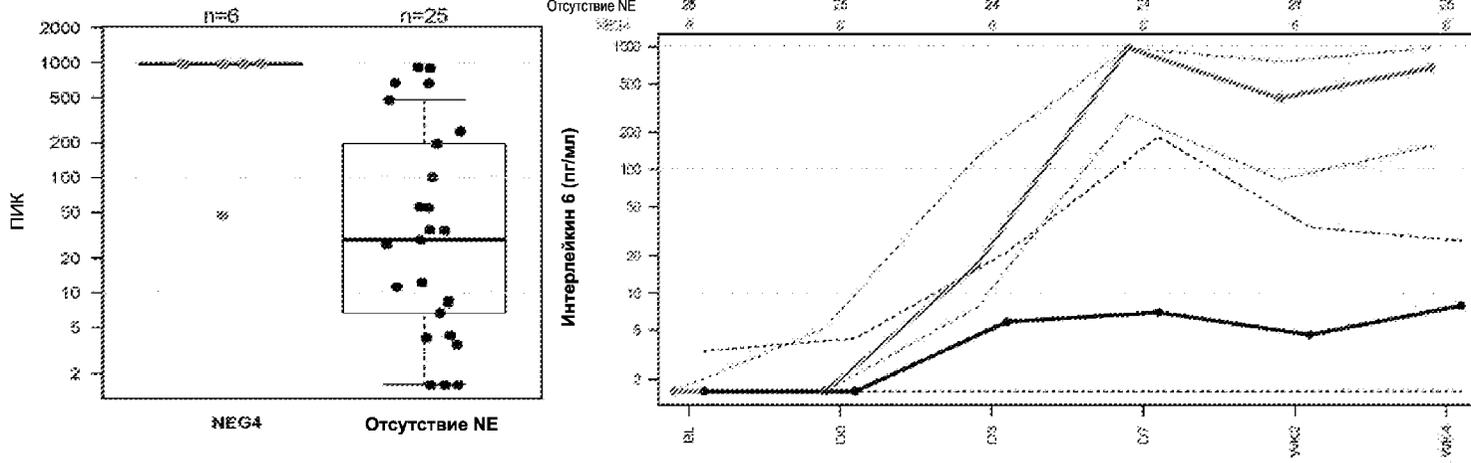


ФИГ. 2G

IL-6

Критерий Вилкоксона, $p = 0,0012$

Когорта 1 Ziam-2, $n = 68$, NE степени тяжести 4 по сравнению с отсутствием NE, IFNG, медиана+(Q1, Q3), линейный график в зависимости от времени

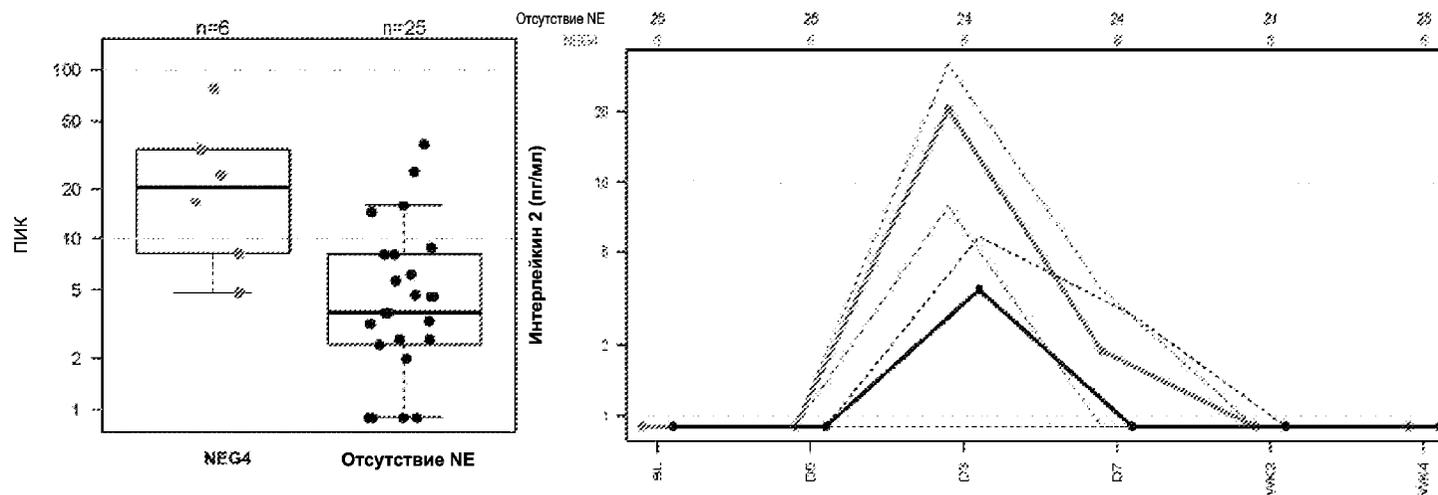


ФИГ. 2Н

Критерий Вилкоксона, $p = 0,0054$

Когорта 1 Ziam-2, $n = 68$, NE степени тяжести 4 по сравнению с отсутствием NE, IFNG, медиана+(Q1, Q3), линейный график в зависимости от времени

IS/44



ФИГ. 21

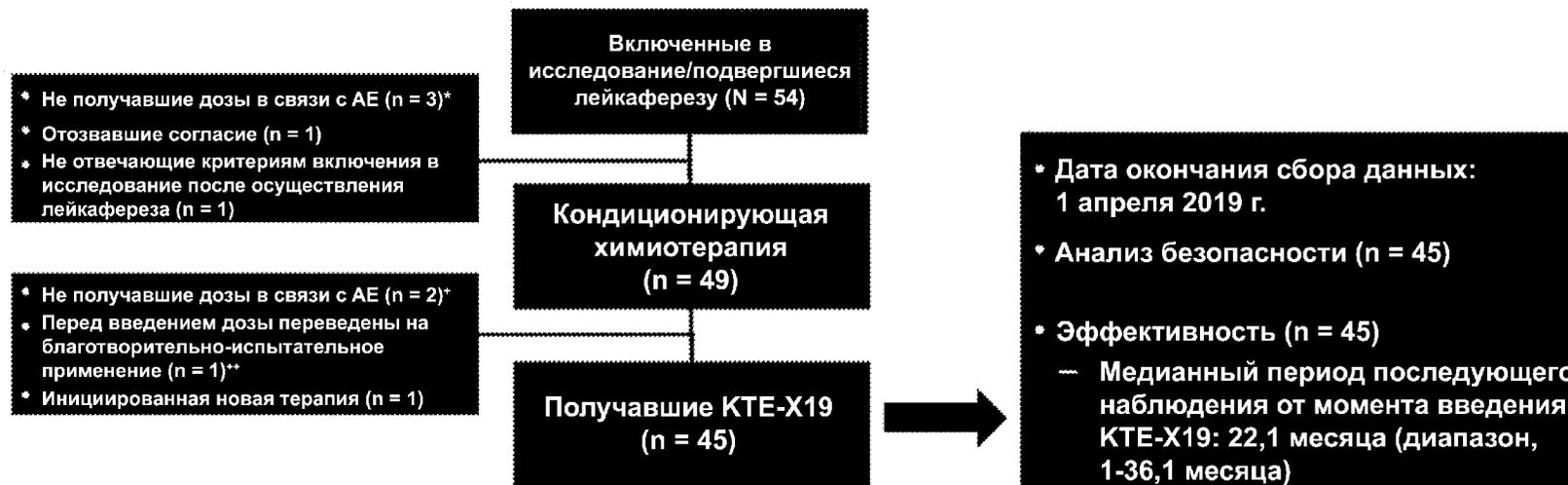
ФИГ. 3

16/44

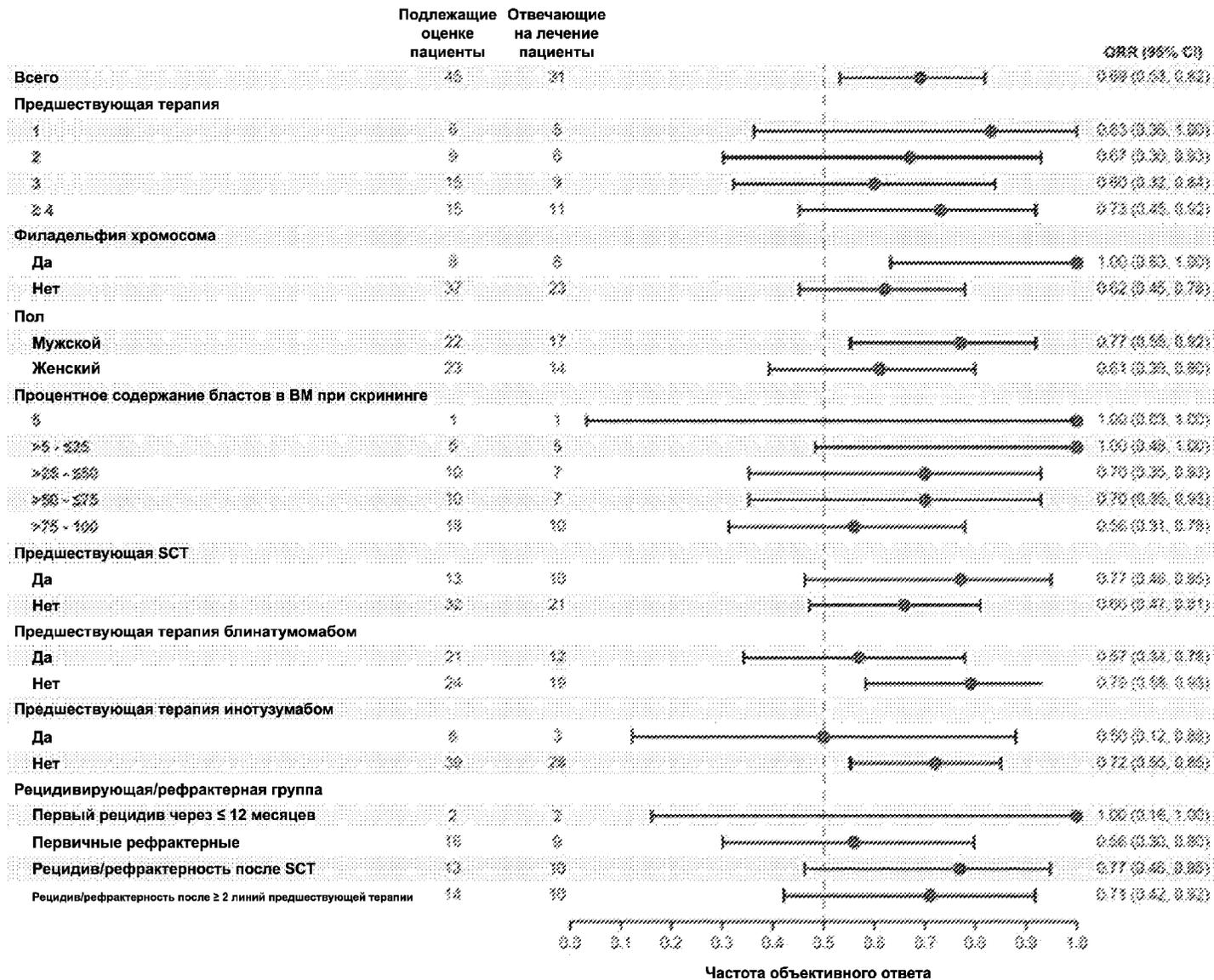


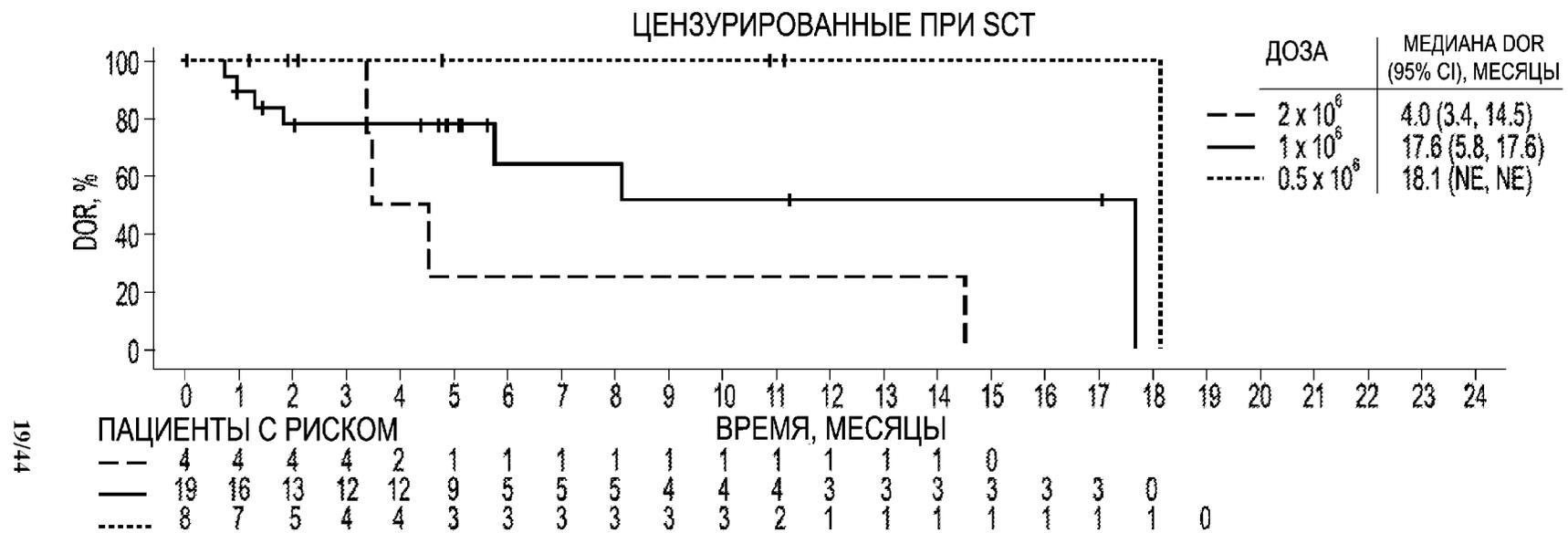
ФИГ. 4

17/44

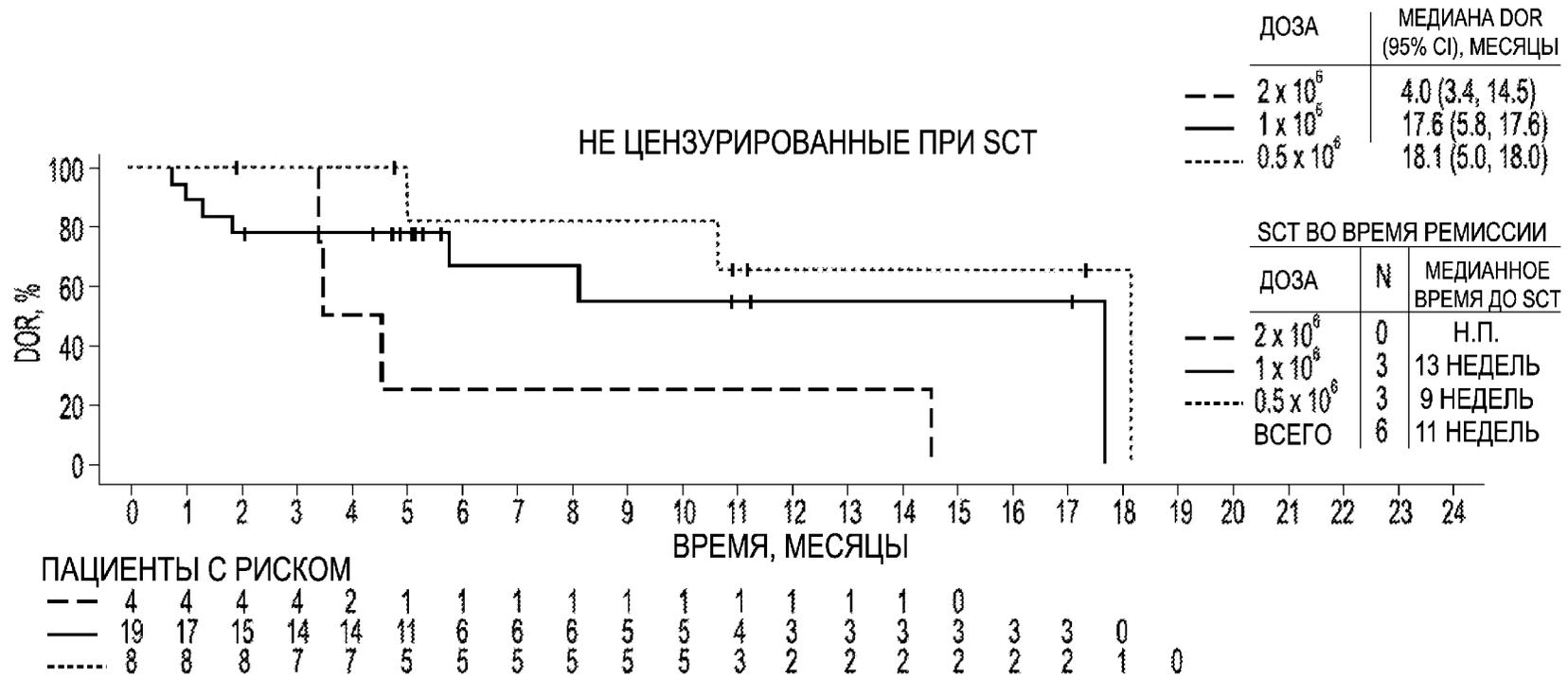


ФИГ. 5

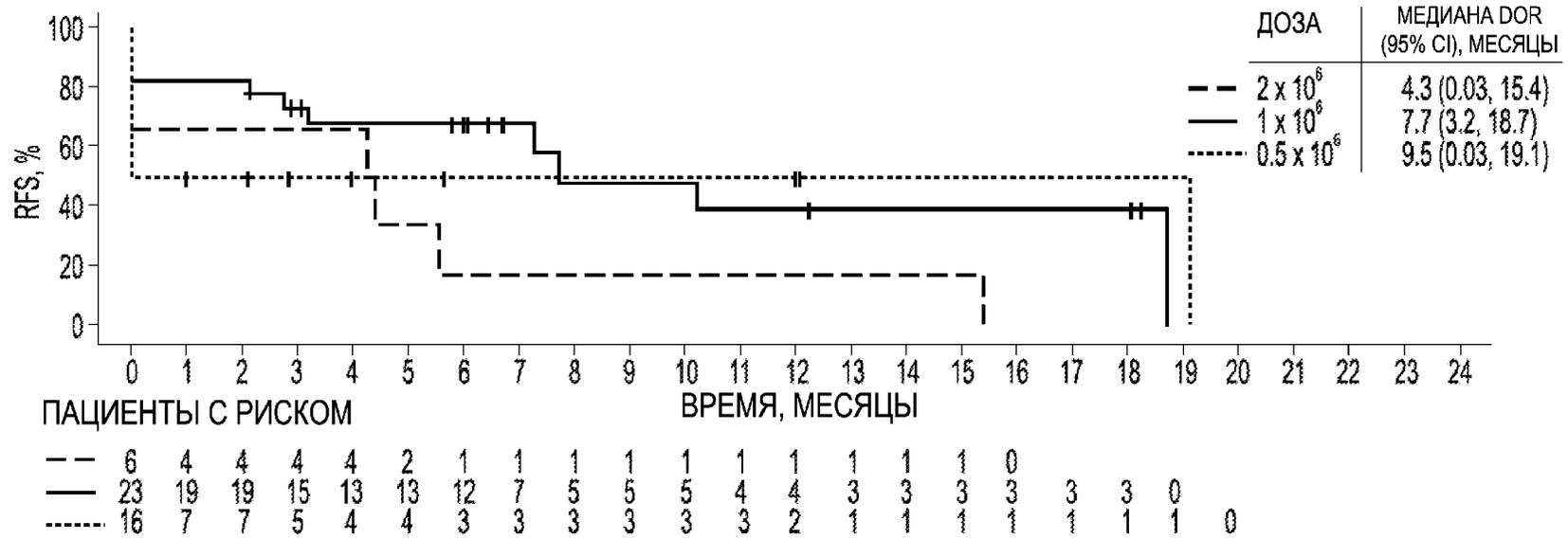




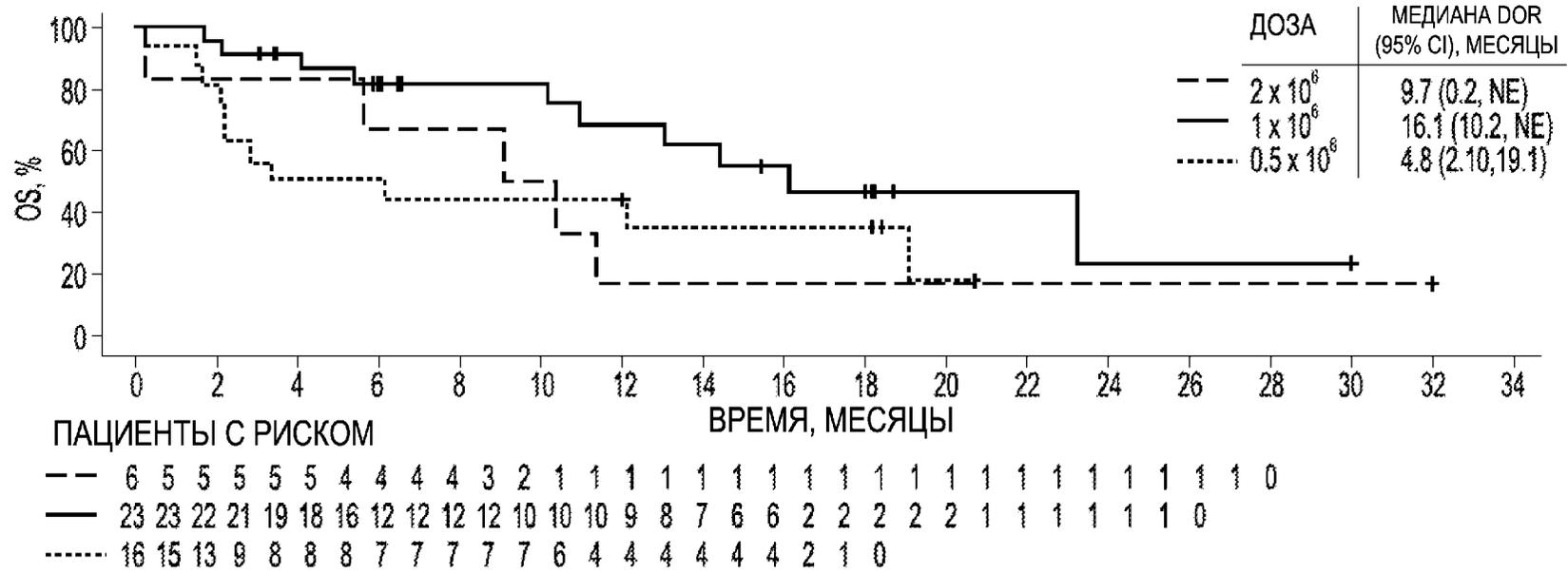
ФИГ. 6А



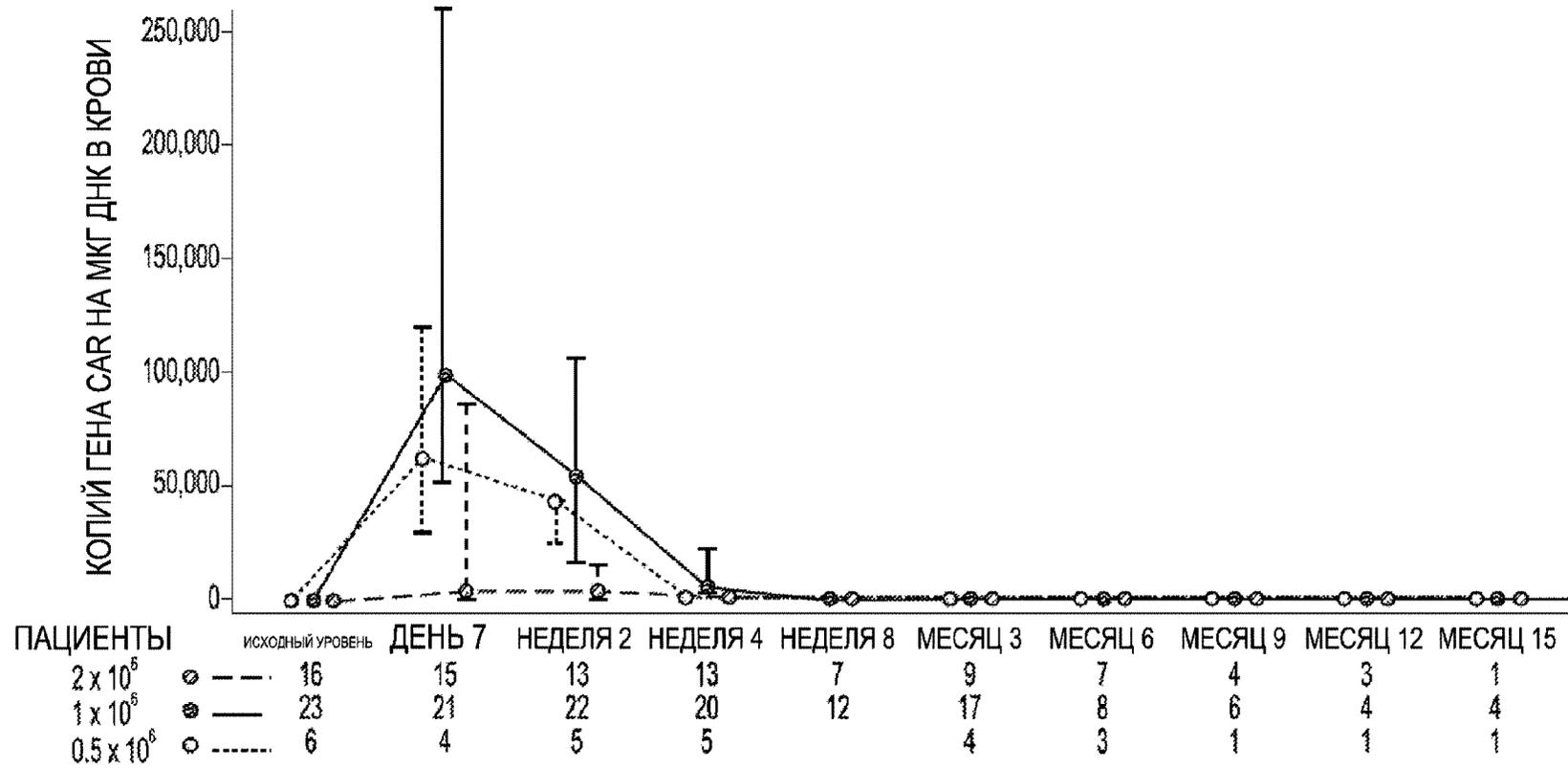
ФИГ. 6В



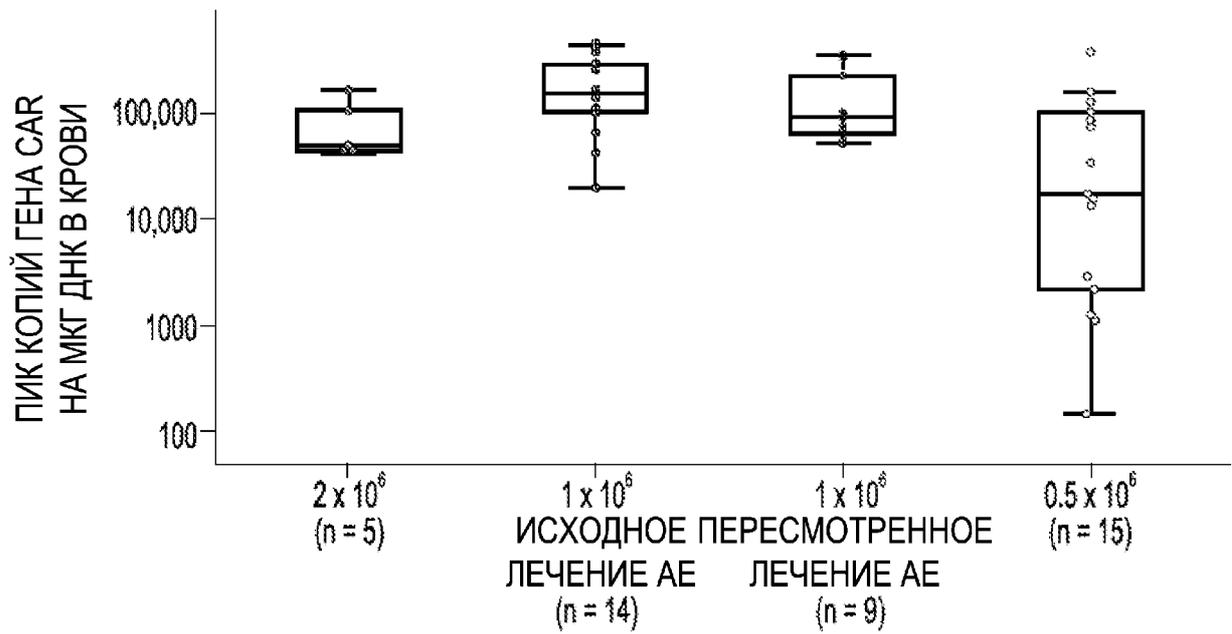
ФИГ. 6С



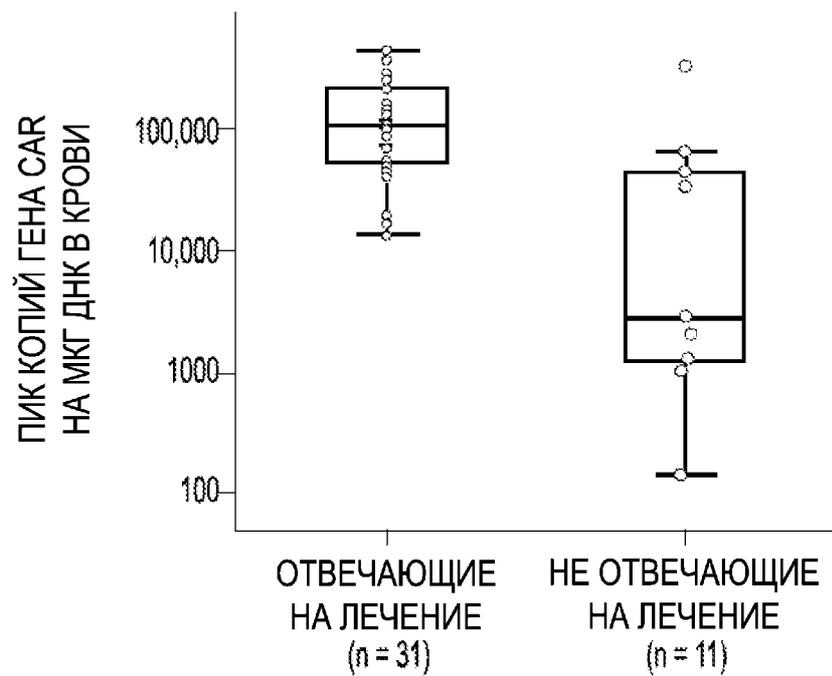
ФИГ. 6D



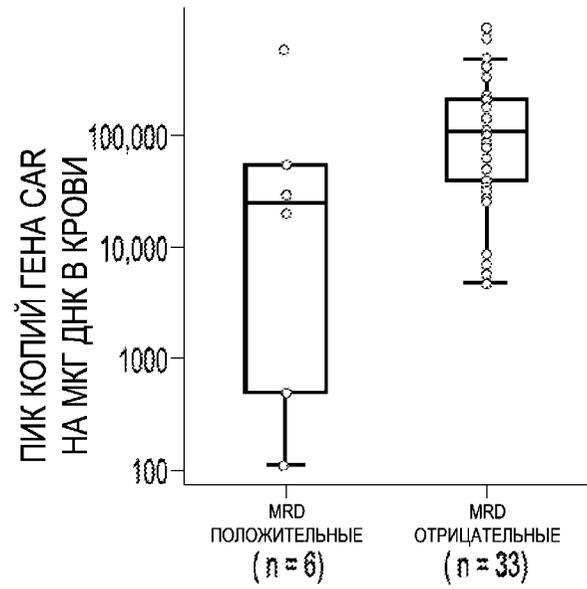
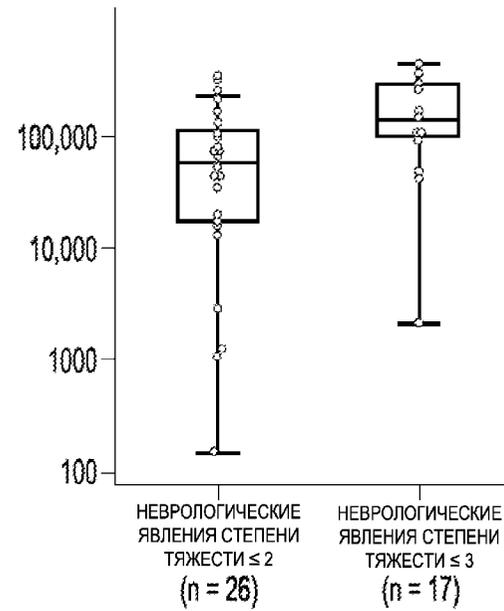
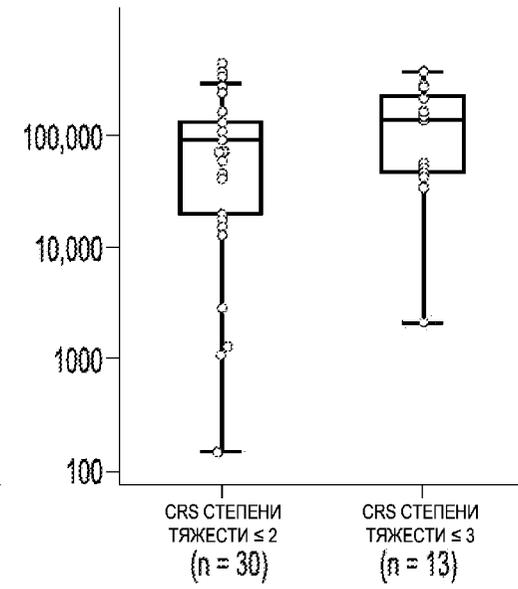
ФИГ. 7А



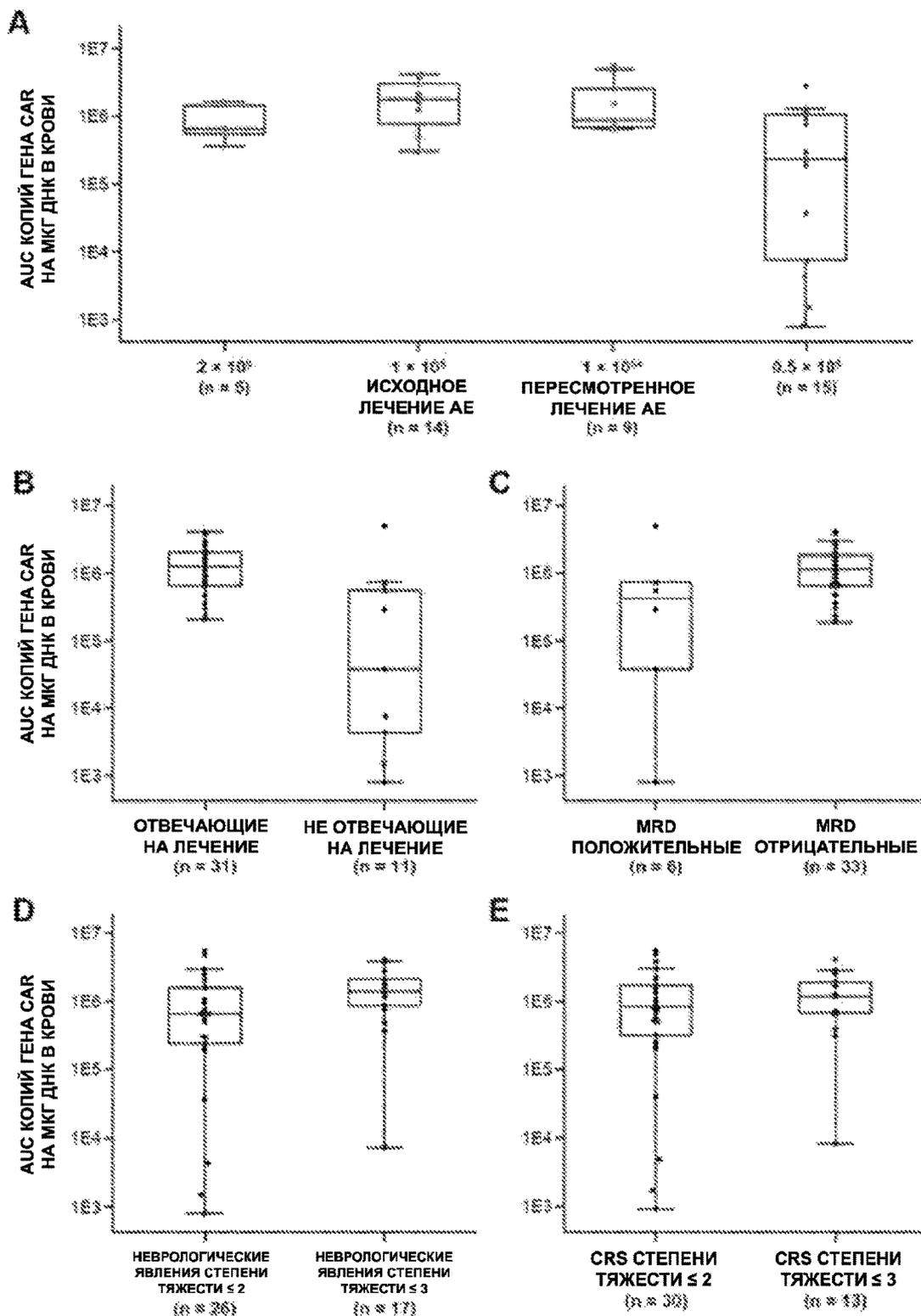
ФИГ. 7В

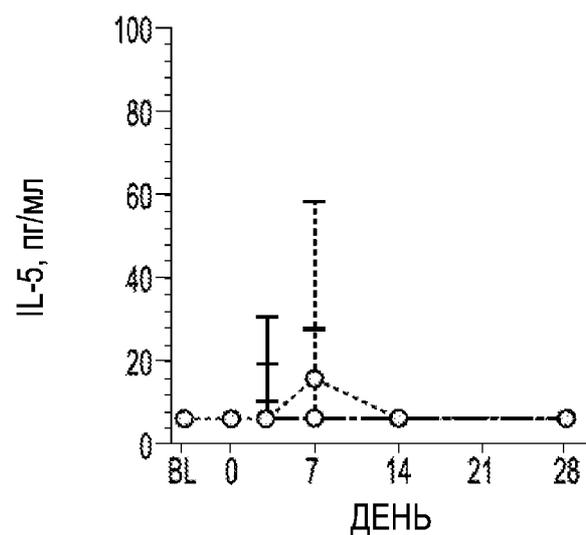
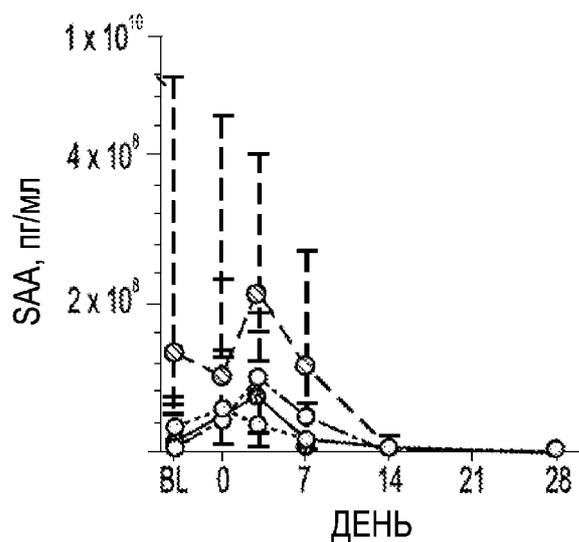
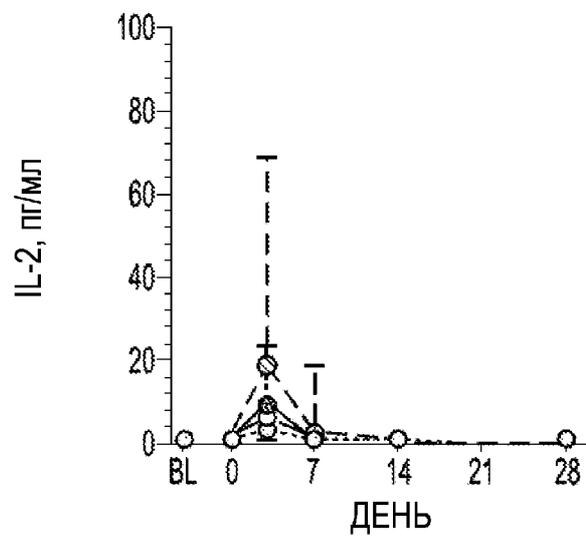
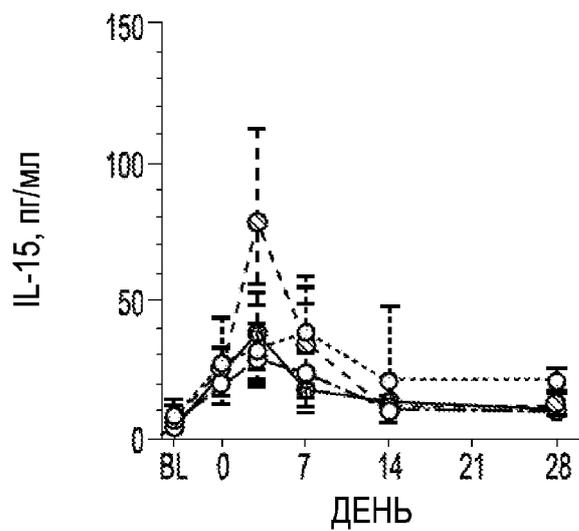


ФИГ. 7С

**ФИГ. 7D****ФИГ. 7E****ФИГ. 7F**

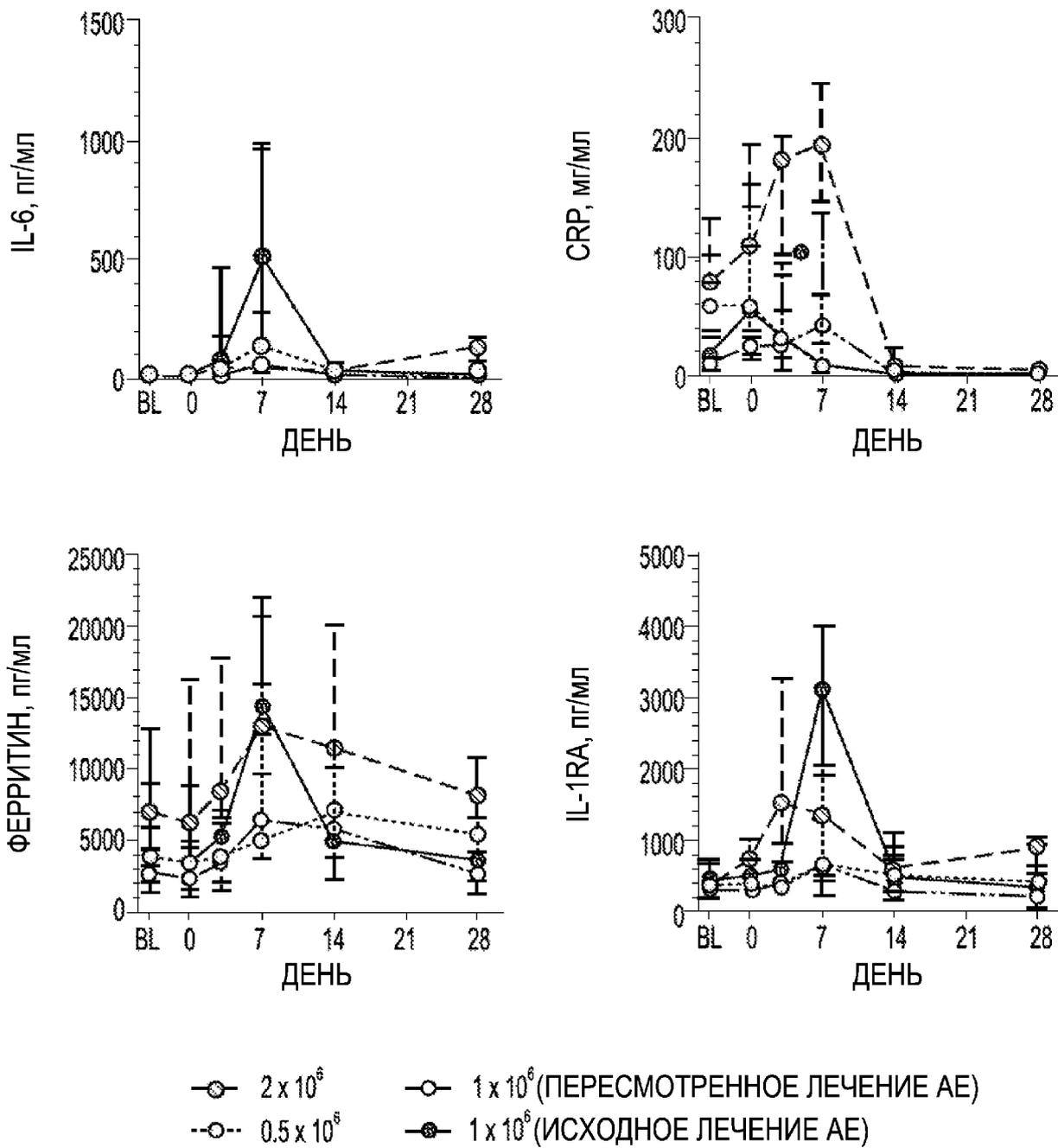
ФИГ. 8



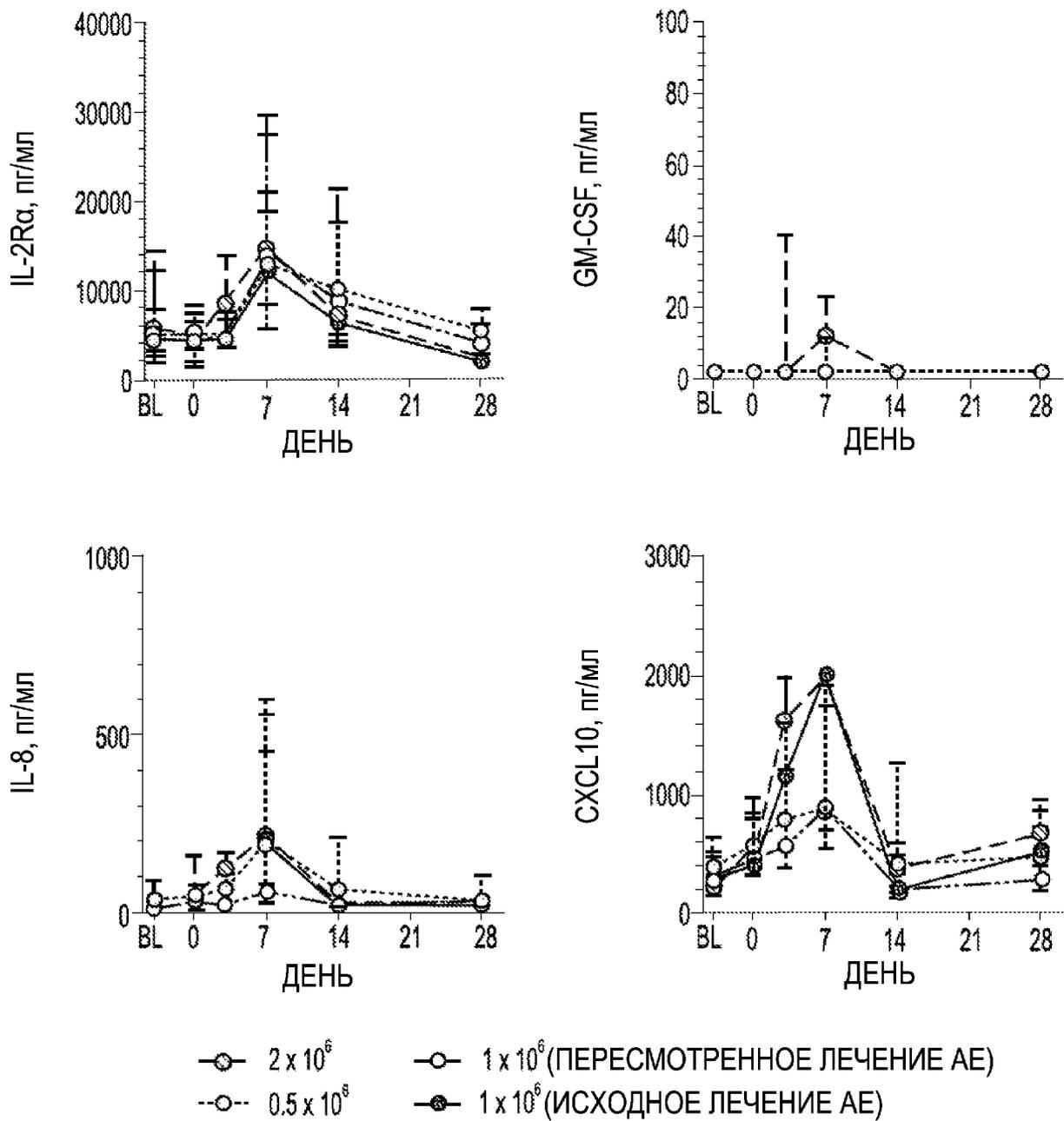


- 2 x 10⁶
- 1 x 10⁶ (ПЕРЕСМОТРЕННОЕ ЛЕЧЕНИЕ АЕ)
- -○- - 0.5 x 10⁶
- 1 x 10⁶ (ИСХОДНОЕ ЛЕЧЕНИЕ АЕ)

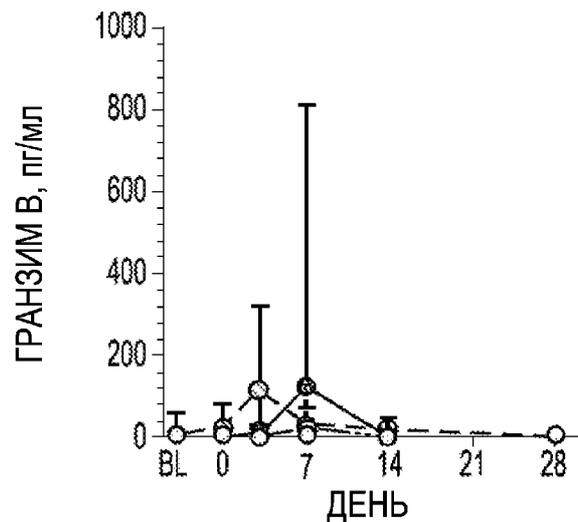
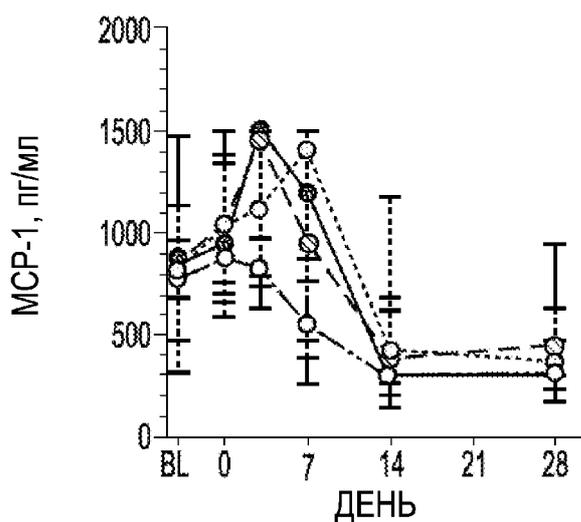
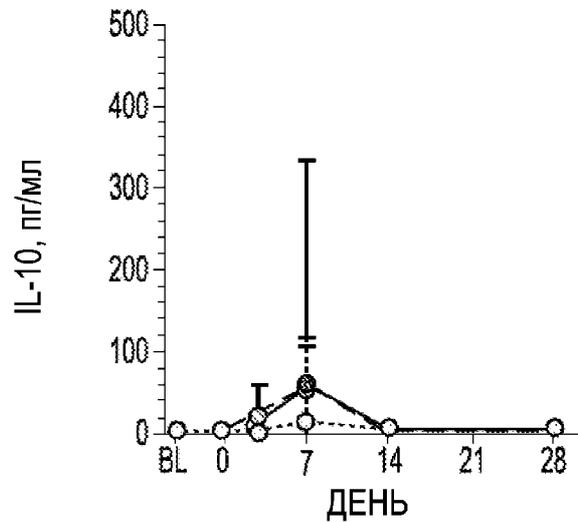
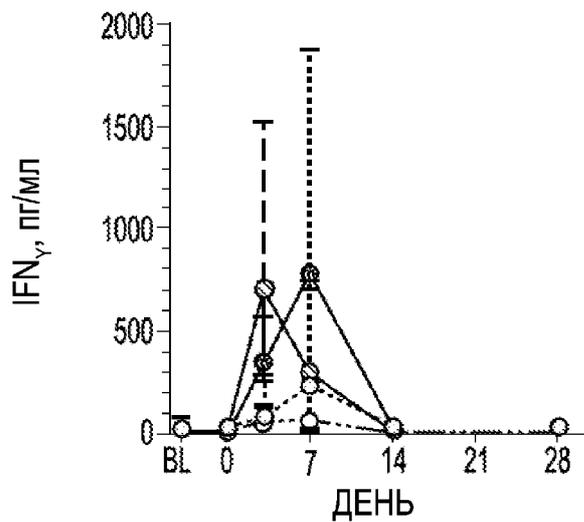
ФИГ. 9А



ФИГ. 9В



ФИГ. 9С



\circ — 2×10^6 \circ — 1×10^6 (ПЕРЕСМОТРЕННОЕ ЛЕЧЕНИЕ АЕ)
 \circ — 0.5×10^6 \circ — 1×10^6 (ИСХОДНОЕ ЛЕЧЕНИЕ АЕ)

ФИГ. 9D

ФИГ. 10

31/44

	2 × 10 ⁶ клеток/л (n=6)		1 × 10 ⁶ клеток/л Исходное лечение АЕ (n=14)		1 × 10 ⁶ клеток/л ПЕРЕСМОТРЕННОЕ ЛЕЧЕНИЕ АЕ (n=9)		0,5 × 10 ⁶ клеток/л (n=16)	
	Исходный уровень	Пик	Исходный уровень	Пик	Исходный уровень	Пик	Исходный уровень	Пик
CCL17 (TARC), пг/мл								
Медиана	881.2	786.2	241.6	389.5	76.0	114.1	215.2	864.9
Диапазон	93.3 – 4480.0 [†]	220.1 – 1902.5	55.4 – 4480.0 [†]	40.2 – 4480.0 [†]	3.3* – 4480.0 [†]	45.8 – 4480.0 [†]	3.3* – 4480.0 [†]	3.3* – 4480.0 [†]
CRP, мг/мл								
Медиана	79.1	193.0	17.1	93.0	10.0	94.8	59.5	138.4
Диапазон	2.7 – 496.0 [†]	7.3 – 272.1	0.5 – 183.5	3.5 – 496.0 [†]	0.8 – 101.6	10.5 – 216.5	1.3 – 270.6	4.0 – 496.0 [†]
CXCL10, пг/мл								
Медиана	230.8	2000.0 [†]	289.1	2000.0 [†]	298.9	1635.3	377.9	2000.0 [†]
Диапазон	113.3 – 515.5	663.3 – 2000.0 [†]	88.6 – 2000.0 [†]	525.3 – 2000.0 [†]	134.6 – 1569.1	276.8 – 2000.0 [†]	30.8 – 1662.4	309.5 – 2000.0 [†]
Эотаксин-1, пг/мл								
Медиана	96.2	100.6	135.0	183.1	143.2	185.1	121.1	265.5
Диапазон	12.3* – 480.9	12.3* – 222.3	12.3* – 277.6	59.9 – 346.2	74.6 – 342.0	69.0 – 636.2	59.4 – 401.8	77.0 – 594.7
Эотаксин-3, пг/мл								
Медиана	10.2*	10.2*	10.2*	10.2*	10.2*	10.2*	10.2*	10.2*
Диапазон	10.2* – 10.2*	10.2* – 10.2*	10.2* – 10.2*	10.2* – 10.2*	10.2* – 96.3	10.2* – 307.4	10.2* – 10.2*	10.2* – 326.3
Ферритин, нг/мл								
Медиана	6963.1	20611.3	3126.7	14271.5	2769.1	7545.3	3816.9	9706.2
Диапазон	2487.5 – 25000.0	9565.8 – 25000.0	0.8 – 17725.5	2758.8 – 25000.0	625.3 – 5299.5	1516.7 – 31620.0 [†]	747.3 – 14020.1	875.2 – 31620.0
GM-CSF, пг/мл								
Медиана	1.9*	11.9	1.9*	3.5	1.9*	1.9*	1.9*	5.7
Диапазон	1.9* – 1.9*	1.9* – 78.9	1.9* – 1.9*	1.9* – 239.7	1.9* – 1.9*	1.9* – 64.6	1.9* – 5.9	1.9* – 189.1

Гранзим А, пг/мл								
Медиана	1194.1	685.9	20.0*	20.0*	20.0*	20.0*	20.0*	20.0*
Диапазон	20.0* – 4634.0	20.0* – 5018.1	20.0* – 5804.6	20.0* – 3925.8	20.0* – 1818.5	20.0* – 2019.0	20.0* – 8664.7	20.0* – 14,625.0
Гранзим В, пг/мл								
Медиана	1.0*	43.4	1.0*	51.5	1.0*	29.6	1.0*	16.1
Диапазон	1.0* – 117.5	1.0* – 473.8	1.0* – 394.3	1.0* – 2988.6	1.0* – 23.9	1.0* – 2499.7	1.0* – 14.4	1.0* – 10,000.0
ISAM-1, нг/мл								
Медиана	691.0	1296.5	584.9	1236.0	572.6	882.7	711.4	1098.8
Диапазон	395.1 – 1366.7	781.6 – 1777.4	313.5 – 1359.9	605.1 – 2332.3	137.1 – 857.4	270.7 – 3879.5	141.0 – 1538.5	543.5 – 4926.0
IFN γ , пг/мл								
Медиана	7.5*	703.6	7.5*	1415.3	7.5*	286.9	21.2	493.9
Диапазон	7.5* – 7.5*	99.1 – 1876.0†	7.5* – 910.5	19.8 – 1876.0†	7.5* – 31.2	39.3 – 1876.0†	7.5* – 496.9	21.0 – 1876.0†
IL-1RA, пг/мл								
Медиана	357.6	1904.8	439.6	3360.9	308.3	1052.6	361.6	1154.6
Диапазон	31.2 – 861.1	1034.7 – 4000.0	31.2 – 1672.7	431.2 – 4000.0	107.8 – 387.9	329.3 – 4224.3	31.2 – 975.7	371.3 – 4000.0
IL-1 α , пг/мл								
Медиана	2.9*	2.9*	2.9*	2.9*	2.9*	2.9*	2.9*	2.9*
Диапазон	2.9* – 2.9*	2.9* – 2.9*	2.9* – 2.9*	2.9* – 2.9*	2.9* – 2.9*	2.9* – 2.9*	2.9* – 2.9*	2.9* – 2.9*
IL-1 β , пг/мл								
Медиана	2.1*	2.1*	2.1*	2.1*	2.1*	2.1*	2.1*	2.1*
Диапазон	2.1* – 2.1*	2.1* – 2.1*	2.1* – 2.1*	2.1* – 2.1*	2.1* – 2.1*	2.1* – 2.1*	2.1* – 2.1*	2.1* – 2.1*
IL-10, пг/мл								
Медиана	1.8	57.3	0.7*	47.0	0.7*	15.9	0.7*	27.2
Диапазон	0.7* – 7.7	0.7* – 113.8	0.7* – 85.2	3.0 – 466.0†	0.7* – 6.2	5.6 – 466.0†	0.7* – 16.8	0.7* – 466.0†
IL-12 P40, пг/мл								
Медиана	18.0	112.1	49.5	57.3	36.7	41.5	44.6	150.1
Диапазон	5.7* – 83.7	16.6 – 177.1	14.2 – 466.3	5.7* – 418.4	5.7* – 372.8	5.7* – 283.5	5.7* – 674.6	5.7* – 4500.0†

IL-12 P70, пг/мл								
Медиана	1.2*	1.2*	1.2*	1.2*	1.2*	1.2*	1.2*	1.2*
Диапазон	1.2* – 1.2*	1.2* – 1.2*	1.2* – 1.2*	1.2* – 16.7	1.2* – 5.2	1.2* – 4.7	1.2* – 1.2*	1.2* – 12.7
IL-13, пг/мл								
Медиана	4.2*	4.2*	4.2*	4.2*	4.2*	4.2*	4.2*	4.2*
Диапазон	4.2* – 4.2*	4.2* – 4.2*	4.2* – 4.2*	4.2* – 13.1	4.2* – 4.2*	4.2* – 4.2*	4.2* – 4.2*	4.2* – 20.0
IL-15, пг/мл								
Медиана	8.3	66.3	7.3	39.6	4.5	39.6	6.8	52.8
Диапазон	3.9 – 20.6	10.7 – 143.6	4.1 – 15.6	11.6 – 74.5	1.4* – 23.1	9.1 – 78.9	3.8 – 28.0	16.5 – 103.5
IL-16, пг/мл								
Медиана	103.1	173.9	255.8	462.8	122.6	248.7	272.7	650.5
Диапазон	68.5 – 362.6	58.4 – 842.5	73.6 – 2216.9	85.4 – 3740.0†	71.2 – 935.7	92.5 – 803.7	88.3 – 3740.0†	132.4 – 3215.8
IL-17, пг/мл								
Медиана	9.3*	9.3*	9.3*	9.3*	9.3*	9.3*	9.3*	9.3*
Диапазон	9.3* – 39.5	9.3* – 156.5	9.3* – 9.3*	9.3* – 35.7	9.3* – 9.3*	9.3* – 35.3	9.3* – 9.3*	9.3* – 41.6
IL-2, пг/мл								
Медиана	0.9*	18.8	0.9*	10.3	0.9*	4.2	0.9*	4.3
Диапазон	0.9* – 0.9*	0.9* – 110.6	0.9* – 3.0	0.9* – 159.1	0.9* – 0.9*	0.9* – 49.5	0.9* – 3.8	0.9* – 359.1
IL-2α, пг/мл								
Медиана	5795.9	14016.8	4973.6	12766.2	4468.3	17904.6	4495.2	15104.8
Диапазон	1210.9 – 35644.4	8277.2 – 22719.1	78.0 – 36533.8	3759.5 – 48150.8	1420.9 – 10663.5	8502.9 – 71270.8	78.0 – 92941.7	4893.7 – 100000.0†
IL-4, пг/мл								
Медиана	0.5*	0.5*	0.5*	0.5*	0.5*	0.5*	0.5*	0.5*
Диапазон	0.5* – 0.5*	0.5* – 0.5*	0.5* – 0.5*	0.5* – 4.0	0.5* – 0.5*	0.5* – 5.6	0.5* – 0.5*	0.5* – 5.6
IL-5, пг/мл								
Медиана	6.3*	6.3*	6.3*	23.5	6.3*	6.3*	6.3*	24.1
Диапазон	6.3* – 6.3*	6.3* – 32.7	6.3* – 14.2	6.3* – 111.8	6.3* – 6.3*	6.3* – 124.6	6.3* – 60.9	6.3* – 182.2

IL-6, пг/мл								
Медиана	7.1	91.9	1.6*	629.5	1.6*	60.0	5.5	213.9
Диапазон	1.6* – 297.4	7.4 – 210.1	1.6* – 45.6	8.6 – 976.0†	1.6* – 19.8	16.8 – 976.0†	1.6* – 74.0	1.6* – 976.0†
IL-7, пг/мл								
Медиана	5.3	21.3	5.3	28.7	6.9	18.4	5.2	25.6
Диапазон	2.9 – 14.7	15.1 – 58.1	1.4* – 36.6	10.9 – 46.9	1.4* – 15.5	9.0 – 38.6	1.4* – 25.1	1.4* – 47.6
IL-8, пг/мл								
Медиана	44.0	153.0	33.4	272.9	16.3	75.2	48.7	245.1
Диапазон	6.5 – 130.5	29.0 – 750.0†	7.0 – 657.3	58.5 – 750.0†	13.3 – 258.0	37.1 – 750.0†	3.9 – 418.4	25.2 – 750.0†
MCP-1, пг/мл								
Медиана	878.5	1500.0†	872.2	1500.0†	777.1	1281.9	809.1	1500.0†
Диапазон	786.5 – 1401.4	495.8 – 1500.0†	242.5 – 1500.0†	1090.8 – 1500.0†	405.4 – 1500.0†	495.8 – 1500.0†	191.4 – 1500.0†	627.4 – 1500.0†
MCP-4, пг/мл								
Медиана	77.3	189.0	83.5	245.8	70.1	112.3	102.0	214.4
Диапазон	35.3 – 111.1	97.1 – 248.0	46.4 – 146.8	54.8 – 840.4	35.7 – 246.7	44.6 – 263.3	5.1* – 258.1	55.9 – 396.8
MDC, мг/мл								
Медиана	88.3*	600.8	395.0	396.1	392.8	407.2	238.1	445.7
Диапазон	88.3* – 88.3*	88.3* – 1928.8	88.3* – 2285.8	88.3* – 1337.5	88.3* – 1256.1	88.3* – 927.6	88.3* – 740.5	88.3* – 1163.4
MIP-1α, пг/мл								
Медиана	13.8*	47.5	13.8*	75.0	13.8*	13.8*	13.8*	58.8
Диапазон	13.8* – 13.8*	13.8* – 109.7	13.8* – 68.0	13.8* – 412.9	13.8* – 58.6	13.8* – 143.8	13.8* – 13.8*	13.8* – 182.6
MIP-1β, пг/мл								
Медиана	102.3	228.0	103.0	462.9	102.2	241.6	98.4	246.3
Диапазон	56.1 – 132.7	163.6 – 891.4	32.4 – 346.8	58.2 – 2877.6	54.7 – 189.3	56.7 – 1644.5	34.8 – 240.7	122.2 – 992.7
PDL1, пг/мл								
Медиана	Н.П.	Н.П.	Н.П.	Н.П.	107.4	236.6	86.9	153.8
Диапазон					69.7 – 196.0	120.5 – 1137.0	86.9 – 86.9	153.8 – 153.8

Перфорин, пг/мл								
Медиана	6263.5	7530.6	7811.5	22320.9	10674.7	20264.2	8418.8	16414.4
Диапазон	2628.9 – 10482.2	3789.3 – 16842.9	2661.1 – 50032.0	6281.1 – 38643.4	7568.1 – 13712.9	5587.2 – 44195.4	2597.9 – 45816.7	5316.7 – 100000.0†
SAA, нг/мл								
Медиана	133028.2	359364.6	12121.4	116259.9	5984.5	176974.2	34725.5	250054.7
Диапазон	44406.8 – 1380000.0†	20584.4 – 762894.4	2286.7 – 458693.3	13770.4 – 1380000.0†	2690.7 – 643970.0	15196.8 – 519874.5	2196.1 – 522644.6	12226.0 – 696334.1
SFASL, пг/мл								
Медиана	10.0*	10.0*	10.0*	10.0*	10.0*	10.0*	10.0*	10.0*
Диапазон	10.0* – 1687.2	10.0* – 1978.1	10.0* – 178.9	10.0* – 164.1	10.0* – 936.1	10.0* – 554.5	10.0* – 859.8	10.0* – 856.6
TNF-α, пг/мл								
Медиана	3.6	8.0	4.8	12.6	3.0	5.6	4.1	8.3
Диапазон	0.7* – 9.3	2.8 – 16.2	1.5 – 18.2	2.5 – 29.7	2.2 – 8.8	3.5 – 33.4	0.7* – 18.1	3.4 – 34.4
TNF-β, пг/мл								
Медиана	1.2*	1.2*	1.2*	1.2*	1.2*	1.2*	1.2*	1.2*
Диапазон	1.2* – 1.2*	1.2* – 1.2*	1.2* – 1.2*	1.2* – 8.6	1.2* – 1.2*	1.2* – 1.2*	1.2* – 5.6	1.2* – 13.0
VCAM-1, нг/мл								
Медиана	1116.4	1186.6	1445.2	1782.7	599.4	1189.0	1277.4	2206.1
Диапазон	744.5 – 7813.7	956.2 – 4743.1	543.4 – 3528.0	1089.5 – 2433.7	0.04* – 1808.7	627.2 – 3994.6	496.6 – 4447.2	817.1 – 8469.2

ФИГ. 11

36/44

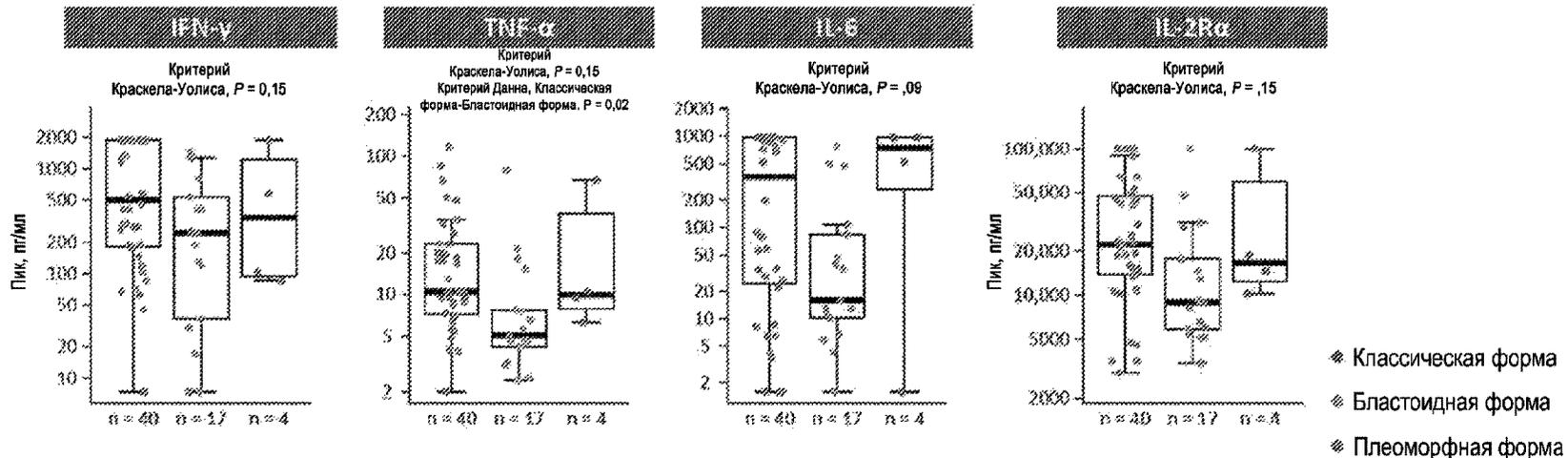
Функция	Р-значение Медиана (диапазон)	Синдром высвобождения цитокинов			Неврологические явления		
		Степень тяжести ≥ 3	Степень тяжести 0-2	Р-Значение	Степень тяжести ≥ 3	Степень тяжести 0-2	Р-Значение
		(n = 14)	(n = 31)		(n = 17)	(n = 28)	
Гомеостатические пролиферативные	IL-15, пг/мл	31.9 (10.7 – 143.6)	55.1 (9.1 – 103.5)	0.0372	40.0 (21.2 – 84.0)	49.5 (9.1 – 143.6)	0.79
	IL-2, пг/мл	9.7 (0.9* – 110.6)	6.6 (0.9* – 359.1)	0.6846	10.9 (0.9* – 359.1)	5.3 (0.9* – 110.6)	0.1126
Провоспалительные	IL-6, пг/мл	213.9 (7.4 – 976.0†)	210.1 (1.6* – 976.0†)	0.7388	284.4 (7.4 – 976.0†)	188.5 (1.6* – 976.0†)	0.8596
	CRP, мг/л	96.0 (3.99 – 459.6)	133.7 (3.5 – 496.0†)	0.2646	145.7 (3.5 – 496.0†)	109.1 (7.3 – 496.0†)	0.708
	SAA, мг/л	173329.1 (14860.1 – 636991.2)	176974.2 (12226.0 – 1380000.0†)	0.3622	165464.6 (12226.0 – 1380000.0†)	211371.4 (13770.4 – 696334.1)	0.8621
	IL-5, пг/мл	6.3* (6.3* – 182.2)	23.2 (6.3* – 124.6)	0.6764	6.3* (6.3* – 86.5)	19.7 (6.3* – 182.2)	0.5092
	Ферритин, нг/мл	19490.9 (2758.8 – 29866.3)	10014.5 (875.2 – 31620.0†)	0.1643	9565.8 (2758.8 – 29866.3)	11486.6 (875.2 – 31620.0†)	0.8233
	IL-1RA, пг/мл	2227.8 (587.6 – 4224.3)	1313.9 (329.3 – 4000.0)	0.0925	2054.5 (431.2 – 4000.0)	1235.3 (329.3 – 4224.3)	0.2653
	IL-2Ra, пг/мл	17214.7 (5098.2 – 87978.1)	13246.7 (3759.5 – 100000.0†)	0.339	12776.3 (3759.5 – 87978.1)	17268.4 (4893.7 – 100000.0†)	0.1745
Иммуномодулирующие	GM-CSF, пг/мл	7.3 (1.9* – 112.5)	1.9* (1.9* – 239.7)	0.6038	5.7 (1.9* – 239.7)	1.9* (1.9* – 197.8)	0.5088

	IFN γ , пг/мл	1365.8 (39.3 – 1876.0†)	551.6 (19.8 – 1876.0†)	0.3636	726 (19.8 – 1876.0†)	511.2 (21.0 – 1876.0†)	0.601
Хемокины	IL-8, пг/мл	277.9 (29.0 – 750.0†)	199.0 (25.2 – 750.0†)	0.4985	265.2 (52.6 – 750.0†)	212.4 (25.2 – 750.0†)	0.3532
	CXCL10, пг/мл	2000.0† (663.3 – 2000.0†)	2000.0† (276.8 – 2000.0†)	0.2668	2000.0† (525.3 – 2000.0†)	2000.0† (276.8 – 2000.0†)	0.3151
	MCP-1, пг/мл	1500.0† (452.8 – 1500.0†)	1500.0† (495.8 – 1500.0†)	0.3134	1500.0† (627.4 – 1500.0†)	1500.0† (452.8 – 1500.0†)	0.5301
ЭФФЕКТОРЫ	Гранзим В, пг/мл	74.3 (1.0* – 10000.0)	22.1 (1.0* – 2499.7)	0.1124	57.5 (1.0* – 10000.0)	24.6 (1.0* – 2988.6)	0.4174

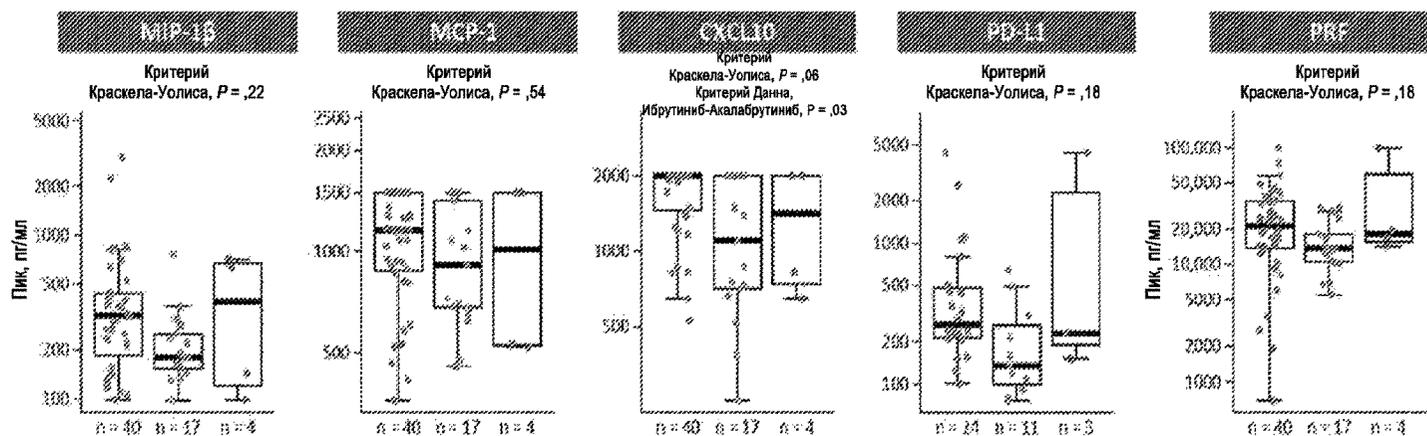
ФИГ. 12

Фармакодинамический профиль

Воспалительные



Хемокины

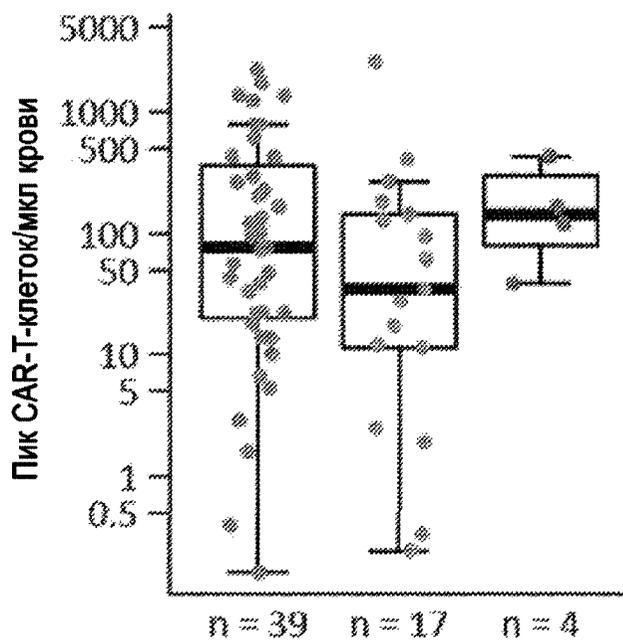


ФИГ. 13

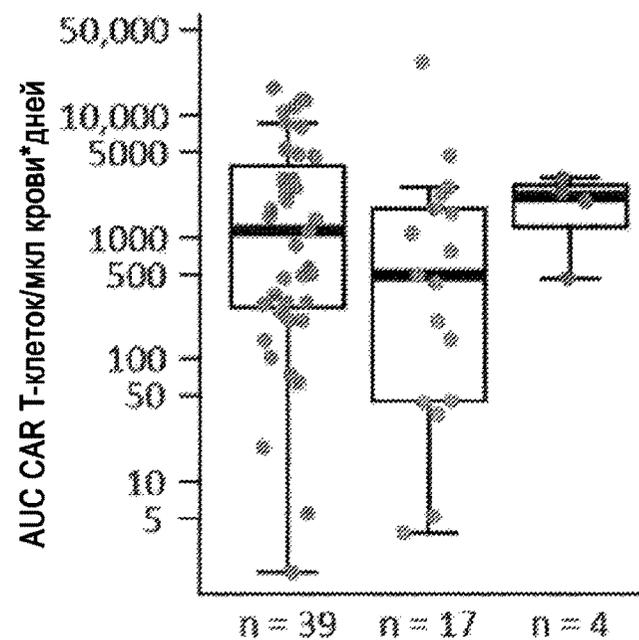
Фармакодинамический профиль

39/44

Критерий Краскела-Уоллиса, $P = ,33$



Критерий Краскела-Уоллиса, $P = ,27$

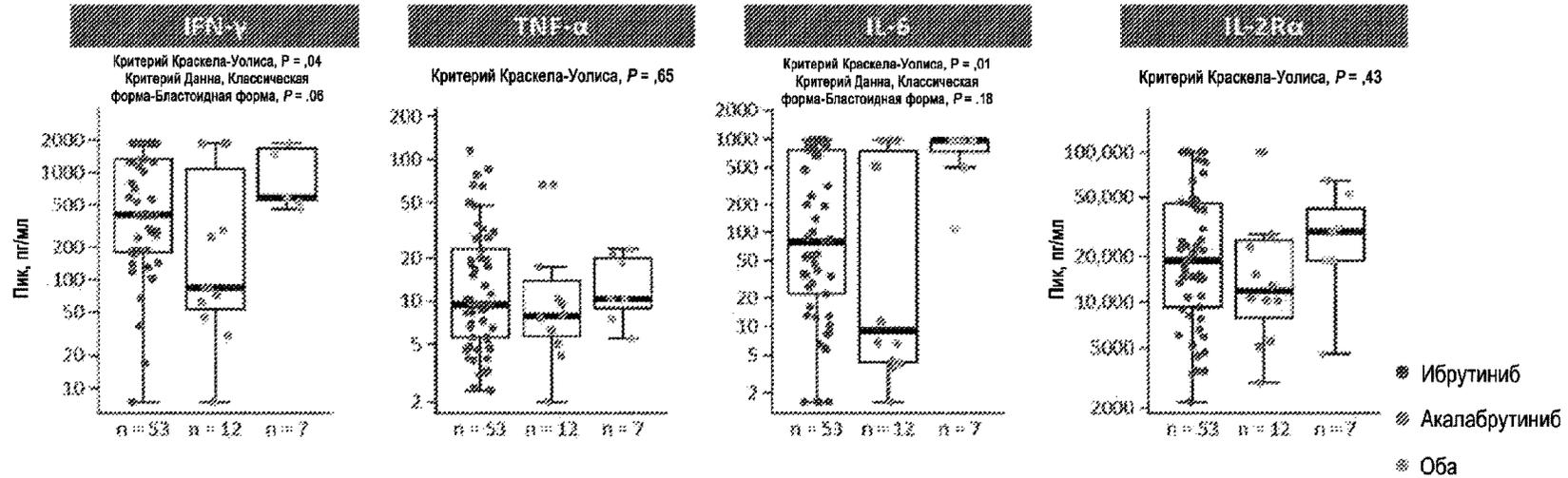


- Классическая форма
- Бластоидная форма
- Плеоморфная форма

- Классическая форма
- Бластоидная форма
- Плеоморфная форма

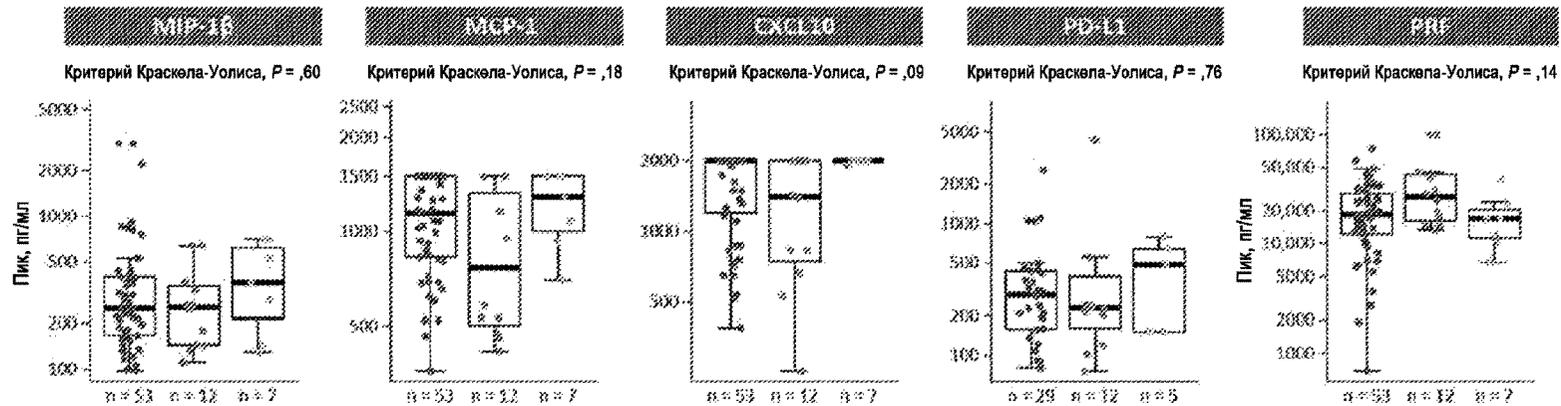
ФИГ. 14

Фармакодинамический профиль Воспалительные



40/44

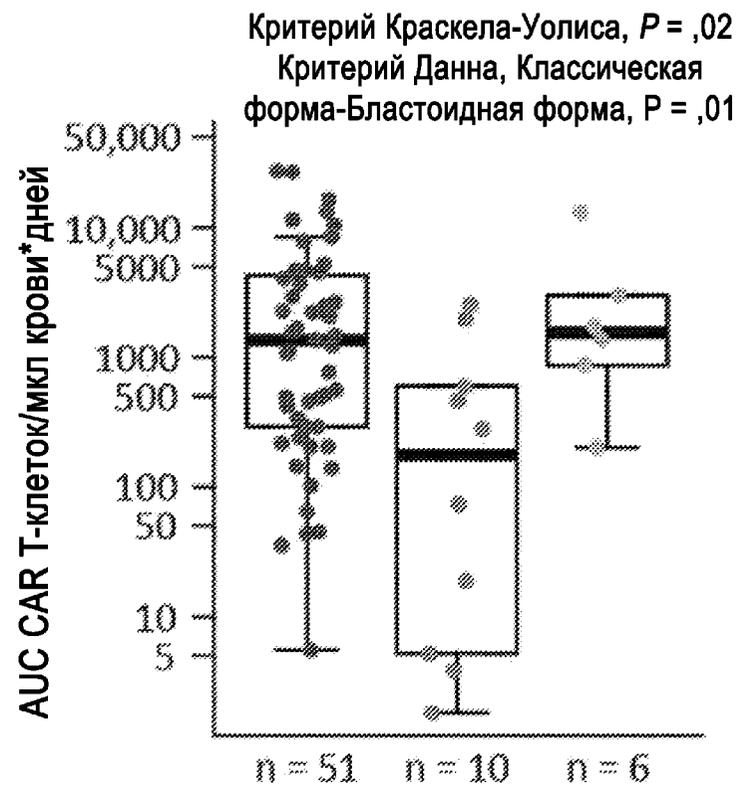
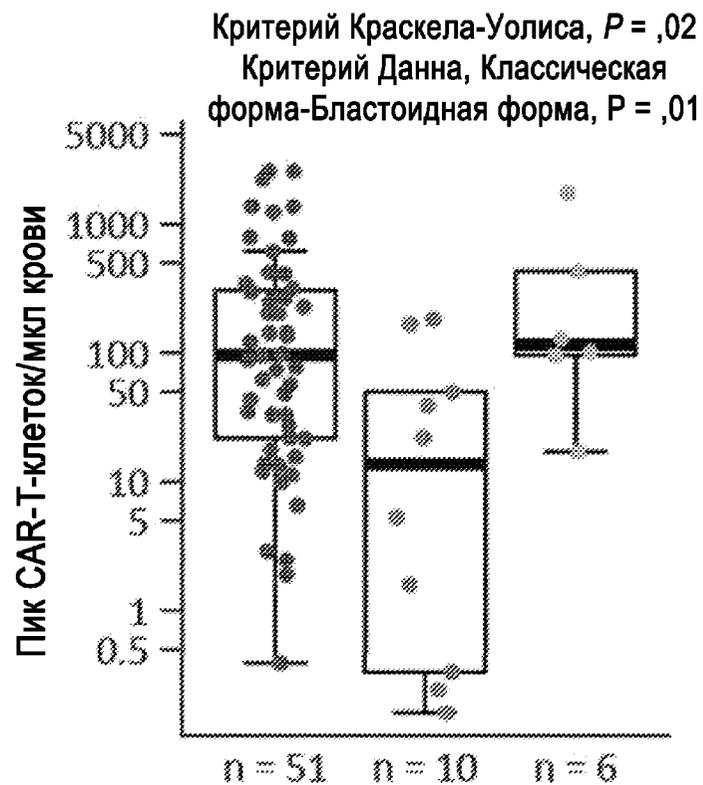
Хемокины



ФИГ. 15

Фармакодинамический профиль

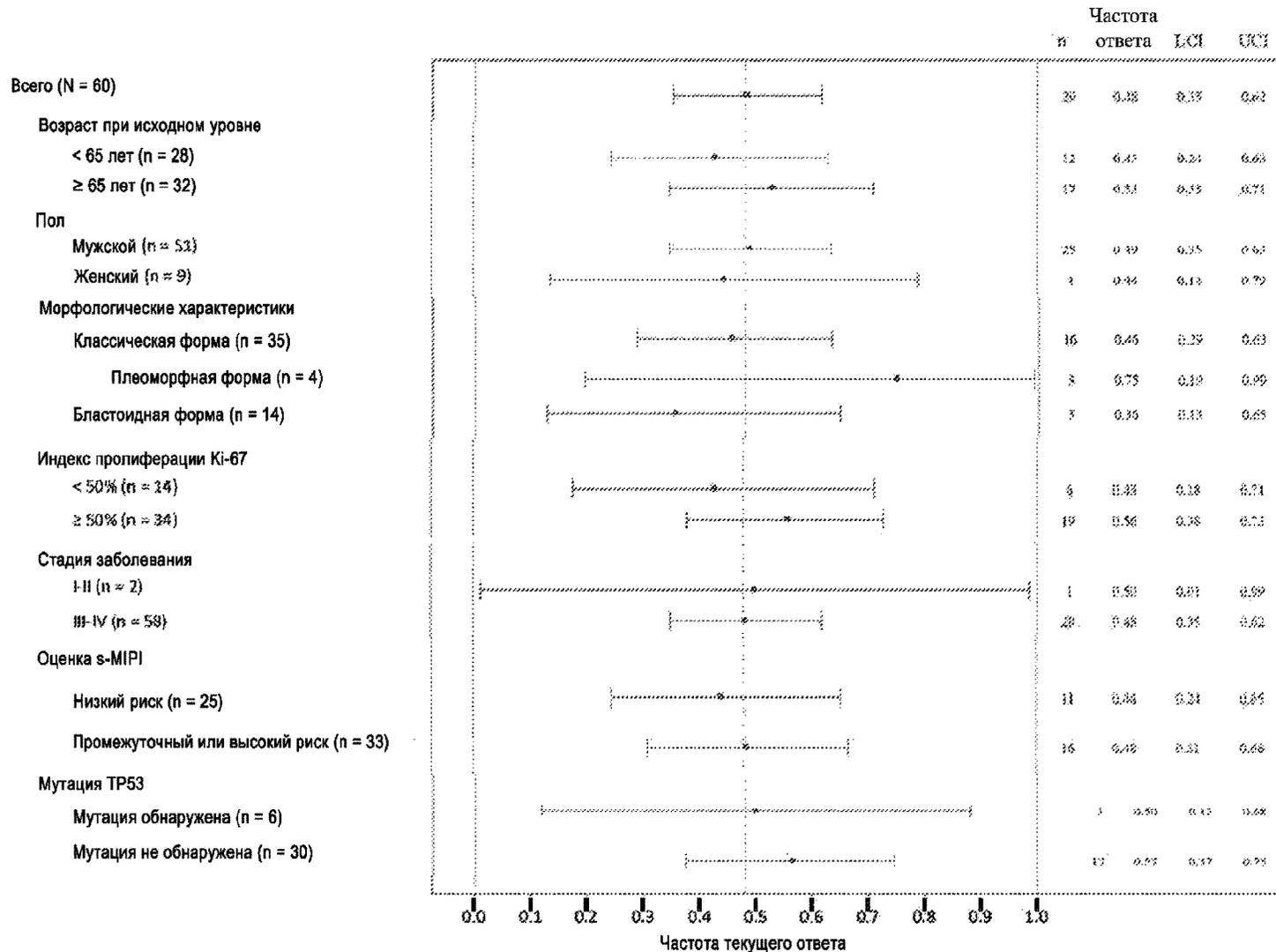
41/44



- Ибрутиниб
- ▨ Акалабрутиниб
- ◆ Оба

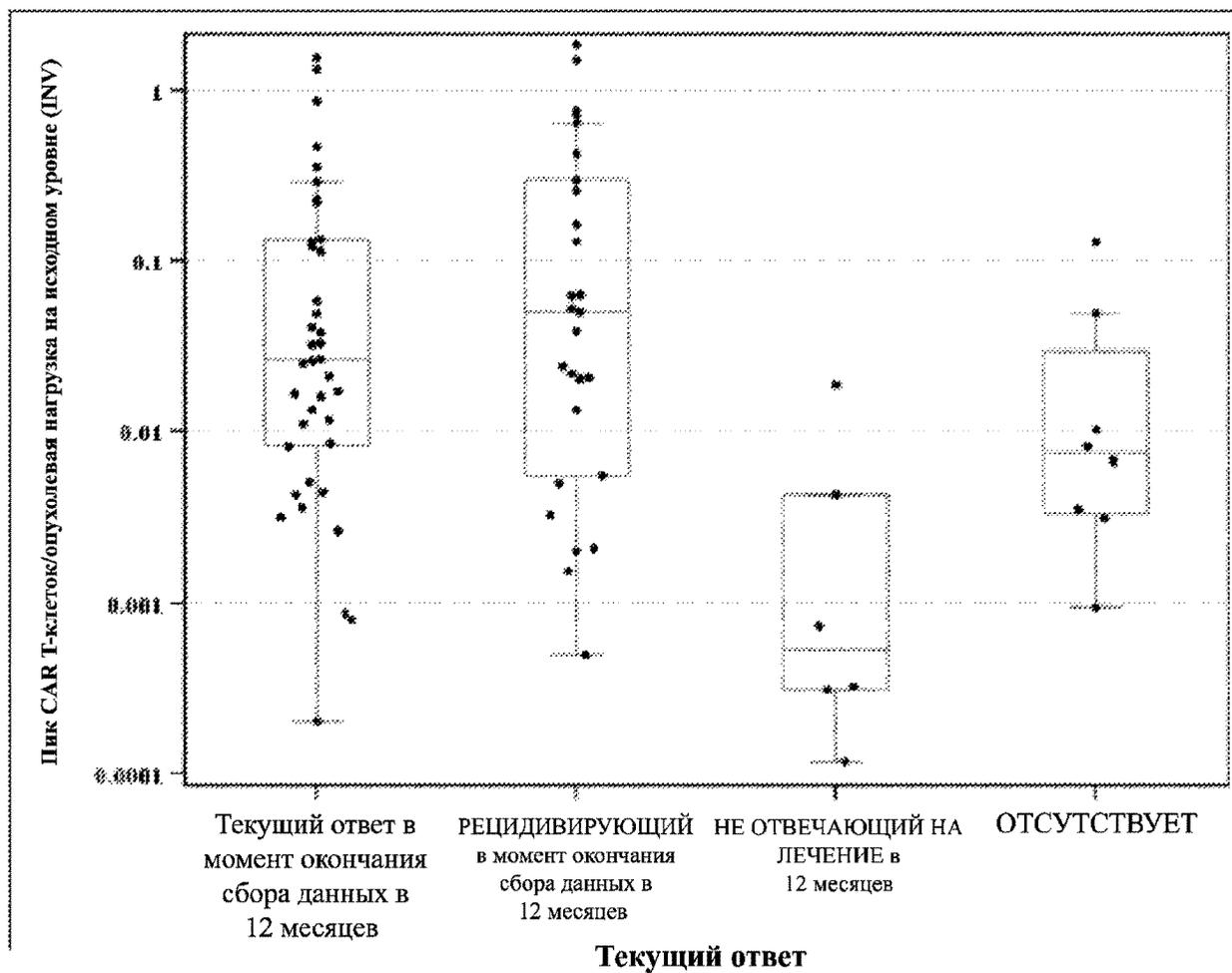
ФИГ. 16

42/44



ФИГ. 17А

43/44



ФИГ. 17В

44/44

