

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202292480 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.10.27

(51) Int. Cl. C12N 5/0783 (2010.01)
A61K 31/573 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2021.02.26

(54) ПОПУЛЯЦИЯ ЛИМФОЦИТОВ И СПОСОБЫ ЕЕ ПОЛУЧЕНИЯ

(31) 62/983,005; 63/009,050; 63/123,054

(72) Изобретатель:

(32) 2020.02.28; 2020.04.13; 2020.12.09

Дейшер Тереза, Маккей Скот Уэйн
(US)

(33) US

(86) PCT/US2021/019773

(74) Представитель:

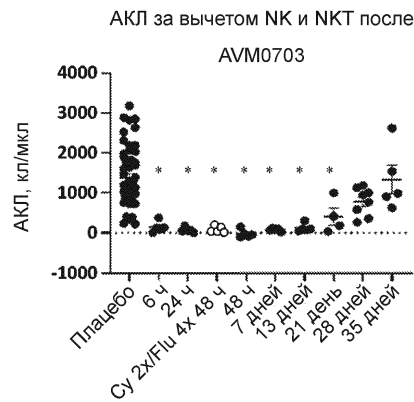
(87) WO 2021/173900 2021.09.02

Нилова М.И. (RU)

(71) Заявитель:

АВМ БАЙОТЕКНОЛОДЖИ, ЛЛС
(US)

(57) Настоящее изобретение относится к новой популяции лимфоцитов, способам их получения и их применению в лечении заболеваний.



202292480 A1

202292480 A1

ПОПУЛЯЦИЯ ЛИМФОЦИТОВ И СПОСОБЫ ЕЕ ПОЛУЧЕНИЯ

Область техники

5 [01] Настоящее изобретение относится к новым популяциям лимфоцитов и иммунных клеток, способам их получения и их применению в лечении заболеваний. Более конкретно, настоящее изобретение относится к способам получения новых популяций естественных киллерных Т-клеток (НКТ-клеток), Т-клеток и дендритных клеток с применением высоких доз глюкокортикоидов и агонистов глюкокортикоидных рецепторов.

10 **Уровень техники**

[02] Авторы настоящего изобретения ранее обнаружили, что высокие концентрации глюкокортикоидов можно использовать для кондиционирования пациентов с целью повышения эффективности клеточной иммунотерапии, такой как адоптивная Т-клеточная терапия; описание приведено в международной заявке на патент PCT/US2018/025517 (опубликована как 15 WO2018/183927). В указанной заявке авторы отмечали токсичность, ассоциированную с опосредованным химиотерапией и облучением прекондиционированием, которая предположительно неизбирательно уничтожает клетки селезенки. Авторы предложили глюкокортикоиды (подкласс стероидов) и другие нетоксичные агенты для лимфодеплеции в острых дозах, для обеспечения преимуществ у пациентов с раком, получающих клеточную 20 иммунотерапию.

[03] В международной заявке на патент PCT/US2019/054395 авторы настоящего изобретения также описали применение высоких концентраций глюкокортикоидов для достижения лимфодеплеции лимфоцитов периферической крови, по существу не затрагивающей количество других клеток. В указанной заявке авторы сообщали, что высокие концентрации 25 глюкокортикоидов могут обеспечивать деплецию лимфоцитов периферической крови, включая, например, специфических островковых аутореактивных Т-клеток, отвечающих за аутоиммунитет при диабете, при сохранении нейтрофилов, тромбоцитов, эритроцитов и стволовых клеток (как ГСК, так и МСК). Авторы предложили глюкокортикоиды в качестве немиелоаблативной схемы, которая может обеспечивать безопасную иммунологическую 30 перезагрузку с эффективностью, сопоставимой с химиотерапией.

- - -

[04] Снижение применения цитотоксической химиотерапии представляет собой первоочередную задачу Национального онкологического института. Карциномы, часто называемые солидными опухолями, составляют 80–90% от общего числа случаев рака, но при 35 этом они оказались сложными мишенями для разрабатываемых новых методов терапии рака. Продемонстрирована значительная успешность Т-клеточной терапии на основе химерных

антигенных рецепторов (CAR) при лечении CD-19-экспрессирующего В-клеточного острого лимфоцитарного лейкоза. Однако имеется ряд препятствий, ограничивающих применение CAR Т-клеточной терапии при солидных опухолях: неэффективное перемещение в опухоль и иммуносупрессивное микроокружение при солидных опухолях ограничивают эффективность Т-клеток. Кроме того, CAR Т-клеточная терапия была ассоциирована с серьезными нежелательными явлениями, в том числе с синдромом высвобождения цитокинов (CRS), нейроотеклом и болезнью «трансплантат против хозяина» (БТПХ).

[05] Естественные киллерные Т-клетки (NKT) представляют собой гетерогенную группу Т-клеток, которые одновременно обладают свойствами Т-клеток и естественных киллерных (NK) клеток. В отличие от стандартных Т-клеток, NKT являются функционально зрелыми, когда покидают тимус, примированными для быстрого продуцирования цитокинов. NKT могут непосредственно убивать экспрессирующие CD1d раковые клетки и макрофаги микроокружения опухоли, быстро продуцировать и высвобождать иммуноактивирующие цитокины, такие как ИФН-гамма и ИЛ-4, и активировать другие иммунные клетки, такие как дендритные клетки (ДК), NK-клетки, а также В- и Т-лимфоциты. В клинике инвариантные NKT (iNKT) применялись для борьбы с разнообразными видами рака, путем инъекций «аутологичных активированных в культуре iNKT», путем введения нагруженных альфа-Gal-Cer (активатор NKT) дендритных клеток или моноцитов для активации эндогенных NKT, или путем введения активирующих NKT антител или лигандов, таких как KRN7000, синтетический аналог альфа-Gal-Cer.

[06] Однако ни один из указанных используемых способов индукции продуцирования iNKT не продемонстрировал эффективности у пациентов с раком; уровни iNKT у пациентов с раком снижены, и клинические испытания не оправдали ожиданий. Аналогично, у пожилых людей уровни iNKT также незначительны (см. источник: Tarazona *et al*, 2003, который включен в настоящий документ полностью посредством ссылки). Применение «аутологичных активированных в культуре NKT» при меланоме было эффективным у 3 из 9 пациентов, причем исход был прямо ассоциирован с количеством инфильтрирующих опухоль NKT (источники: Wolf *et al*, 2018, и Nair *et al*, 2017, включенные в настоящий документ полностью посредством ссылки). Указанный подход, однако, также был ограничен малыми количествами NKT у пациентов с раком, а также пластичностью iNKT в отношении переключения между продуцирующим ИФН-гамма типом 1 и продуцирующим ИЛ-4 стимулирующим опухоль типом 2.

[07] При лечении рака ингибиторы киназ (KI) хорошо переносятся по сравнению со стандартной цитотоксической химиотерапией. Тем не менее, с ингибиторами киназ все же ассоциирована значимая токсичность, в том числе утомляемость, гипертензия, сыпь, нарушение заживления ран, миелосупрессия и диарея, а также аномалии функции щитовидной железы,

метаболизма костей, линейного роста, функции половых желез, развития плода, функции надпочечников и метаболизма глюкозы. Многим пациентам требуется снижение дозы из-за токсичности КИ, которые необходимо принимать постоянно (источник: Lodisch *et al*, 2013, включенный в настоящий документ полностью посредством ссылки). Кроме того, часто встречается устойчивость к КИ, и она развивается со временем в ходе лечения (источник: Bhullar 2018, включенный в настоящий документ полностью посредством ссылки).

[08] Несмотря на усилия, направленные на снижение токсичности, ассоциированной с лечением рака, физическая нагрузка и медицинские расходы, связанные с указанной токсичностью, остаются серьезной проблемой. Например, до 41% пациентов с раком крови решают прекратить прием новых ингибиторов киназ/ протеасом или биологических средств из-за физической токсичности и финансового бремени, ассоциированных с указанными лекарственными средствами (источники: Mato 2018, Kadri 2017, Mato 2016 и Barrett 2010, каждый из которых включен в настоящий документ полностью посредством ссылки).

[09] Т-клетки представляют собой тип лимфоцитов, которые играют ключевую роль в иммунном ответе. Т-клетки отличаются от других типов лимфоцитов присутствием на поверхности Т-клеточных рецепторов. Т-клеточные рецепторы (TCR) отвечают за распознавание фрагментов антигена, связанных с молекулами главного комплекса гистосовместимости (ГКГС), и представляют собой гетеродимеры из двух разных белковых цепей. У человека в 95% Т-клеток TCR состоит из цепи альфа (α) и цепи бета (β) (кодируемых TRA и TRB, соответственно), тогда как в 5% Т-клеток TCR состоит из цепей гамма и дельта (γ/δ) (кодируемых TRG и TRD, соответственно). Указанное соотношение меняется при болезненных состояниях (таких как лейкоз).

[010] В отличие от рестриктированных по ГКГС альфа-бета-Т-клеток гамма-дельта-Т-клеткам не нужны процессинг антигенов и презентация пептидных эпитопов на главном комплексе гистосовместимости (ГКГС) для активации, хотя некоторые распознают молекулы ГКГС класса Ib. Некоторые гамма-дельта-Т-клетки распознают маркеры клеточного стресса, которые появляются в результате инфекции или туморогенеза. Считается, что гамма-дельта-Т-клетки также играют роль в распознавании липидных антигенов.

[011] Гамма-дельта-Т-клетки демонстрируют значительную функциональную пластичность после распознавания инфицированных /трансформированных клеток, продуцируя цитокины (ИФН- γ , ФНО- α , ИЛ-17) и хемокины (RANTES, IP-10, лимфотактин), осуществляя цитотоксический лизис инфицированных или трансформированных целевых клеток (перфорин, гранзимы, TRAIL) и взаимодействие с другими клетками. Было показано, что гамма-дельта-Т-клетки способны распознавать и лизировать разнообразные виды рака неограниченным по ГКГС образом, осуществляют защитную функцию при инфекционном заболевании, и ассоциированы с прогрессированием и прогнозом при различных инфекционных заболеваниях (Gogoi *et al*, 2013;

Pauza et al, 2018; Zheng et al, 2012; Dong et al, 2018; Zhao et al 2018; все включены в настоящий документ полностью посредством ссылки). Некоторые гамма-дельта-Т-клетки могут также вести себя как антигенпрезентирующие клетки в определенных обстоятельствах (Himoudi et al, 2012). Гамма-дельта-Т-клетки, соответственно, представляют значительный интерес для развития иммунотерапии.

[012] Дендритные клетки представляют собой происходящие из костного мозга лейкоциты, и являются наиболее мощными антигенпрезентирующими клетками иммунной системы млекопитающих. Дендритные клетки часто подразделяют на подгруппы стандартных дендритных клеток (сДК) и плазмацитоидных дендритных клеток (пДК). Дендритные клетки существуют преимущественно в двух основных функциональных состояниях: «незрелые» и «зрелые». Активация (созревание) дендритных клеток запускает метаболические, клеточные программы и программы генной транскрипции, позволяющие ДК мигрировать из периферических тканей в Т-зависимые области во вторичных лимфоидных органах, где может происходить активирующая Т-лимфоциты презентация антигена (источник: Patente et al, 2018; включен в настоящий документ полностью посредством ссылки).

[013] Главная функция дендритных клеток заключается в процессинге материала антигенов и презентации его на поверхности клеток Т-клеткам, с инициацией таким образом адаптивных иммунных ответов. Дендритные клетки также продуцируют поляризующие цитокины, которые способствуют дифференцировке и активации патоген-специфических эффекторных Т-клеток, и могут способствовать ауто толерантности, секретировав толерогенные цитокины, которые индуцируют дифференцировку регуляторных Т-клеток. Ввиду указанных иммунных регуляторных функций дендритные клетки представляют значительный интерес для развития иммунотерапии, для лечения состояний, включающих рак, аутоиммунные заболевания и инфекции. Например, положительные по CD11b дендритные клетки были ассоциированы с уменьшенной тяжестью или защитой от инфекции гриппом А (H1N1) и респираторно-синцитиальным вирусом (источники: Lee et al, 2018; Malloy et al, 2017; оба включены в настоящий документ полностью посредством ссылки).

- - -

[014] Коронавирусное заболевание 2019 (COVID-19) представляет собой инфекционное заболевание, вызываемое коронавирусом тяжелого острого респираторного синдрома 2 (SARS-CoV-2). Хотя большинство случаев приводят к умеренным симптомам (которые могут включать жар, кашель и затрудненное дыхания), в некоторых случаях происходит прогрессирование до вирусной пневмонии и мультиорганной недостаточности. Вспышка COVID-19 была объявлена пандемией Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) в марте 2020 г. В апреле 2020 г. число подтвержденных случаев заболевания в мире превысило 1 млн., при этом число летальных исходов превысило 50 000. В апреле 2020 г. не существовало вакцины или специфического

противовирусного лечения для COVID-19, и ведение заболевания заключалось в симптоматическом и поддерживающем лечении.

- - -

[015] Существует потребность в дополнительных вариантах лечения рака, аутоиммунных расстройств и инфекционных (также называемых микробиологическими) заболеваний, которые были бы более безопасны и ассоциированы с меньшей токсичностью и/или большей эффективностью, чем доступные в настоящее время варианты терапии. Требуются более простые, менее токсичные и менее дорогостоящие способы лечения.

10 Краткое описание изобретения

[016] Настоящее изобретение основано на неожиданном открытии того, что, хотя высокие дозы глюкокортикоидов вызывают лимфодеплецию многих типов лимфоцитов периферической крови, они также индуцируют продуцирование / активацию / мобилизацию новой популяции естественных киллерных Т-клеток (НКТ). Наряду со свойствами известных НКТ-клеток, указанная новая популяция НКТ-клеток способна прямо захватывать раковые клетки, что, соответственно, расширяет потенциал применения высоких концентраций глюкокортикоидов в качестве терапевтического лечения солидного рака.

[017] Авторы настоящего изобретения также обнаружили, что после введения высоких доз молекулы глюкокортикоида могут связывать и блокировать молекулы межклеточной адгезии, такие как ICAM3. Указанное связывание является кооперативным; первый Ig-домен ICAM3 связывают до 26 молекул. ICAM3 экспрессируется на значимых уровнях на таких клетках, как лимфоциты, моноциты и нейтрофилы, а также на таких типах раковых клеток, как клетки меланомы и остеосаркомы.

[018] Соответственно, согласно первому аспекту в настоящем изобретении предложен способ получения популяции естественных киллерных Т-клеток (НКТ-клеток), который включает введение субъекту модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента или модулирующего ICAM3 агента (который может представлять собой глюкокортикоид, такой как дексаметазон) в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере приблизительно до 6 мг/кг основания дексаметазона, причем указанный глюкокортикоид индуцирует популяцию НКТ-клеток у указанного субъекта. НКТ-клетки согласно настоящему изобретению демонстрируют новый паттерн экспрессии маркеров. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция НКТ-клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % клеток экспрессируют CD3, CD4, CD8, CD45, CD49b, CD56, CD62L, NK1.1, Ly6G, Sca1 и/или TCR гамма/дельта; и/или не экспрессируют: C-kit, B220, FoxP3 и/или TCR альфа/бета. Согласно некоторым вариантам реализации указанные НКТ-клетки экспрессируют CD3, CD4, CD45, CD49b, CD56, CD62L, NK1.1, Ly6G и Sca1. Согласно

- некоторым вариантам реализации указанные NKT-клетки экспрессируют CD3, CD4, CD45, CD56, CD62L, NK1.1, Ly6G и Sca1. Согласно некоторым вариантам реализации указанные NKT-клетки экспрессируют CD3, CD4, CD45, CD49b, CD62L, NK1.1, Ly6G, и Sca1. Согласно некоторым вариантам реализации указанные NKT-клетки экспрессируют CD3, CD4, CD45, CD49b, CD62L, NK1.1 и Ly6G. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % клеток экспрессируют CD3, CD4, CD8, CD45, CD49b, CD56, CD62L, NK1.1, Ly6G и/или TCR гамма/дельта; и/или не экспрессируют: C-kit, B220, FoxP3 и/или TCR альфа/бета. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % клеток экспрессируют CD3, CD4, CD8, CD45, CD56, CD62L, NK1.1, Ly6G и/или TCR гамма/дельта; и/или не экспрессируют: C-kit, B220, FoxP3 и/или TCR альфа/бета. Согласно некоторым вариантам реализации указанные NKT-клетки не экспрессируют C-kit, B220, FoxP3 или TCR альфа/бета. Согласно некоторым вариантам реализации указанные NKT-клетки не экспрессируют Sca1. Указанные NKT-клетки могут экспрессировать CD8. Указанные NKT-клетки могут не экспрессировать CD8. Указанные NKT-клетки могут экспрессировать CD4. Указанные NKT-клетки могут не экспрессировать CD4. Указанные NKT-клетки могут экспрессировать CD4 и CD8; и/или экспрессируют Ly6G.
- [019]** Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию могут экспрессировать CD3, CD45 и/или CD56. Согласно некоторым таким вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию могут являться CD3+/с ярким свечением или CD3+/с очень ярким свечением, и/или CD45+/с тусклым свечением, и/или CD56+.
- [020]** NKT-клетки могут быть описаны как
- CD4+/с очень ярким свечением;
 - CD8+/с тусклым свечением;
 - CD3+/с очень ярким свечением;
 - CD45+/с тусклым свечением;
 - Sca1+/с очень ярким свечением;
 - CD44+/-;
 - CD69+/-;
 - CD25+/-;
 - TCR-гамма-дельта+; и/или
 - CDd49b+ или CD56+/с ярким свечением.

НКТ-клетки могут быть описаны как имеющие указанные свойства у ранее не стимулированных субъектов. НКТ-клетки могут быть описаны как имеющие указанные свойства в условиях наличия опухоли / рака или аутоиммунитета.

5 **[021]** Уровни экспрессии клеточных маркеров могут быть определены относительно среднего уровня экспрессии в популяции референсных НКТ-клеток, происходящих из общего источника, которые не были приведены в контакт с модулирующим глюкокортикоидный рецептор (ГР) агентом или модулирующего ICAM3 агента. Экспрессия указанных маркеров может быть измерена с помощью проточной цитометрии, например, проведенной с применением оборудования, реагентов и/или условий, описанных в настоящем документе (по отдельности или
10 в комбинации). Указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент или модулирующий ICAM3 агент может представлять собой глюкокортикоид. Согласно некоторым вариантам реализации указанный глюкокортикоид выбран из группы, состоящей из: дексаметазона, гидрокортизона, метилпреднизолона, преднизона, преднизолона, преднилидена, кортизона, будесонида, бетаметазона, флуметазона и беклометазона.

15 **[022]** Согласно предпочтительным вариантам реализации указанный глюкокортикоид выбран из группы, состоящей из: дексаметазона, бетаметазона и метилпреднизона (предпочтительно дексаметазон или бетаметазон).

[023] Согласно некоторым вариантам реализации указанный глюкокортикоид выбран из группы, состоящей из основания дексаметазона, дексаметазона натрия фосфата, дексаметазона
20 гемисукцината, дексаметазона натрия сукцината, дексаметазона сукцината, дексаметазона изоникотината, дексаметазон-21-ацетата, дексаметазона фосфата, дексаметазон-21-фосфата, дексаметазона тебутата, дексаметазон-17-валерата, дексаметазона ацетата моногидрата, дексаметазона пивалата, дексаметазона пальмитата, дексаметазон-21-пальмитата, дексаметазона дипропионата, дексаметазона пропионата, безводного дексаметазона ацетата,
25 дексаметазон-21-фенилпропионата, дексаметазон-21-сульфобензоата, дексаметазона гемисульфата, дексаметазона сульфата, дексаметазонбелоксила, дексаметазоновой кислоты, дексаметазона ацефурата, дексаметазона карбоксимида, дексаметазона ципецилата, динатриевой соли дексаметазон-21-фосфата, дексаметазона мезилата, дексаметазона линолеата, дексаметазона глюкозида, дексаметазона глюкуронида, дексаметазона йодацетата,
30 дексаметазона оксетанона, карбоксиметилтиодексаметазона, дексаметазон-бисэтоксимов, дексаметазон-эпоксида, дексаметазонлинолелаидата, дексаметазона метилортовалерата, дексаметазона спермина, 6-гидроксидексаметазона, дексаметазона трибутилацетата, дексаметазон-аспарагиновой кислоты, дексаметазонгалактопиранозы, дексаметазона гидрохлорида, гидроксидексаметазона, карбоксидексаметазона, дезоксидексаметазона,
35 дексаметазона бутаона, дексаметазона циклодекстрина, дигидродексаметазона, оксидексаметазона, пропионилосидексаметазона, дексаметазона галактозида, дексаметазона

изоникотината, дексаметазона натрия гидрофосфата, альдегида дексаметазона, дексаметазона пивалата, дексаметазона тридецилата, дексаметазона кротоната, дексаметазона метансульфоната, дексаметазона бутилацетата, дегидродексаметазона, простого изотиоцианат-этилового тиоэфира дексаметазона, дексаметазона бромацетата, дексаметазона гемиглютарата, дезоксидексаметазона, дексаметазона хлорамбуцилата, дексаметазона мелфаланата, формилоксидексаметазона, дексаметазона бутирата, дексаметазона лаурата, дексаметазона ацетата, и любого комбинированного лечения, которое включает форму дексаметазона.

[024] Согласно некоторым вариантам реализации указанный глюкокортикоид представляет собой дексаметазон, который представляет собой дексаметазона натрия фосфат.

[025] Способы согласно настоящему изобретению могут задействовать введение конкретной дозы глюкокортикоида. Согласно некоторым вариантам реализации указанный глюкокортикоид вводят в дозе, эквивалентной приблизительно:

- ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) 6–12 мг/кг основания дексаметазона;
- ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере 6 мг/кг основания дексаметазона;
- ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере 12 мг/кг основания дексаметазона;
- ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере 15 мг/кг основания дексаметазона;
- ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере 18 мг/кг основания дексаметазона;
- ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере 21 мг/кг основания дексаметазона;
- ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере 24 мг/кг основания дексаметазона;
- ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) до 45 мг/кг основания дексаметазона.

Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации указанный глюкокортикоид вводят в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека), равной по меньшей мере приблизительно до 18 мг/кг основания дексаметазона. Согласно некоторым другим предпочтительным вариантам реализации указанный глюкокортикоид вводят в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека), равной по меньшей мере приблизительно до 15–18 мг/кг основания дексаметазона.

[026] Доза глюкокортикоида может быть определена как эквивалентная доза для человека (ЭДЧ) дексаметазона со значением в мг/кг, в диапазоне значений в мг/кг, который ограничен двумя из значений в мг/кг из приведенных в пунктах i) – viii) выше. Например, доза

глюкокортикоида может быть определена как ЭДЧ дексаметазона 6–45 мг/кг. Согласно другому примеру доза глюкокортикоида может быть определена как ЭДЧ дексаметазона 12–24 мг/кг.

5 **[027]** Указанный глюкокортикоид может вводиться в виде разовой острой дозы, или в виде общей дозы, которую вводят за период, составляющий приблизительно 72 часа. Кроме того, указанный способ может включать введение одной или более дополнительных доз глюкокортикоида. Согласно некоторым вариантам реализации одну или более дополнительных доз вводят: через 24–120 часов после предшествующего введения глюкокортикоида; через 24–48 часов после предшествующего введения глюкокортикоида; через 72–120 часов после предшествующего введения глюкокортикоида; каждые 24, 48, 72, 96, 120, 144 или 168 часов
10 после первого введения глюкокортикоида; один раз еженедельно после первого введения глюкокортикоида; один раз в две недели после первого введения глюкокортикоида; один раз в месяц после первого введения глюкокортикоида; или два раза в неделю после первого введения глюкокортикоида.

[028] Настоящее изобретение может включать этапы активации NKT-клеток. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации указанные способы могут дополнительно включать этап введения активатора NKT-клеток субъекту. Указанный активатор NKT-клеток может быть выбран из группы, состоящей из: альфа-GalCer, сульфатида или активирующего NKT антитела. Указанный активатор NKT-клеток может представлять собой нагруженные альфа-GalCer дендритные клетки или моноциты. Указанный активатор NKT-клеток может вводиться в
20 пределах 1–48 часов или приблизительно через 1–48 часов после введения глюкокортикоида. Указанный активатор NKT-клеток может вводиться в пределах 48 часов или приблизительно через 48 часов после введения глюкокортикоида.

[029] Согласно некоторым вариантам реализации указанный субъект представляет собой млекопитающее, например, человека.

25 **[030]** Указанный субъект может иметь или предположительно иметь рак, аутоиммунное заболевание или инфекционное заболевание (также называемое микробиологическим заболеванием) (или у него диагностирован рак, аутоиммунное заболевание или инфекционное заболевание). Указанный рак может представлять собой солидную опухоль. Как вариант, указанный рак может представлять собой лимфому, предпочтительно В-клеточную лимфому или Т-клеточную лимфому. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации указанный рак может представлять собой неходжкинскую лимфому.

[031] Указанный рак может быть выбран из группы, состоящей из: плоскоклеточного рака (такого как плоскоклеточный рак эпителия); рака легкого, в том числе мелкоклеточного рака легкого, немелкоклеточного рака легкого, аденокарциномы легкого и плоскоклеточной
35 карциномы легкого; рака брюшины; гепатоцеллюлярного рака; гастрального рака или рака желудка, в том числе рака желудочно-кишечного тракта; рака поджелудочной железы;

глиобластомы; рака шейки матки; рака яичников; рака печени; рака мочевого пузыря; гепатомы; рака молочной железы; рака толстой кишки; рака прямой кишки; рака ободочной и прямой кишки; карциномы эндометрия или матки; карциномы слюнной железы; рака почки или ренального рака; рака предстательной железы; рака вульвы; рака щитовидной железы; карциномы печени; карциномы ануса; карциномы полового члена; и рака головы и шеи.

[032] NKT-клетки согласно настоящему изобретению могут лечить рак *посредством* инфильтрации опухоли. NKT-клетки согласно настоящему изобретению могут лечить рак *посредством* высвобождения иммуноактивирующих цитокинов. NKT-клетки согласно настоящему изобретению могут лечить рак, захватывая и убивая раковые клетки. NKT-клетки согласно настоящему изобретению могут лечить рак, способствуя инфильтрации опухоли другими иммунными клетками. NKT-клетки согласно настоящему изобретению могут лечить рак *посредством* CD1d-направленного апоптоза. NKT-клетки согласно настоящему изобретению могут лечить рак посредством некроза опухоли. NKT-клетки согласно настоящему изобретению могут лечить рак, распознавая высокие уровни фосфоантигенов, продуцируемых опухолевыми клетками, *посредством* экспрессии T-клеточного рецептора гамма-дельта на NKT-клетках согласно настоящему изобретению. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложены способы обеспечения некроза опухоли путем индукции или введения NKT-клеток согласно настоящему изобретению. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложены способы обеспечения CD1d-направленного апоптоза раковых клеток путем индукции или введения NKT-клеток согласно настоящему изобретению. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложены способы захвата и/или киллинга раковых клеток с применением NKT-клеток согласно настоящему изобретению. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложены способы активации фосфоантигенами раковых клеток экспрессирующих гамма-дельта TCR NKT-клеток, которые затем распознают и убивают раковые клетки посредством NK-рецептора (рецепторов) на NKT-клетках.

[033] Согласно вариантам реализации, если субъект имеет, предположительно имеет (или у него было диагностировано) аутоиммунное заболевание, указанное аутоиммунное заболевание может представлять собой рассеянный склероз, системный склероз, амиотрофический боковой склероз, сахарный диабет 1 типа (T1D), склеродермию, пузырчатку или волчанку. Согласно вариантам реализации, когда субъект имеет, предположительно имеет (или у него было диагностировано) инфекционное заболевание, указанное инфекционное заболевание может представлять собой ВИЧ, герпес, гепатит или папилломавирус человека. Согласно некоторым вариантам реализации указанное инфекционное заболевание представляет собой ВИЧ. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации указанное инфекционное заболевание может представлять собой COVID-19 (коронавирус 2019; заболевание, вызываемое коронавирусом 2 тяжелого острого респираторного синдрома, SARS-CoV-2).

[034] Способы согласно настоящему изобретению могут включать этапы выделения и/или размножения. Например, указанный способ может включать этап выделения популяции NKT-клеток от субъекта или из образца, происходящего от субъекта. Необязательно этап выделения может быть проведен по меньшей мере через 48 часов после введения глюкокортикоида; через 5 48 часов – 13 дней после введения глюкокортикоида; или через 6–48 часов после введения глюкокортикоида. Согласно некоторым вариантам реализации (таким как варианты реализации, в которых субъект имеет рак, инфекционное заболевание или микробиологическое заболевание, или аутоиммунное заболевание) этап выделения NKT-клеток может быть выполнен в пределах 3 часов после введения глюкокортикоида, и предпочтительно в пределах 1 часа после введения 10 глюкокортикоида. Образец может быть выбран из группы, состоящей из: крови, плазмы, биоптата опухоли или извлеченной хирургическим путем опухоли, костного мозга, печени, биоптата селезенки, и жировой или адипозной ткани. Согласно некоторым вариантам реализации указанные способы дополнительно включают этап размножения выделенных NKT-клеток. Согласно некоторым вариантам реализации указанный способ включает этап активации 15 выделенных NKT-клеток активатором NKT-клеток. Активатор NKT-клеток может представлять собой цитокин, хемокин, фактор роста и/или модулирующий NKT агент, такой как альфа-GalCer- (альфа-галактозилцерамид; α -GalCer) сульфатид (3-О-сульфогалактозилцерамид; SM4; сульфатированный галактоцереброзид).

[035] Выделенные NKT-клетки согласно настоящему изобретению могут быть дополнительно 20 доконструированы, например, путем трансфекции указанных клеток нуклеиновой кислотой. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации указанный способ дополнительно включает этап введения нуклеиновой кислоты, кодирующей белок, в выделенные NKT-клетки, и культивирования указанных клеток в условиях, облегчающих экспрессию указанного белка. Указанный белок может представлять собой одно или более из: Т-клеточного рецептора (TCR), 25 химерного антигенного рецептора (CAR), «разделяемого, универсального и программируемого» («split, universal and programmable») CAR (SUPRA-CAR). Указанный CAR и/или TCR содержит антигенсвязывающий домен, который связывается с антигеном, выбранным из группы, состоящей из: CD19, CD20, CD22, GD2, CD133, рЭФР, GPC3, КЭА, MUC1, мезотелина, ИЛ-13R, PCMA, ROR1, CAIX, Her2.

[036] NKT-клетки согласно настоящему изобретению находят применение в медицине. 30 Например, выделенные NKT-клетки согласно настоящему изобретению могут применяться в медицинских целях, например, в лечении рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания (также называемого микробиологическим заболеванием) у субъекта. Согласно указанным вариантам реализации способ может включать введение терапевтически 35 эффективной дозы NKT-клеток, выделенных посредством способов согласно описанию в настоящем документе, субъекту, страдающему одним из вышеупомянутых заболеваний.

Согласно некоторым вариантам реализации субъект, которому вводят выделенные НКТ-клетки, представляет собой того же субъекта, из организма которого выделили указанные НКТ-клетки. Как вариант, субъект, которому вводят выделенные НКТ-клетки, представляет собой не того субъекта, из организма которого выделили указанные НКТ-клетки.

5 [037] НКТ-клетки вводят субъекту способом, выбранным из группы, состоящей из: внутривенной инъекции, внутривентрикулярной инъекции, внутривентрикулярной инъекции, интратекальной инъекции, инъекции в спинномозговую жидкость (СМЖ), прямой инъекции в опухоль, и в виде геля, размещаемого на солидной опухоли или возле нее.

10 [038] Настоящее изобретение также охватывает применение глюкокортикоида при изготовлении медикамента для применения в способе лечения согласно описанию в настоящем документе.

[039] Настоящее изобретение также охватывает применение дексаметазона или другого глюкокортикоида для индукции популяции НКТ-клеток, причем указанную популяцию НКТ-клеток индуцируют способом, соответствующим любому из пунктов 101–148.

15 [040] Настоящее изобретение также охватывает применение дексаметазона или другого глюкокортикоида для мобилизации популяции НКТ-клеток, причем в указанной популяции НКТ-клетки мобилизуют способом, соответствующим любому из пунктов 101–148.

[041] Также предложены индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, которые происходят из НКТ-клеток согласно настоящему изобретению. Соответственно, согласно 20 одному аспекту в настоящем изобретении предложен способ получения индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (иПСК), который включает перепрограммирование НКТ-клеток, выделенных способом согласно описанию в настоящем документе, для получения иПСК. Перепрограммирование может включать введение одной или более нуклеиновых кислот, кодирующих Oct3/4, Klf4, Sox2 и С-мус, в НКТ-клетки. Указанная нуклеиновая кислота может 25 представлять собой ДНК (например, экспрессионная ДНК-кассета) или молекула РНК. Перепрограммирование может дополнительно включать введение одной или более экспрессионных кассет, кодирующих одно или более из: Sox1, Sox3, Sox15, Klf1, Klf2, Klf5, L-мус, N-мус, Nanog и/или LIN28, в НКТ-клетки. Перепрограммирование может дополнительно включать введение одной или более из: мРНК, кодирующей Sox1, Sox3, Sox15, Klf1, Klf2, Klf5, 30 L-мус, N-мус, Nanog и/или LIN28, в НКТ-клетки. Указанные иПСК могут затем быть индуцированы для дифференцировки, например, в НКТ-клетки или в линию НКТ-клеток.

[042] Настоящее изобретение также обеспечивает выделенную естественную киллерную Т-клетку (НКТ-клетку) или популяцию естественных киллерных Т-клеток (НКТ-клеток), полученных способом согласно описанию в настоящем документе. Вместе с этим, НКТ-клетки 35 согласно настоящему изобретению могут быть определены исходя из их профиля (профилей) экспрессии, который может соответствовать описанию в тексте настоящего документа.

Например, в настоящем изобретении предложена выделенная естественная киллерная Т-клетка (NKT-клетка), характеризующаяся тем, что указанная клетка экспрессирует CD3 и необязательно экспрессирует одно или более из CD4, CD8, CD45, CD49b, CD56, CD62L, NK1.1, Ly6G, Sca1 и/или TCR гамма/дельта; и/или не экспрессирует: C-kit, B220, FoxP3 и/или TCR альфа/бета. Выделенная естественная киллерная Т-клетка (NKT-клетка) может быть получена от не имеющего заболевания субъекта.

[043] NKT-клетка или ее предшественник могут быть выделены из организма субъекта, причем указанная NKT-клетка или предшественник указанной NKT-клетки был(а) приведен(а) в контакт с высокой дозой модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента или модулирующего ICAM3 агента либо *in vivo* до выделения, либо *in vitro* после выделения, и при этом уровень экспрессии CD3 по меньшей мере в два раза выше, чем средний уровень экспрессии CD3 в популяции референсных NKT-клеток от субъекта. NKT-клетка или ее предшественник могут быть выделены из организма субъекта, причем указанная NKT-клетка или предшественник указанной NKT-клетки был(а) приведен(а) в контакт с высокой дозой модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента или модулирующего ICAM3 агента либо *in vivo* до выделения, либо *in vitro* после выделения, и при этом уровень экспрессии CD3 по меньшей мере в два раза выше, чем средний уровень экспрессии CD3 в популяции референсных NKT-клеток от субъекта, которые не были приведены в контакт с модулирующим ГР агентов или модулирующим ICAM3 агентом.

[044] Уровни экспрессии CD3 указанной выделенной NKT-клеткой и указанной популяцией референсных NKT-клеток может быть измерен любым способом, известным в данной области техники, например, с помощью проточной цитометрии. (Уровни экспрессии CD3 указанной выделенной NKT-клеткой и уровни экспрессии CD3 указанной популяцией референсных NKT-клеток необходимо измерять с применением одного и того же способа.) Если для измерения уровней экспрессии маркеров, таких как CD3, применяют проточную цитометрию, оборудование, реагенты и/или условия, описанные в настоящем документе, могут применяться в сочетании с любыми способами и протоколами, известными в данной области техники.

[045] Выделенная NKT-клетка согласно настоящему изобретению может демонстрировать уровни экспрессии CD3, которые по меньшей мере в три раза, по меньшей мере в четыре раза или по меньшей мере в пять раз выше, чем средний уровень экспрессии CD3 в популяции референсных NKT-клеток. Указанная популяция референсных NKT-клеток может быть получена от того же субъекта до воздействия глюкокортикоидом.

[046] В настоящем изобретении также предложена выделенная популяция естественных киллерных Т-клеток (NKT-клеток). Выделенная популяция NKT-клеток может быть определена исходя из профиля (профилей) экспрессии, который может соответствовать описанию в тексте настоящего документа. Например, выделенная популяция естественных киллерных Т-клеток

(NKT-клеток) может характеризоваться тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % клеток экспрессируют CD3 и/или экспрессируют что-либо одно или более из CD4, CD8, CD45, CD49b, CD56, CD62L, NK1.1, Ly6G, Sca1 и TCR гамма/дельта; и/или не экспрессируют: C-kit, B220, FoxP3 и/или TCR альфа/бета. У человека NKT-клетки могут экспрессировать CD56 вместо CD49b или наряду с CD49b. Указанные NKT-клетки могут не экспрессировать Sca1. Соответственно, указанные NKT-клетки могут экспрессировать CD3 и/или экспрессировать что-либо одно или более из CD4, CD8, CD45, CD49b, CD62L, NK1.1, Ly6G, Sca1 и TCR гамма/дельта. Указанные NKT-клетки могут экспрессировать CD3 и/или экспрессировать что-либо одно или более из CD4, CD8, CD45, CD56, CD62L, NK1.1, Ly6G, Sca1 и TCR гамма/дельта. Указанные NKT-клетки могут экспрессировать CD3 и/или экспрессировать что-либо одно или более из CD4, CD8, CD45, CD49b, CD62L, NK1.1, Ly6G и TCR гамма/дельта. Указанные NKT-клетки могут экспрессировать CD3 и/или экспрессировать что-либо одно или более из CD4, CD8, CD45, CD56, CD62L, NK1.1, Ly6G и TCR гамма/дельта. Согласно настоящему изобретению предложен глюкокортикоид для применения в способе лечения рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания (также называемого микробиологическим заболеванием) у субъекта, при этом указанный способ включает введение глюкокортикоида субъекту в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека), равной приблизительно до 6–45 мг/кг дексаметазона, причем указанный глюкокортикоид индуцирует / активирует / мобилизует популяцию NKT-клеток по настоящему изобретению согласно определению в настоящем документе. Например, согласно настоящему изобретению предложен глюкокортикоид для применения в способе индукции некроза опухоли, обеспечения инфильтрации опухоли NKT, высвобождения иммуноактивирующих цитокинов, захвата и киллинга опухолевых клеток, содействия инфильтрации опухоли другими иммунными клетками и/или обеспечения CD1d-направленного апоптоза у пациента с раком, при этом указанный способ включает введение глюкокортикоида субъекту в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека), равной приблизительно до 6–45 мг/кг дексаметазона, для индукции популяции NKT-клеток по настоящему изобретению согласно определению в настоящем документе. Например, согласно настоящему изобретению предложен глюкокортикоид для применения в способе индукции некроза опухоли, обеспечения инфильтрации опухоли NKT-клетками, высвобождения иммуноактивирующих цитокинов, захвата и киллинга опухолевых клеток, содействия инфильтрации опухоли другими иммунными клетками и/или обеспечения CD1d-направленного апоптоза у пациента с раком, при этом указанный способ включает введение глюкокортикоида пациенту в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека), равной приблизительно до 6–45 мг/кг дексаметазона, для мобилизации популяции NKT-клеток по настоящему изобретению согласно определению в настоящем документе. Например, согласно настоящему изобретению предложен глюкокортикоид для применения в способе индукции гибели вируса, обеспечения мобилизации

НКТ, высвобождения иммуноактивирующих цитокинов, захвата и киллинга инфицированных вирусом клеток, содействия инфильтрации другими иммунными клетками инфицированных вирусом органов, при этом указанный способ включает введение глюкокортикоида субъекту в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека), равной приблизительно до 6–45 мг/кг дексаметазона, для индукции популяции НКТ-клеток по настоящему изобретению согласно определению в настоящем документе. ЭДЧ дексаметазона может принимать любое значение из диапазона значений, указанных в настоящем документе.

Краткое описание чертежей

10 [047] Варианты реализации и эксперименты, иллюстрирующие принципы настоящего изобретения, описаны ниже с отсылками на следующие сопровождающие чертежи:

[048] Фиг. 1. Острая высокая доза дексаметазона уменьшает количество лимфоцитов у мышей. Абсолютные количества лимфоцитов (АКЛ за вычетом НК- и НКТ-клеток), измеренные с применением общего анализа крови (кл/мкл = абсолютные количества, полученные на основании ОАК) через 6 часов, 24 часа, 48 часов, 7 дней, 13 дней и 21 день после введения высокой дозы дексаметазона (ЭДЧ 18 мг/кг дексаметазона фосфата (ДФ)), значимо снижены по сравнению с плацебо. Через 6 и 48 часов после введения наблюдается почти полная лимфоабляция, причем эффект сопоставим с достигаемым при стандартной химиотерапии Су/Flu (ЭДЧ 13 мг/кг циклофосамида и ЭДЧ 0,8 мг/кг флударабина).

20 [049] Фиг. 2. Острая высокая доза дексаметазона снижает количества В-лимфоцитов у мышей. Количество В-лимфоцитов, измеренные с применением общего анализа крови (кл/мкл = абсолютные количества, полученные на основании ОАК) через 6 часов, 24 часа, 48 часов, 7 дней, 13 дней и 21 день после введения высокой дозы дексаметазона (18 мг/кг ЭДЧ ДФ), значимо снижены по сравнению с плацебо. Лимфоаблативный эффект в отношении В-лимфоцитов сопоставим с достигаемым при стандартной химиотерапии Су/Flu (ЭДЧ 13 мг/кг циклофосамида и ЭДЧ 0,8 мг/кг флударабина).

30 [050] Фиг. 3. Острая высокая доза дексаметазона уменьшает количества моноцитов у мышей. Количество моноцитов, измеренные с применением общего анализа крови (кл/мкл = абсолютные количества, полученные на основании ОАК) через 6 часов, 24 часа и 48 часов после введения высокой дозы дексаметазона (18 мг/кг ЭДЧ ДФ), значимо снижены по сравнению с плацебо. Аблативный эффект в отношении моноцитов превосходит достигаемый при стандартной химиотерапии Су/Flu (ЭДЧ 13 мг/кг циклофосамида и ЭДЧ 0,8 мг/кг флударабина).

35 [051] Острая высокая доза дексаметазона уменьшает количество нейтрофилов у мышей. Количество нейтрофилов, измеренные с применением общего анализа крови (кл/мкл = абсолютные количества, полученные на основании ОАК) через 6 часов, 24 часа и 48 часов после

введения высокой дозы дексаметазона (ЭДЧ 18 мг/кг ДФ), значимо снижены по сравнению с плацебо.

5 **[052] Фиг. 5.** Острая высокая доза дексаметазона не затрагивает тромбоциты мыши. Острая высокая доза дексаметазона (ЭДЧ 18 мг/кг ДФ) не влияет на количества тромбоцитов, измеренные с применением общего анализа крови (кл/мкл = абсолютные количества, полученные на основании ОАК). Острая высокая доза дексаметазона, соответственно, устраняет необходимость трансфузии и обеспечивает более безопасную, нетоксичную альтернативу химиотерапевтическим схемам.

10 **[053] Фиг. 6.** Острая высокая доза дексаметазона не затрагивает гематопозитические стволовые клетки. Показано количество живых гематопозитических стволовых клеток, измеренное в точках времени через 6 часов – 35 дней после введения ранее не стимулированным мышам плацебо или острой высокой дозы дексаметазона. Острая высокая доза дексаметазона (18 мг/кг ЭДЧ ДФ) значимо не изменяет число живых гематопозитических стволовых клеток. Немиелоаблативная схема, представленная острой высокой дозой дексаметазона, может, соответственно, устранять
15 необходимость трансфузии стволовых клеток для восстановления гематопоза после перезагрузки иммунитета.

[054] Фиг. 7. Острая высокая доза дексаметазона индуцирует положительную регуляцию НКТ (фиг. 7) и продуцирование новой популяции НКТ-клеток (AVM-НКТ). Общие количества НКТ-клеток, измеренные с применением общего анализа крови (кл/мкл = абсолютные количества,
20 полученные на основании ОАК) через 6 часов и 24 часа после введения высокой дозы дексаметазона (18 X мг/кг ЭДЧ ДФ), снижены по сравнению с плацебо. Неожиданным образом, через 48 часов после введения высокой дозы дексаметазона общие количества НКТ-клеток, измеренные в ходе общего анализа крови, увеличивались, после чего постепенно снижались в течение примерно до 13 дней после введения высокой дозы дексаметазона. При проведении
25 стандартной химиотерапии Су/Flu (ЭДЧ 13 мг/кг циклофосфамида и ЭДЧ 0,8 мг/кг флударабина) такого увеличения количества НКТ-клеток через 48 часов после лечения не наблюдалось.

[055] Фиг. 8. После введения высокой дозы дексаметазона в периферической крови могут быть идентифицированы две популяции НКТ. При исследовании периферической крови с
30 помощью проточной цитометрии после введения острой высокой дозы дексаметазона идентифицировано две популяции НКТ-клеток: НКТ-клетки, определяемые как CD3_(умеренн.)CD49b⁺ (CD56 у человека), соответствующие ранее описанным НКТ-клеткам (центральный прямоугольный гейт); и новая популяция НКТ-клеток, определенная как CD3_(ярк.)CD49b⁺ (CD56 у человека; AVM-НКТ-клетки; центральный правый прямоугольный
35 гейт). AVM-НКТ-клетки представляют собой клетки CD49b⁺ (CD56 у человека) и CD3 с очень

ярким свечением по сравнению с известными NKT-клетками, которые экспрессируют CD3 со средней интенсивностью флуоресценции (MFI) на 0,5–1 log ниже, чем у AVM-NKT.

[056] Фиг. 9. Временная динамика положительной регуляции AVM-NKT. Количественное определение AVM-NKT-клеток на мл крови с применением ОАК и результатов проточной цитометрии. Очевидно наличие AVM-NKT-клеток в крови не стимулированных ранее мышей между 48 часами – 13 днями после лечения одной высокой дозой дексаметазона (ЭДЧ 18,1 мг/кг ДФ РО); * = статистически значимый.

[057] Фиг. 10. Изменения в окружении опухоли A20, индуцированные лечением высокими дозами дексаметазона (ЭДЧ 18 мг/кг ДФ). Через 48 часов очевиден усиленный некроз в опухолях у мышей, получавших высокие дозы дексаметазона, по сравнению с плацебо.

[058] Фиг. 11. Острая высокая доза дексаметазона (AVM0703; ЭДЧ 18,1 мг/кг РО) значимо задерживает рост В-клеточной лимфомы A20 по сравнению с плацебо. Дни дозирования высокой дозой дексаметазона или плацебо отмечены стрелками.

[059] Фиг. 12. Временная динамика процентов типичных клеток NKT (не-AVM NKT; слева) или AVM-NKT (справа) от ранее не стимулированных самцов мышей C57Bl/6 после однократной пероральной дозы 15 мг/кг основания дексаметазона, измеренных с применением проточной цитометрии, положительных по CD4. Столбцы соответствуют среднему значению для каждой точки времени.

[060] Фиг. 13. Временная динамика процента типичных NKT (не-AVMNKT; слева) или AVM-NKT (справа) клеток у ранее не стимулированных самцов мышей C57Bl/6 после однократной пероральной дозы основания дексаметазона 15 мг/кг, измеренных с помощью проточной цитометрии, положительных по CD8. Столбцы соответствуют среднему значению для каждой точки времени.

[061] Фиг. 14. Временная динамика процента типичных NKT (не являющихся AVMNKT; слева) или AVM-NKT (справа) клеток от ранее не стимулированных самцов мышей C57Bl/6 после однократной пероральной дозы основания дексаметазона 15 мг/кг, измеренных с помощью проточной цитометрии, дважды положительных по CD4 и CD8 (сверху слева), положительных только по CD8 (сверху справа), положительных только по CD4 (снизу слева), или дважды положительных по CD4 и CD8 (снизу справа). Столбцы соответствуют среднему значению для каждой точки времени.

[062] Фиг. 15. Временная динамика медианной интенсивности флуоресценции (MFI) (верхний график) и среднего арифметического значения интенсивности флуоресценции (нижний график) положительных по CD3 клеток для типичных NKT (слева) или AVM-NKT (справа) клеток от ранее не стимулированных самцов мышей C57Bl/6 после однократной пероральной дозы основания дексаметазона 15 мг/кг, измеренных с помощью проточной цитометрии. Типичные NKT-клетки представляют собой положительные по CD49b (CD56 у человека) клетки с MFI,

эквивалентной MFI AVM-NKT-клеток. Столбцы соответствуют среднему значению для каждой точки времени.

[063] Фиг. 16. Временная динамика медианной интенсивности флуоресценции (MFI) (верхний график) и среднего арифметического значения интенсивности флуоресценции (нижний график) положительных по CD4 клеток для типичных NKT (слева) или AVM-NKT (справа) клеток от ранее не стимулированных самцов мышей C57Bl/6 после однократной пероральной дозы основания дексаметазона 15 мг/кг, измеренных с помощью проточной цитометрии. Типичные NKT-клетки представляют собой клетки, положительные по CD49b (CD56 у человека), с MFI, эквивалентной MFI AVM-NKT-клеток, но положительные по CD3 с MFI приблизительно на 1 log ниже, чем у AVM-NKT-клеток. Столбцы соответствуют среднему значению для каждой точки времени.

[064] Фиг. 17. Временная динамика медианной интенсивности флуоресценции (MFI) (верхний график) и среднее арифметическое значение интенсивности флуоресценции (нижний график) положительных по CD8 клеток для типичных NKT (слева) или AVM-NKT (справа) клеток от ранее не стимулированных самцов мышей C57Bl/6 после однократной пероральной дозы основания дексаметазона 15 мг/кг, измеренных с помощью проточной цитометрии. Типичные NKT-клетки представляют собой клетки, положительные по CD49b (CD56 у человека) с MFI, эквивалентной MFI AVM-NKT-клеток, но при этом положительные по CD3 с MFI приблизительно на 1 log ниже, чем у AVM-NKT-клеток. Столбцы соответствуют среднему значению для каждой точки времени.

[065] Фиг. 18. Среднюю интенсивность флуоресценции при экспрессии Ly6G на всех CD45 с тусклым свечением и положительных клетках от получавшей плацебо или лечение ЭДЧ 15 мг/кг основания дексаметазона мыши через 48 часов после дозирования измеряли с помощью проточной цитометрии (MacQuant, Miltenyi). У получавших лечение дексаметазоном мышей имелась популяция клеток CD45 с тусклым свечением или положительных клеток, которые экспрессируют Ly6G на значительно более высоких уровнях (MFI приблизительно 104), чем большинство положительных по CD45 клеток (MFI приблизительно 103). Положительные по Ly6G клетки с MFI 104 от получавшей лечение дексаметазоном мыши также экспрессируют CD3 на очень высоком уровне (MFI приблизительно на 1 log выше, чем у Т-лимфоцитов и других NKT-клеток) и также являются положительными по CD49b (CD56 у человека).

[066] Фиг. 19. AVM_NKT экспрессируют Ly6G для противоопухолевых, противовирусных и антибактериальных ответов. На диаграмме рассеяния отмечена интенсивность флуоресценции CD3 по оси X и интенсивность флуоресценции Ly6G по оси Y для всех положительных по CD45 клеток через 48 часов после дозирования ЭДЧ 18,1 мг/кг AVM0703. AVM_NKT выделены черным цветом. Диаграммы рассеяния CD3 и Ly6G для плацебо наложены одна на другую в области, обведенной черным, для сравнения.

[067] Фиг. 20. После лечения высокой дозой дексаметазона в периферической крови может быть идентифицирована новая популяция Т-клетки с CD3 на очень высоком уровне. При исследовании периферической крови с помощью проточной цитометрии после введения острой высокой дозы дексаметазона идентифицировано две популяции NKT-клеток: NKT-клетки, определяемые как CD3_(умеренн.)CD49b⁺, соответствующие ранее описанным NKT-клеткам (центральный прямоугольный гейт); новая популяция NKT-клеток, определяемая как CD3_(ярк.)CD49b⁺ (AVM-NKT-клетки; центральный правый прямоугольный гейт), а также новые Т-клетки с CD3 на очень высоком уровне (обведены черным кружком).

[068] Фиг. 21. Высокая доза дексаметазона индуцирует / активирует / мобилизует новую популяцию дендритных клеток с CD11b на очень высоком уровне. Дендритные клетки с CD11b на очень высоком уровне экспрессируют CD11b на уровне приблизительно на 1 log выше, чем стандартные CD11b⁺ дендритные клетки. Высокая доза дексаметазона также увеличивает количество стандартных CD11b⁺ дендритных клеток.

[069] Фиг. 22. AVM0703 (18 мг/кг ЭДЧ дексаметазона фосфата (ДФ)) задерживает рост В-лимфомы A20 в модели на мышах. Показаны средние групповые объемы опухолей на протяжении исследования. Стрелками отмечены дни, в которые дозировали мышей. На графике видно явное разделение получавших плацебо (n = 4) и лечение AVM0703 (n = 5) мышей на протяжении исследования.

[070] Фиг. 23. AVM0703 задерживает достижение конечной точки и ликвидирует опухолевые клетки A20 в модели лимфомы A20 у мышей. (А) Изображения представлены 2X светлопольными микроскопическими снимками, показывающими, что рост опухоли у получавших лечение AVM0703 мышей представлял собой псевдорост, а не истинный рост опухоли, поскольку опухоли у получавших лечение AVM0703 мышей были в значительной степени некротическими, и даже в области без полного некроза отсутствовали явно видимые опухолевые клетки. (В) Кривая конечных точек для исследуемых мышей, где по оси X отмечены дни после инокуляции. Медиана периода времени до достижения конечной точки у получавших плацебо мышей составляла 22 дня, а медиана периода времени до достижения конечной точки получавших лечение AVM мышей составляла 41 день. Анализ Каплана-Майера определил, что период времени до достижения конечной точки получавших лечение AVM мышей был значительно длиннее (**p<0,01). (С) Светлопольные изображения толстых срезов опухолей. Визуальное исследование опухолей указывало на различия между получавшими плацебо и лечение AVM0703 мышей. Соответственно, получали толстые срезы опухолей и изучали их под микроскопом в светлом поле. Опухоли от получавших плацебо мышей (с левой стороны) имели в значительной степени клеточное строение и содержали только незначительные области некроза, тогда как опухоли от получавших лечение AVM0703 мышей (в правой стороны) были в основном некротическими и бесклеточными.

[071] Фиг. 24. При повторном дозировании AVM0703 (ЭДЧ 18 мг/кг дексаметазона фосфата (ДФ)), до 7 доз, масса тела не снижается. График средней массы тела для каждой группы мышей (n = 4: плацебо, n = 5: AVM0703) на протяжении исследования. Стрелками под осью X отмечены дни дозирования. Пунктирной линией обозначено 20% снижение средней массы тела всех мышей в начале исследования. Одна мышь достигла порогового значения после получения 8 доз и была умерщвлена.

[072] Фиг. 25. Отношение массы органов к массе тела в конечной точке исследования. Графики отношения массы органов к массе тела. Масса ободочной кишки была значимо выше у получавших лечение AVM0703 мышей (n = 5) по сравнению с получавшими плацебо (n = 4); однако это может быть обусловлено существенно бóльшим возрастом получавших лечение AVM0703 мышей при умерщвлении (на 14–40 дней старше, чем получавшие плацебо мыши при умерщвлении). *p<0,1.

[073] Фиг. 26. Продолжительность восприимчивости к повторным введениям AVM0703, определяемая по снижению массы селезенки и вилочковой железы. Мышей BALB/c случайным образом распределяли в 2 группы и проводили лечение перорально ЭДЧ 18,06 мг/кг AVM0703 ДФ (n = 5) или плацебо (n = 4). График отношения массы селезенки (слева) и вилочковой железы (справа) к массе тела в зависимости от числа дней после введения последней дозы AVM0703. Число возле каждой точки соответствует общему числу доз AVM0703, полученных до достижения мышью конечной точки исследования. Пунктирной линией обозначено среднее отношение массы селезенки или вилочковой железы к массе тела после лечения плацебо. AVM0703 продолжает оказывать влияние и на вилочковую железу, и на селезенку вплоть до введения 7 доз, при этом масса селезенки и вилочковой железы снижается по сравнению с группой плацебо на 1 и 3 дни после дозирования, и почти полностью возвращается к значениям в группе плацебо через 6 дней после введения 7-й дозы. Обусловленное AVM0703 снижение массы селезенки и вилочковой железы, по-видимому, исчезает после введения 8 доз. Ср. = среднее; ДФ = дексаметазона фосфат; ЭДЧ = эквивалентная доза для человека.

[074] Фиг. 27. Опухоли, окрашенные Гематоксилином и Эозином и визуализированные при увеличении 20X. Звездочками отмечены области некроза. Черными стрелками обозначены области неопластического роста с распространением в направлении, указанном стрелками. А. 0 мг/кг ДФ; В. 7 мг/кг ДФ; С. 18 мг/кг ДФ; Е. 25 мг/кг ДФ; области красного цвета соответствуют кровоизлиянию; Е. Средние показатели патологии с усреднением по опухолям, где n = 2 опухоли, ДФ = дексаметазона фосфат.

[075] Фиг. 28. Опухолевая экспрессия CD3. Изображения опухолей, окрашенных при иммуногистохимическом исследовании на CD3 и визуализированных при увеличении 100X. Черными стрелками отмечена инфильтрация CD3+ круглыми клетками в направлении, указанном стрелками. «N» обозначает области неопластического роста. А. 0 мг/кг ДФ, «КС»

обозначает кровеносные сосуды; В. 7 мг/кг ДФ; С. 18 мг/кг ДФ; D. 25 мг/кг ДФ. ДФ = дексаметазона фосфат.

5 **[076] Фиг. 29.** Опухолевая экспрессия NKp46. Изображения опухолей, окрашенных при иммуногистохимическом исследовании на маркер NK-клеток NKp46 и визуализированных при увеличении 100X. Звездочками обозначены зоны некроза. Черными стрелками отмечены примеры клеток, положительных по NKp46. «N» обозначает области неопластического роста. А. 0 мг/кг ДФ; В. 7 мг/кг ДФ; С. 18 мг/кг ДФ; D. 25 мг/кг ДФ. ДФ = дексаметазона фосфат; NK = естественные киллерные клетки.

10 **[077] Фиг. 30.** Опухолевая экспрессия CD49b. Изображения опухолей, окрашенных при иммуногистохимическом исследовании на CD49b и визуализированных при увеличении 100X. Черными стрелками отмечены примеры клеток, положительных по CD49b. Голубыми стрелками отмечены кровеносные сосуды или эндотелиальные клетки, помеченные как CD49b. «N» обозначает области неопластического роста. А. 0 мг/кг ДФ; В. 7 мг/кг ДФ; С. 18 мг/кг ДФ; D. 25 мг/кг ДФ. ДФ = дексаметазона фосфат.

15 **[078] Фиг. 31.** Апоптоз опухолей. Изображения опухолей, окрашенных при иммуногистохимическом исследовании на маркер апоптоза каспазу 3 и визуализированных при увеличении 40X. Звездочками обозначены зоны некроза. Черными стрелками отмечены примеры клеток, положительных по каспазе 3. «N» обозначает области неопластического роста. А. 0 мг/кг ДФ; В. 7 мг/кг ДФ; С. 18 мг/кг ДФ; D. 25 мг/кг ДФ. ДФ = дексаметазона фосфат.

20 **[079] Фиг. 32.** Резорбированная опухоль у мыши, получавшей лечение комбинацией AVM0703 и Cy/Flu.

25 **[080] Фиг. 33.** Примеры опухолей из исследования AVM_CANMOD_05 – подгруппа лимфодеплеции. Слева: Пример опухоли из группы плацебо; 956 мм³, L 15,06, W 11,27 мм, 0,54 г; Справа: Пример опухоли из группы AVM0703 (25 мг/кг); 203,25 мм³, L 7,67, W 7,28 мм, 0,086 г.

[081] Фиг. 34. Примеры опухолей из исследования AVM_CANMOD_05 – Подгруппа анализа конечной точки. Слева: Пример опухоли из группы плацебо. Справа: Пример опухоли от мыши 11, получавшей 18 мг/кг AVM0703.

30 **[082] Фиг. 35.** Подтверждение синдрома лизиса опухоли у мыши-носителя опухоли CCRF-CEM, получавшей лечение AVM0703. На лизис опухоли указывает массивный зеленоватого цвета маслянистый участок внутри опухоли.

35 **[083] Фиг. 36.** График объема опухолей у мышей, которым инокулировали клетки CCRF-CEM и проводили лечение либо плацебо (n = 2), либо 18 мг/кг AVM0703 (n = 3). Мышей дозировали один раз в неделю, начиная с 7 дня после инокуляции; события дозирования отмечены черными стрелками. Мышей умерщвляли, если объем опухоли превосходил 1500 мм³.

[084] Фиг. 37. Кривая конечных точек у мышей, которым инокулировали клетки CCRF-CEM. Мышей умерщвляли, когда объем опухоли достигал конечной точки – 1500 мм³. В обеих группах, и получавших плацебо, и получавших лечение AVM0703, n = 2.

5 **[085]** Фиг. 38. AVM0703 индуцирует долгосрочный иммунитет против ксенотрансплантат Т-ОЛЛ человека у мышей NCR nude. Получавшую лечение AVM0703 мышшь повторно стимулировали Т-ОЛЛ человека (линия клеток CCRF-CEM) на 118 день, и вплоть до 164 дня роста опухоли не наблюдалось, что указывает на то, что AVM0703 запускает долгосрочный иммунитет.

10 **[086]** Фиг. 39. Диаграммы рассеяния CD45/CD56 у пациента с остеоартритом, получавшим лечение 3–6 мг/кг ДНФ. Были идентифицированы AVM-NKT-клетки (заклучены в прямоугольник) и, как и у мышей, они положительны по CD45 с тусклым свечением и CD56 с очень ярким свечением (CD49b у мышей).

15 **[087]** Фиг. 40. Данные проточной цитометрии для здорового донора крови и пациента с раком предстательной железы через 1 час и 3 часа после введения 6 мг/кг AVM0703. У пациента с раком предстательной железы очевидно наличие новой популяции клеток с CD45_(тускл.) CD56_{ярк} (заклучена в овал) через 1 час после инфузии. Указанные данные показывают, что у пациентов-людей происходит мобилизация клеток, соответствующих AVM-NKT-клеткам, идентифицированным у мышей.

20 **Подробное описание изобретения**

[088] Настоящее изобретение относится к: способам получения / активации / мобилизации популяции естественных киллерных Т-клеток (NKT-клеток), выделенных NKT-клеток или выделенных популяций NKT-клеток, полученных такими способами, и способам лечения, в которых NKT-клетки индуцируют у субъекта или вводят субъекту; способам получения / активации / мобилизации популяции Т-клеток, выделенных Т-клеток или выделенных популяций Т-клеток, полученных такими способами, и способам лечения, в которых Т-клетки индуцируют у субъекта или вводят субъекту; способам получения / активации / мобилизации популяции дендритных клеток, выделенных дендритных клеток или выделенных популяций дендритных клеток, полученных такими способами, и способам лечения, в которых дендритные
25 клетки индуцируют у субъекта или вводят субъекту; и способам активации популяции дендритных клеток, выделенных дендритных клеток или выделенных популяций дендритных клеток, полученных такими способами, и способам лечения, в которых дендритные клетки индуцируют у субъекта или вводят субъекту.

30 **[089]** Согласно некоторым вариантам реализации раскрытые способы представляют собой способы получения популяций естественных киллерных Т-клеток (NKT-клеток) и Т-клеток, и активации популяции дендритных клеток. Согласно другим вариантам реализации раскрытые

способы представляют собой способы мобилизации популяций естественных киллерных Т-клеток (NKT-клеток), Т-клеток и/или дендритных клеток. В настоящем документе «мобилизовать» такие клетки может означать: способствовать движению указанных клеток из лимфоидных органов / тканей (например, вилочковой железы и селезенки) в системную циркуляцию (откуда они могут затем двигаться в другие сайты, например, сайты опухолей).
5 Раскрытые способы могут включать несколько из перечисленных выше аспектов. Например, способ согласно настоящему описанию может и индуцировать продуцирование популяции NKT-клеток согласно описанию в настоящем документе, и мобилизовать популяцию NKT-клеток согласно описанию в настоящем документе. Например, способ согласно настоящему
10 описанию может индуцировать продуцирование популяции NKT-клеток согласно описанию в настоящем документе в вилочковой железе, и/или селезенке, и/или костном мозге, и мобилизовать популяцию NKT-клеток согласно описанию в настоящем документе из вилочковой железы, и/или селезенки, и/или костного мозга.

[090] Согласно описанию в настоящем документе способы получения популяции естественных киллерных Т-клеток (NKT-клеток), получения популяции Т-клеток и/или
15 получения или активации популяции дендритных клеток включают введение субъекту модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента или модулирующего ICAM3 агента. Указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент или модулирующий ICAM3 агент индуцирует популяцию NKT-клеток, индуцирует популяцию Т-клеток и/или
20 активует популяцию дендритных клеток у указанного субъекта. Указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент или модулирующий ICAM3 агент может мобилизовать популяцию NKT-клеток, мобилизовать популяцию Т-клеток, и/или активировать или мобилизовать популяцию дендритных клеток у субъекта.

[091] Также предложены выделенные популяции NKT-клеток, выделенные NKT-клеток,
25 выделенные популяции Т-клеток, выделенные Т-клетки, выделенные популяции дендритных клеток и выделенные дендритные клетки, которые могут быть получены раскрытыми способами.

[092] Раскрытые NKT-клетки могут характеризоваться паттерном поверхностных белков, который они экспрессируют. Согласно некоторым вариантам реализации раскрытые NKT-клетки могут экспрессировать CD3, CD4, CD8, CD45, CD49b, CD56, CD62L, NK1.1, Ly6G, Scal
30 и/или TCR гамма/дельта. Согласно некоторым вариантам реализации раскрытые NKT-клетки могут не экспрессировать C-kit, B220, FoxP3 и/или TCR альфа/бета. У человека NKT-клетки могут экспрессировать CD56 вместо CD49b или наряду с CD49b. Согласно некоторым вариантам реализации указанные NKT-клетки не экспрессируют Scal. Соответственно,
35 раскрытые NKT-клетки могут экспрессировать CD3, CD4, CD8, CD45, CD56, CD62L, NK1.1, Ly6G, Scal и/или TCR гамма/дельта. Раскрытые NKT-клетки могут экспрессировать CD3, CD4,

CD8, CD45, CD49b, CD62L, NK1.1, Ly6G, Sca1 и/или TCR гамма/дельта. Раскрытые NKT-клетки могут экспрессировать CD3, CD4, CD8, CD45, CD56, CD62L, NK1.1, Ly6G и/или TCR гамма/дельта. Раскрытые NKT-клетки могут экспрессировать CD3, CD4, CD8, CD45, CD49b, CD62L, NK1.1, Ly6G и/или TCR гамма/дельта. Согласно некоторым вариантам реализации раскрытые NKT-клетки могут экспрессировать или могут не экспрессировать CD44, CD69 и/или CD25. Согласно некоторым вариантам реализации раскрытые NKT-клетки могут экспрессировать CD56.

[093] Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям раскрытых NKT-клеток, указанная популяция NKT-клеток может характеризоваться тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных NKT-клеток экспрессируют CD3, CD4, CD8, CD45, CD49b, CD56, CD62L, NK1.1, Ly6G, Sca1 и/или TCR гамма/дельта. Указанные NKT-клетки могут экспрессировать CD3, CD4, CD8, CD45, CD49b, CD62L, NK1.1, Ly6G, Sca1 и/или TCR гамма/дельта. Указанные NKT-клетки экспрессируют CD3, CD4, CD8, CD45, CD56, CD62L, NK1.1, Ly6G, Sca1 и/или TCR гамма/дельта. Указанные NKT-клетки могут экспрессировать CD3, CD4, CD8, CD45, CD49b, CD62L, NK1.1, Ly6G и/или TCR гамма/дельта. Указанные NKT-клетки экспрессируют CD3, CD4, CD8, CD45, CD56, CD62L, NK1.1, Ly6G и/или TCR гамма/дельта. Согласно некоторым таким вариантам реализации указанная популяция NKT-клеток может характеризоваться тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных NKT-клеток не экспрессируют: C-kit, B220, FoxP3 и/или TCR альфа/бета. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-клеток может характеризоваться тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных NKT-клеток экспрессируют CD56.

[094] Раскрытые Т-клетки могут характеризоваться паттерном поверхностных белков, который они экспрессируют. Раскрытые Т-клетки экспрессируют CD3 с очень высокой MFI. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям раскрытых Т-клеток, популяция Т-клеток может характеризоваться тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных Т-клеток экспрессируют CD3. Согласно некоторым вариантам реализации раскрытые Т-клетки могут экспрессировать CD3, CD4, CD45 и/или CD49b (CD56 у человека). Согласно некоторым вариантам реализации раскрытые Т-клетки могут экспрессировать TCR гамма/дельта. Согласно некоторым вариантам реализации раскрытые Т-клетки могут экспрессировать TCR альфа/бета. Согласно некоторым вариантам реализации раскрытые Т-клетки могут экспрессировать CD8. Согласно некоторым вариантам реализации раскрытые Т-клетки могут не экспрессировать CD8. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям раскрытых Т-клеток, указанная популяция Т-клеток может характеризоваться тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных NKT-клеток экспрессируют CD3, CD4, CD45 и/или CD49b (CD56 у человека). Согласно некоторым вариантам реализации, относящимся к популяциям раскрытых Т-клеток, указанная популяция Т-клеток может

характеризоваться тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных Т-клеток экспрессируют TCR гамма/дельта. Согласно некоторым вариантам реализации, относящимся к популяциям раскрытых Т-клеток, указанная популяция Т-клеток может характеризоваться тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных Т-клеток экспрессируют TCR альфа/бета. Согласно некоторым таким вариантам реализации, указанная популяция Т-клеток может характеризоваться тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных Т-клеток экспрессируют CD8. Согласно некоторым таким вариантам реализации указанная популяция Т-клеток может характеризоваться тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных Т-клеток не экспрессируют CD8. Согласно предпочтительным вариантам реализации указанные Т-клетки или популяции Т-клеток экспрессируют CD8 и/или экспрессируют TCR гамма/дельта.

[095] Раскрытые дендритные клетки могут характеризоваться паттерном поверхностных белков, который они экспрессируют. Раскрытые дендритные клетки экспрессируют CD11b. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям раскрытых дендритных клеток, указанная популяция дендритных клеток может характеризоваться тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % дендритных клеток экспрессируют CD11b.

[096] Экспрессия поверхностных белков на клетках может быть легко определена с применением методик, хорошо известных специалисту – например, методик твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA), активируемой магнитным полем сортировки клеток (MACS) или проточной цитометрии. В проточной цитометрии используются свойства света, рассеиваемого клетками, связанными с флуоресцентно-мечеными антителами, для идентификации клеток, экспрессирующих представляющие интерес поверхностные белки. Проточная цитометрия позволяет определить не только то, экспрессирует ли клетка представляющий интерес белок, но может также показывать количество белка, экспрессируемое клетками, на основании интенсивности флуоресценции. В данных проточно-цитометрического анализа и в настоящем документе: «+» (или «положительный») указывает на экспрессию определенного поверхностного белка; «-» (или «отрицательный») указывает на отсутствие экспрессии определенного поверхностного белка; и «+/-» указывает на бимодальную экспрессию определенного поверхностного белка. Такие выражения, как «яркие» («с ярким свечением») (иногда «с высоким уровнем» или «+++»), «тусклые» («с тусклым свечением») (иногда «с низким уровнем») и «с умеренным свечением», используют для указания на относительное количество конкретного клеточного поверхностного белка.

CD3

[097] CD3 (кластер дифференцировки 3) представляет собой Т-клеточный корцептор, который помогает активировать цитотоксические Т-клетки (необученные CD8+ Т-клетки) и хелперные Т-клетки (необученные CD4+ Т-клетки). Поскольку CD3 необходим для активации

Т-клеток, нацеленные на него лекарственные средства (например, моноклональные антитела), исследуют в качестве иммуносупрессивной терапии (например, отеликсизумаб) при диабете типа 1 и других аутоиммунных заболеваниях. Известные NKT-клетки, описанные в опубликованных источниках, экспрессируют CD3 со средней интенсивностью флуоресценции (MFI) приблизительно на 1 log ниже, чем у NKT-клеток согласно настоящему описанию. Аналогичным образом, известные Т-клетки и NKT-клетки, описанные в опубликованных источниках, экспрессируют CD3 со средней интенсивностью флуоресценции (MFI) приблизительно на 1–1,5 log ниже, чем у Т-клеток согласно настоящему описанию.

[098] Согласно некоторым вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию экспрессируют CD3. Согласно некоторым вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию представляют собой клетки CD3+/с очень ярким свечением. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям NKT-клеток согласно настоящему описанию по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных NKT-клеток могут экспрессировать CD3. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных NKT-клеток могут представлять собой клетки CD3+/с очень ярким свечением.

[099] Т-клетки согласно настоящему описанию представляют собой клетки CD3+/с очень ярким свечением. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям Т-клеток согласно настоящему описанию, по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных Т-клеток могут представлять собой клетки CD3+/с очень ярким свечением.

CD4

[0100] CD4 (кластер дифференцировки 4) представляет собой гликопротеин, обнаруживаемый на поверхности иммунных клеток, кроме Т-хелперных клеток и моноцитов. CD4 представляет собой корецептор Т-клеточного рецептора (TCR), которому он помогает коммуницировать с антигенпрезентирующими клетками для индуцированной антигенами активации Т-клеток. Перекрестное связывание CD4 может индуцировать Т-клеточный апоптоз через путь Fas-лигандов.

[0101] Согласно некоторым вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию экспрессируют CD4. Согласно некоторым вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию представляют собой клетки CD4+/с очень ярким свечением. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям NKT-клеток согласно настоящему описанию, по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных NKT-клеток могут экспрессировать CD4. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных NKT-клеток могут представлять собой клетки CD4+/с очень ярким свечением.

[0102] Согласно некоторым вариантам реализации Т-клетки согласно настоящему описанию экспрессируют CD4. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям Т-клеток согласно настоящему описанию, по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных Т-клеток могут экспрессировать CD4.

5 CD8

[0103] CD8 (кластер дифференцировки 8) представляет собой трансмембранный гликопротеин, который служит в качестве корецептора Т-клеточного рецептора (TCR). В основном он экспрессируется на поверхности цитотоксических Т-клеток, однако также экспрессируется на естественных киллерных клетках. На Т-клетках он играет роль во взаимодействии Т-клетки с антигеном и в Т-клеточной сигнализации.

10

[0104] Согласно некоторым вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию экспрессируют CD8. Согласно некоторым вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию представляют собой клетки CD8+/с тусклым свечением. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям NKT-клеток согласно настоящему описанию по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных NKT-клеток могут экспрессировать CD8. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных NKT-клеток могут представлять собой клетки CD8+/с тусклым свечением. Согласно некоторым вариантам реализации раскрытые NKT-клетки могут не экспрессировать CD8.

15

[0105] Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации, NKT-клетки согласно настоящему описанию экспрессируют CD4 и CD8. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации, относящимся к популяциям NKT-клеток согласно настоящему описанию, по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных NKT-клеток могут экспрессировать CD4 и CD8. Согласно некоторым вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию не являются дважды негативными по CD4 и CD8. Согласно некоторым вариантам реализации, относящимся к популяциям NKT-клеток согласно настоящему описанию, не одна из NKT-клеток не является дважды негативной по CD4 и CD8.

20

25

[0106] Согласно некоторым вариантам реализации Т-клетки согласно настоящему описанию могут не экспрессировать CD8. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям Т-клеток согласно настоящему описанию, по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных Т-клеток могут не экспрессировать CD8.

30

CD45

[0107] CD45 (кластер дифференцировки 45; также известный как протеиновая тирозинфосфатаза, рецепторный тип; PTPRC) представляет собой важнейший регулятор сигнализации Т-клеточных и В-клеточных антигенных рецепторов, и маркер всех лейкоцитов.

35

Экспрессия CD45 имеет существенное значение для активации Т-клеток посредством TCR. CD45 может представлять собой рецептор CD26.

5 **[0108]** Согласно некоторым вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию экспрессируют CD45. Согласно некоторым вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию представляют собой клетки CD45+/с тусклым свечением. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям NKT-клеток согласно настоящему описанию по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных NKT-клеток могут экспрессировать CD45. Согласно некоторым вариантам реализации по
10 меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных NKT-клеток могут представлять собой клетки CD45+/с тусклым свечением.

[0109] Согласно некоторым вариантам реализации Т-клетки согласно настоящему описанию могут экспрессировать CD45. Согласно некоторым вариантам реализации Т-клетки согласно настоящему описанию представляют собой клетки CD45+/с тусклым свечением. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям Т-клеток согласно настоящему описанию,
15 по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных Т-клеток могут экспрессировать CD45. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных Т-клеток могут представлять собой клетки CD45+/с тусклым свечением.

[0110] CD45 может представлять собой любую изоформу CD45, такую как CD45RA, CD45RO
20 и/или CD45RABC (также известную как CD45R; также известную как B220).

CD49b

[0111] CD49b (кластер дифференцировки 49b; также известный как интегрин альфа-2) представляет собой субъединицу интегрина альфа. Он составляет половину дуплекса интегрина $\alpha 2\beta 1$. CD49b применяют в качестве маркера естественных киллерных (NK) клеток; известно, что
25 цитотоксичность NK-клеток, экспрессирующих CD49b, значительно выше, чем у NK-клеток, которые не экспрессируют CD49b.

[0112] Согласно некоторым вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию экспрессируют CD49b. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям NKT-клеток согласно настоящему описанию по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90,
30 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных NKT-клеток могут экспрессировать CD49b.

[0113] Согласно некоторым вариантам реализации Т-клетки согласно настоящему описанию могут экспрессировать CD49b. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям Т-клеток согласно настоящему описанию, по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95,
35 96, 97, 98 или 99 % указанных Т-клеток могут экспрессировать CD49b.

CD56

[0114] CD56 (кластер дифференцировки 56; также известный как молекула адгезии нервных клеток, NCAM) представляет собой связывающийся гликопротеин гомофильного связывания, экспрессируемый на поверхности нейронов, глии и скелетных мышц. Экспрессия CD56 ассоциирована с естественными киллерными клетками.

5 **[0115]** Согласно некоторым вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию экспрессируют CD56. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям NKT-клеток согласно настоящему описанию по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных NKT-клеток могут экспрессировать CD56.

10 **[0116]** Согласно некоторым вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию представляют собой клетки CD56+/с ярким свечением. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям NKT-клеток согласно настоящему описанию по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных NKT-клеток могут представлять собой клетки CD56+/с ярким свечением.

[0117]

15 CD62L

[0118] CD62L (кластер дифференцировки 62L; также известный как L-селектин) представляет собой маркер активации клеток. CD62L также называется L-селектином и может опосредовать межклеточную адгезию, иницируя процесс движения клеток через эндотелий из крови в ткани и органы.

20 **[0119]** Согласно некоторым вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию экспрессируют CD62L. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям NKT-клеток согласно настоящему описанию, по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных NKT-клеток могут экспрессировать CD62L.

NK1.1

25 **[0120]** NK1.1 (также известный как: представитель 1 подсемейства В лектиноподобных рецепторов киллерных клеток; KLRB1; NKR-P1A; CD161 (кластер дифференцировки 161)) представляет собой маркер зрелых NK-клеток; его активация индуцирует киллинг NK-клетками в иных случаях нечувствительные мишени, и может также индуцировать пролиферацию NK-клеток. NKT-клетки впервые наблюдали как популяцию Т-лимфоцитов, экспрессирующих
30 указанный маркер всех NK-клеток.

[0121] Согласно некоторым вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию экспрессируют NK1.1. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям NKT-клеток согласно настоящему описанию по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных NKT-клеток могут экспрессировать NK1.1.

35 Ly6G

[0122] Ly6G (локус G6D комплекса лимфоцитарного антигена 6) представляет собой маркер полностью зрелых и дифференцировавшихся нейтрофилов или гранулоцитов, и также, как было обнаружено, вовлечен в противоопухолевые ответы. Ly6G обычно является маркером моноцитов, нейтрофилов и гранулоцитов, что указывает на то, что NKT-клетки согласно настоящему описанию отличаются от известных NKT-клеток, и могут не только быть способны непосредственно убивать раковые клетки, которые экспрессируют CD1d, и активировать другие NK-клетки, а также В- и Т-лимфоциты, и секретировать цитокины, однако могут также быть способны прямо захватывать раковые клетки и патогены.

[0123] Согласно некоторым вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию экспрессируют Ly6G. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям NKT-клеток согласно настоящему описанию по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных NKT-клеток могут экспрессировать Ly6G.

CD1

[0124] Молекулы CD1 представляют собой липид-презентирующие гликопротеины. У человека экспрессируется пять белков CD1 (CD1a-e), четыре из которых (CD1a-d) перемещаются на поверхность клеток, где они могут предьявлять липидные антигены Т-клеточным рецепторам. Указанное взаимодействие может приводить как к не-когнатной, так и к когнатной Т-клеточной помощи В-клеткам, где последняя вызывает анти-липидный антительный ответ. Все белки CD1 могут связывать широкий ряд структурно отличных экзогенных и эндогенных липидов, однако каждый из них демонстрирует предпочтение в отношении одного или более классов липидов (источник: Kaczmarek *et al*, 2017, который включен в настоящий документ полностью посредством ссылки). Указанное необычное связывающее поведение является результатом сложной структуры связывающих углублений CD1 и отличающихся маршрутов внутриклеточного перемещения. В совокупности указанные качества делают систему CD1 универсальным инструментом иммунного ответа, располагающимся на пересечении врожденного и адаптивного иммунитета. В то время как система CD1 может быть вовлечена в многочисленные инфекционные, воспалительные и аутоиммунные заболевания, ее вовлечение может приводить к противоположным исходам в зависимости от разных патологий (Kaczmarek *et al*, 2017).

CD11b

[0125] CD11b (молекула кластера дифференцировки 11b, также известная как CR3a и интегрин альфа-M, ITGAM) является представителем семейства интегринов, который спаривается с CD18 с образованием гетеродимера CR3. CD11b экспрессируется на поверхности многих лейкоцитов, в том числе моноцитов, нейтрофилов, естественных киллерных клеток, гранулоцитов и макрофагов. Известные дендритные клетки, описанные в опубликованных источниках, экспрессируют CD11b со средней интенсивностью флуоресценции (MFI) приблизительно на 1

log ниже, чем у дендритных клеток согласно настоящему описанию. Дендритные клетки согласно настоящему описанию представляют собой клетки CD11b+/c очень ярким свечением. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям дендритных клеток согласно настоящему описанию, по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % дендритных клеток могут представлять собой клетки CD11b+/c очень ярким свечением.

[0126]

Главный комплекс гистосовместимости: ГКГС

[0127] ГКГС был открыт Goreg и Snell с коллегами в 1936 году. В ходе их экспериментов с трансплантацией кожи у мышей было обнаружено, что распознавание «своего» и «не своего» зависит от генетического фона. Snell с коллегами назвали группу генов мышей, которые определяют свое/не-свое, генами гистосовместимости-2 (H-2). Геномные локусы ГКГС кодируют полиморфные гликопротеины, связанные с клеточной мембраной, известные как классические молекулы класса I и класса II ГКГС (антигены), которые регулируют иммунный ответ путем презентации пептидов фрагментированных белков циркулирующим цитотоксическим и хелперным Т-лимфоцитам, соответственно. Классические белки ГКГС класса I были подразделены на HLA-A, HLA-B и HLA-C (источник: Nakamura *et al*, 2019, который включен в настоящий документ полностью посредством ссылки). С другой стороны, HLA-E, HLA-F, HLA-G, связанную с полипептидом ГКГС класса I последовательность A (MICA) и FcRn, и т.п. классифицируют как неклассические ГКГС класса I.

[0128] Классические молекулы ГКГС класса I экспрессируются в большинстве тканей и нековалентно связываются с b2-микроглобулином для презентации процессированных внутри клеток пептидных антигенов (которые имеют длину 8–11 аминокислот) Т-клеточным рецепторам специфических CD8+ Т-клеток, чтобы индуцировать их активацию и/или цитотоксичность (источник: Shiina *et al* 2016, который включен в настоящий документ полностью посредством ссылки). Процессированные пептиды могут возникать из собственного протеома клетки или из чужеродных внутриклеточных патогенов. Зрелые дендритные клетки используют систему ГКГС класса I для презентации пептидов, происходящих из антигенов, захваченных путем эндоцитоза. Указанный процесс, называемый перекрестной презентацией, играет критически важную роль в инициации ответов специфических CD8+ Т-лимфоцитов в периферических лимфоидных органах (Shiina *et al*). Кроме того, классические белки ГКГС класса I могут функционировать в качестве лигандов для иммуноглобулиноподобных рецепторов киллерных клеток, которые регулируют цитотоксическую активность цитотоксических Т-клеток и естественных киллерных клеток, и иммуноглобулиноподобные рецепторы лейкоцитов, экспрессируемых на миеломоноцитах и лейкоцитах других линий. В отличие от классических антигенов класса I классические антигены класса II образуют гетеродимерные структуры, специализирующиеся на презентации экзогенных пептидов (15–25

аминокислот длиной) на поверхности лимфоидных клеток хелперным CD4⁺ Т-лимфоцитам иммунной системы. Экспрессия генов класса II в основном ограничена лимфоидными клетками, такими как В-клетки, моноциты, макрофаги, эндотелиальные клетки, дендритные клетки и активированные Т-клетки. Белки ГКГС класса II идентифицируют как HLA-DR, HLA-DP и HLA-DQ. Гены ГКГС класса II включают HLA-DRA1, HLA-DQA1, HLA-DPA1, кодирующие α -цепь, HLA-DRB1, HLA-DRB3, HLA-DRB4, HLA-DRB5 (HLA-DRB3/4/5), HLA-DQB1 и HLA-DPB1, кодирующие β -цепь. HLA-DRA1 образует гетеродимер с HLA-DRB1 или HLA-DRB3/4/5 (Nakamura *et al*). Аналогичным образом, HLA-DQA1 и HLA-DPA1 также связаны с HLA-DQB1 и HLA-DPB1, соответственно. HLA-DR подразделяют на 5 групп, включающих DR1, DR51, DR52, DR53 и DR8 в зависимости от группы антигена. Обе группы DR1 и DR8 состоят только из DRB1 как экспрессируемого гена. С другой стороны, группы DR51, DR52 и DR53 содержат общий DRB1, а также включают DRB5, DRB3 и DRB4, который предположительно образуется из гена DRB1 путем дубликации, как экспрессируемых генов, соответственно (Nakamura *et al*).

[0129] Гены обоих классических классов, класса I и класса II, часто высокополиморфны, предположительно, для сохранения межиндивидуальной вариабельности антигенпрезентирующей способности, а также содействия защите и выживанию вида под давлением естественного отбора при воздействии различных инфекционных агентов. Неклассические антигены класса I и класса II, хотя и аналогичны по структуре классическим аналогам класса I или класса II, обычно значительно менее полиморфны, имеют вариабельную или ограниченную тканевую экспрессию и функции, которые часто отчетливо отличаются от функций классических антигенов класса I или класса II. Кроме того, ряд генов неклассических ГКГС класса I локализованы вне ГКГС (Shiina *et al*).

[0130] Локусы комплекса HLA (такие как HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DR, HLA-DQ и HLA-ДФ) содержат множество полиморфизмов, поэтому комбинаций (гаплотипов) чрезвычайно много. Однако ГКГС демонстрирует выраженное неравновесное сцепление, представляющего собой наличие неслучайной ассоциации аллелей в нескольких локусах. Указанное неравновесное сцепление в области ГКГС часто приводит к специфической комбинации для каждого локуса ГКГС. Если два генетических полиморфизма присутствуют на одной хромосоме, указанные два полиморфизма классифицируют как сцепленные (Nakamura *et al*).

При условии, что генетическая рекомбинация произошла обычным биологическим образом, полиморфизмы в отдельных сайтах невозможно определить, как при сцепленном состоянии. Однако неравновесное сцепление представляет собой состояние, когда полиморфизм определенного гена может быть предсказан с крайне высокой вероятностью на основании информации о полиморфизме в отдаленном сайте. В случае ГКГС генные локусы сконцентрированы в узкой части хромосомы 6, так что рекомбинация между каждым из генов менее вероятна. Соответственно, такие гены, как HLA-A, HLA-B, HLA-C, и HLA-DRB1, часто наследуются в состоянии неравновесного сцепления. По мере прогресса анализа полиморфизма

5 генов HLA были обнаружены гаплотипы, ассоциированные с конкретными заболеваниями, часто обнаруживаемыми в конкретных этнических группах. Указанные специфические для этнических групп гаплотипы предположительно вовлечены в процесс формирования этнических групп. Соответственно, указанные гаплотипы широко используют для поиска этнических

10 **[0131]** У человека классические гены ГКГС класса I имеют важнейшее значение при отторжении трансплантатов органов и болезни «трансплантат против хозяина» после трансплантации гематopoэтических стволовых клеток. Были обнаружены различные связи между молекулами HLA класса I и многочисленными аутоиммунными заболеваниями, а также инфекционными заболеваниями и нежелательными реакциями на лекарственные средства. Помимо существенной роли в осуществлении адаптивных иммунных ответов, продемонстрирована роль генов ГКГС класса I на различных этапах размножения, таких как сохранение беременности, выбор партнера для спаривания и распознавание родственников. Также ГКГС считается системой, предназначенной в первую очередь для полового отбора и 15 предотвращения инбридинга, при этом гистосовместимость играет второстепенную роль. Продукты генов ГКГС класса I также оказывают влияние на развитие и пластичность центральной нервной системы, взаимодействия нервных клеток, синаптические функции и поведение, специализацию полушарий головного мозга, и неврологические и психиатрические расстройства. Соответственно, область ГКГС класса I человека является одной из наиболее 20 неоднородных и важных в биомедицинском смысле геномных областей. (Shiina *et al*).

TCR гамма/дельта

25 **[0132]** Т-клеточный рецептор гамма-дельта (TCR гамма/дельта; TCR $\gamma\delta$) представляет собой Т-клеточный рецептор, который состоит из одной цепи γ (гамма) и одной цепи δ (дельта). Экспрессирующие TCR гамма/дельта Т-клетки (гамма-дельта-Т-клетки) важны для распознавания липидных антигенов, экспрессируемых раковыми клетками, а также клетками в состоянии стресса, такими как раковые клетки, инфицированные микроорганизмами и вирусами клетки и аутореактивные лимфоциты. Гамма-дельта-Т-клетки демонстрируют ряд характеристик, которые определяют их место на границе между более эволюционно примитивной врожденной иммунной системой, позволяющей реализовать быстрый 30 благоприятный ответ на различные чужеродные агенты, и адаптивной иммунной системой, где В- и Т-клетки координируют более медленный, но высокоспецифичный в отношении антигенов иммунный ответ, который приводит к длительной памяти, работающей при последующих стимуляциях тем же антигеном. Гамма-дельта-Т-клетки могут рассматриваться как компонент адаптивного иммунитета, поскольку они обеспечивают реорганизацию генов TCR с получением 35 разнообразия J-сегментов, и могут развиваться в клетки с фенотипом клеток памяти.

[0133] Наиболее распространенный вариант гамма-дельта человека представлен вариантом V-гамма-9/V-дельта-2 в крови, тогда как гамма-дельта-T-клетки V-дельта-1 типа в опухолях были ассоциированы с прогнозом. Также был описан вариант V-дельта-3 и V-дельта-2-отрицательный вариант после инфекции CMV, снижающий риск рака. В отличие от рестриктированных по ГКГС альфа-бета-T-клеток, гамма-дельта-T-клеткам не требуется процессинг антигенов и ГКГС-презентация пептидных эпитопов, хотя некоторые из них способны распознавать ГКГС класса Ib. Следовательно, опухолевые клетки не могут избежать детекции за счет понижающей регуляции ГКГС, и гамма-дельта-T-клетки, соответственно, также имеют равный потенциал уничтожения опухолей с низкой мутационной нагрузкой, и на них с меньшей вероятностью влияют связанные с резистентностью проблемы. Также была показана максимальная корреляция инфильтрации опухоли гамма-дельта-T-клетками с выживаемостью и меньшей частотой болезни «трансплантат против хозяина». Хоуминг гамма-дельта-T-клеток в различные ткани для детекции опухолей происходит естественным образом, и они более предпочтительны для аллогенной терапии, чем альфа-бета-T-клетки.

[0134] Согласно некоторым вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию экспрессируют TCR гамма/дельта. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям NKT-клеток согласно настоящему описанию по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных NKT-клеток могут экспрессировать TCR гамма/дельта.

[0135] Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию экспрессируют Ly6G и TCR гамма/дельта. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации, относящимся к популяциям NKT-клеток согласно настоящему описанию, по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных NKT-клеток могут экспрессировать Ly6G и TCR гамма/дельта. Экспрессия Ly6G наряду с TCR гамма-дельта указывает на то, что NKT-клетки согласно настоящему описанию не только обладают функциями известных NKT-клеток, но и могут также прямо захватывать раковые клетки или патогены.

[0136] Согласно некоторым вариантам реализации T-клетки согласно настоящему описанию могут экспрессировать TCR гамма/дельта. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям T-клеток согласно настоящему описанию, по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных T-клеток могут экспрессировать TCR гамма/дельта.

Scal

[0137] Scal (антиген-1 стволовых клеток; также известный как Ly6A) представляет собой распространенный биологический маркер, используемый для идентификации гематопоетических стволовых клеток (ГСК) наряду с другими маркерами. Sca-1 играет роль в определении судьбы клеток линий гематопоетических предшественников/стволовых клеток, и

экспрессии C-kit. Соответствующее его экспрессии яркое свечение на NKT-клетках согласно настоящему описанию может указывать на то, что они представляют собой активированные стволовые клетки памяти.

5 **[0138]** Согласно некоторым вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию экспрессируют Scal. Согласно некоторым вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию представляют собой клетки Scal+/с очень ярким свечением. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям NKT-клеток согласно настоящему описанию по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных NKT-клеток могут экспрессировать Scal. Согласно некоторым вариантам реализации по
10 меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных NKT-клеток могут представлять собой клетки Scal+/с очень ярким свечением.

C-kit

15 **[0139]** C-kit (также известен как тирозиновая протеинкиназа KIT; CD117 (кластер дифференцировки 117); рецептор фактора роста тучных/стволовых клеток (SCFR)) представляет собой белок – рецепторную тирозинкиназу, экспрессируемый на поверхности гематопозитических стволовых клеток. Если NKT-клетки согласно настоящему описанию не экспрессируют C-kit, это показывает, что они не являются гематопозитическими стволовыми клетками.

20 **[0140]** Согласно некоторым вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию могут не экспрессировать C-kit. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям NKT-клеток согласно настоящему описанию по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных NKT-клеток могут не экспрессировать C-kit.

B220

25 **[0141]** B220 (который представляет собой изоформу CD45) представляет собой маркер В-клеток.

[0142] Согласно некоторым вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию могут не экспрессировать B220. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям NKT-клеток согласно настоящему описанию по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных NKT-клеток могут не экспрессировать B220.

30 FoxP3

[0143] FoxP3 («forkhead box P3»; также известен как скурфин) представляет собой представитель семейства белков «forkhead box», и, как считается, функционирует в качестве главного регулятора регуляторного пути при развитии и функционировании регуляторных Т-клеток. Если NKT-клетки согласно настоящему описанию не экспрессируют FoxP3, это
35 показывает, что они не являются регуляторными клетками, и, соответственно, не должны сдерживать иммунный ответ на рак или патоген.

[0144] Согласно некоторым вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию могут не экспрессировать FoxP3. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям NKT-клеток согласно настоящему описанию по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных NKT-клеток могут не экспрессировать FoxP3.

5 TCR альфа/бета

[0145] Т-клеточный рецептор альфа-бета (TCR альфа/бета; TCR $\alpha\beta$) представляет собой преобладающий гетеродимер TCR, который состоит из одной α - (альфа) цепи и одной β - (бета) цепи.

10 [0146] Согласно некоторым вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию могут не экспрессировать TCR альфа/бета. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям NKT-клеток согласно настоящему описанию по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных NKT-клеток могут не экспрессировать TCR альфа/бета.

15 [0147] Согласно некоторым вариантам реализации Т-клетки согласно настоящему описанию могут экспрессировать TCR альфа/бета. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям Т-клеток согласно настоящему описанию, по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных Т-клеток могут экспрессировать TCR альфа/бета.

CD25

20 [0148] CD25 (кластер дифференцировки 25; также известный как альфа-цепь рецептора интерлейкина-2) представляет собой трансмембранный белок, присутствующий на активированных Т-клетках и В-клетках, и маркер активации клеток.

25 [0149] Согласно некоторым вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию могут представлять собой клетки CD25^{+/-}. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям NKT-клеток согласно настоящему описанию по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных NKT-клеток могут представлять собой клетки CD25^{+/-}.

CD44

30 [0150] CD44 (кластер дифференцировки 44) представляет собой гликопротеин клеточной поверхности, вовлеченный в межклеточные взаимодействия, клеточную адгезию и миграцию. Он представляет собой рецептор гиалуроновой кислоты и вовлечен в активацию лимфоцитов, хоуминг лимфоцитов и рециркуляцию. Экспрессия CD44 представляет собой индикативный маркер эффекторных Т-клеток памяти – подгруппы Т-клеток для борьбы с инфекциями и раком. Т-клетки памяти становятся «обученными», встречаясь с антигеном в ходе предшествующей инфекции, столкновения с раком или проведенной ранее вакцинации.

35 [0151] Согласно некоторым вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию могут представлять собой клетки CD44^{+/-}. Согласно вариантам реализации,

относящимся к популяциям NKT-клеток согласно настоящему описанию по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных NKT-клеток могут представлять собой клетки CD44+/-.

CD69

- 5 **[0152]** CD69 (кластер дифференцировки 69) представляет собой белок – трансмембранный лектин человека С-типа, и ранний маркер активации клеток. Он экспрессируется в гематopoэтических стволовых клетках, Т-клетках и во многих других типах иммунных клеток. CD69 может индуцировать пролиферацию NKT, а также активировать другие клетки, такие как NK-клетки и лимфоциты.
- 10 **[0153]** Согласно некоторым вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию могут представлять собой клетки CD69+/-.
- 15 **[0154]** Согласно некоторым вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию могут экспрессировать CD3, CD4, CD8, CD45, CD49b, CD56, CD62L, NK1.1, Ly6G, Sca1 и/или TCR гамма/дельта. Согласно некоторым вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию могут экспрессировать CD3, CD4, CD8, CD45, CD56, CD62L, NK1.1, Ly6G, Sca1 и/или TCR гамма/дельта. Согласно некоторым вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию могут экспрессировать CD3, CD4, CD8, CD45, CD49b, CD62L, NK1.1, Ly6G и/или TCR гамма/дельта. Согласно некоторым вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию могут экспрессировать CD3, CD4, CD8, CD45, CD49b, CD62L, NK1.1, Ly6G и/или TCR гамма/дельта. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации, NKT-клетки согласно настоящему описанию экспрессируют CD4 и CD8. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации, NKT-клетки согласно настоящему описанию экспрессируют CD3, CD4, CD8 и CD49b. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации, NKT-клетки согласно настоящему описанию экспрессируют CD3, CD4, CD8 и CD56. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации, NKT-клетки согласно настоящему описанию экспрессируют Ly6G и TCR гамма/дельта. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию экспрессируют CD3, CD49b, Ly6G и TCR гамма/дельта. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию экспрессируют CD3, CD56, Ly6G и TCR гамма/дельта. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему
- 30
- 35

описанию экспрессируют CD3, CD4, CD8, CD49b, Ly6G и TCR гамма/дельта. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию экспрессируют CD3, CD4, CD8, CD56, Ly6G и TCR гамма/дельта. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию экспрессируют CD3, CD4, CD8, CD45, CD49b, CD62L, NK1.1, Ly6G, Sca1 и TCR гамма/дельта. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию экспрессируют CD3, CD4, CD8, CD45, CD56, CD62L, NK1.1, Ly6G, Sca1 и TCR гамма/дельта. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию экспрессируют CD3, CD4, CD8, CD45, CD49b, CD62L, NK1.1, Ly6G и TCR гамма/дельта. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию экспрессируют CD3, CD4, CD8, CD45, CD56, CD62L, NK1.1, Ly6G и TCR гамма/дельта.

[0155] Согласно некоторым в частности предпочтительным вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию экспрессируют CD3, CD45 и/или CD56. Согласно некоторым таким вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию представляют собой клетки CD3+/с ярким свечением или CD3+/с очень ярким свечением, и/или CD45+/с тусклым свечением, и/или CD56+.

[0156] Согласно некоторым вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию могут не экспрессировать C-kit, B220, FoxP3 и/или TCR альфа/бета. Согласно некоторым вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию не экспрессируют C-kit, B220, FoxP3, или TCR альфа/бета. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию экспрессируют CD4 и CD8 и не экспрессируют C-kit, B220, FoxP3 и/или TCR альфа/бета. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию экспрессируют Ly6G и TCR гамма/дельта и не экспрессируют C-kit, B220, FoxP3 и/или TCR альфа/бета.

[0157] Согласно некоторым вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию представляют собой клетки CD44+/-, CD69+/- и/или CD25+/- . Согласно некоторым вариантам реализации NKT-клетки согласно настоящему описанию представляют собой клетки CD44+/-, CD69+/- и CD25+/-.

[0158] Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям NKT-клеток согласно настоящему описанию, указанная популяция NKT-клеток может характеризоваться тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных NKT-клеток экспрессируют CD3, CD4, CD8, CD45, CD49b, CD56, CD62L, NK1.1, Ly6G, Sca1 и/или TCR гамма/дельта. Согласно некоторым таким вариантам реализации указанная популяция NKT-клеток может характеризоваться тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных

альфа/бета. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации указанная популяция NKT-клеток может характеризоваться тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных NKT-клеток экспрессируют CD3, CD4, CD8, CD45, CD49b, CD62L, NK1.1, Ly6G, Sca1 и TCR гамма/дельта, и не экспрессируют: C-kit, B220, FoxP3 или TCR альфа/бета. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации указанная популяция NKT-клеток может характеризоваться тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных NKT-клеток экспрессируют CD3, CD4, CD8, CD45, CD56, CD62L, NK1.1, Ly6G, Sca1 и TCR гамма/дельта, и не экспрессируют: C-kit, B220, FoxP3 или TCR альфа/бета. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации указанная популяция NKT-клеток может характеризоваться тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных NKT-клеток экспрессируют CD3, CD4, CD8, CD45, CD49b, CD62L, NK1.1, Ly6G и TCR гамма/дельта, и не экспрессируют: C-kit, B220, FoxP3 или TCR альфа/бета. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации указанная популяция NKT-клеток может характеризоваться тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных NKT-клеток экспрессируют CD3, CD4, CD8, CD45, CD56, CD62L, NK1.1, Ly6G и TCR гамма/дельта, и не экспрессируют: C-kit, B220, FoxP3 или TCR альфа/бета.

[0160] Согласно некоторым в частности предпочтительным вариантам реализации указанная популяция NKT-клеток может характеризоваться тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных NKT-клеток экспрессируют CD3, CD45 и/или CD56. Согласно некоторым таким вариантам реализации по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных NKT-клеток представляют собой клетки CD3⁺/с ярким свечением или CD3⁺/с очень ярким свечением, и/или CD45⁺/с тусклым свечением, и/или CD56⁺.

[0161] Согласно некоторым вариантам реализации Т-клетки согласно настоящему описанию могут экспрессировать CD3, CD4, CD45 и/или CD49b (CD56 у человека). Согласно некоторым вариантам реализации Т-клетки согласно настоящему описанию могут экспрессировать CD3, CD4, CD45, CD49b (CD56 у человека) и/или TCR гамма/дельта. Согласно некоторым вариантам реализации Т-клетки согласно настоящему описанию могут экспрессировать CD3, CD4, CD45, CD49b (CD56 у человека) и/или TCR альфа/бета. Согласно некоторым вариантам реализации Т-клетки согласно настоящему описанию могут экспрессировать CD3, CD4, CD45, CD49b (CD56 у человека) и TCR гамма/дельта. Согласно некоторым вариантам реализации Т-клетки согласно настоящему описанию могут не экспрессировать CD8.

[0162] Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям Т-клеток согласно настоящему описанию, указанная популяция Т-клеток может характеризоваться тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных Т-клеток экспрессируют CD3,

CD4, CD45 и/или CD49b (CD56 у человека). Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция Т-клеток может характеризоваться тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных Т-клеток экспрессируют CD3, CD4, CD45, CD49b (CD56 у человека) и/или TCR гамма/дельта. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция Т-клеток может характеризоваться тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных Т-клеток экспрессируют CD3, CD4, CD45, CD49b (CD56 у человека) и/или TCR альфа/бета. Согласно некоторым таким вариантам реализации указанная популяция Т-клеток может характеризоваться тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % указанных Т-клеток не экспрессируют CD8.

[0163] Согласно некоторым вариантам реализации паттерн экспрессии поверхностных белков может соответствовать определенному с помощью проточной цитометрии через 24 часа, 48 часов, 72 часов, 96 часов или 120 часов после введения модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента субъекту. Согласно некоторым вариантам реализации паттерн экспрессии поверхностных белков может соответствовать определенному с помощью проточной цитометрии, выполненной с применением оборудования, реагентов и/или условий, описанных в настоящем документе (по отдельности или в комбинации).

Гамма-дельта-Т-клетки

[0164] Характеристики маркеров поверхности гамма-дельта-Т клеток могут включать (не ограничиваясь перечисленными): CD3, CD4, CD8, CD69, CD56, CD27, CD40, CD40L, CD45RA, CD45, CD83, CD16, CD16a, CD16b, ICOS, CD161, Fas, CLEC7A/дектин-1, FasL, Е-кадгерин, ИЛ-18R-альфа, ИЛ-23R, NKG2D/CD314, NKG2E, окклюдин, TKR2, TRAIL, TCR-Vg9, TCR-Vd2, TCR-Vd1, TCR-Vd3, TCR-пан гамма/дельта, NKG2D, моноклональные антитела к рецепторам хемокинов CCR5, CCR6, CCR7, CXCR3, CXCR4 или CXCR5, или их комбинации. Характеристики поверхностных маркеров клеток согласно настоящему изобретению могут включать одно или более из перечисленного. Гамма-дельта-Т-клетки могут секретировать (в том числе, но не ограничиваясь перечисленными,) CCL2/JE/MCP-1, CXCL13/BLC/BCA-1, бета-дефензин 2, бета-дефензин 3, альфа-дефензин 1, ЭФР, KGF/ФРФ-7, ФРФ-10, ГМ-КСФ, гранулизин, гранзим А, гранзим В, ИФН-гамма, ИФР-1/ИФР-1, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-12/ИЛ-23 p40, ИЛ-12 p70, ИЛ-13, ИЛ-17/ИЛ-17А, ИЛ-22, комплекс ИЛ-6/ ИЛ-6R-альфа, LAR (ТФР-бета 1), ТФР-бета и/или ФНО-альфа. Клетки согласно настоящему изобретению могут секретировать что-либо одно или более из перечисленного.

[0165] Модулирующие ICAM3 агенты в контексте настоящего описания представляют собой агенты, которые связывают ICAM3 и способствуют индукции и/или мобилизации НКТ-клеток, Т-клеток и дендритных клеток согласно настоящему изобретению. Модулирующий ICAM3 агент может представлять собой антагонист ICAM3 / ингибитор ICAM3, или может представлять собой агонист / активатор ICAM3.

[0166] Такие модулирующие ICAM3 агенты могут включать, например, антитела против ICAM3, выработанные против ICAM3 или его часть, низкомолекулярные модуляторы ICAM3 (такие как активаторы или ингибиторы ICAM3) и пептидные агенты / белки, которые связывают ICAM3. Подходящие способы идентификации модулирующих ICAM3 агентов хорошо известны специалистам в данной области техники – например, антитела против ICAM3 могут быть идентифицированы способом, который может включать приведение в контакт с библиотекой молекул антител и эпитопом ICAM3, и выбор одной или более специфических молекул антител из библиотеки, способных связывать указанный эпитоп. Как вариант, указанные антитела могут быть идентифицированы с применением конкурентного анализа связывания, действующего известные антитела против ICAM3, с определением конкуренции, например, с помощью ИФА ELISA или проточной цитометрии. Аналогичным образом, низкомолекулярные модуляторы ICAM3 могут быть идентифицированы с применением рутинных скрининговых экспериментов, таких как анализы связывания радиолигандов и функциональные анализы.

[0167] Как уже было описано выше, авторы настоящего изобретения обнаружили неожиданную способность модулирующих глюкокортикоидные рецепторы агентов (таких как дексаметазон и другие глюкокортикоиды) связывать ICAM3 и оказывать модулирующее действие на ICAM3. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации указанный модулирующий ICAM3 агент может представлять собой модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент. Согласно некоторым вариантам реализации указанный модулирующий ICAM3 агент может представлять собой глюкокортикоид, например, дексаметазон или бетаметазон.

[0168] В настоящем документе термин «модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент» включает глюкокортикоиды, агонисты глюкокортикоидных рецепторов, и любое соединение, которое связывается с глюкокортикоидным рецептором. Модулирующие глюкокортикоидные рецепторы (ГР) агенты, такие как глюкокортикоиды, оказывают эффекты и через мембранные ГР, и через цитоплазматические ГР, которые активируют или подавляют генную экспрессию. Некоторые из желательных лимфодеплетивных эффектов глюкокортикоидов и модулирующих ГР агентов предположительно опосредованы мембранными ГР или другими негеномными эффектами наряду с их геномными эффектами. Было описано, что глюкокортикоиды оказывают разнообразные эффекты в отношении уровней лимфоцитов, в зависимости от концентрации введенного глюкокортикоида и продолжительности лечения. В целом, в низких дозах, как правило, применяемых для хронической терапии, глюкокортикоиды, как было описано, перераспределяют лимфоциты из периферической крови в костный мозг, в умеренных дозах глюкокортикоиды, как было описано, вызывают лейкоцитоз, предположительно представляющий собой перераспределение лейкоцитов из костного мозга, селезенки и вилочковой железы в периферическую кровь, а в высоких дозах глюкокортикоиды оказывают лимфотоксическое действие на лимфоциты,

запуская апоптоз и некроптоз. Продолжительность эффекта также зависит от уровня дозы; например, в источнике Fauci *et al* (1976) сообщается, что однократная пероральная доза дексаметазона 0,24 мг/ кг на 80% подавляет Т- и В-лимфоциты периферической крови, а восстановление начинается через 12 часов и достигает нормальных уровней через 24 часов.

5 Авторы настоящего изобретения ранее продемонстрировали (в международной заявке на патент PCT/US2019/054395), что острые пероральные дозы дексаметазона 3 мг/кг или выше необходимы для снижения уровней Т- и В-клеток периферической крови через 24–48 часов после введения, с возвращением к базовым уровням приблизительно через 5–14 дней после дозирования.

10 **[0169]** Модулирующие глюкокортикоидные рецепторы (ГР) агенты, которые могут применяться в описанных способах, включают, например, селективные модуляторы глюкокортикоидных рецепторов (SEGRM) и селективные агонисты глюкокортикоидных рецепторов (SEGRA). Глюкокортикоиды, селективные модуляторы глюкокортикоидных рецепторов и селективные агонисты глюкокортикоидных рецепторов (SEGRA), которые могут
15 быть использованы в описанных способах, хорошо известны специалистам в данной области техники.

[0170] Некоторые такие глюкокортикоиды включают, не ограничиваясь перечисленными, дексаметазон, дексаметазон-содержащие агенты, гидрокортизон, метилпреднизон, преднизон, кортикон, будесонид, бетаметазон и беклометазон. Другие глюкокортикоиды включают
20 преднизолон, мометазона фуруат, триамцинолона ацетонид и метилпреднизолон.

[0171] Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации описанных здесь способов указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент может представлять собой глюкокортикоид. Согласно некоторым таким вариантам реализации указанный глюкокортикоид может быть выбран из группы, состоящей из: дексаметазона, гидрокортизона,
25 метилпреднизолона, преднизона, преднизолона, преднилидена, кортизона, будесонида, бетаметазона, флуметазона и беклометазона. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации указанный глюкокортикоид может быть выбран из группы, состоящей из: дексаметазона, бетаметазона и метилпреднизона. Согласно некоторым в частности предпочтительным вариантам реализации указанный глюкокортикоид может представлять
30 собой дексаметазон или бетаметазон.

[0172] Согласно некоторым вариантам реализации описанных здесь способов указанный глюкокортикоид может быть выбран из группы, состоящей из: основания дексаметазона, дексаметазона натрия фосфата, дексаметазона гемисукцината, дексаметазона натрия сукцината, дексаметазона сукцината, дексаметазона изоникотината, дексаметазон-21-ацетата,
35 дексаметазона фосфата, дексаметазон-21-фосфата, дексаметазона тебутата, дексаметазон-17-валерата, дексаметазона ацетата моногидрата, дексаметазона пивалата, дексаметазона

пальмитата, дексаметазон-21-пальмитата, дексаметазона дипропионата, дексаметазона пропионата, безводного дексаметазона ацетата, дексаметазон-21-фенилпропионат, дексаметазон-21-сульфобензоата, дексаметазона гемисульфата, дексаметазона сульфата, дексаметазонбелоксила, дексаметазоновой кислоты, дексаметазона ацефурата, дексаметазона карбосимида, дексаметазона ципецилата, динатриевой соли дексаметазон-21-фосфата, дексаметазона мезилата, дексаметазона линолеата, дексаметазона глюкозида, дексаметазона глюкуронида, дексаметазона йодацетата, дексаметазона оксетанона, карбоксиметилтиодексаметазона, дексаметазон-бисэтоксимов, дексаметазон-эпоксида, дексаметазонлинолелаидата, дексаметазона метилортовалерата, дексаметазона спермина, 6-гидроксидексаметазона, дексаметазона трибутилацетата, дексаметазон-аспарагиновой кислоты, дексаметазонгалактопиранозы, дексаметазона гидрохлорида, гидроксидексаметазона, карбоксидексаметазона, дезоксидексаметазона, дексаметазона бутазона, дексаметазона циклодекстрина, дигидродексаметазона, оксидексаметазона, пропионилоксидексаметазона, дексаметазона галактозида, дексаметазона изоникотината, дексаметазона натрия гидрофосфата, альдегида дексаметазона, дексаметазона пивалата, дексаметазона тридецилата, дексаметазона кротоната, дексаметазона метансульфоната, дексаметазона бутилацетата, дегидродексаметазона, простого изотиоцианат-этилового тиоэфира дексаметазона, дексаметазона бромацетата, дексаметазона гемиглютарата, дезоксидексаметазона, дексаметазона хлорамбуцилата, дексаметазона мелфаланата, формилоксидексаметазона, дексаметазона бутирата, дексаметазона лаурата, дексаметазона ацетата, и любого комбинированного лечения, которое включает форму дексаметазона. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации указанный глюкокортикоид может представлять собой основание дексаметазона или дексаметазона натрия фосфат.

[0173] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения модулирующий глюкокортикоидный рецептор агент может не представлять собой один или более из указанных выше агентов.

[0174] Согласно описанным здесь способам модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент или модулирующий ICAM3 агент вводят в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере приблизительно до 6 мг/кг основания дексаметазона.

[0175] Эквивалентные дозы другого глюкокортикоида или модулирующего глюкокортикоидный рецептор агента могут быть легко и просто рассчитаны с применением открытых алгоритмов для конверсии доз кортикоидов, предпочтительно <http://www.medcalc.com>. Например, 3–12 мг/кг дексаметазона при конверсии дает 19–75 мг/кг преднизона. Поскольку биологическое время полужизни преднизона составляет приблизительно 20 часов, а биологическое время полужизни дексаметазона составляет приблизительно 36–54 часов, преднизон нужно вводить в дозах от 19 до 75 мг/кг каждые 24 часа

для эквивалентного биологического дозирования. Более конкретно, доза дексаметазона 12 мг/кг соответствует дозе преднизолона 75 мг/кг, что требует многократного дозирования с введением от приблизительно двух до приблизительно трех доз каждые 24 часа. Доза бетаметазона 10 мг/кг соответствует приблизительно 12 мг/кг дексаметазона и имеет фармакодинамическое (биологическое) время полужизни, аналогичное времени полужизни дексаметазона.

[0176] Дозы дексаметазона в примерах в настоящем документе указаны в виде эквивалентных доз для человека (ЭДЧ). Способы вычисления эквивалентной дозы для человека (ЭДЧ) известны в данной области техники. Например, Центр экспертизы и изучения лекарственных средств (CDER) FDA (Управления по контролю за продуктами питания и лекарственными средствами) в 2005 г. выпустил широко цитируемый методический документ (Министерство здравоохранения США, CDER, 2005), где, в таблице 1 на стр. 7 указанного документа, изложен установленный алгоритм перевода доз для животных в ЭДЧ на основании площади поверхности тела (общепринятый способ экстраполяции доз для разных видов). Таблица 1 воспроизведена ниже в качестве справочной информации. Специалисту в данной области техники понятно, что исходя из дозы для животного в мг/кг, как описано ниже, легко вычислить ЭДЧ с применением стандартных коэффициентов конверсии, указанных в правых столбцах таблицы 1:

Таблица 1: Конверсия доз для животных в эквивалентные дозы для человека на основании площади поверхности тела

		Для конверсии дозы для животного в мг/кг в ЭДЧ ^a в мг/кг, либо:	
Вид	Для конверсии дозы для животного в мг/кг в дозу в мг/м ² , умножить на k _m	Разделить дозу для животного на:	Умножить дозу для животного на:
Человек	37	---	---
Ребенок (20 кг) ^b	25	---	---
Мышь	3	12,3	0,08
Хомяк	5	7,4	0,13
Крыса	6	6,2	0,16
Хорек	7	5,3	0,19
Морская свинка	8	4,6	0,22
Кролик	12	3,1	0,32
Собака	20	1,8	0,54
Приматы:			
Обезьяны ^c	12	3,1	0,32
Мартышка	6	6,2	0,16
Беличья обезьяна	7	5,3	0,19
Бабуин	20	1,8	0,54
Микросвинья	27	1,4	0,73

Минисвинья	35	1,1	0,95
------------	----	-----	------

^a При условной массе тела человека 60 кг. Для видов, не перечисленных в таблице, или при массе тела за пределами стандартных диапазонов ЭДЧ может быть рассчитана по следующей формуле:

$$5 \quad \text{ЭДЧ} = \text{доза для животного в мг/кг} \times (\text{масса тела животного в кг} / \text{масса тела человека в кг})^{0,33}.$$

^b Указанное значение k_m предложено исключительно в качестве примера, поскольку здоровые дети редко становятся добровольцами в исследованиях фазы I.

^c Например, яванский макак, макак-резус и медвежий макак.

10 **[0177]** Согласно некоторым вариантам реализации описанных здесь способов указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент или модулирующий ICAM3 агент вводят в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере приблизительно до 12 мг/кг основания дексаметазона. Согласно другим предпочтительным вариантам реализации указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент вводят в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека), равной по меньшей мере приблизительно до 15 мг/кг или приблизительно по меньшей мере 18 мг/кг основания дексаметазона. Согласно другим предпочтительным вариантам реализации указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент вводят в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека), равной по меньшей мере приблизительно до 21 мг/кг или по меньшей мере приблизительно 24 мг/кг основания дексаметазона. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент вводят в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека), равной приблизительно до 12 мг/кг основания дексаметазона, ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека), равной приблизительно 15 мг/кг основания дексаметазона, или ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека), равной приблизительно 18 мг/кг основания дексаметазона, или ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека), равной приблизительно 21 мг/кг основания дексаметазона, или ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека), равной приблизительно 24 мг/кг основания дексаметазона, или ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека), равной приблизительно 30 мг/кг основания дексаметазона, или ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека), равной приблизительно 45 мг/кг основания дексаметазона.

35 **[0178]** Согласно некоторым вариантам реализации описанных здесь способов модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент или модулирующий ICAM3 агент вводят в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека), равной по меньшей мере приблизительно до 6–45 мг/кг основания дексаметазона; ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере приблизительно 15–24 мг/кг основания дексаметазона; ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека), равной по меньшей мере приблизительно 6–12 мг/кг основания дексаметазона; или ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека), равной по меньшей мере приблизительно 12–15 мг/кг основания дексаметазона; или ЭДЧ (эквивалентной дозе для

человека), равной по меньшей мере приблизительно 18–30 мг/кг основания дексаметазона; или ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека), равной по меньшей мере приблизительно 15–18 мг/кг основания дексаметазона. Согласно вариантам реализации, в которых инфекционное заболевание представляет собой заболевание, являющееся результатом инфекции коронавируса, например COVID-19, указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент может предпочтительно вводиться в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека), равной приблизительно от 18 до 30 мг/кг основания дексаметазона.

[0179] Согласно описанным здесь способам указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент или модулирующий ICAM3 агент может вводиться в виде разовой острой дозы, или в виде общей дозы, вводимой на протяжении периода, равного приблизительно 24, 48 или 72 часам. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент вводят в виде разовой острой дозы. Согласно другим предпочтительным вариантам реализации указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент вводят в виде общей дозы, которую вводят за период, составляющий приблизительно 72 часа.

[0180] Согласно некоторым вариантам реализации, в которых субъект имеет, предположительно имеет, или у него было диагностировано инфекционное заболевание, такое как заболевание, являющееся результатом инфекции коронавирусом (таким как COVID-19), модулирующий глюкокортикоидный рецептор агент (который может предпочтительно представлять собой дексаметазон или бетаметазон) может вводиться в виде раствора в водной среде. Согласно некоторым таким вариантам реализации указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор агент может быть предоставлен в концентрации, эквивалентной до приблизительно 24 мг/мл дексаметазона фосфата (20 мг/мл основания дексаметазона; 26,2 мг/мл дексаметазона натрия фосфата), и введен путем внутривенной (в/в) инфузии за период, составляющий приблизительно 1–2 часа, в конечной целевой дозе, равной ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) от приблизительно 18 до 30 мг/кг основания дексаметазона. Согласно другим вариантам реализации указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор агент может быть предоставлен в виде таблеток дексаметазона, растворенных в апельсиновом соке или лимонной кислоте (рН 3,3–4,2) и введенных перорально или через желудочный зонд в конечной целевой дозе, равной ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) от приблизительно 18 до 30 мг/кг основания дексаметазона.

[0181] Согласно некоторым вариантам реализации описанных здесь способов способы получения популяции естественных киллерных Т-клеток (НКТ-клеток), получения популяции Т-клеток и/или получения или активации популяции дендритных клеток может включать этап введения субъекту одной или более дополнительных доз модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента или модулирующего ICAM3 агента.

[0182] В указанном контексте одну или более доз вводят дополнительно после первой или предшествующей дозы модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента или модулирующего ICAM3 агента, и они могут, соответственно, называться последующими дозами, или второй, третьей, четвертой дозой и т.д. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации указанная одна или более дополнительных доз может вводиться приблизительно через 24, 48, 72, 96, 120, 144 или 168 часов после предыдущей дозы (введения). Согласно некоторым вариантам реализации указанная одна или более дополнительных доз может вводиться приблизительно каждые 24, 48, 72, 96, 120, 144 или 168 часов после предыдущей дозы (введения). Согласно некоторым другим вариантам реализации указанная одна или более дополнительных доз может вводиться один раз еженедельно, один раз в две недели, один раз в три недели, или один раз в месяц после предыдущей дозы (введения). Согласно некоторым другим вариантам реализации указанная одна или более дополнительных доз может вводиться два раза в неделю после предыдущей дозы (введения).

[0183] Согласно некоторым вариантам реализации указанная одна или более дополнительных доз может вводиться в период от приблизительно 24 часов до 168 часов после предыдущей дозы (введения). Согласно другим вариантам реализации указанная одна или более дополнительных доз может вводиться в период от приблизительно 24 часов до 120 часов, от приблизительно 24 часов до 72 часов, или от приблизительно 24 часов до 48 часов после предыдущей дозы (введения). Согласно некоторым другим вариантам реализации указанная одна или более дополнительных доз может вводиться в период от приблизительно 48 часов до 168 часов, от приблизительно 48 часов до 120 часов, или от приблизительно 48 часов до 72 часов после предыдущей дозы (введения). Согласно некоторым другим вариантам реализации указанная одна или более дополнительных доз может вводиться в период от приблизительно 72 часов до 168 часов, или от приблизительно 72 часов до 120 часов после предыдущей дозы (введения).

[0184] Согласно некоторым вариантам реализации следующую дозу вводят через 7 дней после начальной дозы. Согласно некоторым вариантам реализации следующую дозу вводят через 14 дней после начальной дозы. Согласно некоторым вариантам реализации следующую дозу вводят через 21 день после начальной дозы.

[0185] Согласно некоторым вариантам реализации, в которых субъект имеет, предположительно имеет Т-клеточную лимфому, или у него была диагностирована Т-клеточная лимфома, указанная одна или более дополнительных доз может вводиться каждые 21 день, или каждые 14 дней, или каждые 5–7 дней на протяжении периода времени, который может быть определен лечащим врачом.

[0186] Согласно некоторым вариантам реализации, в которых субъект имеет, предположительно имеет В-клеточную лимфому, или у него была диагностирована В-клеточная лимфома, указанная одна или более дополнительных доз может вводиться каждые 21 день, или

каждые 14 дней, или каждые 5–7 дней на протяжении периода времени, который может быть определен лечащим врачом.

- [0187]** Согласно некоторым вариантам реализации описанных здесь способов способ получения популяции естественных киллерных Т-клеток (НКТ-клеток) может дополнительно включать этап введения активатора НКТ-клеток субъекту. В настоящем документе термин активатор НКТ-клеток включает любой агент или любую молекулу, запускающую активацию НКТ-клеток. Активация НКТ-клеток ассоциирована с положительной регуляцией маркеров активации, и цитокинов и хемокинов Th1 и Th2. Активаторы НКТ-клеток, которые могут быть использованы в описанных способах, хорошо известны специалистам в данной области техники.
- [0188]** Некоторые такие активаторы НКТ-клеток включают, не ограничиваясь перечисленными, адипокины, лептин, адипонектин, апелин, хемерин, MCP-1, PAI-1, RBP4, висфатин, оментин, васпин, програнулин, CTRP-4, цитокины, ИЛ-1 α , ИЛ-1 β , ИЛ-1RA, ИЛ-18, ИЛ-33, ИЛ-36 α , ИЛ-36 β , ИЛ-36 γ , ИЛ-36RA, ИЛ-37, ИЛ-38, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-7, ИЛ-9, ИЛ-15, ИЛ-21, ИФН- α , ИФН- β , ИФН- δ , ИФН- ϵ , ИФН- κ , ИФН- τ , ИФН- ω , ИФН- γ , ИФН- λ 1, ИФН- λ 2, ИФН- λ 3, ИФН- λ 4, ИЛ-6, ИЛ-11, ИЛ-31, CLCF1, CNTF, лептин, LIF, OSM, ИЛ-12, ИЛ-17A, ИЛ-17B, ИЛ-17C, ИЛ-17D, ИЛ-17E, ИЛ-17F, 4-1BBL, BAFF, CD40LG, CD70, CD95L/CD178, EDA-A1, LTA/ФНО- β , ФНО- α , ФНО TNFSF4, ФНО TNFSF8, ФНО TNFSF10, ФНО TNFSF11, ФНО TNFSF12, ФНО TNFSF13, ФНО TNFSF15, ТФР- β 1, ТФР- β 2, ТФР- β 3, ИЛ-13, Г-КСФ, ГМ-КСФ, КСФ-1. Хемокины, CXCL1-CXCL17, CC, CCL1-CCL28, CX3CL1, XCL1, XCL2, миокины, BDNF, декорин, иризин, миостатин, мионектин, остеоонектин, простагландины, PGI2, PGD2, PGE2, PGF2 α , простакиды, простакид I2, простакид D2, простакид E2, простакид F2 α , вирокины, факторы роста, адреномедуллин, ангиопоэтин, аутокринный фактор подвижности, костные морфогенетические белки, цилиарный нейротрофический фактор, фактор ингибирования лейкоза, М-КСФ, ЭФР, эфрин А1-А5, эфрин В1-В3, эритропоэтин, ФРФ-1 – ФРФ-23, эмбриональный бычий соматотропин, GDNF, нейротурин, персефин, артемин, фактор роста/дифференцировки-9, фактор роста гепатоцитов, гепатоцитарный фактор роста, инсулин, инсулиноподобный фактор роста 1-2, фактор роста кератиноцитов, стимулирующий миграцию фактор, стимулирующий макрофаги белок, нейрегулин 1–4, нейротрофин 3-4, фактор роста нервов, плацентарный фактор роста, тромбоцитарный фактор роста, реналазу, фактор роста Т-клеток, ТФР- α , ТФР- β , ФРЭС, сигнальный путь Wnt, антитело против NKG2D или его лиганд МІСА (связанную с цепью ГКГС класса I последовательность А), активацию DNAM-1, активацию 4-1BB, ингибитор PD-1, активаторы НКТ, α -галактозилцерамид, α -глюкуронозилцерамид, α -галактуронилцерамид, α -галактозилдиацилглицерин, фосфатидилинозитол-манозидазу, α -глюкозилдиацилглицерин, холестерин- α -глюкозид, β -галактозилцерамид, изоглоботригексозилцерамид, дисиалоганглиозид, фосфатидилэтанолламин, фосфатидилинозитол, фосфатидилхолин, экстракт домашней пыли, GSL-1, NKp44L, ULBP, происходящие из патогенов молекулярные структуры, PAMP, ЛПС, происходящую из патогена

РНК, происходящую из патогена ДНК, вирусные лиганды, синтетический α -галактозилцерамид, KRN7000, PBS44, PBS57, противовоспалительные ИЛ-10, ИЛ-19, ИЛ-20, ИЛ-22, ИЛ-24, ИЛ-28А, ИЛ-28В, ИЛ-29.

5 **[0189]** Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения указанный активатор НКТ-клеток может не представлять собой один или более из указанных выше агентов.

[0190] После активации НКТ-клетки экспрессируют НКр46 (НКр44 у человека), снижают экспрессию CD3 и CD49b и экспрессируют ИЛ-10, ТФР- β , ИФН-гамма, ИЛ-4 и ряд цитокинов Th1 и Th2, рестриктированную по классу I человека ассоциированную с Т-клетками молекулу (CRTAM), CCL3/MIP1a, CCL4/MIP1h и CCL5/Rantes и XCL1/лимфотактин, гранзим, CD45RO+ CD62L+, CD25, IL2R-бета, ГМ-КСФ, ИЛ-2, ИЛ-13, ФНО-альфа, ИЛ-17, ИЛ-21, CD44, CD69 и ИЛ-22. Кроме того, в окружении опухоли НКТ-клетки организуются в ряды, которые со всех сторон движутся в направлении опухолевых клеток.

[0191] Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации описанных здесь способов активатор НКТ-клеток может быть выбран из группы, состоящей из: альфа-GalCer (альфа-галактозилцерамид; α -GalCer) сульфатида (3-О-сульфогалактозилцерамид; SM4; сульфатированный галактоцереброзид) или активирующего НКТ антитела, или может представлять собой перфорин, оксид азота, ИЛ-2, интерфероны альфа и гамма, ТФР-бета, ФНО-альфа, ФНО-бета, Г-КСФ, ФРЭС, ФРФ-18, ИЛ-17, CXCL5, CXCR2, CXCR5, CCR4-CCL17/22, CCR8-CCL1, CCR10-CCL28 и CXCR3-CCL9/10/11, CCL5, CXCR9, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CXCL9 или CXCL10, индуцируемые интерфероном (ИФН) γ хемокины CXCL9, CXCL10 и CXCL11, CCL5 и CXCL9, CCR5, ИЛ-32, ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-10, ИЛ-18, Г-КСФ, М-КСФ, MCP-1, MCP-3, IP-10, MIG или MIP-1 α . Согласно некоторым другим предпочтительным вариантам реализации описанных здесь способов активатор НКТ-клеток может представлять собой нагруженные альфа-GalCer дендритные клетки или моноциты. Согласно некоторым вариантам реализации описанных здесь способов активатор НКТ-клеток может вводиться в течение 1,3, 24, 48, 72, 96, 120, 144 или 168 часов после введения дозы модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента или модулирующего ICAM3 агента. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации активатор НКТ-клеток может вводиться в пределах 1, 3 или 48 часов или приблизительно через 1, 3 или 48 часов после введения дозы модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента или модулирующего ICAM3 агента. Согласно некоторым в частности предпочтительным вариантам реализации активатор НКТ-клеток может вводиться в пределах 1, 3 или 48 часов или приблизительно через 1, 3 или 48 часов после введения дозы глюкокортикоида.

[0192] Согласно некоторым вариантам реализации описанных здесь способов способ получения популяции Т-клеток могут дополнительно включать этап введения активатора Т-клеток субъекту. В настоящем документе термин «активатор Т-клеток» включает любой агент

или любую молекулу, запускающую активацию Т-клеток. Т-клетки могут быть активированы *посредством* взаимодействия TCR с антигенным пептидом и ГКГС, и *посредством* не-антигенспецифических костимуляторов (таких как цитокин интерлейкин 1). Активация Т-клеток ассоциирована с повышенным продуцированием цитокинов и хемокинов, индукцией созрева-
5 ния дендритных клеток, рекрутированием макрофагов и повышенной цитолитической активностью. Активация гамма-дельта-Т-клеток может также быть ассоциирована с повышенным продуцированием факторов роста, которые поддерживают целостность эпидермиса (таких как ИФР-1, ФРЭС и ФРФ-2), а также презентацией антигена альфа-бета-Т-клеткам. Активация Т-клеток может также быть ассоциирована с изменениями в паттерне
10 экспрессии поверхностных маркеров. В случае гамма-дельта-Т-клеток это может включать один или более из следующих маркерных фенотипов: CD5⁻, CD4-/CD8⁻ (дважды негативный), CD3⁺, CD69, CD56, CD27, CD45RA⁺, CD45, TCR-Vg9⁺, TCR-Vd2⁺, TCR-Vd1⁺ и/или TCR-Vd3⁺. Активаторы Т-клеток, которые могут быть использованы в описанных способах, хорошо известны специалистам в данной области техники.

15 **[0193]** Некоторые такие активаторы Т-клеток включают, не ограничиваясь перечисленными, адипокины, лептин, адипонектин, апелин, хемерин, MCP-1, PAI-1, RBP4, висфатин, оментин, васпин, програнулин, STRP-4, цитокины, ИЛ-1 α , ИЛ-1 β , ИЛ-1RA, ИЛ-18, ИЛ-33, ИЛ-36 α , ИЛ-36 β , ИЛ-36 γ , ИЛ-36RA, ИЛ-37, ИЛ-38, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-7, ИЛ-9, ИЛ-15, ИЛ-21, ИФН- α , ИФН- β , ИФН- δ , ИФН- ϵ , ИФН- κ , ИФН- τ , ИФН- ω , ИФН- γ , ИФН- λ 1, ИФН- λ 2, ИФН- λ 3, ИФН- λ 4, ИЛ-6,
20 ИЛ-11, ИЛ-31, CLCF1, CNTF, лептин, LIF, OSM, ИЛ-12, ИЛ-17A, ИЛ-17B, ИЛ-17C, ИЛ-17D, ИЛ-17E, ИЛ-17F, 4-1BBL, BAFF, CD40LG, CD70, CD95L/CD178, EDA-A1, LTA/ФНО- β , ФНО- α , ФНО TNFSF4, ФНО TNFS8, ФНО TNFSF10, ФНО TNFSF11, ФНО TNFSF12, ФНО TNFSF13, ФНО TNFSF15, ТФР- β 1, ТФР- β 2, ТФР- β 3, ИЛ-13, Г-КСФ, ГМ-КСФ, КСФ-1. Хемокины, CXCL1-CXCL17, CC, CCL1-CCL28, CX3CL1, XCL1, XCL2, миокины, BDNF, декорин,
25 иризин, миостатин, мионектин, остеоонектин, простагландины, PGI2, PGD2, PGE2, PGF2 α , простамины, простагландин I2, простагландин D2, простагландин E2, простагландин F2 α , вирокины, факторы роста, аденомедуллин, ангиопоэтин, аутокринный фактор подвижности, костные морфогенетические белки, цилиарный нейротрофический фактор, фактор ингибирования лейкоза, М-КСФ, ЭФР, эфрин А1-А5, эфрин В1-В3, эритропоэтин, ФРФ-1 – ФРФ-23, эмбриональный бычий соматотропин, GDNF, нейротурин, персефин, артемин, фактор роста/дифференцировки 9, фактор роста гепатоцитов, гепатоцитарный фактор роста, инсулин, инсулиноподобный фактор роста 1-2, фактор роста кератиноцитов, стимулирующий миграцию фактор, стимулирующий макрофаги белок, нейрегулин 1-4, нейротрофин 3-4, фактор роста нервов, плацентарный фактор роста, тромбоцитарный фактор роста, реналазу, фактор роста Т-клеток, ТФР- α , ТФР- β , ФРЭС, сигнальный путь Wnt, активаторы НКТ, α -галактозилцерамид, α -
30 глюконозилцерамид, α -галактуронилцерамид, α -галактозилдиацилглицерол, фосфатидилинозитол-манозидазу, α -глюкозилдиацилглицерин, холестерин- α -глюкозид, β -

5 галактозилцерамид, изоглоботригексозилцерамид, дисиалоганглиозид, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилинозитол, фосфатидилхолин, экстракт домашней пыли, GSL-1, NKp44L, ULBP, происходящие из патогенов молекулярные структуры, PAMP, ЛПС, происходящую из патогена РНК, происходящую из патогена ДНК, вирусные лиганды, синтетический α -галактозилцерамид, KRN7000, PBS44, PBS57, противовоспалительные ИЛ-10, ИЛ-19, ИЛ-20, ИЛ-22, ИЛ-24, ИЛ-28А, ИЛ-28В, ИЛ-29.

[0194] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения активатор Т-клеток может не представлять собой один или более из указанных выше агентов.

10 **[0195]** Согласно некоторым вариантам реализации описанных здесь способов активатор Т-клеток может вводиться в пределах 1, 3, 24, 48, 72, 96, 120, 144 или 168 часов после введения дозы модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента или модулирующего ICAM3 агента. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации активатор Т-клеток может вводиться в пределах или приблизительно через 1, 3 или 48 часов после введения дозы модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента или модулирующего ICAM3 агента.
15 Согласно некоторым в частности предпочтительным вариантам реализации активатор Т-клеток может вводиться в пределах 1, 3 или 48 часов или приблизительно через 1, 3 или 48 часов после введения дозы глюкокортикоида.

[0196] Согласно некоторым вариантам реализации описанных здесь способов способы активации популяции дендритных клеток могут дополнительно включать этап введения активатора дендритных клеток субъекту. В настоящем документе термин «активатор дендритных клеток» включает любой агент или молекулу, запускающую активацию дендритных клеток. Дендритные клетки могут быть прямо активированы сохранившимися молекулами патогена и непрямо – воспалительными медиаторами (например, продуцируемыми другими типами клеток, которые распознают такие молекулы). Активация дендритных клеток ассоциирована с утратой адгезионных структур, реорганизацией цитоскелета и увеличением подвижности клеток. Активация также ассоциирована со снижением эндоцитозной активности, но повышенной экспрессией ГКГС-II и костимулирующих молекул, необходимых для активации Т-клеток. Активация дендритных клеток может также быть ассоциирована с изменениями в паттерне экспрессии поверхностных маркеров. В случае CD11b+ дендритных
25 клеток это может включать один или более из следующих маркерных фенотипов: CD4-, CD8-, CD11c+, CLEC9a-, CX3CR1+, EpcAM/TROP1-, F4/80+, Fc γ RI/CD64+, интегрин α E/CD103-, интегрин α M/CD11b+, лангерин/CD207-, ГКГС класса II+, SIRPa/CD172a+, XCR1. Активаторы дендритных клеток, которые могут быть использованы в описанных способах, хорошо известны специалистам в данной области техники.

35 **[0197]** Некоторые такие активаторы дендритных клеток включают, не ограничиваясь перечисленными, адипокины, лептин, адипонектин, апелин, хемерин, MCP-1, PAI-1, RBP4,

висфатин, оментин, васпин, програнулин, СТРР-4, цитокины, ИЛ-1 α , ИЛ-1 β , ИЛ-1RA. ИЛ-18, ИЛ-33, ИЛ-36 α , ИЛ-36 β , ИЛ-36 γ . ИЛ-36RA, ИЛ-37, ИЛ-38, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-7, ИЛ-9, ИЛ-15, ИЛ-21, ИФН- α , ИФН- β , ИФН- δ , ИФН- ϵ , ИФН- κ , ИФН- τ , ИФН- ω , ИФН- γ , ИФН- λ 1, ИФН- λ 2, ИФН- λ 3, ИФН- λ 4, ИЛ-6, ИЛ-11, ИЛ-31, CLCF1, CNTF, лептин, LIF, OSM, ИЛ-12, ИЛ-17A, ИЛ-17B, ИЛ-17C, ИЛ-17D, ИЛ-17E, ИЛ-17F, 4-1BBL, BAFF, CD40LG, CD70, CD95L/CD178, EDA-A1, LTA/ФНО- β , ФНО- α , ФНО TNFSF4, ФНО TNFSF8, ФНО TNFSF10, ФНО TNFSF11, ФНО TNFSF12, ФНО TNFSF13, ФНО TNFSF15, ТФР- β 1, ТФР- β 2, ТФР- β 3, ИЛ-13, Г-КСФ, ГМ-КСФ, КСФ-1. Хемокины, CXCL1-CXCL17, CC, CCL1-CCL28, CX3CL1, XCL1, XCL2, миокины, BDNF, декорин, иризин, миостатин, мионектин, остеоонектин, простагландины, PGI2, PGD2, PGE2, PGF2 α , простакиды, простакид I2, простакид D2, простакид E2, простакид F2 α , вирокины, факторы роста, адреномедуллин, ангиопоэтин, аутокринный фактор подвижности, костные морфогенетические белки, цилиарный нейротрофический фактор, фактор ингибирования лейкоза, М-КСФ, ЭФР, эфрин А1-А5, эфрин В1-В3, эритропоэтин, ФРФ-1 – ФРФ-23, эмбриональный бычий соматотропин, GDNF, нейротурин, персефин, артемин, фактор роста/дифференцировки -9, фактор роста гепатоцитов, гепатоцитарный фактор роста, инсулин, инсулиноподобный фактор роста 1-2, фактор роста кератиноцитов, стимулирующий миграцию фактор, стимулирующий макрофаги белок, нейрегулин 1–4, нейротрофин 3-4, фактор роста нервов, плацентарный фактор роста, тромбоцитарный фактор роста, реналазу, фактор роста Т-клеток, ТФР- α , ТФР- β , ФРЭС, сигнальный путь Wnt, активаторы НКТ, α -галактозилцерамид, α -глюкуронозилцерамид, α -галактуронилцерамид, α -галактозилдиацилглицерол, фосфатидилинозитол-манозидазу, α -глюкозилдиацилглицерин, холестерин- α -глюкозид, β -галактозилцерамид, изоглоботригексозилцерамид, дисиалоганглиозид, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилинозитол, фосфатидилхолин, экстракт домашней пыли, GSL-1, НКр44L, ULBP, происходящие из патогенов молекулярные структуры, PAMP, ЛПС, происходящую из патогена РНК, происходящую из патогена ДНК, вирусные лиганды, синтетический α -галактозилцерамид, KRN7000, PBS44, PBS57, противовоспалительные ИЛ-10, ИЛ-19, ИЛ-20, ИЛ-22, ИЛ-24, ИЛ-28A, ИЛ-28B, ИЛ-29.

[0198] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения активатор дендритных клеток может не представлять собой один или более из указанных выше агентов.

[0199] Согласно некоторым вариантам реализации описанных здесь способов активатор дендритных клеток может вводиться в пределах 24, 48, 72, 96, 120, 144 или 168 часов введения дозы модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента или модулирующего ICAM3 агента. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации активатор дендритных клеток может вводиться в пределах 48 часов или приблизительно через 48 часов после введения дозы модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента или модулирующего ICAM3 агента. Согласно некоторым в частности предпочтительным вариантам реализации активатор

дендритных клеток может вводиться в пределах 48 часов или приблизительно через 48 часов после введения дозы глюкокортикоида.

[0200] Термины «субъект» и «пациент» используются в настоящем документе взаимозаменяемо, и относятся к человеку или животному. Согласно некоторым вариантам реализации описанных здесь способов субъект может представлять собой млекопитающее. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации субъект может представлять собой человека любого пола или расы. Согласно некоторым вариантам реализации человек представляет собой взрослого человека. Согласно некоторым вариантам реализации описанных здесь способов субъект может представлять собой здорового субъекта, такого как здоровый
5
10
15
20
25
30
35
взрослый субъект-человек. В указанном контексте здоровый субъект представляет собой субъекта, который не поражен заболеванием.

[0201] Согласно некоторым вариантам реализации описанных здесь способов субъект может иметь, предположительно иметь, или у него может быть диагностировано заболевание, выбранное из группы, состоящей из: рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного
15
заболевания (также называемого микробиологическим заболеванием).

[0202] В настоящем документе «рак» относится к заболеванию, характеризующемуся неконтролируемым ростом аберрантных клеток. Раковые клетки могут распространяться локально или через кровоток и лимфатическую систему в другие части организма. Примеры различных видов рака описаны в настоящем документе и включают, не ограничиваясь
20
25
30
35
перечисленными, рак молочной железы, рак предстательной железы, рак яичников, рак шейки матки, рак кожи, рак поджелудочной железы, рак ободочной и прямой кишки, рак почек, рак печени, рак головного мозга, лимфому, лейкоз, рак легкого и т.п. Термины «опухоль» и «рак» используются в настоящем документе взаимозаменяемо, например, оба термина охватывают твердые и жидкие, например, диффузные или циркулирующие опухоли. В настоящем документе термин «рак» или «опухоль» включает предзлокачественные, а также злокачественные виды рака и опухолей.

[0203] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения указанный рак может представлять собой: злокачественное новообразование губы, злокачественное
30
35
новообразование миндалевидной железы, злокачественное новообразование языка, злокачественное новообразование десны, злокачественное новообразование ротовой полости, злокачественное новообразование околоушной железы, злокачественное новообразование слюнных желез, злокачественное новообразование глотки, злокачественное новообразование пищевода, злокачественное новообразование желудка, злокачественное новообразование тонкого кишечника, злокачественное новообразование ободочной кишки, злокачественное
40
45
новообразование ректосигмоидного соединения, злокачественное новообразование прямой кишки, злокачественное новообразование ануса, злокачественное новообразование печени,

злокачественное новообразование желчного пузыря, злокачественное новообразование желчевыводящих путей, злокачественное новообразование поджелудочной железы, злокачественное новообразование кишечного тракта, злокачественное новообразование селезенки, злокачественное новообразование носовой полости и среднего уха, злокачественное новообразование придаточных пазух, злокачественное новообразование гортани, злокачественное новообразование трахеи, злокачественное новообразование бронхов и легкого, злокачественное новообразование вилочковой железы, злокачественное новообразование сердца, средостения и плевры, злокачественное новообразование сайтов дыхательной системы и интраторакальных органов, злокачественное новообразование костей и суставных хрящей конечностей, злокачественное новообразование костей черепа и лица, злокачественное новообразование позвоночного столба, злокачественное новообразование ребер, грудины и ключиц, злокачественное новообразование костей таза, крестца и копчика, злокачественную меланому кожи, злокачественную меланому губы, злокачественную меланому века, в том числе кантуса, злокачественную меланому уха и наружного слухового прохода, злокачественную меланому лица, злокачественную меланому кожи ануса, злокачественную меланому кожи молочной железы, злокачественную меланому конечностей, в том числе плеча, карциному из клеток Меркеля, базально-клеточную карциному кожи губы, плоскоклеточную карциному кожи губы, другое и неуточненное злокачественное новообразование кожи/ века, в том числе кантуса, злокачественное новообразование кожи/ уха и наружного слухового прохода, другое и неуточненное злокачественное новообразование кожи/ и неуточненных частей лица, базально-клеточную карциному кожи других и неуточненных частей лица, плоскоклеточную карциному кожи и неуточненных частей лица, базально-клеточную карциному кожи волосистой части головы и шеи, плоскоклеточную карциному кожи волосистой части головы и шеи, базально-клеточную карциному кожи туловища, базально-клеточную карциному кожи ануса, базально-клеточную карциному кожи молочной железы, плоскоклеточную карциному кожи туловища, плоскоклеточную карциному кожи ануса, плоскоклеточную карциному кожи молочной железы, плоскоклеточную карциному кожи другой части туловища, другое и неуточненное злокачественное новообразование кожи/ конечностей, в том числе плеча, базально-клеточную карциному кожи/ конечностей, в том числе плеча, плоскоклеточную карциному кожи/ конечностей, в том числе плеча, базально-клеточную карциному кожи конечностей, в том числе бедра, плоскоклеточную карциному кожи конечностей, в том числе бедра, мезотелиому, саркому Капоши, злокачественное новообразование периферических нервов и автономной нервной системы, злокачественное новообразование забрюшинного пространства и брюшины, злокачественное новообразование других соединительных и мягких тканей, злокачественное новообразование соединительной ткани и мягких тканей грудной клетки, злокачественное новообразование соединительной ткани и мягких тканей брюшной полости, злокачественное новообразование соединительной ткани и мягких тканей таза, злокачественное новообразование

соединительной и мягких тканей туловища, неуточненное, злокачественное новообразование перекрывающихся сайтов соединительной ткани и мягких тканей, злокачественное новообразование соединительной ткани и мягких тканей, неуточненное, стромальную опухоль ЖКТ, злокачественное новообразование молочной железы, злокачественное новообразование вульвы, злокачественное новообразование влагалища, злокачественное новообразование шейки матки, злокачественное новообразование тела матки, злокачественное новообразование матки, неуточненной локализации, злокачественное новообразование яичника, злокачественное новообразование других и неуточненных органов женской половой системы, злокачественное новообразование плаценты, злокачественное новообразование полового члена, злокачественное новообразование предстательной железы, злокачественное новообразование семенников, злокачественное новообразование других и неуточненных органов мужской половой системы, злокачественное новообразование почки, злокачественное новообразование почечной лоханки, злокачественное новообразование уретры, злокачественное новообразование мочевого пузыря, злокачественное новообразование других и неуточненных органов мочевого пузыря, злокачественное новообразование глаза и придатков глаза, злокачественное новообразование мозговых оболочек, злокачественное новообразование головного мозга, злокачественное новообразование спинного мозга, черепных нервов, злокачественное новообразование зрительного нерва, злокачественное новообразование других и неуточненных черепных нервов, злокачественное новообразование центральной нервной системы, неуточненное, злокачественное новообразование щитовидной железы, злокачественное новообразование надпочечной железы, злокачественное новообразование эндокринных желез и связанных с ними структур, злокачественные нейроэндокринные опухоли, злокачественные карциноидные опухоли, вторичный нейроэндокринные опухоли, злокачественное новообразование головы, лица и шеи, злокачественное новообразование грудной клетки, злокачественное новообразование брюшной полости, злокачественное новообразование таза, злокачественное новообразование конечностей, злокачественное новообразование нижней конечности, вторичное и неуточненное злокачественное новообразование лимфатических узлов, вторичное злокачественное новообразование органов дыхания и пищеварения, вторичное злокачественное новообразование почки и почечной лоханки, вторичное злокачественное новообразование мочевого пузыря, других и неуточненных органов мочевого пузыря, вторичное злокачественное новообразование кожи, вторичное злокачественное новообразование головного мозга и оболочек головного мозга, вторичное злокачественное новообразование неуточненных частей нервной системы, вторичное злокачественное новообразование кости и костного мозга, вторичное злокачественное новообразование яичника, вторичное злокачественное новообразование надпочечной железы, лимфому Ходжкина, фолликулярную лимфому, нефолликулярную лимфому, мелкоклеточную В-клеточную лимфому, мантийноклеточную лимфому, диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому, лимфобластную (диффузную)

лимфому, лимфому Беркитта, другую нефолликулярную лимфому, нефолликулярную (диффузную) лимфому, неуточненную, зрелые Т/НК-клеточные лимфомы, болезнь Сезари, периферическую Т-клеточную лимфому, неклассифицированную, анапластическую крупноклеточную лимфому, ALK-положительную анапластическую крупноклеточную лимфому, ALK-отрицательную кожную Т-клеточную лимфому, неуточненную, другие зрелые Т/НК-клеточные лимфомы, зрелые Т/НК-клеточные лимфомы, неуточненные, другие и неуточненные типы неходжкинской лимфомы, злокачественное иммунопролиферативное заболевание и определенные другие В-клеточные лимфомы, множественную миелому и злокачественные плазмацитарные новообразования, лимфоидный лейкоз, острый лимфобластный лейкоз [ОЛЛ], хронический лимфоцитарный лейкоз В-клеточного типа, пролимфоцитарный лейкоз В-клеточного типа, лейкоз ворсистых клеток, Т-клеточную лимфому/лейкоз взрослых (HTLV-1-ассоциированный), пролимфоцитарный лейкоз Т-клеточного типа, зрелый В-клеточный лейкоз по типу Беркитта, другой лимфоидный лейкоз, лимфоидный лейкоз, неуточненный, миелоидный лейкоз, острый миелобластный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, BCR/ABL-положительный атипичный хронический миелоидный лейкоз, BCR/ABL-отрицательную миелоидную саркому, острый промиелоцитарный лейкоз, острый миеломоноцитарный лейкоз, острый миелоидный лейкоз с аномалией 11q23, другой миелоидный лейкоз, миелоидный лейкоз, неуточненный моноцитарный лейкоз, хронический миеломоноцитарный лейкоз, ювенильный миеломоноцитарный лейкоз, другой моноцитарный лейкоз, моноцитарный лейкоз, неуточненный, другие лейкозы уточненного клеточного типа, острый эритроидный лейкоз, острый мегакариобластный лейкоз, тучноклеточный лейкоз, острый панмиелоз с миелофиброзом, миелодиспластическое заболевание, неклассифицированное, другие уточненные лейкозы, лейкоз неуточненного клеточного типа, хронический лейкоз неуточненного клеточного типа, лейкоз, неуточненный, другое и неуточненное злокачественное новообразование лимфоидной, гематопозитической ткани, карциному in situ ротовой полости, пищевода и желудка, карциному in situ ободочной кишки, карциному in situ ректосигмоидного соединения, карциному in situ прямой кишки, карциному in situ ануса и анального канала, карциному in situ других и неуточненных частей кишечника, карциному in situ неуточненной части кишечника, карциному in situ других частей кишечника, карциному in situ печени, желчного пузыря и желчевыводящих путей, карциному in situ других уточненных органов пищеварения, карциному in situ органа пищеварения, неуточненные, карциному in situ среднего уха и дыхательной системы, карциному in situ гортани, карциному in situ трахеи, карциному in situ бронхов и легкого, карциному in situ других частей дыхательной системы, меланому in situ, меланому in situ губы, меланому in situ века, в том числе кантуса, меланому in situ уха и наружного слухового прохода, меланому in situ неуточненной части лица, меланому in situ волосистой части головы и шеи, меланому in situ туловища, меланому in situ кожи ануса,

меланому in situ молочной железы (кожи) (мягкой ткани), меланому in situ верхней конечности, в том числе плеча, меланому in situ нижней конечности, в том числе бедра, меланому in situ других сайтов, карциному in situ кожи, карциному in situ кожи губы, карциному in situ кожи века, в том числе кантуса, карциному in situ кожи уха и наружного слухового прохода, карциному in situ 5 in situ кожи других и неуточненных частей лица, карциному in situ кожи волосистой части головы и шеи, карциному in situ кожи туловища, карциному in situ кожи верхней конечности, в том числе плеча, карциному in situ кожи нижней конечности, в том числе бедра, карциному in situ кожи других сайтов, карциному in situ молочной железы, лобулярную карциному in situ молочной железы, внутрипротоковую карциному in situ молочной железы, другой уточненный тип карциномы in situ молочной железы, неуточненный тип карциномы in situ молочной железы, карциному in situ шейки матки, карциному in situ других частей шейки матки, карциному in situ 10 шейки матки, неуточненную, карциному in situ других и неуточненных органов половой системы, карциному in situ эндометрия, карциному in situ вульвы, карциному in situ влагалища, карциному in situ других и неуточненных органов женской половой системы, карциному in situ 15 полового члена, карциному in situ предстательной железы, карциному in situ неуточненных органов мужской половой системы, карциному in situ мошонки, карциному in situ других органов мужской половой системы, карциному in situ мочевого пузыря, карциному in situ других и неуточненных органов мочевого выделения, карциному in situ глаза, карциному in situ щитовидной железы и других эндокринных желез, доброкачественное новообразование рта и глотки, доброкачественное новообразование больших слюнных желез, доброкачественное 20 новообразование ободочной кишки, прямой кишки, ануса и анального канала, доброкачественное новообразование нечетко определенных частей пищеварительной системы, доброкачественное новообразование пищевода, доброкачественное новообразование желудка, доброкачественное новообразование двенадцатиперстной кишки, доброкачественное новообразование других и неуточненных частей тонкого кишечника, доброкачественное 25 новообразование печени, доброкачественное новообразование экстрагепатических желчных путей, доброкачественное новообразование поджелудочной железы, доброкачественное новообразование эндокринной поджелудочной железы, доброкачественное новообразование нечетко определенных сайтов в пищеварительной системе, доброкачественное новообразование среднего уха и дыхательной системы, доброкачественное новообразование дыхательной 30 системы, неуточненное, доброкачественное новообразование других и неуточненных интраторакальных органов, доброкачественное новообразование вилочковой железы, доброкачественное новообразование сердца, доброкачественное новообразование средостения, доброкачественное новообразование других уточненных интраторакальных органов, доброкачественное новообразование интраторакального органа, неуточненное, 35 доброкачественное новообразование кости и суставного хряща, доброкачественное новообразование коротких костей верхней конечности, доброкачественное новообразование

длинных костей нижней конечности, доброкачественное новообразование коротких костей нижней конечности, доброкачественное новообразование костей черепа и лица, доброкачественное новообразование кости нижней челюсти, доброкачественное новообразование позвоночного столба, доброкачественное новообразование ребер, грудины и ключиц, доброкачественное новообразование костей таза, крестца и копчика, доброкачественное новообразование кости и суставного хряща, неуточненное, доброкачественное липоматозное новообразование, доброкачественное липоматозное кожное/подкожное новообразование головы, лица и шеи, доброкачественное липоматозное новообразование интраторакальных органов, доброкачественное липоматозное новообразование внутрибрюшинных органов, доброкачественное липоматозное новообразование семенного канатика, доброкачественное липоматозное новообразование других сайтов, доброкачественное липоматозное новообразование почки, доброкачественное липоматозное новообразование другого органа мочеполовой системы, гемангиому и лимфангиому любого сайта, гемангиому, гемангиому неуточненного сайта, гемангиому кожи и подкожной ткани, гемангиому интракраниальных структур, гемангиому внутрибрюшинных структур, гемангиому других сайтов, лимфангиому любого сайта, доброкачественное новообразование мезотелиальной ткани, доброкачественное новообразование мягкой ткани забрюшинного пространства и брюшины, другие доброкачественные новообразования соединительной и других мягких тканей, меланоцитарные невусы, меланоцитарные невусы губы, меланоцитарные невусы века, в том числе кантуса, неуточненные меланоцитарные невусы века, в том числе кантуса, меланоцитарные невусы уха и наружного слухового прохода, меланоцитарные невусы других и неуточненных частей лица, меланоцитарные невусы волосистой части головы и шеи, меланоцитарные невусы туловища, меланоцитарные невусы верхней конечности, в том числе плеча, меланоцитарные невусы нижней конечности, в том числе бедра, меланоцитарные невусы, неуточненные, другое доброкачественное новообразование кожи века, в том числе кантуса, другое доброкачественное новообразование кожи/ уха и наружного слухового прохода, другое доброкачественное новообразование кожи/ левого уха и наружного слухового прохода, другое доброкачественное новообразование кожи других и неуточненных частей лица, другое доброкачественное новообразование кожи других частей лица, другое доброкачественное новообразование кожи волосистой части головы и шеи, другое доброкачественное новообразование кожи туловища, другое доброкачественное новообразование кожи/ верхней конечности, в том числе плеча, другое доброкачественное новообразование кожи нижней конечности, в том числе бедра, другое доброкачественное новообразование кожи, неуточненное, доброкачественное новообразование молочной железы, неуточненное доброкачественное новообразование молочной железы, лейомиому матки, другие доброкачественные новообразования матки, доброкачественное новообразование яичника, доброкачественное новообразование других и неуточненных органов женской половой системы,

доброкачественное новообразование органов мужской половой системы, доброкачественное новообразование органов мочевого пузыря, доброкачественное новообразование почки, доброкачественное новообразование почечной лоханки, доброкачественное новообразование уретры, доброкачественное новообразование мочевого пузыря, доброкачественное новообразование уретры, доброкачественное новообразование других уточненных органов мочевого пузыря, доброкачественное новообразование органа мочевого пузыря, доброкачественное новообразование глаза и придатков глаза, доброкачественное новообразование конъюнктивы, доброкачественное новообразование роговицы, доброкачественное новообразование сетчатки, доброкачественное новообразование сосудистой оболочки глаза, доброкачественное новообразование цилиарного тела, доброкачественное новообразование слезной железы и протока, доброкачественное новообразование неопределенного участка глазницы, доброкачественное новообразование неопределенной части глаза, доброкачественное новообразование мозговых оболочек, доброкачественное новообразование головного мозга и центральной нервной системы, доброкачественное новообразование щитовидной железы, доброкачественное новообразование других и неопределенных эндокринных желез, доброкачественное новообразование других и неопределенных сайтов, доброкачественное новообразование лимфатических узлов, доброкачественное новообразование периферических нервов и автономной нервной системы, доброкачественное новообразование других уточненных сайтов, доброкачественные нейроэндокринные опухоли, другие доброкачественные нейроэндокринные опухоли, новообразование неопределенного поведения ротовой полости и органов пищеварения, доброкачественное новообразование неопределенного поведения большой слюнной железы, доброкачественное новообразование неопределенного поведения глотки, доброкачественное новообразование неопределенного поведения сайтов ротовой полости, доброкачественное новообразование неопределенного поведения желудка, доброкачественное новообразование неопределенного поведения тонкого кишечника, доброкачественное новообразование неопределенного поведения аппендикса, доброкачественное новообразование неопределенного поведения ободочной кишки, доброкачественное новообразование неопределенного поведения прямой кишки, доброкачественное новообразование неопределенного поведения печени, желчного пузыря и желчевыводящих путей, доброкачественное новообразование неопределенного поведения других органов пищеварения, доброкачественное новообразование неопределенного поведения органа пищеварения, доброкачественное новообразование среднего уха и интраорбитальных органов, доброкачественное новообразование неопределенного поведения гортани, доброкачественное новообразование неопределенного поведения трахеи, бронхов и легкого, доброкачественное новообразование неопределенного поведения плевры, доброкачественное новообразование неопределенного поведения средостения, доброкачественное новообразование неопределенного поведения вилочковой железы, доброкачественное новообразование неопределенного поведения других органов дыхания, доброкачественное новообразование неопределенного поведения органа дыхания, доброкачественное новообразование неопределенного поведения органов женской половой системы, доброкачественное новообразование неопределенного поведения матки, доброкачественное новообразование неопределенного поведения яичника, доброкачественное новообразование

неопределенного поведения яичника, неуточненное, новообразование неопределенного поведения плаценты, новообразование неопределенного поведения органов мужской половой системы, новообразование неопределенного поведения органов мочевого пузыря, новообразование неопределенного поведения почки, новообразование неопределенного поведения 5 почки, неуточненное, новообразование неопределенного поведения почечной лоханки, новообразование неопределенного поведения уретры, новообразование неопределенного поведения мочевого пузыря, новообразование неопределенного поведения других органов мочевого пузыря, новообразование неопределенного поведения органа мочевого пузыря, неуточненное, новообразование неопределенного поведения мозговых 10 оболочек, новообразование неопределенного поведения оболочек головного мозга, новообразование неопределенного поведения оболочек спинного мозга, новообразование неопределенного поведения мозговых оболочек, неуточненное, новообразование неопределенного поведения головного мозга, новообразование неопределенного поведения головного мозга, новообразование неопределенного поведения головного мозга, 15 инфратенториальное, новообразование неопределенного поведения головного мозга, неуточненное, новообразование неопределенного поведения черепных нервов, новообразование неопределенного поведения спинного мозга, новообразование неопределенного поведения центральной нервной системы, новообразование неопределенного поведения эндокринных желез, новообразование неопределенного поведения щитовидной железы, новообразование 20 неопределенного поведения надпочечной железы, новообразование неопределенного поведения надпочечной железы, неуточненное, новообразование неопределенного поведения паращитовидной железы, новообразование неопределенного поведения парашитовидной железы, новообразование неопределенного поведения краниофарингеального протока, новообразование неопределенного поведения шишковидной железы, новообразование неопределенного поведения каротидного тельца, новообразование неопределенного поведения аортального 25 тельца и других параганглиев, новообразование неопределенного поведения неуточненной эндокринной железы, истинную полицитемию, миелодиспластические синдромы, рефрактерную анемию без кольцевых сидеробластов, как таковую, рефрактерную анемию с кольцевыми сидеробластами, рефрактерную анемию с избытком бластов [RAEB], 30 миелодиспластический синдром, неуточненный, другое новообразование неопределенного поведения лимфоидной, гематопоэтической ткани, гистиоцитарные и тучноклеточные опухоли неопределенного поведения, хроническое миелолипролиферативное заболевание, моноклональную гаммопатию, эссенциальную (геморрагическую) тромбоцитемию, остеомиелофиброз, другое новообразование неопределенного поведения лимфоидной, 35 гематопоэтической ткани, новообразование неопределенного поведения лимфоидное, гематопоэтическое и неуточненное, новообразование неопределенного поведения других и неуточненных сайтов, новообразование неопределенного поведения кости/суставного хряща,

новообразование неопределенного поведения соединительной/мягкой ткани, новообразование неопределенного поведения периферических нервов и автономной нервной системы, новообразование неопределенного поведения забрюшинного пространства, новообразование неопределенного поведения брюшины, новообразование неопределенного поведения кожи, 5 новообразование неопределенного поведения молочной железы, новообразование неопределенного поведения пищеварительной системы, новообразование неопределенного поведения дыхательной системы, новообразование неопределенного поведения костей, мягких тканей и кожи, новообразование неопределенного поведения молочной железы, новообразование неопределенного поведения мочевого пузыря, новообразование 10 неопределенного поведения других органов мочеполовой системы, новообразование неопределенного поведения почки, новообразование неопределенного поведения другого органа мочеполовой системы, новообразование неопределенного поведения головного мозга, новообразование неопределенного поведения эндокринных желез и других частей нервной системы, новообразование неопределенного поведения сетчатки и сосудистой оболочки глаза, 15 или новообразование неопределенного поведения неуточненного сайта.

[0204] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения указанный рак может не представлять собой один из перечисленных выше видов рака.

[0205] Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации настоящего изобретения указанного рака может быть выбран из группы, состоящей из: лимфомы, плоскоклеточного рака 20 (такого как плоскоклеточный рак эпителия); рака легкого, в том числе мелкоклеточного рака легкого, немелкоклеточного рака легкого, аденокарциномы легкого и плоскоклеточной карциномы легкого; рака брюшины; гепатоцеллюлярного рака; гастрального рака или рака желудка, в том числе рака желудочно-кишечного тракта; рака поджелудочной железы; глиобластомы; рака шейки матки; рака яичников; рака печени; рака мочевого пузыря; гепатомы; 25 рака молочной железы; рака толстой кишки; рака прямой кишки; рака ободочной и прямой кишки; карциномы эндометрия или матки; карциномы слюнной железы; рака почки или ренального рака; рака предстательной железы; рака вульвы; рака щитовидной железы; карциномы печени; карциномы ануса; карциномы полового члена; и рака головы и шеи. Согласно некоторым в частности предпочтительным вариантам реализации настоящего 30 изобретения указанный рак может представлять собой лимфому. Согласно более конкретным предпочтительным вариантам реализации настоящего изобретения указанный рак может представлять собой В-клеточную лимфому или Т-клеточную лимфому. Согласно некоторым в частности предпочтительным вариантам реализации настоящего изобретения указанный рак может представлять собой неходжкинскую лимфому. Согласно другим предпочтительным 35 вариантам реализации указанный рак может представлять собой посттрансплантационное лимфопролиферативное расстройство. Согласно некоторым другим в частности

предпочтительным вариантам реализации настоящего изобретения указанный рак может представлять собой солидную раковую опухоль.

[0206] Согласно вариантам реализации, в которых способы согласно настоящему описанию реализуют у субъекта, который имеет, предположительно имеет, или у которого был 5 диагностирован рак, НКТ-клетки, Т-клетки и/или дендритные клетки, полученные указанными способами, могут лечить рак. В указанном контексте «лечить» означает «вызывать благоприятный терапевтический эффект» у субъекта, который может представлять собой любое общее клиническое преимущество, обеспечиваемое способами согласно настоящему описанию. Указанное общее клиническое преимущество может представлять собой, например, что-либо из 10 следующего: продленная выживаемость, частичная или полная ремиссия заболевания, (например, исходя из оценки % миелобластов костного мозга и/или нормального созревания линий клеток), замедление или отсутствие прогрессирования заболевания (например, исходя из оценки изменений % миелобластов костного мозга), уменьшение размеров опухоли (например, уменьшение объема опухоли на 5, 10, 20, 30, 40% или более), снижение опухолевой нагрузки 15 (например, снижение опухолевой нагрузки на 5, 10, 20, 30, 40% или более), замедление или отсутствие увеличения опухоли, замедление или отсутствие увеличения опухолевой нагрузки, лучшее качество жизни (например, исходя из результатов заполнения опросника для оценки связанного с состоянием здоровья качества жизни, такого как опросник для функциональной оценки терапии рака (FACT)), выживаемость без прогрессирования, общая выживаемость, 20 гематологическое улучшение (например: повышение уровня гемоглобина в крови, количества тромбоцитов и/или количества нейтрофилов), ответа со стороны костного мозга (например: костный мозг с $\leq 5\%$ миелобластов; снижение уровня миелобластов костного мозга на 30%, 40%, 50% или более; отсутствие циркулирующих миелобластов и миелобластов с палочками Ауэра; отсутствие экстремедуллярного заболевания), гематологическое восстановление (например: ≥ 11 25 г/дл гемоглобина, $\geq 100 \times 10^9/\text{л}$ тромбоцитов и/или $\geq 1 \times 10^9/\text{л}$ нейтрофилов в периферической крови), отрицательный ответ в анализе на генетический маркер (например, СЕВРА, NPM1 или FLT3), или любой другой положительный исход у пациента.

[0207] Общее клиническое преимущество может представлять собой «противоопухолевый эффект». В настоящем документе «противоопухолевый эффект» относится к биологическому 30 эффекту, который может быть представлен уменьшением объема опухоли, снижением количества опухолевых клеток, снижением пролиферации опухолевых клеток, снижением количества метастазов, увеличением общей выживаемости или выживаемости без прогрессирования, увеличением ожидаемой продолжительности жизни или облегчением различных физиологических симптомов, ассоциированных с опухолью. Противоопухолевый 35 эффект может также относиться к предотвращению возникновения опухоли, например, с помощью вакцины. Подходящие способы для определения объема опухоли / опухолевой нагрузки хорошо известны специалисту, например, применение: технологий компьютерной

томографии (КТ) или магнитно-резонансной визуализации (МРТ); рентгеновской визуализации, например, маммографии; ультразвуковой визуализации; ядерной визуализации, например, позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ), ПЭТ/КТ-сканирования, остеосцинтиграфии, сканирования с галлием, или сканирования с метаиодбензилгуанидином (МИБГ); биоломинесцентной визуализации (BLI); флуоресцентной визуализации (FLI); визуализации BD ToF (с помощью трехмерной времяпролетной инфракрасной камеры).

5 [0208] Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации НКТ-клетки согласно настоящему описанию могут лечить рак *посредством* инфильтрации опухоли. Согласно некоторым вариантам реализации НКТ-клетки согласно настоящему описанию могут лечить рак
10 *посредством* высвобождения иммуноактивирующих цитокинов. Согласно некоторым вариантам реализации НКТ-клетки согласно настоящему описанию могут захватывать и убивать раковые клетки у субъекта. Согласно некоторым вариантам реализации НКТ-клетки согласно настоящему описанию способствуют инфильтрации опухоли другими иммунными клетками. Согласно некоторым вариантам реализации НКТ-клетки согласно настоящему
15 описанию непосредственно убивают раковые клетки *посредством* CD1d-направленного апоптоза.

[0209] Согласно некоторым вариантам реализации Т-клетки согласно настоящему описанию могут лечить рак *посредством* инфильтрации опухоли. Согласно некоторым вариантам реализации Т-клетки согласно настоящему описанию могут лечить рак *посредством*
20 высвобождения иммуноактивирующих цитокинов. Согласно некоторым вариантам реализации Т-клетки согласно настоящему описанию способствуют инфильтрации опухоли другими иммунными клетками. Согласно некоторым вариантам реализации Т-клетки согласно настоящему описанию непосредственно убивают раковые клетки путем индукции апоптоза, например, путем экспрессии лигандов, которые активируют рецепторы смерти на целевых
25 клетках. Согласно некоторым вариантам реализации Т-клетки согласно настоящему описанию могут поглощать или захватывать раковые клетки у субъекта. Согласно некоторым вариантам реализации указанные Т-клетки могут секретировать цитотоксические молекулы, которые убивают раковые клетки.

[0210] Согласно некоторым вариантам реализации дендритные клетки согласно настоящему
30 описанию могут лечить рак посредством иммунологического надзора. Дендритные клетки (ДК) представляют собой антигенпрезентирующие клетки, происходящие из предшественников костного мозга, и образуют широко распространенную по всему организму клеточную систему. ДК осуществляют иммунологический надзор за экзогенными и эндогенными антигенами, и последующую активацию необученных Т-лимфоцитов, результатом чего являются различные
35 иммунологические ответы. ДК представляют собой сигнальные клетки, отвечающие за распознавание патогенов и сигналов повреждения тканей, что индуцирует их миграцию в

лимфоидные органы для осуществления активации разных подгрупп Т-, естественных киллерных (NK), NKT- и В-лимфоцитов. Имеющие зрелый фенотип сДК характеризуются повышением МНСII, CD80, CD86 и CD40. Согласно некоторым вариантам реализации дендритные клетки согласно настоящему описанию способствуют инфильтрации опухоли другими иммунными клетками, такими как Т-клетки. Согласно некоторым вариантам реализации дендритные клетки согласно настоящему описанию усиливают Т-клеточный ответ на рак путем презентации раковых антигенов Т-клеткам. Согласно некоторым вариантам реализации дендритные клетки согласно настоящему описанию могут непосредственно убивать раковые клетки путем индукции апоптоза, например, путем экспрессии лигандов, которые активуют рецепторы смерти на целевых клетках.

[0211] «Аутоиммунное заболевание» в настоящем документе относится к аутоиммунным расстройствам и другим заболеваниям, возникающим из-за аномального иммунитета, когда иммунная система ошибочно атакует собственные компоненты организма субъекта. (У здоровых субъектов иммунная система избегает повреждающих аутоиммунных реакций за счет развития толерантности к собственным компонентам организма субъекта). Примеры различных аутоиммунных заболеваний описаны в настоящем документе и включают, не ограничиваясь перечисленными, целиакию, сахарный диабет типа 1, болезнь Грейвса, воспалительное заболевание кишечника, транзиторный остеопороз, рассеянный склероз, псориаз, ревматоидный артрит и системную красную волчанку.

[0212] Аутореактивные иммунные клетки экспрессируют высокие уровни фосфоантигенов, которые представляют собой дифосфат-содержащие метаболиты, и также их экспрессируют клетки в состоянии стресса и микроорганизмы, такие как микобактерии, *E.coli* и *Plasmodium*, в частности, фосфоантиген (E)-4-гидрокси-3-метил-бут-2-енилпирофосфат (HMB-PP). У человека HMB-PP не продуцируется. Но он продуцируется у большинства грамотрицательных бактерий, включая *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, *Clostridium difficile*, *Listeria monocytogenes*, *Malaria parasites* и *Toxoplasma gondii*, и *Schistosoma japonicum*. Гамма-дельта-Т-клетки/рецепторы очень чувствительны к HMB-PP, золедронату и изопентилпирофосфату (IPP), пептидогликану миколиларабиногалактану (mAGP) и изобутиламину (IBA). Представители семейства бутирофилинов, такие как BTN2A1, BTN3A1, BTNL3, BTNL8, BTNL1, BTNL6, Skint1, Skint2, играют важную роль в распознавании фосфоантигенов гамма-дельта-Т-клетками. Стимуляция мононуклеарных клеток периферической крови (МКПК) аминокислотобисфосфонатом может также активировать гамма-дельта-Т-клеточные рецепторы. ИЛ-18 может усиливать ответ гамма-дельта-Т-клеточного рецептора на фосфоантигены.

[0213] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения аутоиммунное заболевание может представлять собой: аллергию, астму, болезнь «трансплантат против хозяина» (БТПХ), стероид-резистентную БТПХ, ахалазию, болезнь Аддисона, болезнь Стилла у

взрослых, агаммаглобулинемию, очаговую алопецию, алопецию, транзиторный остеопороз, амилоидоз, анкилозирующий спондилит, анти-ГБМ/анти-БМК-нефрит, антифосфолипидный синдром, аутоиммунный ангионевротический отек, аутоиммунную вегетативную дистонию, аутоиммунный энцефаломиелит, аутоиммунный гепатит, аутоиммунное заболевание

5 внутреннего уха (AIED), аутоиммунный миокардит, аутоиммунный оофорит, аутоиммунный орхит, аутоиммунный панкреатит, аутоиммунную ретинопатию, аутоиммунную крапивницу, аксональную и нейрональную невропатию (AMAN), болезнь Бало, болезнь Бехчета, доброкачественный пемфигоид слизистой оболочки, буллезный пемфигоид, болезнь

10 Кастлемана (CD), целиакию, болезнь Чагаса, хроническую воспалительную демиелинизирующую полинейропатию (CIPD), хронический рецидивирующий мультифокальный остеомиелит (CRMO), болезнь Черджа-Стросс (CSS) или эозинофильный гранулематоз (EGPA), рубцовый пемфигоид, синдрома Когана, болезнь холодových агглютининов, врожденную блокаду сердца, миокардит Коксаки, CREST-синдром, болезнь

15 Крона, герпетический дерматит, дерматомиозит, болезнь Девика (оптикомиелит), дискоидную волчанку, синдром Дресслера, эндометриоз, эозинофильный эзофагит (EoE), эозинофильный фасцит, узелковую эритему, эссенциальную смешанную криоглобулинемию, синдром Эванса, фибромиалгию, фиброзирующий альвеолит, гигантоклеточный артериит (темпоральный артериит), гигантоклеточный миокардит, гломерулонефрит, синдром

20 Гудпасчера, гранулематоз с полиангиитом, болезнь Грейвса, синдром Гийена-Барре, тиреоидит Хашимото, гемолитическую анемию, пурпуру Шенлейна-Геноха (HSP), герпес беременных или пемфигоид беременных (PG), гнойный гидраденит (HS) (инверсное акне), гипогаммаглобулинемию, IgA-нефропатию, IgG4-связанное склерозирующее заболевание, иммунную тромбоцитопеническую пурпуру (ITP), миозит с тельцами включений (IBM), интерстициальный цистит (IC), ювенильный артрит, ювенильный диабет (диабет типа 1),

25 ювенильный миозит (JM), болезнь Кавасаки, синдром Ламберта-Итона, лейкоцитокластический васкулит, плоский лишай, склеротический лишай, деревянистый конъюнктивит, линейный IgA-дерматоз (LAD), волчанку, хроническую болезнь Лайма, болезнь Менъера, микроскопический полиангиит (MPA), смешанное заболевание соединительной ткани (MCTD), язву Мурена, болезнь Муха-Габерманна, мультифокальную двигательную невропатию (MMN) или MMNCB,

30 рассеянный склероз, тяжелую миастению, миозит, нарколепсию, неонатальную волчанку, нейромиелит зрительного нерва, нейтропению, рубцовый пемфигоид глаз, оптический неврит, палиндромный ревматизм (PR), PANDAS, паранеопластическую мозжечковую дегенерацию (PCD), ночную пароксизмальную гемоглобинурию (PNH), синдром Парри-Ромберга, воспаление pars plana (периферический увеит), синдром Парсонажа-Тернера, пузырчатку,

35 периферическую невропатию, перивенозный энцефаломиелит, пернициозную анемию (PA), ROEMS-синдром, узелковый полиартериит, полигландулярные синдромы типа I, II, III, ревматическую полимиалгию, полимиозит, постинфарктный синдром, посткардиотомный

синдром, первичный билиарный цирроз, первичный склерозирующий холангит, прогестероновый дерматит, псориаз, псориатический артрит, истинную эритроцитарную аплазию (PRCA), гангренозную пиодермию, феномен Рейно, реактивный артрит, симпатическую рефлекторную дистрофию, рецидивирующий полихондрит, синдром 5 беспокойных ног (RLS), забрюшинный фиброз, ревматическую лихорадку, ревматоидный артрит, саркоидоз, синдром Шмидта, склерит, склеродермию, синдром Шегрена, аутоиммунитет к сперме и тестикулярный аутоиммунитет, синдром скованного человека (SPS), подострый бактериальный эндокардит (SBE), синдром Сусака, симпатическую офтальмию (SO), артериит Такаясу, темпоральный артериит/гигантоклеточный артериит, тромбоцитопеническую пурпуру 10 (TTP), синдром Толоса-Ханта (THS), поперечный миелит, диабет 1 типа, язвенный колит (UC), недифференцированное заболевание соединительной ткани (UCTD), увеит, васкулит, витилиго, болезнь Фогта-Коянаги-Харада, гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз, множественную миелому, аллерген-специфическую иммунотерапию, аутосомно-доминантную гаплонедостаточность, синдром переднего межкостного нерва предплечья, синдром Черджа- 15 Стросс, системный васкулит, хроническую болезнь «трансплантат против хозяина», синдром опсоклонус-миоклонус, некротизирующую аутоиммунную миопатию (NAM), саркоматоидные карциномы легкого, макроглобулинемию Вальденстрема (WM), нарушения фертильности, болезнь Бехчета, очаговую алопецию (AA), обострение хронической печеночной недостаточности, меланому, синдром организующего бронхиолита или энцефалит. Согласно 20 некоторым вариантам реализации указанное аутоиммунное заболевание может представлять собой: ревматоидный артрит, ревматическую лихорадку, рассеянный склероз, экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит, псориаз, увеит, сахарный диабет, системную красную волчанку (СКВ), волчаночный нефрит, экзему, склеродермию, полимиозит/склеродермию, полимиозит/дерматомиозит, язвенный проктит, тяжелый 25 комбинированный иммунодефицит (ТКИД), синдром Ди Джорджи, атаксию-телеангиэктазию, сезонную аллергию, круглогодичную аллергию, пищевую аллергию, анафилаксию, мастоцитоз, аллергический ринит, атопический дерматит, болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера, гиперспленизм, недостаточность адгезии лейкоцитов, X-сцепленное лимфопролиферативное заболевание, X-сцепленную агаммаглобулинемию, селективный дефицит иммуноглобулина А, 30 гипер-IgM-синдром, ВИЧ, аутоиммунный лимфопролиферативный синдром, синдром Вискотта-Олдрича, хроническую гранулематозную болезнь, обычный переменный иммунодефицит (ОВИД), синдром гипер-иммуноглобулина Е, тиреоидит Хашимото, острую идиопатическую тромбоцитопеническую пурпуру, хроническую идиопатическую тромбоцитопеническую пурпуру, дерматомиозит, хорею Сиденгама, тяжелую миастению, 35 полигландулярные синдромы, буллезный пемфигоид, пурпуру Шенлейна-Геноха, постстрептококковый нефрит, узелковую эритему, мультиформную эритему, IgA-нефропатию, артериит Такаясу, болезнь Аддисона, саркоидоз, язвенный колит, узелковый полиартериит,

анкилозирующий спондилит, синдром Гудпасчера, облитерирующий тромбангиит, синдром Шегрена, первичный билиарный цирроз, тиреоидит Хашимото, тиреотоксикоз, хронический активный гепатит, полихондрит, обыкновенную пузырчатку, гранулематоз Вегенера, мембранозную нефропатию, амиотрофический боковой склероз, сухотку спинного мозга, гигантоклеточный артериит./полимиалгию, пернициозную анемию, быстро прогрессирующий гломерулонефрит, псориаз, фиброзирующий альвеолит или рак.

[0214] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения указанное аутоиммунное заболевание может не представлять собой одно из перечисленных выше аутоиммунных заболеваний.

[0215] Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации настоящего изобретения указанное аутоиммунное заболевание может быть выбрано из группы, состоящей из: рассеянного склероза, системного склероза, амиотрофического бокового склероза, сахарного диабета 1 типа (T1D), склеродермии, пузырчатки и волчанки. Согласно некоторым другим предпочтительным вариантам реализации настоящего изобретения указанное аутоиммунное заболевание может быть выбрано из группы, состоящей из: болезни «трансплантат против хозяина» (БТПХ) и аллергического расстройства, такого как астма. Согласно некоторым в частности предпочтительным вариантам реализации настоящего изобретения указанное аутоиммунное заболевание может представлять собой сахарный диабет 1 типа (T1D).

[0216] Согласно вариантам реализации, в которых способы согласно настоящему описанию применяют у субъекта, который имеет, предположительно имеет, или у которого было диагностировано аутоиммунное заболевание, НКТ-клетки, Т-клетки и/или дендритные клетки, полученные указанными способами, могут лечить указанное аутоиммунное заболевание. В указанном контексте «лечить» означает «вызывать благоприятный терапевтический эффект» у субъекта, который может представлять собой любое общее клиническое преимущество, обеспечиваемое способами согласно настоящему описанию. Указанное общее клиническое преимущество может представлять собой, например, что-либо из следующего: снижение утомляемости, уменьшение боли в мышцах, уменьшение отеков и покраснения, снижение субфебрильной лихорадки, уменьшение проблем с концентрацией внимания, снижение онемения и покалывания в кистях и стопах, и в руках или ногах, уменьшение мочевыделения, уменьшение выпадения волос, уменьшение кожной сыпи, восстановление нормогликемии, повышенный уровень С-пептида, улучшение заживления ран, снижение диареи, уменьшение мышечных спазмов, улучшение мышечного тонуса и контроля, уменьшение кожной сыпи или чешуйчатых бляшек на коже, или обесцвечивания, улучшение поддержания массы тела, уменьшение болей в мышцах или суставах, улучшение состояния пищеварительного тракта, нормальная частота сердечных сокращений, снижение тревожности, снижение баллов по

расширенной шкале статуса инвалидизации (EDSS), уменьшение индивидуальных активных очагов поражения в головном мозге, измеренное с помощью МРТ с усилением гадолинием.

5 [0217] Согласно некоторым вариантам реализации НКТ-клетки согласно настоящему описанию могут лечить аутоиммунное заболевание *посредством* прямого киллинга аутореактивных Т- и/или В-лимфоцитов, повышая отношение Treg : Т-лимфоциты, ингибируя активность аутореактивных Т- и/или В-лимфоцитов, уменьшая воспаление или снижая перемещение аутореактивных лимфоцитов.

10 [0218] Согласно некоторым вариантам реализации Т-клетки согласно настоящему описанию могут лечить аутоиммунное заболевание *посредством* прямого киллинга аутореактивных Т- и/или В-лимфоцитов, повышая отношение Treg : Т-лимфоциты, ингибируя активность аутореактивных Т- и/или В-лимфоцитов, уменьшая воспаление или снижая перемещение аутореактивных лимфоцитов.

15 [0219] Согласно некоторым вариантам реализации дендритные клетки согласно настоящему описанию могут лечить аутоиммунное заболевание *посредством* высвобождения иммуноактивирующих цитокинов, или путем содействия киллингу аутореактивных Т- и/или В-лимфоцитов Т-клетками.

[0220] «Инфекционное заболевание» (или «микробиологическое заболевание») в настоящем документе относится к заболеванию или болезни, возникающей в результате инфекции организма субъекта инфекционными агентами (патогенами), такими как вирусы, бактерии или грибы. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения указанное инфекционное заболевание может представлять собой: инфекцию акинетобактерией (*Acinetobacter baumannii*), актиномикоз (*Actinomyces israelii*, *Actinomyces gerencseriae* и *Propionibacterium propionicus*), африканскую сонную болезнь или африканский трипаносомоз (*Trypanosoma brucei*), СПИД (синдром приобретенного иммунодефицита) (вирус иммунодефицита человека), амебиаз (*Entamoeba histolytica*), анаплазмоз (виды *Anaplasma*), ангиостронгилез (*Angiostrongylus*), анизакиаз (*Anisakis*), сибирскую язву (*Bacillus anthracis*), инфекцию *Arcanobacterium haemolyticum* (*Arcanobacterium haemolyticum*), Аргентинскую геморрагическую лихорадку (вирус Хунин), аскаридоз (*Ascaris lumbricoides*), аспергиллез (виды *Aspergillus*), астровирусную инфекцию (семейство *Astroviridae*), бабезиоз (виды *Babesia*), инфекцию *Bacillus cereus* (*Bacillus cereus*), бактериальную пневмонию (несколько бактерий), бактериальный вагиноз (различная микробиота, вызывающая бактериальный вагиноз), инфекцию *Bacteroides* (виды *Bacteroides*), балантидиоз (*Balantidium coli*), бартонеллез (*Bartonella*), инфекция *Baylisascaris* (виды *Baylisascaris*), ВК-вирусную инфекцию (ВК-вирус), черную пьедру (*Piedraia hortae*), бластоцистоз (виды *Blastocystis*), бластомикоз (*Blastomyces dermatitidis*), боливийскую геморрагическую лихорадку (вирус Мачупо), ботулизм (и детский

ботулизм) (*Clostridium botulinum*; Примечание: ботулизм не является инфекцией *Clostridium botulinum*, а вызван потреблением ботулотоксина), бразильскую геморрагическую лихорадку (вирус Sabiá), бруцеллез (виды *Brucella*), бубонную чуму (семейство бактерий *Enterobacteriaceae*), инфекцию *Burkholderia*, обычно *Burkholderia serasia* и другими видами *Burkholderia*, язву Бурули (*Mycobacterium ulcerans*), калицивирусную инфекцию (*Norovirus* и *Sapovirus*) (семейство *Caliciviridae*), кампилобактериоз (виды *Campylobacter*), кандидоз (молиниаз; молочница) (обычно *Candida albicans* и другие виды *Candida*), капилляриоз (кишечное заболевание, вызываемое *Capillaria philippinensis*, заболевание печени, вызванное *Capillaria hepatica*, и заболевание легких, вызванное *Capillaria aerophila*), болезнь Карриона (*Bartonella bacilliformis*), болезнь кошачьих царапин (*Bartonella henselae*), целлюлит (обычно *Streptococcus* и *Staphylococcus* группы А), болезнь Шагаса (американский трипаносомоз) (*Trypanosoma cruzi*), шанкроид (*Haemophilus ducreyi*), ветрянку (вирус ветряной оспы (VZV)), лихорадку Чикунгунья (альфавирус), инфекцию *Chlamydia* (*Chlamydia trachomatis*), инфекцию *Chlamydophila pneumoniae* (Тайваньский острый респираторный агент, или TWAR) (*Chlamydophila pneumoniae*), холеру (*Vibrio cholerae*), хромобластомикоз (обычно *Fonsecaea pedrosoi*), хитридиомикоз (*Batrachochytrium dendrobatidis*), клонорхоз (*Clonorchis sinensis*), колит *Clostridium difficile* (*Clostridium difficile*), кокцидиоидомикоз (*Coccidioides immitis* и *Coccidioides posadasii*), колорадскую клещевую лихорадку (CTF) (вирус колорадской клещевой лихорадки (CTFV)), обычную простуду (острый вирусный ринофарингит; острый насморк) (обычно риновирусы и коронавирусы), коронавирус, болезнь Крейтцфельдта-Якоба (CJD) (PRNP), Конго-крымскую геморрагическую лихорадку (СCHF) (вирус Конго-крымской геморрагической лихорадки), криптококкоз (*Cryptococcus neoformans*), криптоспоридиоз (виды *Cryptosporidium*), синдром *larva migrans*, кожную форму (CLM) (обычно *Ancylostoma braziliense*; ряд других паразитов), циклоспороз (*Cyclospora cayentanensis*), цистицеркоз (*Taenia solium*), цитомегаловирусную инфекцию (*Cytomegalovirus*), лихорадку Денге (вирусы Денге (DEN-1, DEN-2, DEN-3 и DEN-4) – флавивирусы), инфекцию *Desmodesmus* (зеленая водоросль *Desmodesmus armatus*), диентамебиаз (*Dientamoeba fragilis*), дифтерию (*Corynebacterium diphtheriae*), дифиллоботриоз (*Diphyllobothrium*), дракункулез (*Dracunculus medinensis*), геморрагическую лихорадку Эбола (*Ebolavirus* (EBOV)), эхинококкоз (виды *Echinococcus*), эрлихиоз (виды *Ehrlichia*), энтеробиоз (инфекция острицами) (*Enterobius vermicularis*), инфекцию энтерококками (виды *Enterococcus*), энтеровирусную инфекцию (виды *Enterovirus*), эпидемический тиф (*Rickettsia prowazekii*), инфекционную эритему (пятую болезнь) (парвовирус В19), внезапную экзантему (шестую болезнь) (герпесвирус человека 6 (HHV-6) и герпесвирус человека 7 (HHV-7)), фасциолез (*Fasciola hepatica* и *Fasciola gigantica*), фасциопсиоз (*Fasciolopsis buski*), фатальную семейную бессонницу (FFI) (PRNP), филяриоз (надсемейство *Filarioidea*), пищевое отравление, вызванное *Clostridium perfringens* (*Clostridium perfringens*), инфекция свободноживущими амебами (несколько видов), инфекцию *Fusobacterium* (виды *Fusobacterium*),

газовую гангрену (кlostридиальный мионекроз) (обычно *Clostridium perfringens*; другие виды *Clostridium*), геотрихоз (*Geotrichum candidum*), синдром Герстманна-Штройсслера-Шейнкера (GSS) (PRNP), лямблиоз (*Giardia lamblia*) сап (*Burkholderia mallei*), гнатостомоз (*Gnathostoma spinigerum* и *Gnathostoma hispidum*), гонорейю (*Neisseria gonorrhoeae*), паховую гранулему (донованоз) (*Klebsiella granulomatis*), инфекцию стрептококками группы А (*Streptococcus pyogenes*), инфекцию стрептококками группы В (*Streptococcus agalactiae*), инфекцию *Haemophilus influenzae* (*Haemophilus influenzae*), энтеровирусный везикулярный стоматит (HFMD) (энтеровирусы, в основном вирус Коксаки А и энтеровирус 71 (EV71)), хантавирусный легочный синдром (HPS) (вирус Син Номбре), вирусную болезнь Хартленда (вирус Хартленда),
10 инфекцию *Helicobacter pylori* (*Helicobacter pylori*), гемолитико-уремический синдром (HUS), *Escherichia coli* O157:H7, O111 и O104:H4, геморрагическую лихорадку с почечным синдромом (HFRS) (семейство *Bunyaviridae*), гепатит А (вирус гепатита А), гепатит В (вирус гепатита В), гепатит С (вирус гепатита С), гепатит D (вирус гепатита D), гепатит Е (вирус гепатита Е), простой герпес (вирус простого герпеса 1 и 2 (HSV-1 и HSV-2)), гистоплазмоз (*Histoplasma capsulatum*), анкилостомоз (*Ancylostoma duodenale* и *Necator americanus*), бокавирусную инфекцию человека (бокавирус человека (HBoV)), эрлихиоз человека, вызываемый *Ehrlichia ewingii* (*Ehrlichia ewingii*), гранулоцитарный анаплазмоз человека (HGA) (*Anaplasma phagocytophilum*), метапневмовирусную инфекцию человека, метапневмовирус человека (hMPV), моноцитарный эрлихиоз человека (*Ehrlichia chaffeensis*), инфекцию папилломавирусом
15 человека (HPV) (папилломавирус человека (HPV)), инфекцию вирусом парагриппа человека (вирусы парагриппа человека (HPIV)), гименолепидоз (*Hymenolepis nana* и *Hymenolepis diminuta*), инфекцию вирусом инфекционного мононуклеоза Эпштейна-Барр (вирус Эпштейна-Барр (EBV, ЭБВ)), грипп (семейство *Orthomyxoviridae*), изоспороз (*Isospora belli*), болезнь Кавасаки (возбудитель неизвестен; данные указывают на инфекционность), кератит (несколько
20 типов), инфекцию *Kingella kingae* (*Kingella kingae*), болезнь куру (PRNP), лихорадку Ласса (вирус Ласса), легионеллез (болезнь легионеров) (*Legionella pneumophila*), легионеллез (понтакскую лихорадку) (*Legionella pneumophila*), лейшманиоз (виды *Leishmania*), проказу (*Mycobacterium leprae* и *Mycobacterium lepromatosis*), лептоспироз (виды *Leptospira*), листериоз (*Listeria monocytogenes*), болезнь Лайма (боррелиоз Лайма) (*Borrelia burgdorferi*, *Borrelia garinii* и *Borrelia afzelii*), лимфатический филяриоз (элефантиаз) (*Wuchereria bancrofti* и *Brugia malayi*), лимфоцитарный хориоменингит (вирус лимфоцитарного хориоменингита (LCMV)), малярию (виды *Plasmodium*), марбургскую геморрагическую лихорадку (MHF) (вирус Марбург), корь (вирус кори), ближневосточный респираторный синдром (MERS) (коронавирус ближневосточного респираторного синдрома), мелиоидоз (болезнь Уитмора) (*Burkholderia pseudomallei*), менингит (несколько возбудителей), менингококковый менингит (*Neisseria meningitidis*), метагонимоз (обычно *Metagonimus yokagawai*), микроспоридиоз (*Microsporidia* phylum), контагиозный моллюск (MC) (вирус контагиозного моллюска (MCV)), оспу обезьян

(вирус оспы обезьян), свинку (вирус эпидемического паротита), крысиный сыпной тиф (эпидемический тиф) (*Rickettsia typhi*), микоплазменную пневмонию (*Mycoplasma pneumoniae*), мицетому (в разных значениях) (многочисленные виды бактерий (актиномицетомы) и грибов (эумицетомы)), миаз (паразитические личинки двукрылых мух), неонатальный конъюнктивит (5 *Ophthalmia neonatorum*) (чаще всего *Chlamydia trachomatis* и *Neisseria gonorrhoeae*), норовирус (дети и младенцы) ((новый) вариант болезни Крейтцфельда-Якоба (vCJD, nvCJD), PRNP), нокардиоз (обычно *Nocardia asteroides* и другие виды *Nocardia*), онхоцеркоз (речная слепота) (*Onchocerca volvulus*), описторхоз (*Opisthorchis viverrini* и *Opisthorchis felinus*), паракокцидиоидомикоз (южноамериканский бластомикоз) (*Paracoccidioides brasiliensis*), паразитоз (как правило, *Paragonimus westermani* и другие виды *Paragonimus*), пастереллез (10 виды *Pasteurella*), головной педикулез (головные вши) (*Pediculus humanus capitis*), платяной педикулез (нательные вши) (*Pediculus humanus corporis*), лобковый педикулез (лобковые вши, плоскость) (*Phthirus pubis*), воспалительное заболевание органов таза (PID) (несколько возбудителей), коклюш (судорожный кашель) (*Bordetella pertussis*), чума (*Yersinia pestis*), пневмококковую инфекцию (*Streptococcus pneumoniae*), пневмоцистную пневмонию (PCP) (*Pneumocystis jirovecii*), пневмонию (несколько возбудителей), полиомиелит (*Poliovirus*), инфекцию *Prevotella* (виды *Prevotella*), первичный амебный менингоэнцефалит (ПАМ) (обычно *Naegleria fowleri*), прогрессирующую мультифокальную лейкоэнцефалопатию (вирус JC), пситтакоз (*Chlamydophila psittaci*), Q-лихорадку (*Coxiella burnetii*), бешенство (вирус бешенства), возвратную лихорадку (*Borrelia hermsii*, *Borrelia recurrentis* и другие виды *Borrelia*), инфекцию респираторно-синцитиальным вирусом (респираторно-синцитиальный вирус (RSV)), риноспоридиоз (*Rhinosporidium seeberi*), риновирусную инфекцию (*Rhinovirus*), риккетсиозную инфекцию (виды *Rickettsia*), риккетсиоз (*Rickettsia akari*), лихорадку долины Рифт (RVF) (вирус лихорадки долины Рифт), пятнистую лихорадку Скалистых гор (RMSF) (*Rickettsia rickettsii*), ротавирусную инфекцию (*Rotavirus*), краснуху (вирус краснухи), сальмонеллез (виды *Salmonella*), SARS (тяжелый острый респираторный синдром) (коронавирус SARS), чесотку (*Sarcoptes scabiei*), шистосомоз (виды *Schistosoma*), сепсис (несколько возбудителей), шигеллез (бациллярную дизентерию) (виды *Shigella*), опоясывающий лишай (*Herpes zoster*) (вирус ветряной оспы (VZV)), натуральную оспу (вариолу) (*Variola major* или *Variola minor*), споротрихоз (*Sporothrix schenckii*), стафилококковое пищевое отравление (виды *Staphylococcus*), стафилококковую инфекцию (виды *Staphylococcus*), стронгилоидоз (*Strongyloides stercoralis*), подострый склерозирующий панэнцефалит (вирус кори), сифилис (*Treponema pallidum*), тениоз (виды *Taenia*), тетанус (столбняк) (*Clostridium tetani*), дерматомироз бороды и усов (обыкновенный сикоз) (обычно виды *Trichophyton*), трихофитию волосистой части головы (дерматомироз волосистой части головы) (обычно *Trichophyton tonsurans*), грибковое поражение гладкой кожи туловища (трихофитию гладкой кожи) (обычно виды *Trichophyton*), трихофитию промежности (паховый дерматомироз) (обычно *Epidermophyton floccosum*, *Trichophyton rubrum*)

и *Trichophyton mentagrophytes*), микоз кистей (трихофития кожи рук) (*Trichophyton rubrum*),
черный лишай (обычно *Hortaea werneckii*), дерматофитию стоп (стопу атлета) (обычно виды
Trichophyton), дерматофитный онихомикоз (онихомикоз) (обычно виды *Trichophyton*),
5 разноцветный лишай (отрубевидный лишай) (виды *Malassezia*), токсокароз (глазную форму
синдрома *larva migrans* (OLM)) (*Toxocara canis* или *Toxocara cati*), токсокароз (синдром *larva*
migrans, висцеральная форма (VLM)) (*Toxocara canis* или *Toxocara cati*), трахому (*Chlamydia*
trachomatis), токсоплазмоз (*Toxoplasma gondii*), трихиноз (*Trichinella spiralis*), трихомоноз
(*Trichomonas vaginalis*), трихуроз (инфекцию власоглавом) (*Trichuris trichiura*), туберкулез
(обычно *Mycobacterium tuberculosis*), туляремию (*Francisella tularensis*), тифоидную лихорадку
10 (*Salmonella enterica*, подвид *enterica*, серовар *typhi*), сыпной тиф (*Rickettsia*), инфекцию
Ureaplasma urealyticum (*Ureaplasma urealyticum*), пустынную лихорадку (*Coccidioides immitis*
или *Coccidioides posadasii*), венесуэльский энцефалит лошадей (вирус венесуэльского
энцефалита лошадей), венесуэльскую геморрагическую лихорадку (вирус Гуанарито),
инфекцию *Vibrio vulnificus* (*Vibrio vulnificus*), энтерит *Vibrio parahaemolyticus* (*Vibrio*
parahaemolyticus), вирусную пневмонию (несколько вирусов), лихорадку Западного Нила (вирус
15 Западного Нила), белую пьедру (*Tinea blanca*) (*Trichosporon beigeli*), инфекцию *Yersinia*
pseudotuberculosis (*Yersinia pseudotuberculosis*), иерсиниоз (*Yersinia enterocolitica*), желтую
лихорадку (вирус желтой лихорадки), зигомикоз (порядок *Mucorales* (мукоромикоз) и порядок
Entomophthorales (энтомофторамикоз)), заболевание, вызванное вирусом иммунодефицита
20 человека [ВИЧ], заболевание ВИЧ с инфекционными и паразитическими заболеваниями,
заболевание ВИЧ с микобактериальной инфекцией, заболевание ВИЧ с цитомегаловирусным
заболеванием, заболевание ВИЧ с другими вирусными инфекциями, заболевание ВИЧ с
кандидозом, заболевание ВИЧ с другими микозами, заболевание ВИЧ с пневмонией
Pneumocystis carinii, заболевание ВИЧ со злокачественными новообразованиями, заболевание
25 ВИЧ с саркомой Капоши, заболевание ВИЧ с лимфомой Беркитта, заболевание ВИЧ с другими
типами неходжкинской лимфомы, заболевание ВИЧ с другими злокачественными
новообразованиями лимфоидной, гематопоэтической и связанных с ними тканей, заболевание
ВИЧ с множественными злокачественными новообразованиями, заболевание ВИЧ с другими
злокачественными новообразованиями, заболевание ВИЧ с неуточненным злокачественным
30 новообразованием, заболевание ВИЧ с энцефалопатией, заболевание ВИЧ с лимфоидным
интерстициальным пульмонитом, заболевание ВИЧ с синдромом истощения, заболевание ВИЧ
с несколькими заболеваниями, классифицированными в других местах, заболевание ВИЧ с
другими состояниями, заболевание ВИЧ с синдромом острой ВИЧ-инфекции, заболевание ВИЧ
с (персистирующей) генерализованной лимфаденопатией, заболевание ВИЧ с
35 гематологическими и иммунологическими аномалиями, заболевание ВИЧ с другими
уточненными состояниями, или неуточненное заболевание ВИЧ. Согласно некоторым
вариантам реализации настоящего изобретения указанное инфекционное заболевание может

представлять собой инфекцию вирусом, таким как вирус из одного из следующих семейств вирусов: а) семейство Adenoviridae, например, виды Adenovirus; б) семейство Herpesviridae, например, виды Herpes simplex: простой герпес 1 типа, простой герпес 2 типа, вирус ветряной оспы (Varicella Zoster), вирус Эпштейн-Барр, цитомегаловирус человека, герпесвирус человека 8 типа; в) семейство Papillomaviridae, например, папилломавирус человека; г) семейство Polyomaviridae, например, вирус ВК, вирус JC; д) семейство Poxviridae, например, вирус натуральной оспы; е) семейство Herpadnaviridae, например, вирус гепатита В г) семейство Parvoviridae, например, бокавирус человека, парвовирус В19; з) семейство Astroviridae, например, астровирус человека; и) семейство Caliciviridae, например, вирус Норуолк; й) семейство Flaviviridae, например, вирус гепатита С (HCV), вирус желтой лихорадки, вирус Денге, вирус Западного Нила; к) семейство Togaviridae, например, вирус краснухи; л) семейство Неревiridae, например, вирус гепатита Е; м) семейство Retroviridae, например, вирус иммунодефицита человека (ВИЧ); н) семейство Orthomyxoviridae, например, вирус гриппа; о) семейство Arenaviridae, например, вирус Гуанарито, вирус Хунин, вирус Ласса, вирус Мачупо и/или вирус Sabiá; п) семейство Bunyaviridae, например, вирус Конго-крымской геморрагической лихорадки; р) семейство Filoviridae, например, вирус Эбола и/или вирус Марбург; семейство Paramyxoviridae, например, вирус кори, вирус эпидемического паротита, вирус парагриппа, респираторно-синцитиальный вирус, метапневмовирус человека, вирус Хендра и/или вирус Нипах; с) род семейства Rhabdoviridae, например, вирус бешенства; т) семейство Reoviridae, например, виды Rotavirus, Orbivirus, Coltivirus и/или вирус Ванна.

[0221] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения указанное инфекционное заболевание может не представлять собой одно из перечисленных выше инфекционных заболеваний.

[0222] Согласно некоторым вариантам реализации указанное инфекционное заболевание может представлять собой заболевание, вызванное инфекцией вирусом гриппа А (Flu А). Согласно некоторым вариантам реализации указанный вирус гриппа может представлять собой происходящий от птиц или свиней пандемический вирус гриппа, например, H5N1, H7N3, H7N7, H7N9 и H9N2 (птичий подтип), или H1N1, H1N2, H2N1, H3N1, H3N2 или H2N3 (свиные подтипы).

[0223] Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации настоящего изобретения указанное инфекционное заболевание может представлять собой ВИЧ, например, остаточное заболевание ВИЧ, герпес, гепатит или папилломавирус человека. Согласно другим предпочтительным вариантам реализации указанное инфекционное заболевание может представлять собой заболевание, являющееся результатом инфекции коронавирусом, например, COVID-19 (коронавирус 2019; заболевание, вызываемое коронавирусом тяжелого острого респираторного синдрома 2, SARS-CoV-2).

[0224] Согласно вариантам реализации, в которых способы согласно настоящему описанию реализуют у субъекта, который имеет, предположительно имеет, или у которого было диагностировано инфекционное заболевание, НКТ-клетки, Т-клетки и/или дендритные клетки, полученные указанными способами, могут лечить указанное инфекционное заболевание. В 5 указанном контексте «лечить» означает «вызывать благоприятный терапевтический эффект» у субъекта, который может представлять собой любое общее клиническое преимущество, обеспечиваемое способами согласно настоящему описанию. Указанное общее клиническое преимущество может представлять собой, например, что-либо из следующего: уменьшение жара, уменьшение диареи, уменьшение кашля, уменьшение боли в мышцах, снижение 10 утомляемости, снижение СРБ, сокращение времени, проведенного на ИВЛ, снижение потребности в дополнительном кислороде, снижение повреждения органов после выздоровления.

[0225] Согласно некоторым вариантам реализации НКТ-клетки согласно настоящему описанию могут лечить указанное инфекционное заболевание *посредством* захвата и 15 уничтожения инфекционного организма, активации других клеток врожденного и адаптивного иммунитета, рекрутинга других иммунных клеток в сайт инфекции (например, орган, инфицированный вирусом), деплеция иммунных клеток, инфицированных вирусом (например, моноцитов, активированных COVID-19).

[0226] Согласно некоторым вариантам реализации Т-клетки согласно настоящему описанию могут лечить указанное инфекционное заболевание *посредством* высвобождения 20 иммуноактивирующих цитокинов. Согласно некоторым вариантам реализации Т-клетки согласно настоящему описанию могут лечить указанное инфекционное заболевание *посредством* высвобождения цитокинов с противомикробными или противовирусными эффектами (например, ФНО-альфа, ИФН-гамма). Согласно некоторым вариантам реализации Т-клетки согласно настоящему описанию могут лечить указанное инфекционное заболевание 25 путем индукции апоптоза, например, путем экспрессии лигандов, которые активируют рецепторы смерти на целевых клетках. Согласно некоторым вариантам реализации указанные Т-клетки могут секретировать цитотоксические молекулы, которые убивают инфекционный организм. Согласно некоторым вариантам реализации Т-клетки согласно настоящему описанию 30 могут поглощать или захватывать инфекционный организм.

[0227] Согласно некоторым вариантам реализации дендритные клетки согласно настоящему описанию могут лечить указанное инфекционное заболевание путем передачи патоген-ассоциированных сигналов в адаптивную часть иммунной системы. Согласно некоторым 35 вариантам реализации дендритные клетки согласно настоящему описанию могут лечить указанное инфекционное заболевание, способствуя инфильтрации Т-клетками сайта инфекции и/или стимулируя цитотоксические Т-клетки уничтожать инфекционный организм.

[0228] Согласно вариантам реализации, в которых инфекционное заболевание представляет собой заболевание, являющееся результатом инфекции коронавирусом, например, COVID-19, NKT-клетки согласно настоящему описанию могут лечить заболевание *посредством* захвата и уничтожения коронавируса, и/или путем активации других клеток врожденного и адаптивного иммунитета.

[0229] Соответственно, настоящее изобретение также обеспечивает способы лечения заболевания, являющегося результатом инфекции коронавирусом у субъекта, при этом указанный способ включает введение модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента субъекту в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере приблизительно до 6 мг/кг основания дексаметазона. Согласно некоторым вариантам реализации указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент может представлять собой глюкокортикоид, предпочтительно дексаметазон или бетаметазон. Согласно некоторым вариантам реализации указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент может вводиться в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека), равной по меньшей мере приблизительно до 15 мг/кг основания дексаметазона. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент может вводиться в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека), равной приблизительно от 18 мг/кг до 30 мг/кг основания дексаметазона. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации указанное заболевание представляет собой COVID-19 (коронавирус-2019; заболевание, вызываемое коронавирусом 2 тяжелого острого респираторного синдрома, SARS-CoV-2) или SARS-CoV, или MERS. Согласно некоторым вариантам реализации указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент индуцирует популяцию NKT-клеток и/или Т-клеток согласно описанию в тексте настоящего документа. Согласно некоторым вариантам реализации указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент активирует популяцию дендритных клеток согласно описанию в тексте настоящего документа.

[0230] Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ лечения COVID-19 (коронавирус-2019; заболевание, вызываемое коронавирусом тяжелого острого респираторного синдрома 2, SARS-CoV-2), у субъекта, при этом указанный способ включает введение дексаметазона или бетаметазона субъекту в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека), равной приблизительно от 15 мг/кг до 30 мг/кг основания дексаметазона.

[0231] Согласно вариантам реализации, в которых инфекционное заболевание представляет собой заболевание, являющееся результатом инфекции коронавирусом, например, COVID-19, указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор агент может вводиться в комбинации с ингибитором протонной помпы (таким как омепразол) и/или гидрокортизоном. В указанном

контексте «в комбинации с» может означать одновременное введение, или может означать отдельное и/или последовательное введение в любом порядке.

5 **[0232]** Согласно некоторым вариантам реализации описанных здесь способов способы получения / мобилизации популяции естественных киллерных Т-клеток (НКТ-клеток), получения / мобилизации популяции Т-клеток и/или мобилизации / активации популяции дендритных клеток могут дополнительно включать этап выделения НКТ-клетки, Т-клетки и/или дендритной клетки, или популяции НКТ-клеток, Т-клеток и/или дендритных клеток от субъекта или из образца, происходящего от субъекта. Соответственно, согласно настоящему изобретению
10 предложены выделенные НКТ-клетки, выделенные Т-клетки и выделенные дендритные клетки, а также выделенные популяции НКТ-клеток, Т-клеток и дендритных клеток. Выделенные клетки и выделенные популяции клеток могут характеризоваться паттерном поверхностных белков, которые они экспрессируют, как изложено выше.

[0233] Подходящие способы выделения клеток и популяций клеток из смешанного образца
15 хорошо известные специалисту – например, проточная сортировка (такая как сортировка клеток с активированной флуоресценцией; FACS) и сортировка с помощью магнитных частиц (такая как активируемой магнитным полем сортировки клеток; MACS), микрожидкостная сортировка клеток, центрифугирование в градиенте плотности, выделение клеток методом иммунных розеток, размножение в культуре клеток на основе факторов роста и других компонентов среды.
20 Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации настоящего изобретения указанный этап выделения осуществляют с применением сортировки клеток с активированной флуоресценцией (FACS) или активируемой магнитным полем сортировки клеток (MACS).

[0234] Согласно вариантам реализации, в которых НКТ-клетки, Т-клетки и/или дендритные клетки выделяют из образца, происходящего от субъекта, указанный образец может быть
25 выбран из группы, состоящей из: крови, плазмы, биоптата опухоли или извлеченной хирургическим путем опухоли, костного мозга, печени, биоптата селезенки, и жировой или адипозной ткани.

[0235] Согласно некоторым вариантам реализации этап выделения может быть проведен по
30 меньшей мере приблизительно через 1, 3, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144 или 168 часов после введения модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента или модулирующего ICAM3 агента. Согласно некоторым вариантам реализации этап выделения может быть проведен по меньшей мере приблизительно через 1, 3, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 дней после введения модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента или модулирующего ICAM3 агента. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации этап выделения проводят по
35 меньшей мере приблизительно через 48 часов после указанного введения. Согласно некоторым другим предпочтительным вариантам реализации этап выделения проводят приблизительно

через 1, 3 или 48 часов после указанного введения. Согласно некоторым вариантам реализации этап выделения может быть проведен от приблизительно 1, 3 или 48 часов до 13 дней, от приблизительно 1, 3 или 48 часов до 168 часов, от приблизительно 1, 3 или 48 часов до 120 часов, от приблизительно 1, 3 или 48 часов до 96 часов, или от приблизительно 1, 3 или 48 часов до 72 часов после введения модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента или модулирующего ICAM3 агента. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации этап выделения проводят от приблизительно 1, 3 или 48 часов до 72 часов после указанного введения. Согласно некоторым вариантам реализации этап выделения может быть проведен в пределах 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 часов после введения глюкокортикоида. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации этап выделения может быть проведен в пределах 3 часов после введения глюкокортикоида. Согласно некоторым в частности предпочтительным вариантам реализации этап выделения может быть проведен в пределах 1 часа после введения глюкокортикоида. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации, в которых субъект имеет рак, инфекционное заболевание или аутоиммунное заболевание, этап выделения НКТ-клеток может быть проведен на образце крови от субъекта, в пределах 3 часов после введения глюкокортикоида, и предпочтительно в пределах 1 часа после введения глюкокортикоида.

[0236] Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации способов, включающих этап выделения, субъект может представлять собой здорового субъекта, такого как здоровый взрослый субъект-человек. В указанном контексте здоровый субъект представляет собой субъекта, который не поражен заболеванием.

[0237] Выделенные НКТ-клетки, Т-клетки и/или дендритные клетки, и выделенные популяции НКТ-клеток, популяции Т-клеток и/или популяции дендритных клеток согласно настоящему описанию могут быть размножены в культуре. Подходящие способы и реагенты для культивирования и размножения клеток хорошо известны специалисту. Например, длительная культура с ИЛ-2, растворимым антителом против CD28, антителом против CD3 эпислон, антителом против TCR-бета и гликолипидами, такими как KRN7000, PBS44 или PBS57, как было показано, обеспечивает устойчивое размножение НКТ-клеток (источник: Watarai *et al* 2008, который включен в настоящий документ полностью посредством ссылки). Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации описанных здесь способов способ получения популяции естественных киллерных Т-клеток (НКТ-клеток), получения популяции Т-клеток и/или активации популяции дендритных клеток может дополнительно включать этап размножения НКТ-клетки, Т-клетки, дендритной клетки, или НКТ-клеток, Т-клеток или дендритных клеток, выделенных на этапе выделения. Согласно некоторым вариантам реализации способа согласно настоящему описанию указанный способ может дополнительно включать этап активации выделенных клеток (либо до, либо после этапа размножения)

активатором NKT-клеток, активатором Т-клеток или активатором дендритных клеток, который может соответствовать подробному описанию выше.

[0238] Согласно некоторым вариантам реализации после выделения NKT-клетки, Т-клетки или дендритной клетки, или популяции NKT-клеток, популяции Т-клеток или популяции дендритных клеток от субъекта или из образца, происходящего от субъекта, способы согласно настоящему описанию могут дополнительно включать этап введения нуклеиновой кислоты, кодирующей белок, в выделенную клетку или клетки. Подходящие способы введения нуклеиновой кислоты в клетку хорошо известны специалисту – например, физические или химические способы, в том числе электропорация, сонопорация, микроинъекция в клетки, доставка на микрочастицах, опосредованная фосфатом кальция трансфекция, и трансфекция на основе липосом; или вирусная трансдукция. После введения нуклеиновой кислоты, кодирующей белок, указанная клетка или клетки могут быть культивированы в условиях, облегчающих экспрессию кодируемого белка. Подходящие способы, реагенты и условия для культивирования клеток хорошо известны специалисту. Клетка (NKT-клетка, Т-клетка или дендритная клетка) или клетки (NKT-клетки, Т-клетки или дендритные клетки), в которые была введена нуклеиновая кислота, кодирующая белок, могут называться в настоящем документе трансфицированными или трансформированными клетками.

[0239] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения нуклеиновая кислота, кодирующая белок, представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует белок, выбранный из группы, состоящей из одного или более из: Т-клеточного рецептора (TCR), химерного антигенного рецептора (CAR) и «разделяемого, универсального и программируемого» («split, universal and programmable») CAR (SUPRA-CAR).

[0240] После выделения NKT-клетки, Т-клетки и/или дендритные клетки могут быть генетически доконструированы для конкретной мишени. Например, NKT могут быть размножены с использованием ИЛ-2 и активированы сенсibilизированными GalCer (галактозилцерамидом) аутологичных облученных МКПК, затем трансдуцированы для экспрессии CAR или рекомбинантного TCR (rTCR). Указанный CAR или rTCR может специфически связывать мишень, выбранную из GD2 (дисialogанглиозида) и CD19. Например, указанный CAR может представлять собой NCT03294954 (который специфически связывает GD2) или NCT03774654 (который специфически связывает CD19).

[0241] Кроме того, NKT-клетки, Т-клетки и/или дендритные клетки могут подвергаться направленной активации. Например, могут быть использованы следующие процедуры: нановекторы для пассивной и активной доставки; нагруженные α -GalCer АПК для направленной активации NKT в отношении опухолей; в введение α -GalCer; и/или стимуляция смешанных МКПК (двух–трехкратная) путем

добавления α -GalCer к культивированным клеткам (для получения обогащенной iNKT-клетками популяции, которую затем инфузироваали обратно пациенту)

5 **[0242]** Кроме того, указанные NKT-клетки, Т-клетки и/или дендритные клетки могут быть прямо соединены с нацеленными на опухоль фрагментами (либо на опухолевых клетках, либо в TME). Может также быть использована химическая модификация стимулирующими агентами для NKT-клеток (поляризация иммунных ответов аналогами α -GalCer), Т-клеток и дендритных клеток.

10 **[0243]** Термин «химерный антигенный рецептор» (CAR) в настоящем документе неисключительным образом относится к конструкциям, которые содержат антиген-связывающий домен антитела, слитый с сильным активаторным доменом Т-клеток. Т-клетки, модифицированные конструкцией CAR, могут связываться с антигеном и получать стимуляцию для атаки связанных клеток. Искусственные Т-клеточные рецепторы (также известные как химерные Т-клеточные рецепторы, химерные иммунорецепторы, химерные антигенные рецепторы (CAR)) представляют собой сконструированные рецепторы, которые придают 15 заданную специфичность иммунной эффекторной клетке. Указанные рецепторы называют химерными, поскольку они состоят из частей из разных источников. Указанный рецептор/лиганд, или антитело, экспрессируемое Т-клетками с химерными антигенными рецепторами, или клеточная иммунотерапия могут быть моно- или биспецифическими, или мультиспецифическими.

20 **[0244]** Согласно некоторым вариантам реализации указанный TCR, CAR и/или SUPRA-CAR может содержать антигенсвязывающий домен, который связывается с антигеном, выбранным из группы рецепторов / лигандов / мишеней, состоящей из: тирозиновой протеинкиназы – протоонкогена ABL1, цитруллинированного антигена, ErbB2/HER2, CD16, WT-1, KRAS, глипикана 3, CD3, CD20, CD226, CD155, CD123, HPV-16 E6, Melan-A/MART-1, связанного с 25 рецептором DR4 лиганда TRAIL, LMP, MTCR, ESO, NY-ESO-1, gp100, 4SCAR-GD2/CD56, мезотелина (антигена САК1, или (пре/про)мегакариоцит-потенцирующего фактора, или MSLN); ингибитора синтеза ДНК; антагонист гистаминовых H1-рецепторов (HRH1); ингибитора простагландин-G/H-синтазы 2 (циклооксигеназы 2, или COX2, или простагландин-эндопероксид-синтазы 2, или PHS II, или простагландин-H2-синтазы 2, или PTGS2, или EC 30 1.14.99.1), CD19 (В-лимфоцитарного поверхностного антигена В4, или антигена дифференцировки CD19, или поверхностного антигена Т-клеток Leu 12, или CD19), молекулы клеточной адгезии 5 (карциноэмбрионального антигена, или КЭА, или мекониевого антигена 100, или CD66e, или CEACAM5); агониста рецептора интерлейкина 2 (IL2R), рецептора эпидермального фактора роста (протоонкогена c-ErbB 1, или рецепторной тирозиновой 35 протеинкиназы erbB 1, или HER1, или ERBB1, или рЭФР, или EC 2.7.10.1); ингибитора ДНК-лигазы (EC 6.5.1.); ДНК-лигазы (EC 6,5.1.), ингибитор ДНК-полимеразы альфа (POLA или EC

2.7.7.7); ингибитора ДНК-примазы (ЕС 2.7.7.6); ингибитора рибонуклеозидифосфатредуктазы (рибонуклеозидредуктазы, или RRM, или ЕС 1.17.4.1); ингибитора РНК-полимеразы II (RNAP II, или Pol II, или ЕС 2.7.7.6), ингибитора ДНК-полимеразы (ЕС 2.7.7.7); ДНК-топоизомеразы II (ЕС 5.99.1.3) ингибитора; CD22, мезотелина, ДНК-примазы (ЕС 2.7.7.6); ингибитора лиганда 1 запрограммированной гибели клеток 1 (PD L1, или гомолога 1 B7, или CD274); РНК-полимеразы II (RNAP II, или Pol II, или ЕС 2.7.7.6), ингибитора гистоновой лизин-N-метилтрансферазы EZH2 (ENX 1, или энхансера гомолога Zeste 2, или лизин-N-метилтрансферазы 6, или EZH2, или ЕС 2.1.1.43); лиганда 1 запрограммированной гибели клеток 1 (PD L1, или гомолога 1 B7, или CD274), антагониста хемокинового рецептора С-Х-С 4 типа (FB22, или фузина, или HM89, или LCR1, или лейкоцитарного рецептора с семью трансмембранными доменами, или ассоциированного с липополисахаридами белка 3, или рецептора происходящего из стромальных клеток фактора 1, или NPYRL, или CD184, или CXCR4); агониста рецептора гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (CD114, или GCSFR, или CSF3R), ингибитора аденозиндезаминазы (аденозинаминогидролазы, или ADA, или ЕС 3.5.4.4); представителя суперсемейства 17 рецепторов фактора некроза опухоли (антигена созревания В-клеток, или CD269, или TNFRSF17), цитотоксического для клеток, экспрессирующих неактивный тирозинпротеинкиназный трансмембранный рецептор ROR1 (связанной с рецептором нейротрофической тирозинкиназы 1, или ROR1, или ЕС 2.7.10.1); гликопротеина цепи эpsilon CD3 поверхности Т-клеток (поверхностного антигена цепи эpsilon Т-клеток T3/Leu 4, или CD3E); ингибитора дигидрофолатредуктазы (DHFR, или ЕС 1.5.1.3); ингибитора рецептора 2 эфрина типа А (киназы эпителиальных клеток, или рецепторной тирозиновой протеинкиназы ECK, или ERNA2, или ЕС 2.7.10.1); агониста глюкокортикоидного рецептора (ГР, или представителя 1 ядерных рецепторов подсемейства 3 группы С, или NR3C1); ингибитора рецептора группы фактора роста тучных/стволовых клеток (протоонкогена c-Kit, или группы тирозиновой протеинкиназы, или гомолога вирусного онкогена саркомы кошачьих v-Kit Харди-Цукермана 4, или белка «пегой кожи», или p145 c-Kit, или CD117, или KIT, или ЕС 2.7.10.1); ингибитора рецептора бета тромбоцитарного фактора роста (рецептора бета-типа тромбоцитарного фактора роста, или представителя В семейства подобных антигену CD140 рецепторов, или рецептора 1 тромбоцитарного фактора роста, или CD140b, или PDGFRB, или ЕС 2.7.10.1); ингибитора тубулина; ингибитора тирозиновой протеинкиназы CSK (C-Src-киназы, или протеинтирозинкиназы CYL, или CSK, или ЕС 2.7.10.2); ингибитора тирозинпротеинкиназы Fyn (протоонкогена Syp, или протоонкогена c-Fyn, или Src-подобной киназы, или p59 Fyn, или FYN, или ЕС 2.7.10.2); ингибитора тирозинпротеинкиназы Lck (С-концевой киназы Src лейкоцитов, или белка YTI6, или протоонкогена Lck, или специфической Т-клеточной протеинтирозинкиназы, или специфической протеинтирозинкиназы лимфоцитов, или p56 LCK, или LCK, или ЕС 2.7.10.2); ингибитора тирозинпротеинкиназы Yes (протоонкогена c-Yes, или p61 Yes, или YES1, или ЕС 2.7.10.2), ингибитора фактора некроза опухоли (кахектина, или ФНО-

альфа, или представителя суперсемейства 2 лигандов фактора некроза опухоли, или ФНО-а, или ФНО), ингибитора переносчика сигнала и активатора транскрипции 3 (фактора острофазовой реакции, или ДНК-связывающего белка APRF, или STAT3), ингибитора тирозинкиназы Vcr-Abl (ЕС 2.7.10.2); дигидрофолатредуктазы (DHFR, или ЕС 1.5.1.3); рецептора 2 эфрина типа А (киназы эпителиальных клеток, или рецептора тирозинпротеинкиназы ECK, или ERNA2, или ЕС 2.7.10.1); группы рецептора тучных/стволовых клеток фактора роста (протоонкогена c-Kit, или группы тирозиновой протеинкиназы, или гомолога вирусного онкогена саркомы кошачьих v-Kit Харди-Цукермана 4, или белка «пегой кожи», или p145 c-Kit, или CD117, или KIT, или ЕС 2.7.10.1); рецептора тромбоцитарного фактора роста бета (рецептора тромбоцитарного фактора роста бета-типа, или представителя В семейства подобных антигену CD140 рецепторов, или рецептора 1 тромбоцитарного фактора роста, или CD140b, или PDGFRB, или ЕС 2.7.10.1); тубулина; ингибитора тирозиновой протеинкиназы CSK (киназы C-Src, или протеинтирозинкиназы CYL, или CSK, или ЕС 2.7.10.2); ингибитора тирозиновой протеинкиназы Fyn (протоонкогена Fyn, или протоонкогена c-Fyn, или Src-подобной киназы, или p59 Fyn, или FYN, или ЕС 2.7.10.2); ингибитора тирозиновой протеинкиназы Lck (С-концевой киназы Src лейкоцитов, или белка YТ16, или протоонкогена Lck, или специфической протеинтирозинкиназы Т-клеток, или специфической протеинтирозинкиназы лимфоцитов, или p56 LCK, или LCK, или ЕС 2.7.10.2); ингибитора тирозинпротеинкиназы Yes (протоонкогена c-Yes, или p61 Yes, или YES1, или ЕС 2.7.10.2), активатора каспазы 9 (апоптотической протеазы Mch 6, или активирующего фактора апоптотической протеазы 3, или ICE-подобной апоптотической протеазы 6, или CASP9, или ЕС 3.4.22.62); антигена простатических стволовых клеток (PSCA), антигена меланомы, преимущественно экспрессируемого в опухолях (ракового антигена/ антигена семенников 130, или взаимодействующего с Ора белка 4, или OIP4, или преимущественно экспрессируемого антигена меланомы, или PRAME), ингибитора переносчика сигнала и активатора транскрипции 3 (фактора острофазовой реакции, или ДНК-связывающего белка APRF, или STAT3), антигена CD44 (CDw44, или эпикана, или рецептора III внеклеточного матрикса, или рецептора GP90 хоуминга/адгезии лимфоцитов, или HUTCH I, или гепарансульфата протеогликана, или антигена Hermes, или гиалуронатного рецептора, или фагоцитарного гликопротеина 1, или CD44), рецепторной тирозинкиназы AXL (Anexelekto), GAS6, рецепторных тирозинкиназ TAM, TYRO-3 (также известного как Brr, Dtk, Rse, Sky и Tif), AXL (также известного как Aгk, Tyro7 и Ufo) и MER (также известного как Eyk, Nym и Tyro12), CТLA4, представителя суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли 8 (рецептора CD30L, или антигена Ki 1, или антигена активации лимфоцитов CD30, или CD30, или TNFRSF8), активатора каспазы 9 (апоптотической протеазы Mch 6, или активирующего фактора апоптотической протеазы 3, или ICE-подобной апоптотической протеазы 6, или CASP9, или ЕС 3.4.22.62); фактора, цитотоксического для клеток, экспрессирующих ганглиозид GD2; ингибитора простагландин-G/H-синтазы 1 (циклооксигеназы 1, или COX1, или простагландин-

эндопероксидсинтазы 1, или простагландин-Н2-синтазы 1, или PTGS1, или EC 1.14.99.1); цитокинов, интерлейкинов, клаудина 6 (скуллина, или CLDN6), NKG2D, MICA, MICB и ULBP 1–6, NKp30, B7H6 (NCR3LG1), Vag6, семейства B7, активатора лиганда CD40 (Т-клеточного антигена Gp39, или связанного с ФНО белка активации, или представителя суперсемейства 5 лигандов фактора некроза опухоли, или CD154, или CD40LG); активатора интерлейкина 12 (ИЛ-12), антагониста субъединицы альфа рецептора интерлейкина 3 (группы рецепторов фактора роста тучных/стволовых клеток IL3RA (протоонкогена c-Kit, или группы тирозиновой протеинкиназы, или гомолога вирусного онкогена саркомы кошачьих v-Kit Харди-Цукермана 4, или белка «пегой кожи», или p145 c-Kit, или CD117, или KIT, или EC 2.7.10.1); ингибитора протоонкогена тирозиновой протеинкиназы рецептора Ret (представителя семейства кадгеринов 12, или протоонкогена c-Ret, или RET, или EC 2.7.10.1); антагониста тирозиновой протеинкиназы рецепторного типа FLT3 (FMS-подобной тирозинкиназы 3, или цитокинового рецептора FL, или тирозинкиназы стволовых клеток 1, или киназы фетальной печени 2, или CD135, или FLT3, или EC 2.7.10.1); антагониста рецептора 1 фактора роста эндотелия сосудов (Fms-подобной тирозинкиназы 1, или рецепторной тирозиновой протеинкиназы FLT, или тирозиновой протеинкиназы FRT, или рецептора фактора проницаемости сосудов, или VEGFR1, или FLT1, или EC 2.7.10.1); антагониста рецептора 2 фактора роста эндотелия сосудов (киназы фетальной печени 1, или рецептора со встроенным киназным доменом, или рецепторной протеинтирозинкиназы FLK 1, или VEGFR2, или CD309, или KDR, или EC 2.7.10.1); антагониста рецептора фактора роста эндотелия сосудов 3 (Fms-подобной тирозинкиназы 4, или рецепторной тирозиновой протеинкиназы FLT4, или VEGFR3, или FLT4, или EC 2.7.10.1), активатора каспазы 9 (апоптотической протеазы Mch 6, или активирующего фактора апоптотической протеазы 3, или ICE-подобной апоптотической протеазы 6, или CASP9 или EC 3.4.22.62), антагониста белка цитотоксических Т-лимфоцитов 4 (ассоциированного с цитотоксическими Т-лимфоцитами антигена 4, или CD152, или CTLA4), антигена клеточной поверхности миелоидных клеток CD33 (связывающего сиаловую кислоту Ig-подобного лектина 3, или gp67, или CD33), рецептора фактора роста гепатоцитов (протоонкогена c-Met, или тирозиновой протеинкиназы Met, или рецептора фактора роста гепатоцитов/рассеивающего фактора (HGF/SF), или рецептора рассеивающего фактора, или MET, или EC 2.7.10.1), молекулы адгезии эпителиальных клеток (ассоциированного с аденокарциномой антигена, или гликопротеина поверхности клеток Tgp 1, или поверхностного антигена эпителиальных клеток, или эпителиального гликопротеина 314, или антигена KS 1/4, или KSA, или опухолеассоциированного переносчика кальциевого сигнала 1, или CD326, или EPCAM), ганглиозида GD2, антигена Lewis Y (CD174), латентного мембранного белка 1 (белка p63, или LMP1), муцина 1 (ассоциированного с карциномой молочной железы антигена DF3, или эписиалина, или H23AG, или Krebs Von Den Lungen 6, или PEMP, или чувствительного к арахису муцина мочи, или полиморфного эпителиального муцина, или опухолеассоциированного

эпителиального мембранного антигена, или опухолиассоциированного муцина, или CD227, или MUC1), константной области 1 бета-цепи Т-клеточного рецептора (TRBC1), рецептора фактора роста эндотелия сосудов 2 (киназы фетальной печени 1, или рецептора со встроенным киназным доменом, или рецептора протеинтирозинкиназы flk 1, или VEGFR2, или CD309, или KDR, или EC 2.7.10.1), BCMA, PD-1, рецептора интерлейкина-6, NKR2, CX-072, белка Т-лимфоцитов 4 (ассоциированного с цитотоксическими Т-лимфоцитами антигена 4, или CD152, или CTLA4) антагониста; ингибитора серин/треониновой протеинкиназы B Raf (p94, или протоонкогена B Raf, или гомолога вирусного онкогена саркомы мышей v-Raf B1, или BRAF, или EC 2.7.11.1), муцина 16 (связанного с раком яичников опухолевого маркера CA125, или антигена карциномы яичников CA125, или MUC16); ингибитора тирозинкиназы Vcr-Abl (EC 2.7.10.2); ингибитора тирозиновой протеинкиназы CSK (киназы C Src, или протеинтирозинкиназы CYL, или CSK, или EC 2.7.10.2); ингибитора тирозиновой протеинкиназы Fyn (протоонкогена Syn, или протоонкогена c-Fyn, или Src-подобной киназы, или p59 Fyn, или FYN, или EC 2.7.10.2); ингибитора тирозинпротеинкиназы Lck (С-концевой киназы Src лейкоцитов, или белка YT16 или протоонкогена Lck, или специфической Т-клеточной протеинтирозинкиназы, или специфической для лимфоцитов протеинтирозинкиназы, или p56 LCK, или LCK, или EC 2.7.10.2); ингибитора тирозиновой протеинкиназы Yes (протоонкогена c-Yes, или p61 Yes, или YES1, или EC 2.7.10.2), ингибитора циклин-зависимой киназы 1 (протеинкиназы p34, или протеинкиназы клеточного деления 1, или гомолога белка контроля клеточного деления 2, или CDK1, или EC 2.7.11.22, или EC 2.7.11.23); ингибитора циклин-зависимой киназы 2 (протеинкиназы p33, или протеинкиназы клеточного деления 2, или CDK2, или EC 2.7.11.22); агониста субъединицы альфа рецептора гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (CDw116, или CD116, или CSF2RA), EGFRVIII (pЭФР-VIII), ингибитора тирозиновой протеинкиназы SYK (тирозинкиназы селезенки, или p72 Syk, или SYK, или EC 2.7.10.2), альфа-фетопротейна (фетопротейна альфа 1, или альфа-фетоглобина, или AFP), ингибитора ракового/тестикулярного антигена 1 (аутоиммуногенного ракового/тестикулярного антигена, или ракового/тестикулярного антигена 6.1, или представителя семейства L-антигенов 2, или STAG1A, или STAG1B); антигена HBV, представителя семейства pЭФР, херина, тирозиновой протеинкиназы BTK (тирозинкиназы Брутона, или киназы предшественников В-клеток, или тирозинкиназы агаммаглобулинемии, или BTK, или EC 2.7.10.2), CD4, молекулы адгезии эпителиальных клеток (ассоциированного с аденокарциномой антигена, или гликопротеина поверхности клеток Tgor 1, или поверхностного антигена эпителиальных клеток, или эпителиального гликопротеина 314, или антигена KS 1/4, или KSA, или опухолиассоциированного переносчика кальциевого сигнала 1, или CD326, или EPCAM), пролилэндопептидазы FAP (мембраносвязанной желатиназы меланомы 170 кДа, или дипептидилпептидазы FAP, или интегральной мембранной серинпротеазы, или белка активации фибробластов альфа, или расщепляющей желатин протеазы FAP, или сепразы, или FAP, или EC

3.4.21.26, или ЕС 3.4.14.5), молекулы адгезии нервных клеток 1 (антигена, распознаваемого моноклональным антителом 5.1H11, или CD56, или NCAM1); антагониста рецептора эпидермального фактора роста (протоонкогена c-ErbB1, или рецепторной тирозиновой протеинкиназы erbB 1, или HER1, или ERBB1, или рЭФР, или ЕС 2.7.10.1), тирозинпротеинкиназного трансмембранного рецептора ROR1 (связанной с рецептором нейротрофической тирозинкиназы 1, или ROR1, или ЕС 2.7.10.1); белка опухоли Вильмса (WT33 или WT1); субъединицы альфа 2 рецептора интерлейкина 13 (связывающего интерлейкин 13 белка, или CD213a2, или IL13RA2), гликопротеина трофобластов (M6P1, или онкофетального антигена 5T4, или онкофетального гликопротеина трофобластов 5T4, или активируемого Wnt ингибиторного фактора 1, или TPBG), представителя 7 семейства SLAM (CD319, или мембранного белка FOAP 12, или CD2-подобного рецептора, активирующего цитотоксические клетки, или нового Ly9, или белка 19A, или CD2 подгруппы 1, или CS1, или SLAMF7), ингибитора В-клеточной лимфомы 2 (Bcl 2); ингибитора ДНК-(С5)метилтрансферазы 1 (белка 9 с цинковыми пальцами типа CXXC, или ДНК-метилтрансферазы Hsa1, или MСMT, или DNMT1, или ЕС 2.1.1.37), ROR1, CD19 и CD40L, авидина (рЭФР, вар. III), фолатного рецептора, CD30, рmel CD*8 Т, CD33, NKR2, эпителиального опухолевого антигена (ETA), тирозиназы, меланома-ассоциированного антигена, аномальных продуктов ras, p53, альфафетопротеина (AFP), CA-125, CA15-3, CA27-29, CA19-9, кальцитонина, кальретинина, CD34, CD99MIC 2, CD117, хромогранина, цитокератина (различных типов: TPA, TPS, Cyfra21-1), десмина, эпителиального мембранного антигена (EMA), фактора VIII, CD31 FL1, глиофибрилярного кислого белка (GFAP), белка, выделяемого из жидкости при кистозной болезни (GCDFP-15), HMB-45, хорионического гонадотропина человека (hCG), иммуноглобулина, ингибина, кератина (различных типов), маркера лимфоцитов (различных типов), BCR-ABL, Myo D1, специфического для мышц актина (MSA), нейрофиламента, нейрон-специфической енолазы (NSE), плацентарной щелочной фосфатазы (PLAP), простатического специфического антигена (ПСА), РTPRC (CD45), белка S100, гладкомышечного актина (SMA), синаптофизина, тимидинкиназы, тиреоглобулина (Tg), тиреоидного транскрипционного фактора-1 (ТТФ-1), опухолевой пируваткиназы M2 («Tumor M2-ПК»), виментина, SV40, аденовируса E1b-58kd, IGF2B3, общераспространенного антигена (низкие уровни), калликреина 4, KIF20A, ленгсина, Meloc, MUC5AC, незрелого рецептора ламинина, TAG-72, HPV E6, HPV E7, BING-4, кальций-активируемого хлорного канала 2, циклина-B1, 9D7, Ep-CAM, EphA3, теломеразу, SAP-1, семейства BAGE, семейства CAGE, семейства GAGE, семейства MAGE, семейства SAGE, семейства XAGE, LAGE-1, PRAME, SSX-2, рmel17, тирозиназы, TRP-1/-2, Р-полипептида, MC1R, β-катенина, специфического простатического антигена, BRCA1, BRCA2, CDK4, CML66, фибронектина, MART-2, Ras, рецептора ТФР-бета II, Т-клеточного рецептора (TCR), BLOC1S6, CD10/неприлизина, CD24, CD248, CD5 / Кластера дифференцировки 5, CD63 / Tspan-30 / тетраспанина-30, CEACAM5/CD66e, CT45A3, CTAG1A, CXORF61, DSE, GPA33, HPSE, KLK3,

LCP1, LRIG3, LRRC15, потенцирующего фактора мегакариоцитов, MOK, MUC4, NDNL2, OCIAD1, PMPCB, PTOV1, RCAS1 / EBAG9, RNF43, ROPN1, RPLP1, SARNP, SBEM / MUCL1, TRP1 / TYRP1, CA19-9, неактивного трансмембранного рецептора тирозиновой протеинкиназы ROR1 (связанной с рецептором нейротрофической тирозинкиназы 1, или ROR1, или EC 2.7.10.1), тирозинкиназного рецептора ALK (киназы анапластической лимфомы, или CD246, или ALK, или EC 2.7.10.1), антигена простатических стволовых клеток (PSCA), антигена меланомы, преимущественно экспрессируемой в опухолях (ракового/тестикулярного антигена 130, или взаимодействующего с Ора белка 4, или OIP4, или преимущественно экспрессируемого антигена меланомы, или PRAME), ингибитора переносчика сигнала и активатора транскрипции 3 (фактора острофазовой реакции, или ДНК-связывающего белка APRF, или STAT3), антигена CD44 (CDw44, или эпикана, или рецептора III внеклеточного матрикса, или рецептора GP90 хоуминга/адгезии лимфоцитов, или HUTCH I, или гепарансульфата протеогликана, или антигена Hermes, или гиалуронатного рецептора, или фагоцитарного гликопротеина 1, или CD44), активатора лиганда CD40 (Т-клеточного антигена Gr39, или связанного с ФНО белка активации, или представителя 5 суперсемейства лигандов фактора некроза опухоли, или CD154, или CD40LG); представителя 13В суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли (трансмембранного активатора и взаимодействующего с CAML белка, или CD267, или TACI, или TNFRSF13B); цитотоксического для клеток, экспрессирующих фактор некроза опухоли, представителя 17 суперсемейства рецепторов ФНО (антигена созревания В-клеток, или CD269, или TNFRSF17), антигена CD276 (гомолога 3 В7, или 4Ig В7 Н3, или костимулирующей молекулы, или CD276), антигена поверхности миелоидных клеток CD33 (связывающего сиаловую кислоту Ig-подобного лектина 3, или gp67, или CD33), АДФ-рибозилциклазы/гидролазы циклической АДФ-рибозы 1 (гидролазы циклической АДФ-рибозы 1, или T10, или 2'-фосфо-АДФ-рибозилциклазы/трансферазы 2' циклической фосфо-АДФ-рибозы, или АДФ-рибозилциклазы 1, или CD38, или EC 3.2.2.6, или EC 2.4.99.20), представителя А семейства лектинов 14 с лектиновым доменом типа С (рецептора 5 эпидермального фактора роста, или EGFR5, или CLEC14A), рецептора фактора роста гепатоцитов (протоонкогена с-Met, или тирозиновой протеинкиназы Met, или рецептора фактора роста гепатоцитов/рассеивающего фактора (HGF/SF), или рецептора рассеивающего фактора, или MET, или EC 2.7.10.1), молекулы адгезии эпителиальных клеток (ассоциированного с аденокарциномой антигена, или гликопротеина поверхности клеток Tgor 1, или поверхностного антигена эпителиальных клеток, или эпителиального гликопротеина 314, или антигена KS 1/4, или KSA, или опухолеассоциированного переносчика кальциевого сигнала 1, или CD326, или EPCAM), ганглиозида GD3, субъединицы альфа 2 рецептора интерлейкина 13 (связывающего интерлейкин 13 белка, или CD213a2, или IL13RA2); антигена каппа миеломы (KMA), антигена лямбда миеломы (LMA), латентного мембранного белка 1 (белка p63, или LMP1), меланома-ассоциированного антигена, цитотоксического для клеток, экспрессирующих антиген активации

Т-лимфоцитов CD80 (антиген активации B7-1, или контррецептор CTLA 4 B7.1, или CD80); цитотоксического для клеток, экспрессирующих антиген активации Т-лимфоцитов CD86 (антиген активации B7-2, или контррецептор CTLA 4 B7.2, или CD86), неактивной трансмембранной рецепторной тирозиновой протеинкиназы ROR1 (связанной с рецептором нейротрофической тирозинкиназы 1, или ROR1, или EC 2.7.10.1), апоптотической ингибиторной молекулы 3 Fas (рецептора Fc-фрагмента IgM, или регулятора индуцируемого Fas апоптоза Toso, или TOSO, или FAIM3, или FCMR), константной области 1 бета-цепи Т-клеточного рецептора (TRBC1), рецептора 2 фактора роста эндотелия сосудов (киназы фетальной печени 1, или рецептора со встроенным киназным доменом, или рецепторной протеинтирозинкиназы flk 1, или VEGFR2, или CD309, или KDR, или EC 2.7.10.1), альфа-фетопротеина (фетопротеина альфа 1, или альфа-фетоглобулина, или AFP), ракового/тестикулярного антигена 1 (аутоиммуногенного ракового/тестикулярного антигена NY ESO 1, или ракового/тестикулярного антигена б.1, или представителя 2 семейства L-антигенов, или STAG1A, или STAG1B), гликопротеина поверхности Т-клеток CD5 (антигена лимфоцитов T1/Leu 1, или CD5), пролил-эндопептидазы FAP (мембраносвязанной желатиназы меланомы 170 кДа, или дипептидилпептидазы FAP, или интегральной мембранной серинпротеазы, или белка активации фибробластов альфа, или разлагающей желатин протеазы FAP, или сепразы, или FAP, или EC 3.4.21.26, или EC 3.4.14.5), молекулы адгезии нервных клеток 1 (антигена, распознаваемого моноклональным антителом 5.1H11, или CD56, или NCAM1), представителя А семейства лектинов 12 с лектиновым доменом типа С (миелоидного ингибиторного подобного лектину типа С рецептора, или ассоциированного с дендритными клетками лектина 2, или подобной лектинам типа С молекулы 1, или CLEC12A), интегрин альфа V (субъединицы альфа рецептора витронектина, или CD51, или ITGAV); цитотоксического для клеток, экспрессирующих интегрин бета 6 (ITGB6), субъединицы альфа 2 рецептора интерлейкина 13 (связывающего интерлейкин 13 белка, или CD213a2, или IL13RA2), гликопротеина трофобластов (M6P1, или онкофетального антигена 5T4, или онкофетального гликопротеина трофобластов 5T4, или активируемого Wnt ингибиторного фактора 1, или TPBG), гликопротеина трофобластов (M6P1, или онкофетального антигена 5T4, или онкофетального гликопротеина трофобластов 5T4, или активируемого Wnt ингибиторного фактора 1, или TPBG), представителя А семейства лектинов 12 с лектиновым доменом типа С (миелоидного ингибиторного рецептора, подобного лектину типа С, или ассоциированного с дендритными клетками лектина 2, или лектиноподобной молекулы 1 типа С, или CLEC12A), представителя семейства SLAM 7 (CD319, или мембранного белка FOAP 12, или CD2-подобного рецептора, активирующего цитотоксические клетки, или нового белка Ly9, или белка 19A, или CD2 подгруппы 1, или CS1, или SLAMF7), представителя семейства SLAM 7 (CD319, или мембранного белка FOAP 12, или CD2-подобного рецептора, активирующего цитотоксические клетки, или нового белка Ly9, или белка 19A, или CD2 подгруппы 1, или CS1, или SLAMF7), иммуноглобулина, ассоциированного с множественной лекарственной

устойчивостью белка 3 (MRP3), тирозиновой протеинкиназы – протоонкогена ABL1, простатической кислой фосфатазы, OY-*TES-1*, *ACSM2A*, альфа-актина-4, перилипина-2, альфа-фетопротеина, онкобелка онкогена лимфоидного бластного криза (*Lbc*), представителя семейства альдегид-дегидрогеназ 1 A1 (*ALDH1A1*), *AML*, *ANKRD17*, *NY-BR-1*, аннексина II, *ARHGAP17*, *ARHGAP30*, *ARID1B*, постоянного белка эндоплазматического ретикулума, 5'-аминоимидазол-4-карбоксамид-1-бета-d-рибонуклеотидтрансформилазы/инозиниказы (*AICRT/I*), *ATR*, *ATXN2*, *ATXN2L*, *BAGE1*, *BCL11A*, *Bcl-xL*, белка области кластеризации точек разрыва, сурвивина, *Livin/ML-IAP*, *HM1.24*, содержащего ВТВ-домен белка 2 (*BTBD2*), *C6ORF89*, карбоангидразы IX, *CLCA2*, *CRT2*, *CAMEL*, белка *CAN*, каспазы-5, каспазы-8, *KM-HN-1*, *CCDC88B*, циклина B1, циклина D1, *CCNI*, *CDC2*, *CDC25A*, *CDC27*, *CDK12*, кишечной карбоксилэстеразы, *CEP95*, *CHAF1A*, коактозин-подобного белка 1, *CPSF*, *CRYBA1*, *TRAG-3*, макрофагального колониестимулирующего фактора, *CSNK1A1*, меланома-ассоциированного хондроитинсульфата протеогликана (*MCSP*), катепсина H, антигена 1 рака легкого Китакою, *P450 1B1* или *CYP1B1*, *DDR1*, онкогена *DEK*, *DEK-CAN*, *Dickkopf-1 (DKK1)*, *DNAJC8*, *DSCAML1*, *EEF2*, содержащего GTP-связывающий домен фактора удлинения Tu белка, или *SNRP116*, *EIF4EBP1*, белка Мена человека, *EP300*, *ETV5*, *TEL1* или *ETV6*, белка-энхансера группы *Polycomb* гомолога *Zeste 2 (EZH2)*, *F2R*, *F4.2*, *FAM53C*, фактора роста фибробластов 5, или *FGF5 (ФРФ-5)*, родственного формину белка в лейкоцитах 1 (*FMNL1*), фибромодулина (*FMOD*), *FNDC3B*, *FKHR*, *GDP-L-фукозы GAS7*, *GFI1*, *GIGYF2*, *GPNMB*, *O*, *A1*, *GPSM3*, *GRK2*, *GRM5*, *H3F3A*, *HAUS3*, *HERC1*, *HERV-K-MEL*, *HIVEP2*, *HMGN*, *HMHA1*, гемоксигеназы-1 (*HO-1*), *HNRPL*, гепараназы, кодируемого *HMSD-v* минорного антигена гистосовместимости (*MAI*), *HSPA1A*, *Hsp70*, *HSPB1*, гена X-1 немедленного раннего ответа (*IEX-1*), связывающего мРНК инсулиноподобного фактора роста (ИФР)-II белка 3 (*IMP-3*), *IP6K1*, *IRS2*, *ITGB8*, *JUP*, *RU2AS*, *KANSL3*, *KLF10*, *KLF2*, *KLK4*, *KMT2A*, *K-ras*, рецептора липидов низкой плотности (*LDLR*), *LDLR-FUT*, Мас-2-связывающего белка, *KIAA0205*, *LPP*, *LRP1*, *LRRC41*, *LSP1*, *LUZP1*, локуса К комплекса лимфоцитарного антигена 6 (*LY6K*), *MACF1*, *MAP1A*, *MAP3K11*, *MAP7D1*, матрилина-2, *Mcl-1*, *MDM2*, малатдегидрогеназы, *MEF2D*, *MEFV*, белка мембран жировых глобул молока *BA46 (лактадгерина)*, меланотрансферрина, *GNT-V* или N-ацетилглюкозаминтрансферазы V, *MIP*, *MMP14*, матриксной металлопротеиназы-2, *MORC2*, антигена меланомы *p15*, *MUC2*, *MUM*, *MYC*, *MYL9*, гена нестандартного миозина класса I, *N4BP2*, *NCBP3*, *NCOA1*, *NCOR2*, *NFATC2*, *NFYC*, *NIFK*, нинеина, *NPM*, *NPM1-ALK1*, *N-ras*, *OAS3*, полипептида P, *OGT*, *OS-9*, *ErbB3-связывающего белка 1*, *PAGE-4*, *P21-активируемой серинкиназы 2 (PAK2)*, нео-*PAP*, *PARP12*, *PAX3*, *PAX3-FKHR*, *PCBP2*, фосфоглицераткиназы 1 (*PKG1*), *PLEKHM2*, промиелоцитарного лейкоза или *PML*, *PML-RARA*, *POLR2A*, циклофилина B, *PPP1CA*, *PPP1R3B*, пероксиредоксина 5, протеиназы 3, связанного с паратиреоидным гормоном белка (*PTHrP*), рецептороподобной тирозиновой протеинфосфатазы каппа, *MG50*, *NY-MEL-1* или *RAB38*, *RAGE*, *RALGAPB*, *RAR-альфа*, *RBM*, *RCS1*, рековерина, *RERE*, *RGS5*,

RHAMM/CD168, RPA1, рибосомального белка L10a, рибосомального белка S2, RREB1, RSRP1, RTCB, SART, SCAP, маммаглобина А, сецернина 1, SDCBP, SETD2, SF3B1, общераспространенного белка почек 1, SIK1, SIRT2, SKI, связывающего шпильку белка, SLC35A4, протеина, SLC46A1, SNRPD1, SOGA1, SON, SOX10, SOX11, SOX2, SOX-4, белка
5 спермы 17, SPEN, SRRM2, SRSF7, SRSF8, SSX1, SSX2 или HOM-MEL-40, SSX4, STAT1, STEAP, STRAP, ART-1, SVIL, HOM-TE5-14/SCP1, CD138, SYNM, SYNPO, SYT, SYT15, SYT-SSX1, SYT-SSX2, SZT2, TAPBP, TBC1D10C, TBC1D9B, hTERT, THNSL2, THOC6, TLK1, TNS3, TOP2A, TOP2B, АТФ-зависимого интерферон-чувствительного антигена (ADIR), TP53, триозофосфатизомеразы или TPI1, тропомиозина-4, TPX2, TRG, белка альтернативной рамки считывания Т-клеточного рецептора гамма (TARP), TRIM68, простатического специфического
10 белка с транзиторным рецепторным потенциалом р8 (trp-p8), TSC22D4, протеинкиназы ТТК (ТТК), тимидилатсинтазы (TYMS), UBE2A, убиквитин-конъюгирующего фермента, варианта Куа, COA-1, USB1, NA88-A, VPS13D, BING4, WHSC1L1, WHSC2, WNK2, WT1, XBP1, XPO1, ZC3H14, ZNF106, ZNF219, фактора связывания папилломавируса (PBF), E3-
15 убиквитинпротеинлигазы UBR4.

[0245] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения TCR, CAR и/или SUPRA-CAR могут не содержать антигенсвязывающего домена, который связывается с антигеном, выбранным из описанной выше группы рецепторов / лигандов / мишеней.

[0246] Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации TCR, CAR и/или
20 SUPRA-CAR может содержать антигенсвязывающий домен, который связывается с антигеном, выбранным из группы, состоящей из: CD19, CD20, CD22, GD2, CD133, рЭФР, GPC3, КЭА, MUC1, мезотелина, ИЛ-13R, PCMA, ROR1, CAIX, Her2.

[0247] После введения нуклеиновой кислоты, кодирующей белок, указанная NKT-клетка, Т-клетка или дендритная клетка, или NKT-клетки, Т-клетки или дендритные клетки могут быть
25 размножены в культуре. Подходящие способы и реагенты для культивирования и размножения клеток хорошо известны специалисту. Способы согласно настоящему описанию могут дополнительно включать этап активации клеток активатором NKT-клеток, активатором Т-клеток или активатором дендритных клеток после размножения. Указанный активатор NKT-клеток, активатор Т-клеток или активатор дендритных клеток может соответствовать
30 подробному описанию выше.

[0248] Согласно некоторым вариантам реализации AVM_NKT, AVM-Т-клетки и/или дендритные AVM-клетки, или нацеленные AVM_NKT, AVM-Т-клетки и/или дендритные AVM-клетки используют для доставки груза, такого как нуклеиновые кислоты, дцРНК, миРНК, микро-РНК, дцДНК, оцДНК, кДНК, рРНК, мРНК, тРНК, миРНК, дц-RNAi, РНК-интерференция,
35 органические соединения, цитотоксические лекарственные средства, антитела, ведотин, озогамицин, эмтанзин, дерукстекан, мертанзин, мафодотин, ингибиторы тубулина, монометил

ауристатин-Е (ММАЕ) и монометил ауристатин-F (ММАF) представляют собой пептидные аналоги доластатина-10, мейтансиноиды, алкалоиды барвинка, калихеамицин, дуокармицины, димеры пирролобензодиазепина, талирин, тесирин, индолинобензодиазепиновые псевдодимеры, соравтансин, DM1, DM4, нейротрансмиттеры, интеркаляторы ДНК, антиметаболиты, эндостатины, нейротрофины, химиотерапию, или фактор роста, или антитело, токсин, радиоактивность, антибиотики, антимикотические агенты, антивирусные агенты, рецепторы, вирус, цитокин, липиды, хемокин, пептиды и белки, антипаразитические средства, гормоны, антигены, нейроактивные агенты, агонисты или антагонисты рецепторов, малые молекулы, или любой тип биологического груза или биологически активного груза.

5
10 **[0249]** Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения клетки согласно настоящему описанию могут применяться для доставки груза, не представляющего собой один или более из указанных выше грузов.

- - -

[0250] Также настоящее изобретение обеспечивает способы лечения рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания (также называемого микробиологическим заболеванием) у субъекта. Согласно некоторым вариантам реализации указанный способ лечения представляет собой способ получения популяции естественных киллерных Т-клеток (NKT-клеток) у субъекта, который подробно описан. Согласно некоторым вариантам реализации указанный способ лечения представляет собой способ мобилизации популяции NKT-клеток у субъекта согласно описанию в тексте настоящего документа. Согласно некоторым вариантам реализации указанный способ лечения представляет собой способ получения популяции Т-клеток у субъекта, подробно описанный выше. Согласно некоторым вариантам реализации указанный способ лечения представляет собой способ получения популяции дендритных клеток у субъекта, подробно описанный выше. Согласно некоторым вариантам реализации указанный способ лечения представляет собой способ получения популяции NKT-клеток, Т-клеток и/или дендритных клеток у субъекта, подробно описанный выше. Согласно другим вариантам реализации указанный способ лечения представляет собой способ, включающий введение субъекту терапевтически эффективной дозы выделенных NKT-клеток, Т-клеток и/или дендритных клеток согласно настоящему описанию. Указанные клетки могут представлять собой что-либо из выделенной NKT-клетки или популяции NKT-клеток, выделенной Т-клетки или популяции Т-клеток, и выделенной дендритной клетки или популяции дендритных клеток, описанных выше, в том числе размноженные и неразмноженные, и/или активированные или неактивированные, и/или трансфицированные или нетрансфицированные клетки, описанные выше. Согласно указанным вариантам реализации субъект, рак, аутоиммунное заболевание, инфекционное заболевание и/или механизм терапевтической эффективности могут соответствовать подробному описанию выше.

15
20
25
30
35

5 [0251] Согласно вариантам реализации, в которых способ лечения представляет собой способ, включающий введение субъекту терапевтически эффективной дозы выделенных НКТ-клеток, Т-клеток и/или дендритных клеток согласно настоящему описанию, субъект, которому вводят выделенные клетки, может представлять собой того же субъекта, из организма которого выделили указанные клетки. Согласно таким вариантам реализации лечение может называться лечением аутологичными клетками. Термин «аутологичный» относится к любому материалу, происходящему от того же индивидуума, которому позже его повторно вводят, независимо от того, представляет ли указанный индивидуум собой человека или другое животное. Согласно другим вариантам реализации, в которых способ лечения представляет собой способ, включающий введение субъекту терапевтически эффективной дозы выделенных НКТ-клеток, Т-клеток и/или дендритных клеток согласно настоящему описанию, субъект, которому вводят выделенные клетки, может представлять собой не того субъекта, из организма которого выделили указанные клетки. Согласно таким вариантам реализации лечение может называться лечением аллогенными клетками. Термин «аллогенный» относится к любому материалу, происходящему от одного индивидуума, который затем вводят другому индивидууму того же вида, независимо от того, представляет ли указанный индивидуум собой человека или другое животное. Соответственно, согласно вариантам реализации, в которых способ лечения представляет собой способ, включающий введение субъекту терапевтически эффективной дозы выделенных НКТ-клеток, Т-клеток и/или дендритных клеток согласно настоящему описанию, указанные клетки могут быть получены из аутологичного или аллогенного источника.

15 [0252] Способы лечения рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания у субъекта в соответствии с настоящим изобретением могут дополнительно включать этап введения активатора НКТ-клеток, активатора Т-клеток и/или активатора дендритных клеток субъекту. Указанные активаторы могут соответствовать подробному описанию выше.

25 [0253] В настоящем документе термин «введение» относится к физическому введению агента субъекту, с применением любых из различных способов и систем доставки, известных специалистам в данной области техники. Примеры путей введения агентов согласно описанию в настоящем документе включают внутривенный, внутримышечный, подкожный, внутрибрюшинный, спинальный или другие парентеральные пути введения, например, посредством инъекции или инфузии. Выражение «парентеральное введение» в настоящем документе означает способы введения, не относящиеся к энтеральному и местному введению, обычно путем инъекции, и включает, без ограничения, внутривенную, внутримышечную, внутриартериальную, интратекальную, внутривенную, внутримышечную, внутриартериальную, интратекальную, внутривенную, внутримышечную, интракапсулярную, интраорбитальную, внутрисердечную, внутрикожную, внутрибрюшинную, транстрахеальную, подкожную, внутрикожную, внутрисуставную, субкапсулярную, субарахноидальную, интраспинальную, эпидуральную и интрастернальную инъекцию и

инфузию, а также *in vivo* электропорацию. Согласно некоторым вариантам реализации агенты согласно описанию в настоящем документе могут вводиться непарентеральным путем, например, перорально. Другие непарентеральные пути включают местный, эпидермальный или мукозальный путь введения, например, введение интраназально, вагинально, ректально, 5 сублингвально или местно.

[0254] Выражение «системное введение» в настоящем документе неисключительным образом относится, в том числе, к внутривенному, внутрибрюшинному, подкожному, через подслизистую оболочку носа, лингвальному, посредством бронхоскопии, внутривенному, 10 внутриартериальному, внутримышечному, внутриглазному, внутрь стриатума, подкожному, внутрикожному, введению через дермальный пластырь, через кожный пластырь, через пластырь, введению в спинномозговую жидкость, в воротную вену, в головной мозг, в лимфатическую систему, внутриплевральному, ретроорбитальному, внутрикожному введению, введению в селезенку, внутрилимфатическому введению.

[0255] Термин «сайт введения» в настоящем документе неисключительным образом относится, 15 в том числе, к введению внутрь опухоли, или внутрь органа, например, внутрь почки, или печени, или поджелудочной железы, или сердца, или легкого, или головного мозга, или селезенки, или глаза, внутримышечно, в глаза, внутрь стриатума, внутрикожно, через дермальный пластырь, через кожный пластырь, через пластырь, в спинномозговую жидкость, в головной мозг.

[0256] Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации настоящего изобретения модулирующие глюкокортикоидный рецептор агенты могут вводиться перорально. Согласно 20 вариантам реализации, в которых способ лечения согласно настоящему описанию представляет собой способ, включающий введение субъекту терапевтически эффективной дозы выделенных НКТ-клеток, Т-клеток и/или дендритных клеток согласно настоящему описанию, указанные клетки могут применяться непосредственно в органе или опухоли, в том числе с применением 25 коллагеновых матриц, композиций с внеклеточным матриксом, биополимерных микронитей, изготовленных из фибрина или других материалов внеклеточного матрикса, пластин, содержащих внеклеточный матрикс и биоразлагаемые материалы, фибриновых пластин, пластин на основе альгината или агарозы, скаффолдов, состоящих из материалов внеклеточного 30 матрикса и биоразлагаемого физиологически инертного материала, что может неисключительным образом относиться к таким компонентам, как декстраны, покрытие стволовых клеток органоспецифическими антигенами или связывающими молекулами, остатков внеклеточного матрикса, также известных как скаффолды, или децеллюляризованные органы, из расщепленных *ex vivo* донорских органов или трупных донорских органов, а также 35 контактных линз. Предпочтительно указанные клетки вводят субъекту способом, выбранным из группы, состоящей из: внутривенной инъекции, внутрибрюшинной инъекции,

внутрилимфатической инъекции, интратекальной инъекции, инъекции в спинномозговую жидкость (СМЖ), прямой инъекции в опухоль, и в виде геля, размещаемого на солидной опухоли или возле нее.

5 **[0257]** Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения путь введения агентов и клеток согласно описанию в настоящем документе может не представлять собой один или более из указанных выше путей.

10 **[0258]** Настоящее изобретение также обеспечивает модулирующие глюкокортикоидный рецептор (ГР) агенты и модулирующие ICAM3 агенты для применения в способе получения популяции естественных киллерных Т-клеток (НКТ-клеток), способе получения популяции Т-клеток и/или способе активации популяции дендритных клеток согласно подробному описанию выше. Согласно настоящему изобретению также предложены модулирующие глюкокортикоидный рецептор (ГР) агенты и модулирующие ICAM3 агенты, для применения в способе лечения рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания (также называемого микробиологическим заболеванием) у субъекта, причем указанный способ лечения
15 представляет собой способ получения / активации / мобилизации популяции естественных киллерных Т-клеток (НКТ-клеток) у субъекта согласно подробному описанию выше. Предпочтительные варианты реализации включают глюкокортикоиды для применения в способе получения популяции естественных киллерных Т-клеток (НКТ-клеток), способе
20 получения популяции Т-клеток и/или способе активации популяции дендритных клеток согласно подробному описанию выше, и глюкокортикоиды для применения в способе лечения рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания у субъекта, причем указанный способ лечения представляет собой способ получения популяции естественных киллерных Т-клеток (НКТ-клеток), способ получения популяции Т-клеток и/или способ
25 активации популяции дендритных клеток у субъекта согласно подробному описанию выше. Другие предпочтительные варианты реализации включают глюкокортикоиды для применения в способе мобилизации популяции НКТ-клеток согласно подробному описанию выше. Согласно некоторым в частности предпочтительным вариантам реализации глюкокортикоид представляет собой дексаметазон.

30 **[0259]** Также настоящее изобретение обеспечивает применение модулирующих глюкокортикоидный рецептор (ГР) агентов или модулирующих ICAM3 агентов при изготовлении медикамента для применения в способе получения популяции естественных киллерных Т-клеток (НКТ-клеток), способе получения популяции Т-клеток и/или способе активации популяции дендритных клеток согласно подробному описанию выше. Согласно
35 настоящему изобретению также предложено применение модулирующих глюкокортикоидный рецептор (ГР) агентов или модулирующих ICAM3 агентов при изготовлении медикамента для

применения в способе лечения рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания (также называемого микробиологическим заболеванием) у субъекта, отличающееся тем, что указанный способ лечения представляет собой способ получения популяции естественных киллерных Т-клеток (НКТ-клеток), способ получения популяции Т-клеток и/или способ активации популяции дендритных клеток у субъекта согласно подробному описанию выше.

[0260] Настоящее изобретение также обеспечивает применение модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента или модулирующего ICAM3 агента для индукции популяции естественных киллерных Т-клеток (НКТ-клеток), причем указанная популяция естественных НКТ-клеток индуцируют способом получения популяции естественных киллерных Т-клеток (НКТ-клеток) у субъекта согласно подробному описанию выше. Согласно настоящему изобретению также предложено применение модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента или модулирующего ICAM3 агента для индукции популяции Т-клеток, причем указанную популяцию Т-клеток индуцируют способом получения популяции Т-клеток у субъекта согласно подробному описанию выше. Согласно настоящему изобретению также предложено применение модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента или модулирующего ICAM3 агента для активации популяции дендритных клеток, отличающееся тем, что указанную популяцию дендритных клеток активируют способом активации популяции дендритных клеток у субъекта согласно подробному описанию выше.

[0261] Настоящее изобретение также обеспечивает способ получения индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (иПСК), включающий перепрограммирование НКТ-клеток, Т-клеток или дендритных клеток согласно настоящему описанию для получения иПСК. НКТ-клетки, Т-клетки или дендритные клетки согласно настоящему описанию для применения в способе получения иПСК могут представлять собой НКТ-клетки, полученные и выделенные способом получения популяции естественных киллерных Т-клеток (НКТ-клеток), Т-клеток или дендритных клеток у субъекта согласно подробному описанию выше.

[0262] Согласно некоторым вариантам реализации раскрытого способа получения иПСК перепрограммирование включает введение одной или более экспрессионных кассет, кодирующих Oct3/4, Klf4, Sox2 и С-мус, в клетки согласно настоящему описанию. Согласно некоторым вариантам реализации указанное перепрограммирование включает введение мРНК, кодирующей Oct3/4, KLF4, Sox2 и с-мус, в клетки. Согласно некоторым другим вариантам реализации раскрытого способа получения иПСК указанное перепрограммирование может дополнительно включать введение одной или более экспрессионных кассет, кодирующих одно или более из: Sox1, Sox3, Sox15, Klf1, Klf2, Klf5, L-мус, N-мус, Nanog и/или LIN28, в клетки. Согласно другим вариантам реализации указанное перепрограммирование может

дополнительно включать введение одной или более из: мРНК, кодирующей Sox1, Sox3, Sox15, Klf1, Klf2, Klf5, L-мус, N-мус, Nanog и/или LIN28, в клетки. Подходящие способы введения экспрессионных кассет или кодирующей мРНК в клетку хорошо известны специалисту – например, электропорация, микроинъекции в клетки или способы трансфекции на основе липосом. Было описано применение ретровирусных систем, в том числе лентивирусных и аденовирусных систем, для перепрограммирования неплюрипотентных клеток в иПСК (источник: Stadtfeld et al, 2008, который включен в настоящий документ полностью посредством ссылки). Перепрограммирование взрослых клеток в иПСК может также осуществляться с помощью плазмиды без применения вирусных систем трансфекции (источник: Okita et al, 2008, который включен в настоящий документ полностью посредством ссылки).

Oct-3/4

[0263] Oct-3/4 (Pou5f1; кДНК доступна у Bioclone, Сан-Диего, Калифорния) входит в семейство октамерных («Oct») транскрипционных факторов, и играет важнейшую роль в поддержании плюрипотентности. Отсутствие Oct-3/4 в Oct-3/4+ клетках, таких как бластомеры и эмбриональные стволовые клетки, приводит к спонтанной дифференцировке в трофобласты, а присутствие Oct-3/4, соответственно, обеспечивает плюрипотентность и потенциал дифференцировки у эмбриональных стволовых клеток. Различные другие гены семейства «Oct», в том числе близкородственные Oct-3/4 Oct1 и Oct6, неспособны вызывать индукцию, что демонстрирует исключительное значение Oct-3/4 для процесса индукции.

Семейство Klf:

[0264] Klf4 из семейства генов Klf представляет собой фактор для продуцирования иПС-клеток мыши. Klf2 (кДНК доступна у Bioclone, Inc., Сан-Диего, Калифорния) и Klf4 (кДНК доступна у Bioclone, Inc., Сан-Диего, Калифорния) представляют собой факторы, способные обеспечивать продуцирование иПС-клеток, и родственные им гены Klf1 (кДНК доступна у Bioclone, Inc., Сан-Диего, Калифорния) и Klf5 (кДНК доступна у Bioclone, Inc., Сан-Диего, Калифорния) также к этому способны, хотя и со сниженной эффективностью.

Семейство Sox

[0265] Семейство генов Sox ассоциировано с поддержанием плюрипотентности, аналогично Oct-3/4, хотя оно ассоциировано с мультипотентными и унипотентными стволовыми клетками, в отличие от Oct-3/4, который экспрессируется исключительно в плюрипотентных стволовых клетках (источник: Bowles et al, 2000, который включен в настоящий документ полностью посредством ссылки). Хотя Sox2 (кДНК доступна у Bioclone, Сан-Диего, Калифорния) был первым геном, который был использован для индукции, другие гены в семействе Sox, как было обнаружено, также задействованы в процессе индукции. Sox1 (кДНК доступна у Bioclone, Inc., Сан-Диего, Калифорния) обеспечивает продуцирование иПС-клеток с эффективностью, аналогичной Sox2, и гены Sox3 (кДНК человека доступна у Bioclone, Inc., Сан-Диего,

Калифорния), Sox15 и Sox18 также обеспечивают продуцирование иПС-клеток, хотя со сниженной эффективностью.

Семейство Mus

5 [0266] Гены семейства Mus представляют собой протоонкогены, вовлеченные в рак. С-мус (кДНК доступна у Bioclone, Inc., Сан-Диего, Калифорния) представляет собой фактор, вовлеченный в продуцирование иПС-клеток мыши иПС-клеток. Однако с-мус может необязательно быть необходим для продуцирования иПС-клеток человека. Применение генов семейства «мус» при индукции иПС-клеток затруднительно при использовании иПС-клеток в качестве клинической терапии, поскольку у 25% мышей, которым были трансплантированы
10 индуцированные с-мус иПС-клетки, развивались летальные тератомы. N-мус (кДНК доступна у Bioclone, Inc., Сан-Диего, Калифорния) и L-мус были идентифицированы как индукторы, заменяющие с-мус, с аналогичной эффективностью.

Nanog

15 [0267] В эмбриональных стволовых клетках Nanog (кДНК доступна у Bioclone, Inc., Сан-Диего, Калифорния), наряду с Oct-3/4 и Sox2, необходим для стимуляции плюрипотентности (источник: Chambers et al, 2003, который включен в настоящий документ полностью посредством ссылки).

LIN28

20 [0268] LIN28 (кДНК доступна у Bioclone, Inc., Сан-Диего, Калифорния) представляет собой связывающий мРНК белок, экспрессируемый в эмбриональных стволовых клетках и эмбриональных клетках карциномы, ассоциированный с дифференцировкой и пролиферацией (источник: Moss & Tang, 2003, который включен в настоящий документ полностью посредством ссылки).

25 [0269] Согласно некоторым вариантам реализации раскрытый способ получения иПСК дополнительно включает этап индукции дифференцировки иПСК согласно настоящему описанию. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации раскрытые способы могут дополнительно включать индукцию дифференцировки иПСК согласно настоящему описанию в НКТ-клетки. Соответственно, настоящее изобретение также обеспечивает способ получения популяции НКТ-клеток, при этом указанный способ включает дифференцировку
30 иПСК, полученных способом, соответствующим настоящему изобретению, в линию НКТ-клеток. Согласно некоторым вариантам реализации раскрытые способы могут дополнительно включать индукцию дифференцировки иПСК согласно настоящему описанию в Т-клетки. Соответственно, настоящее изобретение также обеспечивает способ получения популяции Т-клеток, при этом указанный способ включает дифференцировку иПСК, полученных способом,
35 соответствующим настоящему изобретению, в линию Т-клеток. Согласно другим вариантам реализации раскрытые способы могут дополнительно включать индукцию дифференцировки

иПСК согласно настоящему описанию в дендритные клетки. Соответственно, настоящее изобретение также обеспечивает способ получения популяции дендритных клеток, при этом указанный способ включает дифференцировку иПСК, полученных способом, соответствующим настоящему изобретению, в линию дендритных клеток. Такие дифференцированные клетки могут применяться в способах лечения рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания (также называемого микробиологическим заболеванием) у субъекта в соответствии с настоящим изобретением.

- - -

[0270] Также настоящее изобретение обеспечивает выделенные НКТ-клетки, выделенные Т-клетки и выделенные дендритные клетки, получаемые или мобилизуемые любыми из способов согласно описанию в настоящем документе, а также выделенные популяции НКТ-клеток, Т-клеток и дендритных клеток, полученных или мобилизованных любыми из способов согласно описанию в настоящем документе. Также предложены НКТ-клетки, Т-клетки и дендритные клетки, и выделенные популяции НКТ-клеток, Т-клеток и дендритных клеток, характеризующиеся паттернами поверхностных белков, описанными подробно в тексте настоящего документа, и применение таких клеток в способах лечения согласно настоящему описанию.

Примеры

[0271] Приведенные ниже примеры демонстрируют, что высокие дозы агонистов глюкокортикоидных рецепторов, наряду с обеспечением почти полной лимфодеплеции лимфоцитов периферической крови (без влияния на количество нейтрофилов, тромбоцитов, эритроцитов и стволовых клеток), могут индуцировать продуцирование новой популяции НКТ-клеток и Т-клеток, а также мобилизовать новую популяцию активированных дендритных клеток.

[0272] Указанные примеры также демонстрируют, что, наряду с проявлением известных свойств НКТ-клеток, популяция НКТ-клеток, индуцированная высокими дозами агонистов глюкокортикоидных рецепторов, имеет новый паттерн экспрессии поверхностных белков, что позволяем им непосредственно захватывать раковые клетки и демонстрировать повышенную цитотоксическую эффективность против солидного рака.

[0273] Высокие дозы агонистов глюкокортикоидов, соответственно, представляют собой многообещающую терапию для применения в лечении рака и заболеваний, опосредованных иммунными клетками, такими как лимфоциты.

МАТЕРИАЛЫ И СПОСОБЫ

[0274] Острая высокая доза дексаметазона может также называться в настоящем документе Dex, AugmenStem™, PlenaStem™ или AVM0703. Новая популяция NKT-клеток, индуцированных после введения острой высокой дозы дексаметазона (AVM0703), может также называться в настоящем документе AVM-NKT-клетками. Новая популяция T-клеток, индуцированных после введения острой высокой дозы дексаметазона (AVM0703), может также называться в настоящем документе AVM-T-клетками. Новая популяция дендритных клеток, индуцированных после введения острой высокой дозы дексаметазона (AVM0703), может также называться в настоящем документе дендритными AVM-клетками.

[0275] Для начальных исследований лимфодеплеции ранее не стимулированные мыши C57Bl/6 получали 18 мг/кг ЭДЧ ДФ через желудочный зонд. Самцов мышей C57Bl/6 получали от Taconic Bioscience (Джермантаун, Нью-Йорк) и акклиматизировали в условиях лаборатории на протяжении по меньшей мере одной недели. Мышей дозировали однократно перорально 18 мг/кг дексаметазона фосфата (ДФ) или плацебо и дожидались заданной точки времени. Каждую группу дозирования в какой-либо точке времени сопровождала группа плацебо из животных того же возраста и в тех же условиях в соответствии с таблицей 3. В точках времени 24 часа, 48 часов, 72 часов, 5 дней, 7 дней, 11 дней, 13 дней выполняли дозирование с использованием AVM0703 GLP-категории и плацебо. В точках времени 6 часов, 21 дней, 28 дней, 35 дней выполняли дозирование с использованием AVM0703 GLP-категории и плацебо. В заданной точке времени в ходе исследования мышей умерщвляли следующим образом. Мышей анестезировали газообразным изофлураном. После анестезии собирали кровь путем сердечной пункции и немедленно помещали в покрытые гепарином микропробирки. Для вымывания всей оставшейся крови из сосудистой системы проводили ретроградную перфузию через брюшную аорту, используя 10 мл 5 Ед/мл гепарина в ФСБ для медленной струйной инфузии. Затем 250 мкл крови переносили в покрытую ЭДТК микропробирку с фиолетовой крышкой и транспортировали (Lynette Brown) в лабораторию Flow Contract Site Lab (Ботелл, Вашингтон) для анализа с помощью проточной цитометрии. Остальную кровь отправляли в Phoenix Labs (Мукилтео, Вашингтон) для проведения общего анализа крови и клинического биохимического анализа.

[0276] Для определения характеристик индуцированной популяции NKT-клеток (AVM-NKT) у ранее не стимулированных мышей C57Bl/6 проводили лечение высокой дозой AVM0703 от 12 до 45 мг/кг ЭДЧ ДФ через желудочный зонд. Затем исследовали периферическую кровь с помощью проточной цитометрии через заранее заданные интервалы времени для определения характеристик разных иммунных популяций. После лечения AVM0703 идентифицировали две популяции NKT: NKT-клетки, определяемые как CD3_(умеренн.)CD49b⁺ и новую популяцию AVM-NKT, определяемую как CD3_(ярк.)CD49b⁺. AVM-NKT-клетки могут быть выделены с

применением сортировки клеток с активированной флуоресценцией (FACS) по CD3_(ярк.)CD49b⁺ (CD3_(ярк.) = средняя интенсивность флуоресценции выше 2×10^4).

ПРИМЕР 1 – Острая высокая доза агонистов глюкокортикоидных рецепторов приводит к почти полной лимфодеплеции лимфоцитов периферической крови, однако индуцирует уникальную популяцию NKT-клеток

5 [0277] В международной заявке на патент PCT/US2019/054395 авторы настоящего изобретения представили ряд экспериментов, демонстрирующих, что высокие дозы агонистов глюкокортикоидных рецепторов могут вызывать почти полную лимфодеплецию лимфоцитов периферической крови, а также снижать количество герминативных центров в лимфоидных органах и истощать лимфоциты щитовидной железы. Указанные эффекты достигаются по существу без влияния на количество нейтрофилов, тромбоцитов, эритроцитов и стволовых клеток (как гематопозитических стволовых клеток, ГСК, так и мезенхимальных стволовых клеток, МСК).

10 [0278] В настоящей работе исследования, проведенные на ранее не стимулированных мышях, показывают, что введение высоких доз агонистов глюкокортикоидных рецепторов приводит к почти полной лимфодеплеции лимфоцитов периферической крови по существу без влияния на количество нейтрофилов, тромбоцитов, эритроцитов (красных клеток крови) и стволовых клеток (как ГСК, так и МСК). Интересно, что, как было также обнаружено, высокие дозы агонистов глюкокортикоидных рецепторов индуцируют положительную регуляцию NKT-клеток.

15 [0279] Как показано на фиг. 1, высокие дозы дексаметазона (ЭДЧ 18 мг/кг ДФ) значительно уменьшают абсолютное количество лимфоцитов (АКЛ минус НК и NKT-клетки) по сравнению с плацебо – эффект, который сохраняется вплоть до 21 дня после введения. Через 6 и 48 часов после введения наблюдается почти полная лимфоабляция, причем эффект сопоставим с достигаемым при стандартной химиотерапии Су/Flu (ЭДЧ 13 мг/кг циклофосфида и ЭДЧ 0,8 мг/кг флударабина).

20 [0280] Высокие дозы дексаметазона обеспечивают селективную абляцию Т- и В-лимфоцитов (эквивалентную абляции при стандартной химиотерапии Су/Flu; фиг. 2), моноцитов (превосходящую абляцию при химиотерапии Су/Flu; фиг. 3), и лимфодеплецию нейтрофилов в целевой клинической дозе (фиг. 4). Базофилы (снижение только в точке времени 6 часов), эозинофилы (снижение только в точках времени 24 часа и 48 часов), тромбоциты (см. фиг. 5) и эритроциты сохраняются, а ГСК (фиг. 6) и МСК сохраняются или их уровни повышаются. (* $p < 0,05$; # $p < 0,0001$).

25 [0281] Неожиданным образом, было также показано, что высокие дозы дексаметазона индуцируют положительную регуляцию NKT (фиг. 7) и продуцирование новой популяции NKT-клеток (AVM-NKT). При исследовании с помощью проточной цитометрии указанные новые

AVM-NKT-клетки представляют собой клетки CD49b+ и CD3 с очень ярким свечением (CD3_(ярк.)CD49b+). Ранее описанные NKT-клетки экспрессируют CD3 с MFI на 1 log ниже, чем у AVM-NKT-клеток (CD3_(умеренн.)CD49b+; фиг. 8). AVM-NKT-клетки появляются в крови мышей через 48 часов после введения высоких доз (ЭДЧ 18,1 мг/кг) агонистов глюкокортикоидных рецепторов дексаметазона и бетаметазона, тогда как стандартная химиотерапия Су/Flu их не индуцирует.

[0282] Исследования с эскалацией дозы показывают, что однократная доза ЭДЧ от 6 до 12 мг/кг основания дексаметазона может индуцировать AVM-NKT-клетки. ЭДЧ 15 мг/кг основания дексаметазона, в частности, индуцирует надежное получение AVM-NKT-клеток, как и схема дозирования с ЭДЧ 6+6 мг/кг.

ПРИМЕР 2 – AVM-NKT-клетка отвечает за in vivo T- и B-лимфоабляцию

[0283] Мононуклеарные клетки из периферической крови ранее не стимулированных самцов мышей C57Bl/6 или суспензию одиночных спленоцитов инкубировали с концентрациями AVM0703, эквивалентными пиковым концентрациям в крови при введении острой высокой дозы AVM0703, достигаемым in vivo. В течение периода до 72 часов после добавления AVM0703 in vitro к мононуклеарным клеткам периферической крови или одиночным спленоцитам апоптоз не наблюдался. Отсутствие апоптоза мононуклеарных клеток периферической крови или спленоцитов in vitro показывает, что лимфоабляция in vivo обусловлена в значительной степени индукцией AVM-NKT-клеток.

ПРИМЕР 3 – Хоуминг AVM-NKT-клеток в сайты опухолей

[0284] В предварительных исследованиях ранее не стимулированные мыши C57Bl/6 получали лечение высокой дозой дексаметазона, и периферическую кровь исследовали с помощью проточной цитометрии через заранее заданные интервалы времени для определения характеристик разных иммунных популяций. После лечения высокой дозой дексаметазона идентифицировали две популяции NKT: NKT-клетки, определяемые как CD3_(умеренн.)CD49b+, и новую популяцию AVM-NKT, определяемую как CD3_(ярк.)CD49b+ (фиг. 8).

[0285] Было обнаружено, что AVM-NKT-клетки появляются в крови не стимулированных ранее мышей через 48 часов после введения супра-фармакологических доз (ЭДЧ 18,1 мг/кг) дексаметазона (AVM0703) или бетаметазона. И напротив, ни стандартная химиотерапия Су/Flu, ни метилпреднизон не индуцируют указанные клетки в сколько-либо значимой степени.

[0286] Как показано на фиг. 9 и в таблице 2, у нормальных мышей индукция AVM-NKT-клеток в селезенке происходит в пределах 48 часов после дозирования дексаметазоном, их наличие в периферической крови очевидно спустя 48 часов после введения дексаметазона и остается очевидным в кровотоке до 13 дня после введения дексаметазона. AVM-NKT-клетки не

детектируются в селезенках ранее не стимулированных получавших плацебо мышей. Дозирование циклофосфамидом/флударабином не индуцирует указанную новую популяцию NKT.

5 **Таблица 2: Присутствие AVM-NKT-клеток в крови, селезенке и опухоли у ранее не стимулированных мышей и мышей с A20, получавших и не получавших лечение AVM0703**

Присутствие AVM-NKT-клеток	3 ч, кровь	3 ч, селезенка	3 ч, опухоль	48 ч, кровь	48 ч, селезенка	48 ч, опухоль
Ранее стимулированные, плацебо	Н/В	Н/В	Н/П	Отриц.	Отриц.	Н/П
Ранее не стимулированные, AVM0703	Н/В	Н/В	Н/П	+++	Положит.	Н/П
Модель A20, плацебо	+	+++	+	Отриц.	Н/В	+
Модель A20, AVM0703	++	----	++++	Отриц.	Н/В	+++

Н/П: неприменимо; Н/В: анализ не выполнялся

10 **[0287]** В отличие от временной динамики положительной регуляции AVM-NKT, наблюдаемой у нормальных не пораженных заболеванием мышей, количественное определение AVM-NKT-клеток у мышей-носителей В-клеточной лимфомы A20 показало, что AVM-NKT-клетки не присутствуют в периферической крови. Вместо этого, как оказалось, у указанных мышей-носителей опухоли происходит хоуминг AVM-NKT-клеток в сайты опухоли – где наблюдается очевидный усиленный некроз при исследовании через 48 часов после введения дексаметазона (фиг. 10).

[0288] В согласии с вышесказанным, высокие дозы дексаметазона, как было показано, значимо замедляют рост опухолей в модели A20 (фиг. 11; пример 15). Поскольку только приблизительно 30% клеток A20 претерпевают апоптоз через 72 часа после обработки высокой дозой дексаметазона *in vitro*, считается, что AVM-NKT-клетки играют роль в контроле роста опухоли.

20 **[0289]** Два миллиона клеток В-клеточной лимфомы A20 с плотностью $1,8 \times 10^7$ кл/мл к моменту сбора смешивали с равным объемом матригеля (по 100 мкл) и инъецировали подкожно в левый бок (общий объем 200 мкл) мышей BALB/c, получая модель солидной опухоли В-клеточной лимфомы. После развития опухолей (приблизительно через 7 дней или при достижении размера примерно $\sim 100\text{--}150 \text{ мм}^3$, что соответствует вполне развившейся опухоли) мыши получали
 25 лечение в соответствии с таблицей доз, приведенной ниже. Объемы опухолей измеряли калипером три раза в неделю и рассчитывали объем опухоли, используя уравнение $V = L \times W^2 \times 0,5$. Также три раза в неделю и в дни дозирования для определения правильной дозировки измеряли массу тела. Считалось, что мыши достигают конечной точки исследования при достижении объема опухоли 1500 мм^3 , или при уменьшении массы тела более чем на 20%. При
 30 достижении мышами конечной точки исследования их умерщвляли следующим образом.

Мышей анестезировали газообразным изофлураном. После анестезии собирали кровь путем сердечной пункции и затем перфузировали 10 мл раствора 5 Ед/мл гепарина в ФСБ. После этого извлекали из правого бока опухоль, снимая кожу с правой задней стороны мыши. Кожу растягивали, прикрепляли к подложке, и отделяли опухоль от кожи, аккуратно соскребая ее скальпелем. Опухоли фиксировали в течение 48 часов, после чего переносили в 70% этанол и помещали на хранение в кассетах при 4°C. Опухоли транспортировали в Histotox Labs (Боулдер, Колорадо) для изготовления срезов и окрашивания. NKT-клетки в опухолях идентифицировали путем окрашивания NKp46.

10 ПРИМЕР 4 – Рак крови повышает концентрацию AVM-NKT-клеток в периферической крови.

[0290] Мышам инокулируют Т- или В-клеточную лимфому путем инъекции в хвостовую вену 1–5 М клеток лимфомы в фазе логарифмического роста. Через 6 часов – 13 дней у мышей собирали кровь и определяли количества AVM-NKT в крови определяют с помощью проточной цитометрии с гейтированием по CD3 на очень высоком уровне (с MFI по меньшей мере на 0,5 log выше, чем у Т-лимфоцитов) и CD49b-положительным клеткам или путем гейтирования по NKp46. По сравнению с ранее не стимулированными мышами или носителями солидных опухолей, например, клеток Т- или В-лимфомы, заключенных в матригель и имплантированных п/к в боковую область, у мышей с циркулирующими клетками Т- или В-лимфомы значимо повышены количества AVM-NKT в периферической крови.

20

ПРИМЕР 5 – Индукция AVM-NKT происходит в костном мозге и жировой ткани через 48 часов после введения доз AVM0703 приблизительно 29 мг/кг и выше (в виде ДФ) у ранее не стимулированных мышей Balb/c

[0291] Мыши Balb/c имеют гаплотип ГКГС «d»: H-2K представлен d (H-2K_d). H-2D представлен d (H-2D_d). H2-L представлен d (H-2L_d). Aαβ представлен d, d. Eαβ представлен d, d. Mls1 представлен b. Mls 2 представлен a. I-A представлен d (I-A_d). I-E представлен d (I-E_d). Qa-1 представлен b (Qa-1_b). Qa-2 представлен (Qa-2_a).

[0292] Мыши C57Bl/6 имеют гаплотип ГКГС «b»: H-2K представлен b (H-2K_b). H-2D представлен b (H-2D_b). H2-L: отсутствует (*null*). Aαβ представлен b, b. Eαβ представлен b, b. Mls1 представлен b. Mls 2 представлен b. I-A представлен b (I-A_b). I-E: отсутствует (*null*). Qa-1 представлен b (Qa-1_b). Qa-2 представлен (Qa-2_a).

[0293] AVM NKT, индуцированные у ранее не стимулированных мышей Balb/c, представляют собой клетки с CD3 с высоким уровнем MFI, аналогичные AVM-NKT периферической крови, индуцированным у ранее не стимулированных мышей C57Bl/6, а AVM-NKT у ранее не стимулированных мышей Balb/c представляют собой положительные по TCR-гамма/дельта клетки. Многие из клеток являются NKp46-отрицательными, что указывает на то, что они не

35

активированы. Указанный пример демонстрирует, что экспрессия ГКГС может определять целевой орган.

5 **[0294]** ГКГС может контролировать перемещение AVM_NKT-клеток: AVM_NKT-клетки присутствуют в крови у ранее не стимулированных получавших лечение AVM0703 самцов мышей C57Bl6. AVM_NKT-клетки присутствуют в жировой ткани и костном мозге у ранее не стимулированных получавших лечение AVM0703 самцов мышей Balb/c. AVM_NKT-клетки присутствуют в опухолях у получавших лечение AVM0703 самцов мышей Balb/c – носителей опухолей. Новые NKT у ранее не стимулированных мышей Balb/c также представляют собой tCRgd-положительные, B220-, NKp46+/-, Ly6G-, CD4-, CD8-, CD3_(ярк.), MFI 10492 и CD49b+
10 клетки.

ПРИМЕР 6 – Определение характеристик AVM-NKT

15 **[0295]** Начальные исследования обнаружили, что AVM-NKT-клетки появляются в периферической крови животных, получавших лечение высокими дозами агонистов глюкокортикоидных рецепторов (например, дексаметазоном и бетаметазоном), примерно через 48 часов после лечения. При исследовании с помощью проточной цитометрии обнаружено, что новая популяция AVM-NKT-клеток, индуцированных высокими дозами агонистов глюкокортикоидных рецепторов, являются CD49b+ и CD3 с очень ярким свечением (CD3_(ярк.)CD49b+). Напротив, ранее описанные NKT-клетки экспрессируют CD3 с MFI, на 1 log
20 ниже, чем у AVM-NKT-клеток (CD3_(умеренн.)CD49b+; фиг. 8).

[0296] В последующих экспериментах животные C57Bl/6 получали лечение высокой дозой дексаметазона (ЭДЧ 15 мг/кг основания дексаметазона), и периферическую кровь исследовали с помощью проточной цитометрии через заранее заданные интервалы времени для получения характеристик разных иммунных популяций, и, в частности, новой популяции AVM-NKT-
25 клеток.

CD4

[0297] AVM-NKT-клетки, индуцированные высокими дозами агонистов глюкокортикоидных рецепторов, представляют собой клетки CD4 с очень ярким свечением (CD4_(ярк.)). Медианная интенсивность флуоресценции CD4 выше, чем MFI CD4 для типичных NKT или других CD4+
30 T-клеток. CD4 MFI остается постоянной на протяжении 6 часов – 13 дней после введения ЭДЧ 15 мг/кг основания дексаметазона (фиг. 16).

CD8

[0298] AVM-NKT-клетки, индуцированные высокими дозами агонистов глюкокортикоидных рецепторов, представляют собой CD8 с тусклым свечением. CD8+ MFI почти на 1 log выше, чем
35 у типичных NKT-клеток, в точке времени через 6 часов, а затем линейно снижается в течение следующих 5 дней. Менее чем 50% клеток остаются CD8+ через 72 часа – 5 дней, однако они

снова становятся CD8+ на 7–13 день после введения ЭДЧ 15 мг/кг основания дексаметазона (фиг. 17).

[0299] Большинство AVM-NKT-клеток представляют собой дважды положительные по CD4 и CD8 клетки в отличие от типичных NKT, которые не являются дважды положительными (фиг. 12, 13, 14). Ни одна из AVM NKT-клеток не является дважды отрицательной по CD4 и CD8 (фиг. 14). Известные NKT-клетки (CD3_(умеренн.)) в основном дважды отрицательны или представляют собой клетки CD4+, и некоторые представляют собой клетки CD8+ (фиг. 14). У этих известных NKT-клеток паттерн экспрессии CD4 и CD8 не меняется со временем после введения основания дексаметазона.

[0300] AVM-NKT являются CD4+CD8+ через 48 часов после введения ЭДЧ 15 мг/кг основания дексаметазона, перестают быть положительными по CD8 с течением времени и затем, по-видимому, снова становятся CD4+CD8+ в более поздних точках времени. Их наличие очевидно через 48 ч после AVM0703, и они обнаруживаются до 13 дня.

CD3

[0301] AVM-NKT-клетки, индуцированные высокими дозами агонистов глюкокортикоидных рецепторов, представляют собой клетки с CD3 с очень ярким свечением (CD3_(ярк.)), экспрессирующие CD3 с MFI приблизительно на 1 log выше, чем у известных NKT-клеток, описанных в опубликованных источниках, и приблизительно на 1 log выше, чем у других NKT-клеток, замеченные у самцов мышей C57Bl/6 (фиг. 15).

Ly6G

[0302] AVM-NKT-клетки, индуцированные высокими дозами агонистов глюкокортикоидных рецепторов, являются Ly6G-положительными (фиг. 18). Ly6G представляет собой маркер полностью зрелых и дифференцировавших нейтрофилов или гранулоцитов; также была обнаружена его причастность к противоопухолевым ответам. Ly6G обычно представляет собой маркер моноцитов, нейтрофилов и гранулоцитов, что указывает на отличие AVM-NKT от известных NKT-клеток, и может не только быть способен прямо убивать раковые клетки, которые экспрессируют CD1d, а также активировать другие NK-клетки и В- и Т-лимфоциты и секретировать цитокины, однако может также быть способен прямо захватывать раковые клетки и патогены.

TCR-гамма/дельта

[0303] AVM-NKT-клетки, индуцированные высокими дозами агонистов глюкокортикоидных рецепторов, являются положительными по TCR-гамма-дельта.

[0304] Экспрессия Ly6G и TCR-гамма-дельта предполагает, что AVM-NKT-клетки, помимо обладания известными функциями NKT-клеток, могут также прямо захватывать раковые клетки или патогены.

CD45

[0305] AVM-NKT-клетки, индуцированные высокими дозами агонистов глюкокортикоидных рецепторов, представляют собой клетки CD45 с тусклым свечением.

CD49b

5 **[0306]** AVM-NKT-клетки, индуцированные высокими дозами агонистов глюкокортикоидных рецепторов, являются положительными по CD49b. CD49b представляет собой маркер естественных киллерных (NK) клеток; цитотоксичность NK-клеток, экспрессирующих CD49b, значительно выше, чем у NK-клеток, которые не экспрессируют CD49b.

CD62L

10 **[0307]** AVM-NKT-клетки, индуцированные высокими дозами агонистов глюкокортикоидных рецепторов, являются положительными по CD62L.

NK1.1

15 **[0308]** У мышей C57Bl/6 AVM-NKT-клетки, индуцированные высокими дозами агонистов глюкокортикоидных рецепторов, являются положительными по NK1.1. NK1.1 представляет собой маркер зрелых NK-клеток; его активация индуцирует уничтожение NK-клетками в противном случае нечувствительных мишеней, и может также индуцировать пролиферацию NK-клеток.

Scal

20 **[0309]** AVM-NKT-клетки, индуцированные высокими дозами агонистов глюкокортикоидных рецепторов, являются Scal с очень ярким свечением. Scal (LybA) представляет собой распространенный биологический маркер, используемый для идентификации гематопозитических стволовых клеток (ГСК) наряду с другими маркерами. Яркое свечение, вызванное его экспрессией, на AVM-NKT-клетках, может указывать на то, что указанные клетки представляют собой активированные стволовые клетки памяти.

C-kit

25 **[0310]** AVM-NKT-клетки, индуцированные высокими дозами агонистов глюкокортикоидных рецепторов, являются отрицательными по C-kit. Соответственно, они не являются гематопозитическими стволовыми клетками.

B220

30 **[0311]** AVM-NKT-клетки, индуцированные высокими дозами агонистов глюкокортикоидных рецепторов, являются отрицательными по B220. B220 представляет собой маркер В-клеток.

FoxP3

35 **[0312]** AVM-NKT-клетки, индуцированные высокими дозами агонистов глюкокортикоидных рецепторов, являются отрицательными по FoxP3. FoxP3 представляет собой маркер регуляторных клеток – соответственно, AVM-NKT не являются регуляторными клетками и не должны сдерживать иммунный ответ на рак или патоген.

TCR-альфа/бета

[0313] AVM-NKT-клетки, индуцированные высокими дозами агонистов глюкокортикоидных рецепторов, являются отрицательными по TCR-альфа/бета.

CD44 +/-, CD69+/-, CD25+/-

5 [0314] AVM-NKT-клетки, индуцированные высокими дозами агонистов глюкокортикоидных рецепторов, представляют собой клетки CD44 +/-, CD69+/- и CD25 +/-.

[0315] Экспрессия CD44 представляет собой индикативный маркер эффекторных Т-клеток памяти. CD69 и CD25 представляют собой маркеры активации клеток.

10 [0316] Исходя из описанных выше экспериментов для определения характеристик AVM-NKT-клеток, указанные клетки, индуцированные высокими дозами агонистов глюкокортикоидных рецепторов, представляют собой тип активированных эффекторных стволовых клеток памяти, которые могут обладать способностью быстро захватывать раковые клетки и патогены (они положительны по Lu6G и TCR-гамма-дельта), непосредственно убивать раковые клетки и другие клетки, презентующие липиды посредством экспрессии CD1d, и быть способны функционировать в качестве долгоживущих Т-лимфоцитов, как CD4, так и CD8 типа. Кроме
15 того, они могут также быть способны быстро высвобождать цитокины в ответ на раковую клетку или патоген, что может активировать другие клетки, важные для иммунного ответа.

[0317] То, что AVM-NKT-клетки, как оказалось, потенциально дополнительно способны прямо захватывать раковые клетки, расширяет потенциал применения высоких доз агонистов глюкокортикоидных рецепторов в качестве терапевтических средств при солидном раке. AVM-
20 NKT-клетки в качестве готового к применению аллогенного лечения, по отдельности или в комбинации с активаторами NKT или ингибиторами контрольных точек, или в виде AVM-NKT-CAR, могли бы найти широкое применение в лечении солидных опухолей. Кроме того, поскольку AVM-NKT-клетки не наблюдаются до проведения обработки (лечения) AVM0703, количества AVM-NKT необязательно должны ограничивать возможности лечения, как малые
25 количества NKT у пожилых людей и пациентов с раком ограничивают применение iNKT для аутологичной терапии.

ПРИМЕР 7 – Острые высокие дозы дексаметазона оказывают эффекты, обеспечивающие уничтожение опухоли, при Т-клеточной и В-клеточной лимфоме

30 [0318] Было показано, что высокая доза дексаметазона значительно задерживает рост опухоли в модели опухоли В-клеточной лимфомы A20 (фиг. 11). Ряд последующих экспериментов с дозированием выполняли для определения оптимальной схемы дозирования для получения AVM-NKT и эффекта уничтожения опухоли в модели опухоли В-клеточной лимфомы A20 и модели ксенотрансплантата Т-клеточной лимфомы (CCRF-CEM). Протестированные схемы
35 дозирования представлены в таблице 3 ниже.

Таблица 3: Примеры схем дозирования

Исследование	Дизайн	Доза (дозы) АVM0703 (ДФ), ЭДЧ мг/кг	Доза 1	Доза 2	Доза 3	Доза 4	Доза 5	Доза 6	Доза 7	Доза 8	Доза 9	
A20_1	Повторное введение	18	7	10	18	23	24	29	36	43	50	
		Число достигнувших конечной точки через:						1	3	1		
	1–10 с полным некрозом, дозирование как указано выше;											
	Мыши 1–5 с полным некрозом, дозирование как указано здесь								X	X	X	X
A20-3	КДО	7, 18, 25	10	17	25	32	39	18 и 26 мг/кг, некроз 50–80%				
Видимый некроз на КДО, и обратная зависимость мечения CD3 от КДО												
A20_4	Комбинация CyFlu	18	11	AVM	14	AVM						
				AVM		CyFlu	67	AVM	74	CyFlu		
				CyFlu		CyFlu						
A20_5	КДО	18,22,25	15	31	38	45						
A20_7	AVM, APP, Mylan	18	9	16	23							
A20 представляет собой В-лимфому мыши												
CCRF-CEM	Ксенотрансплантат Т-лимфомы человека	18	7	14	21	28	35	42	49	56	63	
Рост опухоли полностью отсутствует												
КДО: кривая зависимости «доза-ответ»		Доза соответствует числу дней после имплантации опухоли										

ПРИМЕР 8 – AVM-NKT-клетки отвечают за абляцию in vivo T- и B-лимфоцитов.

5 [0319] Собирали кровь и селезенки ранее не стимулированных мышей C57Bl6. Мононуклеарные клетки выделяли из крови, одиночные спленоциты выделяли из селезенки. Клетки инкубировали с фосфатом дексаметазона в концентрациях до 500 мкМ до 72 часов, однако апоптоз in vitro не наблюдался. Соответственно, полная абляция in vivo T- и B-лимфоцитов, по-видимому, опосредована AVM-NKT, а не механизмом на основе рецептора, таким как активация глюкокортикоидного рецептора.

10 ПРИМЕР 9 – AVM-NKT-клетки выделяли и размножали, а затем использовали для прекондиционирования пациента до клеточной терапии.

15 [0320] Аутологичные или аллогенные AVM-NKT-клетки вводят либо в/в или в б пациенту от 6 до 96 часов до проведения клеточной терапии. Клеточная терапия может проводиться с целью регенерации, для лечения рака, для лечения аутоиммунного заболевания или для лечения инфекции или любого другого медицинского состояния, оправдывающего проведение клеточной терапии.

ПРИМЕР 10 – AVM-NKT индуцируют синдром лизиса опухоли

20 [0321] AVM-NKT нацеливаются на опухоли и образуют полосы атакующих клеток, внедряющихся в опухоль, как армия, со всех сторон. Происходит синдром лизиса опухоли, который не поддается лечению у мышей и может приводить к смерти. Происходит повышение уровней клинических биохимических маркеров синдрома лизиса опухоли, таких как мочевая кислота. При макроскопическом исследовании опухолей обнаруживается пастообразный масляный осадок, заключенный в мембрану опухоли.

25 ПРИМЕР 11 – AVM-NKT-клетки используют для подготовки пациента для лечения рака или другого серьезного медицинского лечения

30 [0322] Аутологичные или аллогенные AVM-NKT-клетки вводят либо в/в, либо в/б пациенту с функциональным статусом, который не позволяет использовать медицинскую терапию, такую как химиотерапия, клеточная терапия, трансплантация органа или костного мозга. Функциональный статус пациента улучшается таким образом, что становится возможным проведение медицинского лечения.

ПРИМЕР 12 – AVM-NKT-клетки вызывают псевдопрогрессирование опухоли

5 **[0323]** Кажется, что опухоли, обработанные AVM-NKT-клетками, продолжают расти, однако этот рост представляет собой псевдопрогрессирование опухоли за счет других иммунных клеток, которые AVM-NKT-клетки привлекают в опухоль, либо путем высвобождения цитокинов и хемокинов, либо путем прямого вовлечения других иммунных клеток. В результате опухоль становится полностью бесклеточной и резорбируется.

ПРИМЕР 13 – AVM-NKT-клетки применяют для лечения любого типа рака, болезни «трансплантат против хозяина», аутоиммунитета или связанных с иммунитетом нежелательных явлений в результате иммунотерапии

10 **[0324]** AVM-NKT-клетки направленно мигрируют и нацеливаются как на рак крови, так и на солидный рак, а также на фиброидные опухоли, доброкачественные опухоли и аутореактивные Т- и В-лимфоциты.

15 ПРИМЕР 14 – Острые высокие дозы агонистов глюкокортикоидных рецепторов также индуцируют уникальную популяцию Т-клеток и дендритных клеток

[0325] Авторы настоящего изобретения показали, что наряду с новой популяцией NKT-клеток (AVM-NKT), описанной в примерах 1–6, высокая доза дексаметазона мобилизует новую популяцию Т-клеток с CD3 на очень высоком уровне (AVM-Т-клетки; фиг. 20) и дендритных клеток с CD11b на очень высоком уровне (дендритные AVM-клетки; фиг. 21).

20 **[0326]** AVM-Т-клетки, индуцированные высокими дозами агонистов глюкокортикоидных рецепторов, представляют собой клетки CD3 с очень ярким свечением (CD3_(ярк.)). Как и новые AVM-NKT-клетки, новые AVM-Т-клетки экспрессируют CD3 на уровнях на 1–1,5 log выше, чем типичные Т- или NKT-клетки (фиг. 20). AVM-Т-клетки, индуцированные высокими дозами агонистов глюкокортикоидных рецепторов, представляют собой клетки, положительные по CD4. AVM-Т-клетки, индуцированные высокими дозами агонистов глюкокортикоидных рецепторов, представляют собой клетки CD45 с тусклым свечением. AVM-Т-клетки, индуцированные высокими дозами агонистов глюкокортикоидных рецепторов, представляют собой клетки, положительные по CD49b (положительные по CD56 у человека). AVM-Т-клетки, индуцированные высокими дозами агонистов глюкокортикоидных рецепторов, представляют собой клетки, положительные по CD8.

35 **[0327]** Дендритные AVM-клетки, индуцированные высокими дозами агонистов глюкокортикоидных рецепторов представляют собой клетки CD11b с очень ярким свечением (CD11b на очень высоком уровне). Дендритные AVM-клетки с CD11b на очень высоком уровне экспрессируют CD11b на уровне приблизительно на 1 log выше, чем стандартные дендритные клетки CD11b+. Высокая доза дексаметазона также увеличивает концентрацию стандартных CD11b+ дендритных клеток в крови (фиг. 21).

[0328] Поскольку высокая доза глюкокортикоида (дексаметазона) мобилизует новые естественные киллерные Т-клетки с CD3 на очень высоком уровне (AVM-NKT), новые Т-клетки с CD3 на очень высоком уровне (AVM-Т-клетки) и дендритные клетки с CD11b на очень высоком уровне (AVM-дендритные клетки), высокие дозы глюкокортикоидов, таких как дексаметазон и бетаметазон, предположительно будут иметь клиническую ценность при лечении рака, аутоиммунных заболеваний и инфекционных заболеваний.

[0329] Данные, представленные в примерах 14 и 15, демонстрируют выраженный хоуминг новых AVM-NKT в опухоли для уничтожения опухолей, и их эффективность в моделях рака, в которых ингибиторы контрольных точек, как было показано, неэффективны. Поскольку мобилизация AVM-NKT-клеток происходит только после лечения AVM0703 (в отличие от других НК и NKT, циркулирующих постоянно), количества AVM-NKT у пациентов необязательно являются ограничивающими.

[0330] Было показано, что iNKT-клетки снижают опосредованное гриппом А воспаление и тяжесть заболевания, и была обнаружена вовлеченность CD11b+ DC в защиту от респираторно-синцитиального вируса и гриппа А (H1N1). Поскольку известно, что в этом отношении эффективны клетки с более низкими уровнями экспрессии CD3 и CD11b, высокие дозы глюкокортикоидов, таких как дексаметазон и бетаметазон, предположительно должны быть даже более эффективны в отношении мобилизации NKT и Т-клеток с CD3 на очень высоком уровне, и поскольку это не только увеличивает количество стандартных CD11b+ дендритных клеток, но также мобилизует экспрессирующих CD11b на очень высоком уровне дендритных клеток, которые обычно не наблюдаются.

ПРИМЕР 15 – Острые высокие дозы дексаметазона уменьшают объем опухоли и улучшают общую выживаемость в модели A20 В-клеточной лимфомы

[0331] Модель лимфомы A20 у мышей представляет собой очень агрессивную модель опухоли, поскольку задействует несколько прямых (экспрессия иммуноингибиторной молекулы PD-L1, IDO и ИЛ-10, и отсутствие экспрессии костимулирующей молекулы CD80) и не прямых (понижающая регуляция функции АПК и индукция клеток Treg) механизмов ускользания от иммунологического надзора. Кроме того, в исследованиях, описанных ниже, дозирование AVM0703 не проводили до очень хорошо выраженного развития опухолей A20 с достижением объема до ~120 – 400 мм³.

[0332] Самцам мышей BALB/c инокулировали подкожно в боковую область клетки В-клеточной лимфомы A20, заключенные в матригель. Объемы опухоли отслеживали путем измерения калипером, и после выраженного развития опухолей с достижением объема приблизительно 150 мм³, или очень хорошо выраженного развития в исследовании «AVM_CANMOD_05» с достижением объема приблизительно 400 мм³, мыши получали лечение

AVM0703 в дозах, соответствующих ЭДЧ 7, 18, 22 или 25 мг/кг. Конечную точку, как правило, определяют как объем опухоли 1500 мм³.

[0333] Анализ опухолей, которые оценивали в маскированном режиме на некроз в HistoTox Labs (Боулдер, Колорадо) или на жизнеспособность опухолей с применением анализа MetaMorph или микроскопического исследования в светлом поле, продемонстрировал, что у некоторых получавших лечение AVM0703 мышей опухоли были полностью некротическими и даже полностью резорбированными, несмотря на измеряемый объем опухолей. Некроз, который оценивали в маскированном режиме в HistoTox Labs, был значимо выше при комбинировании результатов для дозы 18, 22 и 25 мг/кг, и также был значимо выше при анализе по отдельности результатов у получавших лечение 22 и 25 мг/кг AVM0703 мышей.

[0334] У некоторых получавших лечение AVM0703 мышей отсутствовали измеряемые опухоли в конце исследования, или опухоли были полностью некротическими или были резорбированы по оценке с помощью анализа MetaMorph или микроскопического исследования в светлом поле, или опухоли получали максимальную оценку некроза, равную 5, в HistoTox Labs. Данные указанных мышей объединяли и выполняли анализ таблицы сопряженности с применением точного критерия Фишера. Из 52 мышей, получавших лечение AVM0703 в дозе от 18 до 25 мг/кг, полный ответ на основании оценки по описанным выше критериям наблюдался у 10 мышей; в отличие от 0 из 21 получавших плацебо мышей.

[0335] В совокупности эти данные показывают, что AVM0703 по существу обладает эффективностью против агрессивной лимфомы при ЭДЧ 18 мг/кг и выше (таблицы 4 и 5). Также было обнаружено, что лечение AVM0703 обеспечивает значительное ингибирование роста Т-клеточной лимфомы человека CCRF-CEM в пилотной модели ксенотрансплантата (см. пример 15).

Таблица 4: Обзор моделей В-клеточной лимфомы A20

			HistoTox Labs, Некроз, Г/Э (0-5)	MetaMorph, % некротических опухолей	MetaMorph, Площадь, занятая жизнеспособными опухолями (УЕ × 1000)	Полностью некротические/резорбированные по данным любых измерений
Плацебо		Среднее	2,3 n=15	50 n=17	90 n=17	0 из 21
AVM0703	18, 22 и 25 мг/кг	Среднее	2,9* n=41	59 n=40	75 n=40	** 10 из 52
	18 мг/кг	Среднее	2,7 n=15	59 n=18	66^ n=18	** 8 из 26
	22 мг/кг	Среднее	3,0* n=11	53 n=11	87 n=11	0 из 11
	25 мг/кг	Среднее	3,1* n=13	63 n=11	77 n=11	2 из 13

*p<0,05 непарный t-критерий с поправкой Уэлча.

^p<0,06 непарный t-критерий с поправкой Уэлча.
 **p<0,05, точный критерий Фишера.
 УЕ = условные единицы; Г/Э = гематоксилин и эозин.

Таблица 5: Индивидуальные результаты исследования на некроз, процент площади некротической опухоли, процент площади жизнеспособной опухоли и % площади некротической бесклеточной области при микроскопическом исследовании

Размеры опухоли и в мм ³ при дозировании	Группа	День (дни) дозирования	Дни от последнего дозирования до сбора опухоли	HistoTox Labs, Некроз, Г/Э (0-5)	MetaMorph, % некротической опухоли	MetaMorph, площадь, занятая жизнеспособными опухолями (УЕ × 1000)	Светлополюсная микроскопия EVOS, % некротических/резорбированных опухолей	
391 мм ³ [1]	Плацебо	16	2	3,2,2,2,5,3	87, 57, 52, 39, 81	36, 91, 228, 141, 54	H/B	
	18 мг/кг			4,4,3,3,2	84, 91, 78, 68, 78	50, 55, 48, 74, 19	H/B	
	22 мг/кг			3,3,3,4	82, 64, 72, 83	75, 95, 52, 81	H/B	
	25 мг/кг			5,5,3,2	100, 72, 78, 51	6, 54, 157, 48	H/B	
120 мм ³ [2]	Плацебо	7, 10, 18, 23, 24, 29, 36, 43	3, 3, 6, 6, 3, 3	H/B	H/B	H/B	10, 20 100, 100, 100, 100, 100, 100	
	18 мг/кг							
158 мм ³ [3]	Плацебо	9, 16, 23, 32	3	2,2			H/B	
	7 мг/кг			3	3,3			
	18 мг/кг			3	5,4			
	25 мг/кг			3	3,4			
142 мм ³ [4]	Плацебо	11, 14	14-28		60, 54, 64, 29	87, 97, 51, 182	H/B	
	18 мг/кг	11, 14	18-28		43, 53, 68, 50	108, 107, 50, 112		
	Су/Flu	11, 14	76-81		36, 100, 100	169, 0, 0		
	18 мг/кг Су/Flu	11, 14	6, 66-81	H/B	90, 100, 91, 65, 61	11, 0, 35, 25, 11		
384 мм ³ [5]	Плацебо	15, 31, 38, 45	4-13	2,5,2,3,5,2, 3,2,5, 1,5,1,5	75,38, 28,47, 59,15, 31, 43	26, 87, 110, 49, 80, 80, 71, 73	H/B	
	18 мг/кг			2,1,2,2,5,3, 3,2,5,1	71,17, 36,100, 51,33, 35,42, 69	53, 95, 76, 0, 67, 90, 97, 68, 27	Мышь 11, опухоль полностью резорбирована	
	22 мг/кг			1-15	2,5,3,3,3,2, 3,5,2,5	26,43, 62,36, 29,43, 45	77,67,56, 87,76,136,15 2	H/O
	25 мг/кг			1-13	2,2,5,2,2,5, 4,3,2,5	56,54, 55,54, 67,37, 69	84,124, 131,78,86,38,	H/O

						44	
1. Исследование AVM_CANMOD_05 – подгруппа лимфодеплеции. 2. Исследование AVM_CANMOD_01. 3. Исследование AVM_CANMOD_03. 4. Исследование AVM_CANMOD_04. 5. Исследование AVM_CANMOD_05 – подгруппа анализа конечной точки. УЕ = условные единицы; Су/Flu = циклофосфамид/флударабин; Г/Э = гематоксилин и эозин; Н/О = не определено.							

AVM CANMOD 01

5 [0336] В первом исследовании («AVM_CANMOD_01») изучали способность AVM0703 снижать объем опухоли и влияние на общую выживаемость у мышей BALB/c (возрастом 11 недель) с развившимися подкожными опухолями A20. Мышей случайным образом распределяли в 2 группы и проводили лечение перорально ЭДЧ 18,06 мг/кг AVM0703 ДФ (n = 5) или плацебо (n = 4) на 7, 10, 18, 23, 24, 29, 36, и 43 дни после инокуляции.

10 [0337] Из 5 получавших лечение AVM0703 мышей 4 мыши достигли конечной точки после 7 доз и 1 мышь достигла конечной точки после 8 доз. Конечная точка исследования была определена либо как объем опухоли 1500 мм³, либо как превышающее 20% уменьшение массы тела. При введении 8 доз, каждая по 18,06 мг/кг, общая доза, полученная последней мышью, соответствовала ЭДЧ 145 мг/кг в течение 36 дней. Мышей умерщвляли, если они достигали конечной точки; органы (ободочную кишку, селезенку, поджелудочную железу и вилочковую железу) исследовали при вскрытии и взвешивали.

15 [0338] Рост опухоли задерживался у мышей, получавших лечение AVM0703 (фиг. 22). Опухоли у мышей, получавших лечение AVM0703, приблизительно в 2 раза дольше достигали объемов, соответствующих конечной точке, чем у мышей, получавших лечение плацебо. У получавших лечение AVM0703 мышей медиана периода времени до конечной точки составляла 41 день, тогда как у мышей, получавших только плацебо, медиана периода времени до конечной точки
20 составляла 22 дня от первого дня дозирования (фиг. 23).

25 [0339] Микроскопический анализ выявил значительные различия в структуре опухоли у получавших лечение AVM0703 мышей по сравнению с получавшими плацебо. Опухоль в группе плацебо имела открытую структуру с явно насыщенными клетками внутренней частью, что указывает на значительное число опухолевых клеток в середине опухоли. Опухоль в группе
лечения AVM0703 имела более плотную структуру с видимыми обширными областями некроза. В середине опухоли в группе лечения клетки отсутствовали (фиг. 23).

30 [0340] Одна мышь из группы лечения AVM достигла порогового 20% уменьшения массы тела и была умерщвлена через 46 дней и 8 доз AVM0703 (фиг. 24). Отношения массы органов к массе тела в группах значимо не отличались в конечной точке исследования для поджелудочной железы, вилочковой железы и селезенки; однако отношение ободочной кишки к массе тела было незначительно повышено в получавшей лечение AVM0703 группе. Поскольку получавшие

лечение AVM0703 мыши достигали конечной точки исследования через 14–40 дней после того, как получавшие плацебо мыши достигали конечной точки исследования, увеличение массы ободочной кишки может быть обусловлено более старшим возрастом мышей (фиг. 25).

5 [0341] Для определения того, могут ли изменения отношения массы селезенки или массы вилочковой железы к массе тела каждой мыши указывать на сохраняющуюся восприимчивость к AVM0703 при повторном дозировании, данные разделяли по числу дней после дозирования AVM0703 и общему количеству доз AVM0703, полученных до достижения конечной точки.

10 [0342] Результаты показывают, что и вилочковая железа, и селезенка сохраняют восприимчивость к повторному дозированию AVM0703 до введения 7 доз, и теряют восприимчивость к 8-й дозе (фиг. 26). На 1 и 3 дни после введения 7-й дозы AVM0703 обнаружено снижение массы как селезенки, так и вилочковой железы, с восстановлением, по ожиданиям, через некоторое количество дней после дозирования AVM0703.

AVM_CANMOD_03

15 [0343] Во втором исследовании («AVM_CANMOD_03») мышам BALB/c ($n = 5$ на группу) вводили дозы AVM0703 с возрастающими концентрациями ДФ (ЭДЧ 7, 18 и 26 мг/кг) на 9, 16, 24 и 31 день после инокуляции опухоли. Лечение начинали, когда размер опухолей достигал приблизительно 500 мм^3 , в отличие от развившихся опухолей размером 150 мм^3 , как в исследовании AVM_CANMOD_01.

20 [0344] В группах плацебо и 7 мг/кг наблюдалась аналогичная эффективность. В группах 18 и 26 мг/кг была аналогичная эффективность и они продемонстрировали некоторое отличие от групп низких доз и плацебо. Значимых различий масс селезенки, вилочковой железы, ободочной кишки или поджелудочной железы между мышами каких-либо групп при умерщвлении не обнаружено. На кривой конечных точек не обнаружено значимых различий медианы выживаемости, хотя у мышей, получавших лечение 18 и 26 мг/кг, медиана выживаемости была
25 больше приблизительно на 6 дней, чем у получавших плацебо мышей. Внезапная гибель мышей не наблюдалась.

30 [0345] На основании данных о псевдоросте опухолей у получавших лечение AVM0703 мышей в исследовании AVM_CANMOD_01, опухоли ($n = 2$ на группу) отправляли в HistoTox Labs для подготовки срезов и иммуногистохимического исследования. При окрашивании гематоксилином и эозином было идентифицировано несколько областей некроза, и препаратам присваивали оценки от 0 до 5 в зависимости от тяжести. Опухоли от мышей, получавших лечение AVM0703, имели более обширные области некроза, а у мышей, получавших дозы ДФ 18 мг/кг, степень некроза была максимальной, что отражено на графике оценок (фиг. 27С и фиг. 27Е).

35 [0346] Экспрессия CD3 была максимальной у получавших плацебо мышей и визуально снижалась при увеличении концентраций ДФ (фиг. 28). При окрашивании на NKp46, маркер

НК-клеток, наблюдалось визуальное повышение окрашивания клеток по мере увеличения концентраций ДФ. НК-клетки в опухолях из групп, получавших плацебо (фиг. 29А), сконцентрированы вокруг кровеносных сосудов в опухоли. Однако при лечении AVM0703 НК-клетки локализованы у границы между неопластическим ростом и некротическими областями.

5 На основании этого был сделан вывод, что НК-клетки вносят вклад в расширение некроза в опухоли. Опухоли, окрашенные на маркер НК-клеток CD49b, имели высокие уровни фона и окрашивания эпителиальной ткани вокруг микрососудов опухоли. Наблюдалось визуальное снижение окрашивания круглых клеток, обозначенных черными стрелками, по мере увеличения доз AVM0703 (фиг. 30). Наконец, срезы опухолей окрашивали на каспазу 3, маркер
10 апоптотических клеток. Повышение окрашивания на апоптоз наблюдалось для всех доз AVM0703 по сравнению с плацебо. Указанное повышение включает значительное окрашивание на апоптоз вокруг некротических областей, а также на обособленный апоптоз в областях неопластического роста (фиг. 31).

[0347] В совокупности лечение AVM0703 приводило к увеличению уровней экспрессирующих
15 НКp46 клеток, локализованных и наиболее вероятно вносящих вклад в некроз внутри опухоли. Активированные НКТ-клетки, как известно, перестают экспрессировать как CD3, так и CD49b, и, соответственно, повышенная НК-активность наиболее вероятно представляет собой комбинированную инфильтрацию опухоли НК- и НКТ-клетками. AVM0703 также индуцировал повышенный апоптоз в опухоли (фиг. 31). Это показывает, что AVM0703 может запускать более
20 одного механизма уничтожения опухоли.

AVM CANMOD 04

[0348] В третьем исследовании («AVM_CANMOD_04») мыши BALB/c с развившимися
опухолями A20 получали как дозы AVM0703, так и химиотерапию (циклофосфамид/флударабин [Су/Flu]). Мышей случайным образом распределяли в следующие
25 группы (n = 3–5 на группу): 1) плацебо; 2) AVM0703 18 мг/кг ЭДЧ ДФ перорально (п.о.) (день 11 и день 14); 3) Су/Flu (день 11 и день 14) [13,5 мг/кг/0,8 мг/кг, внутривенно (в.б./в.б.); 4) AVM0703, ЭДЧ 18 мг/кг ДФ п.о. (день 11) с последующим введением Су/Flu [13,5 мг/кг/0,8 мг/кг, в.б./в.б.] (день 14).

[0349] Рост опухоли снижался у мышей, которые получали 2 дозы Су/Flu, и у мышей, которые
30 получали комбинацию 1 дозы AVM0703 и последующей 1 дозы Су/Flu. Получавшие комбинированное лечение мыши имели медиану периода времени до конечной точки, составляющую 73 дня после инокуляции опухоли, тогда как в группе Су/Flu ни одна из мышей не достигла конечной точки до закрытия исследования (95 дней после инокуляции опухолей).

[0350] Опухоли из указанного исследования заливали в парафин и готовили срезы. По два
35 изображения срезов из каждой опухоли направляли в AVM. Затем изображения срезов опухолей загружали в программное обеспечение для анализа изображений MetaMorph. Процент погибшей части опухоли измеряли с применением программного обеспечения для пороговой

классификации изображений. Затем вычисляли площадь жизнеспособной части опухоли, вычитая определенную путем пороговой классификации область из общей площади опухоли. Всю работу выполняли в маскированном режиме в отношении принадлежности изображений к группам.

5 **[0351]** В группе Су/Flu с дозированием на 11 и 14 дни у 2 из 3 мышей опухоли в конечной точке отсутствовали; однако у третьей мыши наблюдался явный рецидив и присутствовала очень объемная опухоль с площадью жизнеспособной части, равной 169 362 условных единиц (УЕ). У одной мыши в группе комбинированного лечения AVM0703 (день 11) и Су/Flu (день 14) имелась полностью резорбированная опухоль (фиг. 32), хотя площадь опухоли составляла 182 279 УЕ,
10 что является примером псевдопрогрессирования.

[0352] Две других мыши из группы комбинированного лечения имели опухоли, которые были на 90% некротическими, с площадью жизнеспособной части всего 10 000 – 25 000 УЕ. Средняя площадь жизнеспособной части опухоли для 5 мышей из группы комбинированного лечения составляла только 16 490 УЕ, в отличие от средней площади жизнеспособной части опухоли в
15 группе плацебо, составлявшей 104 318 УЕ, или в отличие от площади жизнеспособной части опухоли, равной 182 279 УЕ, у мыши из группы Су/Flu, у которой произошел рецидив. В этом небольшом исследовании в группе 18 мг/кг AVM0703 объем жизнеспособной части опухолей был меньше (94 305 УЕ), однако значимо не отличался от объема у получавших плацебо мышей.

[0353] По сравнению с опубликованными результатами для химиотерапии СНОР (циклофосфамид, гидроксидаунорубин, онковин, преднизон) в модели A20, AVM0703 в комбинации с Су/Flu индуцировал более длительную ремиссию, чем 1 цикл химиотерапии СНОР, и обеспечивал более длительное поддержание ремиссии, чем 2 цикла химиотерапии СНОР, когда ускользание опухоли наблюдалось приблизительно на 42 день.

AVM CANMOD 05

25 **[0354]** Четвертое исследование («AVM_CANMOD_05») выполняли для изучения влияния более высоких доз (ЭДЧ 18, 22 и 25 мг/кг ДФ) AVM0703 на противоопухолевый потенциал в модели В-клеточной лимфомы A20 на мышах.

[0355] Исследование AVM_CANMOD_05 разделяли на 2 подгруппы: лимфодеплеции и анализа конечной точки. Предшествующие собственные исследования лимфодеплеции проводили у
30 ранее не стимулированных мышей C57BL/6, демонстрируя у здоровых мышей эффект лимфодеплеции AVM0703. Для лучшего понимания полученных ранее данных, предполагающих противоопухолевый эффект AVM0703, и для лучшего понимания механизма действия AVM0703 в модели опухоли было необходимо проиллюстрировать профиль лимфодеплеции на моделях опухоли *in vivo*.

35 **[0356]** В подгруппе лимфодеплеции мышей умерщвляли через 48 часов после дозирования. Во второй подгруппе, анализа конечной точки, внимание было сосредоточено на изучении эффекта

многократных более высоких доз AVM0703 на продолжительность периода времени до достижения конечной точки исследуемыми мышами. Важно отметить, что в указанном исследовании у мышей проводили дозирование, когда опухоль A20 была очень большой, приблизительно 390 мм³.

5 **[0357]** Ингибиторы контрольных точек, такие как антитела против PD-1 (например, китруда), одобрены для клинического применения при В-клеточной лимфомы. В указанной модели очень агрессивной В-клеточной лимфомы A20 антитело против PD 1 неэффективно, если лечение начинают после достижения опухолями размера ≥ 100 мм³. Антитело против PD 1 эффективно в
10 указанной модели только в том случае, если лечение начинают в течение 3 дней после инокуляции A20, даже до того, как опухоли начинают прощупываться.

[0358] Оценки в подгруппе лимфодеплеции выставляли в HistoTox Labs. В подгруппе лимфодеплеции 2 из 9 мышей получили оценку некроза, равную 5 (в диапазоне от 0 до 5). У одной из 23 мышей в подгруппе анализа конечной точки опухоль полностью погибла и была резорбирована, что дало показатель общего полного ответа, равный 9% – это лучше показателя
15 полного ответа, равного 0%, на антитело против PD-1 у развившихся опухолей A20.

[0359] Анализ опухолей с применением программного обеспечения для анализа изображений MetaMorph продемонстрировал, что у получавших лечение 18 и 25 мг/кг AVM0703 мышей резорбция опухолей была более выражена, чем у получавших плацебо мышей (фиг. 33). Однако в указанном исследовании опухоли ускользали и росли, за исключением 1 мыши, получавшей
20 лечение 18 мг/кг, у которой опухоль была резорбирована на 99,5%. Опубликованные исследования с применением модели A20 агрессивного типа, как в исследовании с AVM, демонстрируют, что даже после 2 циклов CHOP, которые прямо убивают 18% мышей, также наблюдается 100% рецидив в пределах 20 дней от полной ремиссии.

[0360] Оценки HistoTox Labs в подгруппе лимфодеплеции продемонстрировали повышенный некроз опухоли (гематоксилин и эозин), пониженное мечение CD3 и CD49b, что может указывать на активированные иммунные клетки, и повышенную экспрессию LybG (маркера AVM-NKT-клеток) в опухолях от получавших лечение AVM0703 мышей. В подгруппе анализа конечной точки опухоли от получавших лечение AVM0703 мышей характеризовались пониженным мечением CD3 и CD49b, улучшенной организацией NKp46-клеток (NK- и NKT-
30 клеток), и пониженным мечением LybG, Sca1 и коллагена. В подгруппе лимфодеплеции АКЛ было обратно пропорционально дозе AVM0703. Лимфоциты, которые не подверглись абляции при дозах ЭДЧ 22 мг/кг и 25 мг/кг ДФ, в основном были представлены NK- и NKT-клетками и В-клетками. Доза ЭДЧ 18 мг/кг ДФ приводила к почти полной абляции В-лимфоцитов, но не абляции NK- и NKT-клеток. Отличающийся профиль лимфодеплеции может быть обусловлен
35 различиями в чувствительности к AVM0703 у мышей разных линий или, возможно, различиями между ранее нестимулированными мышами и моделью опухоли.

[0361] Важно, что в модели опухоли уровни глюкозы не были повышены, в отличие от наблюдаемого у ранее не стимулированных мышей C57BL/6. При ЭДЧ 18 мг/кг уровни глюкозы были значимо снижены, хотя не достигали уровней гипогликемии.

ПРИМЕР 16 – Острые высокие дозы дексаметазона оказывали ингибиторные эффекты в модели ксенотрансплантата Т-клеточной лимфомы человека CCRF-CEM

5

[0362] Пилотное исследование («AVM_CANMOD_06») проводили для исследования противоопухолевой эффективности AVM0703 в модели Т-клеточной лимфомы человека, CCRF-CEM. Самкам мышей NCr-nude инокулировали Т-лимфобласты CCRF CEM человека и проводили лечение еженедельно либо плацебо перорально (n = 2), либо 18 мг/кг AVM0703 перорально (n = 3) после 7-дневного периода имплантации.

10

[0363] Объем опухоли оценивали 3 раза в неделю и конечную точку определяли либо как объем опухоли более 1500 мм³, либо как превышающее 20% снижение массы тела по сравнению с результатом исходного измерения массы тела. Мыши, которым инокулировали клетки CCRF-CEM, демонстрировали временную задержку до достижения конечной точки при лечении AVM0703 по сравнению с плацебо (фиг. 36 и фиг. 37). В целом, имеется тренд к задержке роста опухоли у мышей-носителей опухолей CCRF CEM, получавших лечение AVM0703, по сравнению с получавшими плацебо.

15

[0364] Одна мышь из получавшей лечение AVM0703 группы была недавно обнаружена мертвой на 89 день после инокуляции опухолей – опухоль была извлечена и сфотографирована (фиг. 35). Очевиден значимый лизис опухоли, который, наиболее вероятно, и стал причиной гибели этой мыши. Получавшая лечение AVM0703 мышь 3R была повторно стимулирована (3L) клетками Т-ОЛЛ человека (линия клеток CCRF-CEM) на 118 день, и рост опухоли у нее отсутствовал вплоть до 164 дня (фиг. 38). Получавшие плацебо мыши достигают принятого за конечную точку объема опухолей 1500 мм³ на 50–55-й день. Получавшие лечение AVM0703 мыши не достигали объема опухолей, принятого за конечную точку.

20

25

ПРИМЕР 17 – Идентификация AVM-NKT-клеток у субъектов-людей, получавших лечение острыми высокими дозами дексаметазона

[0365] После идентификации AVM-NKT-клеток у мышей архивные данные для субъектов-людей, получавших лечение высокими дозами дексаметазона, анализировали повторно.

30

[0366] В случае пациентов с остеоартритом, согласно указаниям из руководства «Physician Practice of Medicine», 4 пациентам вводили 3–6 мг/кг генерика дексаметазона (д-р Loniewski, «Advanced Orthopedic Specialists», Брайтон, Мичиган).

[0367] Повторно анализировали данные проточной цитометрии для 4 пациентов, выполненной через 48 часов после проведения у них лечения дозой дексаметазона в 6 раз ниже дозы, которую применяли для максимальной индукции AVM_NKT у мышей. На диаграммах рассеяния

35

CD45/CD56 от одного из четырех пациентов видно, что новая популяция клеток, соответствующая AVM-NKT-клеткам, идентифицированным у мышей, появлялась через ~48 часов после лечения (фиг. 39).

5 [0368] Как показано на фиг. 40, новая популяция клеток с CD56 с очень ярким свечением также наблюдалась у пациента с раком предстательной железы через час после четвертого введения AVM0703 путем инфузии в дозе 6 мг/кг. Указанный пациент с раком предстательной железы представлял собой пациента без вариантов терапии после многолетнего лечения рака, и получил в общей сложности 4 инфузии AVM0703, разделенные перерывами, составлявшими по меньшей мере 28 дней.

10 [0369] По сравнению со здоровым донором крови у указанного пациента с раком предстательной железы имелись признаки новой популяции клеток CD3 с тусклым свечением, которые пропадали через час после введения AVM0703; тем не менее, затем новая популяция клеток CD56 с очень ярким свечением появлялась в крови, которая больше не наблюдалась через 3 часа после инфузии.

15 [0370] По сравнению со здоровым донором крови у указанного пациента с раком предстательной железы присутствовала популяция клеток CD3 с тусклым свечением и NKp46_(тускл.) до инфузии, и через час после инфузии AVM0703 в дозе 6 мг/кг у пациента появлялась новая популяция с CD56 с очень ярким свечением и CD3_{тусклые}, отрицательная по CD45 с тусклым свечением и дважды отрицательная по CD4/CD8.

20 ПРИМЕР 18 – Получение и мобилизация AVM-NKT-клеток человека у гуманизированных мышей

[0371] Гуманизированным мышам BRGSF на основе Balb/c от Genoway, полученным путем трансплантации стволовых CD34+ клеток пуповинной крови человека облученным мышам, у которых отсутствуют мышинные В- и Т-лимфоциты, и НК-клетки, однако имеется функциональная система комплемента мыши, перорально вводят дозы ЭДЧ 18–45 мг/кг ДНФ. Через 24–48 часов с помощью проточной цитометрии можно обнаружить, что клетки человека CD3_(ярк.), и/или клетки человека человека CD45_(тускл.), и/или клетки человека CD56+ составляют приблизительно 0,2–3% от общего количества спленоцитов. Клетки человека CD3_(ярк.), CD45_(тускл.) и CD56+ можно обнаружить в крови приблизительно через 36 часов и затем в течение 30 приблизительно 13 дней.

Модель на мышях HuCD34-NCG

[0372] Мышь HuCD34-NCG от Charles River представляет собой готовую для исследований модель подобной иммунной системы у мышей, полученную путем адоптивного переноса стволовых человеческих CD34+клеток. Мыши HuCD34-NCG –идеальная платформа для оценки in vivo эффективности соединений, модулирующих иммунную систему человека. Отсутствие

или позднее начало болезни «трансплантат против хозяина» (БТПХ) у гуманизированных мышей делает их идеальными для долгосрочных исследований.

[0373] Мышей NCG гуманизируют путем адоптивного переноса с применением происходящих из пуповинной крови человека стволовых CD34+ клеток после миелоаблативного лечения.

5 Мышам NCG от 4 доноров (n=2 на донора) перорально вводят дозы ЭДЧ 18–45 мг/кг ДНФ. Через 24–48 часов с помощью проточной цитометрии можно наблюдать клетки CD3_(ярк.) человека, и/или клетки CD45_(тускл.) человека, и/или клетки CD56+ человека в количестве приблизительно 0,2–3% от общего количества спленоцитов. Клетки человека CD3_(ярк.), CD45_(тускл.) и CD56+ можно наблюдать в крови начиная приблизительно через 36 часов и до 13 дней.

10 Модель на мышах huNOG-EXL

[0374] huNOG EXL от Taconic в среднем содержат 54% CD45-клеток, положительных по CD45 человека. Шесть мышей huNOG EXL с гуманизированной иммунной системой от 3 доноров (n=2 на донора) получают перорально дозы ЭДЧ 18–45 мг/кг ДНФ. Через 24–48 часов с помощью проточной цитометрии можно наблюдать клетки CD3_(ярк.) человека, и/или клетки CD45_(тускл.)

15 человека, и/или клетки CD56+ человека в количестве приблизительно 0,2–3% от общего количества спленоцитов. Клетки человека CD3_(ярк.), CD45_(тускл.) и CD56+ можно наблюдать в крови начиная приблизительно через 36 часов и до 13 дней.

ПРИМЕР 19 – Предварительное лечение венетоклаксом дозозависимым образом уменьшает количество мобилизованных в кровь AVM-NKT-клеток после введения высоких доз дексаметазона

[0375] Самки мышей NOD возрастом 10 недель получают лечение 12,5 мг/кг – 50 мг/кг венетоклакса за 6–18 часов до введения через желудочный зонд дозы ЭДЧ 30 мг/кг ДНФ. Предварительное лечение венетоклаксом дозозависимым образом уменьшает количество мобилизованных в кровь CD3_(ярк.), CD45_(тускл.), CD49b+ клеток через 48 часов после дозирования 25 30 мг/кг ДНФ. Количества CD3_(ярк.), CD45_(тускл.), CD49b+ клеток снижаются с ~70 клеток/мкл при введении ДНФ по отдельности до ~40 клеток/мкл при предварительном лечении 12,5 мг/кг венетоклакса, до ~20 клеток/мкл при предварительном лечении 25 мг/кг венетоклакса, до ~15 клеток/мкл при предварительном лечении 50 мг/кг венетоклакса. Венетоклакс представляет собой ингибитор Vcl-2. 30

ПРИМЕР 20 – Острая высокая доза дексаметазона предотвращает или задерживает гипергликемию у самок мышей NOD со спонтанно развивающимся диабетом

[0376] Заказывали самок мышей NOD возрастом 9 недель. В возрасте 10 недель, когда развивалась полная пенетрантность инсулита в поджелудочной железе, мышам вводили 35

подходящее плацебо вместо каждого лечения или циклоспорин два раза в неделю в дозе 5 мг/кг в течение 7 недель, а затем два раза в неделю в дозе 10 мг/кг на протяжении остальной части 5-месячного исследования, или острую пероральную однократную дозу дексаметазона (AVM0703) в ЭДЧ 18 мг/кг или 30 мг/кг, или 25 мг/кг венетоклакса, или 25 мг/кг венетоклакса с последующей ЭДЧ 30 мг/кг дексаметазона спустя 18–24 часов.

[0377] Массу тела и уровни глюкозы в крови отслеживали еженедельно. Физическое состояние отслеживали три раза неделю. Оральную толерантность к глюкозе определяли у всех выживших мышей, достигших 30-недельного возраста. Оставшихся мышей вскрывали и определяли аутореактивные лимфоциты в поджелудочной железе и смежных лимфатических узлах с помощью проточной цитометрии. Панкреатит определяли путем окрашивания Г/Э (8 из 15 на группу). Площадь поверхности бета-клеток измеряли путем окрашивания на инсулин. Инсулин-секретирующие островки оценивали следующим образом: 1, инсулит отсутствует (нет инфильтрации); 2, периинсулит (воспалительные клетки вне или в непосредственной близости от островков); 3, инсулит (явный и обильный островковый инфильтрат, указывающий на прямой контакт лимфоцитов с бета-клетками). Поджелудочную железу и лимфатические узлы поджелудочной железы исследовали на наличие аутореактивных инсулинспецифических CD4+ Т-клеток, используя способ магнитного обогащения совместно с тетрамерными реагентами.

[0378] Физическое состояние получавших лечение AVM0703 мышей было значимо лучше, чем у всех остальных групп мышей, на всем протяжении 5-месячного исследования. Венетоклакс по отдельности ускорял начало диабета, которое задерживалось при введении AVM0703 после дозы венетоклакса. AVM0703 по отдельности предотвращал диабет у 40% мышей и значимо задерживал его начало у остальных 60% мышей. Мыши без гипергликемии, получавшие лечение AVM0703, в конце 5-месячного исследования имели нормальные результаты оральных тестов на толерантность к глюкозе (ОТТГ), тогда как мыши во всех других группах имели повышенные уровни глюкозы при ОТТГ натощак.

	N	Впервые выявленная гипергликемия (возраст в неделях)	% мышей с гипергликемией в возрасте 22 недели	Медиана периода времени до возникновения диабета (дни после достижения 10-недельного возраста)
Плацебо	47	12	80%	72
AVM0703	15	20	60%	113
Циклоспорин	14	18	70%	86
Венетоклакс	16	14	90%	51
Венетоклакс+AVM0703	15	17	95%	72

ПРИМЕР 21 – Острая высокая доза дексаметазона обращает прогрессирование диабета у самок мышей NOD с установленным диабетом с ранним началом

5 [0379] Заказывают самок мышей NOD в возрасте 9 недель. Уровни глюкозы в крови измеряют еженедельно, начиная с 10-недельного возраста. После достижения уровня глюкозы не натошак в крови у мыши выше 250 мг/дл следующее измерение проводят на следующий день.

10 [0380] Для обращения впервые выявленного диабета дозирование AVM0703 начинают через день после двух последовательных дней, в которые у мыши имелись повышенные уровни глюкозы не натошак в крови. Инсулиновые пеллеты имплантируют подкожно на второй день повышенных уровней глюкозы в крови. Для обращения развившегося диабета в течение двух последовательных недель при измерении определяют повышенные уровни глюкозы в крови, инсулиновые пеллеты имплантируют на 8 день после первого дня, когда при измерении были определены повышенные уровни глюкозы в крови, и дозируют AVM0703 на 14 день после первого дня, когда были определены повышенные уровни глюкозы в крови.

15 [0381] Сравнение с получавшими лечение антителами против CD3 или ATG мышами показывает, что AVM0703 способен эквивалентным образом обращать и впервые выявленный, и развившийся диабет без уменьшения массы тела или неудовлетворительного физического состояния, которые наблюдаются у получавших лечение антителами против CD3 или ATG мышей.

20 **Источники**

[0382] Выше упоминается ряд публикаций для более полного описания и раскрытия настоящего изобретения и уровня техники в области техники, к которой принадлежит настоящее изобретение. Каждый из источников включен в настоящий документ полностью посредством ссылки. Полный список указанных источников приведен ниже:

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

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

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

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

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

Mato AR, Nabhan C, Barr PM, Ujjani CS, Hill BT, Lamanna N, Skarbnik AP, Howlett C, Pu JJ, Sehgal AR, Strelec LE, Vandegrift A, Fitzpatrick DM, Zent CS, Feldman T, Goy A, Claxton DF, Bachow SH, Kaur G0, Svoboda J, Nasta SD, Porter D, Landsburg DJ, Schuster 10 SJ, Cheson BD, Kiselev P, Evens AM. Outcomes of CLL patients treated with sequential kinase inhibitor therapy: a real world experience. *Blood*. 2016; 128(18):2199-2205
Barrett AJ, & Battiwalla M. Relapse after allogeneic stem cell transplantation. *Expert review of hematology*. 2010; 3(4), 429–441

Stadtfeld et al, *Science*. 2008 Nov 7;322(5903):945-9

15 Okita et al, *Science*. 2008 Nov 7;322(5903):949-53

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

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

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

Shiina et al, *Immunology* 2016; 150:127-138

20 Nakamura et al 2019 *Int. J. Mol. Sci* 20:4544

Kaczmarek et al 2017 *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 65:201-214

WO 2018/183927

Patente et al; *Front Immunol*. 2018; 9: 3176.

Lee et al; *PLoS One*. 2018 Jan 2;13(1):e0190063.

25 Malloy et al; *J Immunol*. 2017 Jan 1;198(1):394-403.

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

Gogoi et al; *Indian J Med Res*. 2013 Nov; 138(5): 755–761.

Dong et al; *Front Immunol*. 2018 Dec 4;9:2812.

Zhao et al, 2018; *J Immunol Res*. 2018 Jul 10;2018:5

30 Pauza et al, 2018; *Front Immunol*. 2018; 9: 1305.

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

Раскрывающие изобретение пункты

35 [0383] Приведенные ниже пронумерованные пункты, содержащие краткий обзор аспектов настоящего изобретения, являются частью описания.

AVM-NKT-клетки

101. Способ получения и/или мобилизации популяции естественных киллерных Т-клеток (NKT-клеток), включающий введение субъекту модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента или модулирующего ICAM3 агента в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере приблизительно до 6 мг/кг основания дексаметазона,
5 отличающийся тем, что указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент или модулирующий ICAM3 агент индуцирует и/или мобилизует популяцию NKT-клеток у указанного субъекта.
- 10 *Экспрессия маркеров NKT-клетками*
102. Способ по пункту 101, отличающийся тем, что указанная популяция NKT-клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % клеток:
i) экспрессируют CD3, CD4, CD8, CD45, CD49b, CD56, CD62L, NK1.1, Ly6G, Scal и/или TCR гамма/дельта; и/или
15 ii) не экспрессируют: C-kit, B220, FoxP3 и/или TCR альфа/бета.
103. Способ по пункту 102, отличающийся тем, что указанные NKT-клетки экспрессируют:
(i) CD3, CD4, CD45, CD49b, CD56, CD62L, NK1.1, Ly6G, и Scal; или
(ii) CD3, CD45 и CD56.
20
104. Способ по любому из пунктов 102–103, отличающийся тем, что указанные NKT-клетки не экспрессируют C-kit, B220, FoxP3 или TCR альфа/бета.
105. Способ в соответствии с любым из пунктов 102–104, отличающийся тем, что указанные
25 NKT-клетки не экспрессируют CD8.
106. Способ в соответствии с любым из пунктов 102–104, отличающийся тем, что указанные NKT-клетки:
i) экспрессируют CD4 и CD8; и/или
30 ii) экспрессируют Ly6G.
107. Способ в соответствии с любым из пунктов 102–106, отличающийся тем, что указанные NKT-клетки представляют собой:
35 i) CD4+/с очень ярким свечением;
ii) CD8+/с тусклым свечением;
iii) CD3+/с очень ярким свечением;
iv) CD45+/с тусклым свечением;

v) Sca1+/с очень ярким свечением;

vi) CD44+/-;

vii) CD69+/-;

viii) CD25+/-; и/или

5 ix) CD3+/с очень ярким свечением и CD45+с тусклым свечением и CD56+;
при этом необязательно уровни экспрессии определяют относительно среднего
уровня экспрессии в популяции референсных НКТ-клеток, происходящих из
общего источника, которые не были приведены в контакт с модулирующим
глюкокортикоидный рецептор (ГР) агентом.

10

108. Способ в соответствии с любым из пунктов 102–107, отличающийся тем, что экспрессию
измеряют с помощью проточной цитометрии, при этом необязательно проточную цитометрию
осуществляют с применением оборудования, реагентов и/или условий, описанных в настоящем
документе (по отдельности или в комбинации).

15

Глюкокортикоид

109. Способ в соответствии с любым из пунктов 101–108, отличающийся тем, что указанный
модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент представляет собой глюкокортикоид,
при этом необязательно указанный глюкокортикоид выбран из группы, состоящей из:
20 дексаметазона, гидрокортизона, метилпреднизолона, преднизона, преднизолона, преднилидена,
кортизона, будесонида, бетаметазона, флуметазона и беклометазона.

110. Способ в соответствии с пунктом 109, отличающийся тем, что указанный
глюкокортикоид выбран из группы, состоящей из: дексаметазона, бетаметазона и
25 метилпреднизона, предпочтительно отличающийся тем, что указанный глюкокортикоид
представляет собой дексаметазон или бетаметазон.

111. Способ в соответствии с любым из пунктов 108–110, отличающийся тем, что указанный
глюкокортикоид выбран из группы, состоящей из основания дексаметазона, дексаметазона
30 натрия фосфата, дексаметазона гемисукцината, дексаметазона натрия сукцината, дексаметазона
сукцината, дексаметазона изоникотината, дексаметазон-21-ацетата, дексаметазона фосфата,
дексаметазон-21-фосфата, дексаметазона тебутата, дексаметазон-17-валерата, дексаметазона
ацетата моногидрата, дексаметазона пивалата, дексаметазона пальмитата, дексаметазон-21-
35 пальмитата, дексаметазона дипропионата, дексаметазона пропионата, безводного дексаметазона
ацетата, дексаметазон-21-фенилпропионата, дексаметазон-21-сульфобензоата, дексаметазона
гемосульфата, дексаметазона сульфата, дексаметазонбелоксила, дексаметазоновой кислоты,
дексаметазона ацефурата, дексаметазона карбоксимида, дексаметазона ципецилата,

динатриевой соли дексаметазон-21-фосфата, дексаметазона мезилата, дексаметазона линолеата, дексаметазона глюкозида, дексаметазона глюкуронида, дексаметазона йодацетата, дексаметазона оксетанона, карбоксиметилтиодексаметазона, дексаметазон-бисэтоксимов, дексаметазон-эпоксида, дексаметазонлинолелаидата, дексаметазона метилортовалерата, 5 дексаметазона спермина, 6-гидроксидексаметазона, дексаметазона трибутилацетата, дексаметазон-аспарагиновой кислоты, дексаметазонгалактопиранозы, дексаметазона гидрохлорида, гидроксидексаметазона, карбоксидексаметазона, дезоксидексаметазона, дексаметазона бутаона, дексаметазона циклодекстрина, дигидродексаметазона, оксодексаметазона, пропионилоксидексаметазона, дексаметазона галактозида, дексаметазона 10 изоникотината, дексаметазона натрия гидрофосфата, альдегида дексаметазона, дексаметазона пивалата, дексаметазона тридецилата, дексаметазона кротоната, дексаметазона метансульфоната, дексаметазона бутилацетата, дегидродексаметазона, простого изотиоцианат-этилового тиоэфира дексаметазона, дексаметазона бромацетата, дексаметазона гемиглютарата, дезоксидексаметазона, дексаметазона хлорамбуцилата, дексаметазона мелфаланата, 15 формилоксидексаметазона, дексаметазона бутирата, дексаметазона лаурата, дексаметазона ацетата и любого комбинированного лечения, которое включает форму дексаметазона.

112. Способ в соответствии с пунктом 111, отличающийся тем, что указанный дексаметазон представляет собой дексаметазона натрия фосфат.

20

Доза глюкокортикоида

113. Способ в соответствии с любым из пунктов 101–112, отличающийся тем, что указанный глюкокортикоид вводят в дозе, эквивалентной приблизительно:

- 25 i) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере 6–12 мг/кг основания дексаметазона;
- ii) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере 6 мг/кг основания дексаметазона;
- iii) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере 12 мг/кг основания дексаметазона;
- 30 iv) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере 15 мг/кг основания дексаметазона;
- v) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере 18 мг/кг основания дексаметазона;
- 35 vi) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере 24 мг/кг основания дексаметазона;
- vii) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) 15 мг/кг основания дексаметазона;
- viii) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) 24 мг/кг основания дексаметазона;

- ix) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) 30 мг/кг основания дексаметазона;
- x) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) 45 мг/кг основания дексаметазона; или
- xi) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) основания дексаметазона, равной значению в мг/кг в пределах диапазона значений в мг/кг, причем указанный диапазон ограничен двумя значениями из значений в мг/кг, указанных в пунктах с i) по x) выше.

5

10

114. Способ в соответствии с любым из пунктов 101–113, отличающийся тем, что указанный глюкокортикоид вводят в виде разовой острой дозы, или в виде общей дозы, которую вводят за период, составляющий приблизительно 72 часа.

115. Способ в соответствии с любым из пунктов 101–114, отличающийся тем, что указанный способ включает введение одной или более дополнительных доз глюкокортикоида.

15

116. Способ в соответствии с пунктом 115, отличающийся тем, что указанную одну или более дополнительных доз вводят:

- i) через 24–120 часов после предшествующего введения глюкокортикоида;
- ii) через 24–48 часов после предшествующего введения глюкокортикоида;
- iii) через 72–120 часов после предшествующего введения глюкокортикоида;
- iv) каждые 24, 48, 72, 96, 120, 144 или 168 часов после первого введения глюкокортикоида;
- v) один раз в две недели после первого введения глюкокортикоида;
- vi) один раз в месяц после первого введения глюкокортикоида; или
- vii) два раза в неделю после первого введения глюкокортикоида.

25

Активация NKT-клеток

117. Способ в соответствии с любым из пунктов 101–116, дополнительно включающий этап введения активатора NKT-клеток субъекту.

30

118. Способ в соответствии с пунктом 117, отличающийся тем, что указанный активатор NKT-клеток выбран из группы, состоящей из: альфа-GalCer, сульфатида или активирующего NKT антитела.

35

119. Способ в соответствии с пунктом 118, отличающийся тем, что указанный активатор NKT-клеток представляет собой нагруженные альфа-GalCer дендритные клетки или моноциты.

120. Способ в соответствии с любым из пунктов 117–119, отличающийся тем, что указанный активатор NKT-клеток вводят в пределах 48 часов или приблизительно через 48 часов после введения глюкокортикоида.

5 *Субъект*

121. Способ в соответствии с любым из пунктов 101–120, отличающийся тем, что указанный субъект представляет собой млекопитающее, предпочтительно тем, что указанный субъект представляет собой человека.

10 122. Способ в соответствии с любым из пунктов 101–121, отличающийся тем, что указанный субъект имеет, предположительно имеет, или у него было диагностировано заболевание, выбранное из группы, состоящей из: рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания.

15 123. Способ в соответствии с пунктом 122, отличающийся тем, что указанный рак представляет собой солидную раковую опухоль.

124. Способ в соответствии с пунктом 122, отличающийся тем, что указанный рак выбран из группы, состоящей из: плоскоклеточного рака (такого как плоскоклеточный рак эпителия); рака легкого, в том числе мелкоклеточного рака легкого, немелкоклеточного рака легкого, аденокарциномы легкого и плоскоклеточной карциномы легкого; рака брюшины; гепатоцеллюлярного рака; гастриального рака или рака желудка, в том числе рака желудочно-кишечного тракта; рака поджелудочной железы; глиобластомы; рака шейки матки; рака яичников; рака печени; рака мочевого пузыря; гепатомы; рака молочной железы; рака толстой кишки; рака прямой кишки; рака ободочной и прямой кишки; карциномы эндометрия или матки; карциномы слюнной железы; рака почки или ренального рака; рака предстательной железы; рака вульвы; рака щитовидной железы; карциномы печени; карциномы ануса; карциномы полового члена; и рака головы и шеи.

30 125. Способ в соответствии с пунктом 122, отличающийся тем, что указанный рак представляет собой лимфому, предпочтительно В-клеточную лимфому, Т-клеточную лимфому или неходжкинскую лимфому.

35 126. Способ в соответствии с любым из пунктов 122–125, отличающийся тем, что указанные NKT-клетки лечат рак *посредством* инфильтрации опухоли.

127. Способ в соответствии с пунктом 126, отличающийся тем, что указанные NKT-клетки лечат рак *посредством* высвобождения иммуноактивирующих цитокинов.
128. Способ в соответствии с пунктом 126 или 127, отличающийся тем, что указанные NKT-клетки захватывают и убивают раковые клетки.
129. Способ в соответствии с любым из пунктов 126–128, отличающийся тем, что указанные NKT-клетки способствуют инфильтрации опухоли другими иммунными клетками.
- 10 130. Способ в соответствии с любым из пунктов 126–129, отличающийся тем, что указанные NKT-клетки непосредственно убивают раковые клетки *посредством* CD1d-направленного апоптоза.
- 15 131. Способ в соответствии с любым из пунктов 126–130, отличающийся тем, что указанные NKT-клетки вызывают некроз опухоли.
132. Способ в соответствии с пунктом 122, отличающийся тем, что указанное аутоиммунное заболевание выбрано из группы, состоящей из: рассеянного склероза, системного склероза, амиотрофического бокового склероза, сахарного диабета 1 типа (T1D), склеродермии, 20 пузырьчатки и волчанки.
133. Способ в соответствии с пунктом 122, отличающийся тем, что указанное аутоиммунное заболевание представляет собой сахарный диабет 1 типа (T1D).
- 25 134. Способ в соответствии с пунктом 122, отличающийся тем, что указанное инфекционное заболевание выбрано из группы, состоящей из: ВИЧ и герпеса, гепатита, папилломавируса человека, или заболевания, являющегося результатом инфекции коронавирусом, таким как COVID-19.
- 30 135. Способ в соответствии с пунктом 122, отличающийся тем, что указанное инфекционное заболевание представляет собой:
- i) ВИЧ; или
 - ii) COVID-19.
- 35 *Этапы выделения/размножения*
136. Способ в соответствии с любым из пунктов 101–135, дополнительно включающий этап выделения популяции NKT-клеток от субъекта или из образца, происходящего от субъекта,

необязательно отличающийся тем, что этап выделения осуществляют:

- i) по меньшей мере через 48 часов после введения глюкокортикоида;
- ii) через 48 часов – 13 дней после введения глюкокортикоида; или
- iii) через 6–48 часов после введения глюкокортикоида.

5

137. Способ по пункту 136, отличающийся тем, что указанный образец выбран из группы, состоящей из: крови, плазмы, биоптата опухоли или извлеченной хирургическим путем опухоли, костного мозга, печени, и жировой или адипозной ткани.

10 138. Способ в соответствии с пунктом 136 или 137, дополнительно включающий этап размножения выделенных NKT-клеток.

139. Способ в соответствии с любым из пунктов 136–138, дополнительно включающий этап активации выделенных NKT-клеток активатором NKT-клеток

15 необязательно отличающийся тем, что активатор NKT-клеток выбирают из:

- i) цитокина, хемокина, фактора роста и/или модулирующего NKT агента;
- ii) альфа-GalCer (альфа-галактозилцерамид; α -GalCer) сульфатида (3-О-сульфогалактозилцерамид; SM4; сульфатированный галактоцереброзид).

20 *Трансфекция выделенных NKT-клеток*

140. Способ в соответствии с любым из пунктов 136–139, дополнительно включающий этап введения нуклеиновой кислоты, кодирующей белок, в выделенные NKT-клетки, и культивирование указанных клеток в условиях, облегчающих экспрессию указанного белка.

25 141. Способ в соответствии с пунктом 140, отличающийся тем, что указанный белок выбран из группы, состоящей из одного или более из: Т-клеточного рецептора (TCR), химерного антигенного рецептора (CAR), «разделяемого, универсального и программируемого» CAR (SUPRA-CAR).

30 142. Способ в соответствии с пунктом 141, отличающийся тем, что указанный CAR и/или TCR содержит антигенсвязывающий домен, который связывается с антигеном, выбранным из группы, состоящей из: CD19, CD20, CD22, GD2, CD133, рЭФР, GPC3, КЭА, MUC1, мезотелина, ИЛ-13R, PCMA, ROR1, CAIX, Her2.

35 143. Способ в соответствии с любым из пунктов 140–142, дополнительно включающий этап размножения NKT-клеток.

144. Способ в соответствии с любым из пунктов 140–143, дополнительно включающий этап активации NKT-клеток активатором NKT-клеток.

Введение выделенных NKT-клеток

5 145. Способ лечения рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания у субъекта, включающий введение терапевтически эффективной дозы NKT-клеток, выделенных в соответствии с любым из пунктов 136–144, выделенных NKT-клеток по любому из пунктов 401–406, или популяции клеток по пункту 407, субъекту.

10 146. Способ в соответствии с пунктом 145, отличающийся тем, что субъект, которому вводят выделенные NKT-клетки, представляет собой того же субъекта, из организма которого выделили указанные NKT-клетки.

15 147. Способ в соответствии с пунктом 145, отличающийся тем, что субъект, которому вводят выделенные NKT-клетки, представляет собой не того субъекта, из организма которого выделили указанные NKT-клетки.

20 148. Способ в соответствии с любым из пунктов 145–147, отличающийся тем, что указанные NKT-клетки вводят субъекту способом, выбранным из группы, состоящей из: внутривенной инъекции, внутривенной инъекции, внутривенной инъекции, интратекальной инъекции, инъекции в спинномозговую жидкость (СМЖ), прямой инъекции в опухоль, и в виде геля, размещаемого на солидной опухоли или возле нее.

Варианты медицинского применения

25 149. Глюкокортикоид для применения в способе, соответствующем любому из пунктов 101–148.

30 150. Применение глюкокортикоида для изготовления медикамента для применения в способе, соответствующем любому из пунктов 101–148.

151. Применение дексаметазона для индукции и/или мобилизации популяции NKT-клеток, отличающееся тем, что указанную популяцию NKT-клеток индуцируют и/или мобилизуют способом, соответствующим любому из пунктов 101–148.

35 *Происходящие из AVM-NKT и ПСК*

152. Способ получения индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (иПСК), включающий перепрограммирование NKT-клеток, выделенных способом, соответствующим любому из пунктов 136–138, для получения иПСК.
- 5 153. Способ по пункту 152, отличающийся тем, что указанное перепрограммирование включает введение одной или более экспрессионных кассет, кодирующих Oct3/4, Klf4, Sox2 и C-мус, в NKT-клетки.
- 10 154. Способ по пункту 152, отличающийся тем, что указанное перепрограммирование включает введение мРНК, кодирующей Oct3/4, KLF4, Sox2 и с-мус, в NKT-клетки.
- 15 155. Способ по пункту 153 или 154, отличающийся тем, что указанное перепрограммирование дополнительно включает введение одной или более экспрессионных кассет, кодирующих одно или более из: Sox1, Sox3, Sox15, Klf1, Klf2, Klf5, L-мус, N-мус, Nanog и/или LIN28, в NKT-клетки.
- 20 156. Способ по пункту 153 или 154, отличающийся тем, что указанное перепрограммирование дополнительно включает введение одной или более из: мРНК, кодирующих Sox1, Sox3, Sox15, Klf1, Klf2, Klf5, L-мус, N-мус, Nanog и/или LIN28, в NKT-клетки.
- 25 157. Способ в соответствии с любым из пунктов 152–156, дополнительно включающий индукцию дифференцировки иПСК.
- 30 158. Способ в соответствии с пунктом 157, отличающийся тем, что указанные иПСК дифференцируют в NKT-клетки.
- 35 159. Способ получения популяции NKT-клеток, включающий дифференцировку иПСК, полученных способом в соответствии с любым из пунктов 152–156, в линию NKT-клеток.
- AVM-T-клетки и дендритные AVM-клетки*
160. Способ в соответствии с любым из пунктов 101–135, отличающийся тем, что указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент также индуцирует популяцию Т-клеток у субъекта,
- при этом необязательно указанные Т-клетки соответствуют определению в любом из пунктов 202–205.

161. Способ в соответствии с любым из пунктов 101–135 или 160, отличающийся тем, что указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент также активирует популяцию дендритных клеток у субъекта,

при этом необязательно указанные дендритные клетки соответствуют определению в любом из пунктов 302–304.

AVM-T-клетки

201. Способ получения популяции Т-клеток, включающий введение субъекту модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента или модулирующего ICAM3 агента в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере приблизительно до 6 мг/кг основания дексаметазона,

при этом указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент или модулирующий ICAM3 агент индуцирует популяцию Т-клеток у указанного субъекта.

Экспрессия маркеров Т-клеток

202. Способ по пункту 201, отличающийся тем, что указанная популяция Т-клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % клеток:

- i) экспрессируют CD3, CD4, CD45 и/или CD49b; и/или
- ii) не экспрессируют CDCD49b.

203. Способ по пункту 202, отличающийся тем, что указанная популяция Т-клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % клеток экспрессируют TCR гамма/дельта.

204. Способ в соответствии с любым из пунктов 202–203, отличающийся тем, что указанные Т-клетки являются CD3+/с очень ярким свечением,

при этом необязательно уровни экспрессии определяют относительно среднего уровня экспрессии в популяции референсных Т-клеток, происходящих из общего источника, которые не были приведены в контакт с модулирующим глюкокортикоидный рецептор (ГР) агентом.

205. Способ в соответствии с любым из пунктов 202–204, отличающийся тем, что экспрессию измеряют с помощью проточной цитометрии, при этом необязательно проточную цитометрию осуществляют с применением оборудования, реагентов и/или условий, описанных в настоящем документе (по отдельности или в комбинации).

Глюкокортикоид

206. Способ в соответствии с любым из пунктов 201–205, отличающийся тем, что указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент представляет собой глюкокортикоид, необязательно отличающийся тем, что указанный глюкокортикоид выбран из группы, состоящей из: дексаметазона, гидрокортизона, метилпреднизолон, преднизона, преднизолон, преднилизона, кортизона, будесонида, бетаметазона, флуметазона и беклометазона.
207. Способ в соответствии с пунктом 206, отличающийся тем, что указанный глюкокортикоид выбран из группы, состоящей из: дексаметазона, бетаметазона и метилпреднизона, предпочтительно отличающийся тем, что указанный глюкокортикоид представляет собой дексаметазон или бетаметазон.
208. Способ в соответствии с любым из пунктов 206–207, отличающийся тем, что указанный глюкокортикоид выбран из группы, состоящей из основания дексаметазона, дексаметазона натрия фосфата, дексаметазона гемисукцината, дексаметазона натрия сукцината, дексаметазона сукцината, дексаметазона изоникотината, дексаметазон-21-ацетата, дексаметазона фосфата, дексаметазон-21-фосфата, дексаметазона тебутата, дексаметазон-17-валерата, дексаметазона ацетата моногидрата, дексаметазона пивалата, дексаметазона пальмитата, дексаметазон-21-пальмитата, дексаметазона дипропионата, дексаметазона пропионата, безводного дексаметазона ацетата, дексаметазон-21-фенилпропионата, дексаметазон-21-сульфобензоата, дексаметазона гемисульфата, дексаметазона сульфата, дексаметазонбелоксила, дексаметазоновой кислоты, дексаметазона ацефурата, дексаметазона карбоксимида, дексаметазона ципецилата, динатриевой соли дексаметазон-21-фосфата, дексаметазона мезилата, дексаметазона линолеата, дексаметазона глюкозида, дексаметазона глюкуронида, дексаметазона йодацетата, дексаметазона оксетанона, карбоксиметилтиодексаметазона, дексаметазон-бисэтоксимов, дексаметазон-эпоксида, дексаметазонлинолелаидата, дексаметазона метилортовалерата, дексаметазона спермина, 6-гидроксидексаметазона, дексаметазона трибутилацетата, дексаметазон-аспарагиновой кислоты, дексаметазонгалактопиранозы, дексаметазона гидрохлорида, гидроксидексаметазона, карбоксидексаметазона, дезоксидексаметазона, дексаметазона бутаона, дексаметазона циклодекстрина, дигидродексаметазона, оксодексаметазона, пропионилосидексаметазона, дексаметазона галактозида, дексаметазона изоникотината, дексаметазона натрия гидрофосфата, дексаметазона альдегида, дексаметазона пивалата, дексаметазона тридецилата, дексаметазона кротоната, дексаметазона метансульфоната, дексаметазона бутилацетата, дегидродексаметазона, простого изотиоцианат-этилового тиоэфира дексаметазона, дексаметазона бромацетата, дексаметазона гемиглютарата, дезоксидексаметазона, дексаметазона хлорамбуцилата, дексаметазона мелфаланата, формилоксидексаметазона, дексаметазона бутирата, дексаметазона лаурата, дексаметазона ацетата, и любого комбинированного лечения, которое включает форму дексаметазона.

209. Способ в соответствии с пунктом 208, отличающийся тем, что указанный дексаметазон представляет собой дексаметазона натрия фосфат.

5 *Доза глюкокортикоида*

210. Способ в соответствии с любым из пунктов 201–209, отличающийся тем, что указанный глюкокортикоид вводят в дозе, эквивалентной приблизительно:

- i) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере 6–12 мг/кг основания дексаметазона;
- 10 ii) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере 6 мг/кг основания дексаметазона;
- iii) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере 12 мг/кг основания дексаметазона;
- iv) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере 15 мг/кг основания
- 15 дексаметазона;
- v) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере 18 мг/кг основания дексаметазона;
- vi) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере 24 мг/кг основания дексаметазона;
- 20 vii) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) 15 мг/кг основания дексаметазона;
- viii) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) 24 мг/кг основания дексаметазона;
- ix) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) 30 мг/кг основания дексаметазона;
- x) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) 45 мг/кг основания дексаметазона; или
- xi) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) основания дексаметазона, равной
- 25 значению в мг/кг в пределах диапазона значений в мг/кг, причем указанный диапазон ограничен двумя значениями из значений в мг/кг, указанных в пунктах с i) по x) выше.

211. Способ в соответствии с любым из пунктов 201–210, отличающийся тем, что указанный

30 глюкокортикоид вводят в виде разовой острой дозы, или в виде общей дозы, которую вводят за период, составляющий приблизительно 72 часа.

212. Способ в соответствии с любым из пунктов 201–211, отличающийся тем, что указанный способ включает введение одной или более дополнительных доз глюкокортикоида.

35

213. Способ в соответствии с пунктом 212, отличающийся тем, что указанную одну или более дополнительных доз вводят:

- viii) через 24–120 часов после предшествующего введения глюкокортикоида;
- ix) через 24–48 часов после предшествующего введения глюкокортикоида;
- x) через 72–120 часов после предшествующего введения глюкокортикоида;
- xi) каждые 24, 48, 72, 96, 120, 144, или 168 часов после первого введения глюкокортикоида;
- xii) один раз в две недели после первого введения глюкокортикоида;
- xiii) один раз в месяц после первого введения глюкокортикоида; или
- xiv) два раза в неделю после первого введения глюкокортикоида.

5

10 *Активация Т-клеток*

214. Способ в соответствии с любым из пунктов 201–213, дополнительно включающий этап введения активатора Т-клеток субъекту.

15

215. Способ в соответствии с пунктом 214, отличающийся тем, что указанный активатор Т-клеток представляет собой активирующее Т-клетки антитело.

216. Способ в соответствии с любым из пунктов 214–215, отличающийся тем, что указанный активатор Т-клеток вводят в пределах 48 часов или приблизительно через 48 часов после введения глюкокортикоида.

20

Субъект

217. Способ в соответствии с любым из пунктов 201–216, отличающийся тем, что указанный субъект представляет собой млекопитающее, предпочтительно отличающийся тем, что указанный субъект представляет собой человека.

25

218. Способ в соответствии с любым из пунктов 201–217, отличающийся тем, что указанный субъект имеет, предположительно имеет, или у него было диагностировано заболевание, выбранное из группы, состоящей из: рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания.

30

219. Способ в соответствии с пунктом 218, отличающийся тем, что указанный рак представляет собой солидную раковую опухоль.

35

220. Способ в соответствии с пунктом 218, отличающийся тем, что указанный рак выбран из группы, состоящей из: плоскоклеточного рака (такого как плоскоклеточный рак эпителия); рака легкого, в том числе мелкоклеточного рака легкого, немелкоклеточного рака легкого, аденокарциномы легкого и плоскоклеточной карциномы легкого; рака брюшины;

гепатоцеллюлярного рака; гастриального рака или рака желудка, в том числе рака желудочно-кишечного тракта; рака поджелудочной железы; глиобластомы; рака шейки матки; рака яичников; рака печени; рака мочевого пузыря; гепатомы; рака молочной железы; рака толстой кишки; рака прямой кишки; рака ободочной и прямой кишки; карциномы эндометрия или матки; карциномы слюнной железы; рака почки или ренального рака; рака предстательной железы; рака вульвы; рака щитовидной железы; карциномы печени; карциномы ануса; карциномы полового члена; и рака головы и шеи.

221. Способ в соответствии с пунктом 218, отличающийся тем, что указанный рак представляет собой лимфому, предпочтительно В-клеточную лимфому, Т-клеточную лимфому или неходжкинскую лимфому.

222. Способ в соответствии с любым из пунктов 218–221, отличающийся тем, что указанные Т-клетки лечат рак *посредством* инфильтрации опухоли.

223. Способ в соответствии с пунктом 222, отличающийся тем, что указанные Т-клетки лечат рак *посредством* высвобождения иммуноактивирующих цитокинов.

224. Способ в соответствии с любым из пунктов 222–223, отличающийся тем, что указанные Т-клетки способствуют инфильтрации опухоли другими иммунными клетками.

225. Способ в соответствии с любым из пунктов 222–224, отличающийся тем, что указанные Т-клетки непосредственно убивают раковые клетки путем индукции апоптоза.

226. Способ в соответствии с любым из пунктов 222–225, отличающийся тем, что указанные Т-клетки вызывают некроз опухоли.

227. Способ в соответствии с пунктом 218, отличающийся тем, что указанное аутоиммунное заболевание выбрано из группы, состоящей из: рассеянного склероза, системного склероза, амиотрофического бокового склероза, сахарного диабета 1 типа (T1D), склеродермии, пузырчатки и волчанки.

228. Способ в соответствии с пунктом 218, отличающийся тем, что указанное аутоиммунное заболевание представляет собой сахарный диабет 1 типа (T1D).

229. Способ в соответствии с пунктом 218, отличающийся тем, что указанное инфекционное заболевание выбрано из группы, состоящей из: ВИЧ и герпеса, гепатита, папилломавируса

человека, или заболевания, являющегося результатом инфекции коронавирусом, таким как COVID-19.

5 230. Способ в соответствии с пунктом 218, отличающийся тем, что указанное инфекционное заболевание представляет собой:

- i) ВИЧ; или
- ii) COVID-19.

Этапы выделения/размножения

10 231. Способ в соответствии с любым из пунктов 201–230, дополнительно включающий этап выделения популяции Т-клеток от субъекта или из образца, происходящего от субъекта, необязательно отличающийся тем, что указанный этап выделения осуществляют:

- i) по меньшей мере через 48 часов после введения глюкокортикоида;
- ii) через 48 часов – 13 дней после введения глюкокортикоида; или
- 15 iii) через 6–48 часов после введения глюкокортикоида.

232. Способ по пункту 231, отличающийся тем, что указанный образец выбран из группы, состоящей из: крови, плазмы, биоптата опухоли или извлеченной хирургическим путем опухоли, костного мозга, печени, и жировой или адипозной ткани.

20

233. Способ в соответствии с пунктом 231 или 232, дополнительно включающий этап размножения выделенных Т-клеток.

25 234. Способ в соответствии с любым из пунктов 231–233, дополнительно включающий этап активации выделенных Т-клеток активатором Т-клеток

необязательно отличающийся тем, что указанный активатор Т-клеток представляет собой активирующее Т-клетки антитело.

Трансфекция выделенных Т-клеток

30 235. Способ в соответствии с любым из пунктов 231–234, дополнительно включающий этап введения нуклеиновой кислоты, кодирующей белок, в выделенные Т-клетки, и культивирование указанных клеток в условиях, облегчающих экспрессию указанного белка.

35 236. Способ в соответствии с пунктом 235, отличающийся тем, что указанный белок выбран из группы, состоящей из одного или более из: Т-клеточного рецептора (TCR), химерного антигенного рецептора (CAR), «разделяемого, универсального и программируемого» CAR (SUPRA-CAR).

237. Способ в соответствии с пунктом 236, отличающийся тем, что указанный CAR и/или TCR содержит антигенсвязывающий домен, который связывается с антигеном, выбранным из группы, состоящей из: CD19, CD20, CD22, GD2, CD133, рЭФР, GPC3, КЭА, MUC1, мезотелина, ИЛ-13R, PCMA, ROR1, CAIX, Her2.

238. Способ в соответствии с любым из пунктов 235–237, дополнительно включающий этап размножения Т-клеток.

239. Способ в соответствии с любым из пунктов 235–238, дополнительно включающий этап активации Т-клеток активатором Т-клеток.

Введение выделенных Т-клеток

240. Способ лечения рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания у субъекта, включающий введение терапевтически эффективной дозы Т-клеток, выделенных в соответствии с любым из пунктов 231–239, выделенных Т-клеток по любому из пунктов 408–413, или популяции клеток по пункту 414, субъекту.

241. Способ в соответствии с пунктом 240, отличающийся тем, что субъект, которому вводят выделенные Т-клетки, представляет собой того же субъекта, из организма которого выделили указанные Т-клетки.

242. Способ в соответствии с пунктом 240, отличающийся тем, что субъект, которому вводят выделенные Т-клетки, представляет собой не того субъекта, из организма которого выделили указанные Т-клетки.

243. Способ в соответствии с любым из пунктов 240–242, отличающийся тем, что указанные Т-клетки вводят субъекту способом, выбранным из группы, состоящей из: внутривенной инъекции, внутрибрюшинной инъекции, внутрилимфатической инъекции, интратекальной инъекции, инъекции в спинномозговую жидкость (СМЖ), прямой инъекции в опухоль, и в виде геля, размещаемого на солидной опухоли или возле нее.

Варианты медицинского применения

244. Глюкокортикоид для применения в способе, соответствующем любому из пунктов 201–243.

245. Применение глюкокортикоида для изготовления медикамента для применения в способе, соответствующем любому из пунктов 201–243.

246. Применение дексаметазона для индукции популяции Т-клеток, отличающееся тем, что указанную популяцию Т-клеток индуцируют способом, соответствующим любому из пунктов 201–243.

Происходящие из АУМ-Т-клеток иПСК

247. Способ получения индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (иПСК), включающий перепрограммирование Т-клеток, выделенных способом, соответствующим любому из пунктов 231–233, для получения иПСК.

248. Способ по пункту 247, отличающийся тем, что указанное перепрограммирование включает введение одной или более экспрессионных кассет, кодирующих Oct3/4, Klf4, Sox2 и С-тус, в указанные Т-клетки.

249. Способ по пункту 247, отличающийся тем, что указанное перепрограммирование включает введение мРНК, кодирующей Oct3/4, KLF4, Sox2 и с-тус, в указанные Т-клетки.

250. Способ по пункту 248 или 249, отличающийся тем, что указанное перепрограммирование дополнительно включает введение одной или более экспрессионных кассет, кодирующих одно или более из: Sox1, Sox3, Sox15, Klf1, Klf2, Klf5, L-тус, N-тус, Nanog и/или LIN28, в указанные Т-клетки.

251. Способ по пункту 248 или 249, отличающийся тем, что указанное перепрограммирование дополнительно включает введение одной или более из: мРНК, кодирующих Sox1, Sox3, Sox15, Klf1, Klf2, Klf5, L-тус, N-тус, Nanog и/или LIN28, в указанные Т-клетки.

252. Способ в соответствии с любым из пунктов 247–251, дополнительно включающий индукцию дифференцировки иПСК.

253. Способ в соответствии с пунктом 252, отличающийся тем, что указанные иПСК дифференцируют в Т-клетки.

254. Способ получения популяции Т-клеток, включающий дифференцировку иПСК, полученных способом в соответствии с любым из пунктов 247–251, в линию НКТ-клеток.

AVM-T-клетки и дендритные AVM-клетки

255. Способ в соответствии с любым из пунктов 201–230, отличающийся тем, что указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент также индуцирует популяцию НКТ-клеток у субъекта,

при этом необязательно указанные НКТ-клетки соответствуют определению в любом из пунктов 102–108.

256. Способ в соответствии с любым из пунктов 201–230 или 255, отличающийся тем, что указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент также активизирует популяцию дендритных клеток у субъекта,

при этом необязательно указанные дендритные клетки соответствуют определению в любом из пунктов 302–304.

15 - - -

Дендритные AVM-клетки

301. Способ получения популяции активированных дендритных клеток, включающий введение субъекту модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента или модулирующего ICAM3 агента в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере приблизительно до 6 мг/кг основания дексаметазона,

при этом указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент или модулирующий ICAM3 агент индуцирует популяцию дендритных клеток у указанного субъекта.

25 *Экспрессия маркеров дендритных клеток*

302. Способ по пункту 301, отличающийся тем, что указанная популяция дендритных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % клеток экспрессируют CD11b.

30 303. Способ в соответствии с любым из пунктов 301–302, отличающийся тем, что указанные дендритные клетки являются CD11b+/с очень ярким свечением,

при этом необязательно уровни экспрессии определяют относительно среднего уровня экспрессии в популяции референсных дендритных клеток, происходящих из общего источника, которые не были приведены в контакт с модулирующим глюкокортикоидный рецептор (ГР) агентом.

304. Способ в соответствии с любым из пунктов 302–303, отличающийся тем, что экспрессию измеряют с помощью проточной цитометрии, при этом необязательно проточную цитометрию осуществляют с применением оборудования, реагентов и/или условий, описанных в настоящем документе (по отдельности или в комбинации).

5

Глюкокортикоид

305. Способ в соответствии с любым из пунктов 301–304, отличающийся тем, что указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент представляет собой глюкокортикоид, необязательно отличающийся тем, что указанный глюкокортикоид выбран из группы, состоящей из: дексаметазона, гидрокортизона, метилпреднизолона, преднизона, преднизолона, преднилидена, кортизона, будесонида, бетаметазона, флуметазона и беклометазона.

10

306. Способ в соответствии с пунктом 305, отличающийся тем, что указанный глюкокортикоид выбран из группы, состоящей из: дексаметазона, бетаметазона и метилпреднизона, при этом предпочтительно глюкокортикоид представляет собой дексаметазон или бетаметазон.

15

307. Способ в соответствии с любым из пунктов 305–306, отличающийся тем, что указанный глюкокортикоид выбран из группы, состоящей из основания дексаметазона, дексаметазона натрия фосфата, дексаметазона гемисукцината, дексаметазона натрия сукцината, дексаметазона сукцината, дексаметазона изоникотината, дексаметазон-21-ацетата, дексаметазона фосфата, дексаметазон-21-фосфата, дексаметазона тебутата, дексаметазон-17-валерата, дексаметазона ацетата моногидрата, дексаметазона пивалата, дексаметазона пальмитата, дексаметазон-21-пальмитата, дексаметазона дипропионата, дексаметазона пропионата, безводного дексаметазона ацетата, дексаметазон-21-фенилпропионата, дексаметазон-21-сульфобензоата, дексаметазона гемисульфата, дексаметазона сульфата, дексаметазонбелоксила, дексаметазоновой кислоты, дексаметазона ацефурата, дексаметазона карбоксимида, дексаметазона ципецилата, динатриевой соли дексаметазон-21-фосфата, дексаметазона мезилата, дексаметазона линолеата, дексаметазона глюкозида, дексаметазона глюкуронида, дексаметазон йодацетата, дексаметазона оксетанона, карбоксиметилтиодексаметазона, дексаметазон-бисэтоксимов, дексаметазон-эпоксида, дексаметазонлинолелаидата, дексаметазона метилортовалерата, дексаметазона спермина, 6-гидроксидексаметазона, дексаметазона трибутилацетата, дексаметазон-аспарагиновой кислоты, дексаметазонгалактопиранозы, дексаметазона гидрохлорида, гидроксидексаметазона, карбоксидексаметазона, дезоксидексаметазона, дексаметазона бутазона, дексаметазона циклодекстрина, дигидродексаметазона, оксодексаметазона, пропионилоксидексаметазона, дексаметазона галактозида, дексаметазона изоникотината, дексаметазона натрия гидрофосфата, альдегида дексаметазона, дексаметазона пивалата,

30
35

дексаметазона тридецилата, дексаметазона кротоната, дексаметазона метансульфоната, дексаметазона бутилацетата, дегидродексаметазона, простого изотиоцианат-этилового тиоэфира дексаметазона, дексаметазона бромацетата, дексаметазона гемиглютарата, дезоксидексаметазона, дексаметазона хлорамбуцилата, дексаметазона мелфаланата, формилоксидексаметазона, дексаметазона бутирата, дексаметазона лаурата, дексаметазона ацетата, и любого комбинированного лечения, которое включает форму дексаметазона.

308. Способ в соответствии с пунктом 307, отличающийся тем, что указанный дексаметазон представляет собой дексаметазон натрия фосфат.

Доза глюкокортикоида

309. Способ в соответствии с любым из пунктов 301–308, отличающийся тем, что указанный глюкокортикоид вводят в дозе, эквивалентной приблизительно:

- i) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере 6–12 мг/кг основания дексаметазона;
- ii) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере 6 мг/кг основания дексаметазона;
- iii) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере 12 мг/кг основания дексаметазона;
- iv) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере 15 мг/кг основания дексаметазона;
- v) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере 18 мг/кг основания дексаметазона;
- vi) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере 24 мг/кг основания дексаметазона;
- vii) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) 15 мг/кг основания дексаметазона;
- viii) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) 24 мг/кг основания дексаметазона;
- ix) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) 30 мг/кг основания дексаметазона;
- x) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) 45 мг/кг основания дексаметазона; или
- xi) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) основания дексаметазона, равной значению в мг/кг в пределах диапазона значений в мг/кг, причем указанный диапазон ограничен двумя значениями из значений в мг/кг, указанных в пунктах с i) по x) выше.

310. Способ в соответствии с любым из пунктов 301–309, отличающийся тем, что указанный глюкокортикоид вводят в виде разовой острой дозы, или в виде общей дозы, которую вводят за период, составляющий приблизительно 72 часа.

311. Способ в соответствии с любым из пунктов 301–310, отличающийся тем, что указанный способ включает введение одной или более дополнительных доз глюкокортикоида.

5 312. Способ в соответствии с пунктом 311, отличающийся тем, что указанную одну или более дополнительных доз вводят:

i) через 24–120 часов после предшествующего введения глюкокортикоида;

ii) через 24–48 часов после предшествующего введения глюкокортикоида;

iii) через 72–120 часов после предшествующего введения глюкокортикоида;

10 iv) каждые 24, 48, 72, 96, 120, 144 или 168 часов после первого введения глюкокортикоида;

v) один раз в две недели после первого введения глюкокортикоида;

vi) один раз в месяц после первого введения глюкокортикоида; или

vii) два раза в неделю после первого введения глюкокортикоида.

15

Активация дендритных клеток

313. Способ в соответствии с любым из пунктов 301–312, дополнительно включающий этап введения активатора дендритных клеток субъекту.

20 314. Способ в соответствии с пунктом 313, отличающийся тем, что указанный активатор дендритных клеток вводят в пределах 48 часов или приблизительно через 48 часов после введения глюкокортикоида.

Субъект

25 315. Способ в соответствии с любым из пунктов 301–314, отличающийся тем, что указанный субъект представляет собой млекопитающее, предпочтительно отличающийся тем, что указанный субъект представляет собой человека.

30 316. Способ в соответствии с любым из пунктов 301–315, отличающийся тем, что указанный субъект имеет, предположительно имеет, или у него было диагностировано заболевание, выбранное из группы, состоящей из: рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания.

35 317. Способ в соответствии с пунктом 316, отличающийся тем, что указанный рак представляет собой солидную раковую опухоль.

318. Способ в соответствии с пунктом 316, отличающийся тем, что указанный рак выбран из группы, состоящей из: плоскоклеточного рака (такого как плоскоклеточный рак эпителия); рака легкого, в том числе мелкоклеточного рака легкого, немелкоклеточного рака легкого, аденокарциномы легкого и плоскоклеточной карциномы легкого; рака брюшины; гепатоцеллюлярного рака; гастрального рака или рака желудка, в том числе рака желудочно-кишечного тракта; рака поджелудочной железы; глиобластомы; рака шейки матки; рака яичников; рака печени; рака мочевого пузыря; гепатомы; рака молочной железы; рака толстой кишки; рака прямой кишки; рака ободочной и прямой кишки; карциномы эндометрия или матки; карциномы слюнной железы; рака почки или ренального рака; рака предстательной железы; рака вульвы; рака щитовидной железы; карциномы печени; карциномы ануса; карциномы полового члена; и рака головы и шеи.

319. Способ в соответствии с пунктом 318, отличающийся тем, что указанный рак представляет собой лимфому, предпочтительно В-клеточную лимфому, Т-клеточную лимфому или неходжкинскую лимфому.

320. Способ в соответствии с любым из пунктов 317–319, отличающийся тем, что указанные дендритные клетки лечат рак *посредством* инфильтрации опухоли.

321. Способ в соответствии с пунктом 320, отличающийся тем, что указанные дендритные клетки лечат рак *посредством* высвобождения иммуноактивирующих цитокинов.

322. Способ в соответствии с любым из пунктов 320–321, отличающийся тем, что указанные дендритные клетки способствуют инфильтрации опухоли другими иммунными клетками, такими как Т-клетки.

323. Способ в соответствии с любым из пунктов 320–322, отличающийся тем, что указанные дендритные клетки способствуют некрозу опухоли.

324. Способ в соответствии с пунктом 316, отличающийся тем, что указанное аутоиммунное заболевание выбрано из группы, состоящей из: рассеянного склероза, системного склероза, амиотрофического бокового склероза, сахарного диабета 1 типа (T1D), склеродермии, пузырчатки и волчанки.

325. Способ в соответствии с пунктом 316, отличающийся тем, что указанное аутоиммунное заболевание представляет собой сахарный диабет 1 типа (T1D).

326. Способ в соответствии с пунктом 316, отличающийся тем, что указанное инфекционное заболевание выбрано из группы, состоящей из: ВИЧ и герпеса, гепатита, папилломавируса человека, или заболевания, являющегося результатом инфекции коронавирусом, таким как COVID-19.

5

327. Способ в соответствии с пунктом 316, отличающийся тем, что указанное инфекционное заболевание представляет собой:

- i) ВИЧ; или
- ii) COVID-19.

10

Этапы выделения/размножения

328. Способ в соответствии с любым из пунктов 301–327, дополнительно включающий этап выделения популяции дендритных клеток от субъекта или из образца, происходящего от субъекта,

15

необязательно отличающийся тем, что этап выделения осуществляют:

- iv) по меньшей мере через 48 часов после введения глюкокортикоида;
- v) через 48 часов – 13 дней после введения глюкокортикоида; или
- vi) через 6–48 часов после введения глюкокортикоида.

20

329. Способ по пункту 328, отличающийся тем, что указанный образец выбран из группы, состоящей из: крови, плазмы, биоптата опухоли или извлеченной хирургическим путем опухоли, костного мозга, печени, и жировой или адипозной ткани.

25

330. Способ в соответствии с пунктом 328 или 329, дополнительно включающий этап размножения выделенных дендритных клеток.

30

Трансфекция выделенных дендритных клеток

332. Способ в соответствии с любым из пунктов 328–331, дополнительно включающий этап введения нуклеиновой кислоты, кодирующей белок, в выделенные дендритные клетки, и культивирование указанных клеток в условиях, облегчающих экспрессию указанного белка.

35

333. Способ в соответствии с пунктом 332, отличающийся тем, что указанный белок выбран из группы, состоящей из одного или более из: Т-клеточного рецептора (TCR), химерного

антигенного рецептора (CAR), «разделяемого, универсального и программируемого» CAR (SUPRA-CAR).

5 334. Способ в соответствии с пунктом 333, отличающийся тем, что указанный CAR и/или TCR содержит антигенсвязывающий домен, который связывается с антигеном, выбранным из группы, состоящей из: CD19, CD20, CD22, GD2, CD133, рЭФР, GPC3, КЭА, MUC1, мезотелина, ИЛ-13R, PCMA, ROR1, CAIX, Her2.

10 335. Способ в соответствии с любым из пунктов 332–334, дополнительно включающий этап размножения дендритных клеток.

336. Способ в соответствии с любым из пунктов 332–335, дополнительно включающий этап активации дендритных клеток активатором дендритных клеток.

15 *Введение выделенных дендритных клеток*

20 337. Способ лечения рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания у субъекта, при этом указанный способ включает введение терапевтически эффективной дозы дендритных клеток, выделенных в соответствии с любым из пунктов 328–336, выделенных дендритных клеток по любому из пунктов 415–420, или популяции клеток по пункту 421, субъекту.

25 338. Способ в соответствии с пунктом 337, отличающийся тем, что субъект, которому вводят выделенные дендритные клетки, представляет собой того же субъекта, из организма которого выделили указанные дендритные клетки.

339. Способ в соответствии с пунктом 337, отличающийся тем, что субъект, которому вводят выделенные дендритные клетки, представляет собой не того субъекта, из организма которого выделили указанные дендритные клетки.

30 340. Способ в соответствии с любым из пунктов 337–339, отличающийся тем, что указанные дендритные клетки вводят субъекту способом, выбранным из группы, состоящей из: внутривенной инъекции, внутривенной инъекции, внутривенной инъекции, внутривенной инъекции, интратекальной инъекции, инъекции в спинномозговую жидкость (СМЖ), прямой инъекции в опухоль, и в виде геля, размещаемого на солидной опухоли или возле нее.

35 *Варианты медицинского применения*

341. Глюкокортикоид для применения в способе, соответствующем любому из пунктов 301–340.

5 342. Применение глюкокортикоида для изготовления медикамента для применения в способе, соответствующем любому из пунктов 301–340.

343. Применение дексаметазона для индукции популяции дендритных клеток, отличающееся тем, что указанную популяцию дендритных клеток индуцируют способом, соответствующим любому из пунктов 301–340.

10

Происходящие из дендритных АУМ-клеток иПСК

344. Способ получения индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (иПСК), включающий перепрограммирование дендритных клеток, выделенных способом, соответствующим любому из пунктов 328–330, для получения иПСК.

15

345. Способ по пункту 344, отличающийся тем, что указанное перепрограммирование включает введение одной или более экспрессионных кассет, кодирующих Oct3/4, Klf4, Sox2 и С-мус, в дендритные клетки.

20

346. Способ по пункту 344, отличающийся тем, что указанное перепрограммирование включает введение мРНК, кодирующей Oct3/4, KLF4, Sox2 и с-мус, в дендритные клетки.

25

347. Способ по пункту 345 или 346, отличающийся тем, что указанное перепрограммирование дополнительно включает введение одной или более экспрессионных кассет, кодирующих одно или более из: Sox1, Sox3, Sox15, Klf1, Klf2, Klf5, L-мус, N-мус, Nanog и/или LIN28, в дендритные клетки.

30

348. Способ по пункту 345 или 346, отличающийся тем, что указанное перепрограммирование дополнительно включает введение одной или более из: мРНК, кодирующих Sox1, Sox3, Sox15, Klf1, Klf2, Klf5, L-мус, N-мус, Nanog и/или LIN28, в дендритные клетки.

35

349. Способ в соответствии с любым из пунктов 344–348, дополнительно включающий индукцию дифференцировки иПСК.

35

350. Способ в соответствии с пунктом 349, отличающийся тем, что указанные иПСК дифференцируют в дендритные клетки.

351. Способ получения популяции дендритных клеток, включающий дифференцировку и ПСК, полученных способом в соответствии с любым из пунктов 344–348, в линию дендритных клеток.

5

AVM-T-клетки и дендритные AVM-клетки

352. Способ в соответствии с любым из пунктов 301–327, отличающийся тем, что указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент также индуцирует популяцию НКТ-клеток у субъекта,

10 при этом необязательно указанные НКТ-клетки соответствуют определению в любом из пунктов 102–108.

353. Способ в соответствии с любым из пунктов 301–327 или 352, отличающийся тем, что указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент также активирует популяцию Т-клеток у субъекта,

15

при этом необязательно указанные Т-клетки соответствуют определению в любом из пунктов 202–205.

20 401. Выделенная естественная киллерная Т-клетка (НКТ-клетка) или популяция естественных киллерных Т-клеток (НКТ-клеток), полученная способом, соответствующим любому из пунктов 101–159.

402. Выделенная естественная киллерная Т-клетка (НКТ-клетка), характеризующаяся тем, что указанная клетка экспрессирует CD3, и:

25

- i) экспрессирует CD4, CD8, CD45, CD49b, CD56, CD62L, NK1.1, Ly6G, Scal и/или TCR гамма/дельта; и/или
- ii) не экспрессирует: C-kit, B220, FoxP3 и/или TCR альфа/бета.

30 403. Выделенная НКТ-клетка в соответствии с пунктом 402, отличающаяся тем, что указанная НКТ-клетка или ее предшественник был(а) выделен(а) от субъекта, при этом указанная НКТ-клетка или предшественник указанной НКТ-клетки был(а) приведен(а) в контакт с высокой дозой модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента либо *in vivo* до выделения, либо *in vitro* после выделения, и при этом уровень экспрессии CD3 по меньшей мере в два раза выше, чем средний уровень экспрессии CD3 в популяции референсных НКТ-клеток от субъекта, которые не были приведены в контакт с модулирующим ГР агентом.

35

404. Выделенная NKT-клетка в соответствии с пунктом 403, отличающаяся тем, что уровни экспрессии CD3 указанной выделенной NKT-клеткой и указанной популяцией референсных NKT-клеток измеряют с помощью проточной цитометрии.
- 5 405. Выделенная NKT-клетка в соответствии с пунктом 404, отличающаяся тем, что проточную цитометрию осуществляют с применением оборудования, реагентов и/или условий, описанных в настоящем документе (по отдельности или в комбинации).
406. Выделенная NKT-клетка в соответствии с любым из пунктов 403–405, отличающаяся
10 тем, что уровень экспрессии CD3 указанной выделенной NKT-клеткой по меньшей мере в три раза, по меньшей мере в четыре раза или по меньшей мере в пять раз выше, чем средний уровень экспрессии CD3 в указанной популяции референсных NKT-клеток от субъекта, которые не были приведены в контакт с модулирующим глюкокортикоидный рецептор (ГР) агентом.
- 15 407. Выделенная популяция естественных киллерных Т-клеток (NKT-клеток), характеризующаяся тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % клеток:
- i) экспрессируют CD3, CD4, CD8, CD45, CD49b, CD56, CD62L, NK1.1, Ly6G, Scal и/или TCR гамма/дельта; и/или
 - ii) не экспрессируют: C-kit, B220, FoxP3 и/или TCR альфа/бета.
- 20 - - -
408. Выделенная Т-клетка или популяция Т-клеток, полученная способом, соответствующим любому из пунктов 201–254.
409. Выделенная Т-клетка, характеризующаяся тем, что указанная клетка экспрессирует CD3
25 и:
- i) экспрессирует CD4, CD45 и/или CD49b; и/или
 - ii) не экспрессирует CD8;
- необязательно отличающаяся тем, что указанная клетка экспрессирует TCR
гамма/дельта.
- 30
410. Выделенная Т-клетка в соответствии с пунктом 409, отличающаяся тем, что указанная Т-клетка или ее предшественник был(а) выделен(а) от субъекта, при этом указанная Т-клетка или предшественник указанной Т-клетки был(а) приведен(а) в контакт с высокой дозой модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента либо *in vivo* до выделения, либо *in vitro*
35 после выделения, и при этом уровень экспрессии CD3 по меньшей мере в два раза выше, чем средний уровень экспрессии CD3 в популяции референсных Т-клеток от субъекта, которые не были приведены в контакт с модулирующим ГР агентом.

411. Выделенная Т-клетка в соответствии с пунктом 410, отличающаяся тем, что уровни экспрессии CD3 указанной выделенной Т-клетки и указанной популяции референсных Т-клеток измеряют с помощью проточной цитометрии.

5

412. Выделенная Т-клетка в соответствии с пунктом 411, отличающаяся тем, что проточную цитометрию осуществляют с применением оборудования, реагентов и/или условий, описанных в настоящем документе (по отдельности или в комбинации).

10 413. Выделенная Т-клетка в соответствии с любым из пунктов 410–412, отличающаяся тем, что уровень экспрессии CD3 указанной выделенной Т-клетки по меньшей мере в три раза, по меньшей мере в четыре раза или по меньшей мере в пять раз выше, чем средний уровень экспрессии CD3 в указанной популяции референсных Т-клеток от субъекта, которые не были приведены в контакт с модулирующим глюкокортикоидный рецептор (ГР) агентом.

15

414. Выделенная популяция Т-клеток, характеризующаяся тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % клеток:

i) экспрессируют CD3, CD4, CD45 и/или CD49b; и/или

ii) не экспрессируют CD8;

20 и отличающаяся тем, что уровень экспрессии CD3 по меньшей мере в три раза, по меньшей мере в четыре раза или по меньшей мере в пять раз выше, чем средний уровень экспрессии CD3 в популяции референсных Т-клеток от субъекта, которые не были приведены в контакт с модулирующим глюкокортикоидный рецептор (ГР) агентом;

необязательно отличающаяся тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или

25 99 % клеток экспрессируют TCR гамма/дельта .

- - -

415. Выделенная дендритная клетка или популяция дендритных клеток, полученная способом, соответствующим любому из пунктов 301–351.

30 416. Выделенная дендритная клетка, характеризующаяся тем, что указанная клетка экспрессирует CD11b.

417. Выделенная дендритная клетка в соответствии с пунктом 416, отличающаяся тем, что указанная дендритная клетка или ее предшественник был(а) выделен(а) от субъекта, при этом
35 указанная дендритная клетка или предшественник указанной дендритной клетки был(а) приведен(а) в контакт с высокой дозой модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента либо *in vivo* до выделения, либо *in vitro* после выделения, и при этом уровень экспрессии

CD11b по меньшей мере в два раза выше, чем средний уровень экспрессии CD11b в популяции референсных дендритных клеток от субъекта, которые не были приведены в контакт с модулирующим ГР агентом.

5 418. Выделенная дендритная клетка в соответствии с пунктом 417, отличающаяся тем, что уровни экспрессии CD11b указанной выделенной дендритной клеткой и указанной популяцией референсных дендритных клеток измеряют с помощью проточной цитометрии.

10 419. Выделенная дендритная клетка в соответствии с пунктом 418, отличающаяся тем, что проточную цитометрию осуществляют с применением оборудования, реагентов и/или условий, описанных в настоящем документе (по отдельности или в комбинации).

15 420. Выделенная дендритная клетка в соответствии с любым из пунктов 417–419, отличающаяся тем, что уровень экспрессии CD11b указанной выделенной дендритной клеткой по меньшей мере в три раза, по меньшей мере в четыре раза или по меньшей мере в пять раз выше, чем средний уровень экспрессии CD11b в указанной популяции референсных дендритных клеток от субъекта, которые не были приведены в контакт с модулирующим глюкокортикоидный рецептор (ГР) агентом.

20 421. Выделенная популяция дендритных клеток, характеризующаяся тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % клеток экспрессируют CD11b; и отличающаяся тем, что уровень экспрессии CD11b по меньшей мере в три раза, по меньшей мере в четыре раза или по меньшей мере в пять раз выше, чем средний уровень экспрессии CD11b в популяции референсных дендритных клеток от субъекта, которые не были приведены в контакт с
25 модулирующим глюкокортикоидный рецептор (ГР) агентом.

- - -

30 422. Глюкокортикоид для применения в способе лечения рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания у субъекта, отличающийся тем, что указанный способ включает введение глюкокортикоида субъекту в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека), равной приблизительно до 6–45 мг/кг основания дексаметазона,

при этом указанный глюкокортикоид индуцирует популяцию НКТ-клеток, характеризующуюся тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % клеток:

- 35 i) экспрессируют CD3, CD4, CD8, CD45, CD49b, CD56, CD62L, NK1.1, Ly6G, Scal и/или TCR гамма/дельта; и/или
ii) не экспрессируют: C-kit, B220, FoxP3 и/или TCR альфа/бета.

423. Глюкокортикоид для применения в способе лечения рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания у субъекта, отличающийся тем, что указанный способ включает введение глюкокортикоида субъекту в дозе, эквивалентной приблизительно до 6 – 45 мг/кг ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) основания дексаметазона,

5 при этом указанный глюкокортикоид индуцирует популяцию Т-клеток, характеризующуюся тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % клеток экспрессируют CD3, а уровень экспрессии CD3 по меньшей мере в три раза, по меньшей мере в четыре раза или по меньшей мере в пять раз выше, чем средний уровень экспрессии CD3 в популяции референсных Т-клеток от субъекта, которые не были приведены в контакт с
10 модулирующим глюкокортикоидный рецептор (ГР) агентом.

424. Глюкокортикоид для применения в способе лечения рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания у субъекта, отличающийся тем, что указанный способ включает введение глюкокортикоида субъекту в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентной дозе
15 для человека), равной приблизительно до 6–45 мг/кг основания дексаметазона,

при этом указанный глюкокортикоид активизирует популяцию дендритных клеток, характеризующуюся тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % клеток экспрессируют CD11b; а уровень экспрессии CD11b по меньшей мере в три раза, по меньшей
20 мере в четыре раза или по меньшей мере в пять раз выше, чем средний уровень экспрессии CD11b в популяции референсных дендритных клеток от субъекта, которые не были приведены в контакт с модулирующим глюкокортикоидный рецептор (ГР) агентом.

425. Глюкокортикоид для применения в способе лечения рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания у субъекта, при этом указанный способ включает введение
25 глюкокортикоида субъекту в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека), равной приблизительно до 6–45 мг/кг основания дексаметазона,

отличающийся тем, что указанный глюкокортикоид:

- i) индуцирует популяцию естественных киллерных Т-клеток (НКТ-клеток) согласно определению в любом из пунктов 101–159;
- 30 ii) индуцирует популяцию Т-клеток согласно определению в любом из пунктов 201–254; и/или
- iii) активизирует популяцию дендритных клеток согласно определению в любом из пунктов 301–351.

35 426. Способ лечения рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания у субъекта, включающий введение терапевтически эффективной дозы:

i) НКТ-клеток, выделенных в соответствии с любым из пунктов 136–144, выделенных НКТ-клеток по любому из пунктов 401–406, или популяции клеток по пункту 407;

ii) Т-клеток, выделенных в соответствии с любым из пунктов 231–239, выделенных Т-клеток по любому из пунктов 408–413, или популяции клеток по пункту 414, субъекту; и/или

5 iii) дендритных клеток, выделенных в соответствии с любым из пунктов 328–336, выделенных дендритных клеток по любому из пунктов 415–420, или популяции клеток по пункту 421;
субъекту.

10 - - -

501. Способ лечения заболевания, являющегося результатом инфекции коронавирусом у субъекта, при этом указанный способ включает введение модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента субъекту в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по
15 меньшей мере приблизительно до 6 мг/кг основания дексаметазона.

502. Способ в соответствии с пунктом 501, отличающийся тем, что указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент представляет собой глюкокортикоид.

20 503. Способ в соответствии с пунктом 501, отличающийся тем, что указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент представляет собой дексаметазон или бетаметазон.

504. Способ в соответствии с любым из пунктов 501–503, отличающийся тем, что указанный
25 модулирующий глюкокортикоидный рецептор агент вводят в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека), равной по меньшей мере приблизительно до 18 мг/кг основания дексаметазона.

505. Способ в соответствии с любым из пунктов 501–504, отличающийся тем, что указанный
30 модулирующий глюкокортикоидный рецептор агент вводят в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) от приблизительно 18 мг/кг до 30 мг/кг основания дексаметазона.

506. Способ в соответствии с любым из пунктов 501–505, отличающийся тем, что указанное
35 заболевание представляет собой COVID-19.

507. Способ в соответствии с любым из пунктов 501–506, отличающийся тем, что указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор агент:

- i) индуцирует популяцию естественных киллерных Т-клеток (NKT-клеток) согласно определению в любом из пунктов 101–159;
- 5 ii) индуцирует популяцию Т-клеток согласно определению в любом из пунктов 201–254; и/или
- iii) активирует популяцию дендритных клеток согласно определению в любом из пунктов 301–351.

10 508. Способ в соответствии с пунктом 507, отличающийся тем, что указанные NKT-клетки лечат заболевание *посредством* захвата и киллинга коронавируса и/или путем активации других клеток врожденного и адаптивного иммунитета.

15 509. Модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент для применения в способе, соответствующем любому из пунктов 501–508.

510. Применение модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента для изготовления медикамента для применения в способе, соответствующем любому из пунктов 501–508.

20

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения популяции естественных киллерных Т-клеток (NKT-клеток), включающий введение субъекту модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере приблизительно до 6 мг/кг основания дексаметазона.
2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанная популяция NKT-клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % клеток:
- i) экспрессируют CD3; и
 - ii) экспрессируют CD4, CD8, CD45, CD49b, CD56, CD62L, NK1.1, Ly6G, Sca1 и/или TCR гамма/дельта; и/или
 - iii) не экспрессируют: C-kit, B220, FoxP3 и/или TCR альфа/бета.
3. Способ по п. 2, отличающийся тем, что указанные NKT-клетки экспрессируют:
- i) CD3, CD4, CD45, CD49b, CD56, CD62L, NK1.1, Ly6G, Sca1 и TCR гамма/дельта; или
 - ii) CD3, CD45 и CD56.
4. Способ по п. 2 или 3, отличающийся тем, что указанные NKT-клетки:
- i) не экспрессируют C-kit, B220, FoxP3 или TCR альфа/бета,
 - ii) не экспрессируют CD8,
 - iii) экспрессируют CD4 и CD8;
 - iv) экспрессируют Ly6G и TCR гамма/дельта; и/или
 - v) CD3+с очень ярким свечением, и/или CD45+с тусклым свечением, и/или CD56+.
5. Способ по любому из пп. 1–4, отличающийся тем, что указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент представляет собой глюкокортикоид, при этом необязательно указанный глюкокортикоид выбран из группы, состоящей из: дексаметазона, гидрокортизона, метилпреднизолона, преднизона, преднизолона, преднилидена, кортизона, будесонида, бетаметазона, флуметазона и беклометазона.
6. Способ по п. 5, отличающийся тем, что указанный глюкокортикоид выбран из группы, состоящей из: дексаметазона, бетаметазона и метилпреднизона.
7. Способ по п. 6, отличающийся тем, что указанный глюкокортикоид представляет собой дексаметазон или бетаметазон.

8. Способ по любому из пп. 5–7, отличающийся тем, что указанный дексаметазон представляет собой дексаметазон натрия фосфат.
9. Способ по любому из пп. 1–8, отличающийся тем, что указанный глюкокортикоид вводят в дозе, эквивалентной приблизительно:
- i) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере 6–12 мг/кг основания дексаметазона;
 - ii) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере 6 мг/кг основания дексаметазона;
 - 10 iii) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере 12 мг/кг основания дексаметазона;
 - iv) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере 15 мг/кг основания дексаметазона;
 - v) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере 21 мг/кг основания дексаметазона;
 - 15 vi) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) по меньшей мере 24 мг/кг основания дексаметазона;
 - vii) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) 15 мг/кг основания дексаметазона;
 - viii) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) 24 мг/кг основания дексаметазона; или
 - 20 ix) ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека) 45 мг/кг основания дексаметазона.
10. Способ по любому из пп. 1–9, отличающийся тем, что указанный глюкокортикоид вводят в виде разовой острой дозы, или в виде общей дозы, которую вводят за период, составляющий приблизительно 72 часа.
- 25 11. Способ по любому из пп. 1–10, отличающийся тем, что указанный способ включает введение одной или более дополнительных доз глюкокортикоида.
12. Способ по любому из пп. 1–11, дополнительно включающий этап введения активатора НКТ-клеток субъекту.
- 30 13. Способ по п. 12, отличающийся тем, что указанный активатор НКТ-клеток вводят в пределах 48 часов или приблизительно через 48 часов после введения глюкокортикоида.
14. Способ по любому из пп. 1–13, отличающийся тем, что указанный субъект имеет, 35 предположительно имеет, или у него было диагностировано заболевание, выбранное из группы, состоящей из: рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания.

15. Способ по п. 14, отличающийся тем, что указанный рак представляет собой солидную раковую опухоль.
16. Способ по п. 15, отличающийся тем, что указанный рак представляет собой лимфому, предпочтительно В-клеточную лимфому, Т-клеточную лимфому или неходжкинскую лимфому.
17. Способ по любому из пп. 14–16, отличающийся тем, что указанные NKT-клетки лечат рак *посредством* инфильтрации опухоли.
18. Способ по любому из пп. 14–17, отличающийся тем, что указанные NKT-клетки способствуют инфильтрации опухоли другими иммунными клетками.
19. Способ по любому из пп. 14–18, отличающийся тем, что указанные NKT-клетки непосредственно убивают раковые клетки *посредством* CD1d-направленного апоптоза.
20. Способ по любому из пп. 14–19, отличающийся тем, что указанные NKT-клетки лечат рак, вызывая некроз опухоли.
21. Способ по п. 14, отличающийся тем, что указанное аутоиммунное заболевание выбрано из группы, состоящей из: рассеянного склероза, системного склероза, амиотрофического бокового склероза, сахарного диабета 1 типа (T1D), склеродермии, пузырчатки и волчанки.
22. Способ по п. 14, отличающийся тем, что указанное инфекционное заболевание представляет собой ВИЧ или заболевание, являющееся результатом инфекции коронавирусом, таким как COVID-19.
23. Способ по любому из пп. 1–22, дополнительно включающий этап выделения популяции NKT-клеток от субъекта или из образца, происходящего от субъекта, необязательно отличающийся тем, что этап выделения осуществляют:
- i) по меньшей мере через 48 часов после введения глюкокортикоида; или
 - ii) через 48 часов – 13 дней после введения глюкокортикоида.
24. Способ по п. 23, отличающийся тем, что указанный образец выбран из группы, состоящей из: крови, плазмы, биоптата опухоли или извлеченной хирургическим путем опухоли, костного мозга, печени, и жировой или адипозной ткани.

25. Способ по п. 23 или 24, дополнительно включающий этап размножения выделенных NKT-клеток.
26. Способ по любому из пп. 23–25, дополнительно включающий этап активации выделенных NKT-клеток активатором NKT-клеток
5 необязательно отличающийся тем, что указанный активатор NKT-клеток выбирают из цитокина, хемокина, фактора роста и/или модулирующего NKT агента.
27. Способ по любому из пп. 23–25, дополнительно включающий этап введения нуклеиновой кислоты, кодирующей белок, в выделенные NKT-клетки, и культивирование указанных клеток в условиях, облегчающих экспрессию указанного белка.
10
28. Способ по п. 27, отличающийся тем, что указанный белок выбран из группы, состоящей из одного или более из: T-клеточного рецептора (TCR), химерного антигенного рецептора (CAR), и «разделяемого, универсального и программируемого» CAR (SUPRA-CAR).
15
29. Способ по любому из пп. 23–28, дополнительно включающий этап размножения NKT-клеток.
30. Способ по любому из пп. 23–29, дополнительно включающий этап активации NKT-клеток активатором NKT-клеток.
20
31. Способ лечения рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания у субъекта, включающий введение терапевтически эффективной дозы выделенных NKT-клеток по любому из пп. 1–30 субъекту.
25
32. Глюкокортикоид для применения в способе по любому из пп. 1–31.
33. Применение глюкокортикоида для изготовления медикамента для применения в способе по любому из пп. 1–31.
30
34. Выделенная естественная киллерная T-клетка (NKT-клетка) или популяция естественных киллерных T-клеток (NKT-клеток), полученная способом по любому из пп. 1–33.
35. Выделенная естественная киллерная T-клетка (NKT-клетка), характеризующаяся тем, что указанная клетка экспрессирует CD3, и:
35

- i) экспрессирует CD4, CD8, CD45, CD49b, CD56, CD62L, NK1.1, Ly6G, Scal и/или TCR гамма/дельта; и/или
- ii) не экспрессирует: C-kit, B220, FoxP3 и/или TCR альфа/бета;

при этом необязательно выделенная NKT-клетка является CD3+ с очень ярким свечением, и/или
5 CD45+/с тусклым свечением, и/или CD56+.

36. Выделенная NKT-клетка по п. 35, отличающаяся тем, что указанная NKT-клетка или ее предшественник был(а) выделен(а) от субъекта, при этом указанная NKT-клетка или предшественник указанной NKT-клетки был(а) приведен(а) в контакт с высокой дозой
10 модулирующего глюкокортикоидный рецептор агента либо *in vivo* до выделения, либо *in vitro* после выделения, и тем, что уровень экспрессии CD3 по меньшей мере в два раза выше, чем средний уровень экспрессии CD3 в популяции референсных NKT-клеток от субъекта, которые не были приведены в контакт с модулирующим глюкокортикоидный рецептор агентом.

15 37. Выделенная NKT-клетка по п. 36, отличающаяся тем, что уровни экспрессии CD3 указанной выделенной NKT-клеткой и указанной популяцией референсных NKT-клеток измеряют с помощью проточной цитометрии.

38. Выделенная NKT-клетка по п. 36 или 37, отличающаяся тем, что уровень экспрессии
20 CD3 указанной выделенной NKT-клеткой по меньшей мере в три раза, по меньшей мере в четыре раза или по меньшей мере в пять раз выше, чем средний уровень экспрессии CD3 в указанной популяции референсных NKT-клеток от субъекта, которые не были приведены в контакт с модулирующим глюкокортикоидный рецептор агентом.

25 39. Выделенная популяция естественных киллерных Т-клеток (NKT-клеток), характеризующаяся тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % клеток:

- i) экспрессируют CD3, CD4, CD8, CD45, CD49b, CD56, CD62L, NK1.1, Ly6G, Scal и/или TCR гамма/дельта; и/или
- ii) не экспрессируют: C-kit, B220, FoxP3 и/или TCR альфа/бета;

30 при этом необязательно по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % клеток являются CD3+с очень ярким свечением и/или CD45+/с тусклым свечением и/или CD56+.

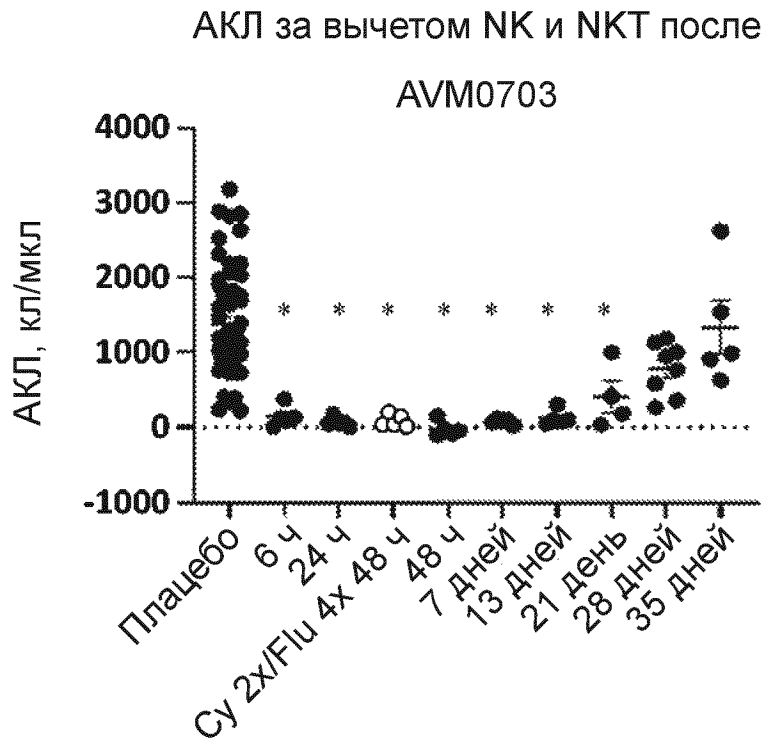
40. Глюкокортикоид для применения в способе лечения рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания у субъекта, отличающийся тем, что указанный способ
35 включает введение глюкокортикоида субъекту в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентной дозе для человека), равной приблизительно до 6–45 мг/кг основания дексаметазона,

причем указанный глюкокортикоид индуцирует популяцию НКТ-клеток, характеризующуюся тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 % клеток:

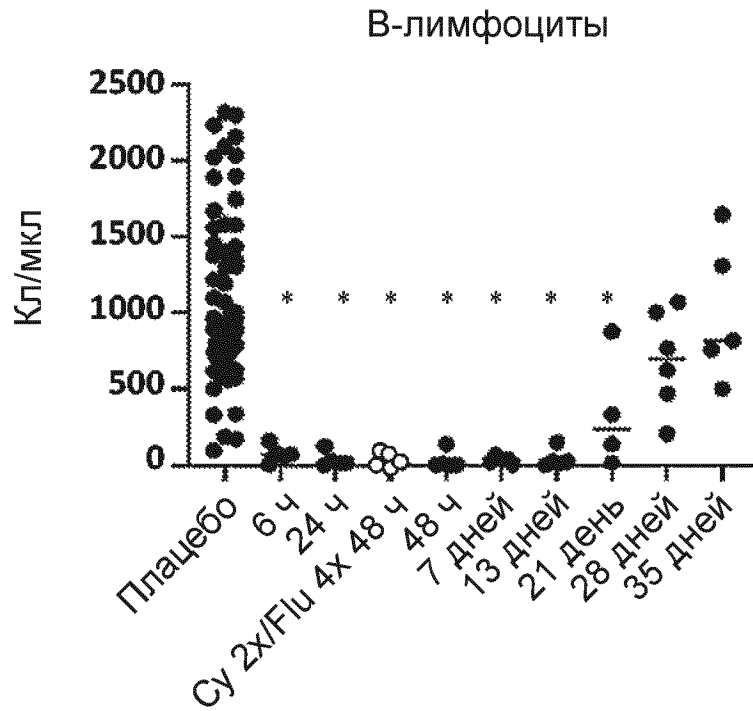
i) экспрессируют CD3, CD4, CD8, CD45, CD49b, CD56, CD62L, NK1.1, Ly6G, Scal и/или TCR гамма/дельта; и/или

5 не экспрессируют: C-kit, B220, FoxP3 и/или TCR альфа/бета.

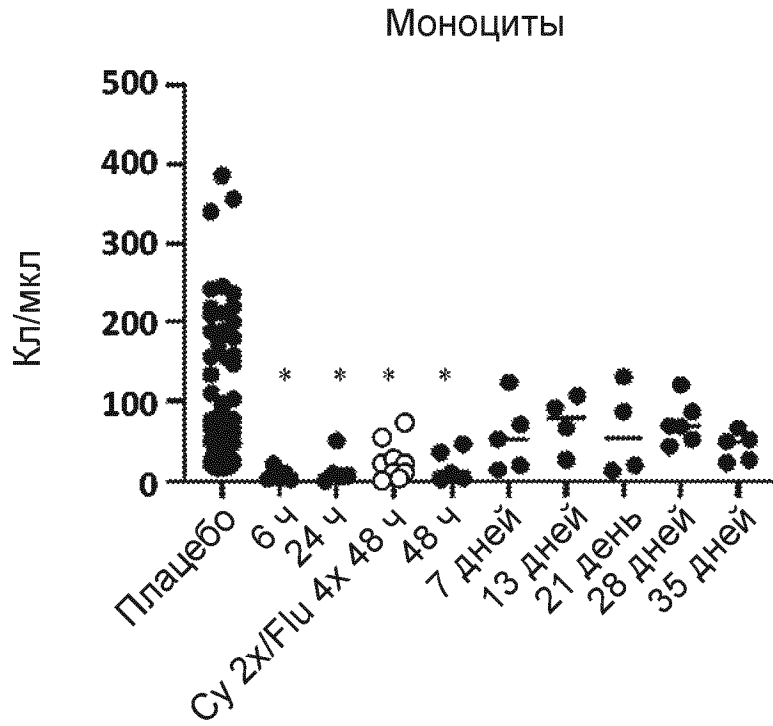
Фиг. 1



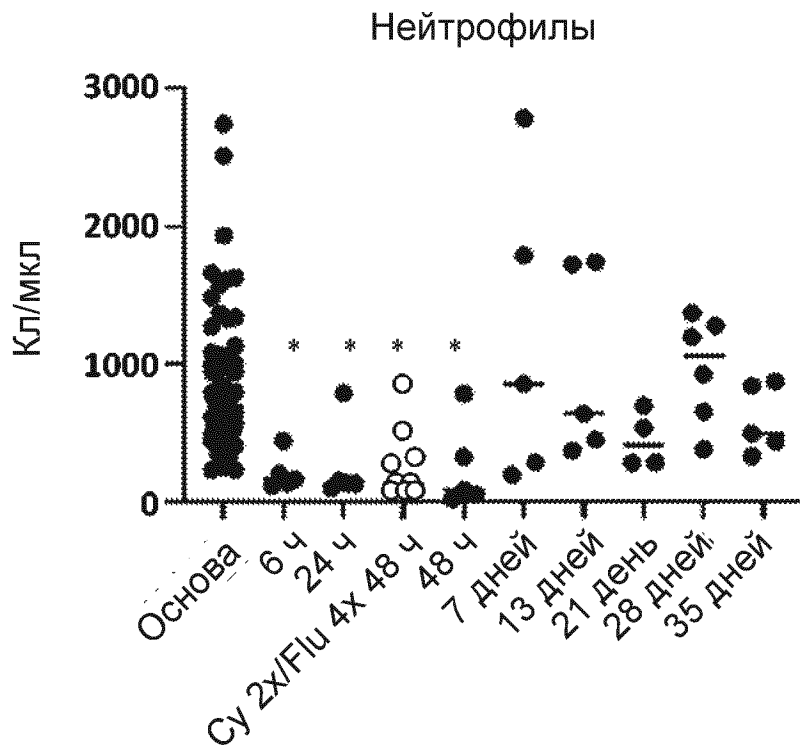
Фиг. 2



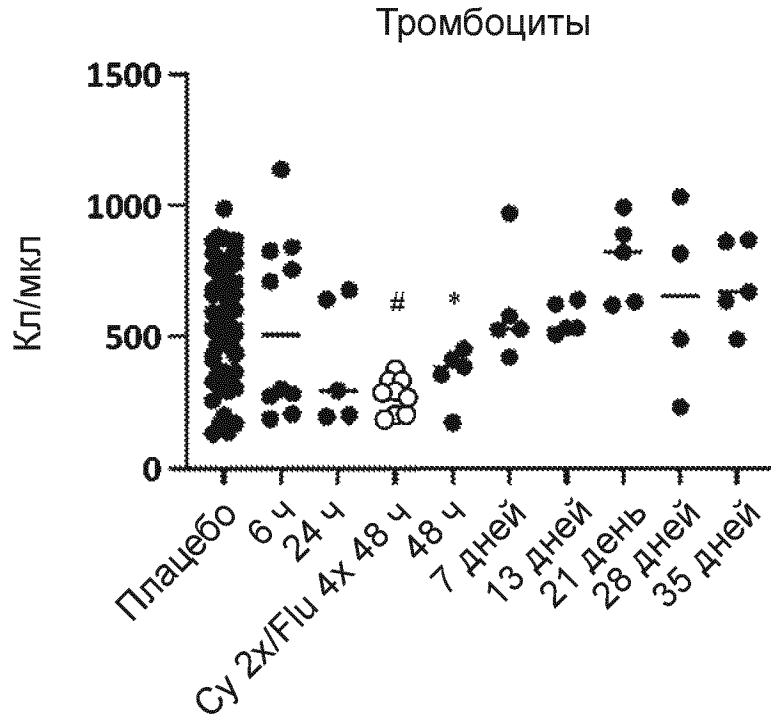
Фиг. 3



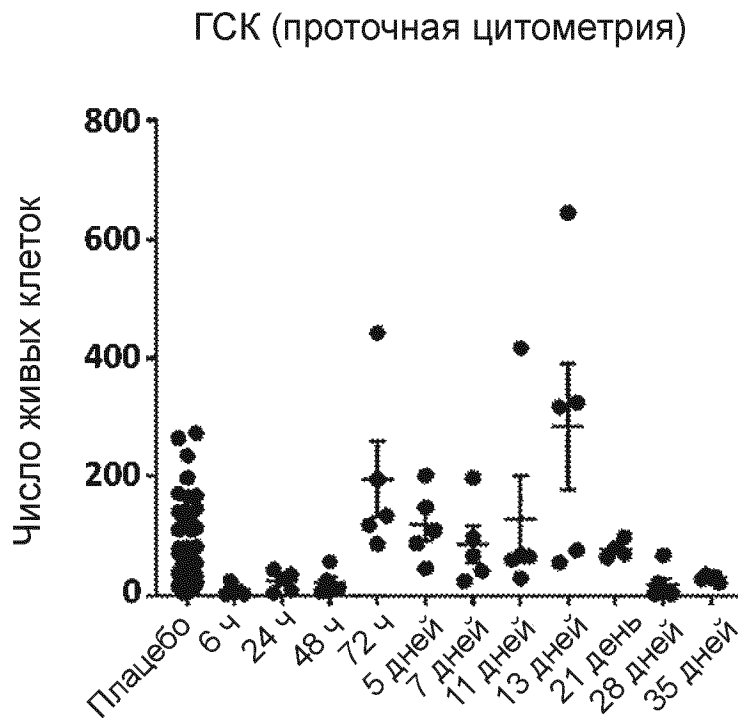
Фиг. 4



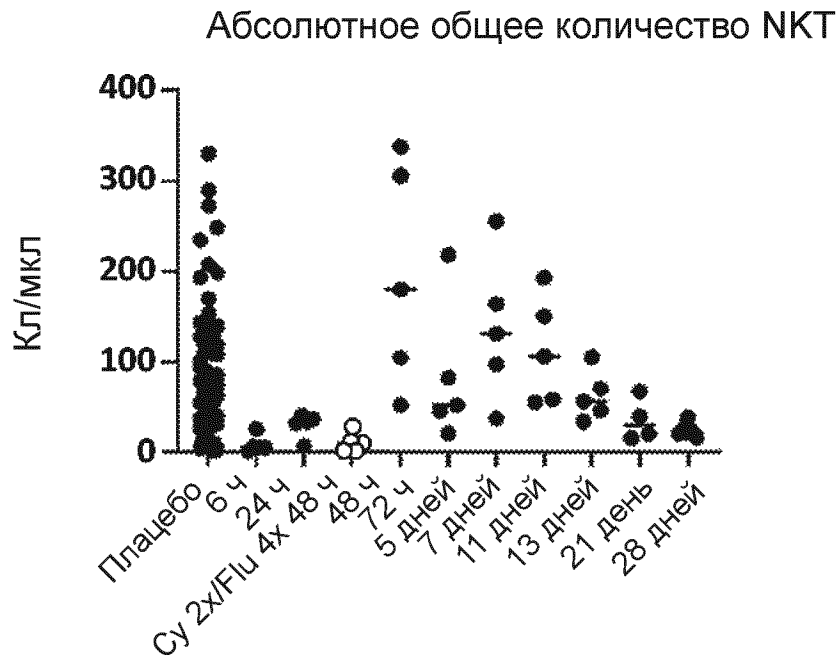
Фиг. 5



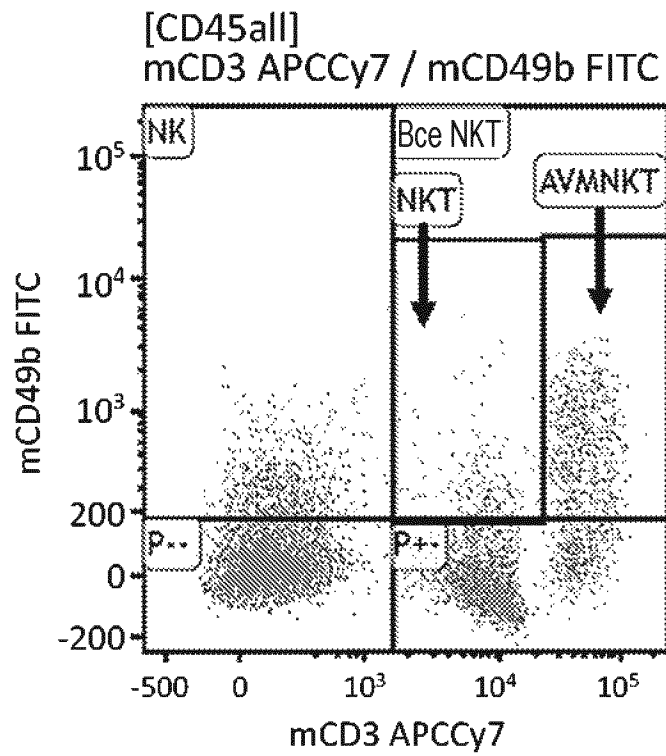
Фиг. 6



Фиг. 7

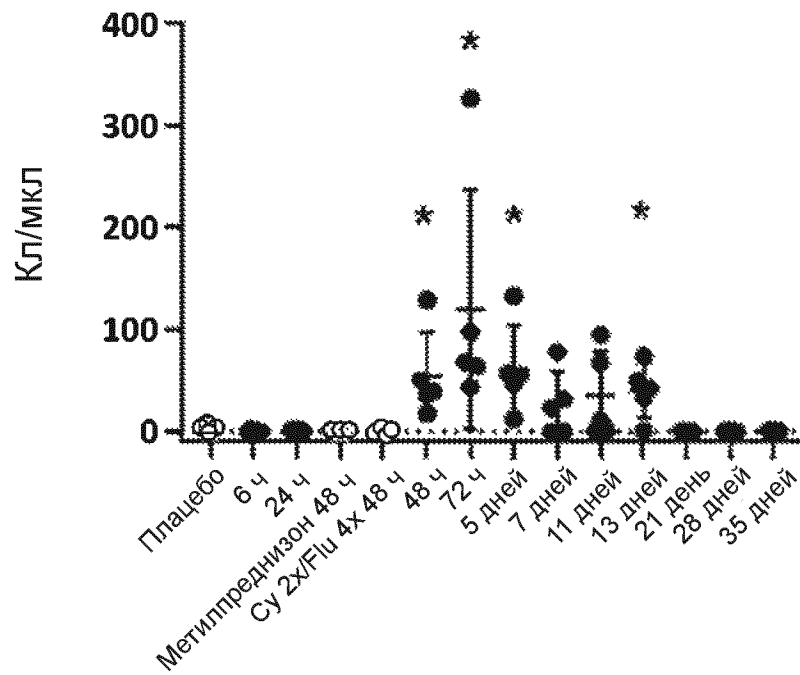


Фиг. 8



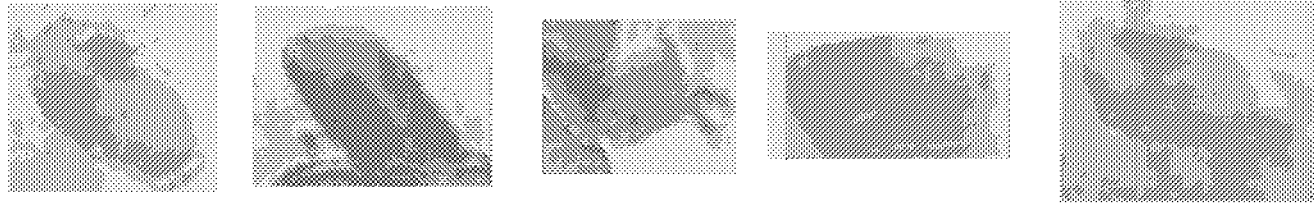
Фиг. 9

Новые экспрессирующие CD3
с очень ярким свечением
естественные киллерные клетки

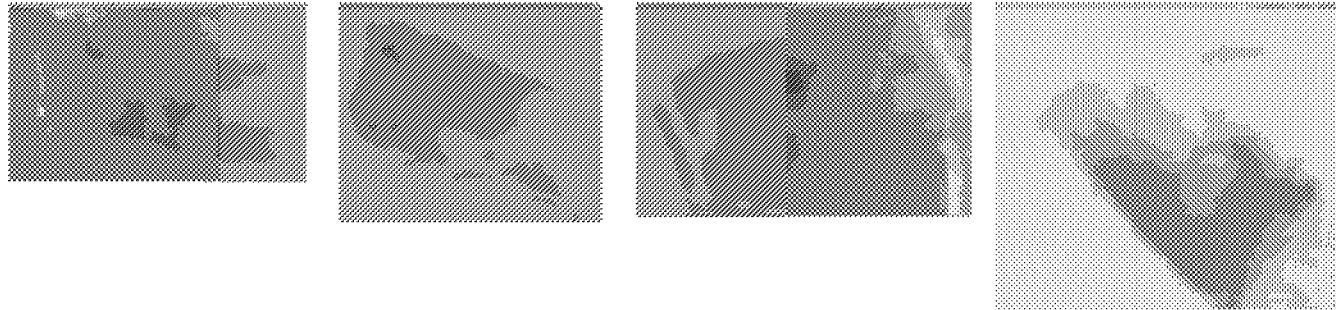


Фиг. 10

Плацебо

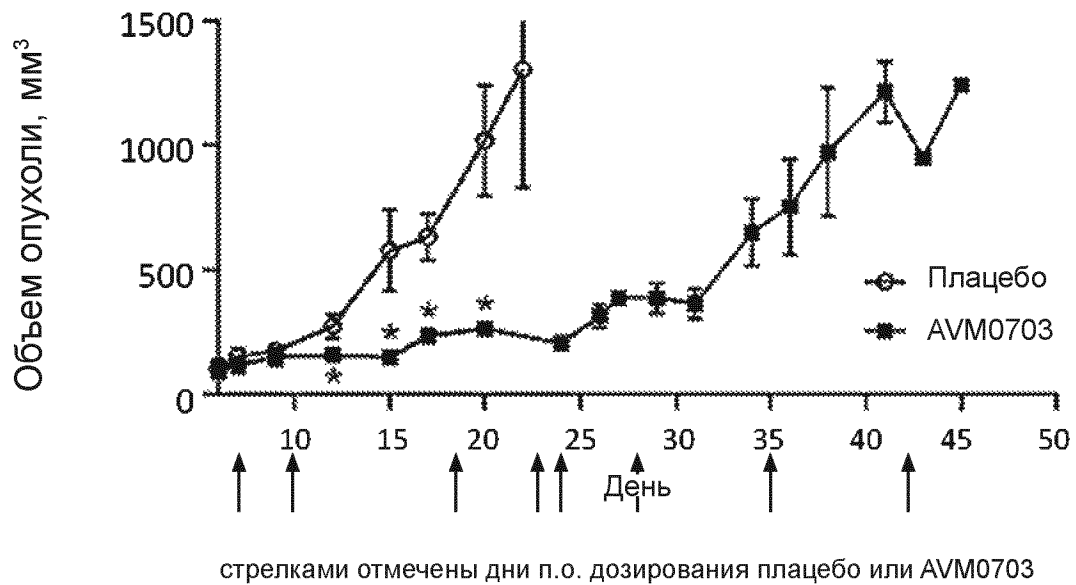


AVM0703

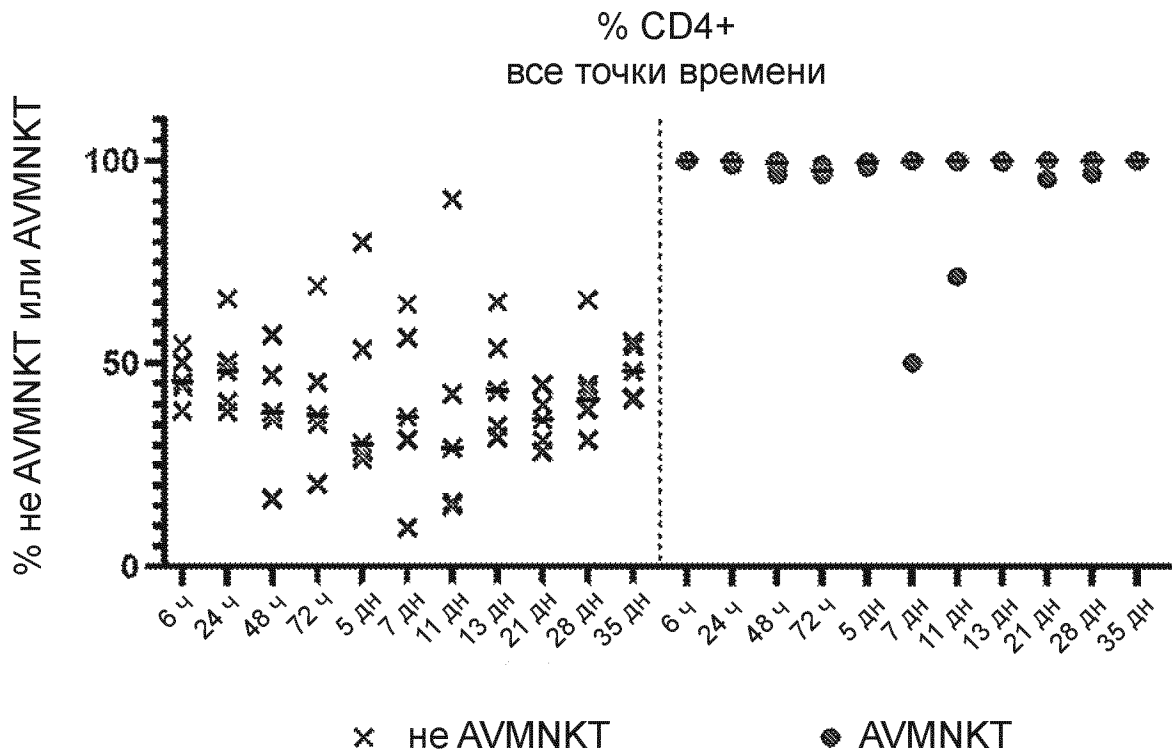


Фиг. 11

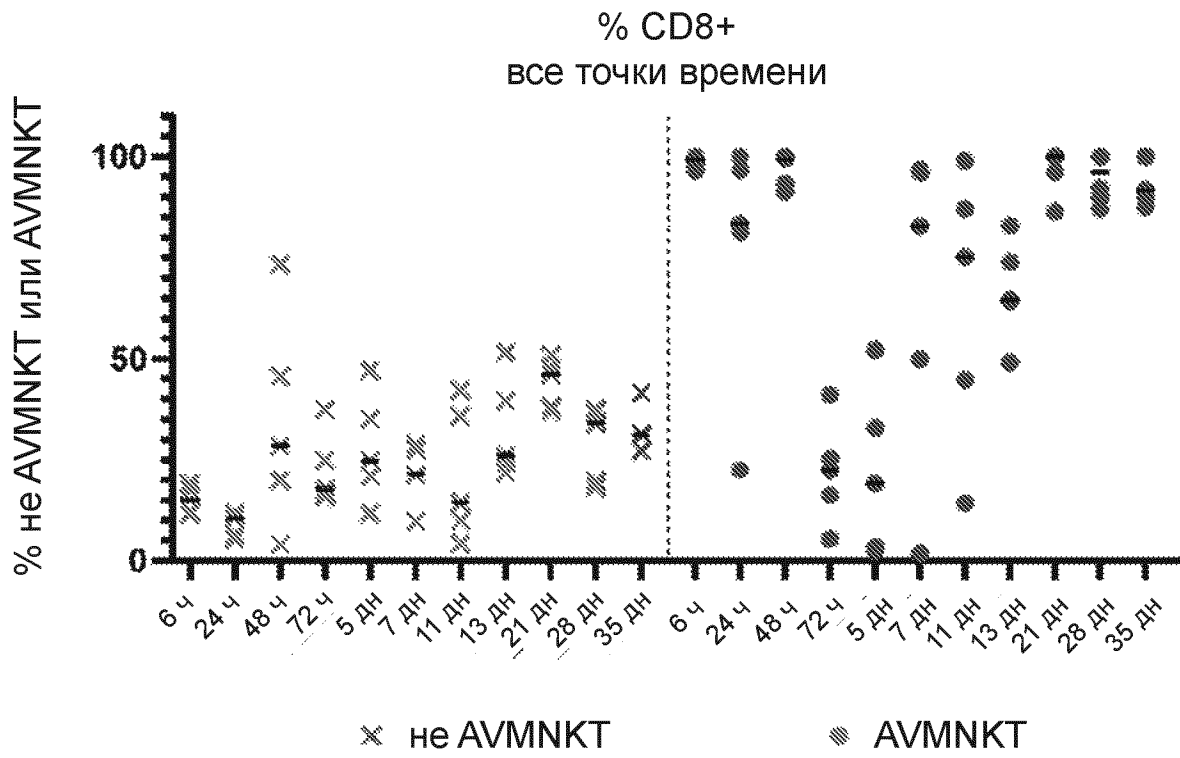
Многократное введение AVM0703 (ЭДЧ 18,06 мг/кг ДФ)
значимо задерживает рост лимфомы A20 у мышей



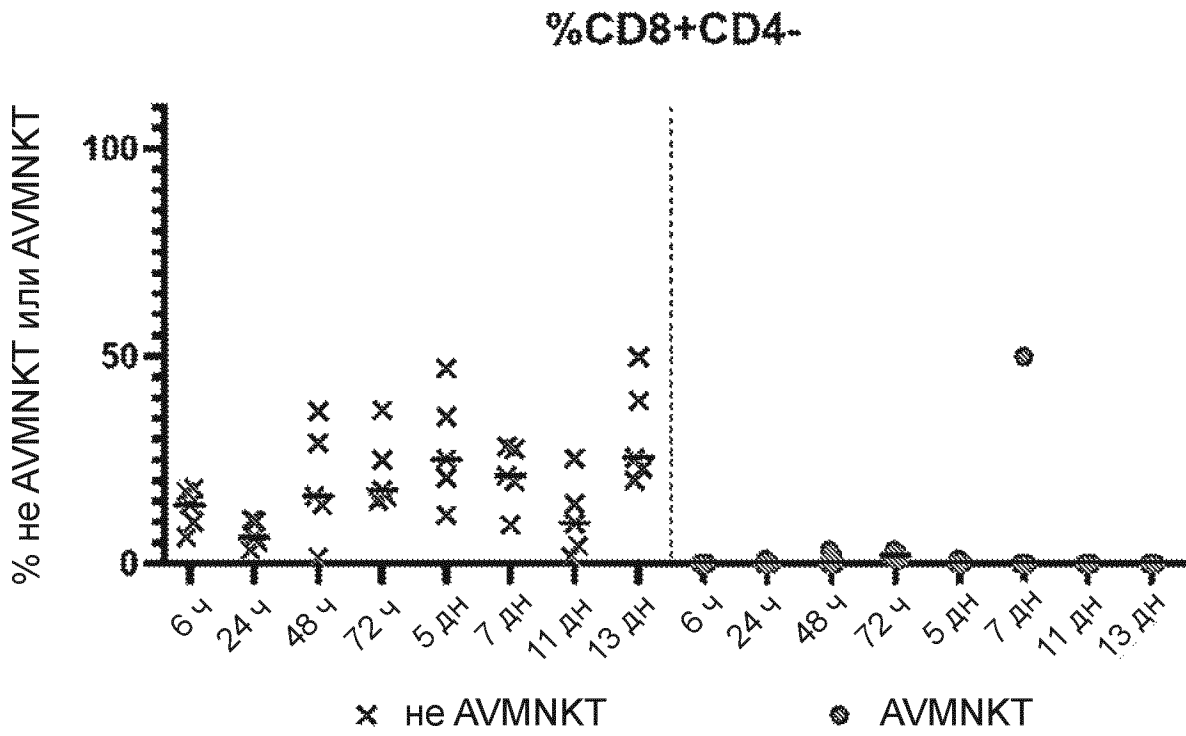
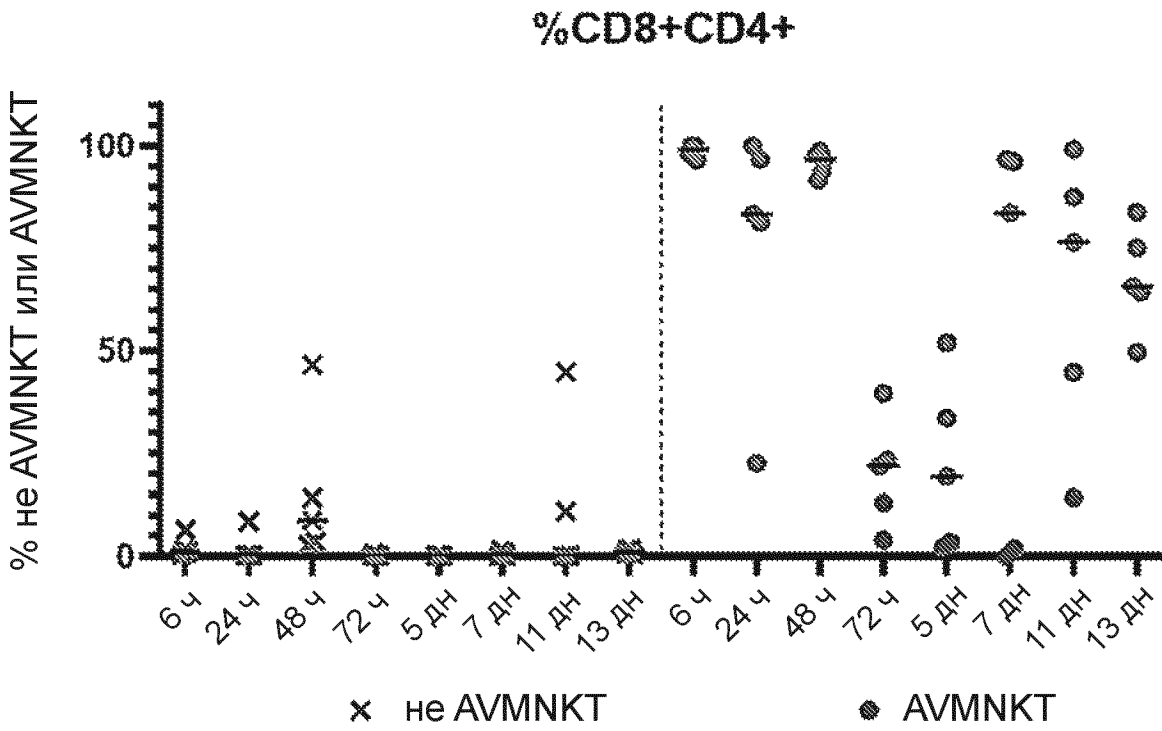
Фиг. 12



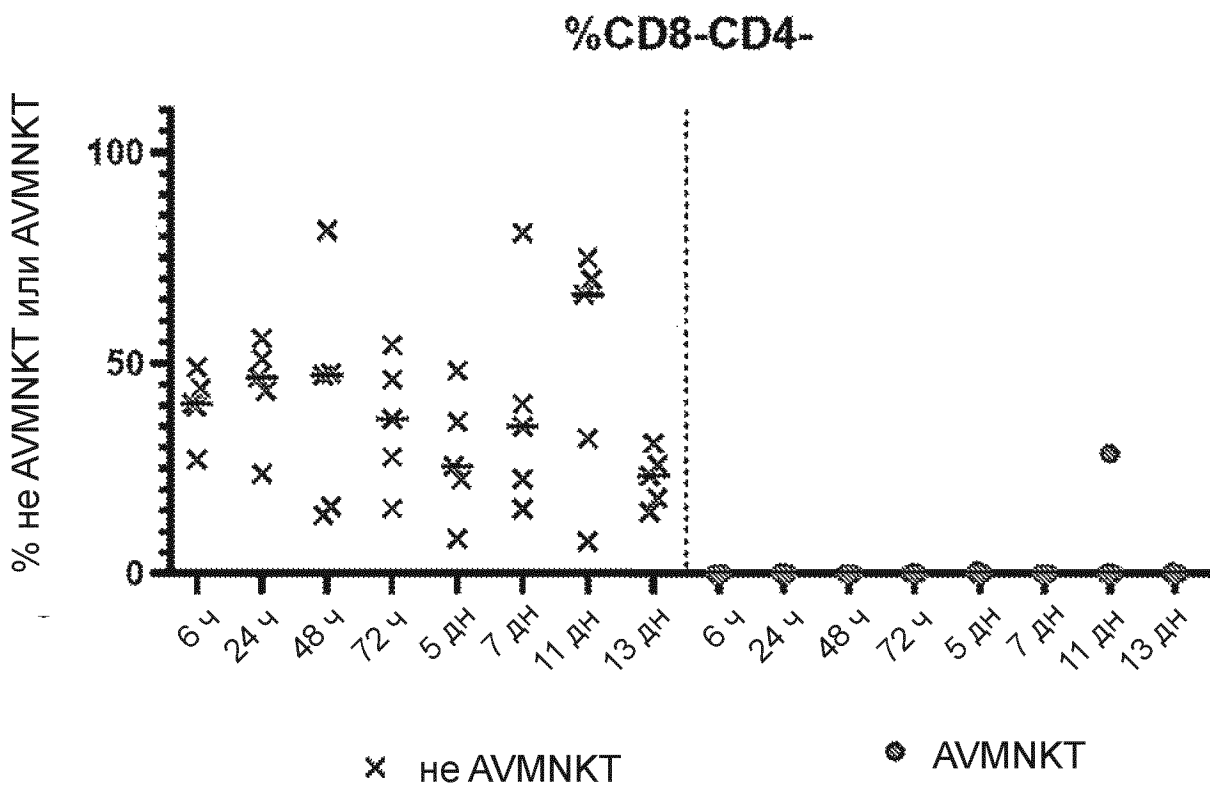
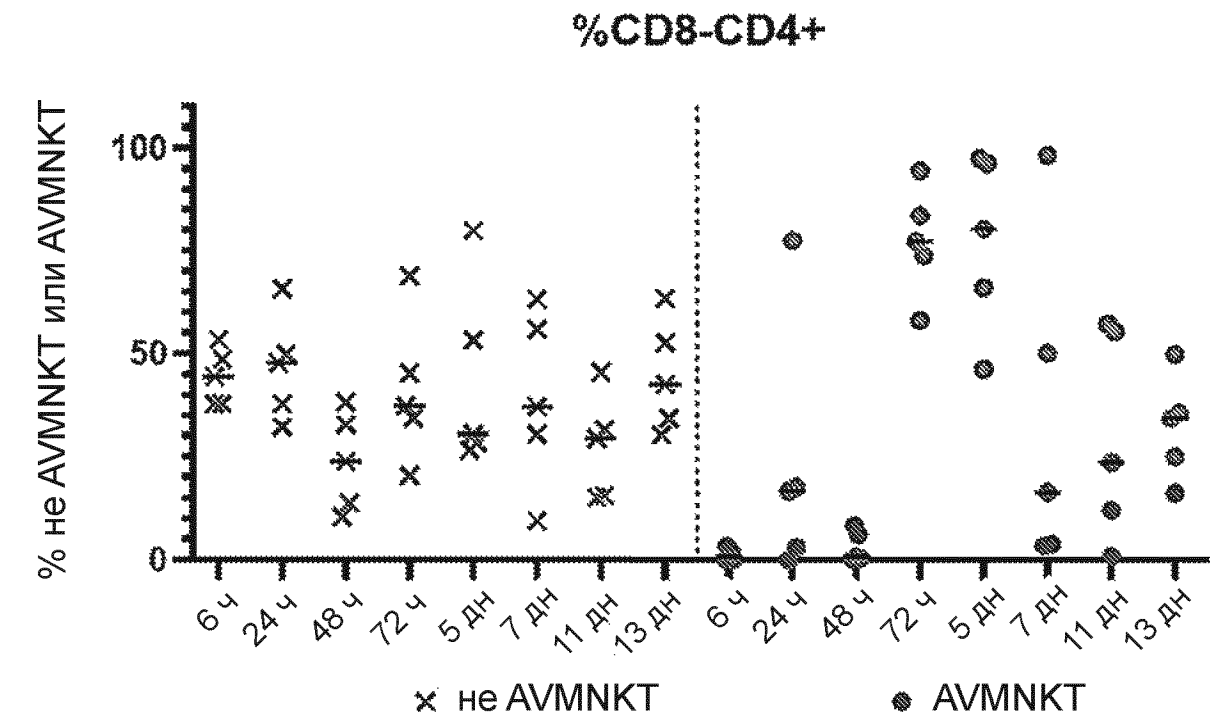
Фиг. 13



Фиг. 14

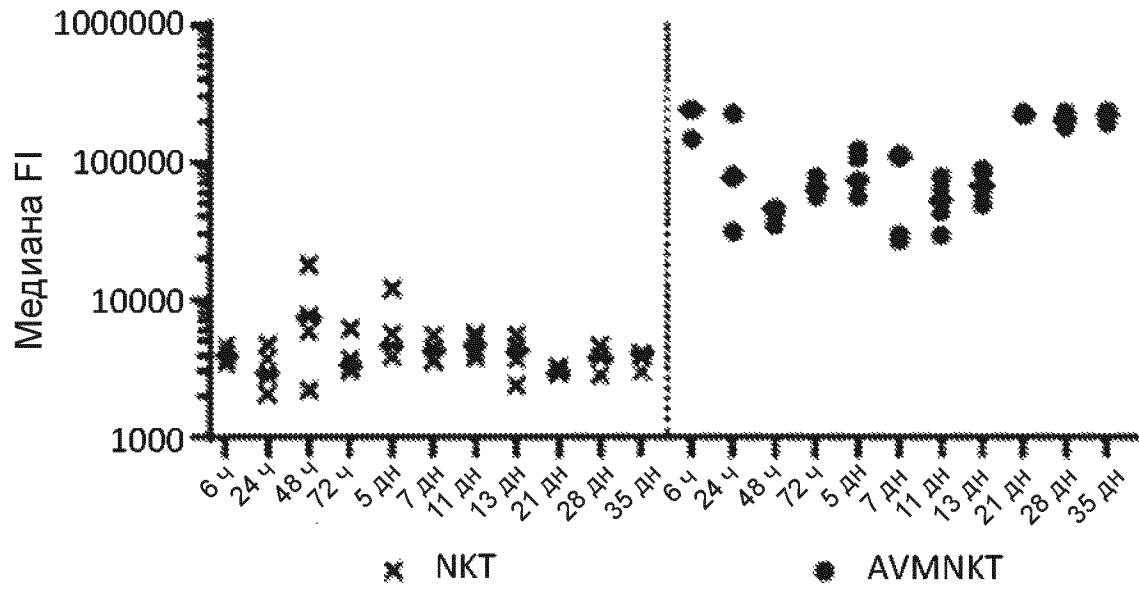


Фиг. 14 (продолжение)

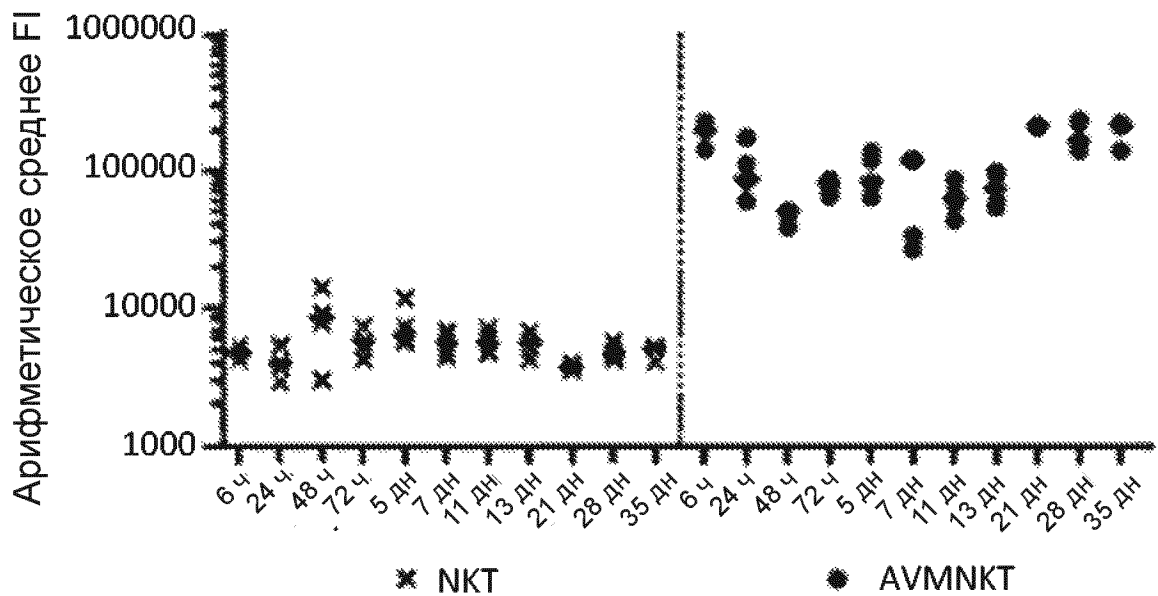


Фиг. 15

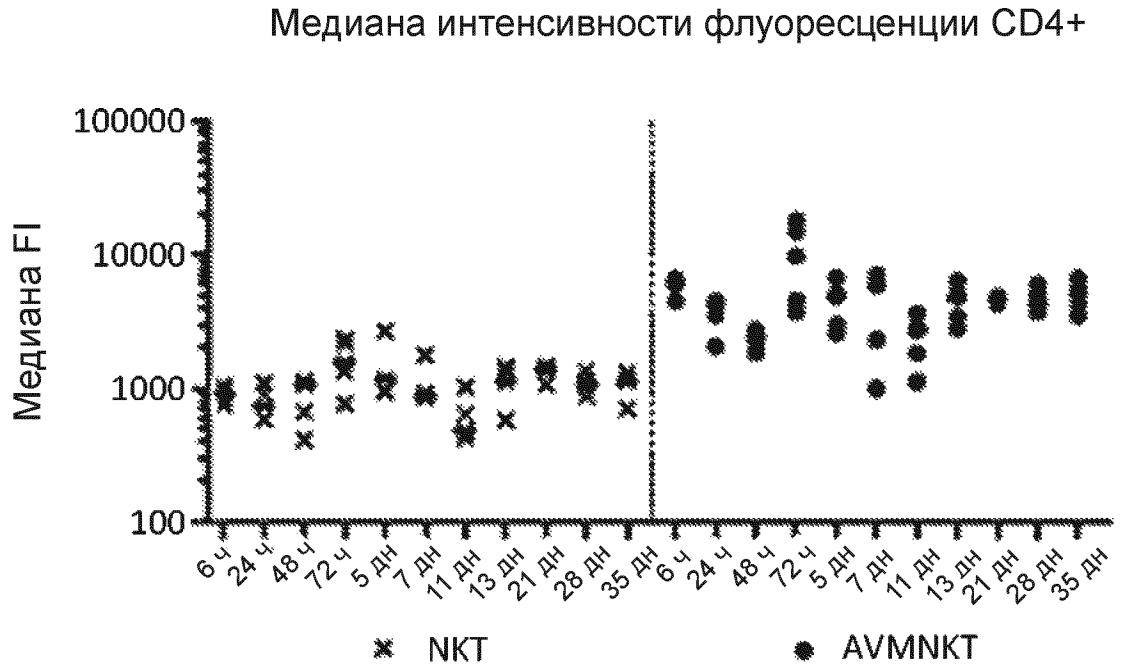
Медиана интенсивности флуоресценции CD3+



Арифметическое среднее интенсивности флуоресценции CD3+

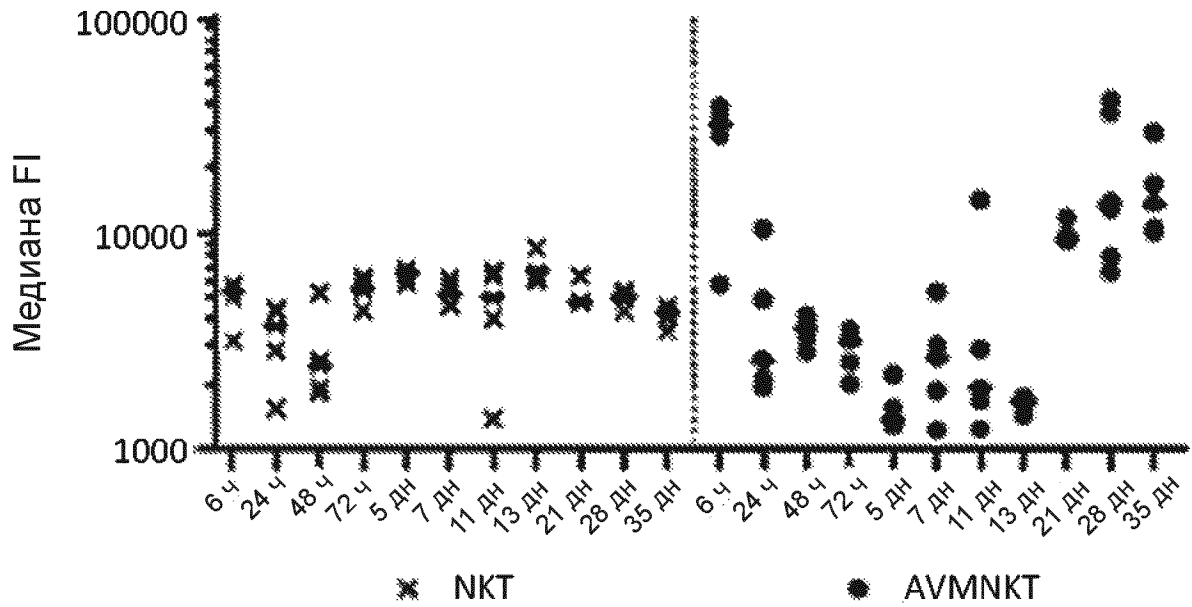


Фиг. 16

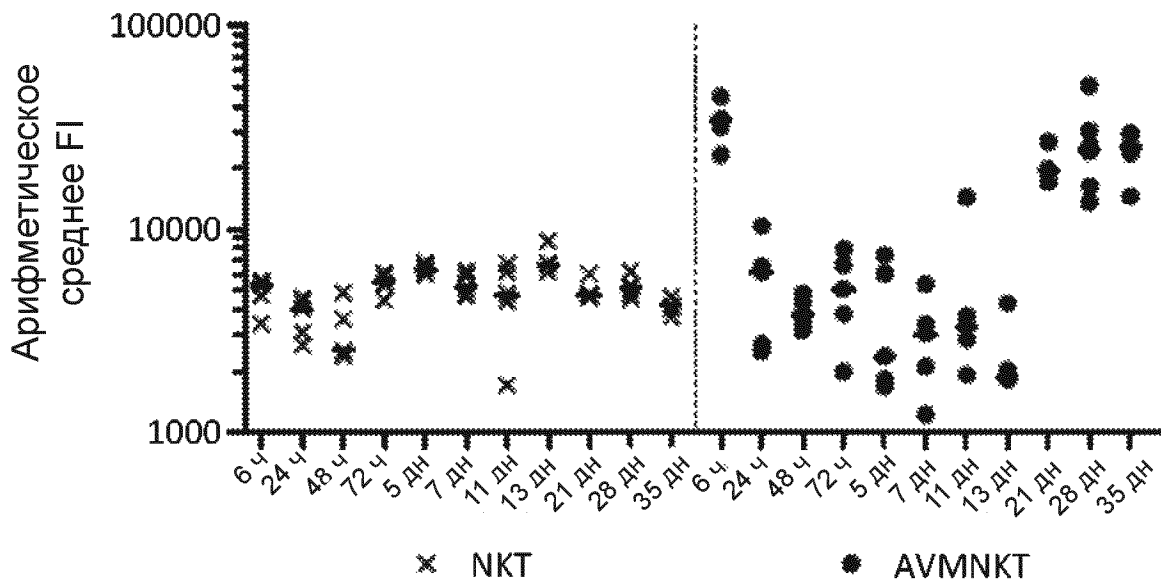


Фиг. 17

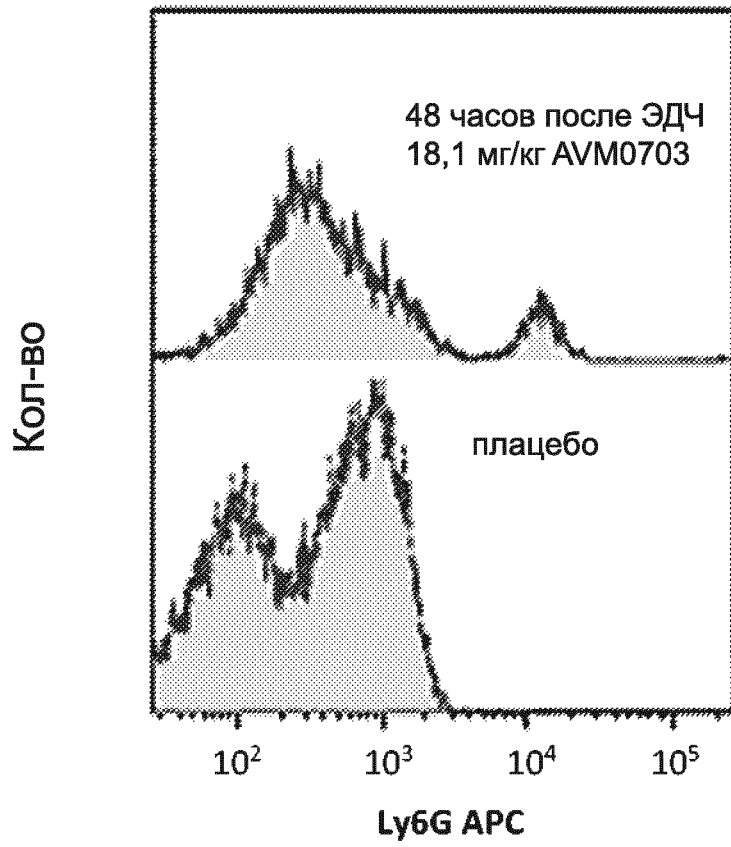
Медиана интенсивности флуоресценции CD8+



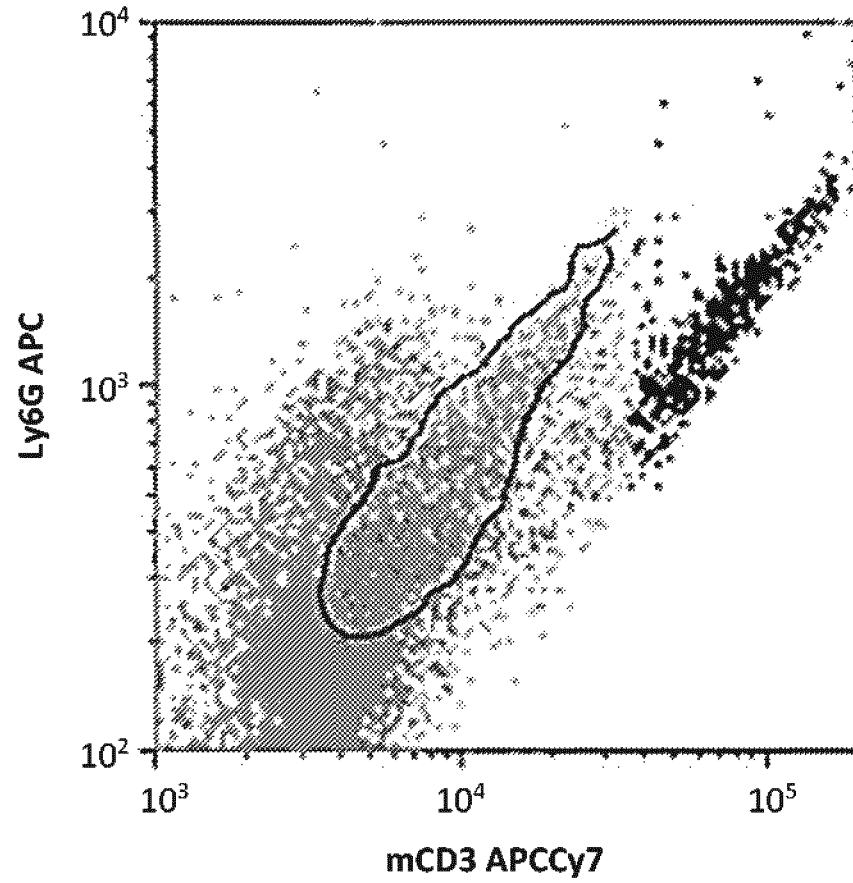
Арифметическое среднее интенсивности флуоресценции CD8+



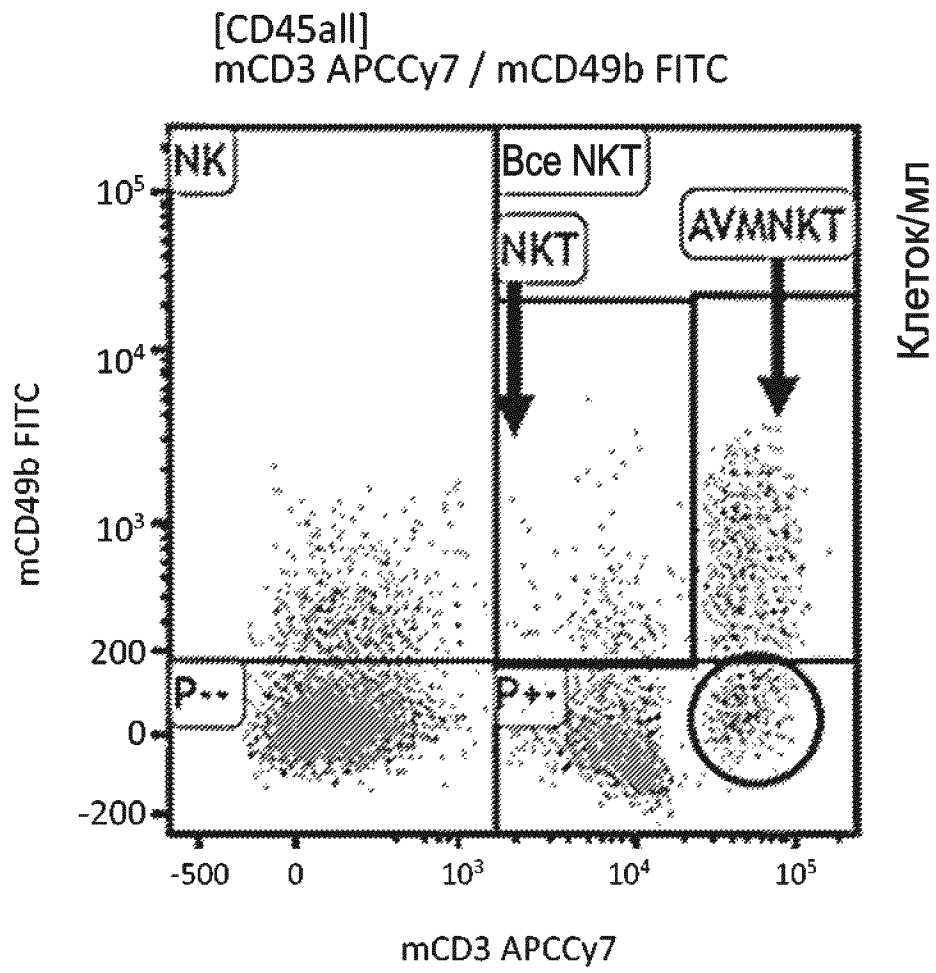
Фиг. 18



Фиг. 19

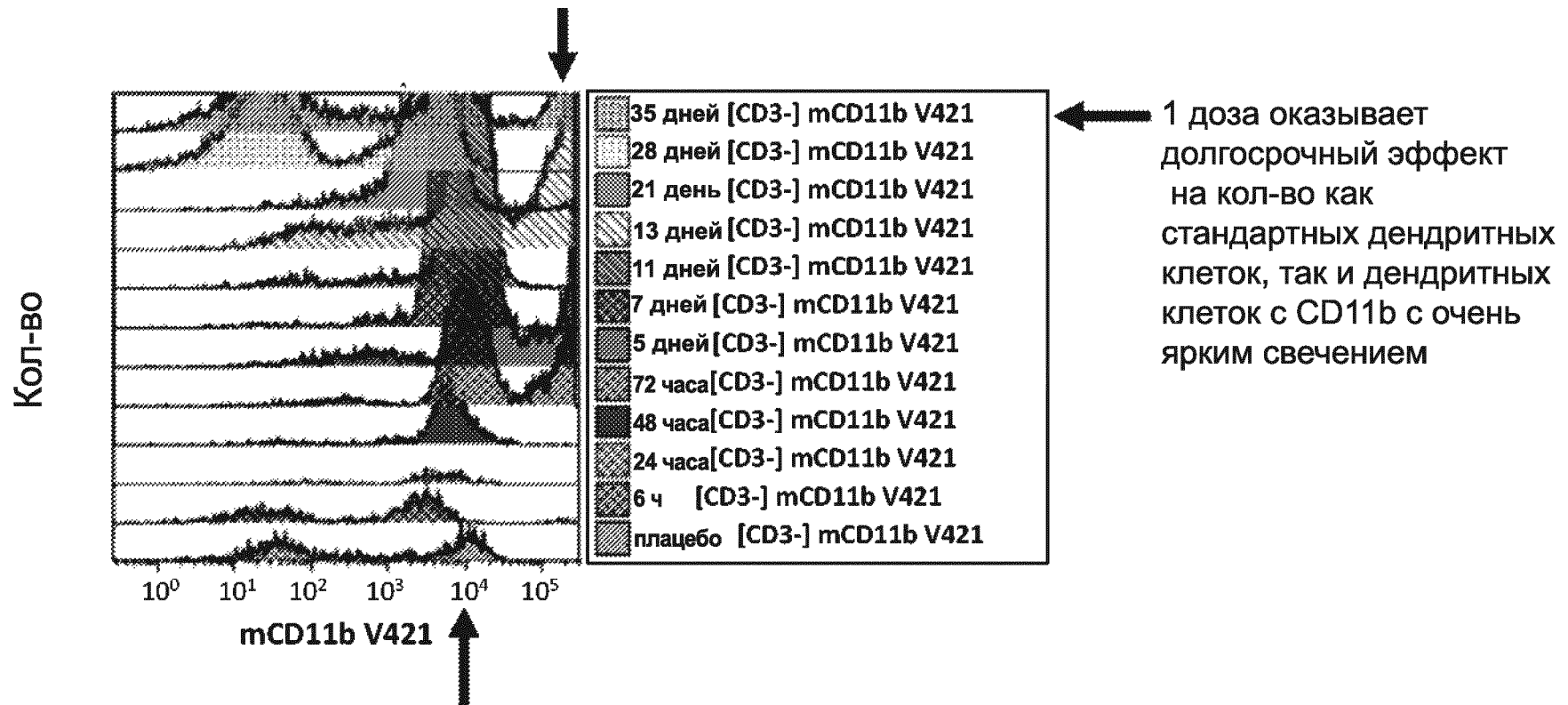


Фиг. 20



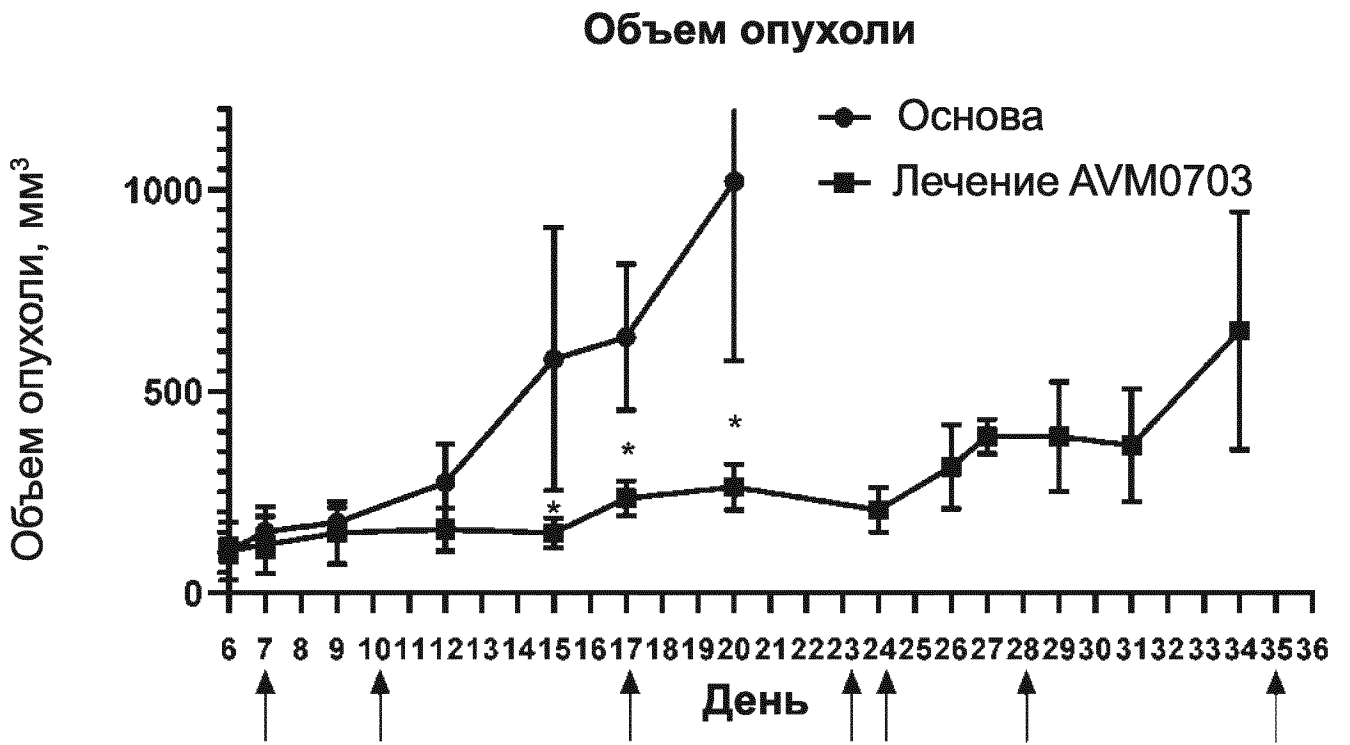
Фиг. 21

Дендритные AVM-клетки
с CD11b с очень ярким свечением

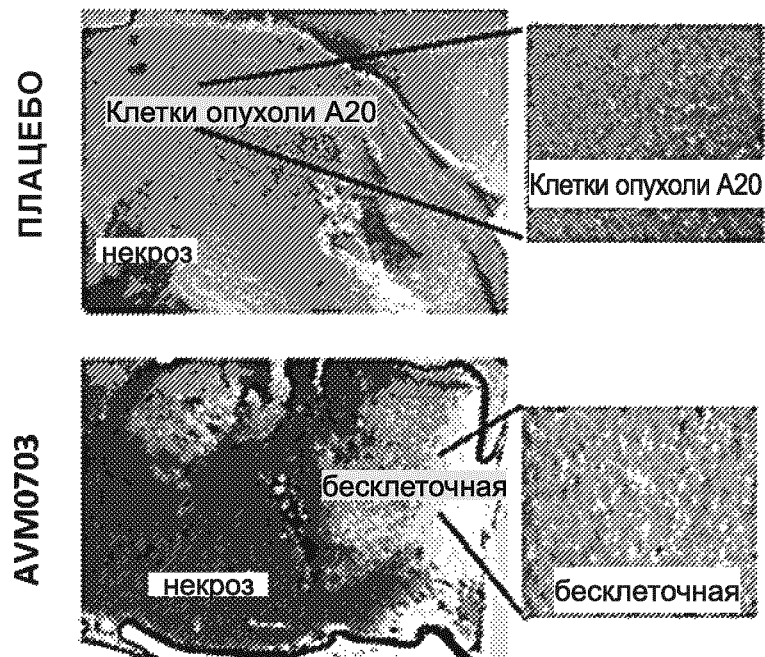


Высокие дозы дексаметазона также увеличивают количества
стандартных дендритных клеток CD11b+

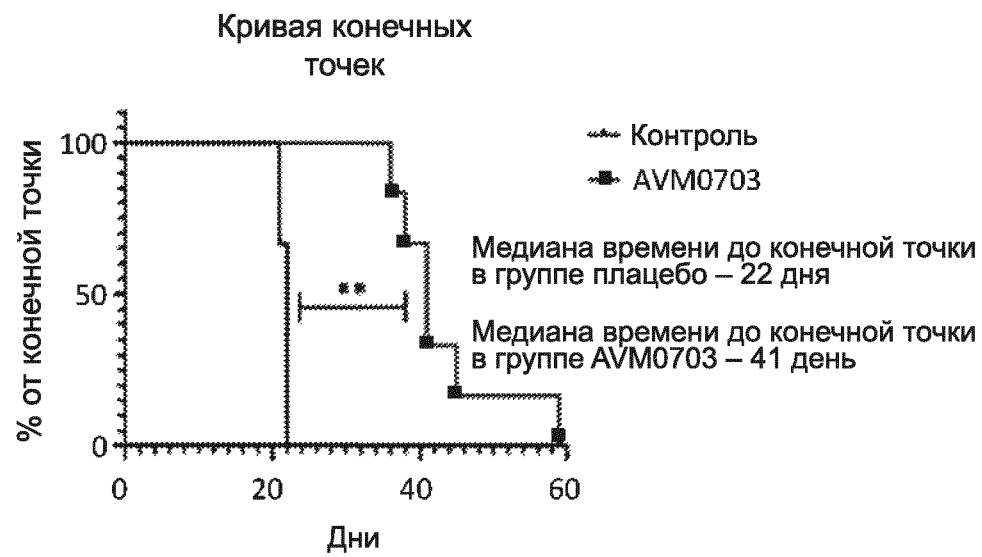
Фиг. 22



Фиг. 23А

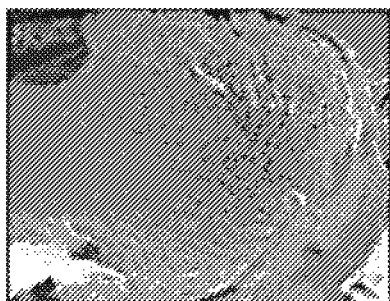
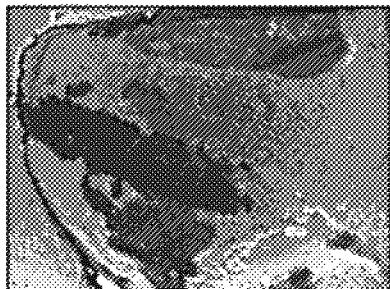


Фиг. 23В



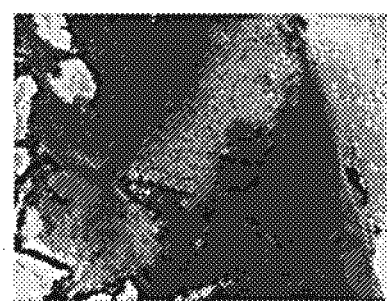
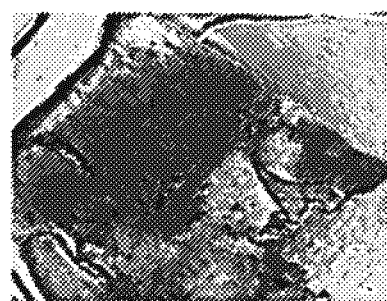
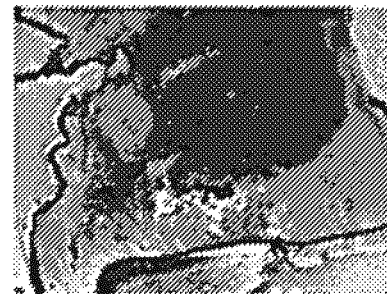
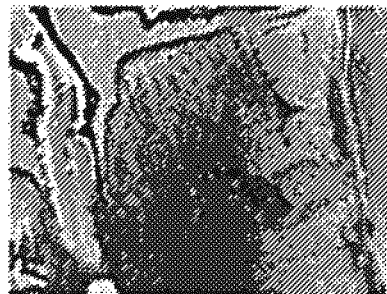
Фиг. 23С

ПЛАЦЕБО

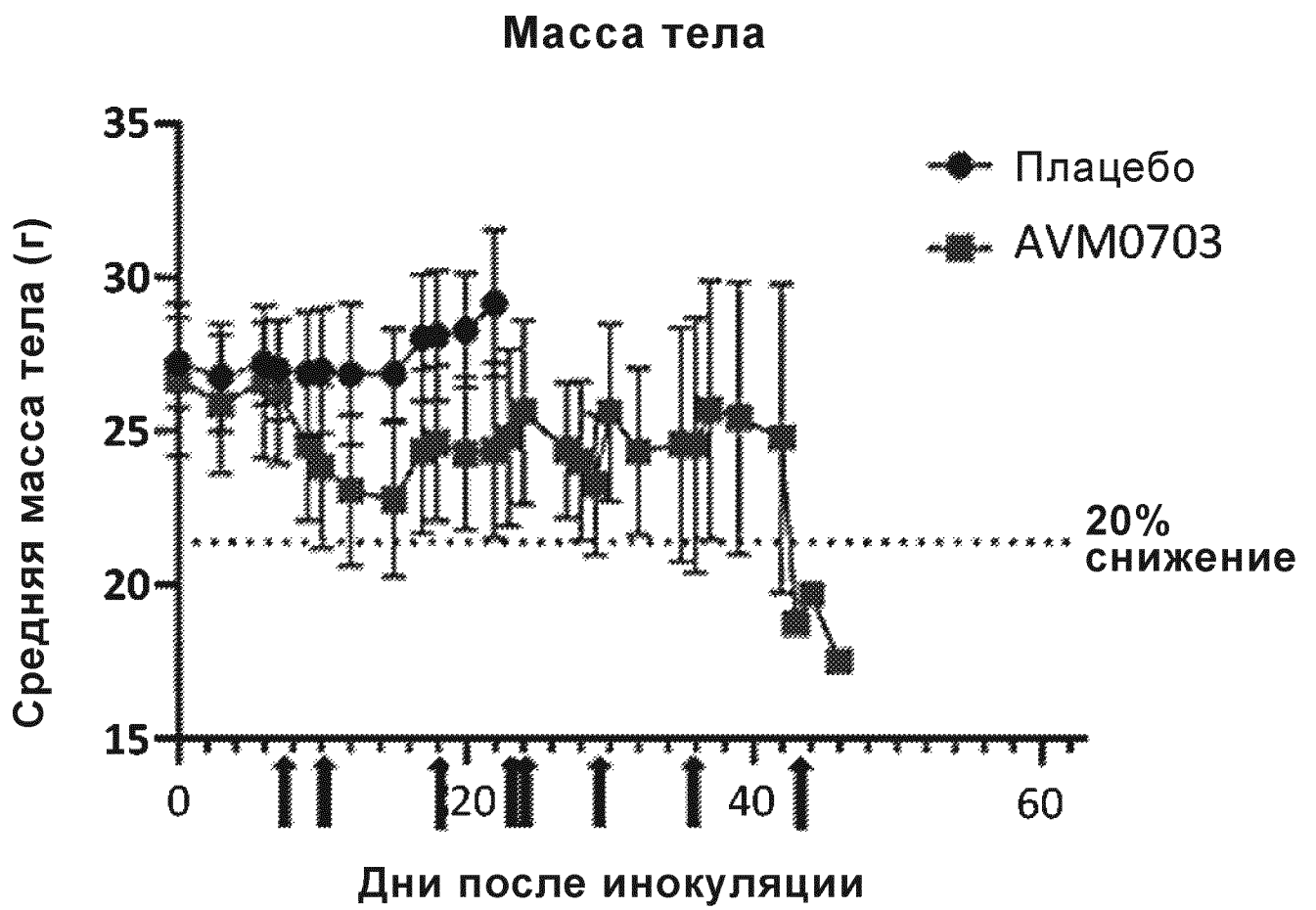


Фиг. 23D

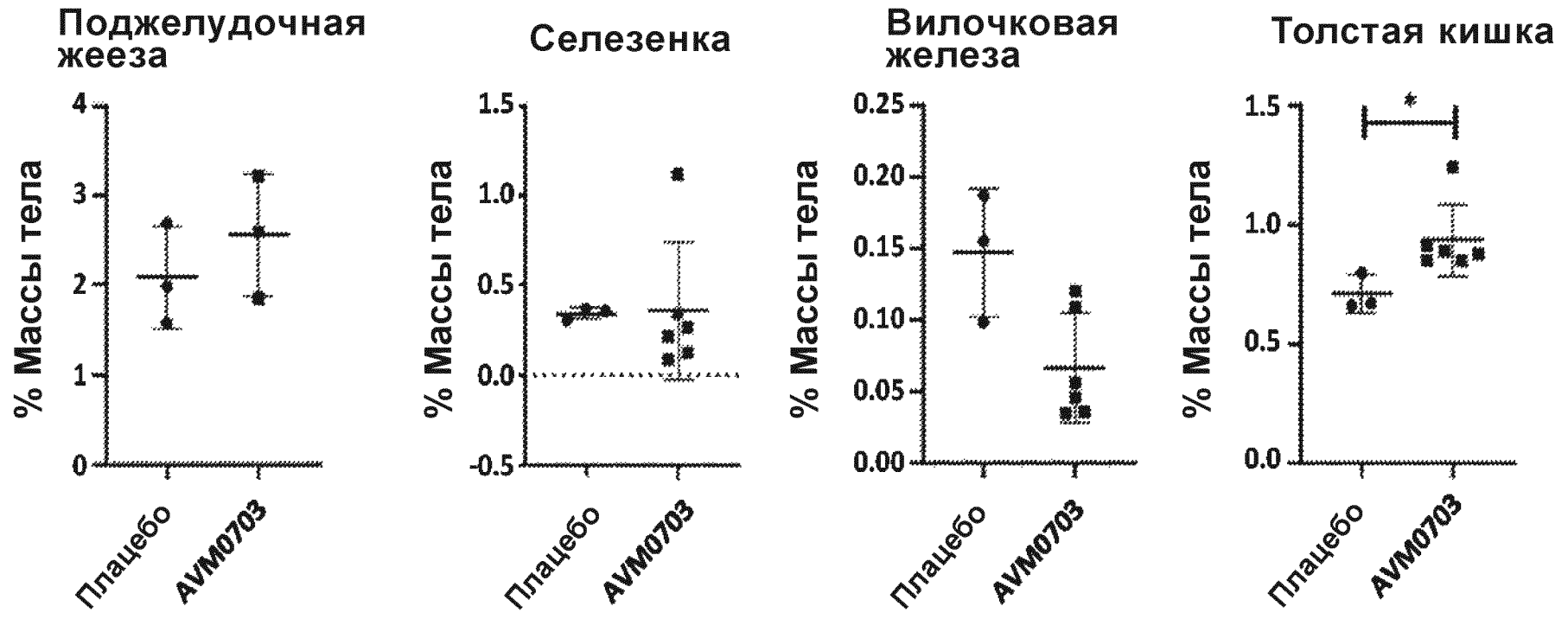
AVM0703



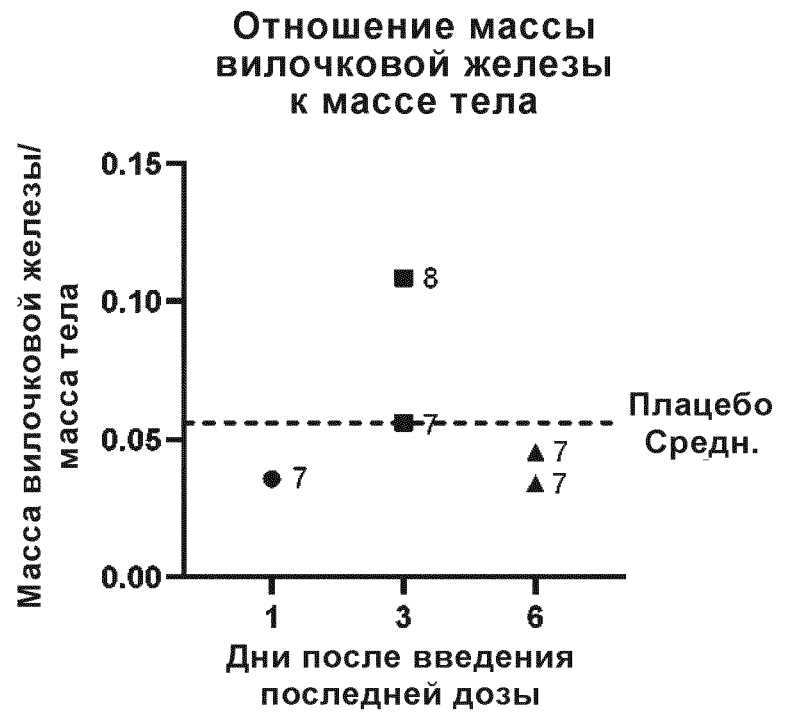
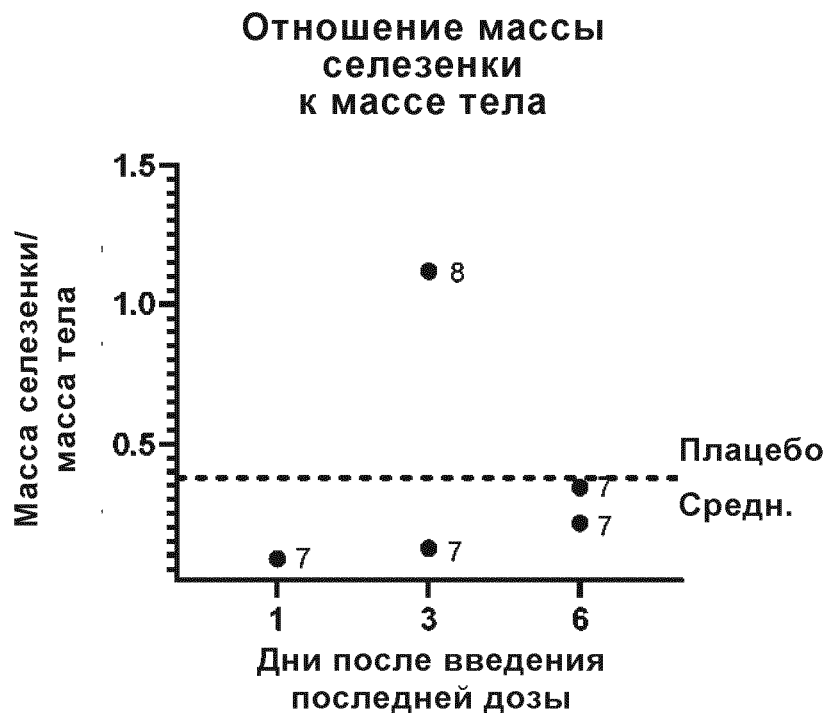
Фиг. 24



Фиг. 25



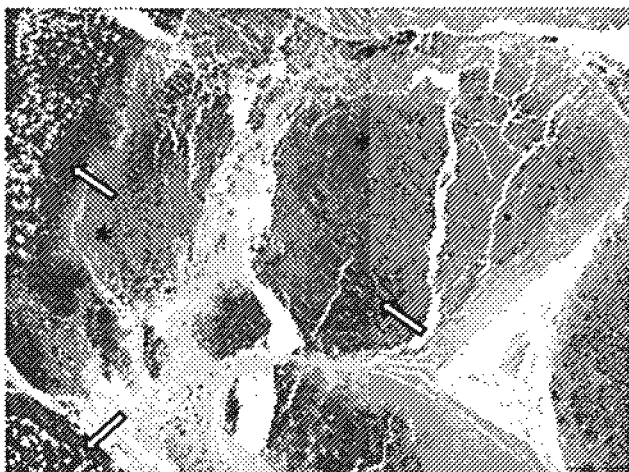
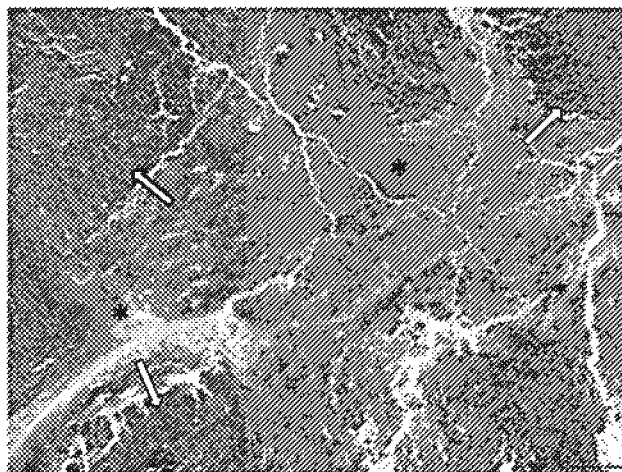
Фиг. 26



Φυγ. 27A



Φυγ. 27B

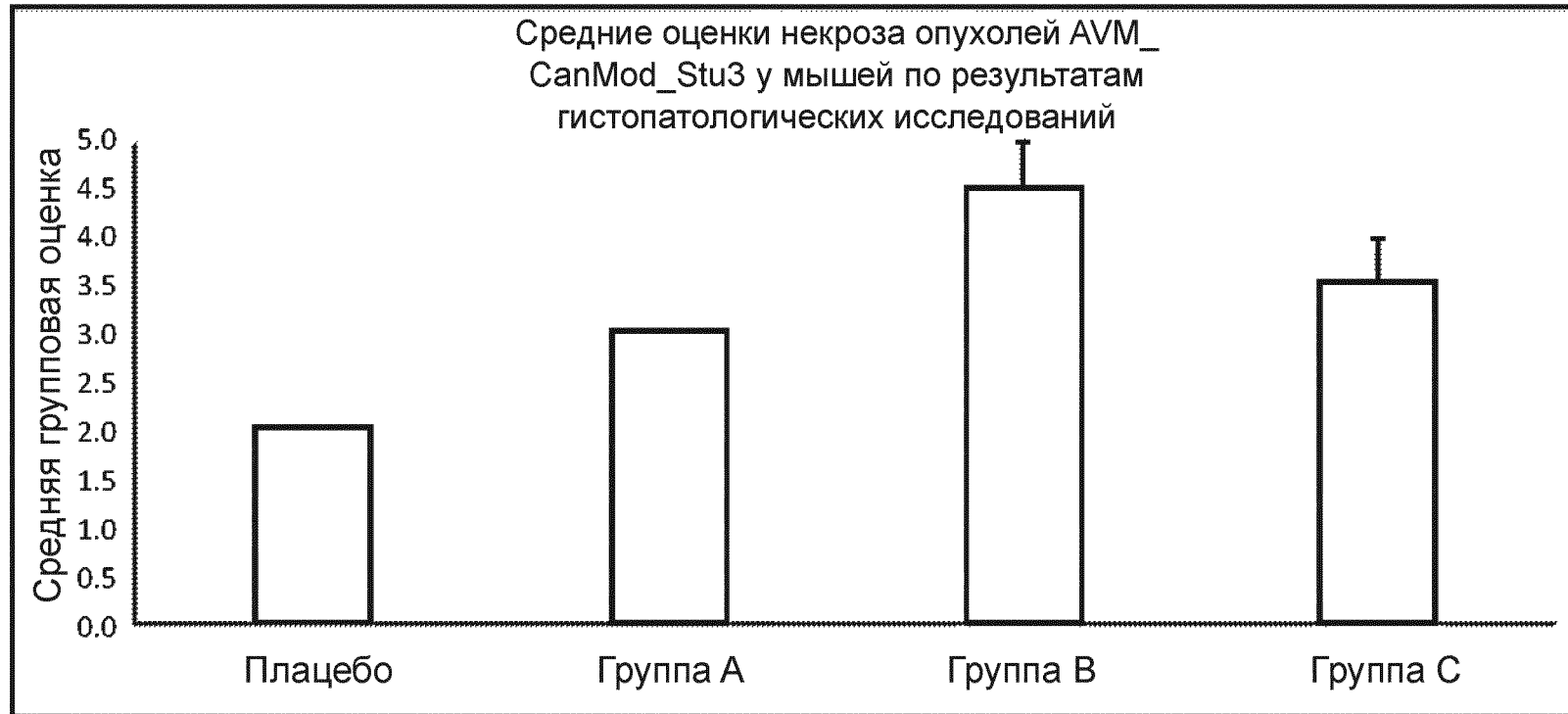


Φυγ. 27C

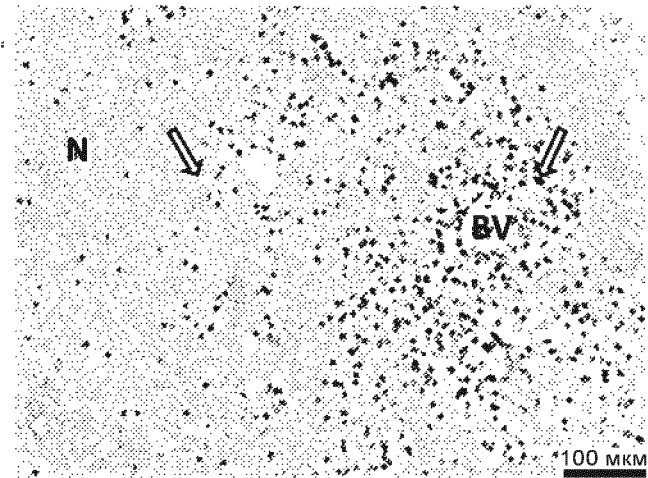
Φυγ. 27D



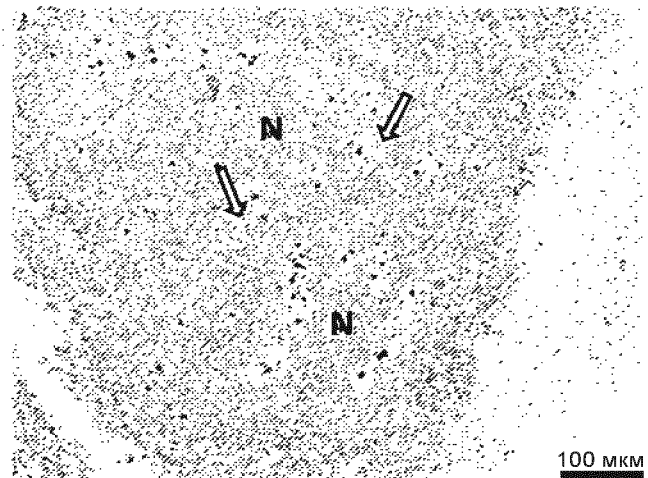
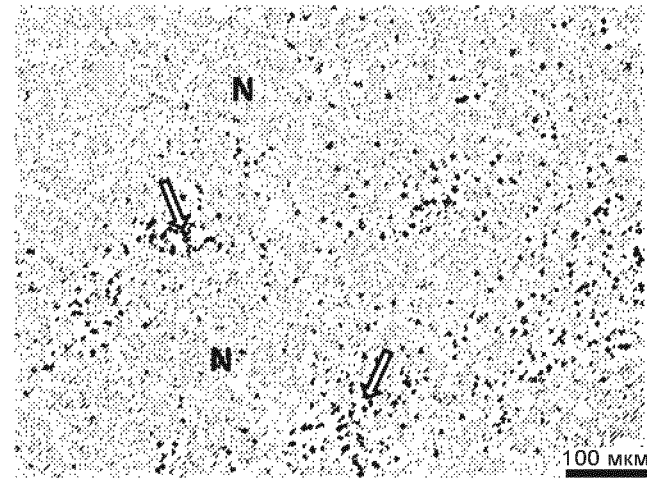
Фиг. 27E



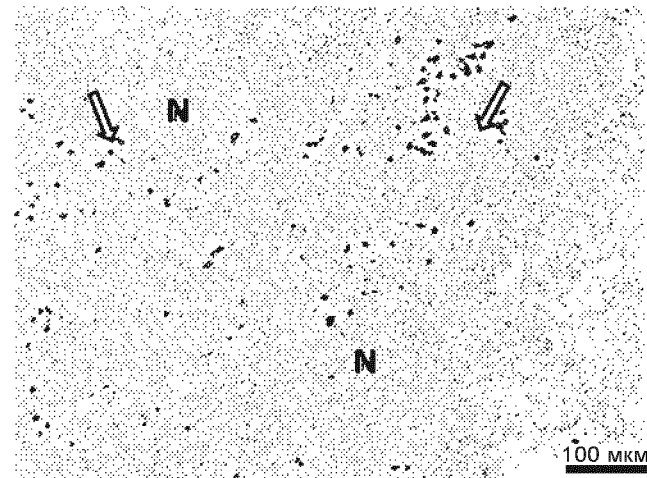
1 **Φυγ. 28A**



Φυγ. 28B

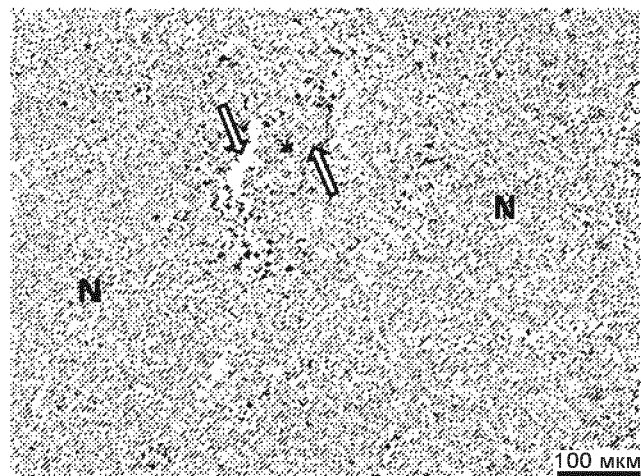


┌
Φυγ. 28C

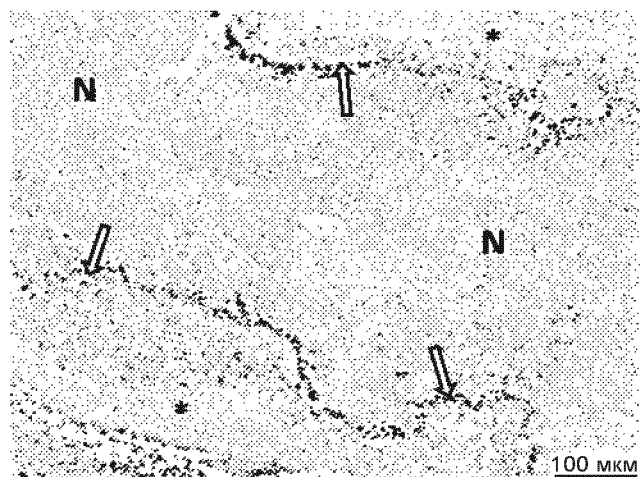
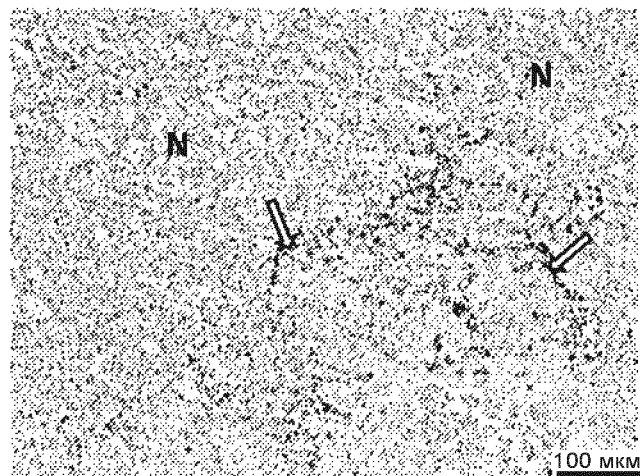


Φυγ. 28D

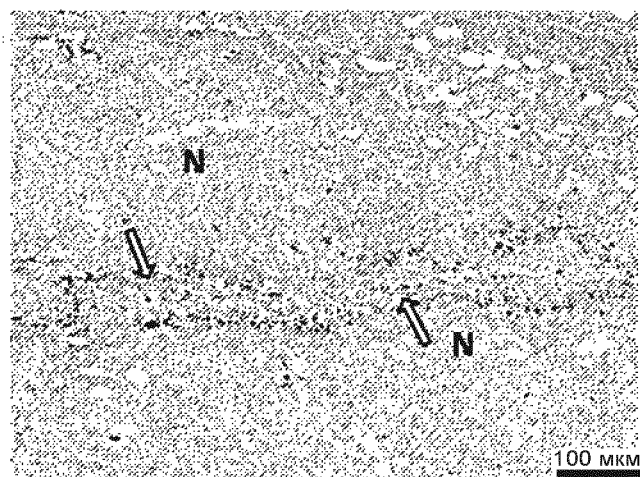
Φιγ. 29A



Φιγ. 29B

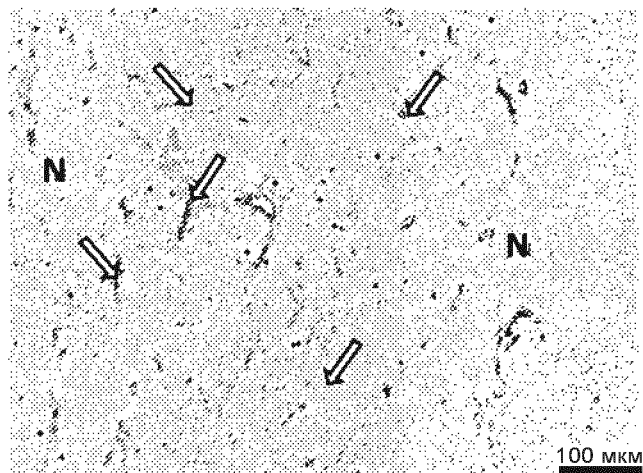


Φιγ. 29C

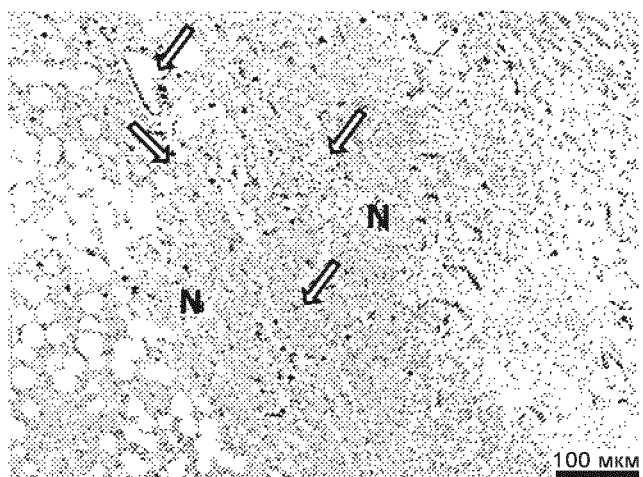
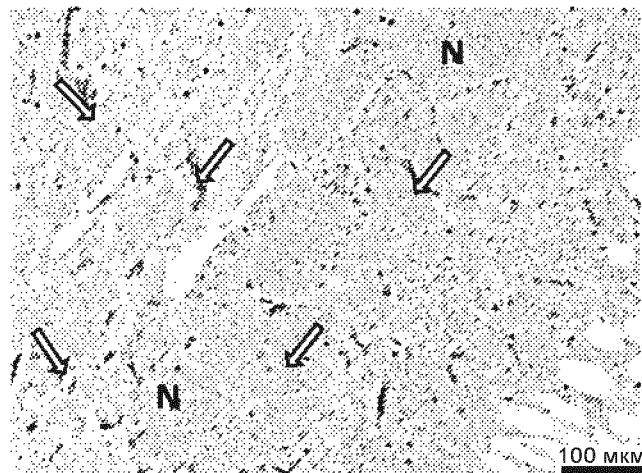


Φιγ. 29D

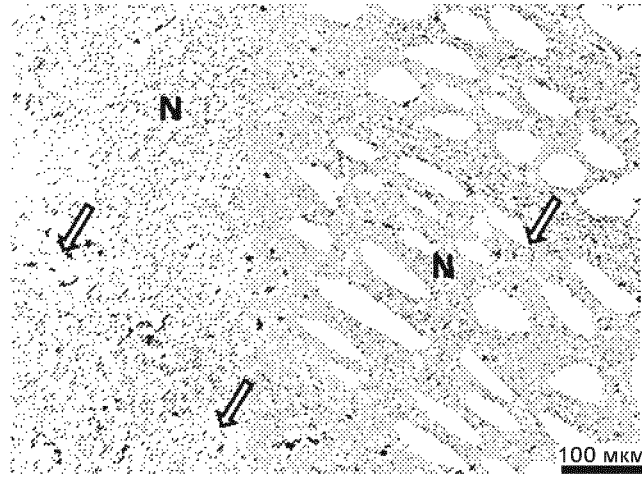
Φιγ. 30Α



Φιγ. 30Β

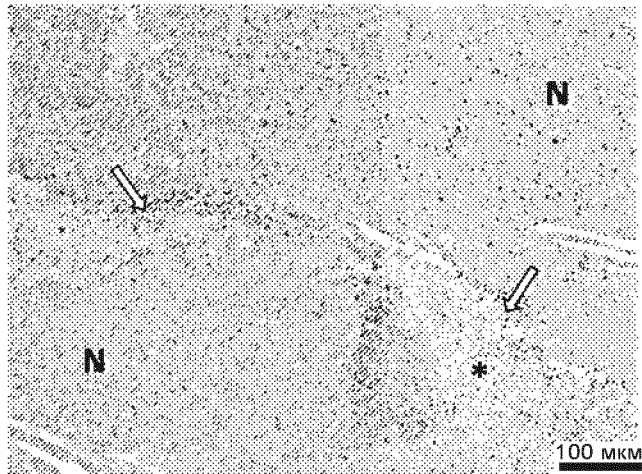


Φιγ. 30C

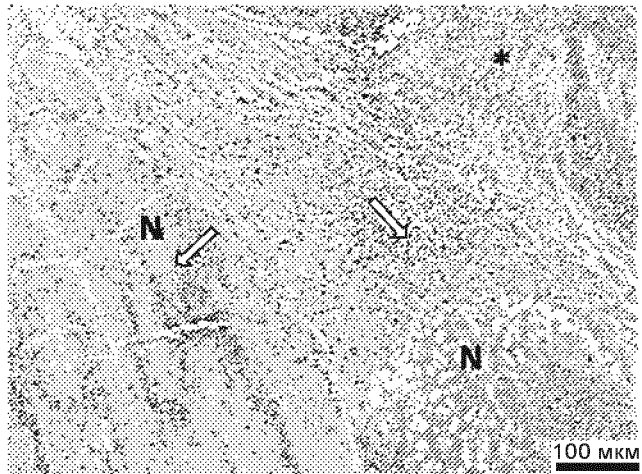
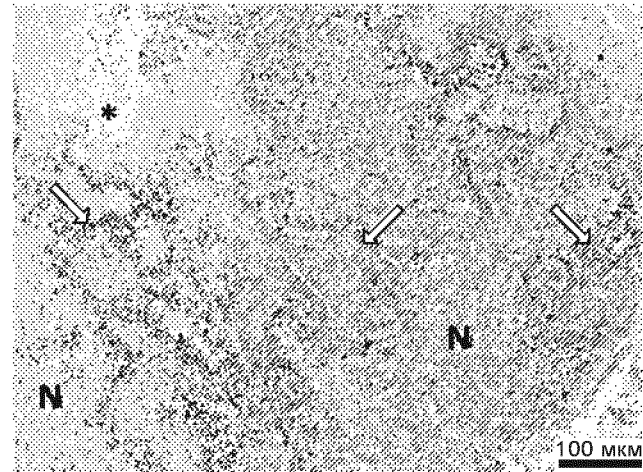


Φιγ. 30D

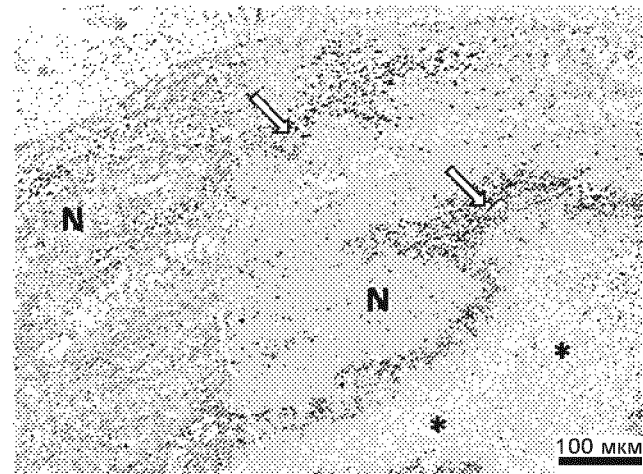
Φυγ. 31A



Φυγ. 31B

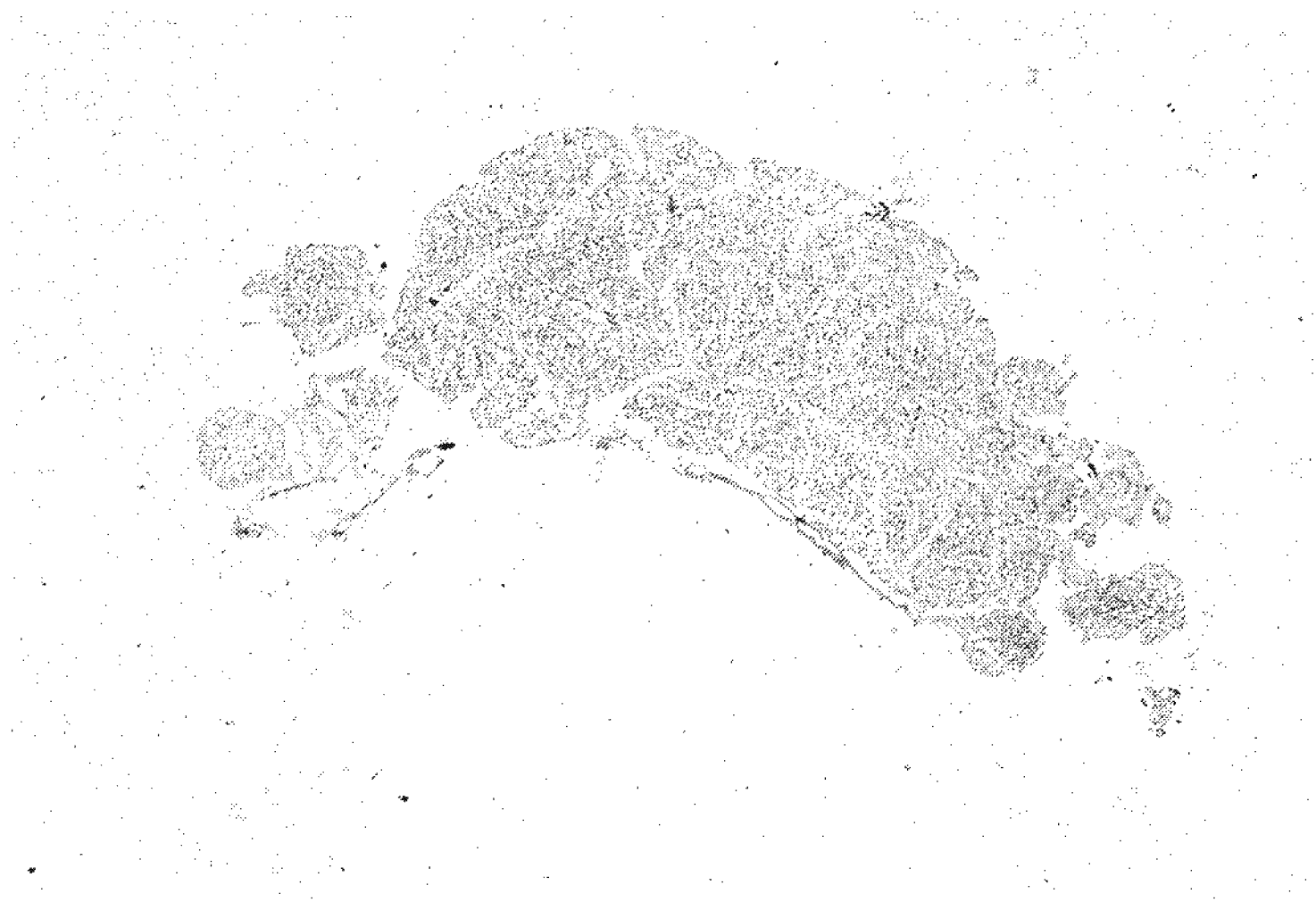


Φυγ. 31C

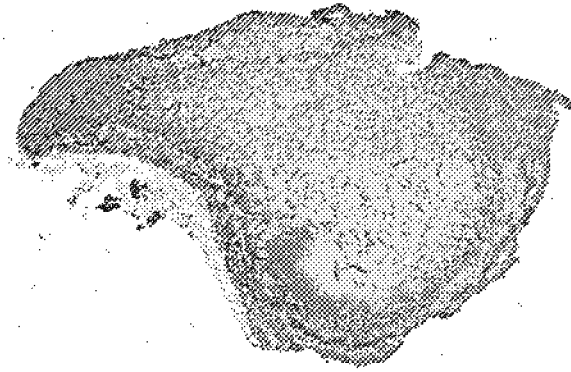


Φυγ. 31D

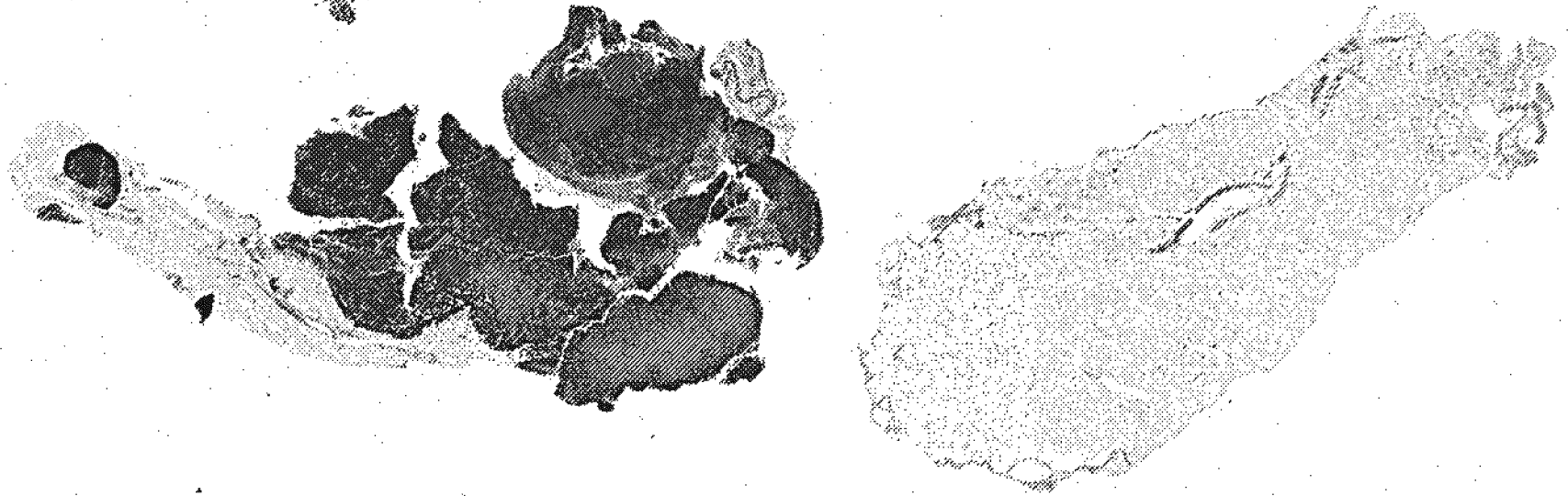
Φιγ. 32



Фиг. 33



Φιγ. 34



Φηρ. 35

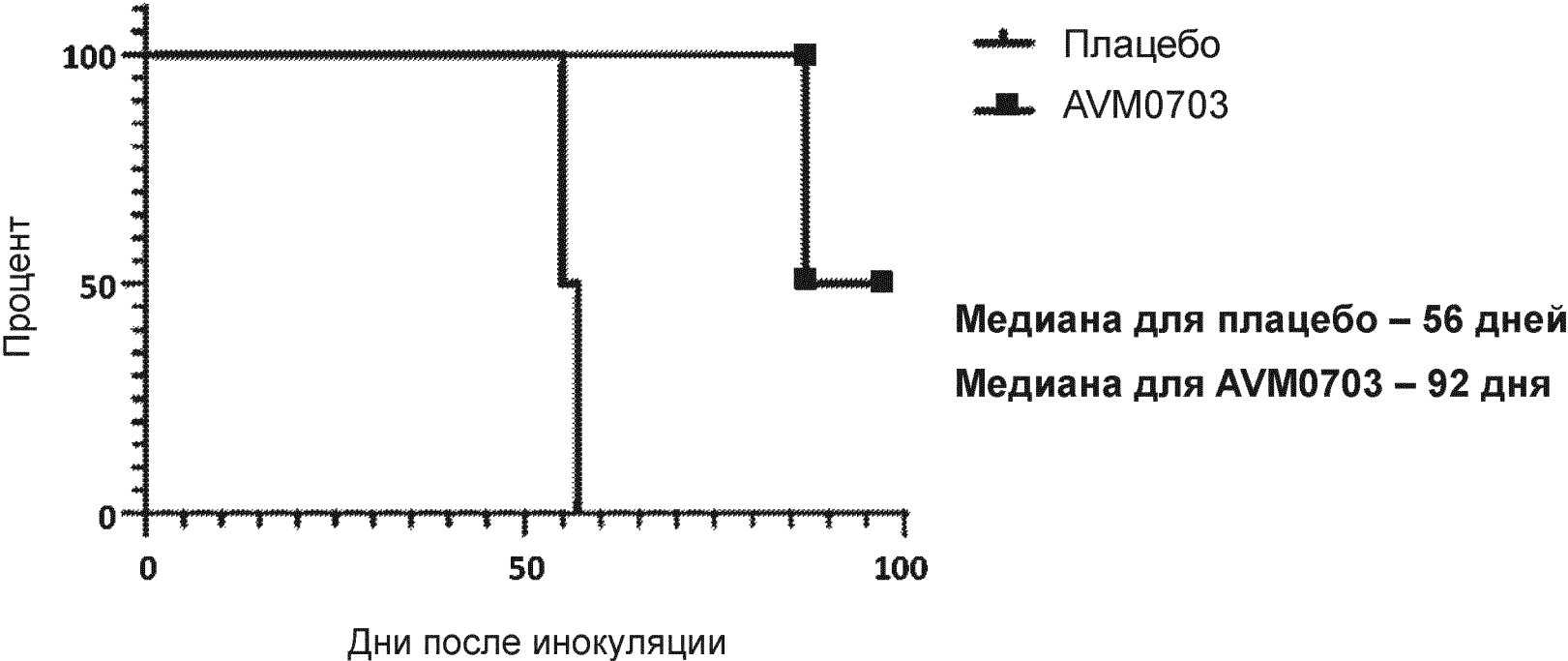


Фиг. 36

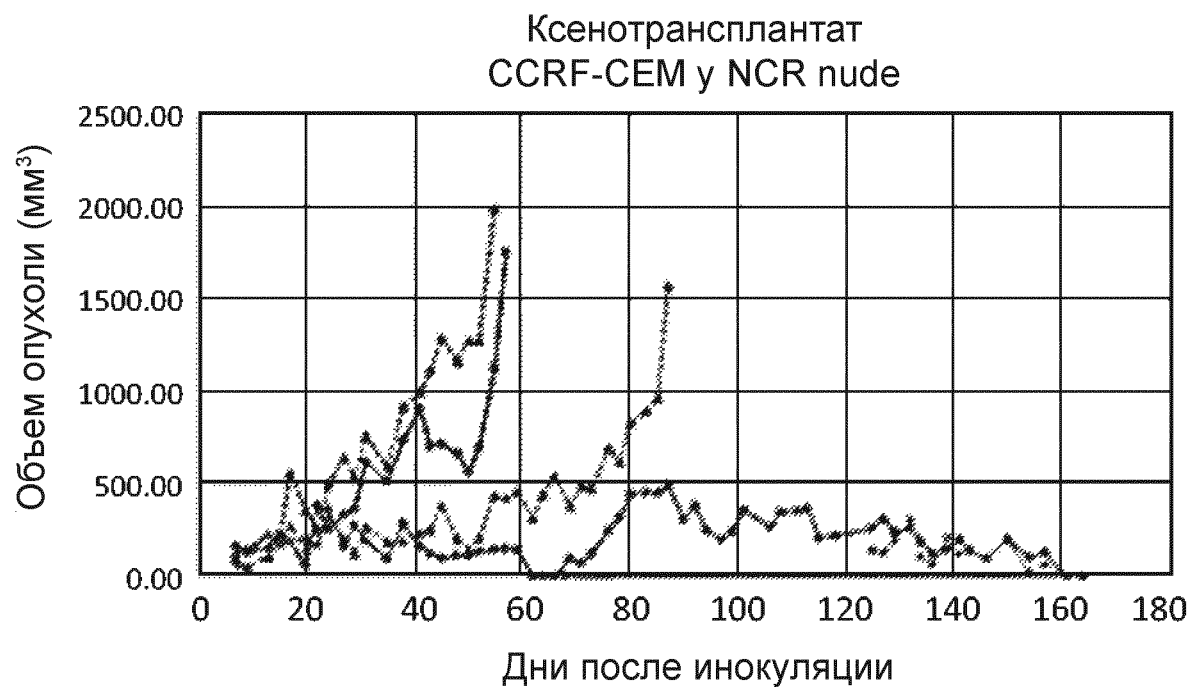


Фиг. 37

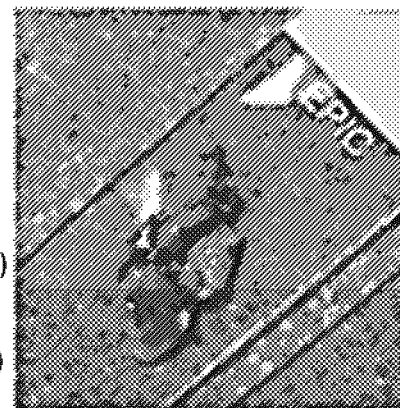
Кривая конечных точек



Фиг. 38



- 1 (1-1)
- 2 (1-2)
- 3R (1-3)
- 4 (1-4)
- 5 (1-5)
- 3L (1-3)

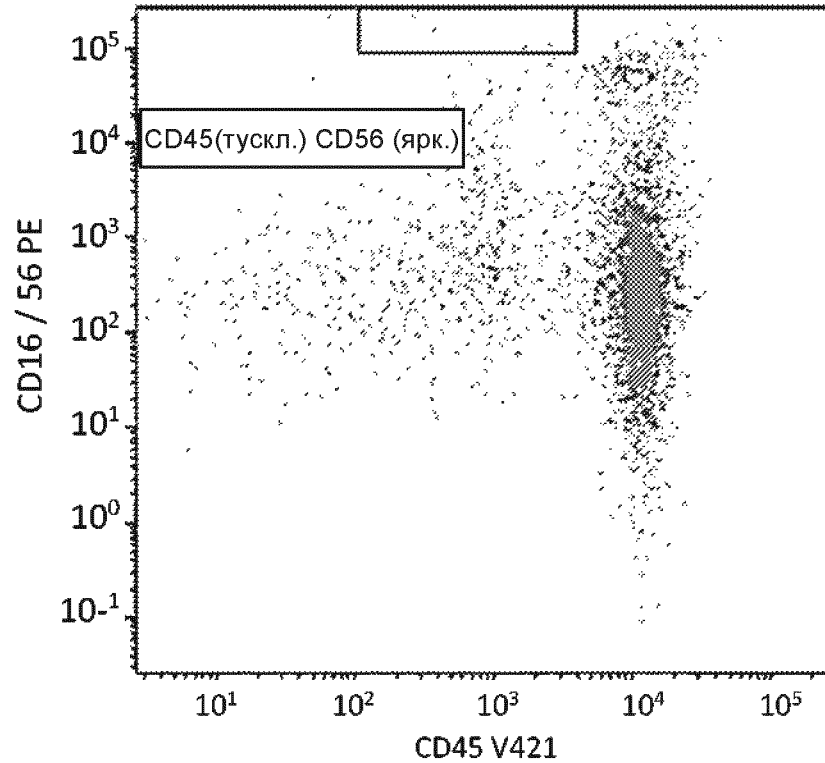


Лизис опухоли у мыши
4 на 87 день после
инокуляции

Фиг. 39

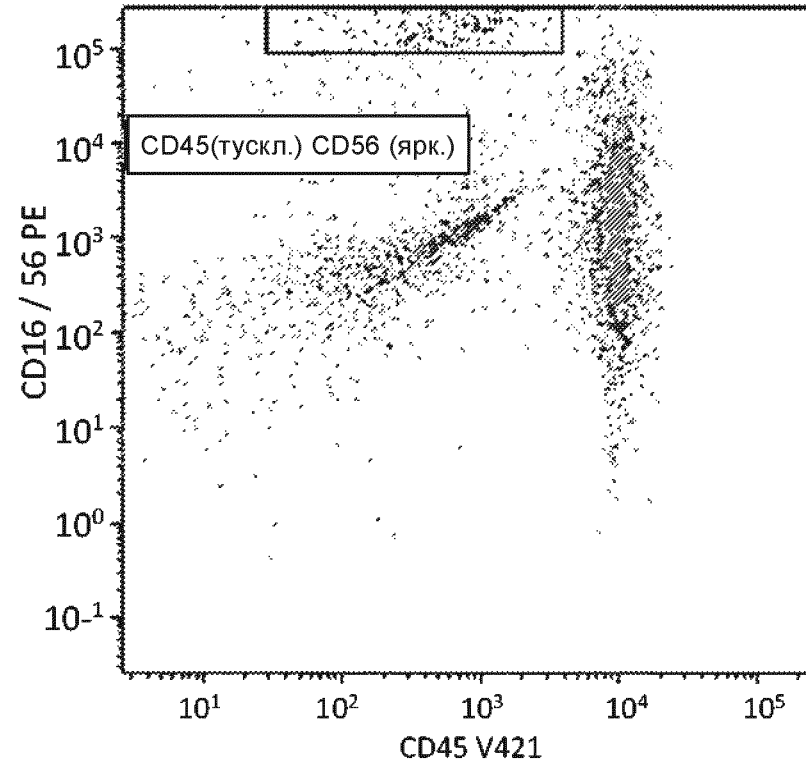
10 000 событий

пациент_P_ до лечения
[Лимф.] CD45 V421/CD16/56PE



10 000 событий

пациент_P_ после лечения
[Лимф.] CD45 V421/CD16/56PE

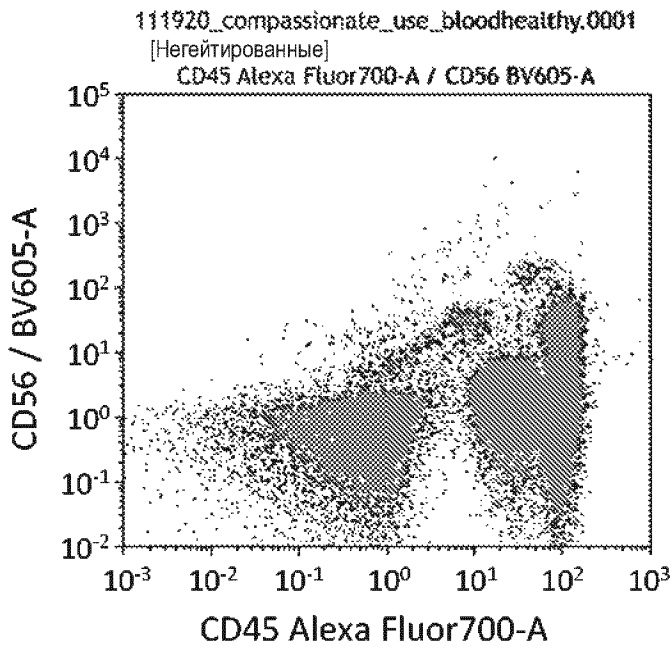


Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.
CD45(тускл.) CD56 (ярк.)	19	0,09	0,12
Гейт	Y - Геом. среднее		
CD45(тускл.) CD56 (ярк.)	202.435.30		

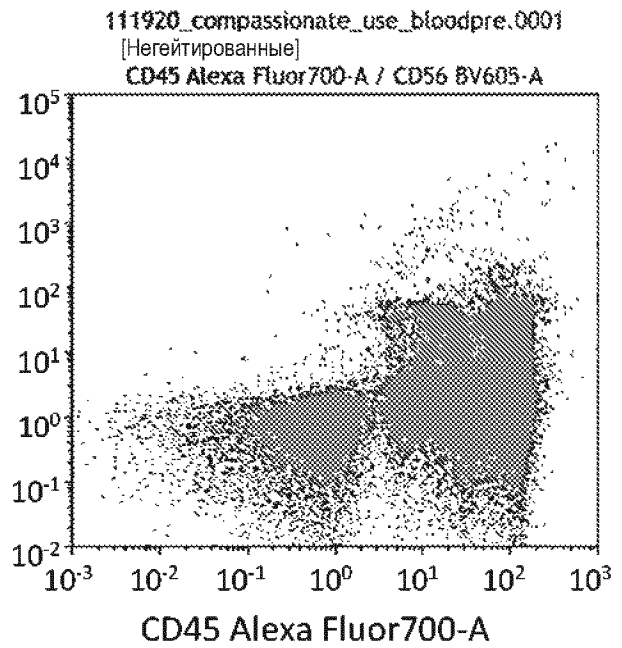
Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.
CD45(тускл.) CD56 (ярк.)	255	0,34	4,08
Гейт	Y - Геом. среднее		
CD45(тускл.) CD56 (ярк.)	191.535.75		

Фиг. 40

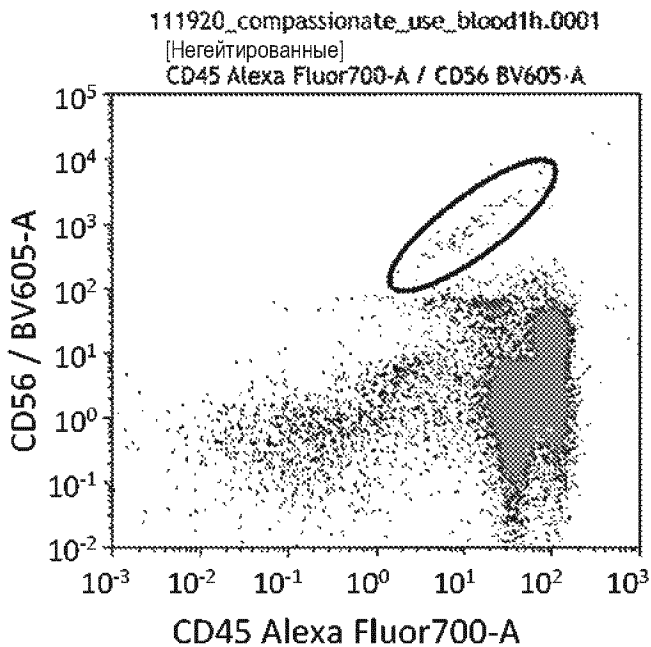
Здоровый донор крови



Пациент с раком предстательной железы, до AVM0703



Пациент с раком предстательной железы, 1 час после введения



Пациент с раком предстательной железы, 3 часа после введения

