

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202293110 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.02.13(51) Int. Cl. *A61K 31/454* (2006.01)
A61K 31/5377 (2006.01)
A61K 35/17 (2015.01)
A61P 35/00 (2006.01)(22) Дата подачи заявки
2021.04.27

(54) КОМБИНАЦИЯ ВСМА-НАПРАВЛЕННОЙ Т-КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ И ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕГО СОЕДИНЕНИЯ

(31) 63/016,983

(72) Изобретатель:

(32) 2020.04.28

Портс Майкл, Батуревич Олександр,
Сони Неха, Уиллифорд Джон-Майкл,
Воркс Мелисса (US)

(33) US

(86) PCT/US2021/029503

(87) WO 2021/222330 2021.11.04

(74) Представитель:

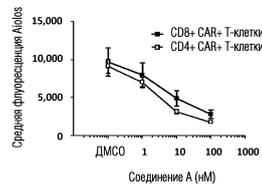
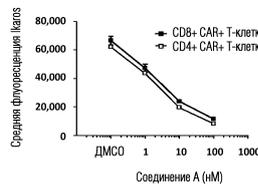
(88) 2021.12.09

Медведев В.Н. (RU)

(71) Заявитель:

ДЖУНО ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК. (US)

(57) В изобретении предложены способы, композиции и применения для лечения субъектов с заболеваниями и состояниями, такими как те, которые включают или связаны с антигеном созревания В-клеток (ВСМА), включая введение Т-клеточной терапии, такой как ВСМА-таргетная Т-клеточная терапия, например анти-ВСМА CAR Т-клетки в комбинации с (S)-3-[4-(4-морфолин-4-илметилбензилокси)-1-оксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил]пиперидин-2,6-дионом или его фармацевтически приемлемой солью, сольватом, гидратом, стереоизомером, таутомером или рацемическими смесями и их композициями, или в комбинации с (S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрилом или его фармацевтически приемлемой солью, сольватом, гидратом, стереоизомером, таутомером или рацемическими смесями и их композициями. Т-клеточная терапия включает клетки, которые экспрессируют рекомбинантные рецепторы, такие как химерные антигенные рецепторы (CAR), направленные против ВСМА. В некоторых вариантах осуществления заболевание или состояние представляет собой множественную миелому, такую как рецидивирующая или трудно поддающаяся лечению множественная миелома.



A1

202293110

202293110

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-576354EA/026

КОМБИНАЦИЯ ВСМА-НАПРАВЛЕННОЙ Т-КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ И ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕГО СОЕДИНЕНИЯ

Перекрестная ссылка на родственные заявки

[0001] По настоящей заявке испрашивается приоритет предварительной заявки США № 63/016,983, поданной 28 апреля 2020 г. и озаглавленной «COMBINATION OF ВСМА-DIRECTED T CELL THERAPY AND AN IMMUNOMODULATORY COMPOUND», содержание которой полностью включено посредством ссылки.

Включение посредством ссылки перечня последовательностей

[0002] Настоящая заявка подается вместе с перечнем последовательностей в электронном формате. Список последовательностей представлен в виде файла 735042022940SeqList.txt, созданного 26 апреля 2021 г., размером 331776 байт. Информация в электронном формате перечня последовательностей полностью включена посредством ссылки.

Область техники

[0003] Настоящее изобретение в некоторых аспектах относится к способам, композициям и применениям для лечения субъектов с заболеваниями и состояниями, такими как те, которые включают или связаны с антигеном созревания В-клеток (ВСМА), включая введение Т-клеточной терапии, такой как ВСМА-направленная Т-клеточная терапия, например, анти-ВСМА CAR Т-клетки, в комбинации с (S)-3-[4-(4-морфолин-4-илметилбензилокси)-1-оксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил]-пиперидин-2,6-дионом или его фармацевтически приемлемой солью, сольватом, гидратом, стереоизомером, таутомером или рацемической смесью и их композициями, или в комбинации с (S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрилом или его фармацевтически приемлемой солью, сольватом, гидратом, стереоизомером, таутомером или рацемическими смесями и их композициями. Т-клеточная терапия включает клетки, которые экспрессируют рекомбинантные рецепторы, такие как химерные антигенные рецепторы (CAR), направленные против ВСМА. В некоторых вариантах осуществления, заболевание или состояние представляет собой множественную миелому, такую как рецидивирующая или трудно поддающаяся лечению множественная миелома.

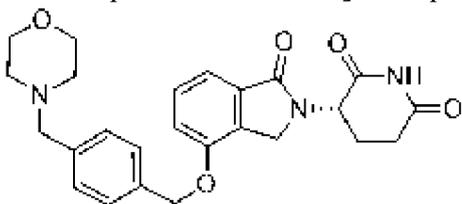
Уровень техники

[0004] Для иммунотерапии доступны различные стратегии, например, введение сконструированных Т-клеток для адоптивной терапии. Например, доступны стратегии конструирования Т-клеток, экспрессирующих генетически сконструированные антигенные рецепторы, такие как CAR, и введения субъектам композиций, содержащих такие клетки. Необходимы улучшенные стратегии для повышения эффективности клеток, например, улучшения жизнестойкости, активности и/или пролиферации клеток при введении субъектам. Предложены способы, композиции, наборы и системы, которые

удовлетворяют такие потребности.

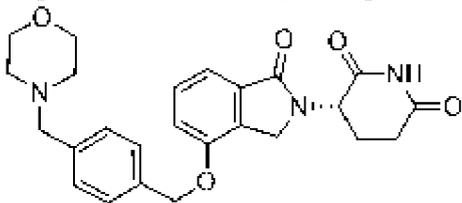
Сущность изобретения

[0005] В настоящем документе предложен способ лечения множественной миеломы, где способ включает: (а) введение Т-клеточной терапии субъекту с рецидивирующей или трудно поддающейся лечению множественной миеломой (R/R MM), где указанная Т-клеточная терапия включает дозу генетически сконструированных Т-клеток, экспрессирующих химерный антигенный рецептор (CAR), который специфически связывается с ВСМА; и (б) введение субъекту иммуномодулирующего соединения, которое представляет собой (S)-3-[4-(4-морфолин-4-илметилбензилокси)-1-оксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил]-пиперидин-2,6-дион, имеющий следующую структуру:



или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа, где введение иммуномодулирующего соединения начинают после введения Т-клеточной терапии.

[0006] Также предложен способ лечения множественной миеломы, включающий введение субъекту с рецидивирующей или трудно поддающейся лечению множественной миеломой (R/R MM), которому вводили клеточную терапию, включающую дозу генетически сконструированных Т-клеток, экспрессирующих химерный антигенный рецептор (CAR), который специфически связывается с ВСМА, иммуномодулирующим соединением, представляющим собой (S)-3-[4-(4-морфолин-4-илметилбензилокси)-1-оксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил]-пиперидин-2,6-дион, имеющий следующую структуру:

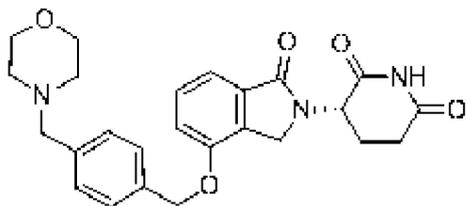


или его фармацевтически приемлемой солью, сольватом, гидратом, сокристаллом, клатратом или полиморфом, где введение иммуномодулирующего соединения начинают после введения Т-клеточной терапии.

[0007] В некоторых из любых вариантов осуществления перед началом введения Т-клеточной терапии и иммуномодулирующего соединения, субъект получил одну или несколько предшествующих терапий для лечения R/R MM, где указанная одна или несколько предшествующих терапий включали иммуномодулирующий агент.

[0008] В настоящем документе предложен способ лечения множественной миеломы, включающий: (а) введение Т-клеточной терапии субъекту, страдающему рецидивирующей или трудно поддающейся лечению множественной миеломой (R/R

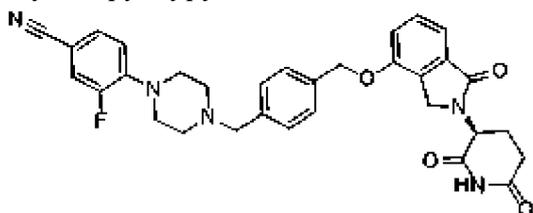
ММ), где указанная Т-клеточная терапия включает дозу генетически сконструированных Т-клеток, экспрессирующих химерный антигенный рецептор (CAR), который специфически связывается с ВСМА; и (b) введение субъекту иммуномодулирующего соединения, которое представляет собой (S)-3-[4-(4-морфолин-4-илметилбензилокси)-1-оксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил]-пиперидин-2,6-дион, имеющий следующую структуру:



или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа; где, до начала введения Т-клеточной терапии и иммуномодулирующего соединения, субъект получил одну или несколько предшествующих терапий для лечения R/R ММ, где указанные одна или несколько предшествующих терапий включают иммуномодулирующий агент.

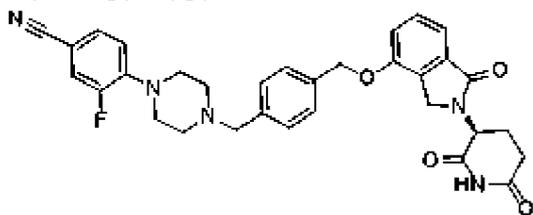
[0009] В некоторых из любых вариантов осуществления, иммуномодулирующее соединение представляет собой или содержит фармацевтически приемлемую соль (S)-3-[4-(4-морфолин-4-илметилбензилокси)-1-оксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил]-пиперидин-2,6-диона. В некоторых из любых вариантов осуществления, иммуномодулирующее соединение представляет собой или содержит гидрат (S)-3-[4-(4-морфолин-4-илметилбензилокси)-1-оксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил]-пиперидин-2,6-диона. В некоторых из любых вариантов осуществления, иммуномодулирующее соединение представляет собой или содержит сольват (S)-3-[4-(4-морфолин-4-илметилбензилокси)-1-оксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил]-пиперидин-2,6-диона. В некоторых из любых вариантов осуществления, иммуномодулирующее соединение представляет собой или включает (S)-3-[4-(4-морфолин-4-илметилбензилокси)-1-оксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил]-пиперидин-2,6-дион.

[0010] В настоящем документе предложен способ лечения множественной миеломы, включающий: (a) введение Т-клеточной терапии субъекту, страдающему рецидивирующей или трудно поддающейся лечению множественной миеломой (R/R ММ), где указанная Т-клеточная терапия включает дозу генетически сконструированных Т-клеток, экспрессирующих химерный антигенный рецептор (CAR), который специфически связывается с ВСМА; и (b) введение субъекту иммуномодулирующего соединения, которое представляет собой (S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил, имеющий следующую структуру:



или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа, где введение иммуномодулирующего соединения начинают после введения Т-клеточной терапии.

[0011] Также предложен способ лечения множественной миеломы, включающий введение субъекту с рецидивирующей или трудно поддающейся лечению множественной миеломой (R/R MM), которому вводили клеточную терапию, включающую дозу генетически сконструированных Т-клеток, экспрессирующих химерный антигенный рецептор (CAR), который специфически связывается с ВСМА, иммуномодулирующего соединения, представляющего собой (S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил, имеющий следующую структуру:



или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа, где введение иммуномодулирующего соединения начинают после введения Т-клеточной терапии.

[0012] В некоторых из любых вариантов осуществления, перед началом введения Т-клеточной терапии и иммуномодулирующего соединения субъект получил одну или несколько предшествующих терапий для лечения R/R MM, где указанная одна или несколько предшествующих терапий включали иммуномодулирующий агент.

[0013] В некоторых из любых вариантов осуществления, иммуномодулирующее соединение представляет собой или содержит фармацевтически приемлемую соль (S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрила. В некоторых из любых вариантов осуществления, иммуномодулирующее соединение представляет собой или содержит гидрат (S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрила. В некоторых из любых вариантов осуществления, иммуномодулирующее соединение представляет собой или содержит сольват (S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрила. В некоторых из любых вариантов осуществления, иммуномодулирующее соединение представляет собой или включает (S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил.

[0014] В некоторых из любых вариантов осуществления, у субъекта возник рецидив или он трудно поддавался лечению после, по меньшей мере, 3 или по меньшей мере, 4 предшествующих терапий множественной миеломы. В некоторых из любых вариантов осуществления, субъект получил, и у него возник рецидив или он трудно

подавался лечению тремя или несколькими видами терапии, выбранным из: трансплантации аутологичных стволовых клеток (ASCT); иммуномодулирующего агента; ингибитора протеасомы; и анти-CD38 антитела; кроме случаев, когда субъект не был кандидатом или не имел противопоказаний для одной или нескольких терапий. В некоторых из любых вариантов осуществления, иммуномодулирующий агент выбран из талидомида, леналидомида и помалидомида. В некоторых из любых вариантов осуществления, ингибитор протеасом выбран из бортезомиба, карфилзомиба и иксазомиба. В некоторых из любых вариантов осуществления, анти-CD38 антитело представляет собой или содержит даратумумаб. В некоторых из любых вариантов осуществления, во время введения субъект не подавался лечению или не отвечал на бортезомиб, карфилзомиб, леналидомид, помалидомид и/или моноклональное анти-CD38 антитело. В некоторых из любых вариантов осуществления, во время введения субъект имеет цитогенетику высокого риска IMWG.

[0015] В некоторых из любых вариантов осуществления, введение иммуномодулирующего соединения начинают во время или до достижения пиковой экспансии Т-клеточной терапии у субъекта. В некоторых из любых вариантов осуществления, максимальная экспансия Т-клеточной терапии приходится на период от точно или примерно 11 дней до точно или примерно 15 дней после введения Т-клеточной терапии. В некоторых из любых вариантов осуществления, введение иммуномодулирующего соединения начинают в период от точно или примерно 1 дня до точно 15 или примерно дней, включительно, после введения Т-клеточной терапии. В некоторых из любых вариантов осуществления, введение иммуномодулирующего соединения начинают в период от точно или примерно 1 дня до точно или примерно 11 дней, включительно, после введения Т-клеточной терапии. В некоторых из любых вариантов осуществления, введение иммуномодулирующего соединения начинают от точно или примерно 8 дней до точно или примерно 15 дней, включительно, после введения Т-клеточной терапии.

[0016] В некоторых из любых вариантов осуществления, введение иммуномодулирующего соединения начинают через или примерно через 1 день после введения Т-клеточной терапии. В некоторых из любых вариантов осуществления, введение иммуномодулирующего соединения начинают через или примерно через 8 дней после введения Т-клеточной терапии. В некоторых из любых вариантов осуществления, введение иммуномодулирующего соединения начинают через или примерно через 15 дней после проведения Т-клеточной терапии.

[0017] В некоторых из любых вариантов осуществления, введение иммуномодулирующего соединения начинают примерно от примерно 14 до примерно 35 дней после начала введения Т-клеточной терапии. В некоторых из любых вариантов осуществления, введение иммуномодулирующего соединения начинают от примерно 21 до примерно 35 дней после начала введения Т-клеточной терапии. В некоторых из любых вариантов осуществления, введение иммуномодулирующего соединения начинают от

примерно 21 до примерно 28 дней после начала введения Т-клеточной терапии.

[0018] В некоторых из любых вариантов осуществления, введение иммуномодулирующего соединения начинают через или через примерно 21 день, через или через примерно 22 дня, через или через примерно 23 дня, через или через примерно 24 дня, через или через примерно 25 дней, через или через примерно 26 дней, через или через примерно 27 дней, или через или через примерно 28 дней после начала введения Т-клеточной терапии. В некоторых из любых вариантов осуществления, введение иммуномодулирующего соединения начинают через или через примерно 28 дней после начала введения Т-клеточной терапии.

[0019] В некоторых из любых вариантов осуществления, иммуномодулирующее соединение вводят от или от примерно 0 до 30 дней, от 0 до 15 дней, от 0 до 6 дней, от 0 до 96 часов, от 2 часов до 15 дней, от 2 часов до 6 дней, от 2 часов до 96 часов, от 6 часов до 30 дней, от 6 часов до 15 дней, от 6 часов до 6 дней, от 6 часов до 96 часов, от 12 часов до 30 дней, от 12 часов до 15 дней, от 12 часов до 6 дней или от 12 часов до 96 дней часов до начала Т-клеточной терапии. В некоторых из любых вариантов осуществления, иммуномодулирующее соединение вводят не более чем примерно за 96 часов, 72 часа, 48 часов или 24 часа до начала Т-клеточной терапии.

[0020] В некоторых из любых вариантов осуществления, иммуномодулирующее соединение вводят, по меньшей мере, один раз в день по курсовой схеме. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение вводят по курсовой схеме, включающей введение иммуномодулирующего соединения в течение множества дней подряд с последующим периодом отдыха, в течение которого иммуномодулирующее соединение не вводят. В некоторых вариантах осуществления, количество дней подряд составляет до 21 дня.

[0021] В некоторых из любых вариантов осуществления, курсовая схема представляет собой четырехнедельный (28-дневный) курс, при котором иммуномодулирующее соединение вводят ежедневно в течение четырехнедельного курса. В некоторых из любых вариантов осуществления, курсовая схема представляет собой четырехнедельный (28-дневный) курс, при котором иммуномодулирующее соединение вводят ежедневно в течение трех недель подряд в четырехнедельном курсе и не вводят в течение последней недели. В некоторых из любых вариантов осуществления, курсовая схема представляет собой четырехнедельный (28-дневный) курс, при котором иммуномодулирующее соединение вводят ежедневно в течение 1-21 дня каждого четырехнедельного курса.

[0022] В некоторых из любых вариантов осуществления, курсовая схема повторяется множество раз. В некоторых вариантах осуществления, указанное количество раз составляет от двух до двенадцати курсовых схем. В некоторых вариантах осуществления, курсовую схему повторяют 3 раза. В некоторых вариантах осуществления, курсовую схему повторяют 4 раза. В некоторых вариантах осуществления, курсовую схему повторяют 5 раз. В некоторых вариантах осуществления,

курсовую схему повторяют 6 раз.

[0023] В некоторых из любых вариантов осуществления, иммуномодулирующее соединение вводят через или примерно через три месяца после начала введения Т-клеточной терапии. В некоторых из любых вариантов осуществления, иммуномодулирующее соединение вводят через или примерно через шесть месяцев после начала введения Т-клеточной терапии.

[0024] В некоторых из любых вариантов осуществления, иммуномодулирующее соединение вводят в количестве от точно или примерно 0,1 мг до точно или примерно 1,0 мг в день. В некоторых из любых вариантов осуществления, иммуномодулирующее соединение вводят в количестве от точно или примерно 0,3 мг до точно или примерно 0,6 мг. В некоторых из любых вариантов осуществления, иммуномодулирующее соединение вводят в количестве точно или примерно 0,3 мг. В некоторых из любых вариантов осуществления, иммуномодулирующее соединение вводят в количестве точно или примерно 0,45 мг. В некоторых из любых вариантов осуществления, иммуномодулирующее соединение вводят в количестве точно или примерно 0,6 мг.

[0025] В некоторых из любых вариантов осуществления, иммуномодулирующее соединение вводят перорально.

[0026] В некоторых из любых вариантов осуществления, во время начала введения иммуномодулирующего соединения субъект не демонстрирует тяжелой токсичности после введения Т-клеточной терапии. В некоторых из любых вариантов осуществления, тяжелой токсичностью является синдром тяжелого высвобождения цитокинов (CRS), необязательно степени 3 или выше, пролонгированной степени 3 или выше или CRS 4 или 5 степени; и/или тяжелая токсичность представляет собой тяжелую нейротоксичность, необязательно 3 степени или выше, пролонгированную нейротоксичность 3 степени или выше или 4 или 5 степень нейротоксичности.

[0027] В некоторых из любых вариантов осуществления, введение иммуномодулирующего соединения приостанавливают и/или курсовую схему изменяют, если субъект демонстрирует токсичность после введения иммуномодулирующего соединения, необязательно, гематологическую токсичность. В некоторых из любых вариантов осуществления, токсичность выбрана из тяжелой нейтропении, необязательно фебрильной нейтропении, пролонгированной нейтропении степени 3 или выше.

[0028] В некоторых из любых вариантов осуществления, введение иммуномодулирующего соединения: обращает фенотип истощения в CAR-экспрессирующих Т-клетках у субъекта; предотвращает, ингибирует или задерживает начало фенотипа истощения в CAR-экспрессирующих Т-клетках у субъекта; или снижает уровень или степень фенотипа истощения в CAR-экспрессирующих Т-клетках у субъекта; или уменьшает долю от общего числа CAR-экспрессирующих Т-клеток у субъекта, которые имеют фенотип истощения.

[0029] В некоторых из любых вариантов осуществления, после введения иммуномодулирующего соединения или его начала у субъекта наблюдается

восстановление или восстановление антиген- или опухолеспецифической активности или функции CAR-экспрессирующих Т-клеток у указанного субъекта, необязательно, где указанное восстановление, сохранение и/или начало введения указанного соединения происходит в момент времени после того, как CAR-экспрессирующие Т-клетки у субъекта или в крови субъекта демонстрируют истощенный фенотип.

[0030] В некоторых из любых вариантов осуществления, введение иммуномодулирующего соединения включает введение в количестве, частоте и/или продолжительности, эффективных для: (а) повышения антигенспецифической или управляемой антигенным рецептором активности наивных или не истощенных Т-клеток у субъекта, которые необязательно содержат Т-клетки, экспрессирующие указанный CAR, после воздействия на Т-клетки ВСМА или агониста CAR, необязательно, где агонистом является анти-идиотипическое антитело, по сравнению с отсутствием указанного введения указанного соединения; или (b) профилактики, ингибирования или отсрочивания начала фенотипа истощения у наивных или не истощенных Т-клеток у субъекта, которые необязательно содержат Т-клетки, экспрессирующие указанный CAR, после воздействия на Т-клетки ВСМА или агониста CAR, необязательно, где агонист представляет собой анти-идиотипическое антитело, по сравнению с отсутствием указанного введения указанного соединения; или (c) обращения фенотипа истощения в истощенных Т-клетках, необязательно содержащих Т-клетки, экспрессирующие указанный CAR, у субъекта по сравнению с отсутствием указанного введения указанному субъекту.

[0031] В некоторых из любых вариантов осуществления, во время введения иммуномодулирующего соединения, истощенный фенотип одной или нескольких CAR-экспрессирующих Т-клеток или характерного для них маркера или параметра, определяют у субъекта или в биологическом образце от субъекта. В некоторых из любых вариантов осуществления, по меньшей мере, по меньшей мере, точно или примерно 10%, по меньшей мере, точно или примерно 20%, по меньшей мере, точно или примерно 30%, по меньшей мере, точно или примерно 40% или по меньшей мере, точно или примерно 50% от общего количества CAR-экспрессирующих Т-клеток в биологическом образце от субъекта имеют истощенный фенотип. В некоторых из любых вариантов осуществления, более точно или примерно 10%, более точно или примерно 20%, более точно или примерно 30%, более точно или примерно 40% или более точно или примерно 50% от CAR-экспрессирующих Т-клеток в биологическом образце субъекта имеют истощенный фенотип по сравнению с долей CAR-экспрессирующих Т-клеток, имеющих истощенный фенотип в сопоставимом биологическом образце в предыдущий момент времени.

[0032] В некоторых из любых вариантов осуществления, фенотип истощения, по отношению к Т-клетке или популяции Т-клеток, включает: повышение уровня или степени поверхностной экспрессии на Т-клетке или Т-клетках, или доли Т указанной популяции Т-клеток, демонстрирующих поверхностную экспрессию одного или нескольких маркеров истощения, необязательно, 2, 3, 4, 5 или 6 маркеров истощения, по сравнению с эталонной популяцией Т-клеток в тех же условиях; или снижение уровня или

степени активности, демонстрируемой указанными Т-клетками или популяцией Т-клеток при воздействии ВСМА или агониста CAR, необязательно, где агонист представляет собой анти-идиотипическое антитело, по сравнению с эталонной популяцией Т-клеток, в тех же условиях. В некоторых из любых вариантов осуществления, увеличение уровня, степени или доли составляет более чем точно или примерно 1,2 раза, точно или примерно 1,5 раза, точно или примерно 2,0 раза, точно или примерно 3 раза, точно или примерно 4 раза, точно или примерно 5 раз, точно или примерно 6 раз, точно или примерно 7 раз, точно или примерно 8 раз, точно или примерно 9 раз, точно или примерно 10 раз или более. В некоторых из любых вариантов осуществления, снижение уровня, степени или доли составляет более чем точно примерно 1,2 раза, точно или примерно 1,5 раза, точно или примерно 2,0 раза, точно или примерно 3 раза, точно или примерно 4 раза, точно или примерно 5 раз, точно или примерно 6 раз, точно или примерно 7 раз, точно или примерно 8 раз, точно или примерно 9 раз, точно или примерно 10 раз или более.

[0033] В некоторых из любых вариантов осуществления, эталонная популяция Т-клеток представляет собой популяцию Т-клеток, о которых известно, что они имеют не истощенный фенотип, представляет собой популяцию наивных Т-клеток, представляет собой популяцию Т-клеток центральной памяти или представляет собой популяцию стволовых Т-клеток центральной памяти, необязательно от того же субъекта или того же вида, что и субъект, от которого произошли Т-клетка или Т-клетки, имеющие истощенный фенотип. В некоторых из любых вариантов осуществления, эталонная популяция Т-клеток (а) представляет собой совместимую с субъектом популяцию, содержащую основную массу Т-клеток, выделенную из крови субъекта, из которой получены Т-клетки или Т-клетки, имеющие истощенный фенотип, необязательно, где основная масса Т-клеток не экспрессируют CAR и/или (b) получены от субъекта, от которого произошли Т-клетка или Т-клетки, имеющие истощенный фенотип, до введения дозы CAR-экспрессирующих Т-клеток. В некоторых из любых вариантов осуществления, эталонная популяция Т-клеток представляет собой композицию, содержащую образец Т-клеточной терапии, или фармацевтическую композицию, содержащую CAR-экспрессирующие Т-клетки, до ее введения субъекту, необязательно где композиция представляет собой криоконсервированный образец.

[0034] В некоторых из любых вариантов осуществления, один или несколько из одного или нескольких маркеров истощения представляют собой ингибиторные рецепторы. В некоторых из любых вариантов осуществления, один или несколько из одного или нескольких маркеров истощения выбраны из числа PD-1, CTLA-4, TIM-3, LAG-3, BTLA, 2B4, CD160, CD39, VISTA и TIGIT. В некоторых из любых вариантов осуществления, активность выбрана из одной или нескольких из пролиферации, цитотоксичности или продуцирования одного или комбинации воспалительных цитокинов, необязательно, где один или комбинация цитокинов выбраны из группы, состоящей из IL-2, IFN- гамма и ФНО-альфа.

[0035] В некоторых из любых вариантов осуществления, воздействие ВСМА или

агониста CAR, необязательно, где агонист представляет собой анти-идиотипическое антитело, включает инкубацию с ВСМА или агонистом CAR. В некоторых вариантах осуществления, антиген содержится на поверхности экспрессирующих антиген клеток-мишеней, необязательно, клеток или клеточной линии множественной миеломы.

[0036] В некоторых из любых вариантов осуществления, доза Т-клеток составляет от точно или примерно 5×10^7 CAR+ Т-клеток до точно или примерно 1×10^9 CAR+ Т-клеток. В некоторых из любых вариантов осуществления, доза Т-клеток составляет от точно или примерно 1×10^8 CAR+ Т-клеток до точно или примерно 1×10^9 CAR+ Т-клеток. В некоторых из любых вариантов осуществления, доза Т-клеток составляет примерно $1,5 \times 10^8$ клеток или CAR+ Т-клеток. В некоторых из любых вариантов осуществления, доза Т-клеток составляет точно или примерно 3×10^8 клеток или CAR+ Т-клеток. В некоторых из любых вариантов осуществления, доза Т-клеток составляет точно или примерно $4,5 \times 10^8$ клеток или CAR+ Т-клеток. В некоторых из любых вариантов осуществления, доза Т-клеток составляет точно или примерно 6×10^8 клеток или CAR+ Т-клеток.

[0037] В некоторых из любых вариантов осуществления, доза содержит Т-клетки, экспрессирующие CD3⁺ CAR. В некоторых из любых вариантов осуществления, доза содержит комбинацию CD4⁺ Т-клеток и CD8⁺ Т-клеток и/или комбинацию CD4⁺ CAR-экспрессирующих Т-клеток и CD8⁺ CAR-экспрессирующих Т-клеток. В некоторых из любых вариантов осуществления, отношение Т-клеток, экспрессирующих CD4⁺ CAR, к Т-клеткам, экспрессирующим CD8⁺ CAR, и/или CD4⁺ Т-клеток к CD8⁺ Т-клеткам составляет или составляет приблизительно 1:1, или составляет от точно или приблизительно 1:3 до точно или приблизительно 3:1.

[0038] В некоторых из любых вариантов осуществления, перед введением дозы Т-клеток субъект получил противолимфому терапию, включающую введение флударабина в количестве точно или примерно 20-40 мг/м² поверхности тела субъекта, необязательно, в количестве точно или примерно 30 мг/м², ежедневно, в течение 2-4 дней, и/или циклофосфамид в дозе точно или примерно 200-400 мг/м² площади поверхности тела субъекта, необязательно, в дозе точно или примерно 300 мг/м², ежедневно, в течение 2-4 дней. В некоторых из любых вариантов осуществления, субъект получал противолимфому терапию, включающую введение флударабина в дозе точно или примерно 30 мг/м² поверхности тела субъекта ежедневно и циклофосфамида в дозе точно или примерно 300 мг/м² поверхности тела субъекта, ежедневно, в течение 3 дней.

[0039] В некоторых из любых вариантов осуществления, CAR содержит антигенсвязывающий домен, который связывается с ВСМА, трансмембранный домен и внутриклеточную сигнальную область, содержащую цепь CD3-дзета (CD3ζ).

[0040] В некоторых вариантах осуществления, антигенсвязывающий домен представляет собой одноцепочечный варибельный фрагмент (scFv).

[0041] В некоторых из любых вариантов осуществления, антигенсвязывающий домен содержит области V_H и V_L, где область V_H содержит CDR-H1, представленную в SEQ ID NO: 56, CDR-H2, представленную в SEQ ID NO: 57 и CDR-H3, представленную в

SEQ ID NO:58, и область V_L содержит CDR-L1, представленную в SEQ ID NO:59, CDR-L2, представленную в SEQ ID NO:60, и CDR-H3, представленную в SEQ ID NO:61. В некоторых из любых вариантов осуществления, антигенсвязывающий домен содержит область V_H , которая имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:36, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98%, по меньшей мере, 99% к SEQ ID NO:36, и область V_L имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:37, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98%, по меньшей мере, 99% с SEQ ID NO:37. В некоторых из любых вариантов осуществления, антигенсвязывающий домен содержит последовательность аминокислот области V_H , представленную в SEQ ID NO:36, и последовательность аминокислот области V_L , представленную в SEQ ID NO:37. В некоторых из любых вариантов осуществления, антигенсвязывающий домен представляет собой scFv, который имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:180, или последовательность аминокислот, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98%, по меньшей мере, 99% с SEQ ID NO:180. В некоторых вариантах осуществления, антигенсвязывающий домен представляет собой scFv, который имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:180.

[0042] В некоторых из любых вариантов осуществления, анти-BCMA CAR содержит области V_H и V_L , где область V_H содержит CDR-H1, представленную в SEQ ID NO: 62, CDR-H2, представленную в SEQ ID NO:63 и CDR-H3, представленную в SEQ ID NO:64, и область V_L содержит CDR-L1, представленную в SEQ ID NO:65, CDR-L2, представленную в SEQ ID NO:66, и CDR-H3, представленную в SEQ ID NO:67. В некоторых из любых вариантов осуществления, антигенсвязывающий домен содержит область V_H , которая имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:30, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98%, по меньшей мере, 99% с SEQ ID NO:30, и область V_L имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:31, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98%, по меньшей мере, 99% с SEQ ID NO:31. В некоторых из любых вариантов

осуществления, антигенсвязывающий домен содержит область V_H , имеющую последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:30, и область V_L , имеющую последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:31. В некоторых из любых вариантов осуществления, антигенсвязывающий домен представляет собой scFv, который имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:68, или последовательность аминокислот имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98%, по меньшей мере, 99% с SEQ ID NO:68. В некоторых вариантах осуществления, антигенсвязывающий домен представляет собой scFv, представленный в SEQ ID NO:68.

[0043] В некоторых вариантах осуществления, внутриклеточная сигнальная область дополнительно содержит костимулирующий сигнальный домен. В некоторых из любых вариантов осуществления, костимулирующая сигнальная область содержит внутриклеточный сигнальный домен CD28, 4-1BB или ICOS или его сигнальную часть. В некоторых вариантах осуществления, костимулирующая сигнальная область содержит внутриклеточный сигнальный домен 4-1BB, необязательно 4-1BB человека. В некоторых из любых вариантов осуществления, костимулирующая сигнальная область находится между трансмембранным доменом и цитоплазматическим сигнальным доменом цепи CD3-дзета (CD3 ζ).

[0044] В некоторых из любых вариантов осуществления, трансмембранный домен представляет собой или содержит трансмембранный домен CD28 человека. В некоторых из любых вариантов осуществления, трансмембранный домен представляет собой или содержит трансмембранный домен CD8 человека.

[0045] В некоторых из любых вариантов осуществления, CAR дополнительно содержит внеклеточный спейсер между антигенсвязывающим доменом и трансмембранным доменом. В некоторых из любых вариантов осуществления, спейсер составляет от точно или примерно 50 аминокислот до точно или примерно 250 аминокислот. В некоторых из любых вариантов осуществления, спейсер составляет от точно или примерно 125 до точно или примерно 250 аминокислот, необязательно, где спейсер составляет от точно или примерно 228 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления, спейсер представляет собой иммуноглобулиновый спейсер, содержащий весь или часть константного домена иммуноглобулина или его модифицированную форму. В некоторых вариантах осуществления, спейсер содержит химерный шарнир IgG4/2 или модифицированный шарнир IgG4; химерную область C_{H2} IgG2/4; и область C_{H3} IgG4. В некоторых вариантах осуществления, спейсер представлен в SEQ ID NO: 29 или кодируется последовательностью нуклеотидов, представленной в SEQ ID NO: 179. В некоторых вариантах осуществления, спейсер представляет собой шарнир CD8.

[0046] В некоторых из любых вариантов осуществления, анти-BCMA CAR имеет последовательность, указанную в любой из SEQ ID NO: 126-177, или последовательность

аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98% или по меньшей мере, 99% идентичность последовательности с любой из SEQ ID NO: 126-177.

[0047] В некоторых из любых вариантов осуществления, анти-BCMA CAR имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:160, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98% или по меньшей мере, 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO:160.

[0048] В некоторых из любых вариантов осуществления, CAR кодируется последовательностью нуклеотидов, представленной в SEQ ID NO:69.

[0049] В некоторых из любых вариантов осуществления, анти-BCMA CAR имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:161, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98% или по меньшей мере, 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO:161.

[0050] В некоторых из любых вариантов осуществления, анти-BCMA CAR имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:152, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98% или по меньшей мере, 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO:152.

[0051] В некоторых из любых вариантов осуществления, анти-BCMA CAR имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:168, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98% или по меньшей мере, 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO:168.

[0052] В некоторых из любых вариантов осуществления, анти-BCMA CAR имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:171, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98% или по меньшей мере, 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO:171.

[0053] В некоторых из любых вариантов осуществления, анти-BCMA CAR связывает BCMA, необязательно, где BCMA представляет собой BCMA человека. В некоторых из любых вариантов осуществления, BCMA представляет собой мембраносвязанный BCMA, экспрессируемый на поверхности клетки. В некоторых из

любых вариантов осуществления, анти-BCMA CAR обладает большей аффинностью связывания с мембраносвязанным BCMA, чем с растворимым BCMA, необязательно, где отношение константы диссоциации (K_D) для растворимого BCMA и K_D для мембраносвязанного BCMA больше чем 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 500, 1000, 2000 и более.

[0054] Также предложено применение иммуномодулирующего соединения и/или Т-клеточной терапии для лечения рецидивирующей или трудно поддающейся лечению множественной миеломы (R/R MM) в соответствии с любым из предложенных способов. Также предложено иммуномодулирующее соединение и/или Т-клеточная терапия для составления лекарственного средства для лечения рецидивирующей или трудно поддающейся лечению множественной миеломы (R/R MM) в соответствии с любым из предложенных способов.

[0055] Примеры признаков любого из представленных способов описаны в настоящем документе, в том числе в типовых вариантах осуществления.

Краткое описание чертежей

[0056] На **ФИГ. 1** показана внутриклеточная экспрессия Ikaros и Aiolos в CD4⁺ Т-клетках, экспрессирующих анти-BCMA CAR, и CD8⁺ Т-клетках, экспрессирующих анти-BCMA CAR, после инкубации с различными концентрациями соединения А.

[0057] На **ФИГ. 2** показано количество IFN γ , IL-2 и TNF- α , наблюдаемое в супернатантах после инкубации клеток-мишеней RPMI-8226 (**ФИГ. 2А**) и OPM-2 (**ФИГ. 2В**) анти-BCMA CAR Т-клеток в присутствии повышенных концентраций соединения А.

[0058] На **ФИГ. 3А** показана цитолитическая активность анти-BCMA CAR⁺ Т-клеток после повторного заражения клетками-мишенями RPMI с одновременной обработкой соединением А или соединением В во время постоянной активации. На **ФИГ. 3В** показано продуцирование цитокинов анти-BCMA CAR⁺ Т-клетками после повторного заражения клетками-мишенями RPMI с одновременной обработкой соединением А или соединением В во время постоянной активации.

[0059] На **ФИГ. 4А** показана цитолитическая активность анти-BCMA CAR⁺ Т-клеток после повторного заражения клетками-мишенями RPMI с обработкой соединением А или соединением В во время повторного заражения. На **ФИГ. 4В** показано продуцирование цитокинов анти-BCMA CAR⁺ Т-клетками после повторного заражения клетками-мишенями RPMI с одновременной обработкой соединением А или соединением В во время повторного заражения.

[0060] На **ФИГ. 5А** показан анализ удвоения популяции анти-BCMA CAR⁺ Т-клеток в присутствии отсутствия соединения А для двух доноров. На **ФИГ. 5В** показано продуцирование цитокинов в культурах через 24 часа после первой перезагрузки (день 5) или второй перезагрузки (день 9) после повторного посева со свежими клетками-мишенями в анализе серийной стимуляции.

[0061] На **ФИГ. 6А** показан объем опухоли, и на **ФИГ. В** показана выживаемость чувствительных к ибердомиду мышей (мышей NOD.Cg-Prkdc^{scid}IL-2rg^{tm1Wjl}/SzJ (NSG;

Jackson Labs)), которым вводят соединение А в комбинации с анти-BCMA CAR Т-клетками путем одновременного или отсроченного дозирования. На **ФИГ. 6С** показано количество CD3⁺ CAR⁺ Т-клеток в крови у мышей, получавших комбинацию анти-BCMA CAR⁺ Т-клеток и соединения А по параллельной схеме на 6 и 14 дни.

[0062] На **ФИГ. 7А** показан объем опухоли, и на **ФИГ. 7В** показана выживаемость устойчивых к ибердомиду мышей (мышей NOD.Cg-Prkdc^{scid}IL-2rg^{tm1Wjl}/SzJ (NSG; Jackson Labs)), которым вводят соединение А в комбинации с анти-BCMA CAR Т-клетками путем одновременного или отсроченного введения. На **ФИГ. 7С** показано количество CD3⁺ CAR⁺ Т-клеток в крови у мышей, которым вводят анти-BCMA CAR⁺ Т-клетки как в низкой, так и в высокой дозе в комбинации с соединением А в параллельной схеме на 12 и 19 дни.

[0063] На **ФИГ. 8** показана жизнеспособность и количество анти-BCMA CAR Т-клеток от трех доноров в присутствии леналидомида (1000 нМ) или соединения А (0,1 нМ, 1 нМ или 10 нМ) через 7 дней.

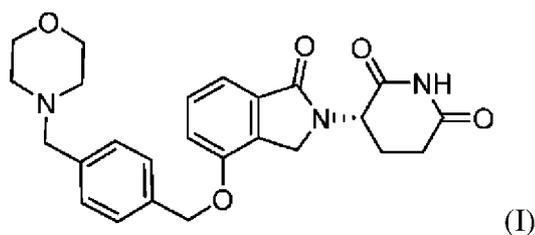
[0064] На **ФИГ. 9А** показана цитолитическая активность анти-BCMA CAR Т-клеток от трех доноров во время длительной стимуляции в присутствии леналидомида (1000 нМ) или соединения А (1 нМ или 10 нМ). На **ФИГ. 9В-Д** показано продуцирование IFN-гамма (**ФИГ. 9В**), IL-2 (**ФИГ. 9С**) и TNF-альфа (**ФИГ. 9Д**) в анти-BCMA CAR Т-клетках от трех доноров во время длительной стимуляции в присутствии леналидомида (1000 нМ) или соединения А (1 нМ или 10 нМ).

[0065] На **ФИГ. 10А** показана цитолитическая активность анти-BCMA CAR Т-клеток от трех доноров во время постоянной стимуляции в течение 7 дней с помощью BCMA-конъюгированных микроносителей и повторного заражения BCMA-экспрессирующими клетками RPMI-8226 MM в присутствии соединения А (1 нМ или 10 нМ). На **ФИГ. 10В-Д** показано продуцирование IFN-гамма (**ФИГ. 10В**), IL-2 (**ФИГ. 10С**) и TNF-альфа (**ФИГ. 10Д**) в анти-BCMA CAR Т-клетках от трех доноров во время постоянной стимуляции в присутствии соединения А (1 нМ или 10 нМ).

[0066] На **ФИГ. 11А** показана цитолитическая активность анти-BCMA CAR Т-клеток от трех доноров во время постоянной стимуляции в течение 7 дней микроносителями, конъюгированными с BCMA, в присутствии резистентных к IMiD/CELMoD клеточной линии DF-15R и соединения А (1 нМ или 10 нМ). На **ФИГ. 11В-Д** показано продуцирование IFN-гамма (**ФИГ. 11В**), IL-2 (**ФИГ. 11С**) и TNF-альфа (**ФИГ. 11Д**) в анти-BCMA CAR Т-клетках от трех доноров во время постоянной стимуляции в присутствии резистентной к IMiD/CELMoD клеточной линии DF-15R и соединения А (1 нМ или 10 нМ).

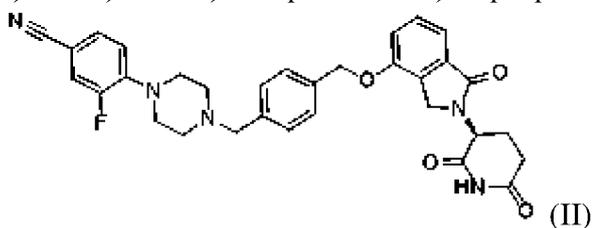
Подробное описание

[0067] В настоящем документе предложены комбинированные терапии, включающие введение иммунотерапии, затрагивающей функцию или активность Т-клеток, такой как Т-клеточная терапия, и (S)-3-[4-(4-морфолин-4-илметилбензилокси)-1-оксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил]-пиперидин-2,6-диона



или их фармацевтически приемлемой соли, сольвата, гидрата, стереоизомера, таутомера или рацемической смеси (**соединения А**) и их композиций для лечения субъектов, страдающих раком или пролиферативным заболеванием.

[0068] Также предложены комбинированные терапии, включающие введение иммунотерапии, затрагивающей функцию или активность Т-клеток, такой как Т-клеточная терапия, и (S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрила



или их фармацевтически приемлемой соли, сольвата, гидрата, стереоизомера, таутомера или рацемической смеси (**соединения В**) и их композиций для лечения субъектов, страдающих раком или пролиферативным заболеванием.

[0069] Среди предложенных вариантов осуществления, предложены комбинированные методы лечения, включающие Т-клеточную терапию, таргетирующую или направленную на ВСМА и ВСМА-экспрессирующие клетки и заболевания. Наблюдается, что ВСМА экспрессируется, например, гетерогенно экспрессируется при определенных заболеваниях и состояниях, таких как злокачественные новообразования или их ткани или клетки, например, на злокачественных плазматических клетках, например, у всех пациентов с рецидивирующей или недавно диагностированной миеломой, например, с небольшой экспрессией на нормальных тканях. Среди предложенных вариантов осуществления, предложены подходы, полезные для лечения таких заболеваний и состояний и/или для таргетирования таких типов клеток, включая молекулы нуклеиновых кислот, которые кодируют ВСМА-связывающие рецепторы, включая химерные антигенные рецепторы (CAR), и кодированные рецепторы, такие как кодированные CAR, а также композиции и готовые изделия, содержащие их. Рецепторы, как правило, могут содержать антигенсвязывающие домены, которые включают антитела (включая антигенсвязывающие фрагменты антител, такие как переменные области тяжелой цепи (V_H), однодоменные фрагменты антител и одноцепочечные фрагменты, включая scFv), специфичные для ВСМА. Также предложены клетки, такие как сконструированные или рекомбинантные клетки, экспрессирующие такие ВСМА-связывающие рецепторы, например, анти-ВСМА CAR и/или содержащие нуклеиновые кислоты, кодирующие такие рецепторы, а также композиции и готовые изделия и

терапевтические дозы, содержащие такие клетки, для применения в предложенных способах.

[0070] Среди заболеваний, подлежащих лечению, есть любое заболевание или нарушение, связанное с ВСМА, или любое заболевание или нарушение, при котором ВСМА специфически экспрессируется и/или при котором ВСМА является мишенью для лечения (также именуемые в настоящем документе взаимозаменяемо как «ВСМА-ассоциированное заболевание или нарушение»). Рак, связанный с экспрессией ВСМА, включает гематологические злокачественные новообразования, такие как множественная миелома, макроглобулинемия Вальденстрема, а также лимфомы Ходжкина и неходжкинские лимфомы. См. Coquery et al., Crit Rev Immunol., 2012, 32(4):287-305 для обзора ВСМА. Поскольку ВСМА участвует в опосредовании выживания опухолевых клеток, он является потенциальной мишенью для терапии рака. Ранее были описаны химерные антигенные рецепторы, содержащие антитела мыши против ВСМА человека, и клетки, экспрессирующие такие химерные рецепторы. См. Carpenter et al., Clin Cancer Res., 2013, 19(8):2048-2060.

[0071] В некоторых аспектах предложенные способы усиливают или модулируют пролиферацию и/или активность Т-клеточной активности, связанную с введением иммунотерапии или иммунотерапевтического агента, такого как композиция, включающая клетки для адоптивной клеточной терапии, например, такой как Т-клеточная терапия (*например*, CAR-экспрессирующие Т-клетки). В некоторых вариантах осуществления, комбинированная терапия включает введение иммуномодулирующего соединения, такого как структурный или функциональный аналог талидомида и/или ингибитора Е3-убиквитинлигазы, и введение Т-клеточной терапии, такой как композиция, содержащая клетки для адоптивной клеточной терапии, например, такой как Т-клеточная терапия (*например*, CAR-экспрессирующие Т-клетки).

[0072] (S)-3-[4-(4-морфолин-4-илметилбензилокси)-1-оксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил]пиперидин-2,6-дион (соединение А) представляет собой соединение, модулирующее лигазу цереблona Е3 (CELMoD). Соединение А модулирует CRBN, который индуцирует убиквитинирование факторов транскрипции Aiolos и Ikaros, усиливая их протеасомозависимую деградацию и усиливая функцию Т-клеток. Соединение А сильнее связывается с CRBN, более эффективно разрушает Aiolos и Ikaros, чем леналидомид и помалидомид, и обладает сильным прямым антипролиферативным действием на клетки лимфомы. Соединение А оказывает прямое антипролиферативное действие на клетки лимфомы. Как показано в настоящем документе, соединение А также усиливает функцию Т-клеток.

[0073] (S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил (соединение В) также является соединением, модулирующим лигазу цереблona Е3 (CELMoD), которое модулирует CRBN и индуцирует убиквитинирование факторов транскрипции Aiolos и Ikaros. Соединение В вызывает потерю Aiolos и Ikaros в культурах РВМС и приводит к активации

Т-клеток и увеличению продуцирования IL-2 и IFN- γ .

[0074] Терапия на основе Т-клеток, такая как адоптивная Т-клеточная терапия (включая те, которые включают введение клеток, экспрессирующих химерные рецепторы, специфичные для интересующего заболевания или нарушения, такие как химерные антигенные рецепторы (CAR) и/или другие рекомбинантные антигенные рецепторы, а также как другие адоптивные иммунные клетки и адоптивные Т-клетки) могут быть эффективны при лечении рака и других заболеваний и нарушений. Сконструированная экспрессия рекомбинантных рецепторов, таких как химерные антигенные рецепторы (CAR), на поверхности Т-клеток позволяет перенаправить специфичность Т-клеток.

[0075] В определенных контекстах, доступные подходы к адоптивной клеточной терапии не всегда могут быть полностью удовлетворительными. Например, в некоторых случаях, несмотря на то, что жизнестойкость CAR Т-клеток может быть обнаружена у многих субъектов, ответы у некоторых субъектов являются преходящими, и было показано, что субъекты рецидивируют в присутствии жизнестойких CAR Т-клеток.

[0076] В некоторых аспектах, объяснением этого является иммунологическое истощение циркулирующих CAR-экспрессирующих Т-клеток и/или изменения в популяциях Т-лимфоцитов. В некоторых случаях, оптимальная эффективность может зависеть от способности вводимых клеток распознавать и связываться с мишенью, *например*, антигеном-мишенью, транспортировать, локализовать и успешно проникать в соответствующие места внутри субъекта, опухоли и их окружения. В некоторых случаях, оптимальная эффективность может зависеть от способности введенных клеток активироваться, расширяться, выполнять различные эффекторные функции, включая цитотоксическое уничтожение и секрецию различных факторов, таких как цитокины, выживать, в том числе долговременно, дифференцировать, переходить или участвовать в перепрограммировании в определенные фенотипические состояния (такие как долгоживущая память, менее дифференцированные и эффекторные состояния), чтобы избежать или уменьшить иммунодепрессивные состояния в локальном микроокружении болезни, чтобы обеспечить эффективные и устойчивые вторичные ответы после устранения и повторное воздействия на лиганд или антиген-мишень, и избежать или снизить истощение, анергию, периферическую толерантность, терминальную дифференциацию и/или дифференциацию до депрессивного состояния.

[0077] В некоторых вариантах осуществления, воздействие и жизнестойкость сконструированных клеток уменьшаются или снижаются после введения субъекту. Тем не менее, наблюдения показывают, что, в некоторых случаях, повышенное воздействие на субъекта вводимых клеток, экспрессирующих рекомбинантные рецепторы (например, увеличение количества клеток или продолжительности с течением времени) может улучшать эффективность и терапевтические исходы при адоптивной клеточной терапии.

[0078] В некоторых вариантах осуществления, после долговременной стимуляции или воздействия антигена и/или воздействия в условиях микроокружения опухоли, Т-клетки могут со временем становиться гипофункциональными и/или проявлять признаки,

связанные с состоянием истощения. В некоторых аспектах, это снижает жизнестойкость и эффективность Т-клеток в отношении антигена и ограничивает их способность быть эффективными. Существует потребность в способах улучшения эффективности и функции CAR Т-клеток, в частности, для минимизации, уменьшения, профилактики или обращения вспять гипофункциональных или истощенных состояний.

[0079] Было показано, что соединения А и В непосредственно влияют на выживаемость злокачественных лимфоцитов посредством деградации факторов транскрипции семейства Ikaros. Молекулярная мишень для таких соединений была идентифицирована как белок Cereblon (CRBN), субстратный рецептор комплекса убиквитинлигазы Cullin 4 RING E3. Связывание с гидрофобным три-триптофановым карманом внутри CRBN способствует рекрутированию, убиквитинированию и последующей протеасомной деградации нескольких белковых субстратов, включая Aiolos (IKZF3) и Ikaros (IKZF1). Ikaros экспрессируется на незрелых стадиях миелоидной дифференциации и регулирует раннюю дифференциацию нейтрофилов (Dumortier et al. (2003) Blood 101:2219). Таким образом, в некоторых случаях истощение Ikaros, например, путем введения субъектам иммуномодулирующего соединения, например, соединения А или соединения В, может в некоторых случаях приводить к нейтропении.

[0080] В дополнение к своей автономной клеточной активности против злокачественных В-клеток, соединения, модулирующие лигазу E3, такие как соединение А или соединение В, также оказывают костимулирующее действие на иммунные клетки, такие как Т- и NK-клетки. Также было показано, что эта активность обусловлена опосредованной CRBN деградацией Aiolos и Ikaros, которые являются отрицательными регуляторами активационных молекул и цитокинов, таких как экспрессия интерлейкина-2 (IL-2). (Gandhi, Br J Haematol. 2014 Mar;164(6):811-21, Krönke, Oncoimmunology, 2014; 3(7): e941742.).

[0081] Предложенные способы основаны на наблюдениях, что иммуномодулирующее соединение, такое как соединение А и соединение В, улучшает функцию Т-клеток, включая функции, связанные со способностью продуцировать один или несколько цитокинов, цитотоксичностью, размножением, пролиферацией и жизнестойкостью Т-клеток. В некоторых аспектах, предложенные способы усиливают или модулируют пролиферацию и/или активность активности Т-клеток, связанную с введением Т-клеточной терапии (*например*, CAR-экспрессирующих Т-клеток). Обнаружено, что такие способы и применения обеспечивают или обеспечивают улучшенную или большую функциональность Т-клеток и, таким образом, повышенную противоопухолевую эффективность.

[0082] Здесь также обнаружено, что в дополнение к потенцированию Т-клеточной функции, такие иммуномодулирующие соединения, например, соединение А или соединение В, демонстрируют действие по обращению вспять, задержке или профилактике истощения Т-клеток, в том числе путем усиления передачи сигналов Т-клетками и/или изменения одного или нескольких генов, которые по-разному

регулируются после постоянной (долговременной) стимуляции. Таким образом, хотя в некоторых случаях агенты, которые повышают или потенцируют активность Т-клеток, могут доводить клетки до состояния истощения, здесь обнаружено, что активность таких иммуномодулирующих соединений, например соединения А или соединения В, по оказанию потенцирующего действия на активность Т-клеток, не связана с истощением Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления, предложенные способы, включающие введение таких иммуномодулирующих соединений, например соединения А или соединения В, способны усиливать активность наивных Т-клеток и отсрочивать, ограничивать, уменьшать, ингибировать или предотвращать истощение. Примечательно, что результаты в настоящем документе показывают, что воздействие иммуномодулирующего соединения, описанного в настоящем документе, такого как соединение А или соединение В, на Т-клетки, которые были постоянно стимулированы и демонстрируют признаки истощенных Т-клеток, способны восстанавливать активность или иметь восстановленную или частично восстановленную активность. Наблюдения в настоящем документе подтверждают, что предложенные способы могут также обеспечивать улучшенные или более устойчивые ответы по сравнению с некоторыми альтернативными способами, например, в определенных группах субъектов, получающих лечение.

[0083] Более того, наблюдения в настоящем документе показывают, что иммуномодулирующие соединения, например, соединение А или соединение В, демонстрируют активность по сохранению Т-клеток от Т-клеточного истощения, например, путем восстановления или частичного восстановления одной или нескольких активностей Т-клеток после того, как клетка демонстрирует признаки истощения. Примечательно, что результаты в настоящем документе показывают, что воздействие иммуномодулирующего соединения, описанного в настоящем документе, такого как соединение А или соединение В, на Т-клетки, которые были постоянно стимулированы и демонстрируют признаки истощенных Т-клеток, способны восстанавливать активность или иметь восстановленную или частично восстановленную активность. Эти результаты не наблюдаются с интерлейкином 2 (IL-2), который в некоторых случаях является нижестоящим модулятором, индуцируемым такими иммуномодулирующими соединениями. Наблюдения в настоящем документе подтверждают, что предложенные способы могут также обеспечивать улучшенные или более устойчивые ответы по сравнению с некоторыми альтернативными способами, например, в определенных группах субъектов, получающих лечение.

[0084] Эти наблюдения были сделаны с использованием анализа постоянной стимуляции, чтобы сделать CAR Т-клетки гипofункциональными (например, сниженный цитолиз и секреция IL-2). Используя эту модель, исследовали Т CAR -клетки для оценки влияния иммуномодулирующих соединений, которые ингибируют лигазу E3, например, соединения А или соединения В, на функцию CAR Т-клеток, когда они присутствуют во время (одновременно) или после (сохраняющего) воздействия условий, ведущих к

гипофункциональному, истощенному состоянию. При повторном заражении антигеном, результаты, представленные в настоящем документе, демонстрируют, что одновременное лечение CAR T-клеток в таких условиях обращало вспять активность и фенотипы, включая сигнатуры генов, связанные с гипофункцией CAR T-клеток, и сохраняло большую эффекторную функцию. Подобным образом, результаты показывают, что иммуномодулирующие соединения, которые ингибируют лигазу E3, например, соединение А или соединение В, могут сохранять или восстанавливать функцию Т-клеток, включая продуцирование цитокинов и цитолитическую активность истощенных Т-клеток. Кроме того, результаты наблюдались с разными антигенами-мишенями и разными CAR.

[0085] В некоторых вариантах осуществления, наблюдаемое действие на истощение Т-клеток иммуномодулирующих соединений, таких как соединение А или соединение В, не наблюдается и не индуцируется для IL-2. В некоторых вариантах осуществления, такое действие, как способность уменьшать, предотвращать или задерживать истощение Т-клеток или сохранять или восстанавливать активность Т-клеток в истощенных Т-клетках, не индуцируется физиологически значимым количеством или терапевтически эффективным количеством IL-2. В некоторых вариантах осуществления, действие, индуцируемое иммуномодулирующим соединением, например, соединением А или соединением В, такое как способность снижать, предотвращать или задерживать истощение Т-клеток или сохранять или восстанавливать активность Т-клеток в истощенных Т-клетках, индуцируется более чем или больше или примерно в 1,2, 2,0, 3, 4,0, 5,0, 6,0, 7,0, 10,0 или более раз, от наблюдаемого или индуцированного IL-2, таким как физиологически значимое количество или терапевтически эффективное количество IL-2.

[0086] Наблюдения, предложенные в настоящем документе, также демонстрируют, что иммуномодулирующие соединения, которые ингибируют лигазу E3, демонстрируют активность по увеличению продуцирования эффекторных цитокинов CAR T-клетками, в то же время замедляя скорость их пролиферации. Эти результаты не связаны с действием соединений на жизнеспособность Т-клеток. Это действие на пролиферацию наблюдали при различных концентрациях, и было обнаружено, что оно обусловлено накоплением Т-клеток в фазе G1. Это отделение продуцирования эффекторных цитокинов от скорости пролиферации может быть клинически полезным, например, за счет ограничения дифференциации Т-клеток *in vivo*, что может ограничить эффективность.

[0087] Предоставленные результаты показывают, что комбинированная терапия иммуномодулирующим соединением, таким как структурный или функциональный аналог или производное талидомида, и/или ингибитором убиквитинлигазы E3, например, соединением А или соединением В, или в способах с участием Т-клеток, таких как с участием введения адоптивной Т-клеточной терапии, обеспечивает улучшение функции Т-клеточной терапии, например, за счет потенцирования активности Т-клеток и уменьшения, предотвращения или замедления истощения Т-клеток или спасения клеток от истощения Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления, комбинация клеточной

терапии (например, введение сконструированных Т-клеток) с иммуномодулирующим соединением, *например*, соединением А или соединением В, улучшает или усиливает одну или несколько функций и/или эффектов Т-клеточной терапии, таких как жизнестойкость, размножение, цитотоксичность и/или терапевтические результаты, например, способность убивать или уменьшать бремя опухоли или другого заболевания или клетку-мишень.

[0088] В конкретных аспектах, в настоящем документе обнаружено, что иммуномодулирующее соединение, такое как структурный или функциональный аналог или производное талидомида и/или ингибитор убиквитинлигазы Е3, например, соединение А или соединение В, способствует продолжению функции и/или выживанию клеток Т-клеточной терапии (например, CAR-Т-клеток) после активации, в том числе после контакта с антигеном. В некоторых аспектах, соединение А или соединение В повышает способность таких Т-клеток выживать или функционировать в течение длительного времени, например, путем предотвращения истощения или гибели клеток. В конкретных вариантах осуществления, комбинированная терапия с иммуномодулирующим соединением, которое является ингибитором лигазы Е3, например, соединением А или соединением В, может обеспечить полезный терапевтический подход для усиления и продления активности CAR Т-клеток в отношении В-клеточных злокачественных новообразований путем модулирования микроокружения опухоли за счет улучшения стойкой противоопухолевой функции CAR Т-клеток. В некоторых случаях, соединение может также оказывать прямое противоопухолевое действие на клетки лимфомы. В некоторых вариантах осуществления, такие улучшения могут приводить к комбинированной терапии, демонстрирующей улучшенные общие ответы, например, снижение опухолевой массы и/или повышение выживаемости по сравнению с субъектами, получавшими монотерапию, включающую введение Т-клеточной терапии (например, CAR-Т-клеток) или иммуномодулирующего соединения (например, соединения А или соединения В) по отдельности. В некоторых аспектах, предложенные способы повышают общий ответ и/или выживаемость более чем в 1,5, 2,0, 3,0, 4,0, 5,0, 10 раз или более по сравнению с альтернативным лечением, например, по сравнению с монотерапией, включающей введение только Т-клеточной терапии (например, CAR-Т-клеток) или иммуномодулирующего соединения (например, соединения А или соединения В).

[0089] Предложенные способы включают введение описанного иммуномодулирующего соединения, например, соединения А или соединения В, в количестве, эффективном для проявления модулирующего действия на Т-клетки. В настоящем документе обнаружено, что определенные дозы типовых иммуномодулирующих соединений, как описано, например, соединения А или соединения В, увеличивают или улучшают функцию Т-клеток при Т-клеточной терапии, например, при терапии CAR-Т-клетками. В некоторых случаях, слишком высокие дозы могут негативно повлиять на функцию Т-клеток. Как показано в настоящем документе,

длительное лечение соединением А в физиологически значимых концентрациях (10 или 100 нМ) может увеличить долгосрочный пролиферативный потенциал CAR-экспрессирующих Т-клеток, в то время как более высокие концентрации, например, такие как точно или примерно 500 мМ, могут быть вредными для долгосрочной эффективности продукта. В некоторых вариантах осуществления, доза Соединения А, которую вводят, составляет от или от примерно 1 мг до примерно 10 мг, например, от или от примерно 1 мг до примерно 5 мг. Дозу можно вводить ежедневно в виде курса лечения или курсовой схемы.

[0090] В конкретных вариантах осуществления, Соединение А или Соединение В можно использовать в любом из предложенных способов. В некоторых вариантах осуществления, предложенные способы включают введение соединения А или соединения В в количестве, эффективном для проявления модулирующего действия на Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления, вводимая доза соединения А составляет от или от примерно 0,1 мг до примерно 1 мг, например, от или от примерно 0,3 мг до примерно 0,6 мг. В некоторых вариантах осуществления, вводимая доза соединения В составляет от или от примерно 0,1 мг до примерно 1 мг, например, от или от примерно 0,3 мг до примерно 0,6 мг. Дозу можно вводить ежедневно в виде курса лечения или курсовой схемы.

[0091] В некоторых вариантах осуществления, комбинация с иммуномодулирующим соединением, улучшая один или несколько исходов или функциональных характеристик, не влияет на один или несколько побочных эффектов или нежелательных изменений в Т-клетках, например, не снижает способность клеток активироваться, секретировать один или несколько желаемых цитокинов, размножаться и/или сохраняться, например, по данным анализа *in vitro*, по сравнению с такими клетками, культивируемыми в других условиях, но в отсутствие иммуномодулирующего соединения. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления, предложены способы и комбинации, которые приводят к улучшению функции или фенотипа Т-клеток, например, внутренней функциональности Т-клеток и/или внутреннего фенотипа Т-клеток, как правило, без ущерба для одного или нескольких других желаемых свойств функциональности, например, функциональности CAR Т-клеток.

[0092] В некоторых вариантах осуществления, предложенные способы могут потенцировать Т-клеточную терапию, например, CAR-Т-клеточную терапию, что в некоторых аспектах, может улучшить результаты лечения. В некоторых вариантах осуществления, способы являются особенно полезными для субъектов, у которых клетки Т-клеточной терапии демонстрируют слабую экспансию, истощены, демонстрируют сниженную или уменьшенную персистенцию у субъекта и/или у субъектов, у которых рак является резистентным или не трудно поддается другим терапиям, является агрессивным раком или раком высокого риска и/или который имеет или может демонстрировать относительно более низкую скорость ответа на терапию CAR-Т-клетками, вводимую без иммуномодулирующего соединения, по сравнению с другим типом рака или по

сравнению с введением с другой терапией CAR-T-клетками.

[0093] В некоторых вариантах осуществления, предложенные способы применяют в то время, когда терапия Т-клетками (например, CAR Т-клетками) может демонстрировать или вероятно будет демонстрировать признаки истощения. В некоторых вариантах осуществления, фенотип истощения демонстрируется после того, как Т-клетки, достигшие пика размножения, начинают снижаться в количестве в крови субъекта. В некоторых вариантах осуществления, способы воздействия или контакт Т-клеток Т-клеточной терапии (CAR Т-клеток) с иммуномодулирующим соединением, которое ингибирует лигазу E3, например, соединением А или соединением В, осуществляют в то время, когда Т-клетки демонстрируют увеличение гипofункционального или истощенного состояния по сравнению с моментом времени, непосредственно предшествующим воздействию антигена на Т-клетки (базовый уровень), или с моментом времени, когда клетки подвергались воздействию антигена, но продолжают пролиферировать и не еще не достигли пика размножения. В некоторых вариантах осуществления, увеличение гипofункционального состояния или состояния истощения можно определить по повышенной экспрессии маркера истощения по сравнению с предыдущим более ранним моментом времени. В некоторых вариантах осуществления, увеличение гипofункционального состояния или состояния истощения, такое как увеличение экспрессии маркера истощения, происходит во время после введения Т-клеточной терапии (например, CAR-Т-клеток) субъекту, имеющему заболевание или состояние, связанное с антигеном, который таргетирует Т-клеточная терапия. Т-клетки, такие как Т-клетки в периферической крови после введения субъекту, можно отслеживать на наличие маркеров активации или истощения Т-клеток, таких как PD-1, TIM-3 и LAG-3.

[0094] В некоторых аспектах, предложенные способы могут усиливать, повышать или потенцировать Т-клеточную терапию, например, для преодоления недостаточной жизнестойкости и/или истощения Т-клеток, например, у субъектов, у которых на точно или примерно 12-15 день после инициации введения Т-клеточной терапии, в крови обнаруживаются менее 10 мкл, например, менее 5 мкл или менее 1 мкл таких клеток или их CD8⁺ или CD3⁺ субпопуляции. В некоторых вариантах осуществления, субъекта, получившего Т-клеточную терапию, например, CAR-Т-клетки, отслеживают на наличие, отсутствие или уровень Т-клеток для терапии у субъекта, например, в биологическом образце субъекта, например, в крови субъекта. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, такое как структурный или функциональный аналог или производное талидомида и/или ингибитора E3 убиквитинлигазы, например, соединение А или соединение В, вводят субъекту, получившему Т-клеточную терапию (например, CAR-Т-клетки), но у которого такие клетки слабо размножаются и/или находятся на уровне или ниже порогового уровня в образце субъекта, например, образце крови, в то время, когда сильное или устойчивое размножение CAR-Т-клеток у субъекта обычно наблюдается у множества субъектов, которым вводят Т-клеточную терапию (например, CAR-Т), в некоторых случаях, ту же самую Т-клеточную терапию (например,

одни и те же CAR-T-клетки). В некоторых аспектах, иммуномодулирующее соединение, такое как структурный или функциональный аналог или производное талидомида и/или ингибитор убиквитинлигазы E3, например, соединение А или соединение В, вводят, если на точно или примерно 12-15 день после инициации введения Т-клеточной терапии, в крови обнаруживается менее 10 мкл, например, менее 5 мкл или менее 1 мкл таких клеток, или их CD8⁺ или CD3⁺ субпопуляции.

[0095] В некоторых аспектах, предложенные способы могут усилить, увеличить или потенцировать Т-клеточную терапию у субъектов, у которых наблюдался пиковый ответ на Т-клеточную терапию, но у которых ответ, например наличие Т-клеток и/или снижение опухолевой массы, уменьшился или перестал обнаруживаться. В некоторых аспектах, иммуномодулирующее соединение, такое как структурный или функциональный аналог или производное талидомида и/или ингибитор убиквитинлигазы E3, например, соединение А или соединение В, вводят субъекту в течение недели, например, через 1, 2 или 3 дня после того, как: (i) пик или максимальный уровень клеток Т-клеточной терапии обнаруживается в крови субъекта; (ii) количество клеток Т-клеточной терапии, обнаруживаемых в крови, после того, как они были обнаружены в крови, не обнаруживается или снижается, необязательно снижается по сравнению с предшествующим моментом времени после введения Т-клеточной терапии; (iii) количество клеток Т-клеточной терапии, обнаруживаемое в крови, снижается более чем в 1,5, 2,0, 3,0, 4,0, 5,0, 10 или более раз от пика или максимального количества клеток Т-клеточной терапии, обнаруживаемого в крови субъекта после начала введения Т-клеточной терапии; (iv) пиковый или максимальный уровень клеток Т-клеточной терапии обнаруживается в крови субъекта, количество клеток или производных Т-клеток, обнаруживаемых в крови субъекта, составляет менее 10%, менее 5%, менее 1% или менее 0,1% от общего количества мононуклеарных клеток периферической крови (РВМС) в крови субъекта; (v) у субъекта наблюдается прогрессирование заболевания и/или рецидив после ремиссии после лечения Т-клетками; и/или (iv) у субъекта наблюдается повышенная опухолевая масса по сравнению с опухолевой массой во время до или после введения Т-клеток и до начала введения иммуномодулирующего соединения.

[0096] В некоторых вариантах осуществления, способы можно использовать для лечения заболевания или состояния, например, множественной миеломы, такой как рецидивирующая/трудно поддающаяся лечению множественная миелома. В некоторых вариантах осуществления, способы могут быть использованы для лечения таких заболеваний, состояний или злокачественных новообразований, при которых ответ, например полный ответ, на лечение только Т-клеточной терапией, такой как композиция, включающая клетки для адоптивной клеточной терапии, например, такой как Т-клеточная терапия (*например*, CAR-экспрессирующие Т-клетки) является относительно низким по сравнению с лечением другими видами Т-клеточной терапии или лечением других заболеваний или злокачественных новообразований (*например*, CR составляет менее или менее примерно 60%, менее примерно 50% или менее примерно 45% субъектов,

получавших такое лечение) и/или где субъект не отвечает на лечение иммуномодулирующим соединением, таким как структурный или функциональный аналог или производное талидомида и/или ингибитор убиквитинлигазы E3, например, соединение А или соединение В, по отдельности.

[0097] В некоторых вариантах осуществления, комбинированная терапия, предложенная в настоящем документе, предназначена для применения у субъекта, имеющего рак, где после начала введения Т-клеточной терапии, такой как композиция, включающая клетки для адоптивной клеточной терапии, например, CAR-экспрессирующие Т-клетки, у субъекта возник рецидив после ремиссии после лечения Т-клеточной терапией. В некоторых вариантах осуществления, субъектам, у которых произошел рецидив после такой ремиссии, вводят иммуномодулирующее соединение, такое как структурный или функциональный аналог или производное талидомида и/или ингибитор убиквитинлигазы E3, например, соединение А или соединение В. В некоторых вариантах осуществления, комбинированная терапия, предложенная в настоящем документе, предназначена для применения у субъекта, страдающего заболеванием или состоянием, например раком, при котором количество вводимого иммуномодулирующего соединения является недостаточным, в качестве единственного агента и/или в отсутствие введения Т-клеточной терапии, для облегчения, уменьшения или профилактики заболевания или состояния, или его симптома, или его исхода, например, является недостаточным для улучшения, уменьшения или профилактики заболевания или патологического состояния у субъекта, или его симптома, или исхода. В некоторых вариантах осуществления, способ таким образом уменьшает или улучшает симптом, исход или бремя заболевания или состояния до степени, превышающей комбинацию (i) степени уменьшения или улучшения, вызванного введением только иммуномодулирующего агента, необязательно в среднем в популяции субъектов, страдающих заболеванием или патологическим состоянием, и (ii) степени уменьшения или улучшения при введении только Т-клеточной терапии, необязательно в среднем в популяции субъектов, страдающих заболеванием или патологическим состоянием. В некоторых вариантах осуществления, способ уменьшает или облегчает такие симптомы, исходы или бремя заболевания, например, по сравнению со средним показателем в популяции субъектов, страдающих заболеванием или состоянием, более чем или более чем примерно в 1,5 раза, 2,0 раза, 3,0 раза, 4,0 раза, 5,0 раз, 6,0 раз, 7,0 раз, 8,0 раз, 9,0 раз, 10,0 раз, 20,0 раз, 30,0 раз, 40,0 раз, 50,0 раз или более.

[0098] В некоторых вариантах осуществления предложенных способов, одно или несколько свойств вводимых генетически сконструированных клеток могут быть улучшены или повышены или увеличены по сравнению с вводимыми клетками эталонной композиции, например, повышенное или более длительное размножение и/или жизнестойкость таких вводимых клеток у субъекта, или повышенный или более выраженный повторный ответ при повторной стимуляции антигеном. В некоторых вариантах осуществления, увеличение может быть, по меньшей мере, в 1,2 раза, по

меньшей мере, в 1,5 раза, по меньшей мере, в 2 раза, по меньшей мере, в 3 раза, по меньшей мере, в 4 раза, по меньшей мере, в 5 раз, по меньшей мере, в 6 раз, по меньшей мере, в 7 раз, по меньшей мере, в 8 раз, по меньшей мере, в 9 раз или по меньшей мере, в 10 раз увеличением такого свойства или признака по сравнению с таким же свойством или признаком при введении эталонной клеточной композиции. В некоторых вариантах осуществления, увеличение одного или нескольких таких свойств или признаков может наблюдаться или присутствует в течение 7 дней, 14 дней, 21 дня, в течение одного месяца, двух месяцев, трех месяцев, четырех месяцев, пяти месяцев, шести месяцев или 12 месяцев после введения генетически сконструированных клеток и начала введения иммуномодулирующего соединения, такого как структурный или функциональный аналог или производное талидомида и/или ингибитора убиквитинлигазы E3, например, соединение А или соединение В.

[0099] В некоторых вариантах осуществления, Соединение А вводят в количестве от точно или примерно 0,1 мг до точно или примерно 1 мг. Дозу можно вводить ежедневно по курсовой схеме. В некоторых аспектах, предложенные способы осуществляют путем введения количества соединения, которое составляет или составляет менее 1 мг в день, например, составляет или составляет примерно 0,9 мг, 0,8 мг, 0,7 мг, 0,6 мг, 0,5 мг, 0,4 мг, мг, 0,3 мг, 0,2 мг или 0,1 мг или любое значение между любым из вышеуказанных. В некоторых вариантах осуществления, соединение А вводят в дозе точно или примерно 0,3 мг в день. В некоторых вариантах осуществления, соединение А вводят в дозе точно или примерно 0,45 мг в день. В некоторых вариантах осуществления, соединение А вводят в дозе точно или примерно 0,6 мг в день.

[00100] В некоторых вариантах осуществления, соединение А вводят субъекту через достаточное время после проведения противолимфомной терапии, так что миелодепрессивные эффекты соединения А и противолимфомной терапии сведены к минимуму.

[00101] В некоторых вариантах осуществления, предложенные способы применяют в то время, когда Т-клеточная терапия (например, CAR Т-клетками) может демонстрировать или вероятно будет демонстрировать признаки истощения. В некоторых вариантах осуществления, истощающий фенотип очевиден после того, как Т-клетки, достигшие пика размножения, начинают снижаться в количестве в крови субъекта. В некоторых вариантах осуществления, способы воздействия или контакта Т-клеток Т-клеточной терапии (CAR Т-клеток) с соединением А осуществляют в то время, когда Т-клетки демонстрируют увеличение гипофункционального или истощенного состояния по сравнению с временем непосредственно перед воздействием антигена на Т-клетки (базовый уровень) или до момента времени, когда клетки подвергались воздействию антигена, но продолжают размножаться и еще не достигли пика размножения. В некоторых вариантах осуществления, увеличение гипофункционального состояния или состояния истощения можно определить по повышенной экспрессии маркера истощения по сравнению с предыдущим более ранним моментом времени. В некоторых вариантах

осуществления, увеличение гипофункционального состояния или состояния истощения, такого как увеличение экспрессии маркера истощения, происходит во время после введения Т-клеточной терапии (например, CAR-T-клеток) субъекту, имеющему заболевание или состояние, связанное с антигеном, который таргетирует Т-клеточная терапия. Т-клетки, такие как Т-клетки в периферической крови после введения субъекту, можно отслеживать на наличие маркеров активации или истощения Т-клеток, таких как PD-1, TIM-3 и LAG-3.

[00102] В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А начинают во время, которое является или предполагается или может быть до или примерно во время пика CAR-T-клеток в крови субъекта, например, в течение 21 дня после начала введения Т-клетки. В некоторых случаях, пик CAR-T-клеток присутствует в течение 11-15 дней после введения CAR-T-клеток. В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А начинают в период от 1 до 15 дней, например, точно или примерно 1 день или 8 дней или 15 дней после начала введения клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, соединение А вводят в то время, когда субъект не демонстрирует тяжелой токсичности после введения клеточной терапии.

[00103] В некоторых аспектах, в любом из предложенных способов, введение соединения начинают (или иницируют) в течение 21 дня после введения Т-клеточной терапии и осуществляют по курсовой схеме, включающей: первый период введения, в течение которого соединение вводят ежедневно в дозе от примерно 0,1 мг до примерно 1,0 мг в день в течение до трех недель подряд, период паузы, начинающийся в конце первого периода введения в течение, по меньшей мере, одной недели, в течение которого соединение не вводят, и второй период введения, включающий четырехнедельные курсы, в течение которых соединение вводят ежедневно в дозе от примерно 0,1 мг до примерно 1,0 мг в день в течение трех недель подряд в течение четырехнедельного периода. В некоторых вариантах осуществления, соединение вводят в дозе примерно 0,30 мг, 0,45 мг или 0,60 мг в день в течение первого периода введения и второго периода введения.

[00104] В некоторых вариантах осуществления, предложенные способы не приводят к высокой степени или вероятности токсичности или токсических исходов или снижают частоту или вероятность токсичности или токсических исходов, таких как нейротоксичность (NT), синдром высвобождения цитокинов (CRS) или гематологическая токсичность, такая как нейтропения, например, по сравнению с некоторыми другими клеточными терапиями или схемами иммуномодулирующих препаратов.

[00105] В некоторых вариантах осуществления, способы не приводят или не повышают риск определенных гематологических токсических эффектов, таких как нейтропения или тромбоцитопения. В некоторых вариантах осуществления, не более чем 50% субъектов демонстрируют нейтропению выше 3 степени, например, пролонгированную нейтропению 3 степени или нейтропению 4 степени, и/или тромбоцитопению выше 3 степени, например, тромбоцитопению 3 степени или 4 степени. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, 50% субъектов, получавших

лечение по способу (например, по меньшей мере, 60%, по меньшей мере, 70%, по меньшей мере, 80%, по меньшей мере, 90% или более субъектов, получавших лечение) не демонстрируют тяжелую нейтропению или тяжелую тромбоцитопению 3 степени или выше 3 степени.

[00106] В некоторых вариантах осуществления, способы не приводят или не увеличивают риск развития тяжелой NT (sNT), тяжелого CRS (sCRS), синдрома активации макрофагов, синдрома лизиса опухоли, лихорадки, по меньшей мере, точно или примерно 38 градусов Цельсия в течение трех или нескольких дней и уровень CRP в плазме, по меньшей мере, точно или примерно 20 мг/дл. В некоторых вариантах осуществления, более или более примерно 30%, 35%, 40%, 50%, 55%, 60% или более субъектов, получавших лечение в соответствии с предложенными способами, не демонстрируют какой-либо степени CRS или какой-либо степени нейротоксичности. В некоторых вариантах осуществления, не более чем у 50% пролеченных субъектов (например, по меньшей мере, у 60%, по меньшей мере, у 70%, по меньшей мере, у 80%, по меньшей мере, у 90% или более пролеченных субъектов) наблюдается синдром высвобождения цитокинов (CRS) выше 2 степени и/или нейротоксичность выше 2 степени. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, 50% субъектов, получавших лечение в соответствии с данным способом (например, по меньшей мере, 60%, по меньшей мере, 70%, по меньшей мере, 80%, по меньшей мере, 90% или более пролеченных субъектов) не демонстрируют тяжелый токсический исход (например, тяжелый CRS или тяжелую нейротоксичность), например, не демонстрируют нейротоксичность 3 степени или выше и/или не демонстрируют тяжелый CRS или не демонстрируют их в течение определенного периода времени после лечения, например, в течение недели, двух недель или одного месяца после введения клеток.

[00107] В некоторых случаях, соединение А вводят в то время, когда оно может производительно/эффективно стимулировать или примировать клетки. В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А начинают в момент или до того, как пик или максимальный уровень клеток клеточной терапии обнаруживается в крови субъекта. В некоторых вариантах осуществления, предложенные способы могут потенцировать Т-клеточную терапию, например, CAR-Т-клеточную терапию, что, в некоторых аспектах, может улучшить исходы лечения. В некоторых вариантах осуществления, способы являются особенно полезными для субъектов, у которых клетки Т-клеточной терапии демонстрируют слабое размножение, становятся истощенными, демонстрируют сниженную или уменьшенную жизнестойкость у субъекта и/или у субъектов, у которых рак является резистентным или трудно поддается лечению другими терапиями и/или является агрессивным раком или раком высокого риска.

[00108] В некоторых вариантах осуществления, субъекта, получивший Т-клеточную терапию, например, CAR-Т-клетки, отслеживают на наличие, отсутствие или уровень Т-клеток терапии у субъекта, например, в биологическом образце субъекта, например, в крови субъекта. В некоторых вариантах осуществления, предложенные

способы приводят к получению генетически сконструированной клетки с повышенной жизнестойкостью и/или большей эффективностью у субъекта, которому ее вводят. В некоторых вариантах осуществления, жизнестойкость генетически сконструированных клеток, таких как CAR-экспрессирующие Т-клетки, у субъекта выше по сравнению с той, которая была бы достигнута альтернативными способами, такими как способы, включающие введение Т-клеточной терапии, но без введения соединения А. В некоторых вариантах осуществления, жизнестойкость увеличивается, по меньшей мере, или примерно, по меньшей мере, в 1,5 раза, 2 раза, 3 раза, 4 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз, 10 раз, 20 раз, 30 раз, 50 раз, 60 раз, 70 раз, 80 раз, 90 раз, 100 раз или более.

[00109] В некоторых вариантах осуществления, степень или величину жизнестойкости введенных клеток можно определить или количественно определить после введения субъекту. Например, в некоторых аспектах, количественная ПЦР (кПЦР) используется для оценки количества клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например, CAR-экспрессирующих клеток), в крови или сыворотке, или органе, или ткани (например, очаге заболевания) субъекта. В некоторых аспектах, жизнестойкость количественно определяется как количество копий ДНК или плазмиды, кодирующей рецептор, например, CAR, на микрограмм ДНК, или как количество экспрессирующих рецептор, например, CAR-экспрессирующих клеток на микролитр образца, например, крови или сыворотки, или на общее количество мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC), или лейкоцитов, или Т-клеток на микролитр образца. В некоторых вариантах осуществления, также можно проводить проточные цитометрические анализы, определяющие клетки, экспрессирующие рецептор, как правило, с использованием антител, специфичных к рецепторам. Клеточные анализы также можно использовать для определения количества или доли функциональных клеток, таких как клетки, способные связываться и/или нейтрализовать, и/или индуцировать ответы, например, цитотоксические ответы, против клеток заболевания или состояния или экспрессирующих антиген, распознаваемый рецептором. В любом из таких вариантов осуществления, степень или уровень экспрессии другого маркера, связанного с рекомбинантным рецептором (например, CAR-экспрессирующих клеток), можно использовать для того, чтобы отличить введенные клетки от эндогенных клеток у субъекта.

[00110] В некоторых вариантах осуществления, соединение А вводят в течение периода времени для усиления, повышения или оптимизации продолжительности ответа. В некоторых аспектах, предложенные способы основаны на наблюдениях за тем, что субъекты, достигшие или находящиеся в полной ремиссии (CR) через 3 месяца, например, как правило, через 6 месяцев, с большей вероятностью сохраняют ответ в более долгосрочной перспективе, например, выживут или выживут без прогрессирования в течение более трех месяцев, четырех месяцев, пяти месяцев, шести месяцев, семи месяцев, восьми месяцев, девяти месяцев, десяти месяцев, одиннадцати месяцев или двенадцати месяцев после окончания лечения или после первого достижения полного ответа (CR)) после введения комбинированной терапии. В некоторых аспектах, способы

осуществляются для введения соединения А, например, в соответствии с конкретной курсовой схемой, как описано, в течение периода времени, который составляет, по меньшей мере, 3 месяца, например, по меньшей мере, четыре месяца, по меньшей мере, пять месяцев или, по меньшей мере, шесть месяцев после начала введения Т-клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, соединение А вводят, например, по определенной курсовой схеме, как описано, в течение, по меньшей мере, шести месяцев или, по меньшей мере, 180 дней после начала введения Т-клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, в конце периода, введение соединения А прекращают или останавливают, если у субъекта наблюдается CR или если заболевание или состояние прогрессирует или рецидивирует у субъекта после ремиссии после лечения (комбинированной терапией). В некоторых аспектах, продолжающееся введение соединения А можно проводить субъектам, у которых в конце периода времени (например, через точно или примерно 6 месяцев) наблюдается частичный ответ (PR) или стабильное заболевание (SD). В других аспектах, период времени представляет собой фиксированную продолжительность, и дальнейшее введение соединения А не проводится.

[00111] В некоторых аспектах, предложенные способы и применения обеспечивают или достигают улучшенных или более устойчивых ответов или эффективности по сравнению с некоторыми альтернативными способами, *например* способами, которые включают введение Т-клеточной терапии или соединения А в качестве монотерапии или без введения в виде комбинированной терапии вместе, как описано в настоящем документе, например, в конкретных группах субъектов, получающих лечение. В некоторых вариантах осуществления, способы выгодны благодаря введению Т-клеточной терапии, такой как композиция, включающая клетки для адоптивной клеточной терапии, *например*, такой как Т-клеточная терапия (*например*, CAR-экспрессирующие Т-клетки), и соединение А. В некоторых вариантах осуществления, такие ответы наблюдаются у пациентов с высоким риском и плохим прогнозом, например, с множественной миеломой, которая рецидивирует или является трудно поддающейся лечению (R/R) стандартной терапией или имеет плохой прогноз.

[00112] В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, 35%, по меньшей мере, 40%, по меньшей мере, 50%, по меньшей мере, 55%, по меньшей мере, 60%, по меньшей мере, 65%, по меньшей мере, 70% или по меньшей мере, 75% или более субъектов, получавших лечение в соответствии с предложенными способами и/или с помощью предложенных готовых изделий, наборов или композиций, достигают полного ответа (CR). В некоторых вариантах осуществления, субъект находится в CR и демонстрирует минимальную остаточную болезнь (MRD). В некоторых вариантах осуществления, субъект находится в CR и имеет MRD-. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, 50%, по меньшей мере, 60%, по меньшей мере, 70%, по меньшей мере, 80% или, по меньшей мере, 90% субъектов, получавших лечение в соответствии с предложенными способами и/или с помощью предложенных готовых изделий, наборов или композиций, достигают объективного ответа частичного ответа

(PR). В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, 60%, по меньшей мере, 70%, по меньшей мере, 80%, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95% или более субъектов, получавших лечение в соответствии с предложенными способами и/или с помощью предложенных готовых изделий, наборов или композиций, достигают CR или PR через шесть месяцев, через семь месяцев, через восемь месяцев, через девять месяцев, через десять месяцев, через одиннадцать месяцев или через год после начала введения клеточной терапии.

[00113] В некоторых вариантах осуществления, через три месяца, четыре месяца, пять месяцев, шесть месяцев, семь месяцев, восемь месяцев, девять месяцев, десять месяцев, одиннадцать месяцев или двенадцать месяцев или более после начала введения клеточной терапии, по меньшей мере, 60%, по меньшей мере, 70%, по меньшей мере, 80%, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95% или более субъектов, получавших лечение в соответствии с предложенными способами и/или с помощью предложенных готовых изделий, наборов или композиций, остаются в ответе, например, остаются в CR или объективном ответе (OR). В некоторых вариантах осуществления, такой ответ, такой как CR или OR, сохраняется в течение, по меньшей мере, трех месяцев, четырех месяцев, пяти месяцев, шести месяцев, семи месяцев, восьми месяцев, девяти месяцев, десяти месяцев, одиннадцати месяцев, двенадцати месяцев или более, например, по меньшей мере, или примерно, по меньшей мере, 60%, по меньшей мере, 70%, по меньшей мере, 80%, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95% или более субъектов, получавших лечение в соответствии с предложенными способами, или таких субъектов, достигают CR к трем месяцам, четырем месяцам, пяти месяцам или шести месяцам. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, 60%, по меньшей мере, 70%, по меньшей мере, 80%, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95% или более субъектов, получавших лечение в соответствии с предложенными способами и/или с помощью предложенных готовых изделий, наборов или композиций, или субъектов, которые достигли CR через три месяца, четыре месяца, пять месяцев или шесть месяцев, выживают или выживают без прогрессирования в течение более или более примерно шести месяцев, семи месяцев, восьми месяцев, девяти месяцев, десяти месяцев, одиннадцати месяцев, двенадцати месяцев или дольше.

[00114] В некоторых вариантах осуществления, эталонная клеточная композиция может представлять собой композицию Т-клеток из крови субъекта, не имеющего или не подозреваемого в наличии рака, или представляет собой популяцию Т-клеток, полученную, выделенную, созданную, продуцированную, инкубированную и/или введенную в тех же или по существу тех же условиях, за исключением того, что они не инкубировались или не вводились в присутствии иммуномодулирующего соединения. В некоторых вариантах осуществления, эталонная клеточная композиция содержит генетически сконструированные клетки, которые являются по существу такими же, включая экспрессию одного и того же рекомбинантного рецептора, например, CAR. В некоторых аспектах, такие Т-клетки обрабатывают идентично или по существу

идентично, например, изготавливают аналогичным образом, составляют аналогичным образом, вводят в одинаковой или примерно одинаковой дозировке и другие подобные факторы.

[00115] В некоторых вариантах осуществления, предложенные способы приводят к получению генетически сконструированной клетки с повышенной жизнестойкостью и/или большей эффективностью у субъекта, которому ее вводят. В некоторых вариантах осуществления, жизнестойкость генетически сконструированных клеток, таких как CAR-экспрессирующие Т-клетки, у субъекта выше по сравнению с жизнестойкостью, которая может быть достигнута альтернативными способами, такими как те, которые включают введение композиции эталонных клеток, например введение Т-клеточной терапии, но без введения иммуномодулирующего соединения. В некоторых вариантах осуществления, жизнестойкость увеличивается, по меньшей мере, или примерно, по меньшей мере, в 1,5 раза, 2 раза, 3 раза, 4 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз, 10 раз, 20 раз, 30 раз, 50 раз, 60 раз, 70 раз, 80 раз, 90 раз, 100 раз или более.

[00116] В некоторых вариантах осуществления, степень или значение жизнестойкости введенных клеток можно определить или количественно определить после введения субъекту. Например, в некоторых аспектах, количественная ПЦР (кПЦР) используется для оценки количества клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например, клеток, CAR-экспрессирующих), в крови или сыворотке, или органе, или ткани (например, очаге заболевания) субъекта. В некоторых аспектах, жизнестойкость количественно определяется как количество копий ДНК или плазмиды, кодирующей рецептор, например, CAR, на микрограмм ДНК, или как количество клеток, экспрессирующих рецептор, например, CAR-экспрессирующих, на микролитр образца, например, крови или сыворотки, или на общее количество мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC), или лейкоцитов, или Т-клеток на микролитр образца. В некоторых вариантах осуществления, также можно проводить проточные цитометрические анализы, выявляющие клетки, экспрессирующие рецептор, как правило, с использованием антител, специфичных к рецепторам. Клеточные анализы также можно использовать для определения количества или доли функциональных клеток, таких как клетки, способные связываться и/или нейтрализовать и/или индуцировать ответы, например, цитотоксические ответы, против клеток заболевания или состояния или экспрессирующих антиген, распознаваемый рецептором. В любом из таких вариантов осуществления, степень или уровень экспрессии другого маркера, связанного с рекомбинантным рецептором (например, CAR-экспрессирующих клеток), можно использовать для того, чтобы отличить введенные клетки от эндогенных клеток у субъекта.

[00117] Также предложены способы конструирования, подготовки и получения клеток, композиции, содержащие клетки и/или иммуномодулирующее соединение, и наборы и устройства, содержащие и предназначенные для использования, получения и введения клеток и/или иммуномодулирующего соединения, например, в соответствии с

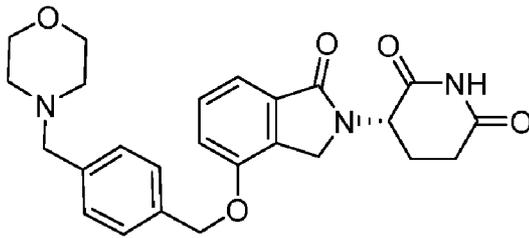
предложенными комбинированными способами терапии.

[00118] Все публикации, включая патентные документы, научные статьи и базы данных, упомянутые в настоящей заявке, полностью включены посредством ссылки для всех целей в той же степени, как если бы каждая отдельная публикация была включена посредством ссылки по отдельности. Если определение, изложенное в настоящем документе, противоречит или иным образом несовместимо с определением, изложенным в патентах, заявках, опубликованных заявках и других публикациях, которые включены в настоящий документ посредством ссылки, определение, изложенное в настоящем документе, имеет преимущественную силу над определением, которое включено в настоящий документ посредством ссылки.

[00119] Заголовки разделов, используемые в настоящем документе, предназначены только для организационных целей и не должны рассматриваться как ограничивающие описываемый объект.

I. КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ

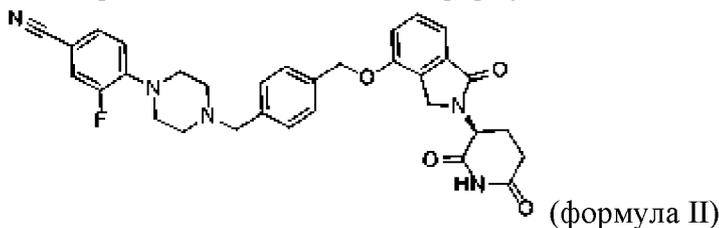
[00120] Предложены способы и применение сконструированных клеток, таких как Т-клетки (*например*, CAR-Т-клетки) в комбинации с (S)-3-[4-(4-морфолин-4-илметилбензилокси)-1-оксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил]пиперидин-2,6-дионом или соединением формулы I



(формула I)

[00121] или его фармацевтически приемлемой солью, сольватом, гидратом, стереоизомером, таутомером или рацемической смесью (соединением А), включая его композиции, для лечения субъектов, больных раком. В конкретных вариантах осуществления, способы предназначены для лечения множественной миеломы. В некоторых вариантах осуществления, множественная миелома представляет собой рецидивирующую или трудно поддающуюся лечению множественную миелому.

[00122] Также предложены способы и применение сконструированных клеток, таких как Т-клетки (*например*, CAR-Т-клетки) в комбинации с (S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрилом или соединением формулы II



(формула II)

или его фармацевтически приемлемой солью, сольватом, гидратом,

стереоизомером, таутомером или рацемической смесью (соединение В), включая его композиции, для лечения субъектов, больных раком. В конкретных вариантах осуществления, способы предназначены для лечения множественной миеломы. В некоторых вариантах осуществления, множественная миелома представляет собой рецидивирующую или трудно поддающуюся лечению множественную миелому.

[00123] В некоторых вариантах осуществления, клеточная терапия представляет собой адоптивную клеточную терапию. В некоторых вариантах осуществления, клеточная терапия представляет собой или включает терапию инфильтрирующими опухоль лимфоцитами (TIL), терапию трансгенными TCR или терапию рекомбинантными рецепторами, экспрессирующими клетки (необязательно Т-клеточную терапию), которые необязательно представляют собой химерный антигенный рецептор (CAR)-экспрессирующую клеточную терапию. В некоторых вариантах осуществления, терапия представляет собой В-клеточную таргетную терапию. В некоторых вариантах осуществления, терапия таргетирует антиген созревания В-клеток (BCMA). В некоторых вариантах осуществления, клетки и схемы дозирования для введения клеток могут включать любые из описанных в следующем подразделе А в разделе «Введение Т-клеточной терапии».

[00124] В некоторых вариантах осуществления, схемы дозирования для введения иммуномодулирующего соединения могут включать любые из описанных в следующем подразделе В в разделе «Введение иммуномодулирующего соединения».

[00125] В некоторых вариантах осуществления, Т-клеточная терапия (*например*, CAR-экспрессирующие Т-клетки) и иммуномодулирующее соединение предложены в виде фармацевтических композиций для введения субъекту. В некоторых вариантах осуществления, фармацевтические композиции содержат терапевтически эффективные количества одного или обоих агентов для комбинированной терапии, *например* Т-клетки для адоптивной клеточной терапии и иммуномодулирующее соединение, как описано. В некоторых вариантах осуществления, агенты составлены для введения в виде отдельных фармацевтических композиций. В некоторых вариантах осуществления, любая из представленных в настоящем документе фармацевтических композиций может быть составлена в виде дозированных форм, подходящих для каждого пути введения.

[00126] В некоторых вариантах осуществления, комбинированная терапия, которая включает введение Т-клеточной терапии, включая сконструированные клетки, такие как CAR-Т-клеточная терапия, и иммуномодулирующее соединение вводят субъекту или пациенту, страдающему заболеванием или состоянием, подлежащим лечению (*например*, раком) или подвержены риску заболевания или состояния (*например*, рака). В некоторых аспектах, способы лечат, *например*, облегчают один или несколько симптомов заболевания или состояния, например, путем уменьшения опухолевой массы при раке, экспрессирующем антиген, распознаваемый иммунотерапией или иммунотерапевтическим агентом, например, распознаваемый сконструированной Т-клеткой.

[00127] В некоторых вариантах осуществления, заболевание или состояние, которое лечат, может быть любым, при котором экспрессия антигена связана и/или вовлечена в этиологию болезненного состояния или нарушения, *например*, вызывает, усугубляет или иным образом участвует в таком заболевании, состоянии, или нарушении. Типовые заболевания и состояния могут включать заболевания или состояния, связанные со злокачественным новообразованием или трансформацией клеток (*например*, раком), аутоиммунным или воспалительным заболеванием или инфекционным заболеванием, *например*, вызванным бактериальными, вирусными или другими патогенами. Примеры антигенов, которые включают антигены, связанные с различными заболеваниями и состояниями, которые можно лечить, включают любой из описанных в настоящем документе антигенов. В конкретных вариантах осуществления, рекомбинантный рецептор, экспрессированный на сконструированных клетках для комбинированной терапии, включая химерный антигенный рецептор или трансгенный TCR, специфически связывается с антигеном, ассоциированным с заболеванием или состоянием.

[00128] В некоторых вариантах осуществления, рак или пролиферативное заболевание экспрессирует ВСМА. В некоторых вариантах осуществления, предложенные способы используют рекомбинантную Т-клетку, экспрессирующую рецептор (*например*, CAR-T-клетку), которая таргетирует ВСМА.

[00129] В некоторых вариантах осуществления, способы и применения включают 1) введение субъекту Т-клеточной терапии с участием Т-клеток, экспрессирующих генетически сконструированные рецепторы клеточной поверхности (*например*, рекомбинантный антигенный рецептор), которые обычно представляют собой химерные рецепторы, такие как химерные антигенные рецепторы (CAR), направленные против или таргетирующие ВСМА, и 2) введение субъекту соединения А. В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А начинают после (последовательно) введения Т-клеточной терапии или после (последовательно) начала введения Т-клеточной терапии. В некоторых случаях, соединение А вводят субъекту, получившему Т-клеточную терапию. Способы обычно включают введение субъекту одной или нескольких доз клеток и более чем одной дозы соединения А.

[00130] В некоторых вариантах осуществления, способы и применения включают 1) введение субъекту Т-клеточной терапии с участием Т-клеток, экспрессирующих генетически сконструированные рецепторы клеточной поверхности (*например*, рекомбинантный антигенный рецептор), которые обычно представляют собой химерные рецепторы, такие как химерные антигенные рецепторы (CAR), направленные против или таргетирующие ВСМА, и 2) введение субъекту соединения В. В некоторых вариантах осуществления, введение соединения В начинают после (последовательно) введения Т-клеточной терапии или после (последовательно) начала введения Т-клеточной терапии. В некоторых случаях, соединение В вводят субъекту, получившему Т-клеточную терапию. Способы обычно включают введение субъекту одной или более доз клеток и более чем одной дозы соединения В.

[00131] Комбинированная терапия, например, включающая сконструированные клетки, экспрессирующие рекомбинантный рецептор, такой как химерный антигенный рецептор (CAR), и иммуномодулирующее соединение (например, соединение А или соединение В), или композиции, содержащие сконструированные клетки и/или иммуномодулирующее соединение (например, соединение А или соединение В), описанные в настоящем документе, применимы при различных терапевтических, диагностических и профилактических показаниях. Например, комбинации полезны при лечении различных заболеваний и нарушений у субъекта. Такие способы и применения включают терапевтические способы и применения, например, включающие введение сконструированных клеток и иммуномодулирующего соединения (например, соединения А или соединения В) и/или композиций, содержащих одно или оба, субъекту, страдающему заболеванием, состоянием или нарушением, таким как опухоль или рак. В некоторых вариантах осуществления, сконструированные клетки и иммуномодулирующее соединение (например, соединения А или соединения В) и/или композиции, содержащие одно или оба, вводят в количестве, эффективном для лечения заболевания или нарушения. Применение включает использование сконструированных клеток и иммуномодулирующего соединения (например, соединения А или соединения В) и/или композиций, содержащих одно или оба соединения, в таких способах и методах лечения, а также при приготовлении лекарственного средства для осуществления таких терапевтических способов. В некоторых вариантах осуществления, способы осуществляются путем введения сконструированных клеток и иммуномодулирующего соединения (например, соединения А или соединения В) и/или композиций, содержащих одно или оба, субъекту, имеющему или подозреваемому в наличии заболевания или состояния. В некоторых вариантах осуществления, способы таким образом лечат заболевание, состояние или нарушение у субъекта.

[00132] Заболевания, подлежащие лечению, включают любое заболевание или нарушение, связанное с ВСМА, или любое заболевание или нарушение, при котором ВСМА специфически экспрессируется и/или при котором ВСМА является мишенью для лечения (также именуемые в настоящем документе взаимозаменяемо как «ВСМА-ассоциированное заболевание или нарушение»). Рак, ассоциированный с экспрессией ВСМА, включает гематологические злокачественные новообразования, такие как множественная миелома, макроглобулинемия Вальденстрема, а также лимфомы Ходжкина и неходжкинские лимфомы. См. Coquery et al., *Crit Rev Immunol.*, 2012, 32(4):287-305 для обзора ВСМА. Поскольку ВСМА участвует в обеспечении выживания опухолевых клеток, он является потенциальной мишенью для терапии рака. Ранее были описаны химерные антигенные рецепторы, содержащие антитела мыши против ВСМА человека, и клетки, экспрессирующие такие химерные рецепторы. См. Carpenter et al., *Clin Cancer Res.*, 2013, 19(8):2048-2060.

[00133] В некоторых вариантах осуществления, заболевание или нарушение, ассоциированное с ВСМА, представляет собой нарушение, связанное с В-клетками. В

некоторых вариантах осуществления, заболевание или нарушение, ассоциированное с ВСМА, представляет собой одно или несколько заболеваний или состояний из числа глиобластомы, лимфоматоидного гранулематоза, пост-трансплантационного лимфопролиферативного нарушения, иммунорегуляторного нарушения, заболевания тяжелых цепей, первичного или ассоциированного с иммуноцитами амилоидоза или моноклональной гаммапатии неопределенного значения.

[00134] В некоторых вариантах осуществления, заболевание или нарушение, ассоциированное с ВСМА, представляет собой аутоиммунное заболевание или нарушение. Такие аутоиммунные заболевания или нарушения включают, но не ограничены ими, системную красную волчанку (SLE), волчаночный нефрит, воспалительное заболевание кишечника, ревматоидный артрит (*например*, ювенильный ревматоидный артрит), ANCA-ассоциированный васкулит, идиопатическую тромбоцитопеническую пурпуру (ITP), тромботическую тромбоцитопеническую пурпуру (TTP), аутоиммунная тромбоцитопению, болезнь Шагаса, болезнь Грейвса, гранулематоз Вегенера, узелковый полиартериит, синдром Шегрена, вульгарную пузырчатку, склеродермию, рассеянный склероз, псориаз, IgA нефропатию, IgM полиневропатии, васкулит, сахарный диабет, синдром Рейно, анти-фосфолипидный синдром, болезнь Гудпасчера, болезнь Кавасаки, аутоиммунную гемолитическую анемию, тяжелую миастению или прогрессирующий гломерулонефрит.

[00135] Заболевания, нарушения или состояния, ассоциированные с ВСМА, включают раки (*например*, рак, экспрессирующий ВСМА). Раки, например раки, экспрессирующие ВСМА, которые можно лечить, включают, но не ограничены ими, нейробластому, почечно-клеточную карциному, рак толстой кишки, колоректальный рак, рак молочной железы, эпителиальный плоскоклеточный рак, меланому, миелому (*например*, множественную миелому), рак желудка, рак головного мозга, рак легких, рак поджелудочной железы, рак шейки матки, рак яичников, рак печени, рак мочевого пузыря, рак предстательной железы, рак яичка, рак щитовидной железы, рак матки, рак надпочечников и рак головы и шеи.

[00136] При определенных заболеваниях и состояниях, ВСМА экспрессируется на злокачественных клетках и раке. В некоторых вариантах осуществления, рак (*например*, рак, экспрессирующий ВСМА) представляет собой В-клеточное злокачественное новообразование. В некоторых вариантах осуществления, рак (*например*, рак, экспрессирующий ВСМА) представляет собой лимфому, лейкоз или злокачественное новообразование из плазматических клеток. Рассматриваемые в настоящем документе лимфомы включают, но не ограничены ими, лимфому Беркитта (*например*, эндемическую лимфому Беркитта или спорадическую лимфому Беркитта), неходжкинскую лимфому (NHL), лимфому Ходжкина, макроглобулинемию Вальденстрема, фолликулярную лимфому, мелкоклеточную лимфому с нерасщепленными клетками, лимфому лимфоидной ткани слизистых оболочек (MALT), лимфому маргинальной зоны, лимфому селезенки, узловую моноцитoidную В-клеточную лимфому, иммунобластную лимфому,

крупноклеточную лимфому, диффузную лимфому из смешанных клеток, легочную В-клеточную ангиоцентрическую лимфому, малую лимфоцитарную лимфому, первичную средостенную В-клеточную лимфому, лимфоплазмоцитарную лимфому (LPL) или мантийноклеточную лимфому (MCL). Рассматриваемые в настоящем документе лейкозы включают, но не ограничены ими, хронический лимфолейкоз (CLL), лейкоз плазматических клеток или острый лимфоцитарный лейкоз (ALL). Также в настоящем документе рассматриваются злокачественные новообразования плазматических клеток, включая, но не ограничиваясь ими, множественную миелому (*например*, не секреторную множественную миелому, вялотекущую множественную миелому) или плазмоцитому.

[00137] В некоторых вариантах осуществления, заболевание или состояние представляет собой плазмоцитому, такую как экстрамедуллярная плазмоцитома. В некоторых вариантах осуществления, у субъекта нет плазмоцитомы, такой как экстрамедуллярная плазмоцитома.

[00138] В некоторых вариантах осуществления, заболевание или состояние представляет собой множественную миелому (ММ), такую как рецидивирующая и/или трудно поддающаяся лечению множественная миелома (R/R ММ).

[00139] В некоторых вариантах осуществления, способы могут идентифицировать субъекта, который имеет, подозревается в наличии или подвержен риску развития заболевания или нарушения, ассоциированного с ВСМА. Таким образом, предложены способы идентификации субъектов с заболеваниями или нарушениями, связанными с повышенной экспрессией ВСМА, и отбора их для лечения ВСМА-направленной Т-клеточной терапией (*например*, анти-ВСМА CAR Т-клетками).

[00140] В некоторых аспектах, *например*, субъект может быть подвергнут скринингу на наличие заболевания или нарушения, ассоциированного с повышенной экспрессией ВСМА, такого как рак, экспрессирующий ВСМА. В некоторых вариантах осуществления, способы включают скрининг или обнаружение присутствия Заболевания, ассоциированного с ВСМА, *например*, опухоли или рака, такого как множественная миелома. Таким образом, в некоторых аспектах, образец может быть получен от пациента с подозрением на заболевание или нарушение, ассоциированное с повышенной экспрессией ВСМА, и проанализирован на уровень экспрессии ВСМА. В некоторых аспектах, субъект с положительным результатом теста на ассоциированное с ВСМА заболевание или нарушение может быть выбран для лечения способами по настоящему изобретению, и ему может быть введено терапевтически эффективное количество Т-ВСМА-направленной клеточной терапии (*например*, анти-ВСМА CAR Т клеток) или их фармацевтической композиции, как описано в настоящем документе.

[00141] В некоторых аспектах, субъект может быть подвергнут скринингу на уровень растворимого ВСМА (sBCMA), *например*, в биологическом образце субъекта, таком как кровь или сыворотка. В некоторых аспектах, субъект может быть проверен на уровень sBCMA перед лечением клеточной терапией. В некоторых аспектах, способы включают скрининг или определение уровня или количества sBCMA у субъекта,

имеющего заболевание или нарушение, ассоциированное с экспрессией ВСМА, например опухоль или рак, такой как множественная миелома. В некоторых аспектах, образец может быть получен от пациента с подозрением на заболевание или нарушение, ассоциированное с ВСМА, и проанализирован на уровень или количество sBCMA, например, с использованием анализа для определения уровней растворимого белка, такого как иммуноферментный анализ (ELISA). В некоторых аспектах, у субъектов, страдающих множественной миеломой (ММ), уровни sBCMA могут коррелировать с долей плазматических клеток в биоптатах костного мозга. В некоторых аспектах, у субъектов с множественной миеломой (ММ) уровни sBCMA могут коррелировать со сниженным ответом на лечение или более короткой общей выживаемостью или выживаемостью без прогрессирования (см., например, Ghermezi et al., *Haematologica* 2017, 102(4): 785-795). В некоторых аспектах, субъект, у которого наблюдаются низкие уровни sBCMA, может быть выбран для лечения способами по настоящему изобретению, и ему может быть введено терапевтически эффективное количество ВСМА-направленной Т-клеточной терапии (например, анти-ВСМА CAR Т-клеток) или фармацевтической композиции из них, как описано в настоящем документе.

[00142] В некоторых вариантах осуществления, заболевание или состояние, ассоциированное с ВСМА, представляет собой заболевание или состояние, при котором у субъекта возник рецидив на одну или несколько предыдущих терапий для лечения заболевания, и/или такое, при котором субъект не ответил на одну или несколько других предшествующих терапий для лечения заболевания и, таким образом, является трудно поддающимся лечению одним или несколькими предшествующими терапиями. В конкретных вариантах осуществления, заболевание или состояние представляет собой множественную миелому, которая представляет собой рецидивирующее или трудно поддающееся лечению заболевание (далее также называемое рецидивирующей или трудно поддающейся лечению множественной миеломой или R/R множественной миеломой). В некоторых вариантах осуществления, у субъекта имеется трудноизлечимое или рецидивирующее заболевание, *например*, после лечения другим ВСМА-специфическим антителом и/или клетками, экспрессирующими химерный рецептор, таргетирующий ВСМА, и/или другой терапии, включая химиотерапию, облучение и/или трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток (HSCT), *например*, аллогенную HSCT или аутологическую HSCT. В некоторых вариантах осуществления, субъект является резистентным к или трудно поддается лечению, т.е. не отвечает после лечения другим ВСМА-специфическим антителом и/или клетками, экспрессирующими химерный рецептор, таргетирующий ВСМА, и/или другой терапией. В некоторых вариантах осуществления, введение Т-клеточной терапии (например, анти-ВСМА CAR Т-клеток) в предлагаемых способах эффективно лечит субъекта, несмотря на то, что субъект стал резистентным или трудно поддающимся лечению другой терапией, таргетирующей ВСМА. В некоторых вариантах осуществления, у субъекта нет рецидива, но установлено, что он подвержен риску рецидива, например, высокому риску рецидива, и, таким образом,

соединение или композицию вводят профилактически, *например*, для снижения вероятности или предотвращения рецидива.

[00143] В некоторых вариантах осуществления, субъект является подходящим для трансплантации, например подходящим для трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (HSCT), *например*, аллогенной HSCT или аутологичной HSCT. В некоторых таких вариантах осуществления, субъект ранее не получал трансплантат, несмотря на то, что он соответствует требованиям, до введения BCMA-направленной Т-клеточной терапии (например, анти-BCMA CAR Т-клеток) и/или композиций, содержащих их, как предложено в настоящем документе.

[00144] В некоторых вариантах осуществления, субъект является субъектом, который не подходит для трансплантации, например, не подходит для трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (HSCT), *например*, аллогенной HSCT или аутологичной HSCT. В некоторых таких вариантах осуществления, такому субъекту вводят BCMA-направленную Т-клеточную терапию (например, анти-BCMA CAR Т-клеток) и/или композиции, содержащие их, в соответствии с предложенными в настоящем документе вариантами осуществления.

[00145] В некоторых вариантах осуществления, до начала введения сконструированных клеток, субъект получил одну или несколько предшествующих терапий для лечения заболевания или нарушения, например, множественной миеломы. В некоторых вариантах осуществления, субъект получил, по меньшей мере, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 или больше предшествующих терапий. В некоторых вариантах осуществления, субъект получил, по меньшей мере, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более предшествующих терапий. В некоторых вариантах осуществления, у субъекта возник рецидив или он трудно поддается лечению двумя или несколькими предшествующими терапиями. В некоторых вариантах осуществления, у субъекта возник рецидив или он трудно поддается лечению тремя или несколькими предшествующими терапиями. В некоторых вариантах осуществления, у субъекта возник рецидив или он трудно поддается лечению четырьмя или более предшествующими терапиями. В некоторых вариантах осуществления, еще одна предшествующая терапия может включать трансплантацию аутологичных стволовых клеток (ASCT), анти-CD38 антитело, такое как даратумумаб; иммуномодулирующий агент или соединения, такие как талидомид, леналидомид или помалидомид; ингибитор протеасом, такой как бортезомиб, карфилзомиб или иксазомиб; или два или несколько из вышеперечисленных. В некоторых аспектах, у субъекта возник рецидив или он трудно поддается лечению одной или несколькими предшествующими терапиями. Например, субъект имеет R/R множественную миелому.

[00146] В некоторых аспектах, предшествующие терапии включают лечение трансплантацией аутологичных стволовых клеток (ASCT); иммуномодулирующим агентом; ингибитором протеасомы; и анти-CD38 антителом; кроме случаев, когда субъект не был кандидатом или не имел противопоказаний для одной или нескольких терапий. В

некоторых аспектах, у субъекта возник рецидив или он трудно поддается лечению тремя или более предшествующими терапиями, включая лечение тремя или более терапиями, выбранными из (1) трансплантации аутологичных стволовых клеток, (2) ингибитора протеасом и иммуномодулирующего агента, либо по отдельности, либо в комбинации, и (3) моноклонального анти-CD38 антитела в составе комбинированной терапии или монотерапии; кроме случаев, когда субъект не был кандидатом или не имел противопоказаний для одной или нескольких терапий. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующий агент выбран из талидомида, леналидомида или помалидомида. В некоторых вариантах осуществления, ингибитор протеасом выбран из бортезомиба, карфилзомиба или иксазомиба. В некоторых вариантах осуществления, анти-CD38 антитело представляет собой или содержит даратумумаб. В некоторых вариантах осуществления, субъект должен пройти, по меньшей мере, 2 последовательных курса лечения по каждой схеме, если только прогрессирование заболевания не было наилучшим ответом на схему.

[00147] В некоторых вариантах осуществления, способ может включать в себя включение или исключение определенных субъектов для терапии ВСМА-направленными Т-клетками (например, анти-ВСМА CAR Т-клетками) или композицией, содержащей их, на основании конкретных критериев, диагноза или показаний. В некоторых вариантах осуществления, во время введения дозы клеток или проведения противолимфомной химиотерапии перед лечением, у субъекта не было активного или в анамнезе лейкоза плазматических клеток (PCL). В некоторых вариантах осуществления, если субъект имел активный или в анамнезе PCL на момент введения, субъект может быть исключен из лечения предложенными способами. В некоторых вариантах осуществления, если у субъекта развивается PCL, например вторичный PCL, во время введения, субъект может быть исключен из лечения в соответствии с предложенными способами. В некоторых вариантах осуществления, оценку критериев, диагноза или показаний можно проводить во время скрининга субъектов на предмет приемлемости или пригодности лечения в соответствии с предложенными способами, на различных стадиях схемы лечения, во время получения противолимфомной терапии и/или во время или непосредственно перед началом введения сконструированных клеток или их композиции.

[00148] Для профилактики или лечения заболевания, подходящая доза иммуномодулирующего соединения (например, соединения А или соединения В) и/или иммунотерапии, такой как Т-клеточная терапия (*например*, CAR-экспрессирующие Т-клетки), может зависеть от типа заболевания, подлежащего лечению, конкретного иммуномодулирующего соединения, клеток и/или рекомбинантных рецепторов, экспрессированных на клетках, тяжести и течения заболевания, способа введения, вводятся ли иммуномодулирующее соединение и/или Т-клеточная терапия в профилактических или терапевтических целях, предыдущей терапии, частоты введения, истории болезни субъекта и ответа на клетки, а также на усмотрение лечащего врача. Композиции и клетки, в некоторых вариантах осуществления, целесообразно вводить

субъекту за один раз или в течение серии лечений. Описаны типовые схемы дозирования и схемы для предложенной комбинированной терапии.

[00149] В некоторых вариантах осуществления, Т-клеточную терапию и иммуномодулирующее соединение вводят как часть дополнительного комбинированного лечения, которое можно вводить одновременно или последовательно, в любом порядке, с другим терапевтическим вмешательством. В некоторых контекстах, Т-клеточная терапия, например, сконструированные Т-клетки, такие как CAR-экспрессирующие Т-клетки, вводят совместно с другой терапией достаточно близко по времени, так что Т-клеточная терапия усиливает эффект одного или нескольких дополнительных терапевтических агентов, или наоборот. В некоторых вариантах осуществления, клетки вводят до введения одного или нескольких дополнительных терапевтических агентов. В некоторых вариантах осуществления, Т-клеточная терапия, например, сконструированные Т-клетки, такие как CAR-экспрессирующие Т-клетки, вводят после одного или нескольких дополнительных терапевтических агентов. В некоторых вариантах осуществления, способы комбинированной терапии дополнительно включают противолимфому терапию, такую как введение химиотерапевтического агента. В некоторых вариантах осуществления, комбинированная терапия дополнительно включает введение другого терапевтического агента, такого как противораковый агент, ингибитор контрольной точки или другой иммуномодулирующий агент. Применение включает применение комбинированной терапии в таких способах и лечении, и применение таких композиций при получении лекарственного средства для осуществления таких способов комбинированной терапии. В некоторых вариантах осуществления, способы и применения таким образом лечат заболевание или состояние или нарушение, такое как рак или пролиферативное заболевание, у субъекта.

[00150] До, во время или после введения иммунотерапии (*например*, Т-клеточной терапии, такой как CAR-Т-клеточная терапия) и/или иммуномодулирующего соединения, в некоторых вариантах осуществления, измеряют биологическую активность Т-клеточной терапии, *например* биологическую активность сконструированных клеточных популяций, *например*, любым из ряда известных способов. Параметры для оценки включают способность сконструированных клеток разрушать клетки-мишени, жизнестойкость и другие показатели активности Т-клеток, такие как измерения с использованием любого подходящего способа, известного в данной области техники, например анализы, описанные далее в разделе III. В некоторых вариантах осуществления, биологическую активность клеток, *например*, Т-клеток, вводимых для терапии на основе Т-клеток, измеряют путем анализа уничтожения цитотоксических клеток, экспрессии и/или секреции одного или нескольких цитокинов, пролиферации или размножения, например, при повторной стимуляции антигеном. В некоторых аспектах, биологическую активность измеряют путем оценки бремени заболевания и/или клинического исхода, такого как снижение бремени или нагрузки опухоли. В некоторых вариантах осуществления, введение одного или обоих агентов комбинированной терапии и/или любое повторное

введение терапии можно определить на основании результатов анализов до, во время, во время курса или после введения одного или обоих агентов комбинированной терапии.

[00151] В некоторых вариантах осуществления, комбинированный эффект иммуномодулирующего соединения в комбинации с клеточной терапией может быть синергическим по сравнению с лечением, включающим только иммуномодулирующее соединение, или монотерапией клеточной терапией. Например, в некоторых вариантах осуществления, способы, представленные в настоящем документе, приводят к усилению или улучшению желаемого терапевтического эффекта, такому как усиление или улучшение в уменьшении или ингибировании одного или нескольких симптомов, связанных с раком.

[00152] В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение увеличивает размножение или пролиферацию сконструированных Т-клеток, таких как CAR Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления, увеличение размножения или пролиферации наблюдается *in vivo* при введении субъекту. В некоторых вариантах осуществления, увеличение количества сконструированных Т-клеток, например, CAR-Т-клеток, увеличивается более чем или более чем примерно в 1,2 раза, 1,5 раза, 2,0 раза, 3,0 раза, 4,0 раза, 5,0 раз, 6,0 раз, 7,0 раз, 8,0 раз, 9,0 раз, 10,0 раз или более.

А. Введение Т-клеточной терапии

[00153] В некоторых вариантах осуществления способов, композиций, комбинаций, наборов и применений, представленных в настоящем документе, комбинированная терапия включает введение субъекту терапии иммунными клетками, такой как Т-клеточная терапия (*например*, CAR-экспрессирующие Т-клетки). В конкретных вариантах осуществления, клеточная терапия представляет собой Т-клеточную терапию, направленную против ВСМА. Например, Т-клеточная терапия представляет собой анти-ВСМА CAR Т-клеточную терапию. Введение такой терапии может быть начато до, после или одновременно с введением одного или нескольких иммуномодулирующих соединений, как описано.

[00154] В некоторых вариантах осуществления, клетки для применения в или введения в связи с предложенными способами содержат или сконструированы таким образом, чтобы содержать сконструированный рецептор, *например*, сконструированный антигенный рецептор, такой как химерный антигенный рецептор (CAR), или Т-клеточный рецептор (TCR). Композиции включают фармацевтические композиции и составы для введения, *например*, для адоптивной клеточной терапии. Также предложены терапевтические способы введения клеток и композиций субъектам, *например*, пациентам, в соответствии с предложенными способами и/или предложенными готовыми изделиями или композициями.

[00155] В некоторых вариантах осуществления, клеточная терапия представляет собой или включает введение клеток, таких как иммунные клетки, *например* Т-клетки или НК-клетки, которые таргетируют молекулу, экспрессируемую на поверхности поражения, такого как опухоль или рак. В некоторых вариантах осуществления, клетки

экспрессируют рекомбинантный рецептор, например CAR, который содержит внеклеточный лиганд-связывающий домен, который специфически связывается с антигеном. В некоторых вариантах осуществления, рекомбинантный рецептор представляет собой CAR, который содержит внеклеточный антигенраспознающий домен, который специфически связывается с антигеном. В некоторых вариантах осуществления, рекомбинантный рецептор специфически связывается с антигеном, таким как антиген, связанный с заболеванием или состоянием, *например*, связанный или экспрессируемый на клетке опухоли или рака. В конкретных вариантах осуществления, антиген представляет собой ВСМА. В некоторых вариантах осуществления, иммунные клетки экспрессируют рекомбинантный рецептор, такой как трансгенный TCR или химерный антигенный рецептор (CAR). В некоторых вариантах осуществления, Т-клеточная терапия включает введение Т-клеток, сконструированных для экспрессии химерного антигенного рецептора (CAR). В конкретных вариантах осуществления, клеточная терапия, *например*, терапия анти-ВСМА CAR Т-клетками, предназначена для лечения множественной миеломы, такой как рецидивирующая/трудно поддающаяся лечению (R/R множественная миелома). В некоторых вариантах осуществления, клетки являются аутологичными к субъекту. В некоторых вариантах осуществления, клетки являются аллогенными к субъекту. Примеры сконструированных клеток для введения в качестве клеточной терапии в предлагаемых способах описаны в Разделе II.

[00156] Способы введения клеток для адоптивной клеточной терапии известны и могут быть использованы в связи с предлагаемыми способами, композициями и готовыми изделиями и наборами. *Например*, способы адоптивной Т-клеточной терапии описаны, *например*, в публикации заявки на патент США № 2003/0170238, выданной Gruenberg et al; патенте США № 4,690,915, выданном Rosenberg; Rosenberg (2011) Nat Rev Clin Oncol. 8(10):577-85). См., *например*, Themeli et al. (2013) Nat Biotechnol. 31(10): 928-933; Tsukahara et al. (2013) Biochem Biophys Res Commun 438(1): 84-9; Davila et al. (2013) PLoS ONE 8(4): e61338.

[00157] В некоторых вариантах осуществления, клеточная терапия, *например*, адоптивная Т-клеточная терапия, осуществляется путем аутологичного переноса, при котором клетки выделяют и/или иным образом получают от субъекта, который должен получить клеточную терапию, или из образца, полученного от такого субъекта. Таким образом, в некоторых аспектах, клетки получают от субъекта, *например*, пациента, нуждающегося в лечении, и клетки после выделения и обработки вводят тому же субъекту.

[00158] В некоторых вариантах осуществления, клеточная терапия, *например*, адоптивная Т-клеточная терапия, осуществляется путем аллогенного переноса, при котором клетки выделяют и/или иным образом получают от субъекта, отличного от субъекта, который должен получить или кто, в конечном итоге, получает клеточную терапию, *например*, первого субъекта. В таких вариантах осуществления, клетки затем вводят другому субъекту, *например*, второму субъекту того же вида. В некоторых

вариантах осуществления, первый и второй субъекты генетически идентичны. В некоторых вариантах осуществления, первый и второй субъекты генетически сходны. В некоторых вариантах осуществления, второй субъект экспрессирует тот же класс или супертип HLA, что и первый субъект.

[00159] Клетки Т-клеточной терапии можно вводить в составе композиции, составленной для введения, или, альтернативно, в более чем одной композиции (*например*, двух композициях), составленных для отдельного введения. Доза(ы) клеток может(гут) включать конкретное количество или относительное количество клеток или сконструированных клеток и/или определенное соотношение или композиции двух или нескольких подтипов в композиции, например CD4 к CD8 Т-клеткам.

[00160] Клетки, можно вводить любым подходящим способом, например, путем болюсной инфузии, путем инъекции, *например*, внутривенной или подкожной инъекции, внутриглазной инъекции, периокулярной инъекции, субретинальной инъекции, интравитреальной инъекции, трансептальной инъекции, субсклеральной инъекции, внутрехориоидальной инъекции, внутрикамерной инъекции, субконъюнктивальной инъекции, субконъюнктивальной инъекции, субтеноновой инъекции, ретробульбарной инъекции, перibuльбарной инъекции или задней окологсклеральной инъекции. В некоторых вариантах осуществления, их вводят парентерально, внутрилегочно и интраназально, и при необходимости для местного лечения, внутриочаговым введением. Парентеральные инфузии включают внутримышечное, внутривенное, внутриартериальное, внутрибрюшинное, внутричерепное, внутригрудное или подкожное введение. В некоторых вариантах осуществления, данную дозу вводят путем однократного болюсного введения клеток. В некоторых вариантах осуществления, ее вводят путем многократного болюсного введения клеток, например, в течение периода не более 3 дней, или путем непрерывного инфузионного введения клеток. В некоторых вариантах осуществления, введение клеточной дозы или любой дополнительной терапии, *например* противолимфомной терапии, интервенционной терапии и/или комбинированной терапии, осуществляют амбулаторно.

[00161] Для лечения заболевания, подходящая доза может зависеть от типа заболевания, подлежащего лечению, типа клеток или рекомбинантных рецепторов, тяжести и течения заболевания, предшествующей терапии, истории болезни субъекта и ответа на клетки, а также усмотрению лечащего врача. Композиции и клетки, в некоторых вариантах осуществления, целесообразно вводить субъекту за один раз или в течение серии лечений.

[00162] В некоторых вариантах осуществления, клетки или отдельные популяции подтипов клеток вводят субъекту в диапазоне от примерно одного миллиона до примерно 100 миллиардов клеток и/или такого количества клеток на килограмм массы тела, например, например, от 1 миллиона до примерно 50 миллиардов клеток (*например*, примерно 5 миллионов клеток, примерно 25 миллионов клеток, примерно 500 миллионов клеток, примерно 1 миллиард клеток, примерно 5 миллиардов клеток, примерно 20

миллиардов клеток, примерно 30 миллиардов клеток, примерно 40 миллиардов клеток или в диапазоне, определяемом любыми двумя из предыдущих значений), например, от примерно 10 миллионов до примерно 100 миллиардов клеток (например, примерно 20 миллионов клеток, примерно 30 миллионов клеток, примерно 40 миллионов клеток, примерно 60 миллионов клеток, примерно 70 миллионов клеток, примерно 80 миллионов клеток, примерно 90 миллионов клеток, примерно 10 миллиардов клеток, примерно 25 миллиардов клеток, примерно 50 миллиардов клеток, примерно 75 миллиардов клеток, примерно 90 миллиардов клеток или в диапазоне, определяемом любыми двумя из предыдущих значений), и в некоторых случаях, от примерно 100 миллионов клеток до примерно 50 миллиардов клеток (например, примерно 120 миллионов клеток, примерно 250 миллионов клеток, примерно 350 миллионов клеток, примерно 450 миллионов клеток, примерно 650 миллионов клеток, примерно 800 миллионов клеток, примерно 900 миллионов клеток, примерно 3 миллиарда клеток, примерно 30 миллиардов клеток, примерно 45 миллиардов клеток) или любое значение между этими диапазонами и/или на килограмм массы тела. Дозировки могут варьироваться в зависимости от признаков, характерных для заболевания или нарушения и/или пациента, и/или других видов лечения.

[00163] В некоторых вариантах осуществления, например, когда субъектом является человек, доза включает менее примерно 1×10^8 клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например, CAR), Т-клеток или мононуклеарных клеток периферической крови (РВМС), например, в диапазоне от примерно 1×10^6 до 1×10^8 таких клеток, например, 2×10^6 , 5×10^6 , 1×10^7 , 5×10^7 или 1×10^8 или всего таких клеток, или диапазон между любыми двумя из предыдущих значений. Примеры дозирования для применения или введения в соответствии с предложенными способами представлены в Разделе I.A.2 ниже.

[00164] Клетки можно вводить любыми подходящими способами. Клетки вводят по схеме дозирования для достижения терапевтического эффекта, такого как уменьшение опухолевой массы. Дозирование и введение могут частично зависеть от схемы введения иммуномодулирующего соединения, которое можно вводить до, после и/или одновременно с началом введения Т-клеточной терапии. Различные схемы дозирования Т-клеточной терапии включают, но не ограничены ими, однократное или многократное введение в различные моменты времени, болюсное введение и импульсную инфузию.

[00165] Предварительное кондиционирование субъектов иммуноистощающей (например, противолимфомной) терапией в некоторых аспектах может улучшать эффекты адоптивной клеточной терапии (АСТ).

[00166] Таким образом, в некоторых вариантах осуществления, способы включают введение агента для предварительного кондиционирования, такого как противолимфомный или химиотерапевтический агент, такой как циклофосфамид, флударабин или их комбинации, субъекту перед началом клеточной терапии. Например, субъекту можно вводить прекондиционирующий агент, по меньшей мере, за 2 дня,

например, по меньшей мере, за 3, 4, 5, 6 или 7 дней до начала клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, субъекту вводят прекондиционирующий агент не больше чем за 7 дней до, например, не больше чем за 6, 5, 4, 3 или 2 дня до начала клеточной терапии.

[00167] В некоторых вариантах осуществления, субъект подвергается предварительному кондиционированию циклофосфамидом в дозе от примерно 20 мг/кг до 100 мг/кг массы тела субъекта, например, от примерно 40 мг/кг до 80 мг/кг. В некоторых аспектах, субъекта предварительно кондиционируют или вводят точно или примерно 60 мг/кг циклофосфамида. В некоторых вариантах осуществления, циклофосфамид можно вводить в виде разовой дозы или можно вводить в виде множества доз, например, ежедневно, через день или каждые три дня. В некоторых вариантах осуществления, циклофосфамид вводят один раз в день в течение одного или двух дней. В некоторых вариантах осуществления, где противолимфомный агент содержит циклофосфамид, субъекту вводят циклофосфамид в дозе от или от примерно 100 мг/м² до 500 мг/м², например, от или от примерно 200 мг/м² до 400 мг/м² или от 250 мг/м² и 350 мг/м², включительно. В некоторых случаях, субъекту вводят примерно 300 мг/м² циклофосфамида. В некоторых вариантах осуществления, циклофосфамид можно вводить в виде разовой дозы или можно вводить в виде множества доз, например, ежедневно, через день или каждые три дня. В некоторых вариантах осуществления, циклофосфамид вводят ежедневно, например, в течение 1-5 дней, например, в течение 3-5 дней. В некоторых случаях, субъекту вводят примерно 300 мг/м² циклофосфамида ежедневно в течение 3 дней до начала клеточной терапии.

[00168] В некоторых вариантах осуществления, где противолимфомный агент включает флударабин, субъекту вводят флударабин в дозе от точно или примерно 1 мг/м² до 100 мг/м², например, от точно или примерно 10 мг/м² до 75 мг/м², от 15 мг/м² до 50 мг/м², от 20 мг/м² до 40 мг/м², или от 24 мг/м² до 35 мг/м², включительно. В некоторых случаях, субъекту вводят примерно 30 мг/м² флударабина. В некоторых вариантах осуществления, флударабин можно вводить в виде разовой дозы или можно вводить в виде множества доз, например, ежедневно, через день или каждые три дня. В некоторых вариантах осуществления, флударабин вводят ежедневно, например, в течение 1-5 дней, например, в течение 3-5 дней. В некоторых случаях, субъекту вводят примерно 30 мг/м² флударабина ежедневно в течение 3 дней до начала клеточной терапии.

[00169] В некоторых вариантах осуществления, противолимфомный агент включает комбинацию агентов, такую как комбинация циклофосфамида и флударабина. Таким образом, комбинация агентов может включать циклофосфамид в любой дозе или схеме введения, таких как описаны выше, и флударабин в любой дозе или схеме введения, таких как описаны выше. Например, в некоторых аспектах, субъекту вводят 60 мг/кг (~2 г/м²) циклофосфамида и от 3 до 5 доз 25 мг/м² флударабина перед первой или последующей дозой.

[00170] После введения клеток, биологическую активность сконструированных

клеточных популяций в некоторых вариантах осуществления измеряют, *например*, любым из ряда известных способов. Параметры для оценки включают специфическое связывание сконструированной или природной Т-клетки или другой иммунной клетки с антигеном *in vivo*, *например*, с помощью визуализации, или *ex vivo*, *например*, с помощью ELISA или проточной цитометрии. В некоторых вариантах осуществления, способность сконструированных клеток разрушать клетки-мишени можно измерить с использованием любых подходящих известных способов, таких как анализы цитотоксичности, описанные, *например*, в Kochenderfer et al., *J. Immunotherapy*, 32(7): 689-702 (2009) и Herman et al. *J. Immunological Methods*, 285(1): 25-40 (2004). В некоторых вариантах осуществления, биологическую активность клеток измеряют путем анализа экспрессии и/или секреции одного или нескольких цитокинов, таких как CD107a, IFN γ , IL-2 и TNF. В некоторых аспектах, биологическую активность измеряют путем оценки клинического исхода, такого как уменьшение опухолевой массы или нагрузки.

1. Композиции и составы

[00171] В некоторых вариантах осуществления, доза клеток Т-клеточной терапии, такой как Т-клеточная терапия, включающая клетки, сконструированные с рекомбинантным антигенным рецептором, *например*, CAR или TCR, предложена в виде композиции или состава, такого как фармацевтическая композиция или состав. Такие композиции можно использовать в соответствии с предложенными способами, *например*, для профилактики или лечения заболеваний, состояний и нарушений, *например*, для лечения множественной миеломы, *например*, рецидивирующей или трудно поддающейся лечению множественной миеломы.

[00172] В некоторых вариантах осуществления, Т-клеточная терапия, такая как сконструированные Т-клетки (*например*, CAR Т-клетки), составлена с фармацевтически приемлемым носителем. В некоторых аспектах, выбор носителя частично определяется конкретной клеткой или агентом и/или способом введения. Соответственно, существует множество подходящих составов. *Например*, фармацевтическая композиция может содержать консерванты. *Например*, фармацевтическая композиция может содержать консерванты. Подходящие консерванты могут включать, *например*, метилпарабен, пропилпарабен, бензоат натрия и хлорид бензалкония. В некоторых аспектах, используется смесь двух или нескольких консервантов. Консервант или его смеси обычно присутствуют в количестве от примерно 0,0001% до примерно 2% массовых от общей массы композиции. Носители описаны, *например*, в Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition, Osol, A. Ed. (1980). Фармацевтически приемлемые носители обычно нетоксичны для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях и включают, но не ограничены ими: буферы, такие как фосфатный, цитратный и другие органические кислоты; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту и метионин; консерванты (такие как хлорид октадецилдиметилбензиламмония, хлорид гексаметония, хлорид бензалкония, хлорид бензетония, фенол, бутиловый или бензиловый спирт, алкилпарабены, такие как метил- или пропилпарабен, катехол, резорцин, циклогексанол, 3-пентанол и м-крезол);

низкомолекулярные (менее примерно 10 остатков) полипептиды; белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу или декстрины; хелатирующие агенты, такие как ЭДТК; сахара, такие как сахароза, маннит, трегалоза или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; комплексы металлов (например, комплексы Zn-белок); и/или неионные поверхностно-активные вещества, такие как полиэтиленгликоль (PEG).

[00173] Буферные агенты, в некоторых аспектах, включены в композиции. Подходящие буферные агенты включают, например, лимонную кислоту, цитрат натрия, фосфорную кислоту, фосфат калия и различные другие кислоты и соли. В некоторых аспектах, используется смесь двух или нескольких буферных агентов. Буферный агент или его смеси обычно присутствуют в количестве от примерно 0,001% до примерно 4% массовых от общей массы композиции. Способы приготовления фармацевтических композиций для введения известны. Типовые способы более подробно описаны, например, в Remington: Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott Williams & Wilkins; 21st ed. (May 1, 2005).

[00174] Составы могут включать водные растворы. Состав или композиция может также содержать более одного активного ингредиента, подходящего для конкретного показания, заболевания или состояния, которое предотвращается или лечится с помощью клеток или агентов, при этом соответствующие действия не оказывают отрицательного влияния друг на друга. Такие активные ингредиенты подходящим образом присутствуют в комбинации в количествах, которые эффективны для намеченной цели. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления, фармацевтическая композиция дополнительно включает другие фармацевтически активные агенты или лекарственные средства, такие как химиотерапевтические агенты, например, аспарагиназу, бусульфан, карбоплатин, цисплатин, даунорубицин, доксорубицин, фторурацил, гемцитабин, гидроксимочевину, метотрексат, паклитаксел, ритуксимаб, винбластин /или винкристин и т.д.

[00175] Фармацевтическая композиция, в некоторых вариантах осуществления, содержит клетки в количествах, эффективных для лечения или профилактики заболевания или состояния, таких как терапевтически эффективное или профилактически эффективное количество. Терапевтическую или профилактическую эффективность, в некоторых вариантах осуществления, контролируют путем периодической оценки субъектов, получающих лечение. При повторных введениях в течение нескольких дней или дольше, в зависимости от состояния, лечение повторяют до тех пор, пока не произойдет желаемое подавление симптомов заболевания. Однако другие схемы дозирования могут быть полезны и могут быть определены. Желаемая доза может быть доставлена путем однократного болюсного введения композиции, путем многократного болюсного введения композиции или путем непрерывного инфузионного введения композиции.

[00176] Клетки или агенты можно вводить с использованием стандартных методов

введения, составов и/или устройств. Предложены составы и устройства, такие как шприцы и флаконы, для хранения и введения композиций. В отношении клеток, введение может быть аутологичным или гетерологичным. Например, иммунореактивные клетки или клетки-предшественники могут быть получены от одного субъекта и введены тому же субъекту или другому совместимому субъекту. Иммунореактивные клетки, полученные из периферической крови, или их потомки (например, полученные *in vivo*, *ex vivo* или *in vitro*) можно вводить посредством локальной инъекции, включая катетерное введение, системную инъекцию, локальную инъекцию, внутривенную инъекцию или парентеральное введение. При введении терапевтической композиции (например, фармацевтической композиции, содержащей генетически модифицированную иммунореактивную клетку), ее обычно составляют в виде стандартной дозированной формы для инъекций (раствора, суспензии, эмульсии).

[00177] Составы включают составы для перорального, внутривенного, внутрибрюшинного, подкожного, легочного, трансдермального, внутримышечного, интраназального, трансбуккального, сублингвального введения или введения в виде суппозитория. В некоторых вариантах осуществления, агент или клеточные популяции вводят парентерально. Термин «парентеральный», используемый в данном документе, включает внутривенное, внутримышечное, подкожное, ректальное, вагинальное и внутрибрюшинное введение. В некоторых вариантах осуществления, агент или клеточные популяции вводят субъекту с использованием периферической системной доставки путем внутривенной, внутрибрюшинной или подкожной инъекции.

[00178] Композиции в некоторых вариантах осуществления, представлены в виде стерильных жидких препаратов, например, изотонических водных растворов, суспензий, эмульсий, дисперсий или вязких композиций, которые, в некоторых аспектах, могут быть забуферены до выбранного pH. Жидкие препараты обычно легче приготовить, чем гели, другие вязкие композиции и твердые композиции. Кроме того, жидкие композиции несколько удобнее вводить, особенно путем инъекции. Вязкие композиции, с другой стороны, могут быть составлены в пределах соответствующего диапазона вязкости, чтобы обеспечить более длительные периоды контакта с конкретными тканями. Жидкие или вязкие композиции могут содержать носители, которые могут представлять собой растворитель или дисперсионную среду, содержащую, например, воду, солевой раствор, фосфатно-солевой буфер, полиол (например, глицерин, пропиленгликоль, жидкий полиэтиленгликоль) и их подходящие смеси.

[00179] Стерильные растворы для инъекций могут быть приготовлены путем включения клеток в растворитель, такой как смесь с подходящим носителем, разбавителем или эксципиентом, таким как стерильная вода, солевой раствор, глюкоза, декстроза и подобные. Композиции также могут быть лиофилизированы. Композиции могут содержать вспомогательные вещества, такие как смачивающие, диспергирующие или эмульгирующие агенты (например, метилцеллюлозу), pH-буферные агенты, гелеобразующие или повышающие вязкость добавки, консерванты, ароматизаторы,

красители и подобные, в зависимости от пути введения и желаемого препарата. В некоторых аспектах, можно обращаться к стандартным текстам для получения подходящих препаратов.

[00180] Могут быть добавлены различные добавки, повышающие стабильность и стерильность композиций, включая противомикробные консерванты, антиоксиданты, хелатирующие агенты и буферы. Профилактика действия микроорганизмов может быть обеспечена различными антибактериальными и противогрибковыми агентами, например парабенами, хлорбутанолом, фенолом, сорбиновой кислотой и подобными. Длительное всасывание инъекционной лекарственной формы может быть вызвано применением средств, замедляющих всасывание, например моностеарата алюминия и желатина.

[00181] Составы, используемые для введения *in vivo*, обычно стерильны. Стерильность может быть легко достигнута, например, путем фильтрации через стерильные фильтрационные мембраны.

[00182] Для профилактики или лечения заболевания, подходящая доза может зависеть от типа заболевания, подлежащего лечению, типа агента или агентов, типа клеток или рекомбинантных рецепторов, тяжести и течения заболевания, того, является вводят ли агент или клетки в профилактических или терапевтических целях, предыдущей терапии, истории болезни субъекта и ответа на агент или клетки, а также на усмотрение лечащего врача. Композиции, в некоторых вариантах осуществления, подходящим образом вводят субъекту за один раз или в течение серии лечений.

[00183] В некоторых случаях, клеточную терапию вводят в виде одной фармацевтической композиции, содержащей клетки. В некоторых вариантах осуществления, данную дозу вводят путем однократного болюсного введения клеток или агента. В некоторых вариантах осуществления, его вводят путем многократного болюсного введения клеток или агента, например, в течение периода не более 3 дней, или путем непрерывного инфузионного введения клеток или агента.

2. Схема дозирования и введение

[00184] В некоторых вариантах осуществления, дозу клеток вводят субъектам в соответствии с предложенными способами комбинированной терапии. В некоторых вариантах осуществления, размер или время введения доз определяют в зависимости от конкретного заболевания или состояния у субъекта. Можно эмпирически определить размер или время введения доз для конкретного заболевания с учетом предоставленного описания.

[00185] В некоторых вариантах осуществления, клетки или отдельные популяции подтипов клеток вводят субъекту в диапазоне от примерно 0,1 миллиона до примерно 100 миллиардов клеток и/или такого количества клеток на килограмм массы тела субъекта, например, от 0,1 миллиона до примерно 50 миллиардов клеток (*например*, примерно 5 миллионов клеток, примерно 25 миллионов клеток, примерно 500 миллионов клеток, примерно 1 миллиард клеток, примерно 5 миллиардов клеток, примерно 20 миллиардов клеток, примерно 30 миллиардов клеток, примерно 40 миллиардов клеток или в

диапазоне, определяемом любыми двумя из предыдущих значений), от 1 миллиона до примерно 50 миллиардов клеток (*например*, примерно 5 миллионов клеток, примерно 25 миллионов клеток, примерно 500 миллионов клеток, примерно 1 миллиард клеток, примерно 5 миллиардов клеток, примерно 20 миллиардов клеток, примерно 30 миллиардов клеток, примерно 40 миллиардов клеток или в диапазоне, определяемом любыми двумя из предыдущих значений), *например*, от примерно 10 миллионов до примерно 100 миллиардов клеток (*например*, примерно 20 миллионов клеток, примерно 30 миллионов клеток, примерно 40 миллионов клеток, примерно 60 миллионов клеток, примерно 70 миллионов клеток, примерно 80 миллионов клеток, примерно 90 миллионов клеток, примерно 10 миллиардов клеток, примерно 25 миллиардов клеток, примерно 50 миллиардов клеток, примерно 75 миллиардов клеток, примерно 90 миллиардов клеток или в диапазоне, определяемом любыми двумя из предыдущих значений), и в некоторых случаях, от примерно 100 миллионов клеток до примерно 50 миллиардов клеток (*например*, примерно 120 миллионов клеток, примерно 250 миллионов клеток, примерно 350 миллионов клеток, примерно 450 миллионов клеток, примерно 650 миллионов клеток, примерно 800 миллионов клеток, примерно 900 миллионов клеток, примерно 3 миллиарда клеток, примерно 30 миллиардов клеток, примерно 45 миллиардов клеток) или любое значение между этими диапазонами и/или на килограмм массы тела субъекта. Дозировки могут варьироваться в зависимости от признаков, характерных для заболевания или нарушения и/или пациента, и/или других видов лечения. В некоторых вариантах осуществления, такие значения относятся к количеству клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор; в других вариантах осуществления, они относятся к числу введенных Т-клеток или РВМС или общему количеству клеток.

[00186] В некоторых вариантах осуществления, клеточная терапия включает введение дозы, содержащей количество клеток, которое составляет, по меньшей мере, или по меньшей мере, примерно или составляет или составляет примерно $0,1 \times 10^6$ клеток/кг массы тела субъекта, $0,2 \times 10^6$ клеток/кг, $0,3 \times 10^6$ клеток/кг, $0,4 \times 10^6$ клеток/кг, $0,5 \times 10^6$ клеток/кг, 1×10^6 клеток/кг, $2,0 \times 10^6$ клеток/кг, 3×10^6 клеток/кг или 5×10^6 клеток/кг.

[00187] В некоторых вариантах осуществления, клеточная терапия включает введение дозы, содержащей количество клеток, находящееся от или от примерно $0,1 \times 10^6$ клеток/кг массы тела субъекта до $1,0 \times 10^7$ клеток/кг, от или от примерно $0,5 \times 10^6$ клеток/кг до 5×10^6 клеток/кг, от или от примерно $0,5 \times 10^6$ клеток/кг до 3×10^6 клеток/кг, от или от примерно $0,5 \times 10^6$ клеток/кг до 2×10^6 клеток/кг, от или от примерно $0,5 \times 10^6$ клеток/кг до 1×10^6 клеток/кг, от или от примерно $1,0 \times 10^6$ клеток/кг массы тела субъекта до 5×10^6 клеток/кг, от или от примерно $1,0 \times 10^6$ клеток/кг до 3×10^6 клеток/кг, от или от примерно $1,0 \times 10^6$ клеток/кг до 2×10^6 клеток/кг, от или от примерно $2,0 \times 10^6$ клеток/кг массы тела субъекта до 5×10^6 клеток/кг, от или от примерно $2,0 \times 10^6$ клеток/кг до 3×10^6 клеток/кг, или от или от примерно $3,0 \times 10^6$ клеток/кг массы тела субъекта до 5×10^6 клеток/кг, каждое включительно.

[00188] В некоторых вариантах осуществления, доза клеток составляет от или от

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

[00189] В некоторых вариантах осуществления, доза клеток представляет собой базовую дозу клеток или фиксированную дозу клеток, так что доза клеток не привязана или не основана на площади поверхности тела или массе тела субъекта.

[00190] В некоторых вариантах осуществления, клеточная терапия включает введение дозы, включающей количество клеток от или от примерно 1×10^5 до 2×10^9 от общего количества рекомбинантных клеток, экспрессирующих рецептор, общего количества Т-клеток или общего количества мононуклеарных клеток периферической крови (РВМС), от или от примерно 5×10^5 до 1×10^9 от общего количества рекомбинантных клеток, экспрессирующих рецептор, общего количества Т-клеток или общего количества мононуклеарных клеток периферической крови (РВМС) или от или от примерно 1×10^6 до 1×10^9 от общего количества рекомбинантных клеток, экспрессирующих рецептор, общего количества Т-клеток или общего количества мононуклеарных клеток периферической крови (РВМС), каждое включительно. В некоторых вариантах осуществления, клеточная терапия включает введение дозы клеток, включающей количество клеток, по меньшей мере, или примерно, по меньшей мере, 1×10^5 от общего количества рекомбинантных клеток, экспрессирующих рецептор, общего количества Т-клеток или общего количества

моноклеарных клеток периферической крови (РВМС), например, по меньшей мере, или по меньшей мере, 1×10^6 , по меньшей мере, или примерно, по меньшей мере, 1×10^7 , по меньшей мере, или примерно, по меньшей мере, 1×10^8 , по меньшей мере, или примерно, по меньшей мере, 1×10^9 таких клеток.

[00191] В некоторых вариантах осуществления, доза генетически сконструированных клеток включает, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 1×10^5 CAR-экспрессирующих клеток, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно $2,5 \times 10^5$ CAR-экспрессирующих клеток, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 5×10^5 CAR-экспрессирующих клеток, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 1×10^6 CAR-экспрессирующих клеток, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно $2,5 \times 10^6$ CAR-экспрессирующих клеток, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 5×10^6 CAR-экспрессирующих клеток, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 1×10^7 CAR-экспрессирующих клеток, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно $2,5 \times 10^7$ CAR-экспрессирующих клеток, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 5×10^7 CAR-экспрессирующих клеток, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 1×10^8 CAR-экспрессирующих клеток, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно $2,5 \times 10^8$ CAR-экспрессирующих клеток, или, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 5×10^8 CAR-экспрессирующих клеток.

[00192] В некоторых вариантах осуществления, например, когда субъектом является человек, доза включает более чем точно или примерно 1×10^6 от общего количества экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например, CAR) (CAR^+) клеток, Т-клеток или моноклеарных клеток периферической крови (РВМС) и менее чем точно или примерно 2×10^9 клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например, CAR), Т-клеток или моноклеарных клеток периферической крови (РВМС), например, в диапазоне от точно или примерно $1,0 \times 10^7$ до точно или примерно $1,2 \times 10^9$ таких клеток, например, точно или примерно $1,0 \times 10^7$, $1,5 \times 10^7$, $2,0 \times 10^7$, $2,5 \times 10^7$, 5×10^7 , $1,5 \times 10^8$, 3×10^8 , $4,5 \times 10^8$, 6×10^8 , 8×10^8 или $1,2 \times 10^9$ всего таких клеток, или диапазон между любыми двумя из предыдущих значений. В некоторых вариантах осуществления, например, когда субъектом является человек, доза включает более чем точно или примерно 1×10^6 общего количества экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например, CAR) (CAR^+) клеток, Т-клеток или моноклеарных клеток периферической крови (РВМС) и менее чем точно или примерно 2×10^9 общего количества клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например, CAR), Т-клеток или моноклеарных клеток периферической крови (РВМС), например, в диапазоне от точно или примерно $2,5 \times 10^7$ до точно или примерно $1,2 \times 10^9$ таких клеток, например, точно или примерно $2,5 \times 10^7$, 5×10^7 , $1,5 \times 10^8$, 3×10^8 , $4,5 \times 10^8$, 6×10^8 , 8×10^8 или $1,2 \times 10^9$ всего таких клеток или диапазон между любыми двумя из предыдущих значений. В некоторых вариантах осуществления, например, когда субъектом является человек, доза включает точно или примерно $1,0 \times 10^7$ всего клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например, CAR), Т-клеток или

точно или примерно 5×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т-клеток, от точно или примерно 5×10^7 до точно или примерно $2,5 \times 10^8$ всего CAR-экспрессирующих Т-клеток, от точно или примерно 5×10^7 до точно или примерно 1×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т-клеток, от точно или примерно 1×10^8 до точно или примерно 5×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т-клеток, от точно или примерно 1×10^8 до точно или примерно $2,5 \times 10^8$ всего CAR-экспрессирующих Т-клеток или от точно или примерно $2,5 \times 10^8$ до точно или примерно 5×10^8 всего CAR-экспрессирующих Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления, доза генетически сконструированных клеток составляет от точно или примерно $1,0 \times 10^7$ до точно или примерно 8×10^8 всего CAR-экспрессирующих (CAR+) Т-клеток, от точно или примерно $1,0 \times 10^7$ до точно или примерно $6,5 \times 10^8$ всего CAR+ Т-клеток, от точно или примерно $1,5 \times 10^7$ до точно или примерно $6,5 \times 10^8$ всего CAR+ Т-клеток, от точно или примерно $1,5 \times 10^7$ до точно или примерно $6,0 \times 10^8$ всего CAR+ Т-клеток, от точно или примерно $2,5 \times 10^7$ до точно или примерно $6,0 \times 10^8$ всего CAR+ Т-клеток или от точно или примерно $5,0 \times 10^7$ до точно или примерно $6,0 \times 10^8$ всего CAR+ Т-клеток.

[00194] В некоторых вариантах осуществления, доза генетически сконструированных клеток составляет от точно или примерно $2,5 \times 10^7$ CAR-экспрессирующих (CAR+) Т-клеток, всего Т-клеток или всего мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC) до точно или примерно $1,2 \times 10^9$ CAR-экспрессирующих Т-клеток, всего Т-клеток или всего PBMC, от точно или примерно $5,0 \times 10^7$ CAR-экспрессирующих (CAR+) Т-клеток, всего Т-клеток или всего мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC) до точно или примерно $6,0 \times 10^8$ CAR-экспрессирующих Т-клеток, всего Т-клеток или всего PBMC, от точно или примерно $5,0 \times 10^7$ CAR-экспрессирующих Т-клеток до точно или примерно $4,5 \times 10^8$ CAR-экспрессирующих (CAR+) Т-клеток, всего Т-клеток или всего мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC), от точно или примерно $1,5 \times 10^8$ CAR-экспрессирующих Т-клеток до точно или примерно $3,0 \times 10^8$ CAR-экспрессирующих Т-клеток, всего Т-клеток или всего PBMC, каждое включительно. В некоторых вариантах осуществления, количество относится к общему количеству $CD3^+$ или $CD8^+$ клеток, в некоторых случаях, также CAR-экспрессирующих (например, CAR+) клеток. В некоторых вариантах осуществления, доза включает количество клеток от или от примерно $2,5 \times 10^7$ до или до примерно $1,2 \times 10^9$ всего $CD3^+$ или $CD8^+$ Т-клеток или CAR-экспрессирующих $CD3^+$ или $CD8^+$ клеток, от или от примерно $5,0 \times 10^7$ до или до примерно $6,0 \times 10^8$ всего $CD3^+$ или $CD8^+$ Т-клеток или CAR-экспрессирующих $CD3^+$ или $CD8^+$ клеток, от или от примерно $5,0 \times 10^7$ до или до примерно $4,5 \times 10^8$ всего $CD3^+$ или $CD8^+$ Т-клеток или CAR-экспрессирующих $CD3^+$ или $CD8^+$ клеток, или от или от примерно $1,5 \times 10^8$ до или до примерно $3,0 \times 10^8$ всего $CD3^+$ или $CD8^+$ Т-клеток или CAR-экспрессирующих $CD3^+$ или $CD8^+$ клеток, каждый включительно.

[00195] В некоторых вариантах осуществления, доза генетически сконструированных клеток относится к общему количеству $CD3^+$ CAR-экспрессирующих (CAR+) или $CD4^+/CD8^+$ CAR-экспрессирующих (CAR+) клеток. В некоторых вариантах осуществления, доза включает количество генетически сконструированных клеток от или

экспрессирующих клеток. В некоторых вариантах осуществления, доза составляет точно или примерно 5×10^7 CD4⁺/CD8⁺ CAR-экспрессирующих клеток. В некоторых вариантах осуществления, доза составляет точно или примерно $1,5 \times 10^8$ CD4⁺ или CD8⁺ CAR-экспрессирующих клеток. В некоторых вариантах осуществления, доза составляет точно или примерно 3×10^8 CD4⁺ или CD8⁺ CAR-экспрессирующих клеток. В некоторых вариантах осуществления, доза составляет точно или примерно $4,5 \times 10^8$ CD4⁺ или CD8⁺ CAR-экспрессирующих клеток. В некоторых вариантах осуществления, доза составляет точно или примерно 6×10^8 CD4⁺ или CD8⁺ CAR-экспрессирующих клеток. В некоторых вариантах осуществления, доза составляет точно или примерно $6,5 \times 10^8$ CD4⁺ или CD8⁺ CAR-экспрессирующих клеток. В некоторых вариантах осуществления, доза составляет точно или примерно 8×10^8 CD4⁺ или CD8⁺ CAR-экспрессирующих клеток. В некоторых вариантах осуществления, доза составляет точно или примерно $1,2 \times 10^9$ CD4⁺ или CD8⁺ CAR-экспрессирующих клеток.

[00197] В некоторых вариантах осуществления, Т-клетки в дозе включают CD4⁺ Т-клетки, CD8⁺ Т-клетки или CD4⁺ и CD8⁺ Т-клетки.

[00198] В некоторых вариантах осуществления, например, если субъектом является человек, общее количество CD4⁺ Т-клеток и CD8⁺ Т-клеток в дозе включает от точно или примерно 1×10^6 до точно или примерно 2×10^9 всего CAR-экспрессирующих CD4⁺ клеток и CAR-экспрессирующих CD8⁺ клеток, например, в диапазоне от точно или примерно $2,5 \times 10^7$ до точно или примерно $1,2 \times 10^9$ таких клеток, например, в диапазоне от точно или примерно 5×10^7 до точно или примерно до $4,5 \times 10^8$ таких клеток; например, точно или примерно $1,0 \times 10^7$, точно или примерно $2,5 \times 10^7$, точно или примерно $2,0 \times 10^7$, точно или примерно $2,5 \times 10^7$, точно или примерно 5×10^7 , точно или примерно $1,5 \times 10^8$, точно или примерно 3×10^8 , точно или примерно $4,5 \times 10^8$, точно или примерно 6×10^8 , точно или примерно $6,5 \times 10^8$, точно или примерно 8×10^8 или точно или примерно $1,2 \times 10^9$ всего таких клеток, или диапазон между любыми двумя из предыдущих значений. В некоторых вариантах осуществления, например, когда субъектом является человек, CD8⁺ Т-клетки в дозе, в том числе в дозе, включающей CD4⁺ Т-клетки и CD8⁺ Т-клетки, включают от точно или примерно 1×10^6 до точно или примерно 2×10^9 всего CD8⁺ клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например, CAR), например, в диапазоне от точно или примерно $2,5 \times 10^7$ до точно или примерно $1,2 \times 10^9$ таких клеток, например, в диапазоне от точно или примерно 5×10^7 до точно или примерно $4,5 \times 10^8$ таких клеток; например, точно или примерно $2,5 \times 10^7$, точно или примерно 5×10^7 , точно или примерно $1,5 \times 10^8$, точно или примерно 3×10^8 или точно или примерно $4,5 \times 10^8$, точно или примерно 6×10^8 , точно или примерно 8×10^8 , или точно или примерно $1,2 \times 10^9$ всего таких клеток, или в диапазоне между любыми двумя из вышеуказанных значений.

[00199] В некоторых вариантах осуществления, доза клеток, например, Т-клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор, вводится субъекту в виде разовой дозы или вводится только один раз в течение двух недель, одного месяца, трех месяцев, шести месяцев, 1 года или больше. В некоторых вариантах осуществления, пациенту вводят

несколько доз, и каждая из доз или общая доза может находиться в пределах любого из вышеуказанных значений. В некоторых вариантах осуществления, сконструированные клетки для введения или композиция сконструированных клеток для введения демонстрируют свойства, указывающие на или совместимые со здоровьем клеток. В некоторых вариантах осуществления, точно или примерно или, по меньшей мере, точно или примерно 70, 75, 80, 85 или 90% CAR⁺ клеток такой дозы демонстрируют одно или несколько свойств или фенотипов, указывающих на здоровье клеток или биологически активные CAR клетки, таких как отсутствие экспрессии маркера апоптоза.

[00200] В конкретных вариантах осуществления, фенотип представляет собой или включает отсутствие апоптоза и/или указание на то, что клетка подвергается процессу апоптоза. Апоптоз представляет собой процесс запрограммированной гибели клетки, который включает в себя ряд стереотипных морфологических и биохимических событий, которые приводят к характерным изменениям и гибели клеток, включая вздутие, сморщивание клеток, ядерную фрагментацию, конденсацию хроматина, фрагментацию хромосомной ДНК и глобальный распад мРНК. В некоторых аспектах, на ранние стадии апоптоза может указывать активация определенных каспаз, например, 2, 8, 9 и 10. В некоторых аспектах, средние и поздние стадии апоптоза характеризуются дальнейшей потерей целостности мембраны, конденсацией хроматина и фрагментацией ДНК, включая биохимические события, такие как активация каспаз 3, 6 и 7.

[00201] В конкретных вариантах осуществления, фенотип представляет собой отрицательную экспрессию одного или нескольких факторов, связанных с запрограммированной гибелью клеток, например, проапоптотических факторов, о которых известно, что они инициируют апоптоз, например, участников пути рецептора смерти, активированных членов митохондриального (внутреннего) пути, таких как члены семейства Bcl-2, например Bax, Bad и Bid, и каспазы. В некоторых вариантах осуществления, фенотип представляет собой отсутствие индикатора, например, молекулы аннексина V или окрашивания TUNEL, который преимущественно связывается с клетками, подвергающимися апоптозу, при инкубации или при контакте с клеточной композицией. В некоторых вариантах осуществления, фенотип представляет собой или включает экспрессию одного или нескольких маркеров, которые указывают на состояние апоптоза в клетке. В некоторых вариантах осуществления, фенотип представляет собой отсутствие экспрессии и/или активации каспазы, такой как каспаза 3. В некоторых аспектах, активация каспазы-3 свидетельствует об усилении или возрождении апоптоза. В некоторых вариантах осуществления, активацию каспазы можно обнаружить известными способами. В некоторых вариантах осуществления, для обнаружения активации каспазы можно использовать антитело, которое специфически связывается с активированной каспазой (т.е. специфически связывается с расщепленным полипептидом). В конкретных вариантах осуществления, фенотип представляет собой или включает активную каспазу 3. В некоторых вариантах осуществления, маркер апоптоза представляет собой реагент, который выявляет в клетке признак, связанный с апоптозом. В некоторых вариантах

осуществления, реагент представляет собой молекулу аннексина V.

[00202] В некоторых вариантах осуществления, композиции, содержащие сконструированные клетки для введения, содержат определенное число или количество клеток, которые проявляют фенотипы, указывающие на или соответствующие здоровью клеток. В некоторых вариантах осуществления, менее примерно 25%, 20%, 15%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% или 1% CAR-экспрессирующих T-клеток в дозе сконструированных T-клеток экспрессируют маркер апоптоза, необязательно, аннексин V или активную каспазу 3. В некоторых вариантах осуществления, менее 5%, 4%, 3%, 2% или 1% CAR-экспрессирующих T-клеток в дозе сконструированных T-клеток экспрессируют аннексин V или активную каспазу 3.

[00203] В контексте адоптивной клеточной терапии введение данной «дозы» клеток включает введение данного количества или количества клеток в виде единой композиции и/или однократное непрерывное введение, *например*, в виде однократной инъекции или непрерывной инфузии, а также включает введение данного количества или количества клеток в виде разделенной дозы, представленной в виде нескольких отдельных композиций или инфузий, в течение определенного периода времени, который составляет не более 3 дней. Таким образом, в некоторых контекстах, доза представляет собой однократное или непрерывное введение определенного количества клеток, вводимое или начатое в один момент времени. Однако в некоторых случаях, дозу вводят в виде многократных инъекций или вливаний в течение периода не более трех дней, например, один раз в день в течение трех дней или в течение двух дней, или путем многократных вливаний в течение одного дня.

[00204] Таким образом, в некоторых аспектах, клетки дозы вводят в одной фармацевтической композиции. В некоторых вариантах осуществления, клетки дозы вводят во множестве композиций, совместно содержащих клетки дозы.

[00205] Термин «разделенная доза» относится к дозе, которую разделяют таким образом, чтобы вводить ее в течение более чем одного дня. Этот тип дозирования охватывается настоящими способами и считается разовой дозой. В некоторых вариантах осуществления, клетки в виде разделенной дозы вводят в виде множества композиций, в совокупности содержащих клетки в дозе, в течение периода не более трех дней.

[00206] Таким образом, доза клеток может быть введена в виде разделенной дозы. Например, в некоторых вариантах осуществления, доза может быть введена субъекту в течение 2 дней или более 3 дней. Типовые способы разделенного дозирования включают введение 25% дозы в первый день и введение оставшихся 75% дозы во второй день. В других вариантах осуществления, 33% дозы можно вводить в первый день, и оставшиеся 67% вводить во второй день. В некоторых аспектах, 10% дозы вводят в первый день, 30% дозы вводят во второй день и 60% дозы вводят в третий день. В некоторых вариантах осуществления, разделенную дозу не распределяют более чем на 3 дня.

[00207] В некоторых вариантах осуществления, доза клеток обычно достаточно велика, чтобы эффективно снижать бремя болезни.

[00208] В некоторых вариантах осуществления, клетки вводят в желаемой дозе, которая в некоторых аспектах включает желаемую дозу или количество клеток или тип(ы) клеток и/или желаемое соотношение типов клеток. Таким образом, дозировка клеток в некоторых вариантах осуществления, основана на общем количестве клеток (или количестве на кг массы тела) и желаемом соотношении отдельных популяций или подтипов, таком как соотношение $CD4^+$ к $CD8^+$. В некоторых вариантах осуществления, дозировка клеток основана на желаемом общем количестве (или количестве на кг массы тела) клеток в отдельных популяциях или отдельных типах клеток. В некоторых вариантах осуществления, дозировка основана на сочетании таких характеристик, как желаемое общее количество клеток, желаемое соотношение и желаемое общее количество клеток в отдельных популяциях.

[00209] В некоторых вариантах осуществления, популяции или подтипы клеток, такие как $CD8^+$ и $CD4^+$ Т-клетки, вводят в количестве или в пределах допустимой разницы от желаемой дозы общего количества клеток, такой как желаемая доза Т-клеток. В некоторых аспектах желаемая доза представляет собой желаемое количество клеток или желаемое количество клеток на единицу массы тела субъекта, которому вводят клетки, *например*, клетки/кг. В некоторых аспектах, желаемая доза равна или превышает минимальное количество клеток или минимальное количество клеток на единицу массы тела. В некоторых аспектах, среди всех клеток, вводимых в желаемой дозе, отдельные популяции или подтипы присутствуют в или близко к желаемому отношению выхода (такому как отношение $CD4^+$ к $CD8^+$), *например*, в пределах определенной допустимой разницы или ошибки такого соотношения.

[00210] В некоторых вариантах осуществления, клетки вводят на уровне или в пределах допустимой разницы от желаемой дозы одной или нескольких отдельных популяций или подтипов клеток, такой как желаемая доза клеток $CD4^+$ и/или желаемая доза клеток $CD8^+$. В некоторых аспектах, желаемая доза представляет собой желаемое количество клеток подтипа или популяции или желаемое количество таких клеток на единицу массы тела субъекта, которому вводят клетки, *например*, клеток/кг. В некоторых аспектах, желаемая доза равна или превышает минимальное количество клеток популяции или подтипа или минимальное количество клеток популяции или подтипа на единицу массы тела.

[00211] Таким образом, в некоторых вариантах осуществления, дозировка основана на желаемой фиксированной дозе общего количества клеток и желаемом соотношении и/или на основе желаемой фиксированной дозы одного или нескольких, *например*, каждого из отдельных подтипов или субпопуляций. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления, дозировка основана на желаемой фиксированной или минимальной дозе Т-клеток и желаемом соотношении $CD4^+$ и $CD8^+$ клеток и/или основана на желаемой фиксированной или минимальной дозе $CD4^+$ и/или $CD8^+$ клеток.

[00212] В некоторых вариантах осуществления, клетки вводят в количестве или в пределах допустимого диапазона желаемого коэффициента выхода нескольких популяций

клеток или подтипов, таких как CD4⁺ и CD8⁺ клетки или подтипы. В некоторых аспектах, желаемое соотношение может быть конкретным соотношением или может представлять собой диапазон соотношений, например, в некоторых вариантах осуществления, желаемое соотношение (*например*, отношение CD4⁺ клеток к CD8⁺ клеткам) составляет от точно или примерно 5:1 до точно или примерно 5:1 (или больше примерно 1:5 и меньше примерно 5:1), или от точно или примерно 1:3 до точно или примерно 3:1 (или больше примерно 1:3 и меньше примерно 3:1), например, от точно или примерно 2:1 до точно или примерно 1:5 (или больше примерно 1:5 и меньше примерно 2:1, например примерно 5:1, 4,5:1, 4:1, 3,5:1, 3:1, 2,5:1, 2:1, 1,9:1, 1,8:1, 1,7:1, 1,6:1, 1,5:1, 1,4:1, 1,3:1, 1,2:1, 1,1:1, 1:1, 1:1,1, 1:1,2, 1:1,3, 1:1,4, 1:1,5, 1:1,6, 1:1,7, 1:1,8, 1:1,9: 1:2, 1:2,5, 1:3, 1:3,5, 1:4, 1:4,5 или 1:5). В некоторых аспектах, допустимая разница находится в пределах примерно 1%, примерно 2%, примерно 3%, примерно 4%, примерно 5%, примерно 10%, примерно 15%, примерно 20%, примерно 25%, примерно 30%, примерно 35%, примерно 40%, примерно 45%, примерно 50% желаемого соотношения, включая любое значение между этими диапазонами.

[00213] В некоторых вариантах осуществления, доза или композиция клеток включает определенное или целевое соотношение CD4⁺ клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор, к CD8⁺ клеткам, экспрессирующим рекомбинантный рецептор, и/или CD4⁺ клеток к CD8⁺ клеткам, которое составляет приблизительно 1:1 или составляет между приблизительно 1:3 и приблизительно 3:1, например, приблизительно 1:1.

[00214] В конкретных вариантах осуществления, количество и/или концентрация клеток относится к количеству клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор (*например*, CAR). В других вариантах осуществления, количество и/или концентрация клеток относится к количеству или концентрации всех введенных клеток, Т-клеток или мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC).

[00215] В некоторых аспектах, размер дозы определяется на основе одного или нескольких критериев, таких как ответ субъекта на предшествующее лечение, *например*, химиотерапию, бремя заболевания у субъекта, такое как опухолевая нагрузка, объем, размер или степень, протяженность, или тип метастазирования, стадия и/или вероятность или частота развития у субъекта токсических исходов, *например*, CRS, синдрома активации макрофагов, синдрома лизиса опухоли, нейротоксичности и/или иммунного ответа хозяина против вводимых клеток и/или рекомбинантных рецепторов.

[00216] В некоторых вариантах осуществления, введение иммуномодулирующего соединения в комбинации с клетками способно значительно увеличить размножение или пролиферацию клеток, и, таким образом, субъекту можно вводить более низкую дозу клеток. В некоторых случаях, предложенные способы позволяют вводить меньшую дозу таких клеток для достижения такой же или лучшей эффективности лечения, как для дозы в способе, в котором клеточную терапию проводят без введения иммуномодулирующего соединения, например, по меньшей мере, в 1,5 раза, 2 раза, 3 раза, 4 раза, 5 раз или 10раз

меньшую, чем доза в способе, в котором клеточная терапия проводится без введения иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В.

[00217] В некоторых вариантах осуществления, например, доза содержит от или от примерно $5,0 \times 10^6$ до $2,25 \times 10^7$, от $5,0 \times 10^6$ до $2,0 \times 10^7$, от $5,0 \times 10^6$ до $1,5 \times 10^7$, от $5,0 \times 10^6$ до $1,0 \times 10^7$, от $5,0 \times 10^6$ до $7,5 \times 10^6$, от $7,5 \times 10^6$ до $2,25 \times 10^7$, от $7,5 \times 10^6$ до $2,0 \times 10^7$, от $7,5 \times 10^6$ до $1,5 \times 10^7$, от $7,5 \times 10^6$ до $1,0 \times 10^7$, от $1,0 \times 10^7$ до $2,25 \times 10^7$, от $1,0 \times 10^7$ до $2,0 \times 10^7$, от $1,0 \times 10^7$ до $1,5 \times 10^7$, от $1,5 \times 10^7$ до $2,25 \times 10^7$, от $1,5 \times 10^7$ до $2,0 \times 10^7$, от $2,0 \times 10^7$ до $2,25 \times 10^7$. В некоторых вариантах осуществления, доза клеток содержит количество клеток, которое составляет, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 5×10^6 , 6×10^6 , 7×10^6 , 8×10^6 , 9×10^6 , 10×10^6 и примерно 15×10^6 клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор, таких как клетки, экспрессирующие рекомбинантный рецептор, которые являются CD8⁺. В некоторых вариантах осуществления, такая доза, такая как такое целевое количество клеток, относится к общему количеству клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор, во вводимой композиции.

[00218] В некоторых вариантах осуществления, например, более низкая доза содержит менее примерно 5×10^6 клеток, клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например, CAR), Т-клеток и/или РВМС на килограмм массы тела субъекта, например менее примерно $4,5 \times 10^6$, 4×10^6 , $3,5 \times 10^6$, 3×10^6 , $2,5 \times 10^6$, 2×10^6 , $1,5 \times 10^6$, 1×10^6 , 5×10^5 , $2,5 \times 10^5$, или 1×10^5 таких клеток на килограмм массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления, более низкая доза содержит менее примерно 1×10^5 , 2×10^5 , 5×10^5 или 1×10^6 таких клеток на килограмм массы тела субъекта или значение в диапазоне между любыми двумя из предыдущих значений. В некоторых вариантах осуществления, такие значения относятся к количеству клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор; в других вариантах осуществления, они относятся к числу введенных Т-клеток или РВМС или общему количеству введенных клеток.

[00219] В некоторых вариантах осуществления, субъект получает множество доз, например, две или несколько доз или множество последовательных доз клеток. В некоторых вариантах осуществления, субъекту вводят две дозы. В некоторых вариантах осуществления, субъект получает последующую дозу, например, вторую дозу вводят примерно через 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21 день после первой дозы. В некоторых вариантах осуществления, множество последующих доз вводят после первой дозы, так что дополнительную дозу или дозы вводят после введения последующей дозы. В некоторых аспектах, количество клеток, вводимых субъекту в дополнительной дозе, такое же или подобное первой дозе и/или последующей дозе. В некоторых вариантах осуществления, дополнительная доза или дозы больше, чем предыдущие дозы. В некоторых вариантах осуществления, субъекту можно вводить одну или несколько последующих доз клеток. В некоторых вариантах осуществления, последующую дозу клеток вводят через более чем или более чем примерно 7 дней, 14 дней, 21 день, 28 дней или 35 дней после начала введения первой дозы клеток. Последующая доза клеток может быть больше, примерно такой же или меньше первой

дозы. В некоторых вариантах осуществления, введение Т-клеточной терапии, такое как введение первой и/или второй дозы клеток, можно повторить.

[00220] В некоторых вариантах осуществления, начало введения клеточной терапии, *например* дозу клеток или первую дозу разделенной дозы клеток, вводят до (до), одновременно с или после (впоследствии или после) введения иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В.

[00221] В некоторых вариантах осуществления, дозу клеток или последующую дозу клеток вводят одновременно с иницирующим введением иммуномодулирующего соединения в соответствии со способами комбинированной терапии. В некоторых вариантах осуществления, дозу клеток или последующую дозу клеток вводят в тот же день, что и начало введения иммуномодулирующего соединения, в соответствии со способами комбинированной терапии. В некоторых вариантах осуществления, дозу клеток или последующую дозу клеток вводят в пределах 1 дня, в пределах 2 дней, в пределах 3 дней, в пределах 4 дней, в пределах 5 дней, в пределах 6 дней или в пределах 7 дней после начала введения иммуномодулирующего соединения в соответствии со способами комбинированной терапии.

[00222] В некоторых вариантах осуществления, доза клеток или последующая доза клеток вводится до начала или инициации введения иммуномодулирующего соединения в соответствии с предлагаемой комбинированной терапией. В некоторых вариантах осуществления, дозу клеток вводят, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно за 1 час, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно за 2 часа, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно за 3 часа, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно за 6 часов, по меньшей мере, или, по меньшей мере, чем за 12 часов, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно за 1 день, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно за 2 дня, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно за 3 дня, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно за 4 дня, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно за 5 дней, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно за 6 дней, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно за 7 дней, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно за 12 дней, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно за 14 дней, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно за 15 дней, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно за 21 день, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно за 28 дней, по меньшей мере, или, примерно по меньшей мере, за 30 дней, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно за 35 дней, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно за 42 дня, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно за 60 дней или, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно за 90 дней до введения иммуномодулирующего соединения в соответствии с предлагаемой комбинированной терапией.

[00223] В некоторых вариантах осуществления, введение иммуномодулирующего соединения (например, соединения А или соединения В) в соответствии с предложенной комбинированной терапией осуществляется в то время, когда предшествующее введение

иммунотерапии (*например*, Т-клеточной терапии, такой как CAR-T клеточная терапия) связано или может быть связано со сниженной функциональностью Т-клеток по сравнению с функциональностью Т-клеток непосредственно перед началом иммунотерапии (*например*, Т-клеточной терапии, такой как CAR-T-клеточная терапия) или в предшествующий момент времени после начала Т-клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, способ включает, после введения дозы клеток Т-клеточной терапии, *например*, адоптивной Т-клеточной терапии, но до введения иммуномодулирующего соединения, оценку образца от субъекта на предмет одной или нескольких функций Т-клеток, таких как размножение или жизнестойкость клеток, *например*, определяемые по уровню или количеству в крови, или другие фенотипы или желаемые результаты, как описано в настоящем документе, *например*, такие, как описаны в разделе III. В некоторых вариантах осуществления, способ включает, после введения дозы клеток для Т-клеточной терапии, *например*, адоптивной Т-клеточной терапии, но до введения иммуномодулирующего соединения, оценку образца от субъекта на экспрессию одного или нескольких маркеров истощения. Различные параметры для определения или оценки схемы комбинированной терапии описаны в разделе III.

В. Введение иммуномодулирующего соединения

[00224] Предложенные способы комбинированной терапии, композиции, комбинации, наборы и применения включают введение иммуномодулирующего соединения, такого как структурный или функциональный аналог или производное талидомида и/или ингибитора убиквитинлигазы E3, *например*, соединение А (ибердомид, (S)-3-[4-(4-морфолин-4-илметилбензилокси)-1-оксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил]пиперидин-2,6-дион или соединение В ((S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил), которые можно вводить до, после, во время, одновременно или почти одновременно, последовательно и/или периодически с введением Т-клеточной терапии, *например*, введением Т-клеток, экспрессирующих химерный антигенный рецептор (CAR).

1. Композиции и составы

[00225] В некоторых вариантах осуществления способов комбинированной терапии, композиций, комбинаций, наборов и применений, предложенных в настоящем документе, комбинированную терапию можно вводить в виде одной или нескольких композиций, *например*, фармацевтической композиции, содержащей иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В.

[00226] В некоторых вариантах осуществления, композиция, *например*, фармацевтическая композиция, содержащая иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, может включать носители, такие как разбавитель, адъювант, эксципиент или носитель, с которыми вводят иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В и/или клетки. Примеры подходящих фармацевтических носителей описаны в «Remington's Pharmaceutical Sciences» by E.W. Martin. Такие композиции будут содержать

терапевтически эффективное количество иммуномодулирующего соединения, *например* соединения А или соединения В, как правило, в очищенной форме, вместе с подходящим количеством носителя, чтобы обеспечить форму для надлежащего введения пациенту. Такие фармацевтические носители могут представлять собой стерильные жидкости, такие как вода и масла, включая масла нефтяного, животного, растительного или синтетического происхождения, такие как арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло и кунжутное масло. Солевые растворы и водные растворы декстрозы и глицерина также можно использовать в качестве жидких носителей, особенно для растворов для инъекций. Фармацевтические композиции могут содержать один или несколько разбавителей, адъювантов, антиадгезивов, связующих агентов, покрытий, наполнителей, ароматизаторов, красителей, смазывающих агентов, глидантов, консервантов, детергентов, сорбентов, эмульгаторов, фармацевтических эксципиентов, рН-буферных агентов или подсластителей и их комбинаций. В некоторых вариантах осуществления, фармацевтическая композиция может быть жидкой, твердой, лиофилизированным порошком, в форме геля и/или их комбинацией. В некоторых аспектах, выбор носителя частично определяется конкретным ингибитором и/или способом введения.

[00227] Фармацевтически приемлемые носители обычно нетоксичны для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях и включают, но не ограничены ими: буферы, такие как фосфатный, цитратный и другие органические кислоты; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту и метионин; консерванты (такие как хлорид октадецилдиметилбензиламмония, хлорид гексаметония, хлорид бензалкония, хлорид бензетония, фенол, бутиловый или бензиловый спирт, алкилпарабены, такие как метил- или пропилпарабен, катехол, резорцин, циклогексанол, 3-пентанол и м-крезол); низкомолекулярные (менее примерно 10 остатков) полипептиды; белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу или декстрины; хелатирующие агенты, такие как ЭДТК; сахара, такие как сахароза, маннит, трегалоза или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; комплексы металлов (например, комплексы Zn-белок); и/или неионные поверхностно-активные вещества, такие как полиэтиленгликоль (PEG), стабилизаторы и/или консерванты. Композиции, содержащие иммуномодулирующее соединение, *например* соединение А или соединение В, также могут быть лиофилизированы.

[00228] В некоторых вариантах осуществления, фармацевтические композиции могут быть составлены для введения любым известным путем, включая внутримышечную, внутривенную, интрадермальную, внутриочаговую, внутрибрюшинную инъекцию, подкожное, внутриопухолевое, эпидуральное, назальное, пероральное, вагинальное, ректальное, местное, локальное, ушное, ингаляционное, буккальное (*например*, подъязычное) и трансдермальное введение или любой путь. В некоторых вариантах осуществления, также рассматриваются другие способы введения. В

некоторых вариантах осуществления, введение осуществляется путем болюсной инфузии, инъекции, *например*, внутривенной или подкожной инъекции, внутриглазной инъекции, периокулярной инъекции, субретинальной инъекции, интравитреальной инъекции, трансептальной инъекции, субсклеральной инъекции, интрахориоидальной инъекции, внутрикамерной инъекции, субконъюнктивной инъекции, субконъюнктивальной инъекции, субтеноновой инъекции, ретробульбарной инъекции, перibuльбарной инъекции или задняя юкстасклеральной инъекции. В некоторых вариантах осуществления, введение осуществляется парентерально, внутрилегочно и интраназально и, при необходимости местного лечения, введением внутрь очага поражения. Парентеральные инфузии включают внутримышечное, внутривенное, внутриартериальное, внутрибрюшинное или подкожное введение. В некоторых вариантах осуществления, данную дозу вводят путем однократного болюсного введения. В некоторых вариантах осуществления, его вводят путем многократного болюсного введения, например, в течение периода не более 3 дней, или путем непрерывного инфузионного введения.

[00229] В некоторых вариантах осуществления, введение может быть локальным, местным или системным в зависимости от очага лечения. В некоторых вариантах осуществления, местное введение в область, нуждающуюся в лечении, может быть достигнуто, например, но не ограничиваясь этим, путем местной инфузии во время операции, местного применения, *например*, в сочетании с повязкой на рану после операции, путем инъекции, с помощью катетера, с помощью суппозитория или с помощью имплантата. В некоторых вариантах осуществления, композиции также можно вводить с другими биологически активными агентами либо последовательно, периодически, либо в одной и той же композиции. В некоторых вариантах осуществления, введение также может включать системы с контролируемым высвобождением, включая составы с контролируемым высвобождением и устройство с контролируемым высвобождением, например, с помощью помпы. В некоторых вариантах осуществления, введение является пероральным.

[00230] В некоторых вариантах осуществления, фармацевтически и терапевтически активные соединения и их производные обычно составляют и вводят в виде стандартных дозированных форм или многократных дозированных форм. Каждая стандартная доза содержит предварительно определенное количество терапевтически активного соединения, достаточное для получения желаемого терапевтического эффекта, в комбинации с требуемым фармацевтическим носителем, наполнителем или разбавителем. В некоторых вариантах осуществления, стандартные дозированные формы включают, но не ограничены ими, таблетки, капсулы, пилюли, порошки, гранулы, стерильные парентеральные растворы или суспензии, а также растворы или суспензии для перорального введения и масляно-водные эмульсии, содержащие подходящие количества соединений или их фармацевтически приемлемых производных. Стандартные дозированные формы могут содержать ампулы и шприцы или индивидуально упакованные таблетки или капсулы. Стандартные дозированные формы можно вводить в

виде фракций или их кратных частей. В некоторых вариантах осуществления, многодозовая форма представляет собой множество идентичных стандартных дозированных форм, упакованных в один контейнер для введения в виде отдельных стандартных дозированных форм. Примеры многодозовых форм включают флаконы, бутылки с таблетками или капсулами или бутылки с пинтами или галлонами.

[00231] Активные ингредиенты могут быть заключены в микрокапсулы, в коллоидные системы доставки лекарственных средств (например, липосомы, альбуминовые микросферы, микроэмульсии, наночастицы и нанокапсулы) или в макроэмульсии. В некоторых вариантах осуществления, фармацевтическая композиция, содержащая иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, составлена в виде комплекса включения, такого как комплекс включения циклодекстрина, или в виде липосомы. Липосомы могут служить для таргетирования клеток-хозяев (например, Т-клеток или НК-клеток) на конкретную ткань. Для получения липосом доступны многие способы, такие как способы, описанные, например, в Szoka et al., Ann. Rev. Biophys. Bioeng., 9: 467 (1980), и патентах США №№ 4,235,871, 4,501,728, 4,837,028 и 5,019,369.

[00232] Фармацевтическая композиция, содержащая иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, в некоторых аспектах, может использовать системы доставки с медленным высвобождением, отсроченным высвобождением и пролонгированным высвобождением, так что доставка композиции происходит до и с достаточным временем, чтобы вызвать сенсбилизацию участка, подлежащего лечению. Доступны и известны многие типы высвобождения систем доставки. Такие системы позволяют избежать повторного введения композиции, тем самым повышая удобство для субъекта и врача.

[00233] Композиции, содержащие иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, также могут быть лиофилизированы. Композиции могут содержать вспомогательные вещества, такие как смачивающие, диспергирующие или эмульгирующие агенты (например, метилцеллюлозу), рН-буферные агенты, гелеобразующие или повышающие вязкость добавки, консерванты, ароматизаторы, красители и подобные, в зависимости от пути введения и желаемого препарата. В некоторых аспектах, можно обращаться к стандартным текстам для получения подходящих препаратов.

[00234] Могут быть добавлены различные добавки, повышающие стабильность и стерильность композиций, включая противомикробные консерванты, антиоксиданты, хелатирующие агенты и буферы. Профилактика действия микроорганизмов может быть обеспечена различными антибактериальными и противогрибковыми агентами, например парабенами, хлорбутанолом, фенолом, сорбиновой кислотой и подобными. Длительное всасывание инъекционной лекарственной формы может быть вызвано применением средств, замедляющих всасывание, например моностеарата алюминия и желатина.

[00235] Могут быть приготовлены препараты с замедленным высвобождением.

Подходящие примеры препаратов с замедленным высвобождением включают полупроницаемые матрицы из твердых гидрофобных полимеров, содержащие антитело, где матрицы имеют форму формованных изделий, например, пленок или микрокапсул.

[00236] В некоторых вариантах осуществления, композицию, содержащую иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят в форме соли, *например*, фармацевтически приемлемой соли. Подходящие фармацевтически приемлемые кислотно-аддитивные соли включают соли, полученные из минеральных кислот, таких как хлористоводородная, бромистоводородная, фосфорная, метафосфорная, азотная и серная кислоты, и органических кислот, таких как винная, уксусная, лимонная, яблочная, молочная, фумаровая, бензойная, гликолевая, глюконовая, янтарная и арилсульфоновая кислоты, *например* п-толуолсульфоновая кислота.

2. Схема дозирования иммуномодулирующего соединения

[00237] В некоторых вариантах осуществления, предложенный способ комбинированной терапии включает введение субъекту терапевтически эффективного количества иммуномодулирующего лекарственного средства (иммуномодулирующего соединения), *например*, соединения А или соединения В, и клеточной терапии, такой как Т-клеточная терапия (*например*, CAR-экспрессирующие Т-клетки).

[00238] В некоторых вариантах осуществления, введение иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В, начинают до, после, во время, в ходе, одновременно, почти одновременно, последовательно и/или периодически с введением клеточной терапии, такой как Т-клеточная терапия (*например*, CAR-экспрессирующие Т-клетки). В некоторых вариантах осуществления, способ включает начало введения иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В, перед введением Т-клеточной терапии. В других вариантах осуществления, способ включает начало введения иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В, после введения Т-клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, схема дозирования включает начало введения иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В, параллельно или одновременно с введением Т-клеточной терапии.

[00239] В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят курсами. В некоторых вариантах осуществления, курс включает период введения, в течение которого вводят иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, с последующим периодом отдыха, в течение которого иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, не вводят. В некоторых вариантах осуществления, общее количество дней курса, *например*, от начала введения иммуномодулирующего соединения, составляет более или более примерно или составляет примерно 21 день, 28 дней, 30 дней, 40 дней, 50 дней, 60 дней или более.

[00240] В некоторых вариантах осуществления, начало введения иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В,

осуществляют, по меньшей мере, в одном курсе, и начало введения Т-клеточной терапии осуществляют в тот же день, необязательно, одновременно. В некоторых вариантах осуществления, начало введения иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В, по меньшей мере, в одном курсе предшествует началу введения Т-клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, начало введения иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В, по меньшей мере, в одном курсе происходит одновременно или в тот же день, что и начало введения Т-клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят за или примерно 0-30 дней, *например*, 0-15 дней, 0-6 дней, 0-96 часов, 0-24 часа, 0-12 часов, 0-6 часов или 0-2 часа, 2 часа - 15 дней, 2 часа - 6 дней, 2 часа - 96 часов, 2 часа - 24 часа, 2 часа - 12 часов, 2 часа - 6 часов, 6 часов - 30 дней, 6 часов - 15 дней, 6 часов - 6 дней, 6 часов - 96 часов, 6 часов - 24 часа, 6 часов - 12 часов, 12 часов - 30 дней, 12 часов - 15 дней, 12 часов - 6 дней, 12 часов - 96 часов, 12 часов - 24 часа, 24 часа - 30 дней, 24 часа - 15 дней, 24 часа - 6 дней, 24 часа - 96 часов, 96 часов - 30 дней, 96 часов - 15 дней, 96 часов - 6 дней, 6 дней - 30 дней, 6 дней - 15 дней или 15 дней - 30 дней до начала Т-клеточной терапии. В некоторых аспектах, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят не более чем примерно за 96 часов, 72 часа, 48 часов, 24 часа, 12 часов, 6 часов, 2 часа или 1 час до начала Т-клеточной терапии.

[00241] В некоторых из таких вариантов осуществления, в которых иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят перед клеточной терапией (*например*, Т-клеточной терапией, такой как CAR Т-клеточная терапия), введение иммуномодулирующего соединения, *например*, Соединения А или Соединения В, продолжают через равные промежутки времени до начала клеточной терапии и/или в течение некоторого времени после начала клеточной терапии.

[00242] В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят или дополнительно вводят после проведения клеточной терапии (*например*, Т-клеточной терапии, такой как CAR-Т-клеточная терапия). В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят в течение или в течение примерно 1 часа, 2 часов, 6 часов, 12 часов, 24 часов, 48 часов, 96 часов, 4 дней, 5 дней, 6 дней или 7 дней, 14 дней, 15 дней, 21 дня, 24 дней, 28 дней, 30 дней, 36 дней, 42 дней, 60 дней, 72 дней или 90 дней после начала введения клеточной терапии (*например*, Т-клеточной терапии). В некоторых вариантах осуществления, предлагаемые способы включают продолжение введения, *например*, через равные промежутки времени, иммуномодулирующего соединения после начала введения клеточной терапии.

[00243] В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят вплоть до или вплоть до примерно 1 дня, вплоть до или вплоть до примерно 2 дней, вплоть до или вплоть до примерно 3 дней, вплоть до или вплоть до примерно 4 дней, вплоть до или вплоть до

примерно 5 дней, вплоть до или вплоть до примерно 6 дней, вплоть до или вплоть до примерно 7 дней, вплоть до или вплоть до примерно 12 дней, вплоть до или вплоть до примерно 14 дней, вплоть до или вплоть до примерно 21 дня, вплоть до или вплоть до примерно 24 дней, вплоть до или вплоть до примерно 28 дней, вплоть до или вплоть до примерно 30 дней, вплоть до или вплоть до примерно 35 дней, вплоть до или вплоть до примерно 42 дней, вплоть до или вплоть до примерно 60 дней или вплоть до или вплоть до примерно 90 дней, вплоть до или вплоть до примерно 120 дней, вплоть до или вплоть до примерно 180 дней, вплоть до или вплоть до примерно 240 дней, вплоть до или вплоть до примерно 360 дней или вплоть до или вплоть до примерно 720 дней или более после начала введения клеточной терапии (*например*, Т-клеточной терапии, такой как CAR-T-клеточная терапия).

[00244] В некоторых из любых таких вышеприведенных вариантов осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят до и после начала введения клеточной терапии (*например*, Т-клеточной терапии, такой как CAR Т-клеточная терапия).

[00245] В некоторых вариантах осуществления, начало введения иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В, осуществляют во время или после, необязательно сразу после или в течение 1-3 дней после того, как: (i) пиковый или максимальный уровень клеток Т-клеточной терапии обнаруживается в крови субъекта; (ii) количество клеток Т-клеточной терапии, обнаруживаемых в крови, после того, как они были обнаружены в крови, не обнаруживается или снижается, необязательно, снижается по сравнению с предшествующим моментом времени после введения Т-клеточной терапии; (iii) количество клеток Т-клеточной терапии, обнаруживаемое в крови, снижается более чем в 1,5 раза, 2,0 раза, 3,0 раза, 4,0 раза, 5,0 раз, 10 раз или более от пикового или максимального количества клеток Т-клеточной терапии, обнаруживаемого в крови субъекта после начала введения Т-клеточной терапии; (iv) в момент после того, как пиковый или максимальный уровень клеток Т-клеточной терапии обнаруживается в крови субъекта, количество клеток или производных Т-клеток, обнаруживаемых в крови субъекта, составляет менее 10%, менее 5%, менее 1% или менее 0,1% от общего количества мононуклеарных клеток периферической крови (РВМС) в крови субъекта; (v) у субъекта наблюдается прогрессирование заболевания и/или рецидив после ремиссии после лечения Т-клетками; и/или (iv) у субъекта наблюдается повышенная опухолевая масса по сравнению с опухолевой массой во время до или после введения Т-клеток и до начала введения иммуномодулирующего соединения.

[00246] В некоторых вариантах осуществления, введение иммуномодулирующего соединения, *например* соединения А или соединения В, по меньшей мере, в одном курсе начинается после начала введения Т-клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, начало введения иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В, происходит за, по меньшей мере, или примерно, по

меньшей мере, 1 день, по меньшей мере, или примерно, по меньшей мере, 2 дня, по меньшей мере, или примерно, по меньшей мере, 3 дня, по меньшей мере, или примерно, по меньшей мере, 4 дня, по меньшей мере, или примерно, по меньшей мере, 5 дней, по меньшей мере, или примерно, по меньшей мере, 6 дней, по меньшей мере, или примерно, по меньшей мере, 7 дней, по меньшей мере, или примерно, по меньшей мере, 8 дней, по меньшей мере, или примерно, по меньшей мере, 9 дней, по меньшей мере, или примерно, по меньшей мере, 10 дней, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 12 дней, по меньшей мере, или примерно, по меньшей мере, 14 дней, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 15 дней, по меньшей мере, или примерно, по меньшей мере, 21 день, по меньшей мере, или примерно, по меньшей мере, 24 дня, по меньшей мере, или примерно, по меньшей мере, 28 дней, по меньшей мере, или примерно, по меньшей мере, 30 дней, по меньшей мере, или примерно, по меньшей мере, 35 дней или, по меньшей мере, или примерно, по меньшей мере, 42 дня, по меньшей мере, или примерно, по меньшей мере, 60 дней или, по меньшей мере, или примерно, по меньшей мере, 90 дней после начала введения Т-клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, начало введения иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В, осуществляют по меньшей мере, через 2 дня, по меньшей мере, через 1 неделю, по меньшей мере, через 2 недели, по меньшей мере, через 3 недели или, по меньшей мере, через 4 недели после начала введения Т-клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, начало введения иммуномодулирующего соединения, *например* соединения А или соединения В, осуществляют через 2-28 дней или через 7-21 день после начала введения Т-клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, начало введения иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В, осуществляют во время, превышающее или превышающее примерно 14 дней, 15 дней, 16 дней, 17 дней, 18 дней, 19 дней, 20 дней, 21 день, 24 дня или 28 дней после начала введения Т-клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят несколько раз в день, два раза в день, ежедневно, через день, три раза в неделю, два раза в неделю или один раз в неделю после начала клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят ежедневно. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят два раза в день. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят три раза в день. В других вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например* соединение А или соединение В, вводят через день. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят ежедневно. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят в течение периода введения в течение множества дней подряд, например, примерно до 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19,

20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 или более 30 дней подряд. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят в течение более или более примерно 7 дней подряд, более или более примерно 14 дней подряд, более или более примерно 21 дня подряд, более или более примерно 21 дня подряд или более или более примерно 28 дней подряд. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят в течение периода введения до 21 дня подряд. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят в течение периода введения до 21 дня подряд, при этом курс включает более 30 дней, начиная с начала введения иммуномодулирующего соединения.

[00247] В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят в течение периода введения не более примерно 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 или не более 30 дней подряд. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят один раз в день в течение 14 дней в течение 21-дневного курса лечения. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят один раз в день в течение 21 дня в течение 28-дневного курса лечения. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят в течение периода введения не более 14 дней подряд.

[00248] В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят курсом, при этом курс включает введение иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В, в течение множества дней подряд, за которыми следует период отдыха, в течение которого иммуномодулирующее соединение не вводят. В некоторых вариантах осуществления, период отдыха составляет более примерно 1 дня, более примерно 3 дней подряд, более примерно 5 дней подряд, более примерно 7 дней подряд, более примерно 8 дней подряд, более примерно 9 дней подряд, более примерно 10 дней подряд, более примерно 11 дней подряд, более примерно 12 дней подряд, более примерно 13 дней подряд, более примерно 14 дней подряд, более примерно 15 дней подряд, более примерно 16 дней подряд, более примерно 17 дней подряд, более примерно 18 дней подряд, более примерно 19 дней подряд, более примерно 20 дней подряд или более примерно 21 или более дней подряд. В некоторых вариантах осуществления, период отдыха составляет более 7 дней подряд, более 14 дней подряд, более 21 дня или более 28 дней. В некоторых вариантах осуществления, период отдыха превышает примерно 14 дней подряд. В некоторых вариантах, курс введения иммуномодулирующего соединения не содержит период отдыха.

[00249] В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят курсом, при этом курс

повторяют, по меньшей мере, один раз. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят в течение, по меньшей мере, 2 курсов, по меньшей мере, 3 курсов, по меньшей мере, 4 курсов, по меньшей мере, 5 курсов, по меньшей мере, 6 курсов, по меньшей мере, 7 курсов, по меньшей мере, 8 курсов, по меньшей мере, 9 курсов, по меньшей мере, 10 курсов, по меньшей мере, 11 курсов или, по меньшей мере, 12 курсов. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят в течение 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 или 24 курсов.

[00250] В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят шесть раз в день, пять раз в день, четыре раза в день, три раза в день, два раза в день, один раз в день, через день, каждые три дня, два раза в неделю, один раз в неделю или только один раз до или после начала введения Т-клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят многократными дозами через равные промежутки времени до, во время, в ходе и/или после периода введения Т-клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят в виде одной или нескольких доз через равные промежутки времени до проведения Т-клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят в виде одной или нескольких доз через равные промежутки времени после проведения Т-клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, одну или несколько доз иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В, можно вводить одновременно с введением дозы Т-клеточной терапии.

[00251] В некоторых вариантах осуществления, доза, частота, продолжительность, время и/или порядок введения иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В, определяются на основе конкретных пороговых значений или критериев результатов стадии скрининга и/или оценки исходов лечения, описанных в настоящем документе, *например*, описанных в разделе III настоящего документа.

[00252] В некоторых вариантах осуществления, способ включает введение клеточной терапии субъекту, которому ранее вводили терапевтически эффективное количество иммуномодулирующего соединения. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение вводят субъекту до введения субъекту дозы клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор. В некоторых вариантах осуществления, лечение иммуномодулирующим соединением проводят одновременно с введением дозы клеток. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение вводят после введения дозы клеток.

[00253] В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят ежедневно в течение 7, 8,

9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 или более 21 дня. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят два раза в день в течение 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 или более 21 дня. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят три раза в день в течение 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 или более 21 дня. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят через день в течение 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 или более 21 дня.

[00254] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, и Т-клеточную терапию вводят одновременно или почти одновременно.

[00255] В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят в дозе от или от примерно 0,1 мг до примерно 100 мг, от или от примерно 0,1 мг до 50 мг, от или от примерно 0,1 мг до 25 мг, от или от примерно 0,1 мг до 10 мг, от или от примерно 0,1 мг до 5 мг, от или от примерно 0,1 мг до 1 мг, от или от примерно 1 мг до 100 мг, от или от примерно 1 мг до 50 мг, от или от примерно 1 мг до 25 мг, от или от примерно 1 мг до 10 мг, от или от примерно 1 мг до 5 мг, от или от примерно 5 мг до 100 мг, от или от примерно 5 мг до 50 мг, от или от примерно 5 мг до 25 мг, от или от примерно 5 мг до 10 мг, от или от примерно 10 мг до 100 мг, от или от примерно 10 мг до 50 мг, от или от примерно 10 мг до 25 мг, от или от примерно 25 мг до 100 мг, от или от примерно 25 мг до 50 мг или от или от примерно 50 мг до 100 мг, каждое включительно. В некоторых вариантах осуществления, количество представляет собой количество иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В, которое необходимо принимать один раз в день.

[00256] В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят в дозе от примерно 1 мг до примерно 20 мг, *например*, от примерно 1 мг до примерно 10 мг, от примерно 2,5 мг до примерно 7,5 мг, от примерно 5 мг до примерно 15 мг, *например*, примерно 5 мг, 10 мг, 15 мг или 20 мг. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят в дозе от примерно 10 мкг/кг до 5 мг/кг, *например*, от примерно 100 мкг/кг до примерно 2 мг/кг, от примерно 200 мкг/кг до примерно 1 мг/кг, от примерно 400 мкг/кг до примерно 600 мкг/кг, *например*, примерно 500 мкг/кг. В некоторых вариантах осуществления, количество представляет собой количество иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В, которое требуется один раз в день. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение представляет собой соединение А. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение представляет собой соединение В. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение,

например, соединение А или соединение В, вводят в общей суточной дозе, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 0,1 мг в день, 0,5 мг в день, 1,0 мг в день, 2,5 мг в день, 5 мг в день, 10 мг в день, 25 мг в день, 50 мг в день или 100 мг в день. В некоторых вариантах осуществления, доза иммуномодулирующего соединения, например, соединения А или соединения В, составляет или составляет точно или примерно 25 мг в день. В конкретных вариантах осуществления, доза иммуномодулирующего соединения, например, соединения А или соединения В, составляет точно или примерно 10 мг в день. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение представляет собой соединение А. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение представляет собой соединение В.

[00257] В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, например, соединение А или соединение В, вводят в количестве, более или более примерно 1 мг, 2,5 мг, 5 мг, 7,5 мг, 10 мг, 15 мг и менее 25 мг. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, например, соединение А или соединение В, вводят в количестве более или более примерно 1 мг в день, 2,5 мг в день, 5 мг в день, 7,5 мг в день, 10 мг в день, 15 мг в день и менее 25 мг в день. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение представляет собой соединение А. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение представляет собой соединение В.

[00258] В некоторых вариантах осуществления, предложенные способы включают введение эффективного количества соединения А в день субъекту для модулирования активности и/или функции Т-клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, соединение А вводят в дозе от или от примерно 0,1 мг до точно или примерно 1 мг. В некоторых вариантах осуществления, количество составляет точно или примерно 0,1 мг, точно или примерно 0,2 мг, точно или примерно 0,3 мг, точно или примерно 0,4 мг, точно или примерно 0,5 мг, точно или примерно 0,6 мг, точно или примерно 0,7 мг, точно или примерно 0,8 мг, точно или примерно 0,9 мг, точно или примерно 1,0 мг, или любое значение между любыми из вышеперечисленных. В некоторых вариантах осуществления, количество Соединения А вводят по курсовой схеме, включающей ежедневное введение в течение трех недель в течение четырехнедельного периода или курса. Введение Соединения А осуществляется в течение периода времени, например, как правило, в течение более одной недели, например, в течение одного месяца или более, в течение двух месяцев или более, в течение трех месяцев или более, в течение четырех месяцев или более, в течение пяти месяцев или более или в течение шести месяцев или более. типовые схемы дозирования описаны в настоящем документе.

[00259] В некоторых аспектах, предложенные способы сводят к минимуму или позволяют избежать токсичности после введения субъекту Т-клеточной терапии и/или иммуномодулирующего соединения, например, соединения А или соединения В. В некоторых аспектах способы, предложенные в настоящем документе, включают введение доз, которые существенно ниже доз, идентифицированных как МТД для соединения.

[00260] В некоторых вариантах осуществления, способы и применения включают введение соединения А или соединения В. В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В начинают после (после) начала клеточной терапии, например, Т-клеточной терапии (*например*, CAR-экспрессирующих Т-клеток). В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В начинают в момент или после того, как пиковый или максимальный уровень клеток Т-клеточной терапии обнаруживается в крови субъекта. В некоторых случаях, начало введения Соединения А или Соединения В осуществляют в течение недели, например, в течение 1, 2 или 3 дней после (i) времени, когда пиковый или максимальный уровень клеток Т-клеточной терапии обнаруживаются в крови субъекта; (ii) количество клеток Т-клеточной терапии, обнаруживаемых в крови, после того, как они были обнаружены в крови, не обнаруживается или снижается, необязательно, снижается по сравнению с предшествующим моментом времени после введения Т-клеточной терапии; (iii) количество клеток Т-клеточной терапии, обнаруживаемое в крови, снижается более чем в 1,5 раза, 2,0 раза, 3,0 раза, 4,0 раза, 5,0 раз, 10 или более раз от пикового или максимального количества клеток Т-клеточной терапии, обнаруживаемого в крови субъекта после начала введения Т-клеточной терапии; (iv) в то время, когда пиковый или максимальный уровень клеток Т-клеточной терапии обнаруживается в крови субъекта, количество клеток или производных клеток, обнаруживаемых в крови субъекта, менее 10%, менее 5%, менее 1% или менее 0,1% от общего количества мононуклеарных клеток периферической крови (РВМС) в крови субъекта; (v) у субъекта наблюдается прогрессирование заболевания и/или рецидив после ремиссии после лечения Т-клетками; и/или (iv) у субъекта наблюдается повышенная опухолевая масса по сравнению с опухолевой массой во время до или после введения клеток и до начала введения соединения А или соединения В. В некоторых аспектах, предложенные способы осуществляются для усиления, повышения или потенцирования Т-клеточной терапии у субъектов, у которых наблюдался пиковый ответ на Т-клеточную терапию, но у которых ответ, *например*, наличие Т-клеток и/или снижение опухолевой нагрузки, стал сниженным или больше не обнаруживается.

[00261] В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В начинают через от точно или примерно 14 до примерно 35 дней после начала введения Т-клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В начинают через от примерно 21 до примерно 35 дней после начала введения Т-клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В начинают примерно через от примерно 21 до примерно 28 дней после начала введения Т-клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В начинается через точно или примерно 14 дней, точно или примерно 15 дней, точно или примерно 16 дней, точно или примерно 17 дней, точно или примерно 18 дней, точно или примерно 19 дней, точно или примерно 20 дней, точно или примерно 21 день, точно или примерно 22 дня, точно или

примерно 23 дня, точно или примерно 24 дня, точно или примерно 25 дней, точно или примерно 26 дней, точно или примерно 27 дней, точно или примерно 28 дней, точно или примерно 29 дней, точно или примерно 30 дней, точно или примерно 31 день, точно или примерно 32 дня, точно или примерно 33 дня, точно или примерно 34 дня или точно или примерно 35 дней после начала введения Т-клеточной терапии.

[00262] В некоторых вариантах осуществления, в момент, когда субъекту впервые вводят Соединение А или Соединение В, и/или в любое последующее время после начала введения, субъект не демонстрирует признаков или симптомов тяжелой токсичности, такой как тяжелый синдром высвобождения цитокинов (CRS) или тяжелая токсичность. В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В осуществляется в то время, когда у субъекта не демонстрируются признаки или симптомы тяжелого CRS и/или не наблюдается CRS 3 степени или выше, такой как затяжной CRS 3 степени или CRS 4 или 5 степени. В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В осуществляется в то время, когда у субъекта не демонстрируются признаки или симптомы тяжелой нейротоксичности и/или не демонстрируется нейротоксичность 3 степени или выше, такая как затяжная нейротоксичность 3 степени или нейротоксичность 4 или 5 степени. В некоторых аспектах между моментом начала введения Т-клеточной терапии и временем введения соединения А или соединения В у субъекта не наблюдается тяжелый CRS и/или не наблюдается CRS степени 3 или выше, например, затяжной CRS 3 степени или CRS 4 или 5 степени. В некоторых случаях, между моментом начала Т-клеточной терапии и моментом введения Соединения А или Соединения В субъект не демонстрирует тяжелой нейротоксичности и/или не демонстрирует нейротоксичности 3 степени или выше, такой как затяжная нейротоксичность 3 степени или нейротоксичность 4 или 5 степени.

[00263] В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В в день осуществляется в количестве от или от примерно 0,1 мг до 5 мг. В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В в день осуществляют в количестве от примерно 0,1 мг до примерно 5 мг, от примерно 0,5 мг до примерно 5 мг, от примерно 1 мг до примерно 5 мг, от примерно 1,5 мг до примерно 5 мг, от примерно 2 мг до примерно 5 мг, от примерно 2,5 мг до примерно 5 мг, от примерно 3 мг до примерно 5 мг, от примерно 0,1 мг до примерно 4 мг, от примерно 0,1 мг до примерно 4 мг, от примерно 1 мг до примерно 4 мг, от примерно 1,5 мг до примерно 4 мг, от примерно 2 мг до примерно 4 мг, от примерно 2,5 мг до примерно 4 мг, от примерно 3 мг до примерно 4 мг, от примерно 0,1 мг до примерно 3,5 мг, от примерно 0,5 мг до примерно 3,5 мг, от примерно 1 мг до примерно 3,5 мг, от примерно 1,5 мг до примерно 3,5 мг, от примерно 2 мг до примерно 3,5 мг, от примерно 2,5 мг до примерно 3,5 мг, от примерно 3 мг до примерно 3,5 мг, от примерно 0,1 мг до примерно 3 мг, от примерно 0,5 мг до примерно 3 мг, от примерно 1 мг до примерно 3 мг, от примерно 1,5 мг до примерно 3 мг, от примерно 2 мг до примерно 3 мг, от примерно 2,5 мг до примерно 3 мг, от примерно 0,1 мг до примерно 2,5 мг, от примерно 0,5 мг до примерно 2,5 мг, от примерно

мг. В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В в день осуществляют в количестве точно или примерно 1,5 мг. В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В в день осуществляют в количестве точно или примерно 1 мг в день.

[00266] В некоторых вариантах осуществления, Соединение А или Соединение В вводят в количестве, которое обеспечивает максимальную концентрацию (C_{\max}) соединения А или соединения В в крови, например, за каждую неделю курсовой схемы или, по меньшей мере, за одну неделю курсовой схемы, в диапазоне от примерно 10 нМ до примерно 500 нМ, от примерно 40 нМ до примерно 500 нМ, от примерно 60 нМ до примерно 500 нМ, от примерно 80 нМ до примерно 500 нМ, от примерно 100 нМ до примерно 500 нМ, от примерно 150 нМ до примерно 500 нМ, от примерно 200 нМ до примерно 500 нМ, от примерно 250 нМ до примерно 500 нМ, от примерно 300 нМ до примерно 500 нМ, от примерно 350 нМ до примерно 500 нМ, от примерно 400 нМ до примерно 500 нМ, 10 нМ до примерно 400 нМ, от примерно 40 нМ до примерно 400 нМ, от примерно 60 нМ до примерно 400 нМ, от примерно 80 нМ до примерно 400 нМ, от примерно 100 нМ до примерно 400 нМ, от примерно 150 нМ до примерно 400 нМ, от примерно 200 нМ до примерно 400 нМ, от примерно 250 нМ до примерно 400 нМ, от примерно 300 нМ до примерно 400 нМ, от примерно 350 нМ до примерно 400 нМ, 10 нМ до примерно 350 нМ, от примерно 40 нМ до примерно 350 нМ, от примерно 60 нМ до примерно 350 нМ, от примерно 80 нМ до примерно 350 нМ, от примерно 100 нМ до примерно 350 нМ, от примерно 150 нМ до примерно 350 нМ, от примерно 200 нМ до примерно 350 нМ, от примерно 250 нМ до примерно 350 нМ, от примерно 300 нМ до примерно 350 нМ, от примерно 10 нМ до примерно 300 нМ, от примерно 40 нМ до примерно 300 нМ, от примерно 60 нМ до примерно 300 нМ, от примерно 80 нМ до примерно 300 нМ, от примерно 100 нМ до примерно 300 нМ, от примерно 150 нМ до примерно 300 нМ, от примерно 200 нМ до примерно 300 нМ, от примерно 250 нМ до примерно 250 нМ, от примерно 10 нМ до примерно 250 нМ, от примерно 40 нМ до примерно 250 нМ, от примерно 60 нМ до примерно 250 нМ, от примерно 80 нМ до примерно 250 нМ, от примерно 100 нМ до примерно 250 нМ, от примерно 150 нМ до примерно 250 нМ, от примерно 200 нМ до примерно 250 нМ, от примерно 10 нМ до примерно 200 нМ, от примерно 40 нМ до примерно 200 нМ, от примерно 60 нМ до примерно 200 нМ, от примерно 80 нМ до примерно 200 нМ, от примерно 100 нМ до примерно 200 нМ, от примерно 150 нМ до примерно 200 нМ, от примерно 10 нМ до примерно 150 нМ, от примерно 40 нМ до примерно 150 нМ, от примерно 60 нМ до примерно 150 нМ, от примерно 80 нМ до примерно 150 нМ, от примерно 100 нМ до примерно 150 нМ, от примерно 10 нМ до примерно 100 нМ, от примерно 40 нМ до примерно 100 нМ, от примерно 60 нМ до примерно 100 нМ или от примерно 80 нМ до примерно 100 нМ. В некоторых вариантах осуществления, соединение А или соединение В вводят в количестве, которое поддерживает C_{\max} в диапазоне в течение, по меньшей мере, примерно 30 минут, 1 часа, 2 часов, 4 часов, 8 часов, 16 часов или 24 часов.

курсовой схемы или, по меньшей мере, в течение одной недели курсовой схемы, не более примерно 200 нМ. В некоторых вариантах осуществления, соединение А или соединение В вводят в количестве, при котором достигается C_{\max} соединения А или соединения В в крови, например, за каждую неделю курсовой схемы или, по меньшей мере, в течение одной недели курсовой схемы, не более примерно 150 нМ.

[00269] В некоторых вариантах осуществления, Соединение А или Соединение В вводят по курсовой схеме, которая включает повторное введение дозы соединения в течение определенного периода или продолжительности. В некоторых вариантах осуществления, соединение А или соединение В вводят по курсовой схеме, при котором на каждую неделю курсовой схемы или, по меньшей мере, в течение одной недели курсовой схемы соединение вводят в эффективном количестве, таком как количество, описанное выше, каждое из не более 5 дней в неделю в течение периода более одной недели. В некоторых вариантах осуществления, количество соединения А или соединения В за каждое введение или в день, вводится не более 3 мг (например, не более 3 мг, 2,5 мг, 2 мг, 1,5 мг, 1 мг, 0,5 мг). В некоторых вариантах осуществления, количество соединения А или соединения В для каждого введения или в день его введения составляет точно или примерно 3 мг, точно или примерно 2,5 мг, точно или примерно 2 мг, точно или примерно 1,5 мг, точно или примерно 1 мг, точно или примерно 0,5 мг. В некоторых вариантах осуществления, количество соединения А или соединения В при каждом введении или в день его введения составляет от примерно 1 мг до примерно 2 мг (например, точно или примерно 1 мг, точно или примерно 2 мг).

[00270] В некоторых вариантах осуществления, каждая неделя курсовой схемы включает введение соединения А или соединения В, каждого не более чем 5 дней в неделю. В некоторых вариантах осуществления, каждая неделя курсовой схемы включает введение соединения А или соединения В, каждого не более чем 4 дня в неделю. В некоторых вариантах осуществления, каждая неделя курсовой схемы включает введение соединения А или соединения В, каждого не более чем 3 дня в неделю.

[00271] В некоторых вариантах осуществления, каждая неделя курсовой схемы включает введение соединения А или соединения В в течение 3-5 дней в неделю. В некоторых вариантах осуществления, каждая неделя курсовой схемы включает введение соединения А или соединения В в течение 4-5 дней в неделю. В некоторых вариантах осуществления, каждая неделя курсовой схемы включает введение соединения А или соединения В в течение 3-4 дней в неделю.

[00272] В некоторых вариантах осуществления, каждая неделя курсовой схемы или, по меньшей мере, одна неделя курсовой схемы, включает введение соединения А или соединения В, каждого не более чем 5 дней подряд в неделю с последующим периодом отдыха в течение оставшейся недели, в течение которой соединение не вводят. В некоторых вариантах осуществления, каждая неделя курсовой схемы или, по меньшей мере, одна неделя курсовой схемы включает введение соединения А или соединения В в течение 3-5 последовательных дней в неделю с последующим периодом отдыха в течение

оставшейся недели, в течение которого соединение не вводят. В некоторых вариантах осуществления, каждая неделя курсовой схемы или, по меньшей мере, одна неделя курсовой схемы включает введение соединения А или соединения В, каждого, в течение 3 последовательных дней в неделю с последующим 4-дневным периодом отдыха, в течение которого соединение не вводят. В некоторых вариантах осуществления, каждая неделя курсовой схемы или, по меньшей мере, одна неделя курсовой схемы включает введение соединения А или соединения В, каждого в течение 4 последовательных дней в неделю с последующим периодом отдыха в течение 3 дней, в течение которого соединение не вводится. В некоторых вариантах осуществления, каждая неделя курсовой схемы или, по меньшей мере, одна неделя курсовой схемы включает введение соединения А или соединения В, каждого, в течение 5 последовательных дней в неделю с последующим периодом отдыха в 2 дня, в течение которого соединение не вводится.

[00273] В некоторых вариантах осуществления, схема циклического введения соединения А или соединения В осуществляется в течение периода времени после начала введения Т-клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В продолжается в течение более чем одной недели после начала введения Т-клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В продолжается в течение периода примерно или, по меньшей мере, примерно одного месяца после начала введения Т-клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В продолжается в течение периода примерно или, по меньшей мере, примерно двух месяцев после начала введения Т-клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В продолжается в течение периода примерно или, по меньшей мере, примерно трех месяцев после начала введения Т-клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В продолжается в течение периода примерно или, по меньшей мере, примерно четырех месяцев после начала введения Т-клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В продолжается в течение периода примерно или, по меньшей мере, примерно пяти месяцев после начала введения Т-клеточной терапии.

[00274] В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В продолжается в течение по меньшей мере, трех месяцев. В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В продолжается в течение периода точно или примерно 90 дней, точно или примерно 100 дней, точно или примерно 105 дней, точно или примерно 110 дней, точно или примерно 115 дней, точно или примерно 120 дней, точно или примерно 125 дней, точно или примерно 130 дней, точно или примерно 135 дней, точно или примерно 140 дней, точно или примерно 145 дней, точно или примерно 150 дней, точно или примерно 155 дней, точно или примерно 160 дней, точно или примерно 165 дней, точно или примерно 170 дней, точно или примерно 175 дней, точно или примерно 180 дней, точно или примерно 185 дней, точно

или примерно 190 дней, точно или примерно 195 дней, точно или примерно 200 дней или более после начала введения Т-клеточной терапии.

[00275] В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В продолжается в течение периода, равного точно или примерно 90 дням, или точно или примерно в течение трех месяцев после начала введения Т-клеточной терапии (*например*, терапии CAR-T-клетками). В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В продолжается в течение периода точно или примерно 120 дней или четыре месяца после начала введения Т-клеточной терапии (*например*, CAR-T-клеточной терапии). В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В продолжается в течение периода точно или примерно 150 дней или пять месяцев после начала введения Т-клеточной терапии (*например*, CAR-T-клеточной терапии). В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В продолжается в течение периода точно или примерно 180 дней или шесть месяцев после начала введения Т-клеточной терапии (*например*, CAR-T-клеточной терапии).

[00276] В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В завершают или прекращают в конце периода (*например*, точно или примерно 3, 4, 5 или 6 месяцев) после начала введения Т-клеточной терапии (*например*, CAR Т-клеточной терапии), если субъект до, во время или через точно или примерно 6 месяцев достиг полного ответа (CR) после лечения, или рак (*например*, злокачественное новообразование В-клеток) прогрессировал или рецидивировал после ремиссии после лечения. В некоторых вариантах осуществления, период имеет фиксированную продолжительность, так что введение соединения А или соединения В продолжается в течение этого периода, даже если субъект достиг полного ответа (CR) в момент времени до окончания периода. В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет CR с минимальной остаточной болезнью (MRD). В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет CR, который представляет собой MRD-.

[00277] В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В продолжают после окончания периода, *например*, продолжают дольше чем точно или примерно 3, 4, 5 или 6 месяцев после начала введения Т-клеточной терапии (*например*, CAR Т-клеток), если у субъекта наблюдается частичный ответ (PR) или стабильное заболевание (SD) после лечения. В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В продолжают в течение более чем 6 месяцев после начала введения Т-клеточной терапии (*например*, CAR-T-клеточной терапии). В некоторых вариантах осуществления, для субъектов, у которых в конце начального периода наблюдался PR или SD, введение соединения А или соединения В продолжают до тех пор, пока субъект не достигнет полного ответа (CR) после лечения или до прогрессирования или рецидива рака (*например*, множественной миеломы, такой как рецидивирующая/трудно поддающаяся лечению множественная миелома) после ремиссии после лечения.

[00278] В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или

соединения В осуществляют по курсовой схеме, включающей введение соединения А или соединения В в количестве не более примерно 3 мг (*например*, от 1 до 3 мг, 1 мг, 2 мг или 3 мг) в день в течение не более 5 дней (*например*, 3 дня, 4 дня или 5 дней) в неделю в течение периода более одной недели. В некоторых вариантах осуществления, каждая неделя курсовой схемы включает введение соединения в течение каждого из 3 последовательных дней, 4 последовательных дней или 5 последовательных дней с последующим периодом отдыха в течение оставшейся недели, в течение которого соединение не вводят. В некоторых вариантах осуществления, каждая неделя курсовой схемы включает введение соединения в течение 5 дней с последующим двухдневным периодом отдыха, в течение которого соединение не вводят. В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В начинают в период более примерно 14 до примерно 35 дней (*например*, от примерно 21 до примерно 35 дней) после начала введения клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, во время введения соединения А или соединения В субъект не демонстрирует тяжелой токсичности после введения Т-клеточной терапии (*например*, CAR-T-клеток).

[00279] В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В осуществляют по курсовой схеме, включающей введение эффективного количества соединения А или соединения В в течение не более 5 дней (*например*, 3 дней, 4 дней или 5 дней) в неделю в течение периода, который длится точно или примерно или более 3 месяцев, точно или примерно или более 4 месяцев, точно или примерно или более 5 месяцев или точно или примерно или более 6 месяцев после начала введения клеточной терапии (*например*, Т-клеточной терапии). В некоторых вариантах осуществления, период продолжается в течение точно или примерно 3 месяцев, точно или примерно 4 месяцев или точно или примерно 5 месяцев или точно или примерно 6 месяцев. В некоторых вариантах осуществления, каждая неделя курсовой схемы включает введение соединения в течение каждого из 3 дней подряд, 4 дней подряд или 5 дней подряд с последующим периодом отдыха в течение оставшейся недели, в течение которого соединение не вводят. В некоторых вариантах осуществления, каждая неделя курсовой схемы включает введение соединения в каждый из 5 дней подряд с последующим двухдневным периодом отдыха, в течение которого соединение не вводят. В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В начинают в период от более чем примерно 14 до примерно 35 дней (*например*, от примерно 21 до 35 дней, *например*, точно или примерно 28 дней) после начала введения клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, во время введения соединения А или соединения В субъект не демонстрирует тяжелой токсичности после введения клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В прекращают или останавливают, если субъект до точно или примерно конца периода достиг полного ответа (CR) после лечения, или рак, *например*, злокачественное новообразование В-клеток, прогрессировал или рецидивировал после ремиссии после лечения. В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В продолжают в

течение периода, даже если субъект достиг полного ответа (CR) в момент времени до окончания периода. В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В продолжают после окончания начального периода, если, после начала введения Т-клеточной терапии, субъект демонстрирует частичный ответ (PR) или стабильное заболевание (SD) после лечения. В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В повторяют до тех пор, пока субъект не достигнет полного ответа (CR) после лечения, или до тех пор, пока рак, например, множественная миелома, такая как рецидивирующая/трудно поддающаяся лечению множественная миелома, не прогрессирует или не рецидивирует после ремиссии после лечения.

[00280] В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В осуществляют по курсовой схеме, включающей введение соединения А или соединения В в количестве не более примерно 3 мг (*например*, от 1 до 3 мг, 1 мг, 2 мг или 3 мг) в день каждого из не более 5 дней (*например*, 3 дней, 4 дней или 5 дней) в неделю в течение периода примерно или более трех месяцев (*например*, в течение периода точно или примерно три месяца, четыре месяца, пять месяцев или шесть месяцев) после начала введения Т-клеточной терапии (*например*, CAR-T-клеточной терапии). В некоторых вариантах осуществления, каждая неделя курсовой схемы включает введение соединения в каждый из 3 дней подряд, 4 дней подряд или 5 дней подряд с последующим периодом отдыха в оставшуюся неделю, в течение которого соединение не вводят. В некоторых вариантах осуществления, каждая неделя курсовой схемы включает введение соединения в каждый из 5 дней с последующим двухдневным периодом отдыха, в течение которого соединение не вводят. В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В начинают за более чем примерно 14 до примерно 35 дней (*например*, примерно от примерно 21 до 35 дней, *например*, точно или примерно 28 дней) после начала введения клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, во время введения соединения А или соединения В субъект не демонстрирует тяжелой токсичности после введения клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, рак представляет собой множественную миелому, такую как рецидивирующая/трудно поддающаяся лечению множественная миелома. В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В прекращают или останавливают через точно или примерно 6 месяцев после начала введения Т-клеточной терапии, если субъект, до точно или примерно 6 месяцев достиг полного ответа (CR) после лечения, или рак, *например* злокачественное новообразование В-клеток, прогрессирует или рецидивирует после ремиссии после лечения. В некоторых вариантах осуществления, курсовая схема продолжается в течение всего периода, даже если субъект достиг полного ответа (CR) в момент времени до окончания периода. В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В дополнительно продолжают после окончания периода, *например*, продолжают в течение более 6 месяцев после начала введения клеточной терапии, если точно или примерно через шесть месяцев субъект демонстрирует частичный

ответ (PR) или стабильное заболевание (SD) после лечения. В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В продолжают до тех пор, пока субъект не достигнет полного ответа (CR) после лечения, или пока рак, например, множественная миелома, такая как рецидивирующая/трудно поддающаяся лечению множественная миелома, не прогрессирует или не рецидивирует после ремиссии после лечения.

[00281] В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В осуществляют по курсовой схеме, включающей введение соединения А или соединения В в количестве от примерно 1 мг до примерно 3 мг (*например*, 1 мг, 2 мг или 3 мг) в день в каждый из 5 дней подряд в неделю с последующим 2-дневным периодом отдыха, в течение которого соединение не вводят, в течение периода точно или примерно или более шести месяцев после начала клеточной терапии (*например*, Т-клеточной терапии). В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В начинают через более чем примерно 14 до примерно 35 дней (*например*, от примерно 21 до 35 дней, *например*, точно или примерно 28 дней) после начала введения клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, во время введения соединения А или соединения В субъект не демонстрирует тяжелой токсичности после введения клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В прекращают через точно или примерно 6 месяцев после начала введения клеточной терапии, если субъект через точно или примерно 6 месяцев достиг полного ответа (CR) после лечения, или рак, *например*, злокачественное новообразование В-клеток, прогрессирует или рецидивирует после ремиссии после лечения. В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В продолжают в течение периода, даже если субъект достиг полного ответа (CR) в момент времени до или точно или примерно 6 месяцев. В некоторых вариантах осуществления, введение соединения А или соединения В дополнительно проводят в течение более чем 6 месяцев после начала введения Т-клеточной терапии, если через точно или примерно шесть месяцев субъект демонстрирует частичный ответ (PR) или стабильное заболевание (SD) после лечения. В некоторых вариантах осуществления, введение продолжают до тех пор, пока субъект не достигнет полного ответа (CR) после лечения, или до тех пор, пока заболевание или состояние, *например*, множественная миелома, такая как рецидивирующая/трудно поддающаяся лечению множественная миелома, не прогрессирует или не рецидивирует после ремиссии после лечения.

[00282] В некоторых случаях, курсовая схема может быть прервана в любое время и/или один или несколько раз. В некоторых случаях, курсовая схема прерывается или изменяется, если у субъекта развивается одно или несколько нежелательных явлений, дозолимитирующая токсичность (DLT), нейтропения или фебрильная нейтропения, тромбоцитопения, синдром высвобождения цитокинов (CRS) и/или нейротоксичность (NT), такие, как те, которые описаны в Разделе IV. В некоторых вариантах осуществления, количество соединения А или соединения В для каждого введения или в день в

определенные дни недели изменяется после того, как у субъекта разовьется одно или несколько нежелательных явлений, дозолимитирующая токсичность (DLT), нейтропения или фебрильная нейтропения, тромбоцитопения, синдром высвобождения цитокинов (CRS) и/или нейротоксичность (NT).

[00283] В любом из вышеупомянутых вариантов осуществления, иммуномодулирующее соединение, например, соединение А или соединение В, можно вводить перорально. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, например соединение А или соединение В, вводят в виде таблетки или капсулы.

[00284] В некоторых вариантах осуществления, дозы, такие как суточные дозы, вводят в виде одной или нескольких разделенных доз, таких как 2, 3 или 4 дозы, или в однократном составе. Иммуномодулирующее соединение, *например* соединение А или соединение В, можно вводить отдельно, в присутствии фармацевтически приемлемого носителя или в присутствии других терапевтических агентов.

[00285] Понятно, что можно использовать более высокие или более низкие дозы иммуномодулирующего соединения, например, в зависимости от конкретного агента и пути введения. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение можно вводить отдельно или в форме фармацевтической композиции, где соединение находится в смеси или в смеси с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями, эксципиентами или разбавителями. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение можно вводить либо системно, либо локально в орган или ткань, подлежащие лечению. Типовые пути введения включают, но не ограничены ими, местный, инъекционный (например, подкожный, внутримышечный, интрадермальный, внутривенный, внутривенный), интрабрюшинный, интраопухолевый и интравенный), пероральный, сублингвальный, ректальный, трансдермальный, интраназальный, вагинальный и ингаляционный пути. В некоторых вариантах осуществления, способ введения представляет собой пероральный, парентеральный, ректальный, назальный, местный или глазной пути или ингаляцию. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение вводят перорально. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение вводят перорально в виде твердых дозированных форм, таких как капсулы, таблетки и порошки, или в жидких дозированных формах, таких как эликсиры, сиропы и суспензии.

[00286] После улучшения состояния пациента, доза может быть скорректирована для профилактического или поддерживающего лечения. Например, дозировка или частота введения, или и то и другое, могут быть снижены в зависимости от симптомов до уровня, при котором сохраняется желаемый терапевтический или профилактический эффект. Если симптомы облегчились до приемлемого уровня, лечение можно прекратить. Однако пациентам может потребоваться периодическое лечение на долгосрочной основе при любом рецидиве симптомов. Пациентам также может потребоваться постоянное лечение на долгосрочной основе.

С. Противолимфомное лечение

[00287] В некоторых аспектах, предложенные способы могут дополнительно включать введение одной или нескольких противолимфомных терапий, например, до или одновременно с началом введения Т-клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, противолимфомная терапия включает введение фосфамида, такого как циклофосфамид. В некоторых вариантах осуществления, противолимфомная терапия может включать введение флударабина.

[00288] В некоторых аспектах, предварительное кондиционирование субъектов иммуноистощающей (например, противолимфомной) терапией может улучшить эффекты адоптивной клеточной терапии (АСТ). Предварительное кондиционирование противолимфомными агентами, включая комбинации циклоспорина и флударабина, оказалось эффективным для повышения эффективности перенесенных инфильтрирующих опухоль лимфоцитов (ТИЛ) в клеточной терапии, в том числе для улучшения ответа и/или устойчивости перенесенных клеток. См., например, Dudley et al., *Science*, 298, 850-54 (2002); Rosenberg et al., *Clin Cancer Res.*, 17(13):4550-4557 (2011). Так же, что касается CAR⁺ Т-клеток, в нескольких исследованиях применялись противолимфомные агенты, чаще всего циклофосфамид, флударабин, бендамустин или их комбинации, иногда в комбинации с облучением в низких дозах. См. Han et al. *Journal of Hematology & Oncology*, 6:47 (2013); Kochenderfer et al., *Blood*, 119: 2709-2720 (2012); Kalos et al., *Sci Transl Med*, 3(95):95ra73 (2011); Clinical Trial Study Record Nos.: NCT02315612; NCT01822652.

[00289] Такое предварительное кондиционирование можно проводить с целью снижения риска одного или нескольких различных исходов, которые могут снизить эффективность терапии. К ним относится явление, известное как «цитокиновый потоп», при котором Т-клетки, В-клетки, NK-клетки конкурируют с ТИЛ за гомеостатические и активирующие цитокины, такие как ИЛ-2, ИЛ-7 и/или ИЛ-15; подавление ТИЛ регуляторными Т-клетками, NK-клетками или другими клетками иммунной системы; влияние отрицательных регуляторов на микроокружение опухоли. Muranski et al., *Nat Clin Pract Oncol*. December; 3(12): 668-681 (2006).

[00290] Таким образом, в некоторых вариантах осуществления, предложенный способ дополнительно включает введение субъекту противолимфомной терапии. В некоторых вариантах осуществления, способ включает введение субъекту противолимфомной терапии до введения дозы клеток. В некоторых вариантах осуществления, противолимфомная терапия включает химиотерапевтический агент, такой как флударабин и/или циклофосфамид. В некоторых вариантах осуществления, введение клеток и/или противолимфомной терапии осуществляется амбулаторно.

[00291] В некоторых вариантах осуществления, способы включают введение агента для предварительного кондиционирования, такого как противолимфомный или химиотерапевтический агент, такой как циклофосфамид, флударабин или их комбинации, субъекту перед введением дозы клеток. Например, субъекту можно вводить агент для предварительного кондиционирования, по меньшей мере, за 2 дня, например, по меньшей

мере, за 3, 4, 5, 6 или 7 дней до первой или последующей дозы. В некоторых вариантах осуществления, субъекту вводят агент для предварительного кондиционирования не больше чем за 7 дней до, например, не больше чем за 6, 5, 4, 3 или 2 дня до введения дозы клеток.

[00292] В некоторых вариантах осуществления, субъект подвергается предварительному кондиционированию циклофосфамидом в дозе от примерно 20 мг/кг до 100 мг/кг массы тела субъекта, например, от примерно 40 мг/кг до 80 мг/кг. В некоторых аспектах, субъекта предварительно кондиционируют или вводят точно или примерно 60 мг/кг циклофосфамида. В некоторых вариантах осуществления, флударабин можно вводить в виде разовой дозы или можно вводить в виде множества доз, например, ежедневно, через день или каждые три дня. В некоторых вариантах осуществления, циклофосфамид вводят один раз в день в течение одного или двух дней.

[00293] В некоторых вариантах осуществления, где противолимфомный агент включает флударабин, субъекту вводят флударабин в дозе от точно или примерно 1 мг/м² до 100 мг/м², например, от точно или примерно 10 мг/м² до 75 мг/м², от 15 мг/м² до 50 мг/м², от 20 мг/м² до 30 мг/м² или от 24 мг/м² до 26 мг/м². В некоторых случаях, субъекту вводят 25 мг/м² флударабина. В некоторых вариантах осуществления, флударабин можно вводить в виде разовой дозы или можно вводить в виде множества доз, например, ежедневно, через день или каждые три дня. В некоторых вариантах осуществления, флударабин вводят ежедневно, например, в течение 1-5 дней, например, в течение 3-5 дней.

[00294] В некоторых вариантах осуществления, противолимфомный агент включает комбинацию агентов, такую как комбинация циклофосфамида и флударабина. Таким образом, комбинация агентов может включать циклофосфамид в любой дозе или схеме введения, таких как описаны выше, и флударабин в любой дозе или схеме введения, таких как описаны выше. Например, в некоторых аспектах, субъекту вводят 60 мг/кг (~2 г/м²) циклофосфамида и от 3 до 5 доз 25 мг/м² флударабина перед первой или последующей дозой.

[00295] В одной типовой схеме дозирования, перед получением первой дозы, субъекты получают иммуномодулирующее соединение за 1 день до введения клеток и противолимфомной прекондиционирующей химиотерапии циклофосфамидом и флударабином (CY/FLU), которую вводят, по меньшей мере, за два дня до первой дозы CAR-экспрессирующих клеток и, как правило, не более чем за 7 дней до введения клеток. В другой типовой схеме дозирования субъекты получают иммуномодулирующее соединение одновременно с введением клеток, например, в тот же день. В еще одной типовой схеме дозирования, субъекты получают иммуномодулирующее соединение через несколько дней после введения клеток, например, через 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или более чем через 14 дней. В некоторых случаях, например, циклофосфамид вводят через 24-27 дней после введения иммуномодулирующего соединения, *например* соединения А или соединения В. После предварительного кондиционирования, субъектам вводят дозу CAR-

экспрессирующих Т-клеток, как описано выше.

[00296] В некоторых вариантах осуществления, введение агента для предварительного кондиционирования перед инфузией дозы клеток улучшает исход лечения. Например, в некоторых аспектах предварительное кондиционирование повышает эффективность лечения дозой или увеличивает жизнестойкость экспрессирующих рекомбинантный рецептор клеток (например, CAR-экспрессирующих клеток, таких как CAR-экспрессирующие Т-клетки) у субъекта. В некоторых вариантах осуществления, предварительное кондиционирование увеличивает выживаемость без заболевания, например, долю субъектов, которые выживают и не демонстрируют минимальное остаточное или молекулярно обнаруживаемое заболевание через заданный период времени после введения дозы клеток. В некоторых вариантах осуществления, увеличивается время до медианы выживаемости без заболевания.

[00297] Как только клетки вводят субъекту (например, человеку), биологическую активность сконструированных клеточных популяций в некоторых аспектах измеряют любым из ряда известных способов. Параметры для оценки включают специфическое связывание сконструированной или природной Т-клетки или другой иммунной клетки с антигеном *in vivo*, например, с помощью визуализации, или *ex vivo*, например, с помощью ELISA или проточной цитометрии. В некоторых вариантах осуществления, способность сконструированных клеток разрушать клетки-мишени можно измерить с помощью любого подходящего метода, известного в данной области техники, такого как анализы цитотоксичности, описанные, например, в Kochenderfer et al., *J. Immunotherapy*, 32(7): 689-702 (2009) и Herman et al. *J. Immunological Methods*, 285(1): 25-40 (2004). В некоторых вариантах осуществления, биологическую активность клеток также можно измерить путем анализа экспрессии и/или секреции определенных цитокинов, таких как CD107a, IFN γ , IL-2 и TNF. В некоторых аспектах, биологическую активность измеряют путем оценки клинического исхода, такого как уменьшение опухолевой массы или нагрузки. В некоторых аспектах, оценивают токсические исходы, жизнестойкость и/или размножение клеток и/или наличие или отсутствие иммунного ответа хозяина.

[00298] В некоторых вариантах осуществления, введение агента для предварительного кондиционирования перед инфузией дозы клеток улучшает исход лечения, например, за счет повышения эффективности лечения дозой или увеличения жизнестойкости клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например, CAR-экспрессирующих клеток, таких как CAR-экспрессирующие Т-клетки) у субъекта. Следовательно, в некоторых вариантах осуществления, доза агента для предварительного кондиционирования, вводимая в способе, который представляет собой комбинированную терапию с иммуномодулирующим соединением и клеточной терапией, выше, чем доза, вводимая в способе без иммуномодулирующего соединения.

II. Т-КЛЕТОЧНАЯ ТЕРАПИЯ И СКОНСТРУИРОВАННЫЕ КЛЕТКИ

[00299] В некоторых вариантах осуществления, Т-клеточная терапия для применения в соответствии с предложенными способами комбинированной терапии

включает введение сконструированных клеток, экспрессирующих рекомбинантные рецепторы, предназначенные для распознавания и/или специфического связывания с молекулами, связанными с заболеванием или состоянием, таким как рак, например множественная миелома, например рецидивирующая или трудно поддающаяся лечению множественная миелома. В некоторых вариантах осуществления, связывание с антигеном приводит к ответу, такому как иммунный ответ против таких молекул при связывании с такими молекулами. В некоторых вариантах осуществления, клетки содержат или сконструированы таким образом, чтобы содержать сконструированный рецептор, *например*, сконструированный антигенный рецептор, такой как химерный антигенный рецептор (CAR) или Т-клеточный рецептор (TCR). Рекомбинантный рецептор, такой как CAR, обычно включает внеклеточный домен связывания антигена (или лиганда), направленный против ВСМА, связанный с одним или несколькими внутриклеточными сигнальными компонентами, в некоторых аспектах, посредством линкеров и/или трансмембранного(ых) домена(ов). В некоторых аспектах, сконструированные клетки предложены в виде фармацевтических композиций и составов, подходящих для введения субъектам, например, для адоптивной клеточной терапии. Также предложены терапевтические способы введения клеток и композиций субъектам, *например* пациентам.

[00300] В некоторых вариантах осуществления, клетки включают одну или несколько нуклеиновых кислот, введенных с помощью генной инженерии, и, таким образом, экспрессируют рекомбинантные или генетически сконструированные продукты таких нуклеиновых кислот. В некоторых вариантах осуществления, перенос гена осуществляется путем первой стимуляции клеток, например, путем его комбинации со стимулом, вызывающим ответ, такой как пролиферация, выживание и/или активация, *например*, измеряемый по экспрессии цитокина или маркера активации, с последующей трансдукцией активированных клеток и размножением в культуре до количества, достаточного для клинического применения.

А. Рекомбинантные рецепторы, например, химерные антигенные рецепторы (CAR)

[00301] Клетки обычно экспрессируют рекомбинантные рецепторы, такие как антигенные рецепторы, включая функциональные антигенные рецепторы, отличные от TCR, *например*, химерные антигенные рецепторы (CAR) и другие антигенсвязывающие рецепторы, такие как трансгенные Т-клеточные рецепторы (TCR). Также среди рецепторов есть и другие химерные рецепторы.

[00302] В некоторых вариантах осуществления предложенных способов и применений, сконструированные клетки, такие как Т-клетки, экспрессируют химерные рецепторы, такие как химерные антигенные рецепторы (CAR), которые содержат один или несколько доменов, объединяющих лиганд-связывающий домен (например, антитело или фрагмент антитела), который обеспечивает специфичность в отношении желаемого антигена (например, опухолевого антигена) с внутриклеточными сигнальными доменами. В некоторых вариантах осуществления, внутриклеточный сигнальный домен представляет

собой активирующую часть внутриклеточного домена, такую как домен активации Т-клеток, обеспечивающий первичный сигнал активации. В некоторых вариантах осуществления, внутриклеточный сигнальный домен содержит или дополнительно содержит костимулирующий сигнальный домен для облегчения эффекторных функций. При специфическом связывании с молекулой, например, антигеном, рецептор обычно доставляет в клетку иммуностимулирующий сигнал, такой как сигнал, трансдуцированный ITAM, тем самым стимулируя иммунный ответ, таргетирующий заболевание или состояние. В некоторых вариантах осуществления, химерные рецепторы, будучи генетически модифицированными в иммунных клетках, могут модулировать активность Т-клеток и, в некоторых случаях, могут модулировать дифференциацию или гомеостаз Т-клеток, что приводит к получению генетически модифицированных клеток с улучшенной продолжительностью жизни, выживаемостью и/или жизнестойкостью *in vivo*, например, для использования в методах адоптивной клеточной терапии.

[00303] В некоторых вариантах осуществления, CAR сконструирован со специфичностью в отношении определенного антигена (или маркера, или лиганда), такого как антиген, экспрессируемый в конкретном типе клеток, на который направлена адоптивная терапия, *например*, маркер рака, и/или антиген, предназначенный для индукции супрессирующего ответа, такой как антиген, экспрессируемый на нормальном или здоровом типе клеток. Таким образом, CAR обычно включает в свою внеклеточную часть одну или несколько антигенсвязывающих молекул, таких как один или несколько антигенсвязывающих фрагментов, доменов или частей, или один или несколько переменных доменов антител, и/или молекул антител.

[00304] Термин «антитело» используется в настоящем документе в самом широком смысле и включает поликлональные и моноклональные антитела, включая интактные антитела и функциональные (антигенсвязывающие) фрагменты антител, в том числе фрагменты антигенсвязывающих (Fab) фрагментов, фрагменты F(ab')₂, Fab', фрагменты Fv, рекомбинантные фрагменты IgG (rIgG), переменные области тяжелой цепи (V_H), способные специфически связывать антиген, фрагменты одноцепочечных антител, включая переменные одноцепочечные фрагменты (scFv), и фрагменты однодоменных антител (*например*, sdAb, sdFv, нанотело). Термин охватывает генетически сконструированные и/или иным образом модифицированные формы иммуноглобулинов, такие как интратела, пептитела, химерные антитела, полностью человеческие антитела, гуманизированные антитела и гетероконъюгированные антитела, мультиспецифические, *например*, биспецифические или триспецифические, антитела, диатела, триатела и тетраатела, тандемное ди-scFv, тандемное три-scFv. Если не указано иное, термин «антитело» следует понимать как включающий функциональные фрагменты антител, также называемые в настоящем документе «антигенсвязывающими фрагментами». Термин также охватывает интактные или полноразмерные антитела, включая антитела любого класса или подкласса, включая IgG и его подклассы, IgM, IgE, IgA и IgD.

[00305] Термины «определяющая комплементарность область» и «CDR»,

синонимичные терминам «гипервариабельная область» или «HVR», известные в данной области техники, относятся к несмежным последовательностям аминокислот в вариабельных областях антител, которые придают антигенную специфичность и/или аффинность связывания. Как правило, имеется три CDR в каждой вариабельной области тяжелой цепи (CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3) и три CDR в каждой вариабельной области легкой цепи (CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3). В данной области техники известно, что «каркасные области» и «FR» относятся к не-CDR частям вариабельных областей тяжелой и легкой цепей. Как правило, имеется четыре FR в каждой полноразмерной вариабельной области тяжелой цепи (FR-H1, FR-H2, FR-H3 и FR-H4) и четыре FR в каждой полноразмерной вариабельной области легкой цепи (FR-L1, FR-L2, FR-L3 и FR-L4).

[00306] Точные границы аминокислотной последовательности данной CDR или FR можно легко определить с использованием любой из ряда хорошо известных схем, включая схемы, описанные Kabat et al. (1991), “Sequences of Proteins of Immunological Interest,” 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (схема нумерации “Kabat”); Al-Lazikani et al., (1997) JMB 273,927-948 (схема нумерации “Chothia”); MacCallum et al., J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996), “Antibody-antigen interactions: Contact analysis and binding site topography,” J. Mol. Biol. 262, 732-745.” (схема нумерации “Contact”); Lefranc MP et al., “IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains,” Dev Comp Immunol, 2003 Jan;27(1):55-77 (схема нумерации “IMGT”); Honegger A and Plückthun A, “Yet another numbering scheme for immunoglobulin variable domains: an automatic modeling and analysis tool,” J Mol Biol, 2001 Jun 8;309(3):657-70, (схема нумерации “Aho”); и Martin et al., “Modeling antibody hypervariable loops: a combined algorithm,” PNAS, 1989, 86(23):9268-9272, (схема нумерации “AbM”).

[00307] Границы данного CDR или FR могут варьироваться в зависимости от схемы, используемой для идентификации. Например, схема Kabat основана на структурных выравниваниях, тогда как схема Chothia основана на структурной информации. Нумерация как для схемы Kabat, так и для схемы Chothia, основана на наиболее распространенных длинах последовательностей областей антител, где вставки обозначаются буквами вставки, например, «30a», и в некоторых антителах появляются делеции. В этих двух схемах определенные вставки и делеции («инделлы») размещаются в разных позициях, что приводит к дифференциальной нумерации. Схема Contact основана на анализе сложных кристаллических структур и во многом похожа на схему нумерации Chothia. Схема AbM представляет собой компромисс между определениями Kabat и Chothia, основанный на схеме, используемой программным обеспечением для моделирования антител AbM компании Oxford Molecular.

[00308] В **Таблице 1** ниже перечислены типовые границы положений CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 и CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, идентифицированные схемами Kabat, Chothia, AbM и Contact, соответственно. Для CDR-H1, нумерация остатков приведена с использованием обеих схем нумерации Kabat и Chothia. FR расположены между CDR,

например, с FR-L1, расположенным перед CDR-L1, FR-L2, расположенным между CDR-L1 и CDR-L2, FR-L3, расположенным между CDR-L2 и CDR-L3, и так далее. Следует отметить, что, поскольку показанная схема нумерации Kabat размещает вставки в H35A и H35B, конец петли Chothia CDR-H1 при нумерации с использованием показанного соглашения о нумерации Kabat варьируется между H32 и H34, в зависимости от длины петли.

Таблица 1. Границы CDR по разным схемам нумерации				
CDR	Kabat	Chothia	AbM	Contact
CDR-L1	L24--L34	L24--L34	L24--L34	L30--L36
CDR-L2	L50--L56	L50--L56	L50--L56	L46--L55
CDR-L3	L89--L97	L89--L97	L89--L97	L89--L96
CDR-H1 (нумерация Kabat ¹)	H31--H35B	H26--H32..34	H26--H35B	H30--H35B
CDR-H1 (нумерация Chothia ²)	H31--H35	H26--H32	H26--H35	H30--H35
CDR-H2	H50--H65	H52--H56	H50--H58	H47--H58
CDR-H3	H95--H102	H95--H102	H95--H102	H93--H101

1 - Kabat et al. (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD

2 - Al-Lazikani et al., (1997) JMB 273,927-948

[00309] Таким образом, если не указано иное, «CDR» или «определяющая комплементарность область» или отдельные указанные CDR (*например*, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3) данного антитела или его области, такие как переменная область, следует рассматривать как охватывающую (или конкретную) определяющую комплементарность область, как определено любой из вышеупомянутых схем или других известных схем. Например, когда указано, что конкретная CDR (*например*, CDR-H3) содержит аминокислотную последовательность соответствующей CDR в данной V_H или V_L области аминокислотной последовательности, подразумевается, что такая CDR имеет последовательность соответствующей CDR (*например*, CDR-H3) в пределах переменной области, как определено любой из вышеупомянутых схем или других известных схем. В некоторых вариантах осуществления, указаны конкретные последовательности CDR. Типовые последовательности CDR предложенных антител описаны с использованием различных схем нумерации, хотя понятно, что предоставленное антитело может включать CDR, как описано в соответствии с любой из других вышеупомянутых схем нумерации или других схем нумерации, известных специалисту в данной области техники.

[00310] Аналогичным образом, если не указано иное, FR или отдельные указанные FR (*например*, FR-H1, FR-H2, FR-H3, FR-H4) данного антитела или его области, такие как его переменная область, следует понимать как охватывающую (или конкретную)

каркасную область, как определено любой из известных схем. В некоторых случаях, указана схема идентификации конкретных CDR, FR или FR или CDR, такой как CDR, как определено методом Kabat, Chothia, AbM или Contact, или другими известными схемами. В других случаях, приводится конкретная аминокислотная последовательность CDR или FR.

[00311] Термин «вариабельная область» или «вариабельный домен» относится к домену тяжелой или легкой цепи антитела, который участвует в связывании антитела с антигеном. Вариабельные области тяжелой цепи и легкой цепи (V_H и V_L , соответственно) нативного антитела обычно имеют сходную структуру, где каждый домен содержит четыре консервативных каркасных области (FR) и три CDR. (См., *например*, Kindt et al. Kuby Immunology, 6th ed., W.H. Freeman and Co., page 91 (2007). Одного домена V_H или V_L может быть достаточно для придания антигенсвязывающей специфичности. Кроме того, антитела, которые связывают конкретный антиген, могут быть выделены с использованием домена V_H или V_L из антитела, которое связывает антиген, для скрининга библиотеки комплементарных доменов V_H или V_L , соответственно. См., *например*, Portolano et al., J. Immunol. 150:880-887 (1993); Clarkson et al., Nature 352:624-628 (1991).

[00312] Антигенсвязывающие домены, включенные в CAR, включают фрагменты антител. «Фрагмент антитела» или «антигенсвязывающий фрагмент» относится к молекуле, отличной от интактного антитела, которая содержит часть интактного антитела, которая связывает антиген, с которым связывается интактное антитело. Примеры фрагментов антител включают, но не ограничены ими, Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂; диатела; линейные антитела; вариабельные участки тяжелой цепи (V_H), молекулы одноцепочечных антител, такие как scFv, и однодоменные антитела, содержащие только V_H область; и мультиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител. В конкретных вариантах осуществления, антитела представляют собой фрагменты одноцепочечных антител, содержащие вариабельную область тяжелой цепи (V_H) и/или вариабельную область легкой цепи (V_L), такие как scFv.

[00313] Однодоменные антитела (sdAb) представляют собой фрагменты антител, содержащие всю или часть вариабельной области тяжелой цепи или всю или часть вариабельной области легкой цепи антитела. В некоторых вариантах осуществления, однодоменное антитело представляет собой однодоменное антитело человека.

[00314] Фрагменты антител могут быть получены различными способами, включая, но не ограничиваясь ими, протеолитическое расщепление интактного антитела, а также продуцирование рекомбинантными клетками-хозяевами. В некоторых вариантах осуществления, антитела представляют собой рекомбинантно продуцируемые фрагменты, такие как фрагменты, содержащие структуры, которые не встречаются в природе, такие как фрагменты с двумя или несколькими областями или цепями антител, соединенными синтетическими линкерами, *например*, пептидными линкерами, и/или которые не могут быть продуцированы путем ферментативного расщепления встречающихся в природе интактных антител. В некоторых вариантах осуществления, фрагменты антител

представляют собой scFv.

[00315] В некоторых вариантах осуществления, CAR включает антигенсвязывающую часть или части молекулы антитела, такие как фрагмент одноцепочечного антитела (scFv), полученный из переменной тяжелой (V_H) и переменной легкой (V_L) цепей моноклонального антитела (mAb) или однодоменного антитела (sdAb), такого как sdFv, нанотело, V_{HH} и V_{NAR} . В некоторых вариантах осуществления, антигенсвязывающий фрагмент содержит переменные области антитела, соединенные гибким линкером.

[00316] В некоторых вариантах осуществления, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой одноцепочечный фрагмент антитела, такой как одноцепочечный переменный фрагмент (scFv) или диатело или однодоменное антитело (sdAb). В некоторых вариантах осуществления, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой однодоменное антитело, содержащее только V_H область. В некоторых вариантах осуществления, антитело или антигенсвязывающий фрагмент представляет собой scFv, содержащий переменную область тяжелой цепи (V_H) и переменную область легкой цепи (V_L).

[00317] «Гуманизованное» антитело представляет собой антитело, в котором все или по существу все аминокислотные остатки CDR получены из CDR нечеловеческого происхождения, и все или по существу все аминокислотные остатки FR получены из FR человека. Гуманизованное антитело необязательно может включать, по меньшей мере, часть константной области антитела, происходящую от антитела человека. «Гуманизованная форма» антитела нечеловеческого происхождения относится к варианту антитела нечеловеческого происхождения, которое подверглось гуманизации, как правило, для снижения иммуногенности по отношению к человеку, при сохранении специфичности и аффинности родительского антитела нечеловеческого происхождения. В некоторых вариантах осуществления, некоторые остатки FR в гуманизованном антителе заменены соответствующими остатками антитела нечеловеческого происхождения (*например*, антитела, из которого получены остатки CDR), *например*, для восстановления или улучшения специфичности или аффинности антитела.

[00318] Анти-BCMA антитела, включенные в предложенные CAR, включают антитела человека. «Антитело человека» представляет собой антитело с аминокислотной последовательностью, соответствующей аминокислотной последовательности, продуцируемой человеком или клеткой человека, или источником нечеловеческого происхождения, в котором используются репертуары антител человека или другие последовательности, кодирующие антитела человека, включая библиотеки антител человека. Термин исключает гуманизованные формы антител нечеловеческого происхождения, содержащих антигенсвязывающие области нечеловеческого происхождения, такие как те, в которых все или практически все CDR имеют нечеловеческое происхождение. Термин включает антигенсвязывающие фрагменты антител человека.

[00319] Антитела человека могут быть получены путем введения иммуногена трансгенному животному, которое было модифицировано для получения интактных антител человека или интактных антител с переменными областями человека в ответ на антигенную стимуляцию. Такие животные обычно содержат все или часть локусов иммуноглобулинов человека, которые заменяют эндогенные локусы иммуноглобулинов, или которые присутствуют внехромосомно или случайным образом интегрированы в хромосомы животного. У таких трансгенных животных локусы эндогенного иммуноглобулина обычно инактивированы. Антитела человека также могут быть получены из библиотек антител человека, включая библиотеки фагового дисплея и бесклеточные библиотеки, содержащие кодирующие антитела последовательности, происходящие из репертуара человека.

[00320] Антитела, включенные в предложенные CAR, включают антитела, которые представляют собой моноклональные антитела, включая фрагменты моноклональных антител. Термин «моноклональное антитело», используемый в настоящем документе, относится к антителу, полученному из или внутри популяции по существу гомогенных антител, *т. е.* отдельные антитела, входящие в популяцию, идентичны, за исключением возможных вариантов, содержащих встречающиеся в природе мутации или возникающие во время продуцирования препарата моноклонального антитела, такие варианты обычно присутствуют в незначительных количествах. В отличие от препаратов поликлональных антител, которые обычно включают разные антитела, направленные против разных эпитопов, каждое моноклональное антитело в препарате моноклональных антител направлено против одного эпитопа на антигене. Термин не следует толковать как требующий продуцирования антитела каким-либо конкретным способом. Моноклональное антитело может быть получено различными методами, включая, но не ограничиваясь ими, получение из гибридомы, методы рекомбинантной ДНК, фаговый дисплей и другие способы дисплея антител.

[00321] В некоторых вариантах осуществления, CAR включает ВСМА-связывающую часть или части молекулы антитела, такую как переменная область тяжелой цепи (V_H) и/или переменная область легкой цепи (V_L) антитела, *например*, фрагмент антитела scFv. Химерные рецепторы, такие как CAR, обычно включают внеклеточный антигенсвязывающий домен, такой как часть молекулы антитела, обычно переменную область тяжелой цепи (VH) и/или переменную область легкой цепи (VL) антитела, *например* scFv фрагмент антитела. В некоторых вариантах осуществления, предложенные ВСМА-связывающие CAR содержат антитело, такое как анти-ВСМА антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, который придает ВСМА-связывающие свойства предложенному CAR. В некоторых вариантах осуществления, антитело или антигенсвязывающий домен могут представлять собой любое описанное анти-ВСМА антитело или производное от любого описанного анти-ВСМА антитела. См., *например*, Carpenter et al., Clin Cancer Res., 2013, 19(8):2048-2060, патент США №№ 9,034,324, публикации патентов США №№ US2016/0046724, US20170183418; и международные

публикации заявок PCT №№ WO 2016090320, WO2016090327, WO2016094304, WO2016014565, WO106014789, WO2010104949, WO2017/025038 или WO2017173256. Любое из таких анти-BCMA антител или их антигенсвязывающих фрагментов можно использовать в предлагаемых CAR. В некоторых вариантах осуществления, анти-BCMA CAR содержит антигенсвязывающий домен, который представляет собой scFv, содержащий переменную область тяжелой цепи (V_H) и/или переменную область легкой цепи (V_L), полученную из антитела, описанного в WO 2016090320 или WO 2016090327.

[00322] В некоторых вариантах осуществления, антитело, *например*, анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит последовательность переменной области тяжелой и/или легкой цепи (V_H или V_L), как описано, или ее достаточную антигенсвязывающую часть. В некоторых вариантах осуществления, анти-BCMA антитело, *например*, антигенсвязывающий фрагмент, содержит последовательность V_H области или ее достаточную антигенсвязывающую часть, которая содержит CDR-H1, CDR-H2 и/или CDR-H3, как описано. В некоторых вариантах осуществления, анти-BCMA антитело, *например*, антигенсвязывающий фрагмент, содержит последовательность V_L области или ее достаточную антигенсвязывающую часть, которая содержит CDR-L1, CDR-L2 и/или CDR-L3, как описано. В некоторых вариантах осуществления, анти-BCMA антитело, *например*, антигенсвязывающий фрагмент, содержит последовательность V_H области, которая содержит CDR-H1, CDR-H2 и/или CDR-H3, как описано, и содержит последовательность V_L области, которая содержит CDR-L1, CDR-L2 и/или CDR-L3, как описано. Также антитела включают такие, которые имеют последовательности, по меньшей мере, точно или примерно на 90%, примерно на 91%, примерно на 92%, примерно на 93%, примерно на 94%, примерно на 95%, примерно на 96%, примерно на 97%, примерно на 98% или примерно на 99% идентичные такой последовательности.

[00323] В некоторых вариантах осуществления, антитело представляет собой однодоменное антитело (sdAb), содержащее только последовательность V_H области или ее достаточную антигенсвязывающую часть, такую как любая из описанных выше V_H последовательностей (*например*, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3 и/или CDR-H4).

[00324] В некоторых вариантах осуществления, предложенное в настоящем документе антитело (*например*, анти-BCMA антитело) или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий V_H область, дополнительно содержит легкую цепь или ее достаточную антигенсвязывающую часть. Например, в некоторых вариантах осуществления, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит V_H область и V_L область или достаточную антигенсвязывающую часть V_H и V_L области. В таких вариантах осуществления, последовательность V_H области может представлять собой любую из описанных выше V_H последовательностей. В некоторых таких вариантах осуществления, антитело представляет собой антигенсвязывающий фрагмент, такой как Fab или scFv. В некоторых таких вариантах осуществления, антитело представляет собой

полноразмерное антитело, которое также содержит константную область.

[00325] В некоторых вариантах осуществления, CAR представляет собой анти-BCMA CAR, специфичный в отношении BCMA, например, BCMA человека. Ранее были описаны химерные антигенные рецепторы, содержащие анти-BCMA антитела, включая антитела мыши против BCMA человека и антитела человека против BCMA человека, и клетки, экспрессирующие такие химерные рецепторы. See Carpenter et al., Clin Cancer Res., 2013, 19(8):2048-2060, US 9,765,342, WO 2016/090320, WO2016090327, WO2010104949A2, WO2016/0046724, WO2016/014789, WO2016/094304, WO2017/025038, и WO2017173256. В некоторых вариантах осуществления, анти-BCMA CAR содержит антигенсвязывающий домен, такой как scFv, содержащий переменную область тяжелой (V_H) и/или переменную область легкой (V_L) цепей, полученную из антитела, описанного в WO 2016/090320 или WO2016090327. В некоторых вариантах осуществления, антигенсвязывающий домен представляет собой фрагмент антитела, содержащий переменную область тяжелой цепи (V_H) и переменную область легкой цепи (V_L). В некоторых аспектах, V_H область представляет собой или включает аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью V_H области, представленной в любой из SEQ ID NO: 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 47, 49, 51 и 53; и/или V_L область представляет собой или включает аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью V_L области, представленной в любой из SEQ ID NO: 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 48, 50, 52 и 54.

[00326] В некоторых вариантах осуществления, антигенсвязывающий домен в анти-BCMA CAR, таком как scFv, содержит области V_H и V_L . В некоторых вариантах осуществления, область V_H содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в V_H , представленной в SEQ ID NO: 30, и область V_L содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в V_L , представленной в SEQ ID NO:31. В некоторых вариантах осуществления, область V_H содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в V_H , представленной в SEQ ID NO: 32, и область V_L содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в V_L , представленной в SEQ ID NO:33. В некоторых вариантах осуществления, область V_H содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в V_H , представленной в SEQ ID NO: 34, и область V_L содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в V_L , представленной в SEQ ID NO: 35. В некоторых вариантах осуществления, область V_H содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в V_H , представленной в SEQ ID NO: 35. в SEQ ID NO: 36, и область V_L содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в V_L , представленной в SEQ ID NO: 37. В некоторых вариантах осуществления, область V_H содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3,

содержит V_H , представленную в SEQ ID NO: 49, и V_L , представленную в SEQ ID NO: 50. В некоторых вариантах осуществления, антигенсвязывающий домен, такой как scFv, содержит V_H , представленную в SEQ ID NO: 51, и V_L , представленную в SEQ ID NO: 52. В некоторых вариантах осуществления, антигенсвязывающий домен, такой как scFv, содержит V_H , представленную в SEQ ID NO: 53, и V_L , представленную в SEQ ID NO: 54. В некоторых вариантах осуществления, V_H или V_L имеют последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности с любой из вышеуказанных последовательностей V_H или V_L и сохраняет связывание с ВСМА. В некоторых вариантах осуществления, область V_H является амино-концевой по отношению к области V_L . В некоторых вариантах осуществления, область V_H является карбокси-концевой по отношению к области V_L . В некоторых вариантах осуществления, переменная тяжелая и переменная легкая цепи соединены линкером. В некоторых вариантах осуществления, линкер указан в SEQ ID NO: 70, 72, 73, 74 или 55.

[00328] В некоторых вариантах осуществления, антитело представляет собой антигенсвязывающий фрагмент, такой как scFv, который включает один или несколько линкеров, соединяющих два домена или области антитела, такие как переменная область тяжелой цепи (V_H) и переменная область легкой цепи (V_L). Соответственно, антитела включают фрагменты одноцепочечных антител, такие как scFv и диатела, особенно фрагменты одноцепочечных антител человека, обычно содержащие линкер(ы), соединяющие два домена или области антитела, такие как области V_H и V_L . Линкер обычно представляет собой пептидный линкер, *например* гибкий и/или растворимый пептидный линкер. Линкеры включают линкеры, богатые глицином и серином и/или в некоторых случаях треонином. В некоторых вариантах осуществления, линкеры дополнительно включают заряженные остатки, такие как лизин и/или глутамат, которые могут улучшать растворимость. В некоторых вариантах осуществления, линкеры дополнительно включают один или несколько пролинов.

[00329] В некоторых аспектах линкеры, богатые глицином и серином (и/или треонином), включают, по меньшей мере, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% таких аминокислот. В некоторых вариантах осуществления, они включают, по меньшей мере, точно или примерно 50%, 55%, 60%, 70% или 75% глицина, серина и/или треонина. В некоторых вариантах осуществления, линкер по существу полностью состоит из глицина, серина и/или треонина. Линкеры обычно имеют длину от примерно 5 до примерно 50 аминокислот, обычно, от примерно 10 до примерно 30, например, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30, и в некоторых примерах, от 10 до 25 аминокислот в длину. Примеры линкеров включают линкеры, имеющие различное количество повторов последовательности GGGGS (4GS; SEQ ID NO:19) или GGGS (3GS; SEQ ID NO:71), например, от 2, 3, 4 до 5 повторов такой последовательности. Примеры линкеров включают линкеры, имеющие или состоящие из последовательности, представленной в SEQ ID NO:72 (GGGSGGGGSGGGGS), SEQ ID

NO:55 (ASGGGSGGRASGGGS), SEQ ID NO:73 (GSTSGSGKPGSGEGSTKG) или SEQ ID NO: 74 (SRGGGSGGGGSGGGGSLEMA).

[00330] В некоторых вариантах осуществления, антигенсвязывающий домен в анти-BCMA CAR, таком как scFv, содержит области V_H и V_L . В некоторых вариантах осуществления, область V_H содержит CDR-H1, представленную в SEQ ID NO: 56, CDR-H2, представленную в SEQ ID NO: 57, и CDR-H3, представленную в SEQ ID NO: 58, и область V_L содержит CDR-L1, представленную в SEQ ID NO: 59, CDR-L2, представленную в SEQ ID NO: 60, и CDR-H3, представленную в SEQ ID NO: 61. В некоторых вариантах осуществления, область V_H имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:36, или последовательность аминокислот, которая демонстрирует, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98%, по меньшей мере, 99% с SEQ ID NO: 36, и область V_L имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:37 или последовательность аминокислот, которая демонстрирует, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98%, по меньшей мере, 99% с SEQ ID NO:37. В некоторых вариантах осуществления, область V_H имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:36, и область V_L имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:37. В некоторых вариантах осуществления, область V_H является аминоконцевой по отношению к области V_L . В некоторых вариантах осуществления, область V_H является карбокси-концевой по отношению к области V_L . В некоторых вариантах осуществления, антигенсвязывающий домен представляет собой scFv, который имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:180, или последовательность аминокислот, демонстрирующую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98%, по меньшей мере, 99% с SEQ ID NO:180. В конкретных вариантах осуществления, любой из указанных выше антигенсвязывающих доменов связывает BCMA.

[00331] В некоторых вариантах осуществления, антигенсвязывающий домен в анти-BCMA CAR, таком как scFv, содержит области V_H и V_L . В некоторых вариантах осуществления, область V_H содержит CDR-H1, представленную в SEQ ID NO: 62, CDR-H2, представленную в SEQ ID NO: 63, и CDR-H3, представленную в SEQ ID NO: 64, и область V_L содержит CDR-L1, представленную в SEQ ID NO: 65, CDR-L2, представленную в SEQ ID NO: 66, и CDR-H3, представленную в SEQ ID NO: 67. В некоторых вариантах осуществления, область V_H имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:30, или последовательность аминокислот, которая демонстрирует, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере,

96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98%, по меньшей мере, 99% с SEQ ID NO: 30, и область V_L имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:31 или последовательность аминокислот, которая демонстрирует, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98%, по меньшей мере, 99% с SEQ ID NO:31. В некоторых вариантах осуществления, область V_H имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:30, и область V_L имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:31. В некоторых вариантах осуществления, область V_H является аминоконцевой по отношению к области V_L . В некоторых вариантах осуществления, область V_H является карбокси-концевой по отношению к области V_L . В некоторых вариантах осуществления, антигенсвязывающий домен представляет собой scFv, который имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:68, или последовательность аминокислот, демонстрирующую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98%, по меньшей мере, 99% с SEQ ID NO:68. В конкретных вариантах осуществления, любой из указанных выше антигенсвязывающих доменов связывает ВСМА.

[00332] В некоторых вариантах осуществления, рекомбинантный рецептор, такой как CAR, такой как часть антитела рекомбинантного рецептора, *например*, CAR, дополнительно включает спейсер, который может представлять собой или включать, по меньшей мере, часть константной области иммуноглобулина или вариант или модифицированную версию, такую как шарнирная область, *например*, шарнирная область IgG4, шарнирная область IgG1, C_{H1}/C_L и/или Fc область. В некоторых вариантах осуществления, рекомбинантный рецептор дополнительно содержит спейсер и/или шарнирную область. В некоторых вариантах осуществления, константная область или часть относится к IgG человека, такому как IgG4 или IgG1. В некоторых аспектах, часть константной области служит спейсерной областью между компонентом распознавания антигена, *например*, scFv, и трансмембранным доменом. Спейсер может иметь длину, обеспечивающую повышенную чувствительность клетки после связывания антигена по сравнению с отсутствием спейсера.

[00333] Типовые спейсеры, *например* шарнирные области, включают те, что описаны в публикации международной патентной заявки WO2014031687. В некоторых примерах, спейсер имеет длину точно или примерно 12 аминокислот или не более 12 аминокислот. Примеры спейсеров включают спейсеры, содержащие, по меньшей мере, примерно от 10 до 229 аминокислот, примерно от 10 до 200 аминокислот, примерно от 10 до 175 аминокислот, примерно от 10 до 150 аминокислот, примерно от 10 до 125 аминокислот, примерно от 10 до 100 аминокислот, примерно от 10 до 75 аминокислот, примерно от 10 до 50 аминокислот, примерно от 10 до 40 аминокислот, примерно от 10 до 30 аминокислот, примерно от 10 до 20 аминокислот или примерно от 10 до 15

аминокислот, включая любое целое число между конечными точками любого из перечисленных диапазонов. В некоторых вариантах осуществления, спейсерная область содержит примерно 12 аминокислот или менее, примерно 119 аминокислот или менее или примерно 229 аминокислот или менее. В некоторых вариантах осуществления, спейсер представляет собой спейсер, по меньшей мере, определенной длины, такой как, по меньшей мере, 100 аминокислот, например, по меньшей мере, 110, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240 или 250 аминокислот. Примеры спейсеров включают только шарнир IgG4, шарнир IgG4, связанный с доменами C_{H2} и C_{H3}, или шарнир IgG4, связанный с доменом C_{H3}. Примеры спейсеров включают только шарнир IgG4, шарнир IgG4, связанный с доменами C_{H2} и C_{H3}, или шарнир IgG4, связанный с доменом C_{H3}. Примеры спейсеров включают, но не ограничены ими, спейсеры, описанные в Hudecek et al., Clin. Cancer Res., 19:3153 (2013), Hudecek et al. (2015) Cancer Immunol Res. 3(2): 125-135, публикации международной патентной заявки № WO2014031687, патенте США № 8,822,647 или опубликованной заявке № US2014/0271635. В некоторых вариантах осуществления, спейсер включает последовательность шарнирной области иммуноглобулина, области C_{H2} и C_{H3}. В некоторых вариантах осуществления, один или несколько шарниров, C_{H2} и C_{H3} полностью или частично происходят из IgG4 или IgG2. В некоторых случаях, шарнир C_{H2} и C_{H3} происходит от IgG4. В некоторых аспектах, один или несколько шарниров C_{H2} и C_{H3} являются химерными и содержат последовательности, полученные из IgG4 и IgG2. В некоторых примерах, спейсер содержит химерный шарнир IgG4/2, область C_{H2} IgG2/4 и область C_{H3} IgG4.

[00334] В некоторых вариантах осуществления, спейсер, который может представлять собой константную область или ее часть иммуноглобулина, представляет собой IgG человека, такой как IgG4 или IgG1. В некоторых вариантах осуществления, спейсер имеет последовательность ESKYGPCCPPCP (представленную в SEQ ID NO: 1). В некоторых вариантах осуществления, спейсер имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO: 3. В некоторых вариантах осуществления, спейсер имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO: 4. В некоторых вариантах осуществления, кодируемый спейсер представляет собой или содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 29. В некоторых вариантах осуществления, константная область или часть представляет собой IgD. В некоторых вариантах осуществления, спейсер имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO: 5. В некоторых вариантах осуществления, спейсер имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO: 125.

[00335] В некоторых вариантах осуществления, спейсер может быть полностью или частично получен из IgG4 и/или IgG2 и может содержать мутации, такие как мутации одной или нескольких отдельных аминокислот в одном или нескольких доменах. В некоторых примерах, аминокислотная модификация представляет собой замену пролина (P) на серин (S) в шарнирной области IgG4. В некоторых вариантах осуществления,

аминокислотная модификация представляет собой замену глутамина (Q) на аспарагин (N) для уменьшения гетерогенности гликозилирования, например, мутацию N177Q в положении 177 в C_H2 области последовательности полноразмерной Fc IgG4, представленной в SEQ ID NO:173, или N176Q в положении 176 в C_H2 области последовательности полноразмерной Fc IgG4.

[00336] В некоторых вариантах осуществления, спейсер может иметь длину, обеспечивающую повышенную реакционную способность клетки после связывания антигена, по сравнению с отсутствием спейсера и/или в присутствии другого спейсера, такого как спейсер, отличающийся только по длине. В некоторых вариантах осуществления, длина спейсера составляет, по меньшей мере, 100 аминокислот, например, по меньшей мере, 110, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240 или 250 аминокислот в длину. В некоторых примерах, длина спейсера составляет примерно 12 аминокислот или не более 12 аминокислот. Примеры спейсеров включают спейсеры, содержащие, по меньшей мере, примерно от 10 до 300 аминокислот, примерно от 10 до 200 аминокислот, примерно от 50 до 175 аминокислот, примерно от 50 до 150 аминокислот, примерно от 10 до 125 аминокислот, примерно от 50 до 100 аминокислот, примерно от 100 до 300 аминокислот, примерно от 100 до 250 аминокислот, примерно от 125 до 250 аминокислот или примерно от 200 до 250 аминокислот, включая любое целое число между конечными точками любого из перечисленных диапазонов. В некоторых вариантах осуществления, спейсер или спейсерная область содержит, по меньшей мере, примерно 12 аминокислот, по меньшей мере, примерно 119 аминокислот или менее, по меньшей мере, примерно 125 аминокислот, по меньшей мере, примерно 200 аминокислот или, по меньшей мере, примерно 220 аминокислот, или, по меньшей мере, примерно 225 аминокислот в длину.

[00337] В некоторых вариантах осуществления, спейсер имеет длину от 125 до 300 аминокислот, от 125 до 250 аминокислот, от 125 до 230 аминокислот, от 125 до 200 аминокислот, от 125 до 180 аминокислот, от 125 до 150 аминокислот, от 150 до 300 аминокислот, от 150 до 250 аминокислот, от 150 до 230 аминокислот, от 150 до 200 аминокислот, от 150 до 180 аминокислот, от 180 до 300 аминокислот, от 180 до 250 аминокислот, от 180 до 230 аминокислот, от 180 до 200 аминокислот, от 200 до 300 аминокислот, от 200 до 250 аминокислот, от 200 до 230 аминокислот, от 230 до 300 аминокислот, от 230 до 250 аминокислот или от 250 до 300 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления, спейсер имеет, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно или составляет или составляет примерно 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228 или 229 аминокислот в длину или длину между любыми из вышеперечисленных.

[00338] Примеры спейсеров включают спейсеры, содержащие часть(и) константной области иммуноглобулина, такие как спейсеры, содержащие шарнир Ig, такой как шарнирный домен IgG. В некоторых аспектах, спейсер включает только шарнир IgG, шарнир IgG, связанный с одним или несколькими доменами C_H2 и C_H3, или шарнир

IgG, связанный с доменом C_{H3}. В некоторых вариантах осуществления, шарнир IgG, C_{H2} и/или C_{H3} могут быть получены полностью или частично из IgG4 или IgG2. В некоторых вариантах осуществления, спейсер может представлять собой химерный полипептид, содержащий одну или несколько последовательностей шарнира, C_{H2} и/или C_{H3}, полученных из IgG4, IgG2 и/или IgG2 и IgG4. В некоторых вариантах осуществления, шарнирная область включает всю или часть шарнирной области IgG4 и/или шарнирную область IgG2, где шарнирная область IgG4 необязательно представляет собой шарнирную область IgG4 человека, и шарнирная область IgG2 необязательно представляет собой шарнирную область IgG2 человека; область C_{H2} включает всю или часть области C_{H2} IgG4 и/или области C_{H2} IgG2, где область C_{H2} IgG4 необязательно представляет собой область C_{H2} IgG4 человека, и область C_{H2} IgG2 необязательно представляет собой область C_{H2} IgG2 человека; и/или область C_{H3} содержит всю или часть области C_{H3} IgG4 и/или области C_{H3} IgG2, где область C_{H3} IgG4 необязательно представляет собой область C_{H3} IgG4 человека, и область C_{H3} IgG2 необязательно представляет собой область C_{H3} IgG2 человека. В некоторых вариантах осуществления, шарнир C_{H2} и C_{H3} включает всю или часть каждой шарнирной области C_{H2} и C_{H3} из IgG4. В некоторых вариантах осуществления, шарнирная область является химерной и содержит шарнирную область из IgG4 человека и IgG2 человека; область C_{H2} является химерной и включает область C_{H2} из IgG4 человека и IgG2 человека; и/или область C_{H3} является химерной и включает область C_{H3} из IgG4 человека и IgG2 человека. В некоторых вариантах осуществления, спейсер содержит химерный шарнир IgG4/2 или модифицированный шарнир IgG4, содержащий, по меньшей мере, одну аминокислотную замену по сравнению с шарнирной областью IgG4 человека; химерную область C_{H2} IgG2/4 человека; и область C_{H3} IgG4 человека.

[00339] В некоторых вариантах осуществления, спейсер может быть полностью или частично получен из IgG4 и/или IgG2 и может содержать мутации, такие как мутации одной или нескольких отдельных аминокислот в одном или нескольких доменах. В некоторых примерах, аминокислотная модификация представляет собой замену пролина (P) на серин (S) в шарнирной области IgG4. В некоторых вариантах осуществления, аминокислотная модификация представляет собой замену глутамина (Q) на аспарагин (N) для уменьшения гетерогенности гликозилирования, например, мутацию N177Q в положении 177 в C_{H2} области последовательности полноразмерной Fc IgG4, представленной в SEQ ID NO:182, или N176Q в положении 176 в C_{H2} области последовательности полноразмерной Fc IgG2, представленной в SEQ ID NO:181. В некоторых вариантах осуществления, спейсер представляет собой или содержит химерный шарнир IgG4/2 или модифицированный шарнир IgG4; химерную C_{H2} область IgG2/4; и C_{H3} область IgG4, которая необязательно имеет длину примерно 228 аминокислот; или спейсер, представленный в SEQ ID NO:29. В некоторых вариантах осуществления, спейсер содержит аминокислотную последовательность

ESKYGPPCPPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQF

NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSI
 EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
 KTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK
 (SEQ ID NO: 29)

[00340] В некоторых вариантах осуществления, спейсер кодируется полинуклеотидом, оптимизированным для экспрессии кодонов и/или для устранения сайтов сплайсинга, таких как криптические сайты сплайсинга. В некоторых вариантах осуществления, последовательность, кодирующая спейсер, содержит последовательность нуклеиновой кислоты, представленную в SEQ ID NO: 183. В некоторых вариантах осуществления, последовательность, кодирующая спейсер, содержит последовательность нуклеиновой кислоты, представленную в SEQ ID NO: 179.

[00341] Другие иллюстративные спейсерные области включают шарнирные области, полученные из CD8a, CD28, CTLA4, PD-1 или FcγRIIIa. В некоторых вариантах осуществления, спейсер содержит укороченный внеклеточный домен или шарнирную область CD8a, CD28, CTLA4, PD-1 или FcγRIIIa. В некоторых вариантах осуществления, спейсер представляет собой укороченную шарнирную область CD28. В некоторых вариантах осуществления, короткий олиго- или полипептидный линкер, например, линкер длиной от 2 до 10 аминокислот, такой как линкер, содержащий аланин или аланин и аргинин, *например*, триплет аланина (AAA) или RAAA (SEQ ID NO: 46), присутствует и образует связь между scFv и спейсерной областью CAR.

[00342] В некоторых вариантах осуществления, спейсер происходит от CD28. В некоторых вариантах осуществления, спейсер представляет собой шарнир CD28. В некоторых вариантах осуществления, спейсер имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO: 114. В некоторых вариантах осуществления, спейсер имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO: 116.

[00343] В некоторых вариантах осуществления, спейсер получен из CD8. В некоторых вариантах осуществления, спейсер представляет собой шарнирную последовательность CD8. В некоторых вариантах осуществления, спейсер имеет последовательность, указанную в любой, представленную в SEQ ID NO: 117. В некоторых вариантах осуществления, спейсер имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO: 118. В некоторых вариантах осуществления, спейсер имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO: 119.

[00344] В некоторых вариантах осуществления, спейсер получен из CTLA-4. В некоторых вариантах осуществления, спейсер представляет собой шарнир CD28. В некоторых вариантах осуществления, спейсер имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO: 120.

[00345] В некоторых вариантах осуществления, спейсер получен из PD-1. В некоторых вариантах осуществления, спейсер представляет собой шарнир PD-1. В некоторых вариантах осуществления, спейсер имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO: 122.

[00346] В некоторых вариантах осуществления, спейсер получен из Fc(gamma)RIIIa. В некоторых вариантах осуществления, спейсер представляет собой шарнир Fc(gamma)RIIIa. В некоторых вариантах осуществления, спейсер имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO: 124.

[00347] В некоторых вариантах осуществления, спейсер имеет аминокислотную последовательность, демонстрирующую, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности любой из SEQ ID NO: 1, 3, 4, 5, 29, 114, 116, 117, 118, 119, 120, 122, 124 или 125.

[00348] Этот антигенраспознающий домен обычно связан с одним или несколькими внутриклеточными сигнальными компонентами, такими как сигнальные компоненты, которые имитируют стимуляцию и/или активацию через комплекс антиген-рецептор, такой как комплекс TCR, в случае CAR, и/или сигнал через другой рецептор клеточной поверхности. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления, антигенсвязывающий компонент (*например*, антитело) связан с одним или несколькими трансмембранными и внутриклеточными сигнальными доменами. В некоторых вариантах осуществления, трансмембранный домен слит с внеклеточным доменом. В одном варианте осуществления, используется трансмембранный домен, который естественным образом связан с одним из доменов рецептора, *например*, CAR. В некоторых случаях, трансмембранный домен выбран или модифицирован путем аминокислотной замены, чтобы избежать связывания таких доменов с трансмембранными доменами тех же или разных белков поверхностной мембраны, чтобы свести к минимуму взаимодействия с другими членами рецепторного комплекса.

[00349] Трансмембранный домен, в некоторых вариантах осуществления, происходит либо из природного, либо из синтетического источника. Если источник является природным, домен в некоторых аспектах происходит от мембраносвязанного или трансмембранного белка. Трансмембранные области включают те, которые получены из (*т.е.* содержат, по меньшей мере, трансмембранную(ые) область(и) из) альфа, бета или дзета цепи T-клеточного рецептора, CD28, CD3 эпсилон, CD45, CD4, CD5, CD8, CD8a, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137 (4-1BB), CD154, CTLA-4 или PD-1. Альтернативно, трансмембранный домен, в некоторых вариантах осуществления, является синтетическим. В некоторых аспектах, синтетический трансмембранный домен содержит преимущественно гидрофобные остатки, такие как лейцин и валин. В некоторых аспектах, триплет фенилаланина, триптофана и валина будет обнаружен на каждом конце синтетического трансмембранного домена. В некоторых вариантах осуществления, связь осуществляется с помощью линкеров, спейсеров и/или трансмембранного(ых) домена(ов). Типовые последовательности трансмембранных доменов представляют собой или включают последовательности, представленные в SEQ ID NO: 8, 115, 121, 123, 44, 45, 115 или 178.

[00350] В некоторых вариантах осуществления, трансмембранный домен

представляет собой трансмембранный домен из CD8. В некоторых вариантах осуществления, трансмембранный домен имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO:44. В некоторых вариантах осуществления, трансмембранный домен имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO:45. В некоторых вариантах осуществления, трансмембранный домен имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO:115. В некоторых вариантах осуществления, трансмембранный домен имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO:178.

[00351] Внутриклеточные сигнальные домены включают такие, которые имитируют или приближают сигнал через природный антигенный рецептор, сигнал через такой рецептор в комбинации с костимулирующим рецептором и/или сигнал через один только костимулирующий рецептор. В некоторых вариантах осуществления, присутствует короткий олиго- или полипептидный линкер, например, линкер длиной от 2 до 10 аминокислот, такой как линкер, содержащий глицин и серины, *например* дублет глицин-серин, который образует связь между трансмембранным доменом и цитоплазматическим сигнальным доменом CAR.

[00352] Рецептор, *например*, CAR, обычно включает, по меньшей мере, один внутриклеточный сигнальный компонент или компоненты. В некоторых вариантах осуществления, рецептор включает внутриклеточный компонент комплекса TCR, такой как цепь CD3 TCR, которая опосредует стимуляцию и/или активацию и цитотоксичность Т-клеток, *например*, дзета-цепь CD3. Таким образом, в некоторых аспектах, антигенсвязывающая часть связана с одним или несколькими клеточными сигнальными модулями. В некоторых вариантах осуществления, клеточные сигнальные модули включают трансмембранный домен CD3, внутриклеточные сигнальные домены CD3 и/или другие трансмембранные домены CD. В некоторых вариантах осуществления, рецептор, *например*, CAR, дополнительно включает часть одной или нескольких дополнительных молекул, таких как Fc рецептор γ , CD8, CD4, CD25 или CD16. Например, в некоторых аспектах CAR включает химерную молекулу между CD3-дзета (CD3- ζ) или Fc рецептором γ и CD8, CD4, CD25 или CD16.

[00353] В некоторых вариантах осуществления, при лигировании CAR или другого химерного рецептора, цитоплазматический домен или внутриклеточный сигнальный домен рецептора стимулирует и/или активирует, по меньшей мере, одну из нормальных эффекторных функций или ответов иммунной клетки, *например* Т-клетки, сконструированной для экспрессии CAR. Например, в некоторых контекстах, CAR индуцирует функцию Т-клетки, такую как цитолитическая активность или Т-хелперная активность, например, секреция цитокинов или других факторов. В некоторых вариантах осуществления, усеченная часть внутриклеточного сигнального домена компонента антигенного рецептора или костимулирующей молекулы используется вместо интактной иммуностимулирующей цепи, например, если она передает сигнал эффекторной функции. В некоторых вариантах осуществления, внутриклеточный сигнальный домен или домены включают цитоплазматические последовательности Т-клеточного рецептора (TCR), и в

некоторых аспектах, также последовательности корцепторов, которые, в естественном контексте, действуют совместно с таким рецептором, иницируя передачу сигнала после рекрутинга антигенного рецептора, и/или любое производное или вариант таких молекул, и/или любую синтетическую последовательность, обладающую такой же функциональной способностью.

[00354] В контексте природного TCR, полная активация обычно требует не только передачи сигналов через TCR, но и костимулирующего сигнала. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления, для стимуляции полной активации, в CAR также включен компонент для генерации вторичного или костимулирующего сигнала. В других вариантах осуществления, CAR не включает компонент для генерации костимулирующего сигнала. В некоторых аспектах, дополнительный CAR экспрессируется в той же клетке и обеспечивает компонент для генерации вторичного или костимулирующего сигнала.

[00355] Стимуляция и/или активация Т-клеток, в некоторых аспектах, описывается как опосредованная двумя классами цитоплазматических сигнальных последовательностей: теми, которые иницируют антигензависимую первичную стимуляцию и/или активацию через TCR (первичные цитоплазматические сигнальные области, домены или последовательности), и теми, которые действуют антиген-независимым образом, обеспечивая вторичный или костимулирующий сигнал (вторичные цитоплазматические сигнальные области, домены или последовательности). В некоторых аспектах, CAR включает один или оба таких класса цитоплазматических сигнальных последовательностей.

[00356] В некоторых аспектах, CAR включает первичные цитоплазматические сигнальные области, домены или последовательности, которые регулируют первичную активацию комплекса TCR. Первичные цитоплазматические сигнальные области, домены или последовательности, которые действуют стимулирующим образом, могут содержать сигнальные мотивы, известные как иммунорецепторные тирозиновые активирующие мотивы или ITAM. Примеры ITAM, содержащих первичные цитоплазматические сигнальные последовательности, включают последовательности, полученные из TCR дзета, FcR гамма, FcR бета, CD3 гамма, CD3 дельта, CD3 эpsilon, CD8, CD22, CD79a, CD79b и CD99d. В некоторых вариантах осуществления, цитоплазматические сигнальные молекулы в CAR содержат цитоплазматический сигнальный домен, его часть или последовательность, полученную из CD3 дзета. В некоторых вариантах осуществления, CAR включает сигнальную область и/или трансмембранную часть костимулирующего рецептора, такого как костимулирующий рецептор, такой как CD28, 4-1BB, OX40 (CD134), CD27, DAP10, DAP12, ICOS и/или другие костимулирующие рецепторы. В некоторых аспектах, один и тот же CAR включает как первичную цитоплазматическую сигнальную область, так и костимулирующие сигнальные компоненты.

[00357] В некоторых вариантах осуществления, один или несколько различных рекомбинантных рецепторов могут содержать одну или несколько различных

внутриклеточных сигнальных областей или доменов. В некоторых вариантах осуществления, первичная цитоплазматическая сигнальная область включена в один CAR, тогда как костимулирующий компонент обеспечивается другим рецептором, например другим CAR, распознающим другой антиген. В некоторых вариантах осуществления, CAR включают активирующие или стимулирующие CAR и костимулирующие CAR, экспрессированные на одной и той же клетке (см. WO 2014/055668).

[00358] В некоторых аспектах клетки включают один или несколько стимулирующих или активирующих CAR и/или костимулирующих CAR. В некоторых вариантах осуществления, клетки дополнительно включают ингибирующие CAR (iCAR, см. Fedorov et al., Sci. Transl. Medicine, 5(215) (2013), такие как CAR, распознающий антиген, отличный от антигена, связанного с и/или специфичного для заболевания или состояния, при котором активирующий сигнал, доставляемый через нацеливающий на заболевание CAR, ослабляется или ингибируется за счет связывания ингибирующего CAR с его лигандом, *например*, для уменьшения нецелевых эффектов.

[00359] В некоторых вариантах осуществления, внутриклеточный сигнальный домен содержит трансмембранный CD28 и сигнальный домен, связанный с внутриклеточным доменом CD3 (*например*, CD3-дзета). В некоторых вариантах осуществления, внутриклеточный сигнальный домен содержит химерные костимулирующие домены CD28 и CD137 (4-1BB, TNFRSF9), связанные с внутриклеточным доменом CD3 дзета.

[00360] В некоторых вариантах осуществления, CAR включает один или несколько, *например* два или несколько, костимулирующих доменов и первичную цитоплазматическую сигнальную область в цитоплазматической части. Примеры CAR включают внутриклеточные компоненты, такие как внутриклеточная(ые) сигнальная(ые) область(и) или домен(ы) CD3-дзета, CD28, CD137 (4-1BB), OX40 (CD134), CD27, DAP10, DAP12, NKG2D и/или ICOS. В некоторых вариантах осуществления, химерный антигенный рецептор содержит внутриклеточную сигнальную область или домен костимулирующей молекулы Т-клетки, *например*, из CD28, CD137 (4-1BB), OX40 (CD134), CD27, DAP10, DAP12, NKG2D и/или ICOS, в некоторых случаях, между трансмембранным доменом и внутриклеточной сигнальной областью или доменом. В некоторых аспектах костимулирующая молекула Т-клетки представляет собой одну или несколько из CD28, CD137 (4-1BB), OX40 (CD134), CD27, DAP10, DAP12, NKG2D и/или ICOS.

[00361] В некоторых случаях, CAR называют CAR первого, второго и/или третьего поколения. В некоторых аспектах CAR первого поколения представляет собой CAR, который обеспечивает исключительно индуцируемый CD3-цепью сигнал при связывании антигена; в некоторых аспектах CAR второго поколения представляет собой CAR, который обеспечивает такой сигнал и костимулирующий сигнал, такой как CAR, включающий внутриклеточный сигнальный домен от костимулирующего рецептора, такого как CD28 или CD137; в некоторых аспектах CAR третьего поколения представляет

собой CAR, который включает несколько костимулирующих доменов различных костимулирующих рецепторов.

[00362] В некоторых вариантах осуществления, химерный антигенный рецептор включает внеклеточную часть, содержащую антитело или фрагмент антитела. В некоторых аспектах химерный антигенный рецептор включает внеклеточную часть, содержащую антитело или его фрагмент, и внутриклеточный сигнальный домен. В некоторых вариантах осуществления, антитело или его фрагмент включают scFv, а внутриклеточный домен содержит ITAM. В некоторых аспектах внутриклеточный сигнальный домен включает сигнальный домен дзета-цепи цепи CD3-дзета (CD3 ζ). В некоторых вариантах осуществления, химерный антигенный рецептор включает трансмембранный домен, связывающий внеклеточный домен и внутриклеточный сигнальный домен. В некоторых аспектах, трансмембранный домен содержит трансмембранную часть CD28. В некоторых вариантах осуществления, химерный антигенный рецептор содержит внутриклеточный домен костимулирующей молекулы Т-клетки. Внеклеточный домен и трансмембранный домен могут быть связаны прямо или косвенно. В некоторых вариантах внеклеточный домен и трансмембранный домен связаны спейсером, таким как любой из описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления, рецептор содержит внеклеточную часть молекулы, из которой получен трансмембранный домен, такую как внеклеточная часть CD28. В некоторых вариантах осуществления, химерный антигенный рецептор содержит внутриклеточный домен, полученный из костимулирующей молекулы Т-клетки, или ее функционального варианта, например, между трансмембранным доменом и внутриклеточным сигнальным доменом. В некоторых аспектах костимулирующей молекулой Т-клетки является CD28 или 4-1BB.

[00363] Например, в некоторых вариантах осуществления, CAR содержит антитело, *например*, фрагмент антитела, трансмембранный домен, который представляет собой или содержит трансмембранную часть CD28 или его функциональный вариант, и внутриклеточный сигнальный домен, содержащий сигнальную часть CD28 или функциональную его вариант и сигнальную часть CD3 дзета или его функциональный вариант. В некоторых вариантах осуществления, CAR содержит антитело, *например*, фрагмент антитела, трансмембранный домен, который представляет собой или содержит трансмембранную часть CD28 или его функциональный вариант, и внутриклеточный сигнальный домен, содержащий сигнальную часть 4-1BB или функциональный вариант его и сигнальной части CD3 дзета или его функционального варианта. В некоторых таких вариантах осуществления, рецептор дополнительно включает спейсер, содержащий часть молекулы Ig, такую как молекула Ig человека, такая как шарнир Ig, *например* шарнир IgG4, такой как спейсер, состоящий только из шарнира.

[00364] В некоторых вариантах осуществления, трансмембранный домен рекомбинантного рецептора, *например*, CAR, представляет собой или включает трансмембранный домен CD28 человека (*например*, номер доступа P10747.1) или CD8a

(номер доступа P01732.1) или их вариант, такой как трансмембранный домен, который содержит последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO: 8, 115, 44 или 45, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности с SEQ ID NO: 8, 115, 44 или 45; в некоторых вариантах осуществления, часть рекомбинантного рецептора, содержащая трансмембранный домен, содержит последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO: 9, или последовательность аминокислот, имеющую, по меньшей мере, точно или примерно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности.

[00365] В некоторых вариантах осуществления, внутриклеточный сигнальный компонент(ы) рекомбинантного рецептора, *например*, CAR, содержит внутриклеточный костимулирующий сигнальный домен CD28 человека или его функциональный вариант или часть, такой как домен с заменой LL на GG в положениях 186-187 нативного белка CD28. Например, внутриклеточный сигнальный домен может содержать последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO: 10 или 11, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности с SEQ ID NO: 10 или 11. В некоторых вариантах осуществления, костимулирующий сигнальный домен представлен в SEQ ID NO:10. В некоторых вариантах осуществления, костимулирующий сигнальный домен представлен в SEQ ID NO:11.

[00366] В некоторых вариантах осуществления, внутриклеточный(ые) сигнальный(ые) компонент(ы) рекомбинантного рецептора, *например*, CAR, содержит внутриклеточный костимулирующий сигнальный домен 4-1BB человека или его функциональный вариант или часть. В некоторых вариантах осуществления, внутриклеточный домен содержит внутриклеточный костимулирующий сигнальный домен 4-1BB (*например*, номер доступа Q07011.1) или его функциональный вариант или часть, такую как последовательность аминокислот, представленная в SEQ ID NO: 12, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности с SEQ ID NO: 12. В некоторых вариантах осуществления, костимулирующий сигнальный домен представлен в SEQ ID NO: 12.

[00367] В некоторых вариантах осуществления, внутриклеточный сигнальный домен рекомбинантного рецептора, *например*, CAR, содержит стимулирующий сигнальный домен CD3 дзета человека или его функциональный вариант, такой как цитоплазматический домен 112 AA изоформы 3 CD3 ζ человека (номер доступа P20963.2) или сигнальный домен CD3 дзета, как описано в патенте США № 7,446,190 или патенте США № 8,911,993. Например, в некоторых вариантах осуществления, внутриклеточный сигнальный домен содержит последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID

NO: 13, 14 или 15, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности с SEQ ID NO: 13, 14 или 15. В некоторых вариантах осуществления, сигнальный домен CD3 дзета представлен в SEQ ID NO:13. В некоторых вариантах осуществления, сигнальный домен CD3 дзета представлен в SEQ ID NO:14. В некоторых вариантах осуществления, сигнальный домен CD3 дзета представлен в SEQ ID NO:15.

[00368] В некоторых аспектах, спейсер содержит только шарнирную область IgG, такую как только шарнир IgG4 или IgG1, например, только шарнирный спейсер, представленный в SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 125. В других вариантах осуществления, спейсер представляет собой или содержит шарнир Ig, *например*, шарнир, производный от IgG4, необязательно связанный с доменами CH2 и/или CH3. В некоторых вариантах осуществления, спейсер представляет собой шарнир Ig, *например*, шарнир IgG4, связанный с доменами CH2 и CH3, представленный в SEQ ID NO: 4. В некоторых вариантах осуществления, спейсер представляет собой шарнир Ig, *например*, шарнир IgG4, связанный только с доменом CH3, представленный в SEQ ID NO: 3. В некоторых вариантах осуществления, спейсер представляет собой или содержит богатую глицином-серином последовательность или другой гибкий линкер, такой как известные гибкие линкеры. В некоторых вариантах осуществления, спейсер представляет собой шарнир CD8a, такой как представленную в любой из SEQ ID NO: 117-119, шарнир FcγRIIIa, такой как представлен в SEQ ID NO: 124, шарнир CTLA4, такой как представлен в SEQ ID NO: 120 или шарнир PD-1, такой как представлен в SEQ ID NO: 122.

[00369] Например, в некоторых вариантах осуществления, CAR включает антитело, такое как фрагмент антитела, такой как scFv, спейсер, такой как спейсер, содержащий часть молекулы иммуноглобулина, такую как шарнирная область, и/или одну или несколько константных областей молекулы тяжелой цепи, таких как спейсер, содержащий Ig-шарнир, трансмембранный домен, содержащий весь или часть трансмембранного домена, полученного из CD28, внутриклеточный сигнальный домен, полученный из CD28, и сигнальный домен CD3 дзета. Такие последовательности могут включать любые из описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления, CAR имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:161, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO:161. В некоторых вариантах осуществления, CAR имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO:161. В некоторых вариантах осуществления, CAR включает антитело или его фрагмент, такой как scFv, спейсер, такой как любой из спейсеров, содержащих Ig шарнир, трансмембранный домен, полученный из CD28, внутриклеточный сигнальный домен, полученный из 4-1BB, и сигнальный домен, полученный из CD3 дзета.

Такие последовательности могут включать любые из описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления, CAR имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:160, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO:160. В некоторых вариантах осуществления, CAR имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO:160. В некоторых вариантах осуществления, CAR кодируется последовательностью нуклеотидов, представленной в SEQ ID NO:69.

[00370] В некоторых вариантах осуществления, CAR включает антитело, такое как фрагмент антитела, такой как scFv, спейсер, такой как спейсер, содержащий шарнир CD8, трансмембранный домен, содержащий весь или часть трансмембранного домена, полученного из CD8, внутриклеточный сигнальный домен, полученный из 4-1BB, и сигнальный домен CD3 дзета. Такие последовательности могут включать любые из описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления, CAR имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:152, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO:152. В некоторых вариантах осуществления, CAR имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO:152. В некоторых вариантах осуществления, CAR имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:168, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO:168. В некоторых вариантах осуществления, CAR имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO:168. В некоторых вариантах осуществления, CAR имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:171, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO:171. В некоторых вариантах осуществления, CAR имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO:171.

[00371] Рекомбинантные рецепторы, такие как CAR, экспрессируемые клетками, вводимыми субъекту, обычно распознают или специфически связываются с молекулой, которая экспрессируется, ассоциирована с и/или специфична для заболевания или состояния или клеток, подвергаемых лечению. При специфическом связывании с

молекулой, *например*, антигеном, рецептор обычно доставляет в клетку иммуностимулирующий сигнал, такой как сигнал, трансдуцированный ITAM, тем самым стимулируя иммунный ответ, направленный на заболевание или состояние. Например, в некоторых вариантах осуществления, клетки экспрессируют CAR, который специфически связывается с антигеном, экспрессируемым клеткой или тканью заболевания или состояния или ассоциированного с заболеванием или состоянием. Неограничивающие типовые последовательности CAR представлены в любой из SEQ ID NO: 126-177.

[00372] В некоторых вариантах осуществления, последовательность кодируемого CAR может дополнительно включать сигнальную последовательность или сигнальный пептид, который направляет или доставляет CAR на поверхность клетки, в которой экспрессируется CAR. В некоторых вариантах осуществления, сигнальный пептид получают из трансмембранного белка. В некоторых примерах сигнальный пептид получают из CD8a, CD33 или IgG. Примеры сигнальных пептидов включают последовательности, представленные в SEQ ID NO: 21, 75 и 76, или их варианты.

[00373] В некоторых вариантах осуществления, такие конструкции CAR дополнительно включают элемент проскока рибосомы T2A и/или последовательность tEGFR, *например*, ниже CAR.

В. Клетки и подготовка клеток для генной инженерии

[00374] Среди клеток, экспрессирующих рецепторы и вводимых предложенными способами, есть сконструированные клетки. Генная инженерия обычно включает введение нуклеиновой кислоты, кодирующей рекомбинантный или сконструированный компонент, в композицию, содержащую клетки, например, путем ретровирусной трансдукции, трансфекции или трансформации.

[00375] В некоторых вариантах осуществления, нуклеиновые кислоты являются гетерологичными, *т.е.* обычно не присутствуют в клетке или образце, полученном из клетки, например, полученном из другого организма или клетки, который, например, обычно не обнаруживается в конструируемой клетке и/или в организме, из которого получена такая клетка. В некоторых вариантах осуществления, нуклеиновые кислоты представляют собой не встречающиеся в природе, такие как, нуклеиновая кислота, не найденная в природе, в том числе содержащая химерные комбинации нуклеиновых кислот, кодирующих различные домены из множества разных типов клеток.

[00376] Клетки обычно представляют собой эукариотические клетки, такие как клетки млекопитающих, и обычно представляют собой клетки человека. В некоторых вариантах осуществления, клетки, происходящие из крови, костного мозга, лимфы или лимфоидных органов, представляют собой клетки иммунной системы, такие как клетки врожденного или адаптивного иммунитета, *например*, миелоидные или лимфоидные клетки, включая лимфоциты, обычно Т клетки и/или NK-клетки. Другие типовые клетки включают стволовые клетки, такие как мультипотентные и плюрипотентные стволовые клетки, включая индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (iPSC). Клетки обычно представляют собой первичные клетки, такие как клетки, выделенные

непосредственно от субъекта и/или выделенные от субъекта и замороженные. В некоторых вариантах осуществления, клетки включают одно или несколько подмножеств Т-клеток или других типов клеток, таких как целые популяции Т-клеток, CD4⁺ клетки, CD8⁺ клетки и их субпопуляции, такие как те, которые определяются функцией, состоянием активации, зрелостью, потенциалом для способности к дифференциации, экспансии, рециркуляции, локализации и/или жизнестойкости, антигенной специфичности, типом антигенного рецептора, присутствием в конкретном органе или компартменте, маркерным или цитокиновым профилем секреции и/или степенью дифференциации. Что касается субъекта, подлежащего лечению, клетки могут быть аллогенными и/или аутологичными. К числу способов относятся готовые способы. В некоторых аспектах, таких как готовые технологии, клетки являются плюрипотентными и/или мультипотентными, например стволовые клетки, такие как индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (iPSC). В некоторых вариантах осуществления, способы включают выделение клеток у субъекта, их подготовку, обработку, культивирование и/или конструирование и повторное введение их тому же субъекту до или после криоконсервации.

[00377] Среди подтипов и субпопуляций Т-клеток и/или CD4⁺ и/или CD8⁺ Т-клеток есть наивные Т-клетки (T_N), эффекторные Т-клетки (T_{EFF}), Т-клетки памяти и их подтипы, такие как стволовые Т-клетки памяти (T_{SCM}), центральные Т-клетки памяти (T_{CM}), эффекторные Т-клетки памяти (T_{EM}) или терминально дифференцированные эффекторные Т-клетки памяти, опухоль-инфильтрирующие лимфоциты (TIL), незрелые Т-клетки, зрелые Т-клетки, хелперные Т-клетки, цитотоксические Т-клетки, мукозные инвариантные Т-клетки (MAIT), встречающиеся в природе и адаптивные регуляторные Т-клетки (Treg), хелперные Т-клетки, такие как клетки TH1, клетки TH2, клетки TH3, клетки TH17, клетки TH9, клетки TH22 клетки, фолликулярные хелперные Т-клетки, альфа/бета Т-клетки и дельта/гамма Т-клетки.

[00378] В некоторых вариантах осуществления, клетки представляют собой естественные киллеры (NK). В некоторых вариантах осуществления, клетки представляют собой моноциты или гранулоциты, *например*, миелоидные клетки, макрофаги, нейтрофилы, дендритные клетки, тучные клетки, эозинофилы и/или базофилы.

[00379] В некоторых вариантах осуществления, клетки включают одну или несколько нуклеиновых кислот, введенных с помощью генной инженерии, и, таким образом, экспрессируют рекомбинантные или генетически сконструированные продукты таких нуклеиновых кислот. В некоторых вариантах осуществления, нуклеиновые кислоты являются гетерологичными, *т.е.* обычно не присутствуют в клетке или образце, полученном из клетки, например, полученном из другого организма или клетки, который, например, обычно не обнаруживается в сконструированной клетке и/или организме, из которого получена такая клетка. В некоторых вариантах осуществления, нуклеиновые кислоты имеют неприродное происхождение, например, нуклеиновая кислота не встречается в природе, в том числе содержит химерные комбинации нуклеиновых кислот,

кодирующих различные домены из множества разных типов клеток.

[00380] В некоторых вариантах осуществления, подготовка сконструированных клеток включает одну или несколько стадий культивирования и/или получения. Клетки для введения нуклеиновой кислоты, кодирующей трансгенный рецептор, такой как CAR, могут быть выделены из образца, такого как биологический образец, *например*, полученный или производный от субъекта. В некоторых вариантах осуществления, субъект, от которого выделяют клетку, является субъектом, страдающим заболеванием или состоянием, или нуждающимся в клеточной терапии, или которому будет назначена клеточная терапия. Субъектом в некоторых вариантах осуществления, является человек, нуждающийся в конкретном терапевтическом вмешательстве, таком как адоптивная клеточная терапия, для которой клетки выделяют, обрабатывают и/или конструируют.

[00381] Соответственно, клетки в некоторых вариантах осуществления, являются первичными клетками, *например*, первичными клетками человека. Образцы включают образцы тканей, жидкости и другие образцы, взятые непосредственно у субъекта, а также образцы, полученные в результате одной или нескольких стадий обработки, таких как разделение, центрифугирование, генная инженерия (*например*, трансдукция вирусным вектором), промывание и/или инкубация. Биологический образец может быть образцом, полученным непосредственно из биологического источника, или образцом, прошедшим обработку. Биологические образцы включают, но не ограничены ими, жидкости организма, такие как кровь, плазма, сыворотка, спинномозговая жидкость, синовиальная жидкость, моча и пот, образцы тканей и органов, включая полученные из них обработанные образцы.

[00382] В некоторых аспектах, образец, из которого получают или выделяют клетки, представляет собой кровь или образец, полученный из крови, или представляет собой или получен из продукта афереза или лейкофереза. Примеры образцов включают цельную кровь, мононуклеарные клетки периферической крови (PBMC), лейкоциты, костный мозг, тимус, биопсию ткани, опухоль, лейкоз, лимфому, лимфатический узел, кишечную лимфоидную ткань, мукозальную лимфоидную ткань, селезенку, другие лимфоидные ткани, печень, легкое, желудок, кишечник, толстую кишку, почку, поджелудочную железу, молочную железу, кость, предстательную железу, шейку матки, яички, яичники, миндалину или другой орган и/или полученные из них клетки. Образцы включают, в контексте клеточной терапии, *например*, адоптивной клеточной терапии, образцы из аутологических и аллогенных источников.

[00383] В некоторых вариантах осуществления, клетки происходят из клеточных линий, *например*, Т-клеточных линий. Клетки, в некоторых вариантах осуществления, получены из ксеногенного источника, например, от мыши, крысы, примата, отличного от человека, и свиньи.

[00384] В некоторых вариантах осуществления, выделение клеток включает одну или несколько стадий подготовки и/или разделения клеток на не аффинной основе. В некоторых примерах, клетки промывают, центрифугируют и/или инкубируют в

присутствии одного или нескольких реагентов, например, для удаления нежелательных компонентов, обогащения желаемыми компонентами, лизиса или удаления клеток, чувствительных к определенным реагентам. В некоторых примерах, клетки разделяют на основе одного или нескольких свойств, таких как плотность, адгезионные свойства, размер, чувствительность и/или резистентность к определенным компонентам.

[00385] В некоторых примерах, клетки из циркулирующей крови субъекта получают, *например*, путем афереза или лейкоафереза. Образцы, в некоторых аспектах, содержат лимфоциты, включая Т-клетки, моноциты, гранулоциты, В-клетки, другие ядросодержащие лейкоциты, эритроциты и/или тромбоциты, и в некоторых аспектах, содержат клетки, отличные от эритроцитов и тромбоцитов.

[00386] В некоторых вариантах осуществления, клетки крови, собранные у субъекта, промывают, *например*, для удаления фракции плазмы и помещения клеток в соответствующий буфер или среду для последующих стадий обработки. В некоторых вариантах осуществления, клетки промывают фосфатно-солевым буфером (PBS). В некоторых вариантах осуществления, в промывочном растворе отсутствует кальций, и/или магний, и/или многие или все двухвалентные катионы. В некоторых аспектах, стадию промывки выполняют в полуавтоматической «проточной» центрифуге (например, процессоре клеток Cobe 2991, Baxter) в соответствии с инструкциями производителя. В некоторых аспектах, стадию промывки выполняют путем фильтрации в тангенциальном потоке (TFF) в соответствии с инструкциями производителя. В некоторых вариантах осуществления, после промывания клетки ресуспендируют в различных биосовместимых буферах, таких как, например, PBS, не содержащий $\text{Ca}^{++}/\text{Mg}^{++}$. В некоторых вариантах осуществления, компоненты образца клеток крови удаляют, и клетки непосредственно ресуспендируют в культуральной среде.

[00387] В некоторых вариантах осуществления, способы включают способы разделения клеток на основе плотности, такие как получение лейкоцитов из периферической крови путем лизиса эритроцитов и центрифугирования в градиенте Перколла или Фиколла.

[00388] В некоторых вариантах осуществления, способы выделения включают разделение различных типов клеток на основе экспрессии или присутствия в клетке одной или нескольких специфических молекул, таких как поверхностные маркеры, *например*, поверхностные белки, внутриклеточные маркеры или нуклеиновая кислота. В некоторых вариантах осуществления, можно использовать любой известный способ разделения на основе таких маркеров. В некоторых вариантах осуществления, разделение представляет собой разделение на основе аффинности или иммуноаффинности. Например, выделение в некоторых аспектах, включает разделение клеток и клеточных популяций на основе клеточной экспрессии или уровня экспрессии одного или нескольких маркеров, обычно маркеров клеточной поверхности, например, путем инкубации с антителом или партнером по связыванию, который специфически связывается с таким маркером, за которой обычно следуют стадии промывки и отделения клеток, связавшихся с антителом или партнером

по связыванию, от клеток, не связавшихся с антителом или партнером по связыванию.

[00389] Такие стадии разделения могут быть основаны на положительной селекции, при которой клетки, связавшиеся с реагентами, сохраняются для дальнейшего использования, и/или отрицательной селекции, при которой сохраняются клетки, не связавшиеся с антителом или партнером по связыванию. В некоторых примерах обе фракции сохраняются для дальнейшего использования. В некоторых аспектах, отрицательная селекция может быть особенно полезной, когда нет доступных антител, которые специфически идентифицируют тип клеток в гетерогенной популяции, так что разделение лучше всего проводить на основе маркеров, экспрессируемых клетками, отличными от желаемой популяции.

[00390] Разделение не обязательно должно приводить к 100% обогащению или удалению конкретной клеточной популяции или клеток, экспрессирующих конкретный маркер. Например, положительная селекция или обогащение клеток определенного типа, таких как клетки, экспрессирующие маркер, относится к увеличению количества или доли таких клеток, но не обязательно приводит к полному отсутствию клеток, не экспрессирующих маркер. Аналогичным образом, отрицательная селекция, удаление или истощение клеток определенного типа, таких как клетки, экспрессирующие маркер, относится к уменьшению количества или доли таких клеток, но не обязательно приводит к полному удалению всех таких клеток.

[00391] В некоторых примерах проводят несколько циклов стадий разделения, где положительно или отрицательно отобранная фракция с одной стадии подвергается другой стадии разделения, такой как последующая положительная или отрицательная селекция. В некоторых примерах, одна стадия разделения может истощать клетки, экспрессирующие несколько маркеров одновременно, например, путем инкубации клеток с множеством антител или партнеров по связыванию, каждое из которых специфично для маркера, предназначенного для отрицательной селекции. Аналогичным образом, несколько типов клеток могут быть одновременно положительно отобраны путем инкубации клеток с множеством антител или партнеров по связыванию, экспрессированных на различных типах клеток.

[00392] Например, в некоторых аспектах, конкретные субпопуляции Т-клеток, такие как клетки, положительные или экспрессирующие высокие уровни одного или нескольких поверхностных маркеров, *например*, CD28⁺, CD62L⁺, CCR7⁺, CD27⁺, CD127⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD45RA⁺ и/или CD45RO⁺ Т-клетки, выделяют методами положительной или отрицательной селекции.

[00393] Например, CD3⁺, CD28⁺ Т-клетки могут быть положительно отобраны с использованием анти-CD3/анти-CD28-конъюгированных магнитных микроносителей (*например*, DYNABEADS® M-450 CD3/CD28 T Cell Expander).

[00394] В некоторых вариантах осуществления, выделение осуществляется путем обогащения конкретной клеточной популяции путем положительной селекции или истощения конкретной клеточной популяции путем отрицательной селекции. В

некоторых вариантах осуществления, положительная или отрицательная селекция осуществляется путем инкубации клеток с одним или несколькими антителами или другим связывающим агентом, которые специфически связываются с одним или несколькими поверхностными маркерами, экспрессируемыми или экспрессируемыми (маркер⁺) на относительно более высоком уровне (маркер^{high}) на положительно или отрицательно селектированных клетках, соответственно.

[00395] В некоторых вариантах осуществления, Т-клетки выделяют из образца РВМС путем отрицательной селекции маркеров, экспрессированных на не Т-клетках, таких как В-клетки, моноциты или другие лейкоциты, такие как CD14. В некоторых аспектах, стадия селекции CD4⁺ или CD8⁺ используется для разделения CD4⁺ хелперных и CD8⁺ цитотоксических Т-клеток. Такие популяции CD4⁺ и CD8⁺ могут быть дополнительно отсортированы на субпопуляции с помощью положительной или отрицательной селекции по маркерам, экспрессируемым или экспрессируемым в относительно более высокой степени на одной или нескольких субпопуляциях наивных Т-клеток, клеток памяти и/или эффекторных Т-клеток.

[00396] В некоторых вариантах осуществления, CD8⁺ клетки дополнительно обогащены или истощены наивными, центральными памяти, эффекторными памяти и/или стволовыми клетками центральной памяти, например, путем положительной или отрицательной селекции на основе поверхностных антигенов, связанных с соответствующей субпопуляцией. В некоторых вариантах осуществления, обогащение центральными Т-клетками памяти (T_{CM}) проводят для повышения эффективности, например, для улучшения долговременной выживаемости, размножения и/или приживления трансплантата после введения, что, в некоторых аспектах, является особенно устойчивым в таких субпопуляциях. См. Terakura et al. (2012) Blood, 1:72-82; Wang et al. (2012) J Immunother. 35(9):689-701. В некоторых вариантах осуществления, сочетание T_{CM}-обогащенных CD8⁺ Т-клеток и CD4⁺ Т-клеток дополнительно повышает эффективность.

[00397] В вариантах осуществления, Т-клетки памяти присутствуют как в CD62L⁺, так и в CD62L⁻ подмножествах CD8⁺ лимфоцитов периферической крови. РВМС могут быть обогащены или обеднены фракциями CD62L⁻CD8⁺ и /или CD62L⁺CD8⁺, например, с использованием анти-CD8 и анти-CD62L антител.

[00398] В некоторых вариантах осуществления, обогащение центральными Т-клетками памяти (T_{CM}) основано на положительной или высокой поверхностной экспрессии CD45RO, CD62L, CCR7, CD28, CD3 и/или CD127; в некоторых аспектах, оно основано на отрицательной селекции клеток, экспрессирующих или высокоэкспрессирующих CD45RA и/или гранзим В. В некоторых аспектах, выделение популяции CD8⁺, обогащенной T_{CM} клетками, осуществляют путем истощения клеток, экспрессирующих CD4, CD14, CD45RA, и положительным отбором или обогащением клеток, экспрессирующих CD62L. В одном аспекте, обогащение центральными Т-клетками памяти (T_{CM}) проводят, начиная с отрицательной фракции клеток,

селектированных на основе экспрессии CD4, которую подвергают отрицательной селекции на основе экспрессии CD14 и CD45RA, и положительной селекции на основе на CD62L. Такие селекции, в некоторых аспектах, осуществляют одновременно, и в других аспектах, осуществляют последовательно в любом порядке. В некоторых аспектах, ту же стадию селекции на основе экспрессии CD4, используемую при получении популяции или субпопуляции CD8⁺ клеток, также используется для создания популяции или субпопуляции CD4⁺ клеток, так что как положительные, так и отрицательные фракции из разделения на основе CD4, сохраняются и используются на последующих стадиях способов, необязательно, после одной или нескольких дополнительных стадий положительной или отрицательной селекции.

[00399] В конкретном примере, образец PBMC или другого образца лейкоцитов подвергают селекции CD4⁺ клеток, при этом сохраняют как отрицательные, так и положительные фракции. Отрицательная фракция затем подвергается отрицательной селекции на основе экспрессии CD14 и CD45RA или CD19 и положительной селекции на основе маркера, характерного для Т-клеток центральной памяти, таких как CD62L или CCR7, где положительная и отрицательная селекция осуществляются в любом порядке.

[00400] CD4⁺ Т-хелперные клетки сортируются на наивные клетки, клетки центральной памяти и эффекторные клетки путем идентификации клеточных популяций, которые имеют антигены клеточной поверхности. CD4⁺ лимфоциты могут быть получены стандартными способами. В некоторых вариантах осуществления, наивные CD4⁺ Т-лимфоциты представляют собой CD45RO⁻, CD45RA⁺, CD62L⁺, CD4⁺ Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления, CD4⁺ клетки центральной памяти представляют собой CD62L⁺ и CD45RO⁺. В некоторых вариантах осуществления, эффекторные клетки CD4⁺ представляют собой CD62L⁻ и CD45RO⁻.

[00401] В одном примере, для обогащения CD4⁺ клеток путем отрицательной селекции, смесь моноклональных антител обычно включает антитела к CD14, CD20, CD11b, CD16, HLA-DR и CD8. В некоторых вариантах осуществления, антитело или партнер по связыванию связаны с твердой подложкой или матрицей, такой как магнитный микроноситель или парамагнитный микроноситель, чтобы обеспечить разделение клеток для положительной и/или отрицательной селекции. Например, в некоторых вариантах осуществления, клетки и клеточные популяции разделяют или выделяют с использованием методов иммуномагнитного (или аффинно-магнитного) разделения (рассмотрено в Methods in Molecular Medicine, vol. 58: Metastasis Research Protocols, Vol. 2: Cell Behavior In Vitro and In Vivo, p 17-25 Edited by: S. A. Brooks and U. Schumacher © Humana Press Inc., Totowa, NJ).

[00402] В некоторых аспектах, образец или композицию клеток, подлежащих отделению, инкубируют с небольшим, намагничиваемым или магниточувствительным материалом, таким как магниточувствительные частицы или микрочастицы, такие как парамагнитные микроносители (*например*, такие как микроносители Dynabeads или MACS). Магниточувствительный материал, *например* частица, обычно прямо или

косвенно присоединен к партнеру по связыванию, *например*, антителу, которое специфически связывается с молекулой, *например* поверхностным маркером, присутствующим на клетке, клетках или клеточной популяции, которые желателно разделить, *например*, которые желателно отрицательно или положительно селективировать.

[00403] В некоторых вариантах осуществления, магнитная частица или микроноситель содержат магниточувствительный материал, связанный со специфическим связывающим элементом, таким как антитело или другой партнер по связыванию. Существует много хорошо известных магниточувствительных материалов, используемых в способах магнитной сепарации. Подходящие магнитные частицы включают частицы, описанные в Molday, патент США № 4,452,773 и в описании европейского патента EP 452342 B, которые настоящим включены посредством ссылки. Частицы коллоидного размера, такие как описанные в Owen, патент США № 4,795,698, и Liberti et al., патент США № 5,200,084, являются другими примерами.

[00404] Инкубацию обычно проводят в условиях, при которых антитела или партнеры по связыванию, или молекулы, такие как вторичные антитела или другие реагенты, которые специфически связываются с такими антителами или партнерами по связыванию, которые присоединены к магнитной частице или микроносителю, специфически связываются с молекулами клеточной поверхности, если они присутствуют на клетках в образце.

[00405] В некоторых аспектах, образец помещают в магнитное поле, и те клетки, к которым присоединены магниточувствительные или намагничиваемые частицы, будут притягиваться к магниту и отделяться от не меченых клеток. При положительной селекции, сохраняются клетки, притянутые к магниту; при отрицательной селекции сохраняются клетки, которые не притянуты (не меченые клетки). В некоторых аспектах, комбинация положительной и отрицательной селекции выполняется на одной и той же стадии селекции, при этом положительные и отрицательные фракции сохраняются и подвергаются дальнейшей обработке или подвергаются дополнительным стадиям разделения.

[00406] В некоторых вариантах осуществления, магниточувствительные частицы покрыты первичными антителами или другими партнерами по связыванию, вторичными антителами, лектинами, ферментами или стрептавидином. В некоторых вариантах осуществления, магнитные частицы прикрепляются к клеткам посредством покрытия первичных антител, специфичных к одному или нескольким маркерам. В некоторых вариантах осуществления, клетки, а не микроносители, метят первичным антителом или партнером по связыванию, и затем добавляют магнитные частицы, покрытые специфичным для типа клеток вторичным антителом или другим партнером по связыванию (*например*, стрептавидином). В некоторых вариантах осуществления, магнитные частицы, покрытые стрептавидином, используются в сочетании с биотинилированными первичными или вторичными антителами.

[00407] В некоторых вариантах осуществления, магниточувствительные частицы

остаются прикрепленными к клеткам, которые впоследствии подлежат инкубации, культивированию и/или конструированию; в некоторых аспектах, частицы оставляют прикрепленными к клеткам для введения пациенту. В некоторых вариантах осуществления, из клеток удаляют намагничиваемые или магниточувствительные частицы. Способы удаления из клеток намагничиваемых частиц известны и включают, *например*, использование конкурирующих не меченых антител и намагничиваемых частиц или антител, конъюгированных с расщепляемыми линкерами. В некоторых вариантах осуществления, намагничиваемые частицы являются биоразлагаемыми.

[00408] В некоторых вариантах осуществления, селекция на основе аффинности осуществляется посредством активируемой магнитным полем сортировки клеток (MACS) (Miltenyi Biotec, Auburn, CA). Системы активируемой магнитным полем сортировки клеток (MACS) способны к высокочистой селекции клеток с прикрепленными к ним намагниченными частицами. В некоторых вариантах осуществления, MACS работает в режиме, при котором частицы-мишени и не мишени последовательно элюируются после приложения внешнего магнитного поля. То есть, клетки, прикрепленные к намагниченным частицам, удерживаются на месте, в то время как не прикрепленные частицы элюируются. Затем, после того как эта первая стадия элюирования завершена, вещества, которые были захвачены магнитным полем и которым не позволили элюироваться, высвобождаются каким-либо образом, чтобы их можно было элюировать и восстанавливать. В некоторых вариантах осуществления, клетки, не являющиеся мишенями, помечены и удалены из гетерогенной клеточной популяции.

[00409] В некоторых вариантах осуществления, выделение или разделение осуществляется с использованием системы, устройства или аппарата, который выполняет одну или несколько стадий выделения, подготовки клеток, разделения, обработки, инкубации, культивирования и/или составления способов. В некоторых аспектах, система используется для выполнения каждой из этих стадий в закрытой или стерильной среде, например, для сведения к минимуму ошибок, действий пользователя и/или загрязнения. В одном примере, система представляет собой систему, описанную в публикации международной патентной заявки № WO2009/072003, или US 20110003380 A1.

[00410] В некоторых вариантах осуществления, система или аппарат выполняет одну или несколько, *например* все, стадий выделения, обработки, конструирования и составления в интегрированной или автономной системе и/или автоматизированным или программируемым образом. В некоторых аспектах, система или аппарат включает компьютер и/или компьютерную программу, связанную с системой или аппаратом, что позволяет пользователю программировать, контролировать, оценивать результат и/или настраивать различные аспекты стадий обработки, выделения, конструирования и составления.

[00411] В некоторых аспектах, разделение и/или другие стадии осуществляют с использованием системы CliniMACS (Miltenyi Biotec), например, для автоматического разделения клеток на клиническом уровне в закрытой и стерильной системе. Компоненты

могут включать встроенный микрокомпьютер, блок магнитной сепарации, перистальтический насос и различные пережимные клапаны. Встроенный компьютер, в некоторых аспектах, управляет всеми компонентами инструмента и направляет систему на выполнение повторяющихся процедур в стандартизированной последовательности. Блок магнитной сепарации, в некоторых аспектах, включает в себя подвижный постоянный магнит и держатель для селекционной колонки. Перистальтический насос регулирует скорость потока по всему набору трубок и вместе с пережимными клапанами обеспечивает контролируемый поток буфера через систему и непрерывную суспензию клеток.

[00412] Система CliniMACS, в некоторых аспектах, использует намагничиваемые частицы, связанные с антителами, которые поставляются в стерильном, апиrogenном растворе. В некоторых вариантах осуществления, после мечения клеток магнитными частицами, клетки промывают для удаления избыточных частиц. Пакет для подготовки клеток затем соединяется с набором трубок, который, в свою очередь, соединяется с пакетом, содержащим буфер, и пакетом для сбора клеток. Набор трубок состоит из предварительно собранных стерильных трубок, включая предварительную колонку и разделительную колонку, и предназначен только для одноразового использования. После запуска программы разделения, система автоматически наносит образец клеток на разделительную колонку. Меченые клетки остаются в колонке, а не меченые удаляются с помощью серии промывок. В некоторых вариантах осуществления, клеточные популяции для использования в способах, описанных в настоящем документе, являются не мечеными и не сохраняются в колонке. В некоторых вариантах осуществления, клеточные популяции для использования с описанными в настоящем документе способами, являются мечеными и сохраняются в колонке. В некоторых вариантах осуществления, клеточные популяции для использования с описанными в настоящем документе способами элюируют из колонки после удаления магнитного поля и собирают в пакет для сбора клеток.

[00413] В некоторых вариантах осуществления, разделение и/или другие стадии осуществляют с использованием системы CliniMACS Prodigy (Miltenyi Biotec). Система CliniMACS Prodigy в некоторых аспектах, оснащена блоком обработки клеток, который позволяет автоматически промывать и фракционировать клетки центрифугированием. Система CliniMACS Prodigy также может включать встроенную камеру и программное обеспечение для распознавания изображений, которое определяет оптимальную конечную точку фракционирования клеток путем распознавания макроскопических слоев исходного клеточного продукта. Например, периферическая кровь автоматически разделяется на эритроциты, лейкоциты и слои плазмы. Система CliniMACS Prodigy может также включать встроенную камеру для культивирования клеток, которая выполняет протоколы культивирования клеток, такие как, *например*, дифференциация и размножение клеток, загрузка антигеном и длительное культивирование клеток. Входные порты могут обеспечить стерильное удаление и пополнение среды, и клетки можно контролировать с

помощью встроенного микроскопа. См., например, Klebanoff et al. J Immunother. 35(9): 651-660 (2012), Terakura et al. Blood.1:72-82 (2012) и Wang et al. J Immunother. 35(9):689-701 (2012).

[00414] В некоторых вариантах осуществления, популяцию клеток, описанную в настоящем документе, собирают и обогащают (или истощают) с помощью проточной цитометрии, при которой клетки, окрашенные на множественные маркеры клеточной поверхности, переносят в потоке жидкости. В некоторых вариантах осуществления, популяцию клеток, описанную в настоящем документе, собирают и обогащают (или истощают) посредством (FACS)-сортировки в препаративном масштабе. В некоторых вариантах осуществления, популяцию клеток, описанную в настоящем документе, собирают и обогащают (или истощают) с использованием чипов микроэлектромеханических систем (MEMS) в комбинации с системой обнаружения на основе FACS (см., например, WO 2010/033140, Cho et al. Lab Chip 10, 1567-1573 (2010); и Godin et al. J Biophoton. 1(5):355-376 (2008). В обоих случаях, клетки могут быть помечены множественными маркерами, что позволяет выделить хорошо определенных субпопуляций Т-клеток высокой чистоты.

[00415] В некоторых вариантах осуществления, антитела или партнеры по связыванию помечены одним или несколькими определяемыми маркерами для облегчения разделения для положительной и/или отрицательной селекции. Например, разделение может быть основано на связывании с флуоресцентно мечеными антителами. В некоторых примерах, разделение клеток на основе связывания антител или других партнеров по связыванию, специфичных для одного или нескольких маркеров клеточной поверхности, осуществляют в потоке жидкости, например, с помощью сортировки флуоресцентно-активированных клеток (FACS), включая препаративную шкалу (FACS) и /или чипы микроэлектромеханических систем (MEMS), например, в комбинации с проточной цитометрической системой обнаружения. Такие способы позволяют проводить положительную и отрицательную селекцию одновременно на основе нескольких маркеров.

[00416] В некоторых вариантах осуществления, способы получения включают стадии замораживания, например, криоконсервации клеток до или после выделения, инкубации и/или конструирования. В некоторых вариантах осуществления, стадия замораживания и последующего размораживания удаляет гранулоциты и, до некоторой степени, моноциты из клеточной популяции. В некоторых вариантах осуществления, клетки суспендируют в растворе для замораживания, например, после стадии промывания для удаления плазмы и тромбоцитов. В некоторых аспектах, можно использовать любой из множества известных растворов и параметров замораживания. Один пример включает использование PBS, содержащего 20% ДМСО и 8% альбумина сыворотки человека (HSA), или других подходящих сред для замораживания клеток. Затем его разводят средой 1:1, так что конечная концентрация ДМСО и HSA составляет 10% и 4%, соответственно. Затем клетки обычно замораживают до -80°C со скоростью 1°C в минуту и хранят в

паровой фазе резервуара для хранения жидкого азота.

[00417] В некоторых вариантах осуществления, клетки инкубируют и/или культивируют до или в связи с генной инженерией. Стадии инкубации могут включать культуру, культивирование, стимуляцию, активацию и/или размножение. Инкубацию и/или конструирование можно проводить в сосуде для культивирования, таком как блок, камера, лунка, колонка, пробирка, набор трубок, клапан, флакон, чашка для культивирования, пакет или другой контейнер для культуры или культивирования клеток. В некоторых вариантах осуществления, композиции или клетки инкубируют в присутствии стимулирующих условий или стимулирующего агента. Такие условия включают условия, предназначенные для индуцирования пролиферации, размножения, активации и/или выживания клеток в популяции, для имитации воздействия антигена и/или для подготовки клеток к генной инженерии, такой как введение рекомбинантного антигенного рецептора.

[00418] Условия могут включать одну или несколько конкретных сред, температуру, содержание кислорода, содержание диоксида углерода, время, агенты, *например*, питательные вещества, аминокислоты, антибиотики, ионы и/или стимулирующие факторы, такие как цитокины, хемокины, антигены, партнеры по связыванию, слитые белки, рекомбинантные растворимые рецепторы и любые другие агенты, предназначенные для активации клеток.

[00419] В некоторых вариантах осуществления, стимулирующие условия или агенты включают один или несколько агентов, например, лиганд, который способен активировать или стимулировать внутриклеточный сигнальный домен комплекса TCR. В некоторых аспектах, агент включает или инициирует внутриклеточный сигнальный каскад TCR/CD3 в Т-клетке. Такие агенты могут включать антитела, такие как антитела, специфичные для TCR, например, анти-CD3. В некоторых вариантах осуществления, стимулирующие условия включают один или несколько агентов, например, лиганд, который способен стимулировать костимулирующий рецептор, например, анти-CD28. В некоторых вариантах осуществления, такие агенты и/или лиганды могут быть связаны с твердой подложкой, такой как микроноситель, и/или с одним или несколькими цитокинами. Необязательно, способ размножения может дополнительно включать стадию добавления анти-CD3 и/или анти-CD28 антитела в культуральную среду (например, в концентрации, по меньшей мере, примерно 0,5 нг/мл). В некоторых вариантах осуществления, стимулирующие агенты включают IL-2, IL-15 и/или IL-7. В некоторых аспектах, концентрация IL-2 составляет, по меньшей мере, примерно 10 единиц/мл.

[00420] В некоторых аспектах, инкубацию проводят в соответствии с методами, такими как описаны в патенте США № 6,040,177 Riddell et al., Klebanoff et al. J Immunother. 35(9): 651-660 (2012), Terakura et al. Blood.1:72-82 (2012) и/или Wang et al. J Immunother. 35(9):689-701 (2012).

[00421] В некоторых вариантах осуществления, Т-клетки размножаются путем добавления к иницирующей культивирование композиции питающих клеток, таких как

неделяющиеся моноклеарные клетки периферической крови (РВМС), (*например*, так, чтобы полученная популяция клеток содержала, по меньшей мере, примерно 5, 10, 20 или 40 или больше питающих клеток РВМС на каждый Т-лимфоцит в входной популяции, подлежащей размножению); и инкубации культуры (*например*, в течение времени, достаточного для увеличения числа Т-клеток). В некоторых аспектах, неделяющиеся питающие клетки могут содержать питающие клетки РВМС, облученные гамма-лучами. В некоторых вариантах осуществления, РВМС облучают гамма-лучами в диапазоне примерно от 3000 до 3600 рад для предотвращения деления клеток. В некоторых аспектах, питающие клетки добавляют в культуральную среду перед добавлением популяций Т-клеток.

[00422] В некоторых вариантах осуществления, стимулирующие условия включают температуру, подходящую для роста Т-лимфоцитов человека, например, по меньшей мере, примерно 25 градусов Цельсия, обычно, по меньшей мере, примерно 30 градусов Цельсия и обычно, точно или примерно 37 градусов Цельсия. Необязательно, инкубация может дополнительно включать добавление неделяющихся EBV-трансформированных лимфобластоидных клеток (LCL) в качестве питающих клеток. LCL можно облучать гамма-лучами в диапазоне примерно от 6000 до 10000 рад. Питающие клетки LCL, в некоторых аспектах, представлены в любом подходящем количестве, таком как отношение питающих клеток LCL к исходным Т-лимфоцитам, по меньшей мере, примерно 10:1.

[00423] В вариантах осуществления, антигенспецифические Т-клетки, такие как антигенспецифические CD4⁺ и/или CD8⁺ Т-клетки, получают стимулированием наивных или антигенспецифических Т-лимфоцитов антигеном. Например, антигенспецифические Т-клеточные линии или клоны могут быть созданы для антигенов цитомегаловируса путем выделения Т-клеток от инфицированных субъектов и стимулирования *клеток in vitro* тем же антигеном.

С. Нуклеиновые кислоты, векторы и способы генной инженерии

[00424] В некоторых вариантах осуществления, клетки, например, Т-клетки, генетически сконструированы для экспрессии рекомбинантного рецептора. В некоторых вариантах осуществления, конструирование осуществляют путем введения полинуклеотидов, кодирующих рекомбинантный рецептор. Также предложены полинуклеотиды, кодирующие рекомбинантный рецептор, и векторы или конструкции, содержащие такие нуклеиновые кислоты и/или полинуклеотиды.

[00425] В некоторых случаях, последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая рекомбинантный рецептор, содержит сигнальную последовательность, кодирующую сигнальный пептид. В некоторых аспектах, сигнальная последовательность может кодировать сигнальный пептид, полученный из нативного полипептида. В других аспектах, сигнальная последовательность может кодировать гетерологичный или не нативный сигнальный пептид. В некоторых вариантах осуществления, сигнальный пептид получают из трансмембранного белка. В некоторых примерах, сигнальный пептид

получают из CD8a, CD33 или IgG. Неограничивающие типовые примеры сигнальных пептидов включают, например, сигнальный пептид CD33, представленный в SEQ ID NO: 21, сигнальный пептид CD8a, представленный в SEQ ID NO: 75, или сигнальный пептид, представленный в SEQ ID NO: 76, или его модифицированный вариант.

[00426] В некоторых вариантах осуществления, молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая рекомбинантный рецептор, содержит, по меньшей мере, один промотор, функционально связанный с контролем экспрессии рекомбинантного рецептора. В некоторых примерах, молекула нуклеиновой кислоты содержит два, три или несколько промоторов, функционально связанных с контролем экспрессии рекомбинантного рецептора. В некоторых вариантах осуществления, молекула нуклеиновой кислоты может содержать регуляторные последовательности, такие как кодоны инициации и терминации транскрипции и трансляции, которые являются специфическими для типа хозяина (например, бактерия, грибок, растение или животное), в которые должна быть введена молекула нуклеиновой кислоты, соответствующим образом и с учетом того, основана ли молекула нуклеиновой кислоты на ДНК или РНК. В некоторых вариантах осуществления, молекула нуклеиновой кислоты может содержать регуляторные/контрольные элементы, такие как промотор, энхансер, интрон, сигнал полиаденилирования, консенсусную последовательность Козака и акцептор или донор сплайсинга. В некоторых вариантах осуществления, молекула нуклеиновой кислоты может содержать не нативный промотор, функционально связанный с нуклеотидной последовательностью, кодирующей рекомбинантный рецептор, и/или один или несколько дополнительных полипептидов. В некоторых вариантах осуществления, промотор выбран из промотора РНК pol I, pol II или pol III. В некоторых вариантах осуществления, промотор распознается РНК полимеразой II (например, CMV, ранней областью SV40 или главным поздним промотором аденовируса). В другом варианте осуществления промотор распознается РНК полимеразой III (например, промотор U6 или H1). В некоторых вариантах осуществления, промотор может представлять собой невирусный промотор или вирусный промотор, такой как промотор цитомегаловируса (CMV), промотор SV40, промотор RSV и промотор, присутствующий в длинноконцевом повторе вируса стволовой клетки мыши. Также рассматриваются другие известные промоторы.

[00427] В некоторых вариантах осуществления, промотор представляет собой или включает конститутивный промотор. Примеры конститутивных промоторов включают, например, ранний промотор вируса 40 обезьян (SV40), немедленно-ранний промотор цитомегаловируса (CMV), промотор убиквитина С человека (UBC), промотор фактора элонгации 1 α человека (EF1 α), промотор фосфоглицераткиназы 1 мыши (PGK) и промотор β -актина курицы в сочетании с ранним энхансером CMV (CAGG). В некоторых вариантах осуществления, конститутивный промотор представляет собой синтетический или модифицированный промотор. В некоторых вариантах осуществления, промотор представляет собой или содержит промотор MND, синтетический промотор, который содержит область U3 модифицированного LTR MoMuLV с энхансером вируса

миелопролиферативной саркомы (см. Challita et al. (1995) J. Virol. 69(2):748-755). В некоторых вариантах осуществления, промотор представляет собой тканеспецифический промотор. В другом варианте осуществления, промотор представляет собой вирусный промотор. В другом варианте осуществления, промотор представляет собой не вирусный промотор.

[00428] В другом варианте осуществления, промотор представляет собой регулируемый промотор (например, индуцируемый промотор). В некоторых вариантах осуществления, промотор представляет собой индуцируемый промотор или репрессируемый промотор. В некоторых вариантах осуществления, промотор содержит последовательность оператора Lac, последовательность оператора тетрациклина, последовательность оператора галактозы или последовательность оператора доксициклина, или является их аналогом, или способен связываться или распознаваться репрессором Lac или репрессором тетрациклина, или его аналогом. В некоторых вариантах осуществления, молекула нуклеиновой кислоты не включает регуляторный элемент, например промотор.

[00429] В некоторых вариантах осуществления, молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая рекомбинантный рецептор, например, CAR или другой антигенный рецептор, дополнительно включает последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующие маркер, и/или клетки, экспрессирующие CAR или другой антигенный рецептор, дополнительно включает маркер, например, суррогатный маркер, такой как маркер клеточной поверхности, который можно использовать для подтверждения трансдукции или конструирования клетки для экспрессии рецептора, такого как усеченная версия рецептора клеточной поверхности, такая как усеченный EGFR (tEGFR). В некоторых вариантах осуществления, один или несколько маркеров представляют собой маркер трансдукции, суррогатный маркер и/или маркер селекции.

[00430] В некоторых вариантах осуществления, маркер представляет собой маркер трансдукции или суррогатный маркер. Маркер трансдукции или суррогатный маркер можно использовать для обнаружения клеток, в которые была введена молекула нуклеиновой кислоты, например молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая рекомбинантный рецептор. В некоторых вариантах осуществления, маркер трансдукции может указывать или подтверждать модификацию клетки. В некоторых вариантах осуществления, суррогатный маркер представляет собой белок, который предназначен для совместной экспрессии на клеточной поверхности с рекомбинантным рецептором, например, CAR. В конкретных вариантах осуществления, такой суррогатный маркер представляет собой поверхностный белок, который был модифицирован таким образом, что он обладает незначительной активностью или вообще не имеет активности. В некоторых вариантах осуществления, суррогатный маркер кодируется на той же молекуле нуклеиновой кислоты, которая кодирует рекомбинантный рецептор. В некоторых вариантах осуществления, последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая рекомбинантный рецептор, функционально связана с последовательностью нуклеиновой

кислоты, кодирующей маркер, необязательно разделенный внутренним сайтом посадки рибосомы (IRES), или нуклеиновой кислотой, кодирующей саморасщепляющийся пептид или пептид, который вызывает пропуск рибосомы, такой как последовательность 2A, такая как T2A, P2A, E2A или F2A. Внешние маркерные гены могут в некоторых случаях использоваться в связи со сконструированными клетками, чтобы обеспечить обнаружение или отбор клеток, а в некоторых случаях также способствовать самоубийству клеток.

[00431] Примеры суррогатных маркеров могут включать усеченные формы полипептидов клеточной поверхности, такие как усеченные формы, которые являются не функциональными и не трансдуцируют или не способны трансдуцировать сигнал или сигнал, обычно трансдуцируемый полноразмерной формой полипептида клеточной поверхности, и/или не могут или не способны к интернализации. Примеры усеченных полипептидов клеточной поверхности, включая усеченные формы факторов роста или других рецепторов, таких как усеченный рецептор 2 эпидермального фактора роста человека (tHER2), усеченный рецептор эпидермального фактора роста (tEGFR, типовая последовательность tEGFR представлена в SEQ ID NO:11 или 76) или простат-специфический мембранный антиген (PSMA) или его модифицированную форму. tEGFR может содержать эпитоп, распознаваемый антителом цетуксимабом (Erbitux®) или другим терапевтическим анти-EGFR антителом или связывающей молекулой, которые можно использовать для идентификации или селекции клеток, сконструированных с конструкцией tEGFR и кодируемым экзогенным белком, и/или для элиминации или разделения клеток, экспрессирующих кодируемый экзогенный белок. См. патент США № 8,802,374 и Liu et al., Nature Biotech. 2016 April; 34(4): 430-434). В некоторых аспектах, маркер, *например*, суррогатный маркер, включает весь или часть (*например*, усеченную форму) CD34, NGFR, CD19 или усеченный CD19, *например*, усеченный CD19 нечеловеческого происхождения, или рецептор эпидермального фактора роста (*например*, tEGFR). В некоторых вариантах осуществления, маркер представляет собой или содержит флуоресцентный белок, такой как зеленый флуоресцентный белок (GFP), усиленный зеленый флуоресцентный белок (EGFP), такой как суперсложенный GFP (sfGFP), красный флуоресцентный белок (RFP), такой как tdTomato, mCherry, mStrawberry, AsRed2, DsRed или DsRed2, голубой флуоресцентный белок (CFP), сине-зеленый флуоресцентный белок (BFP), усиленный синий флуоресцентный белок (EBFP) и желтый флуоресцентный белок (YFP) и их варианты, включая видовые варианты, мономерные варианты и кодон-оптимизированные и/или улучшенные варианты флуоресцентных белков. В некоторых вариантах осуществления, маркер представляет собой или содержит фермент, такой как люцифераза, ген lacZ из E. coli, щелочная фосфатаза, секретируемая эмбриональная щелочная фосфатаза (SEAP), хлорамфеникол-ацетилтрансфераза (CAT). Примеры светоизлучающих репортерных генов включают люциферазу (luc), β-галактозидазу, хлорамфеникол-ацетилтрансферазу (CAT), β-глюкуронидазу (GUS) или их варианты.

[00432] В некоторых вариантах осуществления, маркер представляет собой маркер селекции. В некоторых вариантах осуществления, маркер селекции представляет собой

или содержит полипептид, придающий резистентность к экзогенным агентам или лекарственным средствам. В некоторых вариантах осуществления, маркер селекции представляет собой ген резистентности к антибиотикам. В некоторых вариантах осуществления, маркер селекции представляет собой ген резистентности к антибиотикам, придающий резистентность к антибиотикам клетке млекопитающего. В некоторых вариантах осуществления, маркер селекции представляет собой или содержит ген резистентности к пуромицину, ген резистентности к гигромицину, ген резистентности к бластицидину, ген резистентности к неомицину, ген резистентности к генетицину или ген резистентности к зеоцину или их модифицированную форму.

[00433] В некоторых аспектах маркер, *например* суррогатный маркер, включает весь или часть (*например*, усеченную форму) CD34, рецептор NGFR или эпидермального фактора роста (*например*, tEGFR). В некоторых вариантах осуществления, нуклеиновая кислота, кодирующая маркер, функционально связана с полинуклеотидом, кодирующим линкерную последовательность, такую как расщепляемая линкерная последовательность, *например*, T2A. Например, маркер и, необязательно, линкерная последовательность могут быть любыми, как описано в РСТ Pub. № WO2014031687. Например, маркер может представлять собой укороченный EGFR (tEGFR), который необязательно связан с линкерной последовательностью, такой как расщепляемая T2A линкерная последовательность. Типовой полипептид для усеченного EGFR (*например*, tEGFR) содержит последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO: 7 или 28, или последовательность аминокислот, которая демонстрирует, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности с SEQ ID NO: 7 или 28. Пример последовательности линкера T2A содержит последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO: 6, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности с SEQ ID NO: 6.

[00434] В некоторых вариантах осуществления, молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие такие конструкции CAR, дополнительно включают последовательность, кодирующую элемент проскока рибосомы T2A, и/или последовательность tEGFR, *например*, ниже последовательности, кодирующей CAR. В некоторых вариантах осуществления, последовательность кодирует элемент проскока рибосомы T2A, представленный в SEQ ID NO: 6, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности с SEQ ID NO: 6. В некоторых вариантах осуществления, Т-клетки, экспрессирующие антигенный рецептор (*например*, CAR) также могут быть созданы для экспрессии усеченного EGFR (EGFRt) в качестве не иммуногенного селективного эпитопа (*например*, путем введения конструкции, кодирующей CAR и EGFRt, разделенных рибосомным переключателем T2A, для экспрессии двух белков из одной и той же конструкции), который затем можно

использовать в качестве маркера для обнаружения таких клеток (см., *например*, патент США № 8,802,374). В некоторых вариантах осуществления, последовательность кодирует последовательность tEGFR, представленную в SEQ ID NO: 7 или 28, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности с SEQ ID NO: 7 или 28.

[00435] В некоторых вариантах осуществления, один промотор может управлять экспрессией РНК, которая содержит, в одной открытой рамке считывания (ORF) два или три гена (*например*, кодирующие молекулу, участвующую в модулировании метаболического пути, и кодирующую рекомбинантный рецептор), отделенные друг от друга последовательностями, кодирующими саморасщепляющийся пептид (*например*, последовательности 2A) или сайт узнавания протеазы (*например*, фурин). Таким образом, ORF кодирует один полипептид, который либо во время (в случае 2A), либо после трансляции процессируется в отдельные белки. В некоторых случаях, пептид, такой как T2A, может вызывать проскок рибосомы (проскок рибосомы) синтеза пептидной связи на С-конце элемента 2A, что приводит к разделению между концом последовательности 2A и нижеследующим пептидом (см., *например*, de Felipe. Genetic Vaccines and Ther. 2:13 (2004) и deFelipe et al. Traffic 5:616-626 (2004)). Многие элементы 2A известны в данной области техники. Примеры последовательностей 2A, которые можно использовать в описанных в настоящем документе способах и нуклеиновых кислотах, без ограничения, последовательности 2A из вируса ящура (F2A, *например*, SEQ ID NO: 27), вируса ринита лошадей А (E2A, *например*, SEQ ID NO: 26), вируса асигна (T2A, *например*, SEQ ID NO: 6 или 23) и тешовируса-1 свиней (P2A, *например*, SEQ ID NO: 24 или 25), как описано в публикации патента США. № 20070116690.

[00436] В некоторых вариантах осуществления, маркер представляет собой молекулу, *например*, белок клеточной поверхности, не встречающийся в природе на Т-клетках или не встречающийся в природе на поверхности Т-клеток, или его часть. В некоторых вариантах осуществления, молекула представляет собой чужеродную молекулу, *например* чужеродный белок, т.е. такой, который не распознается как «собственный» иммунной системой хозяина, в которую клетки будут адоптивно перенесены.

[00437] В некоторых вариантах осуществления, маркер не выполняет терапевтической функции и/или не оказывает никакого действия, кроме использования в качестве маркера для генной инженерии, *например*, для селекции успешно сконструированных клеток. В других вариантах осуществления, маркер может представлять собой терапевтическую молекулу или молекулу, иным образом оказывающую некоторый желаемый эффект, *например*, лиганд для клетки, с которой приходится сталкиваться *in vivo*, такую как костимулирующая молекула или молекула иммунной контрольной точки для усиления и/или ослабления ответов клеток при адоптивном переносе и встрече с лигандом.

[00438] Введение молекул нуклеиновой кислоты, кодирующих рекомбинантный рецептор, в клетку может осуществляться с использованием любого из ряда известных векторов. Такие векторы включают вирусные и невирусные системы, в том числе лентивирусные и гаммаретровирусные системы, а также системы на основе транспозонов, такие как системы переноса генов на основе PiggyBac или Sleeping Beauty. Типовые способы включают способы переноса нуклеиновых кислот, кодирующих рецепторы, в том числе с помощью вирусов, *например*, ретровирусов или лентивирусов, трансдукции, транспозонов и электропорации.

[00439] В некоторых вариантах осуществления, перенос гена осуществляется путем первой стимуляции клетки, например, путем объединения ее со стимулом, вызывающим ответ, такой как пролиферация, выживание и/или активация, например, измеряемый по экспрессии цитокина или маркера активации, с последующей трансдукцией активированных клеток и размножением в культуре до количества, достаточного для клинического применения.

[00440] В некоторых вариантах осуществления, до или во время переноса гена клетки инкубируют или культивируют в присутствии иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В, включая любое из описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, добавляют в процессе производства клеток, например, в процессе конструирования CAR-T-клеток. В некоторых аспектах, присутствие иммуномодулирующего соединения может улучшить качество продуцируемой популяции клеток. В некоторых аспектах, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, может усиливать пролиферацию или размножение клеток или может изменять один или несколько сигнальных путей, тем самым приводя к образованию клеток с менее дифференцированным или менее активированным поверхностным фенотипом, несмотря на то, что они демонстрируют существенную функцию размножения и/или эффекторную функцию.

[00441] В некоторых случаях, сверхэкспрессия стимулирующего фактора (например, лимфокина или цитокина) может быть токсичной для субъекта. Таким образом, в некоторых случаях, сконструированные клетки включают генные сегменты, которые делают клетки восприимчивыми к отрицательной селекции *in vivo*, например, при введении в рамках адоптивной иммунотерапии. Например, в некоторых аспектах, клетки сконструированы таким образом, чтобы их можно было исключать в результате изменения состояния *in vivo* пациента, которому их вводят. Отрицательный селективный фенотип может быть результатом вставки гена, который придает чувствительность к вводимому агенту, например, соединению. Отрицательные селективные гены включают ген тимидинкиназы вируса простого герпеса I типа (HSV-I TK) (Wigler et al., Cell 2:223, 1977), который придает чувствительность к ганцикловиру; клеточный ген гипоксантинфосфорибозилтрансферазы (HPRT), клеточный ген аденинфосфорибозилтрансферазы (APRT), бактериальную цитозиндезаминазу (Mullen et

al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 89:33 (1992)).

[00442] В некоторых вариантах осуществления, рекомбинантные нуклеиновые кислоты переносят в клетки с использованием рекомбинантных инфекционных вирусных частиц, таких как, например, векторы, полученные из вируса 40 обезьян (SV40), аденовирусов, аденоассоциированного вируса (AAV). В некоторых вариантах осуществления, рекомбинантные нуклеиновые кислоты переносят в Т-клетки с использованием рекомбинантных лентивирусных векторов или ретровирусных векторов, таких как гамма-ретровирусные векторы (см., например, Koste et al. (2014) *Gene Therapy*, 2014 Apr 3. doi: 10.1038/gt.2014.25; Carlens et al. (2000) *Exp. Hematol.*, 28(10): 1137-46; Alonso-Camino et al. (2013) *Mol. Ther. Nucl. Acids.*, 2, e93; Park et al., *Trends Biotechnol.*, 2011 November 29(11): 550-557.

[00443] В некоторых вариантах осуществления, ретровирусный вектор имеет длинную терминальную повторяющуюся последовательность (LTR), например, ретровирусный вектор, полученный из вируса лейкоза Молони мыши (MoMLV), вируса миелопролиферативной саркомы (MPSV), вируса эмбриональных стволовых клеток мыши (MESV), вируса стволовых клеток мыши (MSCV), вируса некроза селезенки (SFFV) или аденоассоциированного вируса (AAV). Большинство ретровирусных векторов происходят от ретровирусов мыши. В некоторых вариантах осуществления, ретровирусы включают вирусы, происходящие из любого источника клеток птиц или млекопитающих. Ретровирусы обычно амфотропны, что означает, что они способны инфицировать клетки-хозяева нескольких видов, включая человека. В одном варианте осуществления, экспрессируемый ген заменяет ретровирусные последовательности gag, pol и/или env. Был описан ряд иллюстративных ретровирусных систем (например, патенты США №№ 5,219,740; 6,207,453; 5,219,740; Miller and Rosman (1989) *BioTechniques* 7:980-990; Miller, A. D. (1990) *Human Gene Therapy* 1:5-14; Scarpa et al. (1991) *Virology* 180:849-852; Burns et al. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:8033-8037; и Boris-Lawrie and Temin (1993) *Cur. Opin. Genet. Develop.* 3:102-109.

[00444] Известны способы лентивирусной трансдукции. Типовые способы описаны, например, в Wang et al. (2012) *J. Immunother.* 35(9): 689-701; Cooper et al. (2003) *Blood*. 101:1637-1644; Verhoeven et al. (2009) *Methods Mol Biol.* 506: 97-114; и Cavalieri et al. (2003) *Blood*. 102(2): 497-505.

[00445] В некоторых вариантах осуществления, рекомбинантные нуклеиновые кислоты переносят в Т-клетки посредством электропорации (см., например, Chicaubam et al, (2013) *PLoS ONE* 8(3): e60298 и Van Tedeloo et al. (2000) *Gene Therapy* 7(16): 1431-1437). В некоторых вариантах осуществления, рекомбинантные нуклеиновые кислоты переносят в Т-клетки посредством транспозиции (см., например, Manuri et al. (2010) *Hum Gene Ther* 21(4): 427-437; Sharma et al. (2013) *Molec Ther Nucl Acids* 2, e74; и Huang et al. (2009) *Methods Mol Biol* 506: 115-126). Другие способы введения и экспрессии генетического материала в иммунных клетках включают трансфекцию фосфатом кальция (например, как описано в *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, New

York, NY), слияние протопластов, опосредованную катионными липосомами трансфекцию; бомбардировку микрочастицами с помощью частиц вольфрама (Johnston, Nature, 346: 776-777 (1990)); и соосаждение ДНК с фосфатом стронция (Brash et al., Mol. Cell Biol., 7: 2031-2034 (1987)).

[00446] Другие подходы и векторы для переноса нуклеиновых кислот, кодирующих рекомбинантные продукты, описаны, *например*, в публикации международной патентной заявки № WO2014055668 и патенте США № 7,446,190.

[00447] В некоторых вариантах осуществления, клетки, например, Т-клетки, могут быть трансфицированы либо во время, либо после размножения, например, Т-клеточным рецептором (TCR) или химерным антигенным рецептором (CAR). Эту трансфекцию для введения гена желаемого рецептора можно осуществить с помощью любого подходящего ретровирусного вектора, например. Генетически модифицированная клеточная популяция затем может быть освобождена от начального стимула (например, анти-CD3/анти-CD28 стимула) и впоследствии стимулирована вторым типом стимула, *например*, через введенный *de novo* рецептор). Этот второй тип стимула может включать антигенный стимул в форме пептида/молекулы МНС, родственного (перекрестно-сшивающего) лиганда генетически введенного рецептора (*например*, природного лиганда CAR) или любого лиганда (такого как антитело), который непосредственно связывается в рамках нового рецептора (*например*, путем распознавания константных областей внутри рецептора). См., например, Cheadle et al, "Chimeric antigen receptors for T-cell based therapy" Methods Mol Biol. 2012; 907:645-66 или Barrett et al., Chimeric Antigen Receptor Therapy for Cancer Annual Review of Medicine Vol. 65: 333-347 (2014).

[00448] В некоторых случаях, можно использовать вектор, который не требует активации клеток, *например*, Т-клеток. В некоторых таких случаях, клетки можно отбирать и/или трансдуцировать до активации. Таким образом, клетки могут быть сконструированы до или после культивирования клеток, и в некоторых случаях, одновременно или во время, по меньшей мере, части культивирования.

[00449] В некоторых аспектах, клетки дополнительно сконструированы для стимуляции экспрессии цитокинов или других факторов. Среди дополнительных нуклеиновых кислот, например, гены для введения представляют собой гены для повышения эффективности терапии, например, путем стимулирования жизнеспособности и/или функции перенесенных клеток; гены для обеспечения генетического маркера для отбора и/или оценки клеток, например, для оценки выживаемости или локализации *in vivo*; гены для повышения безопасности, например, делая клетку восприимчивой к отрицательной селекции *in vivo*, как описано Lupton S.D. et al., Mol. and Cell Biol., 11:6 (1991); и Riddell et al., Human Gene Therapy 3:319-338 (1992); см. также публикации PCT/US91/08442 и PCT/US94/05601 Lupton et al. описывающее использование бифункциональных селективируемых слитых генов, полученных путем слияния доминантного положительного селективируемого маркера с негативным селективируемым маркером. См., например, Riddell et al., патент США № 6,040,177, столбцы 14-17.

III. ТИПОВЫЕ ИСХОДЫ ЛЕЧЕНИЯ И СПОСОБЫ ИХ ОЦЕНКИ

[00450] В некоторых вариантах осуществления способов, композиций, комбинаций, наборов и применений, представленных в настоящем документе, предложенная комбинированная терапия приводит к одному или нескольким исходам лечения, таким как особенность, связанная с любым одним или несколькими параметрами, связанными с терапией или лечением, как описано ниже. В некоторых вариантах осуществления, способ включает оценку воздействия, жизнестойкости и пролиферации Т-клеток, *например*, Т-клеток, вводимых для терапии на основе Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления, воздействие или пролонгированное размножение и/или жизнестойкость клеток, и/или изменения фенотипов клеток или функциональной активности клеток, *например*, клеток, вводимых для иммунотерапии, *например* Т-клеточной терапии, в способах, представленных в настоящем документе, можно измерить путем оценки характеристик Т-клеток *in vitro* или *ex vivo*. В некоторых вариантах осуществления, такие анализы можно использовать для определения или подтверждения функции Т-клеток, *например*, Т-клеточной терапии, до или после введения комбинированной терапии, предложенной в настоящем документе.

[00451] В некоторых вариантах осуществления, комбинированная терапия может дополнительно включать одну или несколько стадий скрининга для идентификации субъектов для лечения комбинированной терапией и/или продолжения комбинированной терапии, и/или стадию оценки исходов лечения и/или мониторинга исходов лечения. В некоторых вариантах осуществления, стадия оценки исходов лечения может включать стадии оценки и/или мониторинга лечения и/или идентификации субъектов для проведения дальнейших или оставшихся стадий терапии и/или повторной терапии. В некоторых вариантах осуществления, стадию скрининга и/или оценку исходов лечения можно использовать для определения дозы, частоты, продолжительности, времени и/или порядка комбинированной терапии, предложенной в настоящем документе.

[00452] В некоторых вариантах осуществления, любую из стадий скрининга и/или оценки исходов лечения, описанных в настоящем документе, можно использовать до, во время, в ходе или после проведения одной или нескольких стадий предлагаемой комбинированной терапии, *например*, введения Т-клеточной терапии (*например*, CAR-экспрессирующих Т-клеток) и/или иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В. В некоторых вариантах осуществления, оценку проводят до, во время, в ходе или после выполнения любого из способов, предложенных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления, оценку проводят до выполнения способов, предложенных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления, оценку проводят после выполнения одной или нескольких стадий способов, предложенных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления, оценку проводят до введения одной или нескольких стадий предложенной комбинированной терапии, *например*, для скрининга и идентификации пациентов, подходящих и/или восприимчивых для получения комбинированной терапии. В

некоторых вариантах осуществления, оценку проводят во время, в ходе или после введения одной или нескольких стадий предложенной комбинированной терапии, например, для оценки промежуточного или конечного исхода лечения, *например*, для определения эффективности лечения и/или определения того, следует ли продолжать или повторить лечение, и/или определения того, следует ли проводить оставшиеся стадии комбинированной терапии.

[00453] В некоторых вариантах осуществления, лечение исходов включает улучшение иммунной функции, *например*, иммунной функции Т-клеток, вводимых для клеточной терапии, и/или эндогенных Т-клеток в организме. В некоторых вариантах осуществления, типовые исходы лечения включают, но не ограничены ими, усиленную пролиферацию Т-клеток, усиленную функциональную активность Т-клеток, изменения в экспрессии фенотипического маркера иммунных клеток, такие как признаки, связанные со сконструированными Т-клетками, например, CAR-Т клетками, введенными субъекту. В некоторых вариантах осуществления, типовые исходы лечения включают снижение бремени заболевания, *например* бремени опухоли, улучшение клинических исходов и/или повышение эффективности терапии.

[00454] В некоторых вариантах осуществления, стадия скрининга и/или оценка исходов лечения включает оценку выживаемости и/или функции Т-клеток, вводимых для клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, стадия скрининга и/или оценка исходов лечения включает оценку уровней цитокинов или факторов роста. В некоторых вариантах осуществления, стадия скрининга и/или оценка исходов лечения включает оценку бремени заболевания и/или улучшений, *например*, оценку бремени опухоли и/или клинических исходов. В некоторых вариантах осуществления, любая из стадий скрининга и/или оценки исходов лечения может включать любой из способов оценки и/или анализов, описанных в настоящем документе и/или известных в данной области техники, и может выполняться один или несколько раз, *например*, до, во время, в ходе или после введения одной или нескольких стадий комбинированной терапии. Типовые наборы параметров, связанных с исходом лечения, которые можно оценить в некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, включают профиль популяции иммунных клеток периферической крови и/или опухолевую нагрузку.

[00455] В некоторых вариантах осуществления, способы влияют на эффективность клеточной терапии у субъекта. В некоторых вариантах осуществления, жизнестойкость, размножение и/или присутствие экспрессирующих рекомбинантный рецептор, *например*, CAR-экспрессирующих клеток, у субъекта после введения дозы клеток в способе с иммуномодулирующим соединением выше по сравнению с достигнутой способом без введения иммуномодулирующего соединения. В некоторых вариантах осуществления способов иммунотерапии, представленных в настоящем документе, таких как Т-клеточная терапия (*например*, CAR-экспрессирующие Т-клетки), оценка параметра включает оценку размножения и/или жизнестойкости у субъекта Т-клеток, вводимых для иммунотерапии,

например, Т-клеточной терапии, по сравнению со способом, в котором иммунотерапию проводят субъекту в отсутствие иммуномодулирующего соединения. В некоторых вариантах осуществления, способы приводят к тому, что введенные Т-клетки демонстрируют повышенное или пролонгированное размножение и/или жизнестойкость у субъекта по сравнению со способом, в котором Т-клеточную терапию вводят субъекту в отсутствие иммуномодулирующего соединения.

[00456] В некоторых вариантах осуществления, введение иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В, снижает бремя заболевания, *например* бремя опухоли, у субъекта по сравнению со способом, при котором субъекту вводят дозу клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор, в отсутствие иммуномодулирующего соединения. В некоторых вариантах осуществления, введение иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В, снижает бластный костный мозг у субъекта по сравнению со способом, в котором дозу клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор, вводят субъекту в отсутствие иммуномодулирующего соединения. В некоторых вариантах осуществления, введение иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В, приводит к улучшению клинических исходов, *например*, частоты объективных ответов (ORR), выживаемости без прогрессирования (PFS) и общей выживаемости (OS), по сравнению со способом, при котором дозу клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор, вводят субъекту в отсутствие иммуномодулирующего соединения.

[00457] В некоторых вариантах осуществления, субъект может быть подвергнут скринингу до проведения одной или нескольких стадий комбинированной терапии. Например, субъект может быть подвергнут скринингу на характеристики заболевания и/или тяжести заболевания, *например*, опухолевой массы, перед введением комбинированной терапии, чтобы определить пригодность, отвечаемость и/или восприимчивость к назначению комбинированной терапии. В некоторых вариантах осуществления, стадию скрининга и/или оценку результатов лечения можно использовать для определения дозы, частоты, продолжительности, времени и/или порядка комбинированной терапии, предусмотренной в настоящем документе.

[00458] В некоторых вариантах осуществления, субъект может быть подвергнут скринингу после введения одной из стадий комбинированной терапии, чтобы определить и идентифицировать субъектов, которые будут получать оставшиеся стадии комбинированной терапии, и/или контролировать эффективность терапии. В некоторых вариантах осуществления, число, уровень или количество введенных Т-клеток и/или пролиферацию и/или активность введенных Т-клеток оценивают до введения и/или после введения иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В.

[00459] В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят до тех пор, пока концентрация или количество сконструированных клеток в крови субъекта не составит (i) по меньшей мере, точно или примерно 10 сконструированных клеток на микролитр, (ii) по

меньшей мере, 20%, 30%, 40% или 50% от общего количества моноклеарных клеток периферической крови (РВМС), (iii) по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно 1×10^5 сконструированных клеток; или (iv) по меньшей мере, 5000 копий рекомбинантной ДНК, кодирующей рецептор, на микрограммы ДНК; и/или на 90 день после начала введения в (а), CAR-экспрессирующие клетки обнаруживаются в крови или сыворотке субъекта; и/или на 90 день после начала введения в (а), кровь субъекта содержит, по меньшей мере, 20% CAR-экспрессирующих клеток, по меньшей мере, 10 CAR-экспрессирующих клеток на микролитр или, по меньшей мере, 1×10^4 CAR-экспрессирующих клеток.

[00460] В некоторых вариантах осуществления, иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, вводят до тех пор, пока не будет достигнута клиническая польза от лечения, такая как, по меньшей мере, или более чем 50% уменьшение общего объема опухоли или полный ответ (CR), при котором обнаруживаемая опухоль исчезла, выживаемость без прогрессирования или выживаемость без болезни в течение более 6 месяцев или более 1 года или более.

[00461] В некоторых вариантах осуществления, изменение и/или изменение, *например* увеличение, повышение, снижение или уменьшение уровней, значений или измерений параметра или исхода по сравнению с уровнями, значениями или измерениями того же параметра или исхода в другой момент времени оценки, в другом состоянии, в контрольной точке и/или у другого субъекта. Например, в некоторых вариантах осуществления, может быть определена кратность изменения, *например* увеличения или уменьшения, конкретных параметров, например количества сконструированных Т-клеток в образце, по сравнению с тем же параметром в другом состоянии, например, до или после введения иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В. В некоторых вариантах осуществления, определяют уровни, значения или измерения двух или нескольких параметров и сравнивают относительные уровни. В некоторых вариантах осуществления, определенные уровни, значения или измерения параметров сравнивают с уровнями, значениями или измерениями контрольного образца или необработанного образца. В некоторых вариантах осуществления, определенные уровни, значения или измерения параметров сравнивают с уровнями из образца того же субъекта, но в другой момент времени. Значения, полученные при количественном определении индивидуальных параметров, можно комбинировать с целью оценки заболевания, *например*, путем формирования арифметической или логической операции на уровнях, значениях или измерениях параметров с помощью многопараметрического анализа. В некоторых вариантах осуществления, можно рассчитать соотношение двух или нескольких конкретных параметров.

А. Воздействие, жизнестойкость и пролиферация Т-клеток

[00462] В некоторых вариантах осуществления, параметр, связанный с терапией или исходом лечения, который включает в себя параметры, которые могут быть оценены для стадий скрининга и/или оценки исходов лечения и/или мониторинга исходов лечения,

представляет собой или включает оценку воздействия, жизнестойкости и пролиферации Т-клеток, *например*, Т-клеток, вводимых для Т-клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, повышенное воздействие или пролонгированное размножение и/или жизнестойкость клеток, и/или изменения фенотипов клеток или функциональной активности клеток, *например*, клеток, вводимых для иммунотерапии, *например* Т-клеточной терапии, в способах, предложенных в настоящем документе, можно измерить путем оценки характеристик Т-клеток *in vitro* или *ex vivo*. В некоторых вариантах осуществления, такие анализы можно использовать для определения или подтверждения функции Т-клеток, используемых для иммунотерапии, *например*, Т-клеточной терапии, до или после введения одной или нескольких стадий комбинированной терапии, предложенной в настоящем документе.

[00463] В некоторых вариантах осуществления, введение иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В, предназначено для стимуляции воздействия на субъекта клеток, *например*, Т-клеток, вводимых для Т-клеточной терапии, например, путем стимуляции их размножения и/или жизнестойкости в течение времени. В некоторых вариантах осуществления, Т-клеточная терапия демонстрирует повышенное или пролонгированное размножение и/или жизнестойкость у субъекта по сравнению со способом, в котором Т-клеточную терапию проводят субъекту в отсутствие иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В.

[00464] В некоторых вариантах осуществления, предложенные способы увеличивают воздействие на субъекта вводимых клеток (*например*, увеличение количества клеток или продолжительности с течением времени) и/или улучшают эффективность и терапевтические исходы иммунотерапии, *например* Т-клеточной терапии. В некоторых аспектах, способы выгодны тем, что более высокая и/или более длительная степень воздействия на клетки, экспрессирующие рекомбинантные рецепторы, *например* клетки, экспрессирующие CAR, улучшают исходы лечения по сравнению с другими способами. Такие исходы могут включать в себя выживаемость пациентов и ремиссию, даже у лиц с тяжелым опухолевым бременем.

[00465] В некоторых вариантах осуществления, введение иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В, может увеличивать максимальное, общее и/или продолжительность воздействия клеток, *например* Т-клеток, вводимых для Т-клеточной терапии, у субъекта, по сравнению с введением только Т-клеток в отсутствие иммуномодулирующего соединения. В некоторых аспектах введение иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В, в контексте высокого бремени заболевания (и, следовательно, более высоких количеств антигена) и/или более агрессивного или резистентного рака повышает эффективность по сравнению с введением только Т-клеток в отсутствие иммуномодулирующего соединения в том же контексте, что может привести к иммунодепрессии, апатии и/или истощению, что может предотвратить рост и/или жизнестойкость клеток.

[00466] В некоторых вариантах осуществления, определяют наличие и/или

количество клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор (*например*, CAR-экспрессирующих клеток, вводимых для Т-клеточной терапии), у субъекта после введения Т-клеток и до, во время и/или после введения иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В. В некоторых аспектах, количественную ПЦР (кПЦР) используют для оценки количества клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор (*например*, CAR-экспрессирующих клеток, вводимых для Т-клеточной терапии) в образце крови или сыворотки, или органа, или ткани (*например*, в очаге заболевания, *например*, в образце опухоли) субъекта. В некоторых аспектах, жизнестойкость количественно определяется как количество копий ДНК или плазмиды, кодирующей рецептор, *например*, CAR, на микрограмм ДНК, или как количество клеток, экспрессирующих рецептор, *например*, CAR-экспрессирующих, на микролитр образца, *например*, крови или сыворотки, или на общее количество мононуклеарных клеток периферической крови (РВМС), или лейкоцитов, или Т-клеток на микролитр образца.

[00467] В некоторых вариантах осуществления, клетки обнаруживаются у субъекта через или, по меньшей мере, через 4, 14, 15, 27 или 28 дней после введения Т-клеток, *например*, CAR-экспрессирующих Т-клеток. В некоторых аспектах, клетки обнаруживают через или, по меньшей мере, через 2, 4 или 6 недель после, или через 3, 6, или 12, 18, или 24, или 30, или 36 месяцев, или через 1, 2, 3, 4, 5 или более лет после введения Т-клеток, *например*, CAR-экспрессирующих Т-клеток, и/или иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В.

[00468] В некоторых вариантах осуществления, жизнестойкость экспрессирующих рецептор клеток (*например*, CAR-экспрессирующих клеток) у субъекта с помощью способов, после введения Т-клеток, *например*, CAR-экспрессирующих Т-клеток и/или иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В, больше по сравнению с тем, что было бы достигнуто альтернативными способами, такими как те, которые включают введение только иммунотерапии, *например*, введение Т-клеток, *например*, CAR-экспрессирующих Т-клеток, в отсутствие иммуномодулирующего соединения.

[00469] Воздействие, *например*, количество клеток, *например*, Т-клеток, вводимых для Т-клеточной терапии, указывающее на размножение и/или жизнестойкость, выражается в максимальном количестве клеток, которым обрабатывается субъект, продолжительности обнаружения клеток или количестве клеток выше определенного числа или доли, площади под кривой с течением времени и/или их комбинации, и их показателях. Такие исходы могут быть оценены с использованием известных способов, таких как кПЦР для определения количества копий нуклеиновой кислоты, кодирующей рекомбинантный рецептор, по сравнению с общим количеством нуклеиновой кислоты или ДНК в конкретном образце, *например* крови, сыворотке, плазме или ткани, таком как образец опухоли, и/или анализы проточной цитометрии, обнаруживающие клетки, экспрессирующие рецептор, как правило, с использованием антител, специфичных к рецепторам. Клеточные анализы также можно использовать для определения количества

или доли функциональных клеток, таких как клетки, способные связываться и/или нейтрализовать, и/или индуцировать ответы, *например*, цитотоксические ответы, против клеток заболевания или состояния или экспрессирующих антиген, распознаваемый рецептором.

[00470] В некоторых аспектах, повышенное воздействие клеток на субъекта включает повышенное размножение клеток. В некоторых вариантах осуществления, рецептор-экспрессирующие клетки, *например*, CAR-экспрессирующие клетки, увеличиваются в организме субъекта после введения Т-клеток, *например*, CAR-экспрессирующих Т-клеток, и/или после введения иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В. В некоторых аспектах, способы приводят к большему размножению клеток по сравнению с другими способами, такими как способы, включающие введение Т-клеток, *например*, CAR-экспрессирующих Т-клеток, в отсутствие введения иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А. или соединения В.

[00471] В некоторых аспектах, способ приводит к высокой пролиферации введенных клеток *in vivo*, например, по данным проточной цитометрии. В некоторых аспектах, обнаруживают высокие пиковые доли клеток. Например, в некоторых вариантах осуществления, на пике или максимальном уровне после введения Т-клеток, *например*, CAR-экспрессирующих Т-клеток, и/или иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В, в крови или в очаге заболевания субъекта или его фракции лейкоцитов, *например*, фракции РВМС или фракции Т-клеток, по меньшей мере, примерно 10%, по меньшей мере, примерно 20%, по меньшей мере, примерно 30%, по меньшей мере, примерно 40%, по меньшей мере, примерно 50%, по меньшей мере, примерно 60%, по меньшей мере, примерно 70%, по меньшей мере, примерно 80% или, по меньшей мере, примерно 90% клеток экспрессируют рекомбинантный рецептор, *например*, CAR.

[00472] В некоторых вариантах осуществления, способ приводит к максимальной концентрации в крови, или сыворотке, или другой жидкости организма, или органе, или ткани субъекта, по меньшей мере, 100, 500, 1000, 1500, 2000, 5000, 10000 или 15000 копий нуклеиновой кислоты, кодирующей рецептор, *например*, CAR, на микрограмм ДНК или, по меньшей мере, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8 или 0,9 клеток, экспрессирующих рецептор, *например*, CAR, на общее количество моноклеарных клеток периферической крови (РВМС), общее количество моноклеарных клеток, общее количество Т-клеток или общее количество микролитров. В некоторых вариантах осуществления, клетки, экспрессирующие рецептор, обнаруживаются в количестве, по меньшей мере, 10, 20, 30, 40, 50 или 60% от общего количества РВМС в крови субъекта и/или на таком уровне в течение, по меньшей мере, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 36, 48 или 52 недель после Т-клеток, *например*, CAR-экспрессирующих Т-клеток, и/или иммуномодулирующего соединения, *например*, Соединение А или Соединение В, или в течение 1, 2, 3, 4 или 5 или более лет после такого введения.

[00473] В некоторых аспектах, способ приводит к, по меньшей мере, 2-кратному, по меньшей мере, 4-кратному, по меньшей мере, 10-кратному или, по меньшей мере, 20-кратному увеличению копий нуклеиновой кислоты, кодирующей рекомбинантный рецептор, *например*, CAR, на микрограмм ДНК, *например*, в сыворотке, плазме, крови или ткани, *например*, образце опухоли, субъекта.

[00474] В некоторых вариантах осуществления, клетки, экспрессирующие рецептор, обнаруживаются в сыворотке, плазме, крови или ткани, *например*, образце опухоли, субъекта, *например*, с помощью определенного способа, такого как кПЦР или способа обнаружения на основе проточной цитометрии, по меньшей мере, через 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59 или 60 или более дней после введения Т-клеток, *например*, CAR-экспрессирующих Т-клеток, или после введения иммуномодулирующего соединения, *например* соединения А или соединения В, в течение, по меньшей мере, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 или 24 или более недель после введения Т-клеток, *например*, CAR-экспрессирующих Т-клеток, и/или иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В.

[00475] В некоторых аспектах, по меньшей мере, примерно 1×10^2 , по меньшей мере, примерно 1×10^3 , по меньшей мере, примерно 1×10^4 , по меньшей мере, примерно 1×10^5 или, по меньшей мере, примерно 1×10^6 или, по меньшей мере, примерно 5×10^6 или, по меньшей мере, примерно 1×10^7 или, по меньшей мере, примерно 5×10^7 или, по меньшей мере, примерно 1×10^8 экспрессирующих рекомбинантный рецептор, *например*, CAR-экспрессирующих, клеток, и/или, по меньшей мере, 10, 25, 50, 100, 200, 300, 400, или 500, или 1000 экспрессирующих рецептор клеток на микролитр, *например*, по меньшей мере, 10 на микролитр, обнаруживаются или присутствуют в субъекте или жидкости, плазме, сыворотке, ткани или их компартментах, таких как в крови, *например*, в периферической крови, или в очаге заболевания, *например*, в опухоли. В некоторых вариантах осуществления, такое количество или концентрация клеток обнаруживаются у субъекта в течение, по меньшей мере, примерно 20 дней, по меньшей мере, примерно 40 дней, или, по меньшей мере, примерно 60 дней, или, по меньшей мере, примерно 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 месяцев или, по меньшей мере, 2 или 3 года после введения Т-клеток, *например*, CAR-экспрессирующих Т-клеток, и/или после введения иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В. Такие количества клеток могут быть обнаружены способами на основе проточной цитометрии или количественной ПЦР и экстраполированы на общее количество клеток с использованием известных способов. См., *например*, Brentjens et al., Sci Transl Med. 2013 5(177), Park et al, Molecular Therapy 15(4):825-833 (2007), Savoldo et al., JCI 121(5):1822-1826 (2011), Davila et al., (2013) PLoS ONE 8(4):e61338, Davila et al., Oncoimmunology 1(9):1577-1583 (2012), Lamers, Blood 2011 117:72-82, Jensen et al., Biol Blood Marrow Transplant 2010 September; 16(9): 1245-1256, Brentjens et al., Blood 2011 118(18):4817-4828.

[00476] В некоторых аспектах, количество копий нуклеиновой кислоты,

кодирующей рекомбинантный рецептор, *например*, количество копий вектора, на 100 клеток, например, в периферической крови или костном мозге или другом компартменте, измеренное с помощью иммуногистохимии, ПЦР и/или проточной цитометрии, составляет, по меньшей мере, 0,01, по меньшей мере, 0,1, по меньшей мере, 1 или, по меньшей мере, 10, в течение, по меньшей мере, 1 недели, по меньшей мере, 2 недель, по меньшей мере, 3 недель, по меньшей мере, 4 недель, по меньшей мере, 5 недель, по меньшей мере, 6 недель, по меньшей мере, примерно, через 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 месяцев или, по меньшей мере, через 2 или 3 года после введения клеток, *например*, CAR-экспрессирующих Т-клеток, и/или иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В. В некоторых вариантах осуществления, количество копий вектора, экспрессирующего рецептор, *например*, CAR, на микрограмм геномной ДНК составляет, по меньшей мере, 100, по меньшей мере, 1000, по меньшей мере, 5000 или, по меньшей мере, 10000, или, по меньшей мере, 15000, или, по меньшей мере, 20000 в течение примерно 1 недели, примерно 2 недель, примерно 3 недель или, по меньшей мере, примерно 4 недель после введения Т-клеток, *например*, CAR-экспрессирующих Т-клеток, или иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В, или, по меньшей мере, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 месяцев или, по меньшей мере, 2 или 3 лет после такого введения.

[00477] В некоторых аспектах, рецептор, *например* CAR, экспрессируемый клетками, обнаруживается с помощью количественной ПЦР (кПЦР) или с помощью проточной цитометрии у субъекта, в плазме, сыворотке, крови, ткани и/или участке заболевания, *например*, в участке опухоли, в течение, по меньшей мере, примерно 3 месяцев, по меньшей мере, примерно 6 месяцев, по меньшей мере, примерно 12 месяцев, по меньшей мере, примерно 1 года, по меньшей мере, примерно 2 лет, по меньшей мере, примерно 3 лет или более 3 лет после введения клеток, *например*, после начала введения Т-клеток, *например*, CAR-экспрессирующих Т-клеток, и/или иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В.

[00478] В некоторых вариантах осуществления, площадь под кривой (AUC) для концентрации экспрессирующих рецептор (*например*, CAR) клеток в жидкости, плазме, сыворотке, крови, ткани, органе и/или в месте заболевания, *например* в месте опухоли, у субъекта с течением времени после введения Т-клеток, *например*, CAR-экспрессирующих Т-клеток, и/или иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В, выше по сравнению с достигнутым с помощью альтернативной схемы дозирования, когда субъекту вводят Т-клетки, *например*, CAR-экспрессирующие Т-клетки, в отсутствие введения иммуномодулирующего соединения.

[00479] В некоторых аспектах, способ приводит к высокой пролиферации введенных клеток *in vivo*, например, по данным проточной цитометрии. В некоторых аспектах, обнаруживают высокие пиковые доли клеток. Например, в некоторых вариантах осуществления, при пиковом или максимальном уровне после Т-клеток, *например*, CAR-экспрессирующих Т-клеток и/или иммуномодулирующего соединения, *например*,

соединения А или соединения В, в крови, плазме, сыворотке, ткани или большом участке тела субъекта или его фракции лейкоцитов, *например*, фракции РВМС или фракции Т-клеток, по меньшей мере, примерно 10%, по меньшей мере, примерно 20%, по меньшей мере, примерно 30%, по меньшей мере, примерно 40%, по меньшей мере, примерно 50%, по меньшей мере, примерно 60%, по меньшей мере, примерно 70%, по меньшей мере, примерно 80% или, по меньшей мере, примерно 90% клеток экспрессируют рекомбинантный рецептор, *например*, CAR.

[00480] В некоторых аспектах повышенное или пролонгированное размножение и/или жизнестойкость дозы клеток у субъекта, которому вводят иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, связано с улучшением исходов, связанных с опухолью, у субъекта. В некоторых вариантах осуществления, исход, связанный с опухолью, включает уменьшение опухолевой массы или уменьшение бластного костного мозга у субъекта. В некоторых вариантах осуществления, опухолевая масса снижается, по меньшей мере, примерно на 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 или 100 процентов после применения способа. В некоторых вариантах осуществления, бремя болезни, размер опухоли, объем опухоли, масса опухоли и/или нагрузка или объем опухоли снижаются после введения дозы клеток, по меньшей мере, на 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или примерно или более по сравнению с субъектом, которого лечили способом, который не включает введение иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В.

В. Функциональная активность Т-клеток

[00481] В некоторых вариантах осуществления, параметры, связанные с терапией или исходом лечения, которые включают в себя параметры, которые могут быть оценены для стадий скрининга и/или оценки результатов лечения и/или мониторинга результатов лечения, включают один или несколько из активности, фенотипа, пролиферации или функции Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления, можно использовать любой из известных в данной области анализов для оценки активности, фенотипов, пролиферации и/или функции Т-клеток, *например*, Т-клеток, вводимых для Т-клеточной терапии. До и/или после введения клеток и/или иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В, в некоторых вариантах осуществления, измеряют биологическую активность сконструированных клеточных популяций, *например*, любым из ряда известных способов. Параметры для оценки включают специфическое связывание сконструированной или природной Т-клетки или другой иммунной клетки с антигеном *in vivo*, *например*, с помощью визуализации, или *ex vivo*, *например*, с помощью ELISA или проточной цитометрии. В некоторых вариантах осуществления, способность сконструированных клеток разрушать клетки-мишени может быть измерена с использованием любого подходящего способа, известного в данной области техники, такого как анализы цитотоксичности, описанные, например, в Kochenderfer et al., J. Immunotherapy, 32(7): 689-702 (2009), and Herman et al., J. Immunological Methods, 285(1): 25-40 (2004).

[00482] В некоторых вариантах осуществления, Т-клетки, такие как экспрессирующие рекомбинантный рецептор (например, CAR) Т-клетки, можно оценивать до и/или после введения клеток и/или иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В, для оценки или определения того, демонстрируют ли Т-клетки признаки истощения. В некоторых случаях, истощение можно оценить путем наблюдения за потерей функции Т-клеток, такой как снижение или уменьшение антигенспецифической или управляемой антигенным рецептором активности, например, снижение или уменьшение способности продуцировать цитокины или стимулировать цитолитическую активность против антигена-мишени. В некоторых случаях, истощение также можно оценить путем мониторинга экспрессии поверхностных маркеров на Т-клетках (например, CD4 и/или CD4 Т-клетках), которые связаны с фенотипом истощения. Маркерами истощения являются ингибиторные рецепторы, такие как PD-1, CTLA-4, LAG-3 и TIM-3.

[00483] В некоторых вариантах осуществления, такая сниженная или пониженная активность наблюдается с течением времени после введения субъекту и/или после длительного воздействия антигена.

[00484] В конкретных вариантах осуществления, предложены способы (i) осуществления указанного увеличения антигенспецифической или управляемой антигенным рецептором активности и (ii) профилактики, ингибирования или задержки указанного начала фенотипа истощения и/или обращения указанного фенотипа истощения. В некоторых вариантах осуществления, количество, продолжительность и/или частота являются эффективными (i) для осуществления указанного увеличения антигенспецифической активности или активности, управляемой антигенным рецептором, и (ii) для профилактики, ингибирования или задержки указанного начала фенотипа истощения. В других вариантах осуществления, количество, продолжительность и/или частота эффективны (i) для осуществления указанного увеличения антигенспецифической активности или активности, управляемой антигенным рецептором, и (ii) для профилактики, ингибирования или задержки указанного начала фенотипа истощения и для обращения указанного фенотип истощения.

[00485] Где фенотип истощения по отношению к Т-клетке или популяции Т-клеток включает: увеличение уровня или степени поверхностной экспрессии на Т-клетке или Т-клетках или доли Т в указанной популяции Т-клеток, демонстрирующих поверхностную экспрессию одного или нескольких маркеров истощения, необязательно, 2, 3, 4, 5 или 6 маркеров истощения, по сравнению с эталонной популяцией Т-клеток в тех же условиях; или снижение уровня или степени активности, демонстрируемой указанными Т-клетками или популяцией Т-клеток при воздействии на антиген или агент, специфичный к антигенному рецептору, по сравнению с эталонной популяцией Т-клеток, в тех же условиях; увеличение уровня или степени поверхностной экспрессии на Т-клетке или Т-клетках, или доли Т указанной популяции Т-клеток, демонстрирующих поверхностную экспрессию, одного или нескольких маркеров истощения, необязательно 2, 3, 4, 5 или 6

маркеров истощения, по сравнению с эталонной популяцией Т-клеток в тех же условиях; или снижение уровня или степени активности, демонстрируемой указанными Т-клетками или популяцией Т-клеток при воздействии на антиген или агент, специфичный к антигенному рецептору, по сравнению с эталонной популяцией Т-клеток в тех же условиях.

[00486] В некоторых вариантах осуществления, биологическую активность клеток измеряют путем анализа экспрессии и/или секреции одного или нескольких цитокинов, таких как CD107a, IFN γ , IL-2, GM-CSF и TNF α , и/или путем оценки цитолитической активности.

[00487] В некоторых вариантах осуществления, анализы активности, фенотипов, пролиферации и/или функции Т-клеток, *например*, Т-клеток, вводимых для Т-клеточной терапии, включают, но не ограничены ими, ELISPOT, ELISA, клеточную пролиферацию, анализ цитотоксических лимфоцитов (CTL), связывание с Т-клеточным эпитопом, антигеном или лигандом или окрашивание внутриклеточных цитокинов, анализы пролиферации, анализы секреции лимфокинов, анализы прямой цитотоксичности и анализы предельных разведений. В некоторых вариантах осуществления, пролиферативные ответы Т-клеток можно измерить, *например*, путем включения ^3H -тимидина, BrdU (5-бром-2'-дезоксинуридина) или 2'-дезоксидезокси-5-этилинуридина (EdU) в их ДНК или анализы разведения красителя с использованием таких красителей, как сукцинимидиловый эфир карбоксифлуоресцеина (CFSE), CellTrace Violet или мембранный краситель PKH26.

[00488] В некоторых вариантах осуществления, оценка активности, фенотипов, пролиферации и/или функции Т-клеток, *например*, Т-клеток, вводимых для Т-клеточной терапии, включает измерение продуцирования цитокинов Т-клетками и/или измерение продуцирования цитокинов в биологическом образце из субъекта, *например*, образцы плазмы, сыворотки, крови и/или ткани, *например*, образцы опухоли. В некоторых случаях такие измеряемые цитокины могут включать, без ограничения, интерлейкин-2 (IL-2), интерферон-гамма (IFN γ), интерлейкин-4 (IL-4), TNF-альфа (TNF α), интерлейкин-6 (IL-6), интерлейкин-10 (IL-10), интерлейкин-12 (IL-12), гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), CD107a и/или TGF-бета (TGF β). Анализы для измерения цитокинов хорошо известны в данной области техники и включают, но не ограничены ими, ELISA, внутриклеточное окрашивание цитокинов, набор цитометрических гранул, RT-PCR, ELISPOT, проточную цитометрию и биологические анализы, в которых клетки, отвечающие на соответствующий цитокин, тестируют на реакционную способность (*например*, пролиферацию) в присутствии тестируемого образца.

[00489] В некоторых вариантах осуществления, оценка активности, фенотипов, пролиферации и/или функции Т-клеток, *например*, Т-клеток, вводимых для Т-клеточной терапии, включает оценку клеточных фенотипов, *например*, экспрессии конкретных маркеров клеточной поверхности. В некоторых вариантах осуществления, Т-клетки,

например Т-клетки, вводимые для Т-клеточной терапии, оценивают на предмет экспрессии маркеров активации Т-клеток, маркеров истощения Т-клеток и/или маркеров дифференциации Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления, фенотип клеток оценивают перед введением. В некоторых вариантах осуществления, фенотип клеток оценивают после введения. Маркеры активации Т-клеток, маркеры истощения Т-клеток и/или маркеры дифференциации Т-клеток для оценки включают любые маркеры, известные в данной области техники для конкретных подмножеств Т-клеток, *например*, CD25, CD38, лейкоцитарный антиген человека-DR (HLA-DR), CD69, CD44, CD137, KLRG1, CD62L^{low}, CCR7^{low}, CD71, CD2, CD54, CD58, CD244, CD160, белок 1 запрограммированной гибели клеток (PD-1), белок 3 гена активации лимфоцитов (LAG-3), домен Т-клеточного иммуноглобулина и домен белка 3 муцина (TIM-3), цитотоксический Т-лимфоцитарный антиген-4 (CTLA-4), В-лимфоцитарный и Т-лимфоцитарный аттенуатор (BTLA) и/или домен Т-клеточного иммуноглобулина и ингибирующего мотива на основе иммунорецепторного тирозина (TIGIT) (см., *например*, Liu et al., Cell Death and Disease (2015) 6, e1792). В некоторых вариантах осуществления, маркер истощения представляет собой любой один или несколько из PD-1, CTLA-4, TIM-3, LAG-3, BTLA, 2B4, CD160, CD39, VISTA и TIGIT. В некоторых вариантах осуществления, оцениваемый маркер клеточной поверхности представляет собой CD25, PD-1 и/или TIM-3. В некоторых вариантах осуществления, оцениваемый маркер клеточной поверхности представляет собой CD25.

[00490] В некоторых аспектах, определение уровней экспрессии включает проведение анализа *in vitro*. В некоторых вариантах осуществления, анализ *in vitro* представляет собой иммуноанализ, анализ на основе аптамера, гистологический или цитологический анализ или анализ уровня экспрессии мРНК. В некоторых вариантах осуществления, параметр или параметры для одного или нескольких из каждого из одного или нескольких факторов, эффекторов, ферментов и/или поверхностных маркеров выявляют с помощью твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA), иммуноблоттинга, иммунопреципитации, радиоиммуноанализа (RIA), иммуноокрашивания, проточной цитометрии, поверхностного плазмонного резонанса (SPR), хемилюминесцентного анализа, иммуноанализа латерального потока, анализа ингибирования или анализа avidности. В некоторых вариантах осуществления, обнаружение цитокинов и/или поверхностных маркеров определяют с использованием связывающего реагента, который специфически связывается, по меньшей мере, с одним биомаркером. В некоторых случаях, связывающий реагент представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, аптамер или зонд нуклеиновой кислоты.

[00491] В некоторых вариантах осуществления, введение иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В, повышает уровень циркулирующих CAR Т-клеток.

С. Бремя заболеваний

[00492] В некоторых вариантах осуществления, параметры, связанные с терапией

или исходом лечения, которые включают параметры, которые могут быть оценены для стадий скрининга и/или оценки исходов лечения и/или мониторинга исходов лечения, включают бремя опухоли или заболеваний. Введение иммунотерапии, такой как Т-клеточная терапия (*например*, CAR-экспрессирующие Т-клетки) и/или иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, может уменьшить или предотвратить распространение или бремя заболеваний или состояния у субъекта. Например, когда заболевание или состояние представляет собой опухоль, способы обычно уменьшают размер опухоли, объем, метастазирование, долю бластов в костном мозге или рак, обнаруживаемый на молекулярном уровне, и/или улучшают прогноз или выживаемость или другие симптомы, связанные с опухолевой массой.

[00493] В некоторых вариантах осуществления, предложенные способы приводят к уменьшению опухолевой массы у пролеченных субъектов по сравнению с альтернативными способами, в которых иммунотерапия, такая как Т-клеточная терапия (*например*, CAR-экспрессирующими Т-клетками), проводится без введения иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В. Нет необходимости в том, чтобы опухолевая масса действительно уменьшалась у всех субъектов, получающих комбинированную терапию, но чтобы опухолевая масса уменьшалась в среднем у получавших лечение субъектов, например, на основании клинических данных, где большинство субъектов, получающих такую комбинированную терапию, демонстрируют уменьшенную опухолевую массу, например, по меньшей мере, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% или более субъектов, получающих комбинированную терапию, демонстрируют уменьшенную опухолевую массу.

[00494] Бремя болезней может охватывать общее количество клеток болезни у субъекта или в органе, ткани или телесной жидкости субъекта, например, в органе или ткани опухоли или в другом месте, *например*, которое может указывать на метастазирование. Например, опухолевые клетки могут быть обнаружены и/или количественно определены в крови, лимфе или костном мозге в связи с определенными гематологическими злокачественными новообразованиями. Бремя болезней может включать, в некоторых вариантах осуществления, массу опухоли, количество или протяженность метастазов и/или долю бластных клеток, присутствующих в костном мозге.

[00495] В случае ММ, типовые параметры для оценки степени бремени болезни включают такие параметры, как количество клональных плазматических клеток (*например*, >10% при биопсии костного мозга или в любом количестве при биопсии других тканей; плазмоцитоме), наличие моноклонального белка (парапротеина) в сыворотке или моче, признаки поражения органов-мишеней, связанные с нарушением плазматических клеток (*например*, гиперкальциемией (скорректированный кальций >2,75 ммоль/л); почечной недостаточностью, связанной с миеломой; анемией (гемоглобин <10 г/дл) и/или поражением костей (литическими поражениями или остеопорозом с компрессионными переломами)).

[00496] Типовые способы оценки статуса заболевания или бремени болезни включают: измерение белка М в биологических жидкостях, таких как кровь и/или моча, с помощью электрофореза и иммунофиксации; количественное определение sFLC (κ и λ) в крови; обследование скелета; и визуализация с помощью позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ)/компьютерной томографии (КТ) у субъектов с экстрамедуллярным заболеванием. В некоторых вариантах осуществления, статус заболевания можно оценить с помощью исследования костного мозга. В некоторых примерах, эффективность Т-клеточной терапии, после ее введения субъекту, определяют размножением и жизнестойкостью клеток (например, клеток, CAR-экспрессирующих) в крови и/или костном мозге. В некоторых вариантах осуществления, эффективность Т-клеточной терапии определяют на основании противоопухолевой активности вводимых клеток (например, CAR-экспрессирующих клеток). В некоторых вариантах осуществления, противоопухолевую активность определяют по общей частоте ответа (ORR) и/или единым критериям ответа Международной рабочей группы по миеломе (IMWG) (см. Kumar et al. (2016) *Lancet Oncol* 17(8):e328-346). В некоторых вариантах осуществления, ответ оценивают с помощью оценки минимальной остаточной болезни (MRD). В некоторых вариантах осуществления, MRD можно оценить такими способами, как проточная цитометрия и высокопроизводительное секвенирование, например глубокое секвенирование. В некоторых аспектах, субъекты с MRD-отрицательным заболеванием включают субъектов с отсутствием аберрантных клональных плазматических клеток в аспирате костного мозга, что исключается анализом с минимальной чувствительностью 1 на 10^5 ядродержащих клеток или выше (т.е. чувствительностью 10^{-5}), таким как проточная цитометрия (проточная цитометрия следующего поколения; NGF) или высокопроизводительное секвенирование, например, глубокое секвенирование или секвенирование следующего поколения (NGS).

[00497] В некоторых аспектах, устойчивый MRD-отрицательный включает субъектов, которые демонстрируют MRD-отрицательный результат в костном мозге (NGF или NGS, или и то, и другое) и с помощью визуализации, как определено ниже, подтвержденной как минимум с разницей в 1 год. Последующие оценки могут быть использованы для уточнения продолжительности отрицательного статуса (например, MRD-отрицательного статуса через 5 лет). В некоторых аспектах, текущий MRD-отрицательный включает субъектов, которые демонстрируют отсутствие фенотипически аберрантных клональных плазматических клеток с помощью NGF в аспирате костного мозга с использованием стандартной операционной процедуры EuroFlow для обнаружения MRD при множественной миеломе (или утвержденного эквивалентного способа) с минимальной чувствительностью 1 в 10^5 ядродержащих клеток и выше. В некоторых аспектах секвенирование MRD-отрицательных включает субъектов, у которых обнаружено отсутствие клональных плазматических клеток с помощью NGS в аспирате костного мозга, в котором присутствие клона определяется как менее чем два идентичных прочтения секвенирования, полученных после секвенирования ДНК аспириатов костного

мозга с использованием платформы LymphoSIGHT (или утвержденного эквивалентного способа) с минимальной чувствительностью 1 на 10^5 ядродержащих клеток или выше. В некоторых аспектах, визуализация плюс MRD-отрицательный включает субъектов, у которых MRD-отрицательный результат оценивается с помощью NGF или NGS плюс исчезновение каждой области повышенного поглощения индикатора, обнаруженное на исходном уровне или на предшествующей ПЭТ/КТ, или снижение до меньшего медиастинального пула крови SUV или уменьшение до меньше, чем в окружающих нормальных тканях (см. Kumar et al. (2016) Lancet Oncol 17(8):e328-346).

[00498] В некоторых аспектах, оценивают выживаемость субъекта, выживаемость в течение определенного периода времени, степень выживаемости, наличие или продолжительность бессобытийной или бессимптомной выживаемости или безрецидивной выживаемости. В некоторых вариантах осуществления, оценивают любой симптом заболевания или состояния. В некоторых вариантах осуществления, указана мера опухолевой массы. В некоторых вариантах осуществления, типовые параметры для определения включают конкретные клинические результаты, свидетельствующие об облегчении или улучшении опухоли. К таким параметрам относятся: продолжительность контроля заболевания, включая объективный ответ (OR), полный ответ (CR), строгий полный ответ (sCR), очень хороший частичный ответ (VGPR), частичный ответ (PR), минимальный ответ (MR), стабильное заболевание (SD), прогрессирующее заболевание (PD) или рецидив (см., *например*, Единые критерии ответа Международной рабочей группы по миеломе (IMWG); см. Kumar et al. (2016) Lancet Oncol 17(8):e328-346), частоту объективного ответа (ORR), выживаемость без прогрессирования (PFS) и общую выживаемость (OS). В некоторых вариантах осуществления, ответ оценивают с помощью оценки минимальной остаточной болезни (MRD). Конкретные пороговые значения для параметров могут быть установлены для определения эффективности способов, предложенных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления, заболевание или нарушение, подлежащее лечению, представляет собой множественную миелому. В некоторых вариантах осуществления, поддающиеся измерению критерии множественной миеломы могут включать (1) содержание М-белка в сыворотке 1 г/дл или выше; (2) М-белок в моче 200 мг или больше/24 часа; (3) уровень свободных легких цепей (sFLC) в сыворотке крови 10 мг/дл или выше с аномальным отношением к к λ . В некоторых случаях, болезнь легких цепей приемлема только для субъектов без измеримого заболевания в сыворотке или моче.

[00499] В некоторых вариантах осуществления, ответ оценивают на основе продолжительности ответа после введения Т-клеточной терапии, *например*, CAR-экспрессирующих Т-клеток. В некоторых аспектах, ответ на терапию, например, согласно предоставленным вариантам осуществления, можно измерить в назначенный момент времени после начала введения клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, указанный момент времени составляет точно или примерно 1, 2, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 30 или 36 месяцев после начала введения или находится в пределах диапазона,

определенного любым из предыдущих пунктов. В некоторых вариантах осуществления, указанный момент времени составляет 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 48 или 52 недели месяцев после начала введения или находится в диапазоне, определяемом любым из предыдущих. В некоторых вариантах осуществления, указанный момент времени составляет точно или примерно 1 месяц после начала введения. В некоторых вариантах осуществления, указанный момент времени составляет точно или примерно 3 месяца после начала введения. В некоторых вариантах осуществления, указанный момент времени составляет точно или примерно 6 месяцев после начала введения. В некоторых вариантах осуществления, указанный момент времени составляет точно или примерно 9 месяцев после начала введения. В некоторых вариантах осуществления, указанный момент времени составляет точно или примерно 12 месяцев после начала введения.

[00500] В некоторых вариантах осуществления, ответ или результат, определенный точно или примерно через 3, 6, 9 или 12 месяцев после назначенного момента времени, равен или лучше по сравнению с ответом или результатом, определенным в начальный назначенный момент времени. Например, в некоторых аспектах, если ответ или результат, определенный в начальный назначенный момент времени, представляет собой стабильное заболевание (SD), прогрессирующее заболевание (PD) или рецидив, субъект, получающий лечение в соответствии с предложенными вариантами осуществления, может демонстрировать такой же или улучшенный ответ или результат. (например, демонстрируя лучший результат ответа в соответствии с Едиными критериями ответа Международной рабочей группы по миеломе (IMWG); см. Kumar et al. (2016) *Lancet Oncol* 17(8):e328-346) в последующий момент времени, после точно или примерно через 3, 6, 9 или 12 месяцев после первоначального назначенного момента времени, что соответствует ответу или результату в начальный назначенный момент времени, или ответу или результату, который является объективным ответом (OR), полным ответом (CR), строгим полным ответом (sCR), очень хорошим частичным ответом (VGPR) или частичным ответом (PR). В некоторых аспектах, субъекты, получающие лечение в соответствии с предложенными вариантами осуществления, могут демонстрировать улучшение ответа или исхода между двумя временными точками определения. В некоторых аспектах, субъект может демонстрировать PR или VGPR в начальный момент времени, назначенный для оценки, например, через 4 недели после начала введения, и затем демонстрировать улучшенный ответ, такой как CR или sCR, в более поздний момент времени, например, через 12 недель после начала введения. В некоторых отношениях, выживаемость без прогрессирования (PFS) описывается как период времени во время и после лечения заболевания, такого как рак, когда субъект живет с заболеванием, но не ухудшается. В некоторых аспектах, объективный ответ (OR) описывается как измеримый ответ. В некоторых аспектах, частота объективного ответа (ORR; также известная в некоторых случаях как общая частота ответа) описывается как доля пациентов, достигших CR или PR. В некоторых аспектах, общая выживаемость (OS) описывается как промежуток времени либо с даты постановки диагноза, либо с начала лечения

заболевания, такого как рак, в течение которого субъекты, у которых диагностировано заболевание, все еще живы. В некоторых аспектах, бессобытийная выживаемость (EFS) описывается как период времени после окончания лечения рака, в течение которого субъект остается свободным от определенных осложнений или явлений, которые лечение было предназначено предотвратить или отсрочить. Эти события могут включать возвращение рака или появление определенных симптомов, таких как боль в костях от рака, который распространился на кость, или смерть.

[00501] В некоторых вариантах осуществления, мера продолжительности ответа (DOR) включает время от регистрации ответа опухоли до прогрессирования заболевания. В некоторых вариантах осуществления, параметр для оценки ответа может включать устойчивый ответ, например, ответ, который сохраняется по прошествии определенного периода времени с начала терапии. В некоторых вариантах осуществления, устойчивый ответ определяется частотой ответов приблизительно через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18 или 24 месяца после начала терапии. В некоторых вариантах осуществления, ответ или исход является устойчивым в течение более чем точно или примерно 3, 6, 9 или 12 месяцев.

[00502] В некоторых вариантах осуществления, индикатор общего состояния по оценке Восточной кооперативной онкологической группы (ECOG) можно использовать для оценки или выбора субъектов для лечения, например, субъектов, у которых были плохие показатели после предшествующего лечения (см., например, Oken et al. (1982) *Am J Clin Oncol.*, 5:649-655). Шкала общего состояния ECOG описывает уровень функционирования пациента с точки зрения его способности заботиться о себе, повседневной активности и физических способностей (например, ходьба, работа и т. д.). В некоторых вариантах осуществления, общее состояние ECOG, равное 0, указывает, что субъект может выполнять обычную деятельность. В некоторых аспектах субъекты с общим состоянием ECOG 1 демонстрируют некоторые ограничения в физической активности, но субъект полностью передвигается. В некоторых аспектах, пациенты с общим состоянием ECOG 2 более чем на 50% являются амбулаторными. В некоторых случаях, субъект с общим состоянием ECOG 2 также может быть способен к самообслуживанию; см., например, Sørensen et al., (1993) *Br J Cancer* 67(4) 773-775. В некоторых вариантах осуществления, субъекты, которым назначено введение в соответствии со способами или схемой лечения, предложенными в настоящем документе, включают таковых с общим состоянием ECOG, равным 0 или 1.

[00503] В некоторых вариантах осуществления, способы и/или введение иммунотерапии, такой как Т-клеточная терапия (*например*, CAR-экспрессирующие Т-клетки) и/или иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В, снижают бремя болезни по сравнению с бременем болезни непосредственно перед введением иммунотерапии, *например* Т-клеточной терапии и/или иммуномодулирующего соединения.

[00504] В некоторых аспектах, введение иммунотерапии, *например* Т-клеточной

терапии, и/или иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В, может предотвращать увеличение бремени болезни, и об этом может свидетельствовать отсутствие изменений в бремени болезни.

[00505] В некоторых вариантах осуществления, способ снижает бремя болезни или состояния, *например*, количество опухолевых клеток, размер опухоли, продолжительность выживания пациента или бессобытийное выживание, в большей степени и/или в течение большего периода времени, по сравнению со снижением, которое наблюдалось бы при использовании сравнимого способа с использованием альтернативной терапии, такой как терапия, при которой субъект получает иммунотерапию, *например*, только Т-клеточную терапию, в отсутствие введения иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В. В некоторых вариантах осуществления, бремя болезни снижается в большей степени или на большую продолжительность после комбинированной терапии, состоящей из введения иммунотерапии, *например*, Т-клеточной терапии, и иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В, по сравнению со снижением, которое может быть достигнуто введением каждого агента по отдельности, *например* введением иммуномодулирующего соединения субъекту, не получавшему иммунотерапию, *например* Т-клеточную терапию; или введением иммунотерапии, *например* Т-клеточной терапии, субъекту, не получавшему иммуномодулирующее соединение.

[00506] В некоторых вариантах осуществления, бремя болезни или состояния у субъекта выявляют, оценивают или измеряют. Бремя болезни может быть определено в некоторых аспектах путем определения общего количества клеток заболевания или ассоциированных с заболеванием клеток, *например* опухолевых клеток, у субъекта или в органе, ткани или телесной жидкости субъекта, такой как кровь или сыворотка. В некоторых вариантах осуществления, бремя болезни, *например* бремя опухоли, оценивают путем измерения массы солидной опухоли и/или количества или протяженности метастазов. В некоторых аспектах оценивают выживаемость субъекта, выживаемость в течение определенного периода времени, степень выживаемости, наличие или продолжительность бессобытийной или бессимптомной выживаемости или безрецидивной выживаемости. В некоторых вариантах осуществления, оценивают любой симптом заболевания или состояния. В некоторых вариантах осуществления, указана мера бремени болезни или состояния. В некоторых вариантах осуществления, типовые параметры для определения включают конкретные клинические результаты, свидетельствующие об улучшении или ухудшении заболевания или состояния, *например*, опухоли. К таким параметрам относятся: продолжительность контроля заболевания, включая полный ответ (CR), частичный ответ (PR) или стабильное заболевание (SD) (см., *например*, руководство по критериям оценки ответа при солидных опухолях (RECIST)), объективную частоту ответа (ORR), выживаемость без прогрессирования (PFS) и общую выживаемость (OS). Конкретные пороговые значения для параметров могут быть установлены для определения эффективности способа комбинированной терапии,

предложенного в настоящем документе.

[00507] В некоторых вариантах осуществления, субъекты, получающие лечение в соответствии со способом, достигают более стойкого ответа. В некоторых случаях, мера продолжительности ответа (DOR) включает время от регистрации ответа опухоли до прогрессирования заболевания. В некоторых вариантах осуществления, параметр для оценки ответа может включать устойчивый ответ, например ответ, который сохраняется по прошествии определенного периода времени с начала терапии. В некоторых вариантах осуществления, стойкий ответ определяется частотой ответов примерно через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18 или 24 месяца после начала терапии. В некоторых вариантах осуществления, ответ сохраняется более 3 месяцев, более 6 месяцев или более 12 месяцев. В некоторых конкретных вариантах осуществления, субъекты, получающие лечение в соответствии со способом, достигают более стойкого ответа после того, как у субъекта ранее возник рецидив после ремиссии в ответ на введение генетически сконструированных клеток.

[00508] В некоторых аспектах, бремя болезни измеряют или выявляют до введения иммунотерапии, *например*, Т-клеточной терапии, после введения иммунотерапии, *например*, Т-клеточной терапии, но до введения иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В, после введения иммуномодулирующего соединения, но до проведения иммунотерапии, *например* Т-клеточной терапии, и/или после введения как иммунотерапии, *например* Т-клеточной терапии, так и иммуномодулирующего соединения. В контексте многократного введения одной или нескольких стадий комбинированной терапии, бремя болезни в некоторых вариантах осуществления, может быть измерено до или после введения любой из стадий, доз и/или курсов введения или в промежутке времени между введением любой из стадий, доз и/или курсов введения.

[00509] В некоторых вариантах осуществления, бремя снижается, по меньшей мере, на 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 или 100 процентов с помощью предложенных способов по сравнению с состоянием, непосредственно предшествующим введению иммуномодулирующего соединения, *например*, соединения А или соединения В, и иммунотерапии, *например* Т-клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, бремя болезни, размер опухоли, объем опухоли, масса опухоли и/или нагрузка или объем опухоли снижаются после введения иммунотерапии, *например* Т-клеточной терапии и иммуномодулирующего соединения, по меньшей мере, примерно на 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90% или более по сравнению с таковым непосредственно перед введением иммунотерапии, *например* Т-клеточной терапии и/или иммуномодулирующего соединения.

[00510] В некоторых вариантах осуществления, снижение бремени болезни с помощью способа включает индукцию морфологически полной ремиссии, например, по оценке через 1 месяц, 2 месяца, 3 месяца или более 3 месяцев после введения, *например*, начала комбинированной терапии.

[00511] В некоторых аспектах, анализ минимальной остаточной болезни, например, измеренный с помощью многопараметрической проточной цитометрии, является отрицательным, или уровень минимальной остаточной болезни составляет менее примерно 0,3%, менее примерно 0,2%, менее примерно 0,1%, или менее примерно 0,05%.

[00512] В некоторых вариантах осуществления, способы улучшают бессобытийную выживаемость или общую выживаемость субъекта по сравнению с другими способами. Например, в некоторых вариантах осуществления, бессобытийная выживаемость или вероятность для субъектов, получавших лечение способами, через 6 месяцев после способа комбинированной терапии, представленного в настоящем документе, составляет более примерно 40%, более примерно 50%, более примерно 60%, более примерно 70%, более примерно 80%, более примерно 90% или более примерно 95%. В некоторых аспектах, общая выживаемость составляет более примерно 40%, более примерно 50%, более примерно 60%, более примерно 70%, более примерно 80%, более примерно 90% или более примерно 95%. В некоторых вариантах осуществления, субъект, получающий лечение указанными способами, демонстрирует бессобытийную выживаемость, безрецидивную выживаемость или выживаемость, по меньшей мере, до 6 месяцев или, по меньшей мере, до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, или 10 лет. В некоторых вариантах осуществления, время до прогрессирования улучшается, например, время до прогрессирования составляет более чем точно или примерно 6 месяцев или, по меньшей мере, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 лет.

[00513] В некоторых вариантах осуществления, после лечения способом, вероятность рецидива снижается по сравнению с другими способами. Например, в некоторых вариантах осуществления, вероятность рецидива через 6 месяцев после применения способа комбинированной терапии составляет менее примерно 80%, менее примерно 70%, менее примерно 60%, менее примерно 50%, менее примерно 40%, менее примерно 30%, менее примерно 20% или менее примерно 10%.

[00514] В некоторых вариантах осуществления, введение в соответствии с предложенными способами эффективно лечит субъекта, несмотря на то, что субъект стал резистентным к другой терапии. В некоторых вариантах осуществления, при введении субъектам согласно вариантам осуществления, описанным в настоящем документе, доза композиции способна достичь объективного ответа (OR) у, по меньшей мере, примерно 50%, по меньшей мере, примерно 60%, по меньшей мере, примерно 70%, по меньшей мере, 80%, по меньшей мере, примерно 90% или, по меньшей мере, 95% субъектов, получавших лечение. В некоторых вариантах осуществления, OR включает субъектов, достигших строгого полного ответа (sCR), полного ответа (CR), очень хорошего частичного ответа (VGPR), частичного ответа (PR) и минимального ответа (MR). В некоторых вариантах осуществления, при введении субъектам в соответствии с вариантами осуществления, описанными в настоящем документе, доза или композиция способны обеспечить строгий полный ответ (sCR), полный ответ (CR), очень хороший частичный ответ (VGPR) или частичный ответ (PR), по меньшей мере, у 50%, 60%, 70%,

80% или 85% субъектов, которые получали лечение. В некоторых вариантах осуществления, при введении субъектам в соответствии с вариантами осуществления, описанными в настоящем документе, доза или композиция способны обеспечить строгий полный ответ (sCR) или полный ответ (CR) по меньшей мере, на 20%, 30%, 40%, 50%, 60% или 70% субъектов, которые получали лечение. В некоторых вариантах осуществления, типовые дозы включают примерно $1,0 \times 10^7$, $1,5 \times 10^7$, $2,0 \times 10^7$, $2,5 \times 10^7$, $5,0 \times 10^7$, $1,5 \times 10^8$, $3,0 \times 10^8$, $4,5 \times 10^8$, $6,0 \times 10^8$ или $8,0 \times 10^8$ CAR-экспрессирующих (CAR⁺) Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления, типовые дозы включают примерно $5,0 \times 10^7$, $1,5 \times 10^8$, $3,0 \times 10^8$, $4,5 \times 10^8$, $6,0 \times 10^8$ или $8,0 \times 10^8$ CAR-экспрессирующих Т-клеток (CAR⁺). В некоторых вариантах осуществления, типовые дозы включают примерно $5,0 \times 10^7$, $1,5 \times 10^8$, $3,0 \times 10^8$ или $4,5 \times 10^8$ CAR-экспрессирующих (CAR⁺) Т-клеток. В некоторых аспектах, конкретный ответ на лечение, например, в соответствии со способами, предложенными в настоящем документе, можно оценить на основе Единых критериев ответа Международной рабочей группы по миеломе (IMWG) (см. Kumar et al. (2016) Lancet Oncol 17(8) :e328-346).

IV. ТОКСИЧНОСТЬ И НЕБЛАГОПРИЯТНЫЕ ИСХОДЫ

[00515] В вариантах осуществления предложенных способов, субъекта отслеживают на предмет токсичности или других неблагоприятных исходов, включая исходы, связанные с лечением, *например*, развитие нейтропении, синдрома высвобождения цитокинов (CRS) или нейротоксичности (NT), у субъектов, получающих предложенную комбинированную терапию, включающую клеточную терапию (*например*, Т-клеточную терапию) и иммуномодулирующее соединение, например, соединение А или соединение В. В некоторых вариантах осуществления, предложенные способы осуществляют для снижения риска токсического исхода или симптома, профиля, способствующего токсичности, фактора, или свойства, такого как симптом или результат, связанный или свидетельствующий о тяжелой нейтропении, тяжелом синдроме высвобождения цитокинов (CRS) или тяжелой нейротоксичности.

[00516] В некоторых вариантах осуществления, способы не приводят или не повышают риск определенных гематологических токсических эффектов, таких как нейтропения или. В некоторых вариантах осуществления, не более чем у 50% субъектов наблюдается нейтропения выше 3 степени, например пролонгированная нейтропения 3 степени или нейтропения 4 степени, и/или тромбоцитопения выше 3 степени, например, тромбоцитопения 3 степени или 4 степени. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, 50% субъектов, получавших лечение согласно способу (*например*, по меньшей мере, 60%, по меньшей мере, 70%, по меньшей мере, 80%, по меньшей мере, 90% или более субъектов, получавших лечение) не демонстрируют тяжелой нейтропении или тяжелой тромбоцитопении 3 степени или выше 3 степени

[00517] В некоторых вариантах осуществления, предложенные способы не приводят к высокой степени или вероятности токсичности или токсических исходов или снижают частоту или вероятность токсичности или токсических исходов, таких как

тяжелая нейротоксичность (NT) или тяжелый синдром высвобождения цитокинов (CRS), например, по сравнению с некоторыми другими способами клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, способы не приводят или не увеличивают риск развития тяжелого NT (sNT), тяжелого CRS (sCRS), синдрома активации макрофагов, синдрома лизиса опухоли, лихорадки, по меньшей мере, точно или примерно 38 градусов Цельсия в течение примерно трех или больше дней, и уровень CRP в плазме, по меньшей мере, точно или примерно 20 мг/дл. В некоторых вариантах осуществления, больше или больше примерно 30%, 35%, 40%, 50%, 55%, 60% или больше субъектов, получавших лечение в соответствии с предложенными способами, не демонстрируют какой-либо степени CRS или какой-либо степени нейротоксичности. В некоторых вариантах осуществления, не больше чем 50% пролеченных субъектов (например, по меньшей мере, 60%, по меньшей мере, 70%, по меньшей мере, 80%, по меньшей мере, 90% или больше пролеченных субъектов) демонстрируют синдром высвобождения цитокинов (CRS) выше 2 степени и/или нейротоксичность выше 2 степени. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, 50% субъектов, получавших лечение по способу (например, по меньшей мере, 60%, по меньшей мере, 70%, по меньшей мере, 80%, по меньшей мере, 90% или больше пролеченных субъектов) не демонстрируют тяжелый токсический исход (например, тяжелый CRS или тяжелую нейротоксичность), например, не демонстрируют нейротоксичность 3 степени или выше и/или не демонстрируют тяжелый CRS или не демонстрируют его в течение определенного периода времени время после лечения, например, в течение недели, двух недель или одного месяца после введения клеток.

А. Синдром высвобождения цитокинов (CRS) и нейротоксичность

[00518] В некоторых аспектах, токсический исход представляет собой или ассоциирован с или указывает на синдром высвобождения цитокинов (CRS) или тяжелый CRS (sCRS). CRS, например, sCRS, может возникать в некоторых случаях после адоптивной Т-клеточной терапии и введения субъектам других биологических продуктов. См. Davila et al., *Sci Transl Med* 6, 224ra25 (2014); Brentjens et al., *Sci. Transl. Med.* 5, 177ra38 (2013); Grupp et al., *N. Engl. J. Med.* 368, 1509-1518 (2013); и Kochenderfer et al., *Blood* 119, 2709-2720 (2012); Xu et al., *Cancer Letters* 343 (2014) 172-78.

[00519] Как правило, CRS вызывается преувеличенным системным иммунным ответом, опосредованным, например, Т-клетками, В-клетками, NK-клетками, моноцитами и/или макрофагами. Такие клетки могут высвобождать большое количество медиаторов воспаления, таких как цитокины и хемокины. Цитокины могут вызывать острый воспалительный ответ и/или индуцировать повреждение эндотелия органов, что может привести к микроваскулярной утечке, сердечной недостаточности или смерти. Тяжелый, опасный для жизни CRS может привести к легочной инфильтрации и повреждению легких, почечной недостаточности или диссеминированному внутрисосудистому свертыванию крови. Другие тяжелые, опасные для жизни токсические эффекты могут включать сердечную токсичность, респираторный дистресс, неврологическую

токсичность и/или печеночную недостаточность. CRS можно лечить с помощью противовоспалительной терапии, такой как анти-IL-6 терапия, например, анти-IL-6 антитело, например, тоцилизумаб, или антибиотики или другие агенты, как описано.

[00520] Исходы, признаки и симптомы CRS известны и включают описанные в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления, если конкретное введение влияет или не влияет на данный исход, признак или симптом, связанный с CRS, могут быть указаны конкретные исходы, признаки и симптомы и/или их количество или степень.

[00521] В контексте введения CAR-экспрессирующих клеток, CRS обычно возникает в течение 6-20 дней после инфузии клеток, экспрессирующих CAR. См. Xu et al., Cancer Letters 343 (2014) 172-78. В некоторых случаях, CRS возникает меньше чем через 6 дней или больше чем через 20 дней после инфузии CAR T-клеток. Частота и сроки развития CRS могут быть связаны с исходным уровнем цитокинов или опухолевой массой во время инфузии. Обычно CRS включает повышенные сывороточные уровни интерферона (IFN)- γ , фактора некроза опухоли (TNF)- α и/или интерлейкина (IL)-2. Другими цитокинами, которые могут быстро индуцироваться при CRS, являются IL-1 β , IL-6, IL-8 и IL-10.

[00522] Типовые исходы, связанные с CRS, включают лихорадку, дрожь, озноб, гипотензию, одышку, острый респираторный дистресс-синдром (ARDS), энцефалопатию, повышение ALT/AST, почечную недостаточность, сердечные нарушения, гипоксию, неврологические нарушения и смерть. Неврологические осложнения включают делирий, судорожную активность, спутанность сознания, трудности с подбором слов, афазию и/или притупление сознания. Другие исходы, связанные с CRS, включают утомляемость, тошноту, головную боль, судороги, тахикардию, миалгии, сыпь, синдром острой сосудистой утечки, нарушение функции печени и почечную недостаточность. В некоторых аспектах, CRS связан с увеличением одного или нескольких факторов, таких как сывороточный ферритин, d-димер, аминотрансферазы, лактатдегидрогеназа и триглицериды, или с гипофибриногенемией или гепатоспленомегалией.

[00523] В некоторых вариантах осуществления, исходы, связанные с CRS, включают одно или несколько из: постоянной лихорадки, например, лихорадки определенной температуры, например, выше точно или примерно 38 градусов Цельсия, в течение двух или больше, например, трех или больше, например, четырех или больше дней или не меньше трех дней подряд; лихорадки выше точно или примерно 38 градусов Цельсия; повышения уровня цитокинов, такого как максимальное кратное изменение, например, по меньшей мере, точно или примерно 75, по сравнению с уровнями, по меньшей мере, двух цитокинов до лечения (например, по меньшей мере, двух из группы, состоящей из интерферон гамма (IFN γ), GM-CSF, IL-6, IL-10, Flt-3L, фракталкина и IL-5 и/или фактора некроза опухоли альфа (TNF α)), или максимального кратного изменения, например, по меньшей мере, точно или примерно 250, по меньшей мере, для одного из таких цитокинов; и/или по меньшей мере, одного клинического признака токсичности,

такого как гипотензия (например, измеренная, по меньшей мере, одним внутривенным вазоактивным прессором); гипоксии (например, уровня кислорода (PO_2) в плазме ниже или примерно 90%); и/или одного или нескольких неврологических нарушений (включая изменения психического статуса, притупление чувствительности и судороги).

[00524] Типовые исходы, связанные с CRS, включают повышенные или высокие уровни в сыворотке одного или нескольких факторов, включая цитокины и хемокины, и другие факторы, связанные с CRS. Типовые исходы дополнительно включают увеличение синтеза или секреции одного или нескольких таких факторов. Такой синтез или секреция может осуществляться Т-клеткой или клеткой, взаимодействующей с Т-клеткой, такой как врожденная иммунная клетка или В-клетка.

[00525] В некоторых вариантах осуществления сывороточные факторы, ассоциированные с CRS, или исходы, связанные с CRS, включают воспалительные цитокины и/или хемокины, включая интерферон гамма ($IFN-\gamma$), $TNF-\alpha$, $IL-1\beta$, $IL-2$, $IL-6$, $IL-7$, $IL-8$, $IL-10$, $IL-12$, $sIL-2Ra$, гранулоцитарный макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), макрофагальный воспалительный белок (MIP)-1, фактор некроза опухоли альфа ($TNF\alpha$), $IL-6$, и $IL-10$, $IL-1\beta$, $IL-8$, $IL-2$, MIP-1, Flt-3L, фракталкин и/или $IL-5$. В некоторых вариантах осуществления, фактор или результат включает С-реактивный белок (CRP). Помимо того, что он является ранним и легко измеримым фактором риска CRS, CRP также является маркером клеточного размножения. В некоторых вариантах осуществления, субъекты, у которых измерены высокие уровни CRP, такие как ≥ 15 мг/дл, имеют CRS. В некоторых вариантах осуществления, субъекты, у которых измерены высокие уровни CRP, не имеют CRS. В некоторых вариантах осуществления, показатель CRS включает показатель CRP и другой фактор, указывающий на CRS.

[00526] В некоторых вариантах осуществления, один или несколько воспалительных цитокинов или хемокинов контролируются до, во время или после лечения CAR и/или лечения соединением А или соединения В. В некоторых аспектах, один или несколько цитокинов или хемокинов включают $IFN-\gamma$, $TNF-\alpha$, $IL-2$, $IL-1\beta$, $IL-6$, $IL-7$, $IL-8$, $IL-10$, $IL-12$, $sIL-2R\alpha$, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF) или воспалительный белок макрофагов (MIP). В некоторых вариантах осуществления, контролируют $IFN-\gamma$, $TNF-\alpha$ и $IL-6$.

[00527] Были разработаны критерии CRS, которые, по-видимому, коррелируют с началом CRS для прогнозирования того, какие пациенты с большей вероятностью будут подвержены риску развития sCRS (см. Davilla et al. Science Translational Medicine. 2014; 6(224):224ra25). Факторы включают лихорадку, гипоксию, гипотензию, неврологические изменения, повышенные уровни в сыворотке воспалительных цитокинов, таких как набор из семи цитокинов ($IFN\gamma$, $IL-5$, $IL-6$, $IL-10$, Flt-3L, фракталкин и GM-CSF), вызванное лечением повышение которых может хорошо коррелировать как с опухолевой массой до лечения, так и с симптомами sCRS. Другие руководства по диагностике и управлению CRS известны (см., например, Lee et al, Blood. 2014;124(2):188-95). В некоторых вариантах

осуществления, критерии, отражающие степень CRS, подробно описаны в **Таблице 2** ниже.

Таблица 2: Типовые критерии классификации для CRS	
Оценка	Описание симптомов
1 Незначительный	Не опасен для жизни, требует только симптоматического лечения, такого как жаропонижающие и противорвотные средства (например, лихорадка, тошнота, утомляемость, головная боль, миалгии, недомогание)
2 Умеренный	Требует умеренного вмешательства и реакции на него: <ul style="list-style-type: none"> ● Потребность в кислороде <40%, или ● Гипотензия, отвечающая на прием жидкости или низкую дозу одного вазопрессора, или ● Органотоксичность 2 степени (по STCAE v4.0)
3 Тяжелый	Требует и отвечает на агрессивное вмешательство: <ul style="list-style-type: none"> ● Потребность в кислороде $\geq 40\%$ или ● Гипотензия, требующая высокой дозы одного вазопрессора (например, норэпинефрина ≥ 20 мкг/кг/мин, дофамина ≥ 10 мкг/кг/мин, фенилэфрина ≥ 200 мкг/кг/мин или адреналина ≥ 10 мкг/кг/мин), или ● Гипотензия, требующая применения нескольких вазопрессоров (например, вазопрессина+одного из вышеперечисленных препаратов или комбинации вазопрессоров, эквивалентной ≥ 20 мкг/кг/мин норэпинефрина), или ● Органотоксичность 3 степени или трансаминит 4 степени (по STCAE v4.0)
4 Опасен для жизни	Опасен для жизни: <ul style="list-style-type: none"> ● Требует дыхательной поддержки аппаратом ИВЛ, или ● Органотоксичность 4 степени (исключая трансаминит)
5 Фатальный	Смерть

[00528] В некоторых вариантах осуществления, считается, что у субъекта развился «тяжелый CRS» («sCRS») в ответ на введение клеточной терапии или дозы ее клеток или вторично после введения, если после введения у субъекта наблюдаются: (1) лихорадка по меньшей мере, 38 градусов Цельсия в течение, по меньшей мере, трех дней; (2)

повышение уровня цитокинов, которое включает либо (а) максимальное кратное изменение, по меньшей мере, в 75 раз, по меньшей мере, для двух из следующей группы семи цитокинов по сравнению с уровнем сразу после введения: интерферон гамма (IFN γ), GM-CSF, IL-6, IL-10, Flt-3L, фракталкин и IL-5 и/или (б) максимальное кратное изменение, по меньшей мере, в 250 раз, по меньшей мере, для одного из следующей группы из семи цитокинов по сравнению с уровнем сразу после введения: интерферон гамма (IFN γ), GM-CSF, IL-6, IL-10, Flt-3L, фракталкин и IL-5; и (с) по меньшей мере, один клинический признак токсичности, такой как гипотензия (требуемая по меньшей мере, одного внутривенного вазоактивного прессора) или гипоксия (PO $_2$ <90%), или одно или несколько неврологических нарушений (включая изменения психического статуса, притупление болевой чувствительности и /или судороги). В некоторых вариантах осуществления, тяжелый CRS включает CRS со степенью 3 или выше, как указано в Таблице 2.

[00529] В некоторых вариантах осуществления, исходы, связанные с тяжелым CRS или CRS 3 степени или выше, например 4 степени или выше, включают одно или несколько из: постоянной лихорадки, например, лихорадки определенной температуры, например, выше точно или примерно 38 градусов Цельсия, в течение двух или нескольких дней, например, трех или нескольких, например, четырех или нескольких дней или, по меньшей мере, трех дней подряд; лихорадка выше точно или примерно 38 градусов по Цельсию; повышение уровня цитокинов, такое как максимальное кратное изменение, например, по меньшей мере, точно или примерно 75, по сравнению с уровнями, по меньшей мере, двух цитокинов до лечения (например, по меньшей мере, двух из группы, состоящей из гамма-интерферона (IFN γ), GM-CSF, IL-6, IL-10, Flt-3L, фракталкина и IL-5 и/или фактора некроза опухоли альфа (TNF α)), или максимального кратного изменения, *например*, по меньшей мере, в точно или примерно 250, по меньшей мере, для одного из таких цитокинов; и/или по меньшей мере, одного клинического признака токсичности, такого как гипотензия (*например*, измеренная, по меньшей мере, одним внутривенным вазоактивным прессором); гипоксия (*например*, уровень кислорода (PO $_2$) в плазме ниже или примерно 90%); и/или одного или нескольких неврологических нарушений (включая изменение психического состояния, притупление чувствительности и судороги). В некоторых вариантах осуществления, тяжелый CRS включает CRS, требующий лечения или ухода в отделении интенсивной терапии (ICU).

[00530] В некоторых вариантах осуществления, CRS, такой как тяжелый CRS, включает комбинацию (1) персистирующей лихорадки (лихорадки, по меньшей мере, 38 градусов Цельсия в течение, по меньшей мере, трех дней) и (2) уровня CRP в сыворотке, по меньшей мере, точно или примерно 20 мг/дл. В некоторых вариантах осуществления, CRS включает гипотензию, требующую применения двух или нескольких вазопрессоров, или дыхательную недостаточность, требующую искусственной вентиляции легких. В некоторых вариантах осуществления, дозу вазопрессоров увеличивают при втором или последующем введении.

[00531] В некоторых вариантах осуществления, тяжелая форма CRS или CRS 3 степени включает повышение активности аланинаминотрансферазы, повышение активности аспаратаминотрансферазы, озноб, фебрильную нейтропению, головную боль, дисфункцию левого желудочка, энцефалопатию, гидроцефалию и/или тремор.

[00532] Может быть указан способ измерения или обнаружения различных исходов.

[00533] В некоторых аспектах, токсический исход терапии, такой как клеточная терапия, представляет собой или связан с или является показателем нейротоксичности или тяжелой нейротоксичности. В некоторых вариантах осуществления, симптомы, связанные с клиническим риском нейротоксичности, включают спутанность сознания, делирий, афазию, экспрессивную афазию, оглушение, миоклонус, летаргию, измененное психическое состояние, конвульсии, судорожную активность, судороги (необязательно, подтвержденные электроэнцефалограммой [ЭЭГ]), повышенные уровни бета-амилоида (A β), повышенные уровни глутамата и повышенные уровни кислородных радикалов. В некоторых вариантах осуществления, нейротоксичность оценивается в зависимости от степени тяжести (например, с использованием шкалы оценок 1-5 (см., например, Guido Cavaletti & Paola Marmiroli Nature Reviews Neurology 6, 657-666 (December 2010); Национальный институт рака - Общие критерии токсичности, версия 4,03 (NCI CTCAE, версия 4,03)).

[00534] В некоторых случаях, неврологические симптомы могут быть самыми ранними симптомами sCRS. В некоторых вариантах осуществления, неврологические симптомы *предположительно* появляются через 5-7 дней после инфузии клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления, продолжительность неврологических изменений может составлять от 3 до 19 дней. В некоторых случаях, восстановление неврологических изменений происходит после исчезновения других симптомов sCRS. В некоторых вариантах осуществления, лечение анти-IL-6 и/или стероидом(ами) не ускоряет время или степень разрешения неврологических изменений.

[00535] В некоторых вариантах осуществления, считается, что у субъекта развилась «тяжелая нейротоксичность» в ответ на введение клеточной терапии или дозы ее клеток или вторично по отношению к ней, если после введения у субъекта демонстрируются симптомы, ограничивающие уход за собой (например, купание, одевание и раздевание, прием пищи, пользование туалетом, приеме лекарств) из числа: 1) симптомов периферической моторной невропатии, включая воспаление или дегенерацию периферических моторных нервов; 2) симптомов периферической сенсорной невропатии, в том числе воспаление или дегенерация периферических сенсорных нервов, дизестезия, например, искажение сенсорного восприятия, приводящее к ненормальным и неприятным ощущениям, невралгия, например, интенсивное болезненное ощущение по ходу нерва или группы нервов, и/или парестезия, такая как функциональные нарушения сенсорных нейронов, приводящие к аномальным кожным ощущениям покалывания, онемения, давления, холода и тепла в отсутствие раздражителя. В некоторых вариантах

осуществления, тяжелая нейротоксичность включает нейротоксичность 3 степени или выше, как указано в Таблице 3. В некоторых вариантах осуществления, считается, что тяжелая нейротоксичность является пролонгированной 3 степени, если симптомы или нейротоксичность 3 степени продолжается 10 дней или дольше.

Таблица 3: Типовые критерии степени нейротоксичности	
Степень	Описание симптомов
1 Бессимптомная или легкая	Временные или асимптоматические симптомы
2 Умеренная	Наличие симптомов, которые ограничивают инструментальные действия по самообслуживанию (ADL), такие как приготовление пищи, покупка продуктов или одежды, использование телефона, управление деньгами
3 Тяжелая	Наличие симптомов, ограничивающих ADL самообслуживание, такое как купание, одевание и раздевание, самостоятельный прием пищи, пользование туалетом, прием лекарств
4 Опасная для жизни	Симптомы, угрожающие жизни и требующие срочного вмешательства
5 Фатальная	Смерть

[00536] В некоторых вариантах осуществления, способы уменьшают симптомы, связанные с CRS или нейротоксичностью, по сравнению с другими способами. В некоторых аспектах, предложенные способы уменьшают симптомы, исходы или факторы, связанные с CRS, включая симптомы, исходы или факторы, связанные с тяжелым CRS или CRS степени 3 или выше, по сравнению с другими способами. Например, у субъектов, получавших лечение в соответствии с настоящими способами, могут отсутствовать поддающиеся обнаружению и/или сниженные симптомы, исходы или факторы CRS, например, тяжелый CRS или CRS 3 степени или выше, такие как любые из описанных, например, изложенных в Таблице 2. В некоторых вариантах осуществления, субъекты, получающие лечение в соответствии с настоящими способами, могут иметь ослабленные симптомы нейротоксичности, такие как слабость или онемение конечностей, потеря памяти, зрения и/или интеллекта, неконтролируемое навязчивое и/или компульсивное поведение, бред, головная боль, когнитивные и поведенческие проблемы, включая потерю контроля над движениями, ухудшение когнитивных функций, дисфункцию вегетативной нервной системы и сексуальную дисфункцию, по сравнению с субъектами, получавшими лечение другими способами. В некоторых вариантах осуществления, субъекты,

получающие лечение в соответствии с настоящими способами, могут иметь ослабленные симптомы, связанные с периферической моторной невропатией, периферической сенсорной невропатией, дизестезией, невралгией или парестезией.

[00537] В некоторых вариантах осуществления, способы снижают исходы, связанные с нейротоксичностью, включая повреждения нервной системы и/или головного мозга, такие как гибель нейронов. В некоторых аспектах, способы снижают уровень факторов, связанных с нейротоксичностью, таких как бета-амилоид (A β), глутамат и радикалы кислорода.

[00538] В некоторых вариантах осуществления, исход токсичности представляет собой дозолимитирующую токсичность (DLT). В некоторых вариантах осуществления, токсический исход представляет собой дозолимитирующую токсичность. В некоторых вариантах осуществления, токсический исход представляет собой отсутствие дозолимитирующей токсичности. В некоторых вариантах осуществления, дозолимитирующая токсичность (DLT) определяется как любая токсичность 3 степени или выше, согласно оценке любых известных или опубликованных руководств по оценке конкретной токсичности, таких как любые из описанных выше, включая Общие критерии терминологии нежелательных явлений (CTCAE) Национального института рака (NCI) версии 4.0. В некоторых вариантах осуществления, дозолимитирующая токсичность (DLT) определяется, когда любое из явлений, обсуждаемых ниже, возникают после введения клеточной терапии (*например*, Т-клеточной терапии) и/или соединения А или соединения В, где явления включают: а) фебрильную нейтропению; б) нейтропению 4 степени, длящуюся примерно или более чем примерно 7 дней; с) тромбоцитопению 3 или 4 степени с клинически значимым кровотечением; и d) тромбоцитопению 4 степени, длящуюся более чем 24 часа.

[00539] В некоторых вариантах осуществления, предложенные варианты осуществления приводят к низкой частоте или риску развития токсичности, *например*, CRS или нейротоксичности или тяжелой формы CRS или нейротоксичности, *например*, CRS или нейротоксичности 3 степени или выше, наблюдаемые при введении дозы Т-клеток в соответствии с предложенными способами, и/или с предложенными готовыми изделиями или композициями. В некоторых случаях, это позволяет вводить клеточную терапию амбулаторно. В некоторых вариантах осуществления, введение клеточной терапии, *например*, дозы Т-клеток (*например*, CAR⁺ Т-клеток) в соответствии с предложенными способами и/или с предложенными готовыми изделиями или композициями, осуществляется амбулаторно или не требует госпитализации субъекта в стационар, *например* госпитализации, требующей ночного пребывания.

[00540] В некоторых аспектах, субъектам, получающим клеточную терапию, *например* дозу Т-клеток (*например*, CAR⁺ Т-клеток) в соответствии с предложенными способами и/или предложенными готовыми изделиями или композициями, включая субъектов, получающих амбулаторное лечение, не проводили вмешательство для лечения какой-либо токсичности до или во время введения клеточной дозы, если не или до тех

пор, пока у субъекта не проявятся признаки или симптомы токсичности, такой как нейротоксичность или CRS.

[00541] В некоторых вариантах осуществления, если у субъекта, которому вводили клеточную терапию, например, дозу Т-клеток (например, CAR⁺ Т-клеток), включая субъектов, получавших амбулаторное лечение, наблюдается лихорадка, субъекту вводят или инструктируют по приему или введению лечения для снижения лихорадки. В некоторых вариантах осуществления, лихорадка у субъекта характеризуется как температура тела субъекта, которая равна (или измерена) точно или превышает определенную пороговую температуру или уровень. В некоторых аспектах, пороговая температура представляет собой температуру, связанную, по меньшей мере, с субфебрильной температурой, по меньшей мере, с умеренной лихорадкой и/или, по меньшей мере, с высокой лихорадкой. В некоторых вариантах осуществления, пороговая температура представляет собой конкретную температуру или диапазон. Например, пороговая температура может составлять примерно 38, 39, 40, 41 или 42 градуса Цельсия и/или может находиться в диапазоне от точно или примерно 38 градусов Цельсия до точно или примерно 39 градусов Цельсия, диапазон от точно или примерно 39 градусов Цельсия до точно или примерно 40 градусов Цельсия, диапазон от точно или примерно 40 градусов Цельсия до точно или примерно 41 градуса Цельсия или диапазон от точно или примерно 41 градуса Цельсия до точно или примерно 42 градусов Цельсия.

[00542] В некоторых вариантах осуществления, лечение, сконструированное для снижения лихорадки, включает лечение жаропонижающим агентом. Жаропонижающий агент может включать любой агент, например, соединение, композицию или ингредиент, снижающий лихорадку, такой как один из любого числа агентов, о которых известно, что они обладают жаропонижающим действием, таких как NSAID (таких как ибупрофен, напроксен, кетопрофен и нимесулид), салицилаты, такие как аспирин, салицилат холина, салицилат магния и салицилат натрия, парацетамол, ацетаминофен, метамизол, набуметон, фенаксон, антипирин, антипиретик. В некоторых вариантах осуществления, жаропонижающее средство представляет собой ацетаминофен. В некоторых вариантах осуществления, ацетаминофен можно вводить в дозе 12,5 мг/кг перорально или внутривенно каждые четыре часа. В некоторых вариантах осуществления, он представляет собой или содержит ибупрофен или аспирин.

[00543] В некоторых вариантах осуществления, если лихорадка является устойчивой, субъекту назначают альтернативное лечение для лечения токсичности. Для субъектов, получающих амбулаторное лечение, субъекту дают указание вернуться в больницу, если у субъекта имеется и/или установлено наличие устойчивой лихорадки. В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет и/или определяется или считается имеющим устойчивую лихорадку, если у него или нее наблюдается лихорадка точно соответствующая пороговой температуре или выше, и если лихорадка или температура тела субъекта не снижается или не снижается больше чем на указанную величину (например, больше чем на 1°C и, как правило, не колеблется примерно или больше чем на

0,5°C, 0,4°C, 0,3°C или 0,2°C) после определенного лечения, такого как лечение, направленное на снижение лихорадки, такое как лечение жаропонижающим агентом, например, NSAID или салицилатами, *например*, ибупрофеном, ацетаминофеном или аспирином. Например, считается, что субъект имеет устойчивую лихорадку, если он или она демонстрирует или определено, что он демонстрирует лихорадку, по меньшей мере, точно или примерно 38 или 39 градусов Цельсия, которая не снижается или не снижается больше чем на точно или примерно 0,5°C, 0,4°C, 0,3°C или 0,2°C, или точно или примерно на 1%, 2%, 3%, 4% или 5% в течение 6 часов, в течение 8 часов, или в течение 12 часов, или в течение 24 часов, даже после лечения жаропонижающим средством, таким как ацетаминофен. В некоторых вариантах осуществления, доза жаропонижающего средства представляет собой дозу, обычно эффективную для снижения лихорадки или лихорадки определенного типа, такой как лихорадка, связанная с бактериальной или вирусной инфекцией, например, локализованной или системной инфекцией.

[00544] В некоторых вариантах осуществления, субъект имеет и/или определен или считается имеющим устойчивую лихорадку, если он или она демонстрирует лихорадку с температурой, равной или превышающей соответствующую пороговую температуру, и если лихорадка или температура тела субъекта не изменяется примерно или больше чем на 1°C и обычно не изменяется примерно или больше чем примерно на 0,5°C, 0,4°C, 0,3°C или 0,2°C. Такое отсутствие изменения выше или на определенную величину обычно измеряется в течение заданного периода времени (например, в течение 24-часового, 12-часового, 8-часового, 6-часового, 3-часового или 1-часового периода времени, который может быть измерен с первых признаков лихорадки или с первой температуры выше указанного порога). Например, в некоторых вариантах осуществления, субъект считается или определен как демонстрирующий устойчивую лихорадку, если он или она демонстрирует лихорадку, по меньшей мере, точно или примерно, или, по меньшей мере, точно при примерно 38 или 39 градусов Цельсия, которая не изменяется по температуре больше чем на точно или примерно 0,5°C, 0,4°C, 0,3°C или 0,2°C в течение 6 часов, в течение 8 часов, или в течение 12 часов, или в течение 24 часов.

[00545] В некоторых вариантах осуществления, лихорадка представляет собой устойчивую лихорадку; в некоторых аспектах, субъект лечится в то время, когда субъекта был определен как имеющий устойчивую лихорадку, например, в течение одного, двух, трех, четырех, пяти, шести или меньше часов после такого определения или первого такого определения после начальной терапии, способной вызвать токсичность, такой как клеточная терапия, такая как доза Т-клеток, например, CAR⁺ Т-клеток.

[00546] В некоторых вариантах осуществления, одно или несколько вмешательств или агентов для лечения токсичности, таких как таргетизирующая токсичность терапия, вводят во время или сразу после того, как субъект определен или подтвержден (например, впервые определен или подтвержден) как демонстрирующий устойчивую лихорадку, например, при измерении в соответствии с любым из вышеупомянутых вариантов осуществления. В некоторых вариантах осуществления, одну или несколько

таргетирующих токсичность терапий вводят в течение определенного периода времени после такого подтверждения или определения, например, в течение 30 минут, 1 часа, 2 часов, 3 часов, 4 часов, 6 часов или 8 часов.

В. Гематологическая токсичность

[00547] В некоторых аспектах, за субъектом наблюдают и/или способы снижают риск токсического исхода, который является или связан с гематологической токсичностью, или свидетельствует о ней, такой как тромбоцитопения и/или нейтропения. В некоторых случаях, гематологическая токсичность, включая тромбоцитопению и нейтропению, оценивается в соответствии с Общими терминологическими критериями нежелательных явлений (версия 4.03; Национальный институт рака США, Bethesda, MD, USA). В некоторых случаях, гематологическую токсичность, такую как тромбоцитопения и/или нейтропения, отслеживают до, во время и после введения(ий) иммуномодулирующего соединения, например соединения А или соединения В. В некоторых случаях, гематологическую токсичность, такую как как тромбоцитопения и/или нейтропения, контролируют перед каждым введением иммуномодулирующего соединения, например, соединения А или соединения В. В некоторых случаях, гематологическую токсичность, такую как тромбоцитопения и/или нейтропения, контролируют, по меньшей мере, каждые 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 дней после введения иммуномодулирующего соединения, например, соединения А или соединения В.

[00548] В некоторых вариантах осуществления, проводят общий анализ крови для мониторинга уровней лейкоцитов (белых клеток крови) у субъекта, включая нейтрофилы и тромбоциты. Можно использовать различные способы общего клинического анализа крови (СВС) и/или дифференциального подсчета лейкоцитов. В некоторых вариантах осуществления, используется гематологический анализатор.

[00549] Нейтропения характеризуется снижением количества нейтрофилов в крови, что часто приводит к повышенной восприимчивости к бактериальным и грибковым инфекциям. Общие симптомы нейтропении у пациентов включают, например, лихорадку, язвы во рту и ушные инфекции. Пациенты с глубокой нейтропенией часто страдают гнойными инфекциями, такими как септицемия, кожный целлюлит, абсцессы печени, фурункулез, пневмония, стоматит, гингивит, периректальное воспаление, колит, синусит и средний отит.

[00550] В некоторых вариантах осуществления, для определения уровней нейтропении используют абсолютное количество нейтрофилов (ANC). ANC можно рассчитать по компонентам общего анализа крови. В некоторых вариантах осуществления, тяжесть нейтропении классифицируется на основе абсолютного числа нейтрофилов (ANC), измеренного в клетках на микролитр крови: а) легкая нейтропения (от 1000 до 1500 клеток/мл); б) умеренная нейтропения (3 степень; от 500 до 1000 клеток/мл); в) тяжелая нейтропения (4 степень; <500 клеток/мл). В некоторых вариантах осуществления, нейтропения может быть оценена в соответствии с критериями, изложенными в Таблице 4. Субъекты с тяжелой нейтропенией часто имеют серьезный

риск заражения.

Таблица 4: Классификация нейтропении	
Степень	ANC
1 степень	$< 2,0 \times 10^9/\text{л}$ ($< 2000/\text{мм}^3$) и $> 1,5 \times 10^9/\text{л}$ ($> 1500/\text{мм}^3$)
2 степень	$< 1,5 \times 10^9/\text{л}$ ($< 1500/\text{мм}^3$) и $> 1,0 \times 10^9/\text{л}$ ($> 1000/\text{мм}^3$)
3 степень	$< 1,0 \times 10^9/\text{л}$ ($< 1000/\text{мм}^3$) и $> 0,5 \times 10^9/\text{л}$ ($> 500/\text{мм}^3$)
4 степень	$< 0,5 \times 10^9/\text{л}$ ($< 500/\text{мм}^3$)

[00551] В некоторых случаях, нейтропения является фебрильной нейтропенией (также называемой нейтропенической лихорадкой или нейтропеническим сепсисом). Фебрильная нейтропения возникает, когда у пациента наблюдается температура выше 38°C и низкий уровень нейтрофилов или нейтропения. В некоторых вариантах осуществления, фебрильная нейтропения может быть оценена в соответствии с критериями, изложенными в Таблице 5.

Таблица 5: Типовые критерии оценки фебрильной нейтропении	
Степень	Описание симптомов
3 степень	ANC $< 1000/\text{мм}^3$ и однократная температура $> 38,3^\circ\text{C}$ (101°F) или устойчивая температура $\geq 38^\circ\text{C}$ ($100,4^\circ\text{F}$) в течение более одного часа
4 степень	опасные для жизни последствия и показания к срочному вмешательству
5 степень	смерть

[00552] В некоторых вариантах осуществления, субъект находится под наблюдением на предмет тромбоцитопении. Тромбоцитопения характеризуется количеством тромбоцитов менее 150000 клеток на микролитр (мкл). Проявления тромбоцитопении, особенно у пациентов с более тяжелыми степенями, могут включать кровотечения, экхимозы, петехии, пурпуру и гиперспленизм. Тромбоцитопения может быть охарактеризована как тромбоцитопения 1 степени (т.е. количество тромбоцитов от 75000 до 150000/мкл), 2 степени (т.е. количество тромбоцитов от 50000 до $< 75000/\text{мкл}$), 3 степени (количество тромбоцитов от 25000 до $< 50000/\text{мкл}$) или 4 степени (т. е. количество тромбоцитов ниже 25000/мкл).

[00553] В некоторых вариантах осуществления предложенных способов, если установлено, что у субъекта демонстрируется гематологическая токсичность, такая как тромбоцитопения и/или нейтропения или ее конкретная степень, можно изменить курсовую терапию иммуномодулирующим соединением, например, соединением А или соединением В. В некоторых аспектах, курсовая терапия изменяется, если после введения иммуномодулирующего соединения, например соединения А или соединения В, у субъекта возникает тромбоцитопения 3 степени или выше; нейтропения 3 степени; устойчивая нейтропения 3 степени (например, по меньшей мере, более 3, 5 или 7 дней);

нейтропения 4 степени; фебрильная нейтропения 3 степени и выше. В некоторых вариантах осуществления, введение иммуномодулирующего соединения, например, соединения А или соединения В, прекращают навсегда или приостанавливают до тех пор, пока признаки или симптомы токсичности не исчезнут, не уменьшатся или не снизятся. Для оценки одного или нескольких признаков или симптомов токсичности можно проводить постоянный мониторинг субъекта, например, с помощью общего анализа крови или дифференциального анализа лейкоцитов. В некоторых случаях, если токсичность проходит или снижается, введение соединения А или соединения В можно возобновить в той же дозе или схеме дозирования до приостановки курсовой терапии, в более низкой или уменьшенной дозе и/или в схеме дозирования, включая менее частое дозирование. В некоторых вариантах осуществления, в случаях возобновления курсовой терапии, дозу снижают или уменьшают, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно или примерно на 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50% или 60%. В некоторых вариантах осуществления, если доза до приостановки клеточной терапии составляет 2 мг (например, в течение 5/7 дней), доза снижается до 1 мг (вводится 5/7 дней). В некоторых аспектах, если гематологическая токсичность настолько серьезна, что курсовая терапия прекращается более чем на 4 недели, курсовую терапию можно прекратить навсегда.

[00554] В некоторых вариантах осуществления, субъекту можно вводить одно или несколько средств для лечения, облегчения или ослабления одного или нескольких симптомов, связанных с гематологической токсичностью. В некоторых случаях субъекту вводят миелоидные факторы роста, такие как G-CSF или GM-CSF, до улучшения гематологической токсичности. Примеры такой терапии включают филграстим или пегфилграстим. В некоторых аспектах, такие агенты вводят субъектам, страдающим тяжелой нейтропенией или фебрильной нейтропенией, включая нейтропению любой степени 3 или выше любой продолжительности.

С. Не гематологическая токсичность

[00555] В некоторых аспектах, токсический результат является или связан с ней, или указывает на одну или несколько не гематологических токсичностей после введения иммуномодулирующего соединения, например, соединения А или соединения В. Примеры не гематологической токсичности включают, но не ограничены ими, транзиторное усугубление клинических проявлений опухоли, инфекции, синдром лизиса опухоли, отклонения лабораторных показателей сердца, тромбоэмболические явления (такие как тромбоз глубоких вен и легочная эмболия) и/или пневмонит.

[00556] В некоторых аспектах, не гематологическая токсичность представляет собой транзиторное усугубление клинических проявлений опухоли (TFR) (иногда также называемую псевдопрогрессированием). TFR представляет собой внезапное увеличение размеров патологических очагов, включая лимфатические узлы, селезенку и/или печень, часто сопровождающееся субфебрильной температурой, болезненностью и отечностью, диффузной сыпью и, в некоторых случаях, увеличением количества лимфоцитов периферической крови. В некоторых вариантах осуществления, TFR оценивают в

соответствии с Общими терминологическими критериями нежелательных явлений (версия 3.0; Национальный институт рака США, Bethesda, MD, USA). В некоторых вариантах осуществления, TFR оценивают следующим образом: степень 1, умеренная боль, не нарушающая функцию; степень 2, умеренная боль, боль или анальгетики, препятствующие функционированию, но не влияющие на повседневную деятельность (ADL); степень 3, сильная боль, боль или анальгетики, нарушающие функцию и препятствующие ADL; 4 класс, инвалидность; 5 класс, смерть. В некоторых вариантах осуществления, субъекту можно вводить один или несколько агентов для лечения, облегчения или уменьшения одного или нескольких симптомов, связанных с TFR, таких как кортикостероиды, NSAID и/или наркотический анальгетик.

[00557] В некоторых аспектах, не гематологическая токсичность представляет собой синдром лизиса опухоли (TLS). В некоторых вариантах осуществления, TLS можно оценивать в соответствии с критериями, указанными в системе классификации Cairo-Bishop (Cairo and Bishop (2004) Br J Haematol, 127:3-11). В некоторых вариантах осуществления, субъектам может быть введена внутривенная гидратация для уменьшения гиперурикемии.

[00558] В некоторых вариантах осуществления, за субъектами можно следить на предмет сердечной токсичности, например, путем мониторинга ECGS, LVEF и мониторинга уровней тропонина-Т и BNP. В некоторых вариантах осуществления, может возникнуть кардиотоксичность, которая потенциально может потребовать удержания или суспендирования соединения А или соединения В, если наблюдаются повышенные уровни тропонина-Т и/или BNP с одним или несколькими сердечными симптомами.

[00559] В некоторых вариантах осуществления предложенных способов, если установлено, что субъект демонстрирует не гематологическую токсичность, такую как TFR или другая не гематологическая токсичность или ее конкретная степень, можно изменить курсовую терапию иммуномодулирующим соединением, например, соединением А или соединением В. В некоторых аспектах, циклическая терапия изменяется, если после введения иммуномодулирующего соединения, например, соединения А или соединения В, у субъекта наблюдается не гематологическая токсичность 3 степени или выше, такая как TFR 3 степени или выше. В некоторых вариантах осуществления, введение иммуномодулирующего соединения, например, соединения А или соединения В, прекращают навсегда или приостанавливают до тех пор, пока признаки или симптомы токсичности не исчезнут, не уменьшатся или не понизятся. Для оценки одного или нескольких признаков или симптомов токсичности можно проводить продолжительное наблюдение за субъектом. В некоторых случаях, если токсичность проходит или снижается, введение иммуномодулирующего соединения, например соединения А или соединения В, можно возобновить в той же дозе или схеме дозирования до приостановки циклической терапии, в более низкой или уменьшенной дозе и/или в схеме дозирования, включающей менее частое дозирование. В некоторых вариантах осуществления, в случаях возобновления курсовой терапии дозу снижают или

уменьшают, по меньшей мере, или, по меньшей мере, примерно или примерно на 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50% или 60%. В некоторых вариантах осуществления, для соединения А или соединения В, если доза до приостановки клеточной терапии составляет 2 мг (например, в течение 5/7 дней), доза снижается до 1 мг (вводится 5/7 дней). В некоторых вариантах осуществления, если токсичность 3 степени повторяется даже после снижения дозы, доза может быть дополнительно снижена. В некоторых вариантах осуществления, если токсичность 4 степени повторяется даже после снижения дозы, курсовую терапию можно окончательно прекратить. В некоторых аспектах, если гематологическая токсичность настолько серьезна, что курсовая терапия прекращается более чем на 4 недели, курсовую терапию можно прекратить навсегда.

V. ГОТОВЫЕ ИЗДЕЛИЯ И НАБОРЫ

[00560] Также предложены готовые изделия, содержащие иммуномодулирующее лекарственное средство (иммуномодулирующее соединение), такое как соединение А или соединение В, и компоненты для иммунотерапии, *например*, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, или Т-клеточную терапию, *например*, сконструированные клетки и/или их композиции. Готовые изделия могут включать контейнер и этикетку или вкладыш в упаковку на контейнере или связанные с ним. Подходящие контейнеры включают, например, бутылки, флаконы, шприцы, пакеты с раствором для в/в введения и т. д. Контейнеры могут быть изготовлены из различных материалов, таких как стекло или пластик. Контейнер, в некоторых вариантах осуществления, содержит композицию, которая сама по себе или в комбинации с другой композицией эффективна для лечения, профилактики и/или диагностики состояния. В некоторых вариантах осуществления, контейнер имеет стерильное отверстие для доступа. Примеры контейнеров включают пакеты для внутривенных растворов, флаконы, в том числе с пробками, прокалываемыми иглой для инъекций, или бутылки или флаконы для перорально вводимых агентов. На этикетке или листке-вкладыше может быть указано, что композиция используется для лечения заболевания или состояния.

[00561] Готовое изделие может включать (а) первый контейнер с содержащейся в нем композицией, где композиция включает антитело или сконструированные клетки, используемые для иммунотерапии, *например* Т-клеточной терапии; и (b) второй контейнер с содержащейся в нем композицией, где композиция включает второй агент, такой как иммуномодулирующее соединение, *например*, соединение А или соединение В. Готовое изделие может дополнительно включать вкладыш в упаковку, указывающий, что композиции могут использоваться для лечения определенного состояния. Альтернативно или дополнительно, готовое изделие может дополнительно включать другой или такой же контейнер, содержащий фармацевтически приемлемый буфер. Он может дополнительно включать другие материалы, такие как другие буферы, разбавители, фильтры, иглы и/или шприцы.

VI. ОПРЕДЕЛЕНИЯ

[00562] Если не указано иное, все термины в области техники, обозначения и

другие технические и научные термины или терминология, используемые в данном документе, имеют то же значение, которое обычно понимается специалистом в области техники, к которой относится заявленный объект изобретения. В некоторых случаях, термины с общепринятыми значениями определены в настоящем документе для ясности и/или для удобства ссылки, и включение таких определений в настоящем документе не обязательно должно толковаться как представляющее существенное отличие от того, что обычно понимается в данной области техники.

[00563] Используемый в настоящем документе термин «субъект» представляет собой млекопитающее, такое как человек или другое животное, и обычно представляет собой человека. В некоторых вариантах осуществления, субъект, например пациент, которому вводят агент или агенты, клетки, клеточные популяции или композиции, является млекопитающим, обычно приматом, таким как человек. В некоторых вариантах осуществления, примат представляет собой мартышку или человекообразную обезьяну. Субъект может быть мужчиной или женщиной, и может быть любого подходящего возраста, включая младенцев, детей, подростков, взрослых и пожилых людей. В некоторых вариантах осуществления, субъектом является млекопитающее, не относящееся к приматам, такое как грызун.

[00564] Используемый в настоящем документе термин «лечение» (и его грамматические варианты, такие как «лечить» или «лечение») относится к полному или частичному улучшению или уменьшению заболевания, состояния или нарушения, или симптома, неблагоприятного эффекта или исхода, или фенотипа, связанного с ним. Желательные эффекты лечения включают, но не ограничены ими, профилактику возникновения или рецидива заболевания, облегчение симптомов, уменьшение любых прямых или косвенных патологических последствий заболевания, профилактику метастазирования, снижение скорости прогрессирования заболевания, улучшение или паллиативное лечение, болезненное состояние, ремиссию или улучшение прогноза. Эти термины не подразумевают полное излечение заболевания или полное устранение любого симптома или воздействия на все симптомы или исходы.

[00565] Используемый в настоящем документе термин «задержка развития заболевания» означает отсрочку, препятствование, замедление, задержку, стабилизацию, подавление и/или отсрочку развития заболевания (такого как рак). Эта задержка может быть разной продолжительности, в зависимости от истории болезни и/или индивидуума, проходящего лечение. В некоторых вариантах осуществления, достаточная или значительная задержка может, по сути, включать профилактику в том смысле, что у индивидуума не развивается заболевание. Например, поздняя стадия рака, такая как развитие метастазов, может быть отсрочена.

[00566] «Профилактика», как используется в данном документе, включает проведение профилактики в отношении возникновения или рецидива заболевания у субъекта, который может быть предрасположен к заболеванию, но у которого заболевание еще не диагностировано. В некоторых вариантах осуществления, предложенные клетки и

композиции используют для задержки развития заболевания или для замедления прогрессирования заболевания.

[00567] Используемый в настоящем документе термин «подавить» функцию или активность означает снижение функции или активности по сравнению с теми же условиями, за исключением представляющего интерес состояния или параметра, или, альтернативно, по сравнению с другим состоянием. Например, клетки, подавляющие рост опухоли, снижают скорость роста опухоли по сравнению со скоростью роста опухоли в отсутствие клеток.

[00568] «Эффективное количество» агента, например, фармацевтического состава, клеток или композиции, в контексте введения относится к количеству, эффективному в дозах/количествах и в течение периодов времени, необходимых для достижения желаемого результата, например как лечебный или профилактический результат.

[00569] «Терапевтически эффективное количество» агента, например, фармацевтического состава или клеток, относится к количеству, эффективному в дозах и в течение необходимых периодов времени для достижения желаемого терапевтического результата, например, для лечения заболевания, состояния, или нарушения, и/или фармакокинетического или фармакодинамического эффекта лечения. Терапевтически эффективное количество может варьироваться в зависимости от таких факторов, как болезненное состояние, возраст, пол и вес субъекта, а также популяции вводимых клеток. В некоторых вариантах осуществления, предложенные способы включают введение клеток и/или композиций в эффективных количествах, например, терапевтически эффективных количествах.

[00570] «Профилактически эффективное количество» относится к количеству, эффективному в дозах и в течение периодов времени, необходимых для достижения желаемого профилактического результата. Как правило, но не обязательно, поскольку профилактическая доза используется у субъектов до или на более ранней стадии заболевания, профилактически эффективное количество будет меньше, чем терапевтически эффективное количество. В контексте меньшей опухолевой массы, профилактически эффективное количество в некоторых аспектах, будет меньше, чем терапевтически эффективное количество.

[00571] Термин «фармацевтический состав» относится к препарату, который находится в такой форме, которая обеспечивает эффективную биологическую активность содержащегося в нем активного ингредиента, и который не содержит дополнительных компонентов, являющихся неприемлемо токсичными для субъекта, для которого состав был бы предназначен.

[00572] «Фармацевтически приемлемый носитель» относится к ингредиенту фармацевтического состава, отличному от активного ингредиента, который нетоксичен для субъекта. Фармацевтически приемлемый носитель включает, но не ограничен ими, буфер, эксципиент, стабилизатор или консервант.

[00573] Используемый в настоящем документе термин «субъект» или

«индивидуум» представляет собой млекопитающее. В некоторых вариантах осуществления, «млекопитающее» включает людей, приматов, домашних и сельскохозяйственных животных, а также животных из зоопарка, спортивных или домашних животных, таких как собаки, лошади, кролики, крупный рогатый скот, свиньи, хомяки, песчанки, мыши, хорьки, крысы, кошки, обезьяны и *т.д.* В некоторых вариантах осуществления, субъектом является человек.

[00574] Как используется в настоящем документе, указание на то, что положения нуклеотидов или аминокислот «соответствуют» положениям нуклеотидов или аминокислот в описанной последовательности, такой как представлена в списке последовательностей, относится к положениям нуклеотидов или аминокислот, идентифицированным при сопоставлении с описанной последовательностью для максимизации идентификации с использованием стандартного алгоритма выравнивания, такого как алгоритм GAP. Выравнивая последовательности, можно идентифицировать соответствующие остатки, например, используя в качестве направляющих консервативные и идентичные аминокислотные остатки. Как правило, для определения соответствующих положений последовательности аминокислот выравнивают таким образом, чтобы получить соответствие наивысшего порядка (см., например: *Computational Molecular Biology*, Lesk, A.M., ed., Oxford University Press, New York, 1988; *Biocomputing: Informatics and Genome Projects*, Smith, D.W., ed., Academic Press, New York, 1993; *Computer Analysis of Sequence Data, Part I*, Griffin, A.M., and Griffin, H.G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994; *Sequence Analysis in Molecular Biology*, von Heinje, G., Academic Press, 1987; and *Sequence Analysis Primer*, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991; Carrillo et al. (1988) *SIAM J Applied Math* 48: 1073).

[00575] Термин «вектор», используемый в настоящем документе, относится к молекуле нуклеиновой кислоты, способной к размножению другой нуклеиновой кислоты, с которой она связана. Термин включает вектор как самовоспроизводящуюся структуру нуклеиновой кислоты, а также вектор, включенный в геном клетки-хозяина, в которую он был введен. Некоторые векторы способны направлять экспрессию нуклеиновых кислот, с которыми они функционально связаны. Такие векторы называются в настоящем документе «векторами экспрессии». Векторы включают вирусные векторы, такие как ретровирусные, например, гаммаретровирусные и лентивирусные векторы.

[00576] Термины «клетка-хозяин», «линия клеток-хозяев» и «культура клеток-хозяев» используются взаимозаменяемо и относятся к клеткам, в которые была введена экзогенная нуклеиновая кислота, включая потомство таких клеток. Клетки-хозяева включают «трансформанты» и «трансформированные клетки», которые включают первичную трансформированную клетку и полученное из нее потомство независимо от количества пассажей. Потомство может не быть полностью идентичным по содержанию нуклеиновых кислот родительской клетке, но может содержать мутации. Мутантное потомство, обладающее той же функцией или биологической активностью, что и скринированные или отобранные в исходно трансформированной клетке, включены в

настоящий документ.

[00577] В контексте настоящего документа утверждение о том, что клетка или популяция клеток является «положительной» в отношении определенного маркера, относится к выявляемому присутствию на или в клетке определенного маркера, обычно поверхностного маркера. Когда речь идет о поверхностном маркере, этот термин относится к наличию поверхностной экспрессии, выявляемой с помощью проточной цитометрии, например, путем окрашивания антителом, которое специфически связывается с маркером, и обнаружения указанного антитела, где окрашивание выявляется с помощью проточной цитометрии на уровне, существенно превышающем уровень окрашивания, обнаруженный при проведении той же процедуры с изотипически подобранным контролем при идентичных в остальных условиях и/или на уровне, существенно сходным с уровнем для клеток, о которых известно, что они являются положительными в отношении маркера и/или на уровне, значительно превышающем уровень для клеток, о которых известно, что они являются отрицательными в отношении маркера.

[00578] В контексте настоящего документа утверждение о том, что клетка или популяция клеток являются «отрицательными» в отношении определенного маркера, относится к отсутствию существенного обнаруживаемого присутствия на или в клетке определенного маркера, обычно поверхностного маркера. Когда речь идет о поверхностном маркере, этот термин относится к отсутствию поверхностной экспрессии, выявляемой с помощью проточной цитометрии, например, путем окрашивания антителом, которое специфически связывается с маркером, и обнаружения указанного антитела, где окрашивание не выявляется с помощью проточной цитометрии на уровне, значительно превышающем уровень окрашивания, обнаруженный при выполнении той же процедуры с контрольным изотипом при идентичных в остальных условиях, и/или на уровне, существенно более низком, чем уровень для клеток, о которых известно, что они являются положительными в отношении маркера, и/или на уровне, существенно сходном с таковым для клеток, о которых известно, что они являются отрицательными в отношении маркера.

[00579] Аминокислотная замена может включать замену одной аминокислоты в полипептиде другой аминокислотой. Замена может быть заменой консервативной аминокислоты или заменой не консервативной аминокислоты. Аминокислотные замены могут быть введены в представляющую интерес связывающую молекулу, например, в антитело, и продукты подвергают скринингу на желаемую активность, *например*, сохранение/улучшение связывания антигена, снижение иммуногенности или улучшение ADCC или CDC.

[00580] Аминокислоты обычно можно сгруппировать в соответствии со следующими общими свойствами боковой цепи:

[00581] (1) гидрофобные: норлейцин, Met, Ala, Val, Leu, Ile;

[00582] (2) нейтральные гидрофильные: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;

[00583] (3) кислые: Asp, Glu;

[00584] (4) основные: His, Lys, Arg;

[00585] (5) остатки, влияющие на ориентацию цепи: Gly, Pro;

[00586] (6) ароматические: Trp, Tyr, Phe.

[00587] В некоторых вариантах осуществления, консервативные замены могут включать замену члена одного из этих классов на другой член того же класса. В некоторых вариантах осуществления, не консервативные аминокислотные замены могут включать замену члена одного из этих классов на другой класс.

[00588] Используемые в настоящем документе термины «доля (%) идентичности аминокислотной последовательности» и «доля идентичности» при использовании в отношении аминокислотной последовательности (эталонной полипептидной последовательности) определяются как доля аминокислотных остатков в последовательности-кандидате (например, антителе или его фрагменте), которые идентичны аминокислотным остаткам в последовательности эталонного полипептида, после выравнивания последовательностей и введения гэпов, если это необходимо, для достижения максимальной доли идентичности последовательности, и без учета каких-либо консервативных замен как части идентичности последовательности. Выравнивание для целей определения доли идентичности аминокислотной последовательности может быть достигнуто различными способами, например, с использованием общедоступного компьютерного программного обеспечения, такого как программное обеспечение BLAST, BLAST-2, ALIGN или Megalign (DNASTAR). Могут быть определены соответствующие параметры для выравнивания последовательностей, включая любые алгоритмы, необходимые для достижения максимального выравнивания по всей длине сравниваемых последовательностей.

[00589] Используемые в настоящем документе формы единственного числа «a», «an» и «the» включают ссылки во множественном числе, если из контекста явно не следует иное. Например, «a» или «an» означает «по меньшей мере, один» или «один или несколько». Понятно, что аспекты и вариации, описанные в настоящем документе, включают «состоящие» и/или «состоящие по существу из» аспектов и вариантов.

[00590] Во всем данном описании, различные аспекты заявленного объекта представлены в формате диапазона. Следует понимать, что описание в формате диапазона предназначено только для удобства и краткости и не должно рассматриваться как жесткое ограничение объема заявленного предмета изобретения. Соответственно, следует считать, что описание диапазона конкретно раскрывает все возможные поддиапазоны, а также отдельные числовые значения в пределах этого диапазона. Например, когда предоставляется диапазон значений, подразумевается, что каждое промежуточное значение между верхним и нижним пределом этого диапазона и любым другим установленным или промежуточным значением в указанном диапазоне охватывается заявленным предметом изобретения. Верхние и нижние пределы этих меньших диапазонов могут независимо включаться в меньшие диапазоны, а также охватываются заявленным объектом, с учетом любого специально исключенного предела в указанном

диапазоне. Если указанный диапазон включает один или оба предела, диапазоны, исключающие один или оба из этих включенных пределов, также включаются в заявленный объект изобретения. Это применимо независимо от широты диапазона.

[00591] Используемый в настоящем документе термин «примерно» относится к обычному диапазону ошибок для соответствующего значения, хорошо известному специалисту в данной области техники. Ссылка на «примерно» значения или параметра в данном документе включает (и описывает) варианты осуществления, которые связаны с этим значением или параметром как таковым. Например, описание, относящееся к «примерно X» включает описание «X».

[00592] Используемый в настоящем документе термин «композиция» относится к любой смеси двух или нескольких продуктов, веществ или соединений, включая клетки. Это может быть раствор, суспензия, жидкость, порошок, паста, водный, неводный или любая их комбинация.

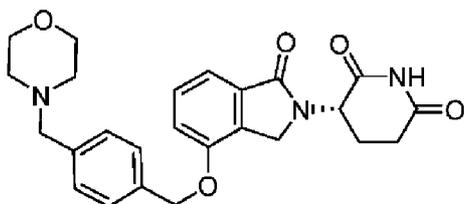
VII. ТИПОВЫЕ ВАРИАНТЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

[00593] Среди предложенных вариантов осуществления:

1. Способ лечения множественной миеломы, включающий:

(a) введение Т-клеточной терапии субъекту с рецидивирующей или трудно поддающейся лечению множественной миеломой (R/R MM), где указанная Т-клеточная терапия включает дозу генетически сконструированных Т-клеток, экспрессирующих химерный антигенный рецептор (CAR), который специфически связывается с ВСМА; и

(b) введение субъекту иммуномодулирующего соединения, которое представляет собой (S)-3-[4-(4-морфолин-4-илметилбензилокси)-1-оксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил]-пиперидин-2,6-дион, имеющий следующую структуру:



или его фармацевтически приемлемую соль, сольват, гидрат, сокристалл, клатрат или полиморф,

где введение иммуномодулирующего соединения начинают после введения Т-клеточной терапии.

2. Способ по варианту осуществления 1, где соединение представляет собой или содержит фармацевтически приемлемую соль (S)-3-[4-(4-морфолин-4-илметилбензилокси)-1-оксо-1,3-дигидро-изоиндол-2-ил]-пиперидин-2,6-диона.

3. Способ по варианту осуществления 1, где соединение представляет собой или содержит гидрат (S)-3-[4-(4-морфолин-4-илметилбензилокси)-1-оксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил]-пиперидин-2,6-диона.

4. Способ по варианту осуществления 1, где соединение представляет собой или содержит сольват (S)-3-[4-(4-морфолин-4-илметилбензилокси)-1-оксо-1,3-

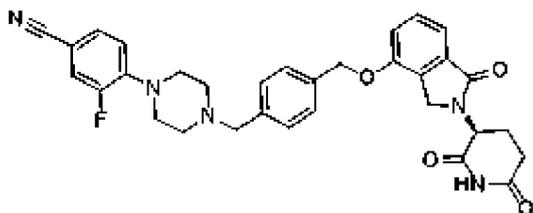
дигидроизоиндол-2-ил]-пиперидин-2,6-диона.

5. Способ по варианту осуществления 1, где соединение представляет собой или содержит (S)-3-[4-(4-морфолин-4-илметилбензилокси)-1-оксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил]-пиперидин-2,6-дион.

6. Способ лечения множественной миеломы, включающий:

(а) введение Т-клеточной терапии субъекту с рецидивирующей или трудно поддающейся лечению множественной миеломой (R/R MM), где указанная Т-клеточная терапия включает дозу генетически модифицированных Т-клеток, экспрессирующих химерный антигенный рецептор (CAR), который специфически связывается с ВСМА; и

(б) введение субъекту иммуномодулирующего соединения, которое представляет собой (S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил, имеющий следующую структуру:



или его фармацевтически приемлемую соль, сольват, гидрат, сокристалл, клатрат или полиморф,

где введение иммуномодулирующего соединения начинают после введения Т-клеточной терапии.

7. Способ по варианту осуществления 6, где соединение представляет собой или содержит фармацевтически приемлемую соль (S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрила.

8. Способ по варианту осуществления 6, где соединение представляет собой или содержит гидрат (S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрила.

9. Способ по варианту осуществления 6, где соединение представляет собой или содержит сольват (S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрила.

10. Способ по варианту 7, где соединение представляет собой или содержит (S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил.

11. Способ по любому из вариантов осуществления 1-10, где у субъекта возник рецидив или он трудно поддавался лечению после, по меньшей мере, 3 или, по меньшей мере, 4 предшествующих терапий множественной миеломы.

12. Способ по любому из вариантов осуществления 1-11, где субъект получил три или несколько видов терапии, выбранных из:

трансплантации аутологичных стволовых клеток (ASCT);

иммуномодулирующего агента;
ингибитора протеасомы; и
анти-CD38 антитела; кроме случаев, когда субъект не был кандидатом или не имел противопоказаний для одной или нескольких терапий.

13. Способ по варианту осуществления 12, где иммуномодулирующий агент выбран из талидомида, леналидомида и помалидомида.

14. Способ по варианту осуществления 12, где ингибитор протеасом выбран из бортезомиба, карфилзомиба и иксазомиба.

15. Способ по варианту осуществления 12, где анти-CD38 антитело представляет собой или содержит даратумумаб.

16. Способ по любому из вариантов осуществления 1-15, где во время введения субъект трудно поддавался лечению или не отвечал на бортезомиб, карфилзомиб, леналидомид, помалидомид и/или анти-CD38 моноклональное антитело.

17. Способ по любому из вариантов осуществления 1-16, где, на момент введения, субъект имеет цитогенетику высокого риска IMWG.

18. Способ по любому из вариантов осуществления 1-17, где введение соединения начинают во время или до достижения пикового размножения Т-клеточной терапии у субъекта.

19. Способ по варианту осуществления 18, где пиковое размножение Т-клеточной терапии приходится на период от точно или примерно 11 дней до точно или примерно 15 дней после введения Т-клеточной терапии.

20. Способ по любому из вариантов осуществления 1-19, где введение соединения начинают в период от точно или примерно 1 дня до точно или примерно 15 дней, включительно, после введения Т-клеточной терапии.

21. Способ по любому из вариантов осуществления 1-20, где введение соединения начинают в период от точно или примерно 1 дня до точно или примерно 11 дней, включительно, после введения Т-клеточной терапии.

23. Способ по любому из вариантов осуществления 1-21, где введение соединения начинают в период от точно или примерно 8 дней до точно или примерно 15 дней, включительно, после введения Т-клеточной терапии.

24. Способ по любому из вариантов осуществления 1-23, где введение соединения начинают через или примерно через 1 день после введения Т-клеточной терапии.

25. Способ по любому из вариантов осуществления 1-23, где введение соединения начинают через или примерно через 8 дней после введения Т-клеточной терапии.

26. Способ по любому из вариантов осуществления 1-23, где введение соединения начинают через или примерно через 15 дней после введения Т-клеточной терапии.

27. Способ по любому из вариантов осуществления 1-17, где введение соединения начинают через от примерно 14 до примерно 35 дней после начала введения Т-клеточной терапии.

28. Способ по любому из вариантов осуществления 1-17 и 27, где введение

соединения начинают через от примерно 21 до примерно 35 дней после начала введения Т-клеточной терапии.

29. Способ по любому из вариантов осуществления 1-17, 27 и 28, где введение соединения начинают через от примерно 21 до примерно 28 дней после начала введения Т-клеточной терапии.

30. Способ по любому из вариантов осуществления 1-17 и 27-29, где введение соединения начинают через точно или примерно 21 день, точно или примерно 22 дня, точно или примерно 23 дня, точно или примерно 24 дня, точно или примерно 25 дней, точно или примерно 26 дней, точно или примерно 27 дней или точно или примерно 28 дней после начала введения Т-клеточной терапии.

31. Способ по любому из вариантов осуществления 1-17 и 27-30, где введение соединения начинают через или примерно через 28 дней после начала введения Т-клеточной терапии.

32. Способ по любому из вариантов осуществления 1-31, где соединение вводят, по меньшей мере, один раз в день по курсовой схеме.

33. Способ по варианту осуществления 32, где курсовая схема представляет собой четырехнедельный (28-дневный) курс, где соединение вводят ежедневно в течение четырехнедельного курса.

34. Способ по варианту осуществления 32, где курсовая схема представляет собой четырехнедельный (28-дневный) курс, где соединение вводят ежедневно в течение трех последовательных недель в четырехнедельном курсе.

35. Способ по варианту осуществления 32, где курсовая схема представляет собой четырехнедельный (28-дневный) курс, где соединение вводят ежедневно в течение с 1 по 21 день каждого четырехнедельного курса.

36. Способ по любому из вариантов осуществления 32-35, где курсовую схему повторяют множество раз.

37. Способ по варианту осуществления 36, где множество раз составляет от двух до 12 курсовых схем.

38. Способ по варианту осуществления 36 или варианту осуществления 37, где курсовую схему повторяют 3 раза.

39. Способ по варианту осуществления 36 или варианту осуществления 37, где курсовую схему повторяют 4 раза.

40. Способ по варианту осуществления 36 или варианту осуществления 37, где курсовую схему повторяют 5 раз.

41. Способ по варианту осуществления 36 или варианту осуществления 37, где курсовую схему повторяют 6 раз.

42. Способ по любому из вариантов осуществления 1-41, где иммуномодулирующее соединение вводят вплоть до точно или примерно трех месяцев после начала введения Т-клеточной терапии.

43. Способ по любому из вариантов осуществления 1-41, где

иммуномодулирующее соединение вводят вплоть до точно или примерно шести месяцев после начала введения Т-клеточной терапии.

44. Способ по любому из вариантов осуществления 1-43, где иммуномодулирующее соединение вводят в количестве от примерно 0,1 мг до примерно 1,0 мг в день.

45. Способ по любому из вариантов осуществления 1-44, где иммуномодулирующее соединение вводят в количестве от примерно 0,3 мг до примерно 0,6 мг.

46. Способ по любому из вариантов осуществления 1-45, где иммуномодулирующее соединение вводят в количестве точно или примерно 0,3 мг.

47. Способ по любому из вариантов осуществления 1-45, где иммуномодулирующее соединение вводят в количестве точно или примерно 0,45 мг.

48. Способ по любому из вариантов осуществления 1-45, где иммуномодулирующее соединение вводят в количестве точно или примерно 0,6 мг.

49. Способ по любому из вариантов осуществления 1-48, где соединение вводят перорально.

50. Способ по любому из вариантов осуществления 1-49, где во время начала введения соединения субъект не демонстрирует тяжелую токсичность после введения Т-клеточной терапии.

51. Способ по варианту осуществления 50, где:

тяжелая токсичность представляет собой тяжелый синдром высвобождения цитокинов (CRS), необязательно 3 степени или выше, длительный CRS 3 степени или выше или 4 или 5 степени; и/или

тяжелая токсичность представляет собой тяжелую нейротоксичность, необязательно 3 степени или выше, длительную нейротоксичность 3 степени или выше или 4 или 5 степени.

52. Способ по любому из вариантов осуществления 1-51, где введение соединения приостанавливают и/или курсовую схему изменяют, если субъект демонстрирует токсичность после введения соединения, необязательно, гематологическую токсичность.

53. Способ по варианту осуществления 52, где токсичность выбрана из тяжелой нейтропении, необязательно, фебрильной нейтропении, пролонгированной нейтропении 3 степени или выше.

54. Способ по любому из вариантов осуществления 1-53, где введение соединения: обращает фенотип истощения в CAR-экспрессирующих Т-клетках у субъекта; предотвращает, ингибирует или задерживает начало фенотипа истощения в CAR-экспрессирующих Т-клетках у субъекта;

или снижает уровень или степень фенотипа истощения в CAR-экспрессирующих Т-клетках у субъекта; или

уменьшает долю от общего числа CAR-экспрессирующих Т-клеток у субъекта, которые имеют фенотип истощения.

55. Способ по любому из вариантов осуществления 1-54, где после введения соединения или его начала, субъект демонстрирует восстановление или сохранение антиген- или опухолеспецифической активности или функции CAR-экспрессирующих Т-клеток у указанного субъекта, необязательно, где указанное восстановление, сохранение и/или начало введения указанного соединения происходит в момент времени после того, как CAR-экспрессирующие Т-клетки у субъекта или в крови субъекта демонстрируют истощенный фенотип.

56. Способ по любому из вариантов осуществления 1-55, где введение соединения включает введение в количестве, частоте и/или продолжительности, эффективных для того, чтобы:

(а) вызывать повышение антигенспецифической или управляемой антигенным рецептором активности наивных или не истощенных Т-клеток у субъекта, которые необязательно содержат Т-клетки, экспрессирующие указанный CAR, после воздействия на Т-клетки ВСМА или агониста CAR, необязательно, где агонист представляет собой анти-идиотипическое антитело, по сравнению с отсутствием указанного введения указанного соединения; или

(b) предотвращать, ингибировать или задерживать начало фенотипа истощения у наивных или не истощенных Т-клеток у субъекта, которые необязательно содержат Т-клетки, экспрессирующие указанный CAR, после воздействия на Т-клетки ВСМА или агониста CAR, необязательно, где агонист представляет собой анти-идиотипическое антитело, по сравнению с отсутствием указанного введения указанного соединения; или

(c) обратить фенотип истощения в истощенных Т-клетках, необязательно содержащих Т-клетки, экспрессирующие указанный CAR, у субъекта по сравнению с отсутствием указанного введения указанному субъекту.

57. Способ по любому из вариантов осуществления 1-56, где, во время введения соединения был обнаружен или измерен истощенный фенотип одной или нескольких CAR-экспрессирующих Т-клеток или маркер или параметр, указывающий на это, у субъекта или в биологическом образце субъекта.

58. Способ по варианту осуществления 57, где, по меньшей мере, точно или примерно 10%, по меньшей мере, точно или примерно 20%, по меньшей мере, точно или примерно 30%, по меньшей мере, точно или примерно 40% или, по меньшей мере, точно или примерно 50% общего количества CAR-экспрессирующих Т-клеток в биологическом образце субъекта имеет истощенный фенотип.

59. Способ по варианту осуществления 57 или варианту осуществления 58, где более точно или примерно 10%, более точно или примерно 20%, более точно или примерно 30%, более точно или примерно 40% или более точно или примерно 50% CAR-экспрессирующих Т-клеток в биологическом образце от субъекта имеют истощенный фенотип по сравнению с долей CAR-экспрессирующих Т-клеток, имеющих истощенный фенотип в сопоставимом биологическом образце в предыдущий момент времени.

60. Способ по любому из вариантов осуществления 57-59, где фенотип истощения

по отношению к Т-клетке или популяции Т-клеток включает:

увеличение уровня или степени поверхностной экспрессии на Т-клетке или Т-клетках, или доли Т указанной популяции Т-клеток, демонстрирующих поверхностную экспрессию, одного или нескольких маркеров истощения, необязательно 2, 3, 4, 5 или 6 маркеров истощения, по сравнению с эталонной популяцией Т-клеток в тех же условиях; или

снижение уровня или степени активности, демонстрируемой указанными Т-клетками или популяцией Т-клеток при воздействии ВСМА или агониста CAR, необязательно, где агонист представляет собой анти-идиотипическое антитело, по сравнению с эталонной популяцией Т-клеток, при тех же условиях.

61. Способ по варианту осуществления 60, где увеличение уровня, степени или доли составляет более чем точно или примерно 1,2 раза, точно или примерно 1,5 раза, точно или примерно 2,0 раза, точно или примерно 3 раза, точно или примерно 4 раза, точно или примерно 5 раз, точно или примерно 6 раз, точно или примерно 7 раз, точно или примерно 8 раз, точно или примерно 9 раз, точно или примерно 10 раз или более.

62. Способ по варианту осуществления 60, где снижение уровня, степени или доли составляет более чем точно или примерно 1,2, точно или примерно 1,5 раза, точно или примерно 2,0 раза, точно или примерно 3 раза, точно или примерно 4 раза, точно или примерно 5 раз, точно или примерно 6 раз, точно или примерно 7 раз, точно или примерно 8 раз, точно или примерно 9 раз, точно или примерно 10 раз или более.

63. Способ по любому из вариантов осуществления 60-62, где эталонная популяция Т-клеток представляет собой популяцию Т-клеток, о которых известно, что они имеют не истощенный фенотип, представляет собой популяцию наивных Т-клеток, представляет собой популяцию Т-клеток центральной памяти, или представляет собой популяцию стволовых Т-клеток центральной памяти, необязательно от того же субъекта или того же вида, что и субъект, от которого произошли Т-клетка или Т-клетки, имеющие истощенный фенотип.

64. Способ по любому из вариантов осуществления 60-63, где эталонная популяция Т-клеток (а) представляет собой совместимую с субъектом популяцию, включающую основную массу Т-клеток, выделенную из крови субъекта, из которой происходит Т-клетка или Т-клетки, имеющие истощенный фенотип, необязательно, когда основная масса Т-клеток не экспрессирует CAR, и/или (b) получена от субъекта, от которого произошли Т-клетка или Т-клетки, имеющие истощенный фенотип, до введения дозы CAR-экспрессирующих Т-клеток.

65. Способ по любому из вариантов осуществления 60-64, где эталонная популяция Т-клеток представляет собой композицию, содержащую образец Т-клеточной терапии, или фармацевтическую композицию, содержащую CAR-экспрессирующие Т-клетки, до ее введения субъекту, необязательно, где композиция представляет собой криоконсервированный образец.

66. Способ по любому из вариантов осуществления 60-65, где один или несколько

из одного или нескольких маркеров истощения представляют собой ингибиторный рецептор.

67. Способ по любому из вариантов осуществления 60-66, отличающийся тем, что один или несколько из одного или нескольких маркеров истощения выбраны из числа PD-1, CTLA-4, TIM-3, LAG-3, BTLA, 2B4, CD160, CD39, VISTA и TIGIT.

68. Способ по любому из вариантов осуществления 60-67, где активность представляет собой одно или несколько из пролиферации, цитотоксичности или продуцирования одного или комбинации воспалительных цитокинов, необязательно, где один или комбинация цитокинов выбраны из группы, состоящей из IL-2, IFN-гамма и TNF-альфа.

69. Способ по любому из вариантов осуществления 60-68, отличающийся тем, что воздействие ВСМА или агониста CAR, необязательно, где агонист представляет собой анти-идиотипическое антитело, включает инкубацию с ВСМА или агонистом CAR.

70. Способ по варианту осуществления 69, где антиген содержится на поверхности экспрессирующих антиген клеток-мишеней, необязательно, клеток или клеточной линии множественной миеломы.

71. Способ по любому из вариантов осуществления 1-70, где доза Т-клеток составляет от точно или примерно 5×10^7 CAR⁺ Т-клеток до точно или примерно 1×10^9 CAR⁺ Т-клеток.

72. Способ по любому из вариантов осуществления 1-70, где доза Т-клеток составляет от точно или примерно 1×10^8 CAR⁺ Т-клеток до точно или примерно 1×10^9 CAR⁺ Т-клеток.

73. Способ по любому из вариантов осуществления 1-70, где доза Т-клеток составляет точно или примерно $1,5 \times 10^8$ клеток или CAR⁺ Т-клеток.

74. Способ по любому из вариантов осуществления 1-70, где доза Т-клеток составляет точно или примерно 3×10^8 клеток или CAR⁺ Т-клеток.

75. Способ по любому из вариантов осуществления 1-70, где доза Т-клеток составляет точно или примерно $4,5 \times 10^8$ клеток или CAR⁺ Т-клеток.

76. Способ по любому из вариантов осуществления 1-70, где доза Т-клеток составляет точно или примерно 6×10^8 клеток или CAR⁺ Т-клеток.

77. Способ по любому из вариантов осуществления 1-76, где доза содержит CD3⁺ CAR-экспрессирующие Т-клетки.

78. Способ по любому из вариантов осуществления 1-77, где доза содержит комбинацию CD4⁺ Т-клеток и CD8⁺ Т-клеток и/или комбинацию CD4⁺ CAR-экспрессирующих Т-клеток и CD8⁺ CAR-экспрессирующих Т-клеток.

79. Способ по варианту осуществления 78, где отношение CD4⁺ CAR-экспрессирующих Т-клеток к CD8⁺ CAR-экспрессирующим Т-клеткам и/или CD4⁺ Т-клеток к CD8⁺ Т-клеткам составляет или составляет приблизительно 1:1, или составляет от точно или приблизительно 1:3 до точно или приблизительно 3:1.

80. Способ по любому из вариантов осуществления 1-79, где перед введением дозы

T-клеток субъект получил противолимфомную терапию, включающую введение флударабина в дозе точно или примерно $20-40 \text{ мг/м}^2$ поверхности тела субъекта, необязательно, в дозе точно или примерно 30 мг/м^2 , ежедневно, в течение 2-4 дней, и/или циклофосфамид в дозе точно или примерно $200-400 \text{ мг/м}^2$ площади поверхности тела субъекта, необязательно, в дозе точно или примерно 300 мг/м^2 , ежедневно, в течение 2-4 дней.

81. Способ по любому из вариантов осуществления 1-80, где субъект получает противолимфомную терапию, включающую введение флударабина в дозе точно или примерно 30 мг/м^2 площади поверхности тела субъекта, ежедневно, и циклофосфамида в дозе точно или примерно 300 мг/м^2 площади поверхности тела субъекта, ежедневно, в течение 3 дней.

82. Способ по любому из вариантов осуществления 1-81, где CAR содержит антигенсвязывающий домен, который связывается с BCMA, трансмембранный домен и внутриклеточную сигнальную область, содержащую цепь CD3-дзета (CD3 ζ).

83. Способ по варианту осуществления 82, где антигенсвязывающий домен представляет собой одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv).

84. Способ по варианту осуществления 82 или варианту осуществления 83, где антигенсвязывающий домен содержит область V_H и V_L , где область V_H содержит CDR-H1, представленную в SEQ ID NO: 56, CDR-H2, представленную в SEQ ID NO:57 и CDR-H3, представленную в SEQ ID NO:58, и область V_L содержит CDR-L1, представленную в SEQ ID NO:59, CDR-L2, представленную в SEQ ID NO:60 и CDR-H3, представленную в SEQ ID NO:61.

85. Способ по любому из вариантов осуществления 82-84, отличающийся тем, что антигенсвязывающий домен содержит область V_H , имеющую последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:36, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98%, по меньшей мере, 99% с SEQ ID NO:36, и область V_L имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:37, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98%, по меньшей мере, 99% с SEQ ID NO:37.

86. Способ по любому из вариантов осуществления 82-84, где антигенсвязывающий домен содержит последовательность аминокислот V_H области, представленную в SEQ ID NO:36, и последовательность аминокислот V_L области, представленную в SEQ ID NO:37.

87. Способ по любому из вариантов осуществления 82-86, где антигенсвязывающий домен представляет собой scFv, который имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:180, или последовательность аминокислот,

имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98%, по меньшей мере, 99% с SEQ ID NO:180.

88. Способ по любому из вариантов осуществления 82-87, где антигенсвязывающий домен представляет собой scFv, который имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:180.

89. Способ по варианту осуществления 82 или варианту осуществления 83, где анти-BCMA CAR содержит область V_H и V_L , где область V_H содержит CDR-H1, представленную в SEQ ID NO: 62, CDR-H2, представленную в SEQ ID NO:63 и CDR-H3, представленную в SEQ ID NO:64, и область V_L содержит CDR-L1, представленную в SEQ ID NO:65, CDR-L2, представленную в SEQ ID NO:66 и CDR-H3, представленную в SEQ ID NO:67.

90. Способ по варианту осуществления 82, 83 или 89, где антигенсвязывающий домен содержит область V_H , которая имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:30, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98%, по меньшей мере, 99% с SEQ ID NO:30, и область V_L имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO: 31, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98%, по меньшей мере, 99% с SEQ ID NO:31.

91. Способ по варианту осуществления 82, 83, 89 или 90, где антигенсвязывающий домен содержит область V_H , имеющую последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:30, и область V_L , имеющую последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:31.

92. Способ по любому из вариантов осуществления 82, 83 и 89-91, где антигенсвязывающий домен представляет собой scFv, который имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:68, или последовательность аминокислот, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98%, по меньшей мере, 99% с SEQ ID NO:68.

93. Способ по любому из вариантов осуществления 82, 83 и 89-91, где антигенсвязывающий домен представляет собой scFv, представленную в SEQ ID NO:68.

94. Способ по любому из вариантов осуществления 82-93, где внутриклеточная сигнальная область дополнительно содержит костимулирующий сигнальный домен.

95. Способ по варианту осуществления 94, где костимулирующая сигнальная

область содержит внутриклеточный сигнальный домен CD28, 4-1BB или ICOS или его сигнальную часть.

96. Способ по варианту осуществления 94 или варианту осуществления 95, где костимулирующая сигнальная область содержит внутриклеточный сигнальный домен 4-1BB, необязательно, 4-1BB человека.

97. Способ по любому из вариантов осуществления 94-96, где костимулирующая сигнальная область находится между трансмембранным доменом и цитоплазматическим сигнальным доменом цепи CD3-дзета (CD3 ζ).

98. Способ по любому из вариантов осуществления 82-97, где трансмембранный домен представляет собой или содержит трансмембранный домен CD28 человека.

99. Способ по любому из вариантов осуществления 82-97, где трансмембранный домен представляет собой или содержит трансмембранный домен CD8 человека.

100. Способ по любому из вариантов осуществления 82-99, где CAR дополнительно содержит внеклеточный спейсер между антигенсвязывающим доменом и трансмембранным доменом.

101. Способ по любому из вариантов осуществления 100, где спейсер находится между точно или примерно 50 аминокислот до точно или примерно 250 аминокислот.

102. Способ по варианту осуществления 100 или варианту осуществления 101, где спейсер составляет от точно или примерно 125 аминокислот до точно или примерно 250 аминокислот, необязательно, где спейсер составляет точно или примерно 228 аминокислот.

103. Способ по любому из вариантов осуществления 100-102, где спейсер представляет собой иммуноглобулиновый спейсер, содержащий весь или часть константного домена иммуноглобулина или его модифицированную форму.

104. Способ по любому из вариантов осуществления 100-103, где спейсер содержит химерный шарнир IgG4/2 или модифицированный шарнир IgG4; химерную область C_H2 IgG2/4; и область C_H3 IgG4.

105. Способ по любому из вариантов осуществления 100-104, где спейсер представлен в SEQ ID NO: 29 или кодируется последовательностью нуклеотидов, представленной в SEQ ID NO: 179.

106. Способ по варианту осуществления 100 или варианту осуществления 101, где спейсер представляет собой шарнир CD8.

107. Способ по любому из вариантов осуществления 1-106, где анти-BCMA CAR имеет последовательность, представленную в любой из SEQ ID NO: 126-177, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичность последовательности с любой из SEQ ID NO: 126-177.

108. Способ по любому из вариантов осуществления 1-107, где анти-BCMA CAR

имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:160, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO:160.

109. Способ по любому из вариантов осуществления 1-108, где CAR представлен в SEQ ID NO:160.

110. Способ по любому из вариантов осуществления 1-109, где CAR кодируется последовательностью нуклеотидов, представленной в SEQ ID NO:69.

111. Способ по любому из вариантов осуществления 1-107, где анти-BCMA CAR имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:161, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO:161.

112. Способ по любому из вариантов осуществления 1-107, где анти-BCMA CAR имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:152, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO:152.

113. Способ по любому из вариантов осуществления 1-107, где анти-BCMA CAR имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:168, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO:168.

114. Способ по любому из вариантов осуществления 1-107, где анти-BCMA CAR имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:171, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO:171.

115. Способ по любому из вариантов осуществления 1-114, где анти-BCMA CAR связывает BCMA, необязательно, где BCMA представляет собой BCMA человека.

116. Способ по варианту осуществления 115, где BCMA представляет собой мембраносвязанный BCMA, экспрессируемый на поверхности клетки.

117. Способ по варианту осуществления 115 или варианту осуществления 116, где анти-BCMA CAR обладает большей аффинностью связывания с мембраносвязанным BCMA, чем с растворимым BCMA, необязательно, где отношение константы диссоциации

(K_D) для растворимого ВСМА и K_D для мембраносвязанного ВСМА составляет более 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 500, 1000, 2000 или более.

VIII. ПРИМЕРЫ

[00594] Следующие примеры включены только в иллюстративных целях и не предназначены для ограничения объема изобретения.

Пример 1 Оценка фармакодинамического ответа факторов транскрипции Aiolos и Ikaros в анти-ВСМА CAR-экспрессирующих Т-клетках в присутствии клеточных иммуномодулирующих соединений

[00595] Композиции Т-клеток, содержащие анти-ВСМА CAR-экспрессирующие клетки, получают из Т-клеток доноров. Типовой анти-ВСМА CAR кодируют полинуклеотидной конструкцией, которая содержит нуклеиновую кислоту, кодирующую сигнальную последовательность IgG-каппа человека, анти-ВСМА scFv человека, модифицированный IgG4-шарнир C_H2-C_H3 (SEQ ID NO:29, кодированный SEQ ID NO:179 или 183) спейсер (который в некоторых случаях может обозначаться как «LS»); трансмембранный домен CD28 человека; внутриклеточную ко-сигнальную последовательность, полученную из 4-1BB человека; и внутриклеточный сигнальный домен CD3-дзета человека. Типовой анти-ВСМА scFv человека содержит scFv со следующими последовательностями:

Таблица E1. Идентификатор последовательности (SEQ ID NO) для типового scFv									
Антигенсвязывающий домен	CDR-H1	CDR-H2	CDR-H3	CDR-L1	CDR-L2	CDR-L3	V_H	V_L	scFv
ВСМА-55	56	57	58	59	60	61	36	37	180

[00596] Клоны кДНК, кодирующие такие CAR, связывают с расположенным ниже элементом проскока рибосомы (таким как T2A), за которым следует усеченная последовательность, кодирующая рецептор, для использования в качестве суррогатного маркера, и клонируют в лентивирусный вектор экспрессии.

[00597] Для получения анти-ВСМА CAR Т-клеток, образцы лейкоцитоза от доноров собирают и криозамораживают. CD4⁺ и CD8⁺ Т-клетки отдельно селективируют путем селекции на основе иммуноаффинности, в результате чего получают две композиции, обогащенные CD8⁺ и CD4⁺ клетками, соответственно. Выбранные клеточные композиции затем размораживают и смешивают в соотношении 1:1 жизнеспособных CD4⁺ Т-клеток к жизнеспособным CD8⁺ Т-клеткам. Приблизительно 300x10⁶ Т-клеток (150x10⁶ CD4 и 150x10⁶ CD8⁺ Т-клеток) смешанной композиции стимулируют в присутствии покрытых парамагнитным полистиролом микроносителей с прикрепленными анти-CD3 и анти-CD28 антителами при 1:1 отношении микроносителей к клеткам в бессывороточной среде, содержащей рекомбинантный IL-2, IL-7 и IL-15, в течение от 18 до 30 часов. После инкубации, приблизительно 100x10⁶ жизнеспособных клеток из стимулированной клеточной композиции концентрируют в бессывороточной среде, содержащей рекомбинантный IL-2, IL-7 и IL-15. Клетки трансдуцируют центрифужной

инокуляцией при примерно 1600 g в течение 60 минут с лентивирусным вектором, кодирующим анти-BCMA CAR. После центрифужной инокуляции, клетки ресуспендируют в бессывороточной среде, содержащей рекомбинантный IL-2, IL-7 и IL-15, и инкубируют в течение примерно 18-30 часов при температуре примерно 37°C. Затем клетки культивируют для размножения путем переноса в биореактор (например, биореактор с качающимся движением) примерно в 500 мл бессывороточной среды, содержащей удвоенную концентрацию IL-2, IL-7 и IL-15 к используемой во время стадий инкубации и трансдукции. Когда достигается заданная плотность жизнеспособных клеток, инициируют перфузию, где среду меняют путем полунепрерывной перфузии с непрерывным перемешиванием. На следующий день клетки культивируют в биореакторе до тех пор, пока не достигают пороговая плотности клеток примерно 3×10^6 клеток/мл, что обычно происходит в процессе, включающем 6-7 дней размножения. Парамагнитные микроносители, конъюгированные анти-CD3 и анти-CD28-антителами, удаляют из клеточной композиции под действием магнитного поля. Затем клетки собирают, составляют и криозащищают.

[00598] Анти-BCMA CAR⁺ Т-клетки стимулируют 50 мкг микроносителей, покрытых BCMA, при соотношении Т-клеток к микроносителям 1:1 в присутствии леналидомида (1000 нМ), (S)-3-[4-(4-морфолин)-4-илметилбензилокси]-1-оксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил]пиперидин-2,6-диона (ибердомида, соединения А) (1 нМ, 10 нМ или 100 нМ), (S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрила (соединения В) (0,1 нМ, 1 нМ или 10 нМ) или контрольного носителя в течение 24 часов или 72 часов при 37°C, 5% CO₂. Слитый белок BCMA-Fc, содержащий внеклеточный домен BCMA человека и IgG1Fc человека, конъюгируют с микроносителями путем ковалентного связывания с поверхностью коммерчески доступных тозил-активированных магнитных микроносителей диаметром приблизительно 4,5 мкм (микроносители M-450, ThermoFisher, Waltham MA) (см., например, международную опубликованную заявку РСТ № WO2019/027850). После инкубации, анти-BCMA CAR-экспрессирующие Т-клетки окрашивают антителами и анализируют с помощью проточной цитометрии для оценки внутриклеточных уровней Ikaros и Aiolos в клетках CD4⁺CAR⁺ или CD8⁺CAR⁺, измеренных по средней интенсивности флуоресценции (MFI). Средние значения интенсивности флуоресценции (MFI) для Ikaros и Aiolos нормализуют и рассчитывают в процентах относительно контрольного носителя.

[00599] Зависимое от концентрации снижение внутриклеточной экспрессии Ikaros и Aiolos наблюдают в анти-BCMA-стимулированных CAR-экспрессирующих Т-клетках после инкубации с леналидомидом, соединением А или соединением В. Результаты показали, что соединение А и соединение В являются более эффективными, чем леналидомид. Как показано на **ФИГ. 1**, ибердомид приводит к сходным уровням деградации Ikaros и Aiolos в стимулированных CD4⁺ Т-клетках и CD8⁺ Т-клетках от доноров.

Пример 2 Влияние клеточных иммуномодулирующих соединений на острую функцию CAR T-клеток

[00600] Противоопухолевое действие анти-BCMA CAR T-клеток, отдельно и в комбинации с клеточными иммуномодулирующими соединениями, соединением А (ибердомидом, (S)-3[4-(4-морфолин-4-илметилбензилокси)-1-оксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил]пиперидин-2,6-дионом) или соединением В ((S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрилом) оценивают в двух разных BCMA-экспрессирующих клеточных линиях множественной миеломы RPMI-8226 или OPM-2. Анти-BCMA CAR⁺ T-клетки получают, как описано в примере 1.

[00601] Анти-BCMA CAR-экспрессирующие T-клетки инкубируют с клетками-мишенями, RPMI 8226 (линия клеток множественной миеломы человека BCMA^{med}) или клетками OPM2 (линия клеток множественной миеломы человека BCMA^{med}) при соотношении E:T, равном 1:1. Инкубацию сокультур с клетками-мишенями проводят в присутствии соединения А (0,01 нМ, 0,1 нМ, 1 нМ, 10 нМ, 100 нМ, 1000 нМ или 10000 нМ) или соединения В (0,01 нМ, 0,1 нМ, 1 нМ, 10 нМ, 100 нМ, 1000 нМ или 10000 нМ).

[00602] Для оценки цитолитической активности, клетки-мишени метят красителем NucLight Red (NLR), чтобы можно было отслеживать их с помощью флуоресцентной микроскопии. Активность уничтожения оценивают путем измерения потери жизнеспособных клеток-мишеней в течение 200 часов, определяемой по потере флуоресцентного сигнала с течением времени с помощью кинетической флуоресцентной микроскопии (с использованием системы анализа живых клеток INCUCYTE®, Essen Bioscience). Определяют площадь под кривой (AUC) флуоресценции мишени с течением времени. Результаты показали, что присутствие клеточных иммуномодулирующих соединений не приводит к улучшению уничтожения анти-BCMA CAR⁺ T-клеток в остром анализе.

[00603] Определяют секрецию цитокинов IL-2, TNF α и IFN-гамма из супернатанта клеточной культуры сокультур через 24 часов инкубации с клетками-мишенями. Сокультивирование анти-BCMA CAR⁺ T-клеток с соединением А усиливает продуцирование CAR T цитокинов как против клеток-мишеней RPMI-8226 (ФИГ. 2А), так и против клеток-мишеней OPM2 (ФИГ. 2В). Подобные исследования также показали, что добавление соединения В также увеличивает продуцирование цитокинов CAR T-клетками. Примечательно, что соединение В демонстрирует усиленные эффекты при более низких концентрациях по сравнению с соединением А.

Пример 3 Функциональность анти-BCMA CAR T-клеток после повторного введения после одновременного лечения клеточным иммуномодулирующим соединением во время постоянной активации

[00604] Криозамороженные анти-BCMA CAR T-клетки, полученные, по существу, как описано в примере 1, и составленные в 1:1 соотношении CD4⁺ и CD8⁺ T-клеток, размораживают. Чтобы подвергнуть клетки условиям постоянной стимуляции, анти-

BCMA CAR⁺ Т-клетки стимулируют 50 мкг конъюгированных BCMA микроносителей (диаметр примерно 4,5 мкм из композиции 50 мкг/мл BCMA-конъюгированных микроносителей, полученной, как описано в примере 2) в соотношении Т-клеток к микроносителям 1:1 в присутствии или в отсутствие соединения А (ибердомид, (S)-3-[4-(4-морфолин-4-илметилбензилокси)-1-оксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил]-пиперидин-2,6-диона) (1 нМ или 10 нМ), соединения В ((S)-4-(4-(4-((2-(2,6-диоксопиперидин)-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрила) (0,1 нМ или 1 нМ) или контрольного носителя ДМСО. Затем клетки инкубируют при 37°C, 5% CO₂ в течение 7 дней.

[00605] На 7 день, анти-BCMA CAR клетки во всех образцах подсчитывают с использованием прибора Cellometer и окрашивают для проточного цитометрического анализа. Клетки окрашивают красителем жизнеспособности и анализируют с помощью проточной цитометрии. Жизнеспособность и количество анти-BCMA CAR Т-клеток увеличивается в присутствии соединения А или соединения В.

[00606] CAR Т-клетки, которые стимулированы в течение 7 дней с культивированными с 50 мкг покрытых BCMA магнитных микроносителей, одновременно, в присутствии клеточного иммуномодулирующего соединения, отмывают от соединения, и клетки удаляют с микроносителей. Анти-BCMA CAR Т-клетки, которые стимулировали в течение 7 дней с микроносителями, конъюгированными с BCMA, в присутствии соединений, совместно культивируют с клетками-мишенями RPMI-8226 (мечеными NucLightRed, как описано в примере 2) в соотношении 1:1. (эффектор:мишень). Активность уничтожения отслеживают в течение 200 часов путем измерения NucLightRed (NLR)-положительных клеток-мишеней. Общее количество клеток-мишеней RPMI, экспрессирующих NLR, определяют путем нормализации количества клеток с течением времени к количеству клеток в начале совместного культивирования (t=0) для каждого соответствующего состояния.

[00607] Для измерения цитокинов, бесклеточные супернатанты собирают в ходе цитолитического анализа, описанного выше, через 24 часа после посева. Уровни цитокинов IFN γ , IL-2 и TNF-альфа (TNF α) измеряют в супернатанте.

[00608] Как показано на **ФИГ. 3А** и **ФИГ. 3В**, одновременная обработка клеточным иммуномодулирующим соединением во время постоянной активации улучшает цитолитическую активность и выработку цитокинов, соответственно, анти-BCMA CAR⁺ Т-клеток после повторного заражения клетками-мишенями.

Пример 4 Функциональность постоянно активированных анти-BCMA CAR Т-клеток после повторного заражения в присутствии клеточного иммуномодулирующего соединения

[00609] Анти-BCMA CAR-экспрессирующие Т-клетки, полученные, как описано в примере 1, стимулируют 50 мкг конъюгированных BCMA гранул (диаметром примерно 4,5 мкм из композиции 50 мкг/мл BCMA-конъюгированных гранул), по существу, как описано в примере 3, для индуцирования постоянной стимуляции (для продуцирования

гипофункциональных, истощенных Т-клеток). После постоянной стимуляции, CAR-T-клетки повторно заражают клетками-мишенями RPMI-8226 (меченными NucLightRed, как описано в примере 2) в соотношении 1:1 (эффлектор:мишень) в присутствии (сохраненных) с соединением А (ибердомидом, (S)-3-[4-(4-морфолин-4-илметилбензилокси)-1-оксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил]пиперидин-2,6-дионом) (1 нМ или 10 нМ), соединением В ((S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрилом) (0,1 нМ или 1 нМ) или контрольным носителем ДМСО.

[00610] Активность уничтожения и продуцирование цитокинов оценивают, как описано в Примере 3.

[00611] Как показано на фиг. 4А и фиг. 4В, обработка клеточным иммуномодулирующим соединением во время повторного заражения анти-BCMA CAR Т-клеток антиген-экспрессирующими клетками-мишенями улучшает цитолитическую активность и продуцирование цитокинов, соответственно, анти-BCMA CAR Т-клеток. Этот результат демонстрирует, что клеточные иммуномодулирующие соединения, соединение А и соединение В, способны восстанавливать постоянно активированные CAR Т-клетки для улучшения функциональности.

Пример 5 Влияние клеточных иммуномодулирующих соединений на анти-BCMA CAR Т-клетки во время анализа серийной стимуляции

[00612] Способность CAR Т-клеток размножаться и проявлять антигенспецифическую функцию *ex vivo* после повторных курсов стимуляции антигеном может коррелировать с функцией *in vivo* и/или способностью клеток сохраняться *in vivo* (например, после введения и первоначальной активации в ответ на контакт с антигеном) (Zhao et al. (2015) Cancer Cell, 28:415-28). Анализ серийной стимуляции или анализ серийного повторного заражения используют для оценки активности анти-BCMA CAR Т-клеток после повторных раундов стимуляции антигеном в присутствии и в отсутствие соединения А (ибердомида, (S)-3-[4-(4-морфолин-4-илметилбензилокси)-1-оксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил]пиперидин-2,6-диона).

[00613] Анти-BCMA CAR⁺ Т-клетки (полученные, как описано в примере 1) высевают в трех экземплярах по 1×10^5 клеток/лунку на 96-луночные планшеты. Облученные клетки-мишени DF-15R, представляющие собой клеточную линию множественной миеломы (ММ), созданную резистентной к действию клеточных иммуномодулирующих соединений (Lopez-Girona et al. Leukemia, 2012; 26:2326-2335), добавляют в соотношении эффлектор к мишени (Е:Т) 1:2 в присутствии или в отсутствие различных концентраций (10 нМ) ибердомида.

[00614] Каждые 3-4 дня (начало каждого нового раунда) подсчитывают CAR Т-клетки. Затем клетки собирают и повторно высевают при исходной плотности посева со свежей средой, свежедобавленным ибердомидом в той же концентрации, где это применимо, и свежеразмороженными облученными клетками-мишенями. Проводят пять раундов стимуляции в течение 19-дневного периода культивирования. На 5 и 9 день (24

часа после повторного посева (перезагрузки)) оценивают продуцирование цитокинов в супернатанте. Результаты оценивают у двух разных доноров.

[00615] Результаты, показанные на **ФИГ. 5А**, демонстрируют, что добавление соединения А увеличивает количество анти-BCMA CAR клеток в культуре, о чем свидетельствует увеличение числа удвоений популяции во время серийной стимуляции, когда добавляют соединение А, по сравнению с тем, когда оно отсутствует. Как показано на **ФИГ. 5В**, добавление соединения А также увеличивает продуцирование цитокинов IL-2 и TNF-альфа в культурах через 24 часа после первой перезагрузки (5 день) или второй перезагрузки (9 день) после повторного посева со свежими клетками-мишенями в анализе серийной стимуляции. Эти результаты также согласуются с наблюдением, что фармакологическая эффективность анти-BCMA CAR Т-клеток улучшается при добавлении клеточного иммуномодулирующего соединения, соединения А.

Пример 6 Влияние ибердомида на функцию CAR Т-клеток in vivo

[00616] Противоопухолевые эффекты анти-BCMA CAR Т-клеток отдельно и в комбинации с одновременным или отсроченным введением соединения А (ибердомида, (S)-3-[4-(4-морфолин-4-илметилбензилокси)-1-оксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил]пиперидин-2,6-диона) оценивают на моделях диссеминированных опухолей. Комбинаторные эффекты оценивают на обеих моделях опухолей, чувствительных и резистентных к иммуномодулирующему соединению. Анти-BCMA CAR Т-клетки, используемые в исследовании, получают, как описано в примере 1.

А. Модель опухоли, чувствительная к клеточному иммуномодулирующему соединению.

[00617] Эффекты анти-BCMA CAR-Т-клеток в комбинации с соединением А оценивают на модели ортотопической опухоли у мышей с использованием клеток OPM-2, которые представляют собой модель опухоли, чувствительную к иммуномодулирующему соединению. Мышам (мышам NOD.Cg-Prkdc^{scid}IL-2rg^{tm1Wjl}/SzJ (NSG; Jackson Labs)) вводят внутривенно (в/в) 2×10^6 клеток OPM2 (множественная миелома), трансфицированных люциферазой светлячка (OPM2-ffluc). Приживление опухоли происходит в течение 13 дней до определения стадии (14 дней до введения CAR-Т-клеток) и его подтверждают с помощью билюминесцентной визуализации.

[00618] В одном исследовании, мышам вводят соединение А (1 мг/кг или 3 мг/кг) перорально один раз в день, начиная за день до введения $0,5 \times 10^6$ анти-BCMA CAR Т-клеток, и введение соединения А продолжают один раз в день до 32 дней после введения CAR Т-клеток (одновременное дозирование). В другом исследовании, мышам вводят $0,5 \times 10^6$ анти-BCMA CAR Т-клеток, и затем соединение А (1 мг/кг или 3 мг/кг) вводят перорально один раз в день, начиная через 12 дней после введения анти-CAR Т-клеток, то есть после пика размножения CAR-экспрессирующих Т-клеток, и введение продолжают в течение от 21 дня до 32 дней после введения CAR Т-клеток (отсроченное введение дозы).

[00619] Для визуализации билюминесценции (BLI), мышам внутрибрюшинно (в/б) вводят субстрат люциферина (CaliperLife Sciences, Hopkinton, MA),

ресуспендированный в PBS (15 мкг/г массы тела). Определяют среднюю яркость (имп/с/см²/sr). Выживаемость мышей, обработанных, как описано выше, оценивают и сравнивают с течением времени после введения CAR-экспрессирующих Т-клеток. Кривые выживания строят с использованием метода Каплана-Мейера (GraphPad Prism 7.0, GraphPad Software, La Jolla).

[00620] Результаты показаны на **ФИГ. 6А** (объем опухоли) и **ФИГ. 6В** (выживание). Соединение А демонстрирует некоторую противоопухолевую активность одного агента в модели опухоли OPM-2. Обнаружено, что комбинация введения анти-BCMA CAR Т-клеток с соединением А снижает опухолевую нагрузку и улучшает данные о выживаемости как в группе «одновременного», так и в группе «отсроченного» по сравнению с введением только анти-BCMA CAR-экспрессирующих Т-клеток. Например, введение соединения А, либо отсроченное, либо одновременное с анти-BCMA CAR-Т-клетками в низкой и высокой дозе, приводит к большему уменьшению опухоли, измеренному с помощью BLI (**ФИГ. 6А**), и к большей доле выживаемости мышей по сравнению с мышами, которым вводили только анти-BCMA CAR-Т-клетки (**ФИГ. 6В**).

[00621] Количество CD3⁺ CAR Т-клеток определяют в крови на 6 и 14 день с помощью проточной цитометрии с использованием антител, направленных против CD3, и суррогатного маркера на CAR-экспрессирующих клетках. Как показано на **ФИГ. 6С**, наблюдается тенденция к увеличению числа CD3⁺ CAR⁺ Т-клеток в крови у мышей, получавших комбинацию анти-BCMA CAR⁺ Т-клеток и соединения А в параллельной схеме.

В. Модель опухоли, резистентная к клеточному иммуномодулирующему соединению.

[00622] Эффекты анти-BCMA CAR-Т-клеток в комбинации с соединением А оценивают на мышинной ортотопической модели опухоли с использованием клеток DF-15(R), которые представляют собой модель опухоли, резистентную к иммуномодулирующему соединению. Мышам (мышам NOD.Cg-Prkdc^{scid}IL-2rg^{tm1Wjl}/SzJ (NSG; Jackson Labs)) вводят внутривенно (в/в) 2x10⁶ клеток DF-15(R) (множественная миелома), трансфицированных люциферазой светлячка (OPM2-ffluc). Приживление опухоли происходит в течение 13 дней до определения стадии (14 дней до введения CAR-Т-клеток), и его подтверждают с помощью биолюминесцентной визуализации.

[00623] В одном исследовании, мышам вводят соединение А (1 мг/кг или 3 мг/кг) перорально один раз в день, начиная за день до введения 0,5x10⁶ анти-BCMA CAR Т-клеток, и введение соединения А продолжают один раз в день до 32 дней после введения CAR Т-клеток (одновременное дозирование). В другом исследовании, мышам вводят 0,5x10⁶ анти-BCMA CAR Т-клеток, и затем соединение А (1 мг/кг или 3 мг/кг) вводят перорально один раз в день, начиная через 12 дней после введения анти-CAR Т-клеток, то есть после пика размножения CAR-экспрессирующих Т-клеток, и введение продолжают в течение от 21 дня до 32 дней после введения CAR Т-клеток (отсроченное введение дозы).

[00624] Для визуализации биолюминесценции (BLI), мышам внутрибрюшинно

(в/б) вводят субстрат люциферина (CaliperLife Sciences, Hopkinton, MA), ресуспендированный в PBS (15 мкг/г массы тела). Определяют среднюю яркость (имп/с/см²/sr). Выживаемость мышей, обработанных, как описано выше, оценивают и сравнивают с течением времени после введения CAR-экспрессирующих Т-клеток. Кривые выживания строят с использованием метода Каплана-Мейера (GraphPad Prism 7.0, GraphPad Software, La Jolla).

[00625] Результаты показаны на **ФИГ. 7А** (объем опухоли) и **ФИГ. 7В** (выживание). В этой резистентной к опухоли модели, комбинация введения анти-BCMA CAR Т-клеток с соединением А снижает опухолевую нагрузку и улучшает данные о выживаемости в «одновременной» группе по сравнению с введением только анти-BCMA CAR-экспрессирующих клеток.

[00626] Количество CD3⁺ CAR Т-клеток определяют в крови на 6 и 14 день с помощью проточной цитометрии с использованием антител, направленных против CD3, и суррогатного маркера на CAR-экспрессирующих клетках. Как показано на **ФИГ. 7С**, имеет место статистически значимое увеличение числа CD3⁺ CAR⁺ Т-клеток в крови у мышей, получавших анти-BCMA CAR⁺ Т-клетки как в низкой, так и в высокой дозе в комбинации с соединением А в параллельной схеме.

Пример 7 Цитолитическая функция и продуцирование цитокинов постоянно стимулированными анти-BCMA CAR Т-клетками против BCMA-экспрессирующих клеток-мишеней ММ в присутствии клеточного иммуномодулирующего соединения

[00627] Кризамороженные анти-BCMA CAR Т-клетки, полученные, по существу, как описано в примере 1, и составленные в соотношении 1:1 CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток, размораживают. Анти-BCMA CAR Т-клетки стимулируют с микроносителями, конъюгированными с BCMA (диаметром примерно 4,5 мкм из 50 мкг/мл композиции микроносителей, конъюгированных с BCMA, полученной, как описано в примере 9) в соотношении Т-клеток к микроносителям 1:1 в присутствии или отсутствии леналидомида (1000 нМ), соединения А (ибердомида, (S)-3-[4-(4-морфолин-4-илметилбензилокси)-1-оксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил]-пиперидин-2,6-диона) (0,1 нМ, 1 нМ или 10 нМ) или контрольного носителя ДМСО. Затем клетки инкубируют при 37°C, 5% CO₂ в течение 7 дней.

[00628] На 7 день, анти-BCMA CAR клетки во всех образцах подсчитывают с использованием прибора Cellometer и окрашивают для проточного цитометрического анализа. Клетки окрашивают красителем жизнеспособности и анализируют с помощью проточной цитометрии. Как показано на **ФИГ. 8**, жизнеспособность и количество анти-BCMA CAR Т-клеток увеличивается в присутствии леналидомида или соединения А.

[00629] Цитолитическую активность оценивают с использованием OPM-2 и RPMI-8226 BCMA, экспрессирующих клетки-мишени, трансдуцированные NucLight Red, красным флуоресцентным белком, обнаруживаемым с помощью микроскопии, что позволяет измерить гибель клеток-мишеней. Анти-BCMA CAR Т-клетки, которые стимулируют в течение 7 дней гранулами, конъюгированными с BCMA, в присутствии

соединений, совместно культивируют с клетками-мишенями RPMI-8226 в соотношении 0,3:1 (эффектор:мишень) или 1:1. Культуры инкубируют при 37°C, 5% CO₂, и делают изображения каждые 2 часа в течение 5-7 дней с помощью системы анализа живых клеток Essen IncuCyte Zoom для отслеживания NucLightRed-положительных клеток-мишеней. Когда длительную стимуляцию проводят в присутствии леналидомид или соединения А, анти-BCMA CAR Т-клетки проявляют повышенную цитолитическую активность (**ФИГ. 9А**, результаты показаны для соотношения Е:Т 0,3:1).

[00630] Для измерения цитокинов, бесклеточные супернатанты собирают в ходе цитолитического анализа, описанного выше, через 24 часа после посева. Уровни цитокинов измеряют с использованием набора цитокинов IFN γ , IL-2 и TNFальфа Meso Scale Discovery (Mesoscale) в соответствии с инструкциями производителя. Данные анализируют с использованием GraphPad Prism для расчета абсолютных изменений содержания цитокинов по сравнению с контролем, содержащим ДМСО носитель. Как показано на **ФИГ. 9В-Д**, когда длительную стимуляцию проводят в присутствии леналидомид или соединения А, анти-BCMA CAR Т-клетки демонстрируют повышенное продуцирование IFN-гамма (**ФИГ. 9В**), IL-2 (**ФИГ. 9С**) или TNF-альфа (**ФИГ. 9Д**).

[00631] Эти результаты демонстрируют, что леналидомид или соединение А, присутствующие во время постоянной стимуляции, повышают цитолитическую активность анти-BCMA CAR Т-клеток и продуцирование цитокинов после повторного введения антигена и в отсутствие соединения во время повторного заражения. Эти результаты дополнительно подтверждают способность клеточных иммуномодулирующих соединений, таких как леналидомид или соединение А, снижать или предотвращать развитие истощенного фенотипа в ответ на постоянную стимуляцию, тем самым улучшая функцию CAR-Т-клеток и ограничивая истощение CAR-Т-клеток.

Пример 8 Восстановление цитолитической функции и продуцирования цитокинов после постоянной стимуляции анти-BCMA CAR Т-клеток клеточным иммуномодулирующим соединением

[00632] Проводят исследования, чтобы определить, может ли соединение А (ибердомид, (S)-3-[4-(4-морфолин-4-илметилбензилокси)-1-оксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил]пиперидин-2,6-дион) сохранить функцию анти-BCMA CAR Т-клеток после постоянной стимуляции. Для непосредственной стимуляции посредством вовлечения CAR для индуцирования постоянной стимуляции клеток, анти-BCMA CAR Т-клетки стимулируют микроносителями, конъюгированными с BCMA (диаметром примерно 4,5 мкм из композиции микроносителей, конъюгированных с BCMA, 50 мкг/мл, полученной, как описано в примере 9) при соотношении Т-клеток к микроносителям 1:1. Затем клетки инкубируют при 37°C, 5% CO₂ в течение 7 дней.

[00633] Анти-BCMA CAR Т-клетки, которые стимулируют в течение 7 дней микроносителями, конъюгированными с BCMA, повторно заражают экспрессирующими BCMA клетками RPMI-8226 MM в соотношении Е:Т 0,3:1 в присутствии соединения А (1 нМ или 10 нМ). Культуры инкубируют при 37°C, 5% CO₂ и делают изображения каждые 2

часа в течение 5-7 дней с помощью системы анализа живых клеток Essen IncuCyte Zoom для отслеживания NucLightRed-положительных клеток-мишеней. Как показано на **ФИГ. 10А**, наблюдают улучшение цитолитической активности при повторном заражении постоянно стимулированных клеток клетками, экспрессирующими ВСМА, в присутствии соединения А по сравнению с отсутствием соединения (контроль). Бесклеточные супернатанты собирают в ходе цитолитического анализа, описанного выше, через 24 часа после посева, и используют для измерения IFN γ , IL-2 и TNF с помощью MSD, как описано в примере 30. Как показано на **ФИГ. 10В-Д**, анти-ВСМА CAR Т-клетки демонстрируют повышенное продуцирование IFN-гамма (**ФИГ. 10В**), IL-2 (**ФИГ. 10С**) или TNF-альфа (**ФИГ. 10Д**), когда постоянно стимулированные клетки подвергают повторному заражению клетками, экспрессирующими ВСМА, в присутствии соединения А по сравнению с отсутствием соединения (контроль).

[00634] Для дальнейшего выяснения роли соединения А на клетках-мишенях по сравнению с внутренними эффектами CAR Т-клеток, резистентную к IMiD/CELMoD клеточную линию DF-15R также используют для повторного заражения анти-ВСМА CAR Т-клеток, которые подвергают постоянной стимуляции в течение 7 дней. Цитолитическую активность и продуцирование цитокинов после повторного заражения оценивают, как описано выше. Анти- ВСМА CAR Т-клетки демонстрируют как повышенную цитолитическую активность (**ФИГ. 11А**), так и продуцирование цитокинов (**ФИГ. 11В-Д**) в присутствии DF-15R, что указывает на присущее CAR Т увеличение функциональности.

[00635] Эти результаты дополнительно демонстрируют, что после постоянной стимуляции добавление клеточных иммуномодулирующих соединений, таких как соединение А, во время повторного введения антигена восстанавливает истощенные анти-ВСМА CAR Т-клетки, о чем свидетельствует повышенная цитолитическая активность и продуцирование цитокинов.

[00636] Настоящее изобретение не предназначено для ограничения объема конкретными описанными вариантами осуществления, которые предоставлены, например, для иллюстрации различных аспектов изобретения. Различные модификации описанных композиций и способов станут очевидными из приведенного в настоящем документе описания и идей. Такие варианты могут применяться на практике без отклонения от истинного объема и сути описания, и предполагается, что они входят в объем настоящего описания.

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ

SEQ ID NO.	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ	ОПИСАНИЕ
1	ESKYGPPCPPCP	спейсер (IgG4 шарнир) (ак) Homo sapiens

2	GAATCTAAGTACGGACCGCCCTGCCCCCTTGCCCT	спейсер (IgG4 шарнир) (нт) Homo sapiens
3	ESKYGPPCPPCPGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK	Шарнир-CH3 спейсер Homo sapiens
4	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRW QEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK	Шарнир-CH2- CH3 спейсер Homo sapiens
5	RWPESPKAQASSVPTAQPQAEGSLAKATTAPATTRNTGR GGEEKKKEKEKEEQEERETKTPECPSHTQPLGVYLLTPAV QDLWLRDKATFTCFVVGSDLKDAHLTWEVAGKVPTGGV EEGLLERHSNGSQSQHSRLTLPRSLWNAGTSVTCTLNHPS LPPQRLMALREPAAPVKLSLNLLASSDPPEAASWLLCE VSGFSPNILLMWLEDQREVNTSGFAPARPPPQPGSTTFW AWSVLRVPAPPSPQATYTCVVSHEDSRTLLNASRSLEVS YVTDH	IgD-шарнир-Fc Homo sapiens
6	LEGGGEGRGSLLTCGDVEENPGPR	T2A искусственный
7	RKVCNGIGIGEFKDSLSINATNIKHFKNCTISISGDLHILPVA FRGDSFHTHPPLDPQELDILKTVKEITGFLLIQAWPENRTD LHAFENLEIIRGRTKQHGQFSLAVVSLNITSLGLRSLKEISD GDVIISGNKNLCYANTINWKKLFGTSGQKTKIISNRGENSC KATGQVCHALCSPEGCWGPEPRDCVSCRNVSRGRECV KCNLLEGEPREFVENSECIQCHPECLPQAMNITCTGRGPD NCIQCAHYIDGPHCVKTCPAGVMGENNTLVWKYADAGH VCHLCHPNCTYGCTGPGLEGCPNGPKIPSIATGMVVGALL LLLVVALGIGLFM	tEGFR искусственный
8	FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV	CD28 (аминокислоты 153-179 из № доступа P10747)

		Номo sapiens
9	IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLEPGPSKPFW VLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV	CD28 (аминокислоты 114-179 из № доступа P10747) Номo sapiens
10	RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAY RS	CD28 (аминокислоты 180-220 из P10747) Номo sapiens
11	RSKRSRGGHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAY RS	CD28 (LL - GG) Номo sapiens
12	KRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGC EL	4-1BB (аминокислоты 214-255 из Q07011.1) Номo sapiens
13	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKR RGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYN ELQKDKMAEA YSEIGMKGER RRGKGHDGLY QGLSTATKDTYDALHMQALP PR	CD3 дзета Номo sapiens
14	RVKFSRSAEPPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRR GRDPEMGGKPRRKNPQEGLYN ELQKDKMAEA YSEIGMKGER RRGKGHDGLY QGLSTATKDTYDALHMQALP PR	CD3 дзета Номo sapiens
15	RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKR RGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYN ELQKDKMAEA YSEIGMKGER RRGKGHDGLY QGLSTATKDTYDALHMQALP PR	CD3 дзета Номo sapiens
16	PGGG-(SGGGG)5-P- wherein P is proline, G is glycine and S is serine	линкер
17	GSADDAKKDAAKKDGKS	Линкер
18	MLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRCSSNTPPLTCQRY	Внеклеточный

	CNASVTNSVKGTTNA	домен ВСМА человека (№ GenBank NP_001183.2)
19	GGGS	Последовательность линкера
20	PKSSDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Модифицированный Fc IgG1 человека
21	MPLLLLLLPLWAGALA	CD33 Сигнальный пептид
22	MPLLLLLLPLWAGALAMLQ MAGQCSQNEYFDSLHACIPCQLRCSSNTPPLTCQRYCNASVTNSVKGTTNAGGGGSPKSSDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	ВСМА-Fc конструкция
23	EGRGSLLTCGDVEENPGP	T2A
24	GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP	P2A
25	ATNFSLLKQAGDVEENPGP	P2A
26	QCTNYALLKLAGDVESNPGP	E2A
27	VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP	F2A
28	RKVCNGIGIGEFKDSL SINATNIKHFKNCT SISGDLHILPVARFGDSFHTHPPLDPQELDILKTVKEITGFLLIQAWPENRTDLHAFENLEIIRGR TKQH GQFSLAVVSLNITSLGLRSLKEISDGDVIISGNKNLCYANTINWKKLFGTSGQKTKIISNRGENSKATGQVCHALCSPEGCWGPEPRDCVSCRNVSRGRECVDKCNLLEGEPRFVENSECIQCHPECLPQAMNITCTGRGPD	tEGFR искусственный

	NCIQCAHYIDGPHCVKTCPCAGVMGENNTLVWKYADAGH VCHLCHPNCTYGCTGPGLEGCP TNGPKIPSIATGMVGALL LLL VVALGIGLFM	
29	ESKYGPPCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFQS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRW QEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK	Шарнир-CH2- CH3 спейсер Homo sapiens
30	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSINWVKRA PGKGLKWMGWINTETREPAYAYDFRGRFAFSLETSASTA YLQINN LKYEDTATYFCALDYSYAMDYWGQGTSVTVSS	Вариабельная тяжелая (VH) Анти-BCMA
31	DIVLTQSPPSLAMS LGKRATISCRASESVTILGSHLIHWYQ QKPGQPPTLLIQLASNVQTGV PARFSGSGSRTDFTLTIDPV EEDDVAVYYCLQSR TIPRTFGGGTKLEIK	Вариабельная легкая (VL) Анти-BCMA
32	QIQLVQSGPDLKKPGETVKLSCKASGYTFTNFGMNWVKQ APGKGFKWMAWINTYTGESYFADDFKGRFAFSVETSATT AYLQINN LKTEDTATYFCARGEIYYGYDGGFA YWGQGT LTVSA	Вариабельная тяжелая (VH) Анти-BCMA
33	DVVM TQSHRFMSTSVGDRVSITCRASQDVNTAVSWYQQ KPGQSPKLLIFSASYRYTGV PDRFTGSGSGADFTLTISVQ AEDLAVYYCQQHYSTPWTFGGGTKLDIK	Вариабельная легкая (VL) Анти-BCMA
34	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQ MPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGHVTISADKSISTA YLQWSSLKASDTAMYYCARYSGSFDNWGQGT LTVSS	Вариабельная тяжелая (VH) Анти-BCMA
35	SYELTQPPSASGTPGQRVTMSCSGTSSNIGSHSVN WYQQ LPGTAPKLLIYTNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQS EDEADYYCAAWDGSLNGLVFGGGTKLTVLG	Вариабельная легкая (VL) Анти-BCMA
36	EVQLVQSGAEMKKPGASLKL SCKASGYTFIDYVYWMR QAPGQGLESMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSIS TAYMELSR LRSDDTAMYYCARSQRDGYMDYWGQGT L TVSS	Вариабельная тяжелая (VH) Анти-BCMA
37	QSALTQPASVSASPGQSI AISCTGTSSDVGWYQQHPGKAP KLMIYEDSKRPSGVS NRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEA	Вариабельная легкая (VL)

	DYYCSSNTRSSTLVFGGGTKLTVLG	Анти-BCMA
38	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQ APGQGLEWMGRIIPILGIANYAQKFQGRVTMTEDTSTD YMESSLRSEDTAVYYCARSGYSKIVSYMDYWGQGLTV TVSS	Варибельная тяжелая (VH) Анти-BCMA
39	LPVLTQPPSTSGTPGQRVTVSCSGSSSNIGSNVFWYQQLP GTAPKLVIIYRNNQRPSGVPDRFSVSKSGTSASLAISGLRSE DEADYYCAAWDDSLSGYVFGTGTKVTVLG	Варибельная легкая (VL) Анти-BCMA
40	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQ APGQGLEWMGRIIPILGTANYAQKFQGRVTITADESTSTA YMESSLRSEDTAVYYCARSGYGSYRWEDSWGQGLTV VSS	Варибельная тяжелая (VH) Анти-BCMA
41	QAVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNYVFWYQQLP GTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSE DEADYYCAAWDDSLSASYVFGTGTKVTVLG	Варибельная легкая (VL) Анти-BCMA
42	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMHWV RQAPGQRLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQDRITVTRDTSS NTGYMELTRLRSDDTAVYYCARSPYSGVLDKVGQGLTV TVSS	Варибельная тяжелая (VH) Анти-BCMA
43	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGFDVHWYQQ LPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQ AEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLG	Варибельная легкая (VL) Анти-BCMA
44	IYIWAPLAGTCGVLLLLSLVITLYCNHRN	CD8a TM
45	IYIWAPLAGTCGVLLLLSLVIT	CD8a TM
46	RAAA	линкерный пептид
47	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQ APGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSL YLQMNSLRRAEDTAVYYCAKVDGDYTEDYWGQGLTVTV SS	Варибельная тяжелая (VH) Анти-BCMA
48	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGSSSDVGKYNLVS WYQQPPGKAPKLIYDVNKRPSGVSNRFSGSKSGNTATLTISGLQ GDDEADYYCSSYGGRSYVFGTGTKVTVL	Варибельная легкая (VL) Анти-BCMA
49	EVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYAMSWFRQ	Варибельная

	APGKGLEWVGFIRSKAYGGTTEYAASVKGRFTISRDDSKS IAYLQMNSLKTEDTAVYYCAAWSAPTDYWGQGLVTVS S	тяжелая (VH) Анти-BCMA
50	DIQMTQSPAFLSASVGDRVTVTCRASQGISNYLAWYQQK PGNAPRLLIYSASTLQSGVPSRFRGTGYGTEFSLTIDSLQPE DFATYYCQSYTSRQTFGPGTRLDIK	Варибельная легкая (VL) Анти-BCMA
51	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQ APGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNANKNSL YLQMNSLRAEDTAVYYCAKVDGPPSFDIWGQGMVTVS S	Варибельная тяжелая (VH) Анти-BCMA
52	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGANNIGSKSVHWYQQKP GQAPMLVVYDDDDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGVEA GDEADYFCHLWDRSRDHYVFGTGTKLTVL	Варибельная легкая (VL) Анти-BCMA
53	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQ APGQGLEWMGRIIPILGIANYAQKFQGRVTMTEDTSTDTA YMELSSLRSEDVAVYYCARSGYSKIVSYMDYWGQGLV TVSS	Варибельная тяжелая (VH) Анти-BCMA
54	LPVLTQPPSTSGTPGQRVTVSCSGSSSNIGSNVFWYQQLP GTAPKLVIIYRNNQRPSGVPDRFSVSKSGTSASLAISGLRSE DEADYYCAAWDDSLSGYVFGTGTKVTVLG	Варибельная легкая (VL) Анти-BCMA
55	ASGGGGSGGRASGGGGS	Линкер
56	DYYVY	BCMA-55 CDR- H1 (ак) - Нумерация Kabat
57	WINPNSGGTNYAQKFQG	BCMA-55 CDR- H2 (ак) - Нумерация Kabat
58	SQRDGYMDY	BCMA-55 CDR- H3 (ак) - Нумерация Kabat, Chothia и AbM

59	TGTSSDVG	BCMA-55 CDR-L1 (ак) - Нумерация Kabat, Chothia и AbM
60	EDSKRPS	BCMA-55 CDR-L2 (ак) - Нумерация Kabat, Chothia и AbM
61	SSNTRSSTLV	BCMA-55 CDR-L3 (ак) - Нумерация Kabat, Chothia и AbM
62	DYSIN	CDR-H1
63	WINTETREPAYAYDFRG	CDR-H2
64	DYSYAMDY	CDR-H3
65	RASESVTILGSHLIH	CDR-L1
66	LASNVQT	CDR-L2
67	LQSRTIPRT	CDR-L3
68	DIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRASESVTILGSHLIHWYQ QKPGQPPTLLIQLASNVQTGVPARFSGSGSRTDFTLTIDPV EEDDVAVYYCLQSRTIPRTFGGGTKLEIKGSTSGSGKPGS GEGSTKGQIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSI NWKRAPGKGLKWMGWINTETREPAYAYDFRGRFAFSL ETSASTAYLQINNPKYEDTATYFCALDYSYAMDYWGQG TSVTVSS	scFv
69	cagtctgcctgacacagcctgccagcgttagtgctagtcccggacagtctatgccatcag ctgtaccggcaccagctctgacgttgctggtatcagcagcacctggcaaggccctaag ctgatgatctacgaggacagcaagagggccagcggcgtgtccaatagattcagcggcagc aagagcggcaacaccgccagcctgacaattagcggactgcaggccgaggacgaggccg attactactgcagcagcaacaccggcctcagcacactggttttggcggaggcaccaagct gacagtgtgggatctagaggtggcggaggatctggcggcggagggaagcggaggcggc	анти-BCMA CAR

	<p>ggatctctgaaatggctgaagtgcagctggtgcagctctggcggcgagatgaagaaacctg gcgctctctgaagctgagctgcaaggccagcggctacacctcatcgactactacgtgtac tggatgcggcaggccctggacagggactcgaatctatgggctggatcaacccaatagc ggcggcaccaattacgccagaaattccagggcagagtaccatgaccagagacaccag catcagcaccgcctacatggaactgagccggctgagatccgacgacaccgcatgtacta ctgcgccagatctcagcgcgacggctacatggattattggggccaggaacctggtcac cgtgtccagcagtgctaaatacggaccgccttctcctctgtcccgtcctcctgttgccgg acctccgtgttctctgttctcctcaaagcctaaggacacctgatgatcagcaggacctga agtgacctgcgtggtggtggatgtgtccaagaggatcccaggtgcagttcaactggtat gtggacggcgtggaagtgcacaacccaagaccaagcctagagaggaacagttccaga gcacctacagagtgggtgtccgtgtgacagtgtgcaccaggattggtgaacggcaag agtacaagtcaaggtgtccaacaaggcctgcctagcagcatcgagaaaacctctcca aggccaaggccagccaagagagccccaggtttacacactgcctccaagccaagaggaa atgaccaagaatcaggtgtccctgacatgcctggtaagggtcttacctccgatatcgc cgtggaatgggagagcaatggccagcctgagaacaactacaagaccacacctctgtgt ggacagcgacggcagtttctctgtatagtagactaccgtggataaatcaagatggcaag agggaacgtgttcagctgcagcgtgatgcacgaggccctgcacaaccactacaccaga aaagcctgagcctgtctctgggcaagatgttctgggtgctcgtggtcgttgccggagtgtg gcctgttacagcctgctggtaccgtggccttcatcatctttgggtcaagcggggcagaaag aagctgctctacatctcaagcagccctcatcggccctgcagaccacacaagaggaag atggctgctcctgcagatccccgaggaagaagaaggcggctgcgagctgagagtgaagt tcagcagatccggcagcctccagcctatcagcagggcaaaaaccagctgtacaacgagc tgaacctggggagaagagaagagtacgacgtgctggataagcggagagggcagagatcct gaaatggggcggcaagcccagacggaagaatcctcaagaggcctgtataatgagctgca gaaagacaagatggccgaggcctacagcgagatcggaatgaaggcgagcgcagaag aggcaagggacacgatggactgtaccagggcctgagcaccgccaccaaggatacctatg acgcactgcacatgcaggccctgccacctaga</p>	
70	GSTSGSGKPGSGEGSTKG	Линкер
71	GGGS	Линкер
72	GGGSGGGSGGGGS	Линкер
73	GSTSGSGKPGSGEGSTKG	Линкер
74	SRGGGSGGGSGGGGSLEMA	Линкер
75	MALPVTALLLPLALLLHAARP	CD8a сигнальный пептид

76	METDTLLLWVLLLVPGSTG	сигнальный пептид
77	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQ APGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCARAEMGAVFDIWGQGMVTV SS	Варибельная тяжелая (VH) Анти-BCMA
78	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSRYLAWYQQKP GQAPRLLIYDASNRTGIPARFSGSGSGTDFTLTISSEPED FAVYYCQQRISWPFTFGGGTKVEIK	Варибельная легкая (VL) Анти-BCMA
79	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVR QAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTL TYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGTYLGGLWYFDLWGR GTLVTVSS	Варибельная тяжелая (VH) Анти-BCMA
80	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWY LQKPGQSPQLLIYLGSRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDVGVYYCMQGLGLPLTFGGGTKVEIK	Варибельная легкая (VL) Анти-BCMA
81	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTSYMHWR QAPGQGLEWMGIINPGGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTS TVYMEISSLRSEDTAVYYCARESWPMDVWGQGTITVTS S	Варибельная тяжелая (VH) Анти-BCMA
82	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKP GQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSED FAVYYCQQYAAYPFTFGGGTKVEIK	Варибельная легкая (VL) Анти-BCMA
83	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQ PPGKGLEWIGSISYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSL KLSSVTAADTAVYYCARGRGYATSLAFDIWGQGMVTV SS	Варибельная тяжелая (VH) Анти-BCMA
84	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKP GQAPRLLIYDASNRTGIPARFSGSGSGTDFTLTISSEPED FAVYYCQQRHVWPFTFGGGTKVEIK	Варибельная легкая (VL) Анти-BCMA
85	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQ APGKGLEWVSTISSSSTIYYADSVKGRFTISRDNKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARGSQEHLIFDYWGQGLVTVSS	Варибельная тяжелая (VH) Анти-BCMA
86	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSRYLAWYQQKP	Варибельная

	GQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPED FAVYYCQQRFYYPWTFGGGKVEIK	легкая (VL) Анти-BCMA
87	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVR QAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTDFWSGSPGLDYWGQG TLVTVSS	Варибельная тяжелая (VH) Анти-BCMA
88	DIQLTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKP GKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQIYTFPFTFGGGKVEIK	Варибельная легкая (VL) Анти-BCMA
89	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKKASGGTFSSYAISWVRQ APGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTA YMESSLRSED TAVYYCARTPEYSSSIWHYHYGMDVWG QGTTVTVSS	Варибельная тяжелая (VH) Анти-BCMA
90	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLA WYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLT ISSLQAEDVAVYYCQQFAHTPFTFGGGKVEIK	Варибельная легкая (VL) Анти-BCMA
91	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVR QAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVKGPLQEPYDYGMDVWG QGTTVTVSS	Варибельная тяжелая (VH) Анти-BCMA
92	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKP GQAPRLLIYSASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSED FAVYYCQQHHVWPLTFGGGKVEIK	Варибельная легкая (VL) Анти-BCMA
93	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKKASGGTFSSYAISWVRQ APGQGLEWMGRIPILGIANYAQKFQGRVTITADKSTSTA YMESSLRSED TAVYYCARGGYSHDMWSEDWGQGT LTVSS	Варибельная тяжелая (VH) Анти-BCMA
94	LPVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGRSSNIGSNSVNWYRQLP GAAPKLLIYSNNQRPPGVPVRFSGSKSGTSASLAISGLQSE DEATYYCATWDDNLNVHYVFGTGTKVTVLG	Варибельная легкая (VL) Анти-BCMA
95	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSKKASGYTFTDYSINWVRQ APGQGLEWMGWINTETREPAYAYDFRGRFVFLDTSVST AYLQISSLKAEDTAVYYCARDYSYAMDYWGQGT LTVSS	Варибельная тяжелая (VH) Анти-BCMA

96	DIVLTQSPASLAVSLGERATINCRASESVSVIGAHLIHWYQ QKPGQPPKLLIYLASNLETGVPARFSGSGSGTDFTLTISL QAEDAIIYYCLQSRIFPRTFGQGTKLEIK	Вариабельная легкая (VL) Анти-BCMA
97	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNGTHMSWVRR APGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNRSNTLY LQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSS	Вариабельная тяжелая (VH) Анти-BCMA
98	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPG KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDF ATYYCQQSYSTPYTFGQGTKVEIK	Вариабельная легкая (VL) Анти-BCMA
99	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQ APGKGLGWVSGISRSGENTYYADSVKGRFTISRDNKNTL YLQMNSLRDEDTAVYYCARSPAHYGGMDVWGQGTTV TVSS	Вариабельная тяжелая (VH) Анти-BCMA
100	DIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSISSSFLAWYQQKP GQAPRLLIYGASRRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPED SAVYYCQQYHSSPSWTFGQGTKLEIK	Вариабельная легкая (VL) Анти-BCMA
101	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNGTHMSWVR RAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNRSNTL YLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSS	Вариабельная тяжелая (VH) Анти-BCMA
102	DIRLTQSPSPLSASVGDRVTITCQASEDINKFLNWHQTPG KAPKLLIYDASTLQTVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLQPEDI GTYYCQQYESLPLTFGGGTKVEIK	Вариабельная легкая (VL) Анти-BCMA
103	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNGTHMSWVRR APGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNRSNTLY LQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSS	Вариабельная тяжелая (VH) Анти-BCMA
104	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSIGSSSLAWYQQKP GQAPRLLMYGASSRASGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYCQQYAGSPPTFGQGTKVEIK	Вариабельная легкая (VL) Анти-BCMA
105	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTRHYSMNWVKQ APGKGLKWMGRINTESGVPIYADDFKGRFAFSVETSASTA YLVINNLKDEDASYFCSNDYLYSLDFWGQGTALTSS	Вариабельная тяжелая (VH) Анти-BCMA
106	DIVLTQSPPSLAMS LGKRATISCRASESVTILGSHLIWYQ QKPGQPPTLLIQLASNVQTGVPARFSGSGSRTDFTLTIDPV EEDDVAVYYCLQSRITPRTFGGGGTKLEIK	Вариабельная легкая (VL) Анти-BCMA

107	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTHYSMNWVKQ APGKGLKWMGRINTETGEPLYADDFKGRFAFSLETSAST AYLVINNLKNEDTATFFCSNDYLYSCDYWGQGTTLTVSS	Вариабельная тяжелая (VH) Анти-BCMA
108	DIVLTQSPASLAMS LGKRATISCRASESVSVIG AHLIHWYQ QKPGQPPKLLIY LASNLETGV PARFSGSGSGTDFTLTIDPV EEDDVAIYSCLQSRIFPRTFGGGTKLEIK	Вариабельная легкая (VL) Анти-BCMA
109	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYSPDYINWVR QAPGQGLEWMGWIFASGNSEYNQKFTGRVTMTRDTSI NTAYMELSSLTSED TAVYFCASLYDYDWYFDVWGQGT MTVTVSS	Вариабельная тяжелая (VH) Анти-BCMA
110	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLVHSNGNTYLHW YLQKPGQSPQLLIYKVS NRFSGV PDRFSGSGSGTDFTLKIS RVEAEDVGIYYCSQSSIYPWTFGQGTKLEIK	Вариабельная легкая (VL) Анти-BCMA
111	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYSPDYINWVR QAPGQGLEWMGWIFASGNSEYNQKFTGRVTMTRDTSS STAYMELSSLRSED TAVYFCASLYDYDWYFDVWGQGT MTVTVSS	Вариабельная тяжелая (VH) Анти-BCMA
112	DIVMTQTPLSLSVTPGEPASISCKSSQSLVHSNGNTYLHW YLQKPGQSPQLLIYKVS NRFSGV PDRFSGSGSGADFTLKIS RVEAEDVGVYYCAETSHVPWTFGQGTKLEIK	Вариабельная легкая (VL) Анти-BCMA
113	QVQLVESGGGLVQP GGSRLRSCEASGFTLDYYAIGWFRQ APGKERE GVICISRSDGSTYYADSVKGRFTISRDN AKKTV YLQMISLKPEDTAA YYCAAGADCSGYLRDYEFRGQGTQ MTVTVSS	Анти-BCMA sdAb
114	IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCP SPLFPGPSKP	CD28 спейсер
115	IYIWAPLAGTCGV LLLSLVITLYCN	CD8a TM
116	LDNEKSNGTIIHVKGKHLCP SPLFPGPSKP	CD28 спейсер (усеченный)
117	PTTTPAPRPPTPAPT IASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGL DFACD	CD8a шарнир
118	TTTPAPRPPTPAPT IASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLD FACD	CD8a шарнир
119	FVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPT IASQPLSLRPEACRPAAG GAVHTRGLDFACD	CD8a шарнир

120	DTGLYICKVELMYPPPYLGGINGTQIYVIDPEPCPDS	CTLA4 шарнир
121	FLLWILAAVSSGLFFYSFLLTAVS	CTLA4 ТМ
122	QIKESLRAELRVTERRAEVPTAHPSPSPRPAGQFQTLV	PD-1 шарнир
123	VGVVGGLLGSLVLLVWVLAVI	PD-1 ТМ
124	GLAVSTISSFFPPGYQ	FcγRIIIa шарнир
125	EPKSPDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIARTP EVTVCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	IgG1 шарнир
126	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYAMSWVRQ APGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCARAEMGAVFDIWGQGTMTV SSGSTSGSGKPGSGEGSTKGEIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRASQSVSRYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASN RATGIPARF SGSGSGTDFTLTISLPEPDAVYYCQQRISWPFTFGGGTK VEIKRAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFVW LVVVGGLV LACYSLLVTVAFIIFWVR SKRSRLLHSDYMN TPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAY QQGQNQLYNELNLGRREEYDVL DKRRGRDP EMGGKPRR KNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGL YQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	анти-BCMA CAR
127	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSRYLAWYQQK GQAPRLLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLPEP DAVYYCQQRISWPFTFGGGTKVEIKRGSTSGSGKPGSGEG STKGEVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYAM SWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAEMGAVFDIWGQGT MVTVSSAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPF WVLVVVGGLV LACYSLLVTVAFIIFWVR SKRSRLLHSDY MNTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAP AYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVL DKRRGRDP EMGGK PRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHD	анти-BCMA CAR

	GLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR	
128	<p>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVR QAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGTYLGGLWYFDLWGR GTLVTVSSGSTSGSGKPGSGEGSTKGDIVMTQSPLSLPVT GEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYL GSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCM QGLGLPLTFGGGTKVEIKRAAALDNEKSNGTIIHVKGKHL CPSPLFPGPSKPFWVLLVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVR SKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYR SRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVL DK RRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIG MKGERRRGKGH DGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR</p>	анти-BCMA CAR
129	<p>DIVMTQSPLSLPVTGEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWY LQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDVGVYYCMQGLGLPLTFGGGTKVEIKRGSTSGSGK PGSGEGSTKGQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS SYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGR FTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGTYLGGL WYFDLWGRGTLVTVSSAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCP SPLFPGPSKPFWVLLVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSK RSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSR VKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVL DKRR GRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMK GERRRGKGH DGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR</p>	анти-BCMA CAR
130	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYMHWVR QAPGQGLEWMGIINPGGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTS TVYMESSLRSED TAVYYCARESWPMDVWGQGTTVTVS SGSTSGSGKPGSGEGSTKGEIVMTQSPATLSVSPGERATLS CRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARF SGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQYAAAYPTFGGGTK VEIKRAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFLFPGPSKPFWV LLVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMN TPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAY QQGQNQLYNELNLGRREEYDVL DKRRGRDPEMGGKPRR</p>	анти-BCMA CAR

	KNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGL YQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	
131	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKP GQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSED FAVYYCQQYAAYPTEGGTKVEIKRGSTSGSGKPGSGEG STKGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYM HWVRQAPGQGLEWMGIINPGGGSTSYAQKFQGRVTMTR DTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCARESWPMDVWGQGT TVTSSAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFW VLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMN MTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPA YQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDG LYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	анти-BCMA CAR
132	QLLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWIRQ PPGKLEWIGSISYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSL KLSSVTAADTAVYYCARGRGYATSLAFDIWGQTMVTV SSGSTSGSGKPGSGEGSTKGEIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARF SGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQQRHVWPTEGGGT KVEIKRAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFW VLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMN MTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPA YQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDG LYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	анти-BCMA CAR
133	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKP GQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPED FAVYYCQQRHVWPTEGGGTVEIKRGSTSGSGKPGSGE GSTKGQLLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSSSYW GWIRQPPGKLEWIGSISYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSK NQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGRGYATSLAFDIWGQGT MVTSSAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPF WVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYM NMTTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAP	анти-BCMA CAR

	AYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR	
134	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSTISSSSSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSQEHLIFDYWGQGLVTVSSGSTSGSGKPGSGEGSTKGEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSRYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRAATGIPARFSGSGGTDFLTISLLEPEDFAVYYCQQRFYYPWTFGGGTVKVEIKRAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFWLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR	анти-BCMA CAR
135	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSRYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRAATGIPARFSGSGGTDFLTISLLEPEDFAVYYCQQRFYYPWTFGGGTVKVEIKRGSTSGSGKPGSGEGSTKGEIVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSTISSSSSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSQEHLIFDYWGQGLVTVSSAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFWLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR	анти-BCMA CAR
136	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTDFWVSGSPPGLDYWGQGLVTVSSGSTSGSGKPGSGEGSTKGDVLTQSPSSVSASVGRVITTCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSGGTDFLTISLLEPEDFATYYCQQIYTFPFTFGGGTKVEIKRAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFWLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSD	анти-BCMA CAR

	YMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSAD APAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGG KPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKG HDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR	
137	DIQLTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKP GKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED FATYYCQQIYTFPFTFGGGTKVEIKRGSTSGSGKPGSGEGS TKGQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHW VRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTDFWWSGPPGLDYWG QGTLVTVSSAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSK PFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDY MNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADA PAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGK PRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGH DGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR	анти-BCMA CAR
138	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSY AISWVRQ APGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTA YMELSSLRSED TAVYYCARTPEYSSSIWHY YGMDVWG QGTTVTVSSGSTSGSGKPGSGEGSTKGDIVMTQSPDSLAV SLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKL LIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVY YCQQFAHTPFTFGGGTKVEIKRAAALDNEKSNGTIIHVKG KHLCPSPFPGPSK PFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIF WVRSKRSRLLHSDY MNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFA AYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDV LDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYS EIGMKGERRRGKGH DGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALP PR	анти-BCMA CAR
139	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLA WYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLT ISSLQAEDVAVYYCQQFAHTPFTFGGGTKVEIKRGSTSGS GKPGSGEGSTKGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGG TFSSY AISWVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGR VTITADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARTPEYSSSIWH	анти-BCMA CAR

	<p>YYYGMDVWGQGTTVTVSSAAALDNEKSNGTIIHVKGKH LCPSPFLPGPSKPFWVLVVVGGVLACYLLVTVAFIIFWV RSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAY RSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVL KRRGRDPGEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEI GMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR</p>	
140	<p>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVR QAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCVKGPLQEPPYDYGM DVGWGQGTTVTVSSGSTSGSGKPGSGEGSTKGEIVMT QSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQ APRLLIYSASTRATGIPARFSGSGGTEFTLTISLQSE DFAVYYCQQHHVWPLTFGGGTKVEIKRAAALDNEKS NGTIIHVKGKHLCPSP LFPGPSKPFWVLVVVGGV LACYLLVTVAFIIFWVRSKRS RLLHSDYMNMT PRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAP AYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLKRRGRDPGEM GGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKG ERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR</p>	анти-BCMA CAR
141	<p>EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWY QQKPGAPRLLIYASSTRATGIPARFSGSGGTEFTLT ISLQSEDFAVYYCQQHHVWPLTFGGGTKVEIKRGS TSGSGKPGSGEGSTKGEIVMTQSPATLSVSPGER ATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGAPRLLIYSASTRA TGIPARFSGSGGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQHH VWPLTFGGGTKVEIKRGSTSGSGKPGSGEGSTKGE IVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWY QQKPGAPRLLIYASSTRATGIPARFSGSGGTEFTLT ISLQSEDFAVYYCQQHHVWPLTFGGGTKVEIKRGS TSGSGKPGSGEGSTKGEIVMTQSPATLSVSPGER ATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGAPRLLIYSASTRA TGIPARFSGSGGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQHH VWPLTFGGGTKVEIKRAAALDNEKSNGTIIHVKGK HLCPSP LFPGPSKPFWVLVVVGGVLACYLLVTVA FIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPY APPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNEL NLGRREEYDVLKRRGRDPGEMGGKPRRKNPQEGL YNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLY QGLSTATKDTYDALHMQUALPPR</p>	анти-BCMA CAR
142	<p>QSALTQPASVSASPGQSIASCTGTSSDVGWYQQHPG KAPKLMYEDSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGL QAEDEADYYCSSNTRSSTLVFGGGTKLTVLGSRRG GGGGSGGGGGSGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPG ASLKLSCASGYTFIDY YVYWMRQAPGQGLESMG WINPNSGGTNYAQKFQGRVT</p>	анти-BCMA CAR

	MTRDTSISTA YMELSRLSDDTAMYYCARSQRDGYMDY WGQGLTVTVSSAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGK HLCPSPLFPGPSKPFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFW VRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAA YRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVL DKRRGRDPPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSE IGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPP R	
143	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGFDVHWYQQ LPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQ AEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGSRGGGGSG GGGSGGGGSLEMAQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKKAS GYTFTDYMHWRQAPGQRLEWMGWINPNSGGTNYAQ KFQDRITVTRDTSSNTGYMELTRLRSDDTAVYYCARSPYS GVLKDWGQGLTVTVSSAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIH VKGKHLCPSPFPGPSKPFWVLVVVGGVLACYSLLVTVA FIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPR DFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEY DVLKRRGRDPPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA YSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR	анти-BCMA CAR
144	SYELTQPPSASGTPGQRVTMSCSGTSSNIGSHSVNHWYQQL PGTAPKLLIYTNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQS EDEADYYCAAWDGSNLGLVFGGGTKLTVLGSRGGGGSG GGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSG YSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQ GHVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARYSGSFD NWGQGLTVTVSSAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKG KHLCPSPFPGPSKPFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIF WVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFA AYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDV LDKRRGRDPPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYS EIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALP PR	анти-BCMA CAR
145	LPVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGRSSNIGSNSVNHWYRQLP	анти-BCMA

	GAAPKLLIYSNNQRPPGVPVRFSGSKSGTSASLAISGLQSE DEATYYCATWDDNLNVHYVFGTGTKVTVLGSRRGGGGSG GGGSGGGGSLEMAQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKAS GGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGIANYAQKFQ GRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDNAVYYCARGGYSH DMWSEDWGQGLTVTVSSAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTI IHVKGKHLCPSPFPGPSKPFWVLVVVGGVLACYSLLVTV AFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPP RDFAAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREE YDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAE AYSEIGMKGERRRGKGHGGLYQGLSTATKDTYDALHMQ ALPPR	CAR
146	QAVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNYVFWYQQLP GTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSE DEADYYCAA WDDLSASVYVFGTGTKVTVLGSRRGGGGSG GGGSGGGGSLEMAQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKAS GGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGTANYAQKFQ GRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDNAVYYCARSGYGSYR WEDSWGQGLTVTVSSAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIH VKGKHLCPSPFPGPSKPFWVLVVVGGVLACYSLLVTV FIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPP RDFAAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEY DVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA YSEIGMKGERRRGKGHGGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR	анти-BCMA CAR
147	LPVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGRSSNIGSNVNWYRQLP GAAPKLLIYSNNQRPPGVPVRFSGSKSGTSASLAISGLQSE DEATYYCATWDDNLNVHYVFGTGTKVTVLGSRRGGGGSG GGGSGGGGSLEMAQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKAS GGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGIANYAQKFQ GRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDNAVYYCARGGYSH DMWSEDWGQGLTVTVSSAAAPTTPAPRPPTPAPTIASQP LSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGV LLLSLVITLYCNKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSAEPPAYQQGQNQLYNELNL	анти-BCMA CAR

	GRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYD ALHMQUALPPR	
148	SYELTQPPSASGTPGQRVTMSCSGTSSNIGSHSVNHWYQQL PGTAPKLLIYTNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQS EDEADYYCAAWDGSLNGLVFGGGTKLTVLGSRRGGGGSG GGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSG YSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQ GHVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARYSGSFD NWGQGT LVTVSSAAAPT TTPAPRPPTPAPT IASQPLSLRPE ACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWA PLAGTCGVLLLSLVI TLYCNKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEE EEGGCELRVKFSRSAEPPAYQQGQNQLYNELNLGRREEY DVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA YSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR	анти-BCMA CAR
149	QAVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNYVFWYQQLP GTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSE DEADYYCAA WDDSL SASYVFGTGTKVTVLGSRRGGGGSG GGGSGGGGSLEMAQVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKAS GGTFSSY AISWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGTANYAQKFQ GRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCARSGYGSYR WEDSWGQGT LVTVSSAAAPT TTPAPRPPTPAPT IASQPLSL RPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWA PLAGTCGVLLL SLVITLYCNKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCR FPEEEEGGCELRVKFSRSAEPPAYQQGQNQLYNELNLGRR EEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALH MQALPPR	анти-BCMA CAR
150	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGFDVHWYQQ LPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQ AEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGSRRGGGGSG GGGSGGGGSLEMAQVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKAS GYTFTDYMHVVRQAPGQRLEWMGWINPNSGGTNYAQ KFQDRITVTRDTSSNTGYMELTRLRSDDTA VYYCARSPYS	анти-BCMA CAR

	GVLDKWGGQGLVTVSSAAAPTTTPAPRPPTPAPTIASQPL SLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVL LLSLVITLYCNKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCS CRFPEEEEGGCELRVKFSRSAEPPAYQQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKD KMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDA LHMQUALPPR	
151	QSALTQPASVSASPGQSIASCTGTSSDVGWYQQHPGKAP KLMIYEDSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEA DYCYSSNTRSSTLVFGGGTKLTVLGSRRGGGGSGGGSGG GGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGASLKLSCASGYTFIDY YVYWMRQAPGQGLESMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVT MTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAMYCARSQRDGYMDY WGQGLVTVSSAAAPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEA CRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVIT LYCNKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFP EEEGGCELRVKFSRSAEPPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYD VLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAY SEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUAL PPR	анти-BCMA CAR
152	DIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRASESVTILGSHLIHWYQ QKPGQPPTLLIQLASNVTGVPARFSGSGSRTDFTLTIDPV EEDDVAVYYCLQSRTIPRTFGGGTKLEIKGSTSGSGKPGS GEGSTKGQIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSI NWKRAPGKGLKWMGWINTETREPAYAYDFRGRFAFSL ETSASTAYLQINNLKYEDTATYFCALDYSYAMDYWGQG TSVTVSSAAATTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA AGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKR GRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFP EEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKR RGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGM KGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR	анти-BCMA CAR
153	DIVLTQSPASLAVSLGERATINCRASESVSVIGAHLIHWYQ QKPGQPPLLIYLASNLETGVPARFSGSGSGTDFTLTISL QAEDAAYYYCLQSRIFPRTFGQGTKLEIKGSTSGSGKPGSG	анти-BCMA CAR

	EGSTKGQVQLVQSGSELKKPGASVKV SCKASGYTFTDYSI NWVRQAPGQGLEWMGWINTETREPAYAYDFRGRFVFSL DTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARDYSYAMDYWGQG TLVTVSSAAATTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAA GGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKR GRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKR RGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGM KGERRRGKGHGGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR	
154	DIVLTQSPASLAVSLGERATINCRASESVSVIGAHLIHWYQ QKPGQPPKLLIYLASNLETGVPARFSGSGSGTDFTLTISL QAEDAAYCLQSRIFPRTFGQGTKLEIKGSTSGSGKPGSG EGSTKGQVQLVQSGSELKKPGASVKV SCKASGYTFTDYSI NWVRQAPGQGLEWMGWINTETREPAYAYDFRGRFVFSL DTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARDYSYAMDYWGQG TLVTVSSAAADTGLYICKVELMYPPPYLIGINGTQIYVI DPEPCPDSDFLLWILAAVSSGLFFYSFLLTAVSKRGRKKLL YIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRS ADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEM GGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRG KGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR	анти-BCMA CAR
155	DIVLTQSPASLAVSLGERATINCRASESVSVIGAHLIHWYQ QKPGQPPKLLIYLASNLETGVPARFSGSGSGTDFTLTISL QAEDAAYCLQSRIFPRTFGQGTKLEIKGSTSGSGKPGSG EGSTKGQVQLVQSGSELKKPGASVKV SCKASGYTFTDYSI NWVRQAPGQGLEWMGWINTETREPAYAYDFRGRFVFSL DTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARDYSYAMDYWGQG TLVTVSSAAAQIKESLRAELRVTERRAEVPTAHSPSPRPA GQFQTLVVGVGGLLGSLLVWVLAVICSKRGRKKLLY IFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSA DAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHGGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR	анти-BCMA CAR
156	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLS CAASGFTFSDYYMSWIRQ APGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSL	анти-BCMA CAR

	<p>YLQMNSLRAEDTAVYYCAKVDGDYTEDYWGQGLVTV SSGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSITISCTG SSSDVGKYNLVSWEYQPPGKAPKLIYDVNKRPSGVSNR SGSKSGNTATLTISGLQGDDEADYYCSSYGGRSYVFGTG TKVTVLESKYGPPCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSS IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDFFLYSRLT VDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGKMF WVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVKRGRKLLYIFKQ PFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAP AYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPPEMGGKP RRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHD GLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR</p>	
157	<p>EVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYAMSWFKQ APGKGLEWVGFIRSKAYGGTTEYAASVKGRFTISRDDSKS IAYLQMNSLKTEDTAVYYCAAWSAPTDYWGQGLVTVS SGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPAFLSASVGDRVTVTC RASQGISNYLAWYQQKPGNAPRLLIYSASTLQSGVPSRFR GTGYGTEFSLTIDSLQPEDFATYYCQQSYTSRQTFGPGTRL DIKESKYGPPCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF QSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDFFLYSRLTVDKS RWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGKMFVWLV VGGVLACYSLLVTVAFIIFWVKRGRKLLYIFKQPFMRP VQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQ GQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPPEMGGKPRRKN PQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQ GLSTATKDTYDALHMQUALPPR</p>	анти-BCMA CAR
158	<p>EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQ APGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSL YLQMNSLRAEDTAVYYCAKVDGPPSFDIWGQGMVTVS</p>	анти-BCMA CAR

	<p>SGGGGSGGGGSGGGGSSYVLTQPPSVSVAPGQTARITCG ANNIGSKSVHWYQQKPGQAPMLVVYDDDDRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISGVEAGDEADYFCHLWDRSRDHYVFGT GTKLTVLESKYGPPCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQFQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPS SIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRL TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGKM FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVKRGRKLLYIFK QPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADA PAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPGEMGGK PRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGH DGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR</p>	
159	<p>SYELTQPPSASGTPGQRVTMCSGTSNIGSHSVNHWYQQL PGTAPKLLIYTNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQS EDEADYYCAAWDGSNLGLVFGGGTKLTVLGSRRGGGGSG GGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSG YSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDSSTRYSPSFQ GHVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYICARYSGSFD NWGQGTLVTVSSESKYGPPCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQFQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SLGKMFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVKRGRKLL LYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFS RSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDP EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERR RGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR</p>	<p>анти-BCMA CAR</p>
160	<p>QSALTQPASVSASPGQSIASCTGTSSDVGWYQQHPGKAP KLMIYEDSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEA DYICSSNTRSSSTLVFGGGTKLTVLGSRRGGGGSGGGGSGG GGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGASLKLSCASGYTFIDY</p>	<p>анти-BCMA CAR</p>

	<p>YVYWMRQAPGQGLES MGWINPNSGGTNYAQKFQGRVT MTRDTSISTA YMELSR LRSDDTAMYYCARSQRDGYMDY WGQGT LVTVSSESKYGPCCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPK DTLMISRTP E VTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQFQSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS LGKMFVVLVVVGGVLACYLLVTVAFIIFWVKRGRKKL LYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFS RSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDP EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERR RGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR</p>	
161	<p>QSALTQPASVSASPGQSIASCTGTSSDVGWYQQHPGKAP KLMIYEDSKRPSGVS NRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEA DYCYSSNTRSSTLVFGGGTKLTVLGSRRGGGGSGGGSGG GGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGASLKLSCASGYTFIDY YVYWMRQAPGQGLES MGWINPNSGGTNYAQKFQGRVT MTRDTSISTA YMELSR LRSDDTAMYYCARSQRDGYMDY WGQGT LVTVSSESKYGPCCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPK DTLMISRTP E VTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQFQSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS LGKMFVVLVVVGGVLACYLLVTVAFIIFWVRSKR S RLL HSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSR SADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPE MGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRR GKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR</p>	анти-BCMA CAR
162	<p>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRR APGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDN SRNTLY LQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGT TTVTVSSASG GGGSGGRASGGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS QSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS</p>	анти-BCMA CAR

	<p> GTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKVEIKT TTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDF ACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQP FMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPA YKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGH DGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR </p>	
163	<p> QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQ APGKGLGWVSGISRSGENTYYADSVKGRFTISRDNKNTL YLQMNSLRDEDTAVYYCARSPAHHYGGMDVWGQGTTV TVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIVLTQSPGTLSPGERA TLSCRASQSISSSFLAWYQQKPGQAPRLLIYGASRRATGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPESAVYYCQYHSSPSWTFG QGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGG AVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGR KLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRV KFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRG RDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKG ERRRGKGH DGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR </p>	<p> анти-BCMA CAR </p>
164	<p> QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALS NHGMSWVR RAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNKNTL YLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSSAS GGGSGGRASGGGGSDIRLTQSPSPLSASVGDRVTITCQA SEDINKFLNWHYHQTGKAPKLLIYDASTLQTVPSRFGS GSGTDFTLTINSLQPEDIGTYCQYQYESLPLTFGGGTKVEI KTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGL DFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFK QPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADA PAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGK PRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGH DGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR </p>	<p> анти-BCMA CAR </p>
165	<p> EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALS NHGMSWVRR APGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNKNTLY LQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSSASG GGGSGGRASGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRAS </p>	<p> анти-BCMA CAR </p>

	<p>QSIGSSSLAWYQQKPGQAPRLLMYGASSRASGIPDRFSGS GSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYAGSPPTFGQGTKV EIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTR GLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLY IFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSA DAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRRGRDPENMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR</p>	
166	<p>QIQLVQSGPDLKKPGETVKLSCKASGYTFTNFGMNWVKQ APGKGFKWMAWINTYTGESYFADDFKGRFAFSVETSATT AYLQINNLTEDTATYFCARGEIYYGYDGGFAYWGQGT LTVSAGGGGSGGGGSGGGGSDVVMQSHRFMSTSVGDR VSITCRASQDVNTAVSWYQQKPGQSPKLLIFSASYRYTGV PDRFTGSGSGADFTLTSSVQAEDLAVYYCQQHYSTPWTF GGGTKLDIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAG GAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRG RKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRR GRDPENMGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMK GERRRGKHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR</p>	анти-BCMA CAR
167	<p>QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSINWVKRA PGKGLKWMGWINTETREPAYAYDFRGRFAFSLETSASTA YLQINNLYEDTATYFCALDYSYAMDYWGQGTSVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSIQLVQSGPELKKPGETVKISCKAS GYTFTDYSINWVKRAPGKGLKWMGWINTETREPAYAYD FRGRFAFSLETSASTAYLQINNLYEDTATYFCALDYSYA MDYWGQGTSVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC RPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITL YCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEG GCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVL DRRRGRDPENMGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSE IGMKGERRRGKHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPP R</p>	анти-BCMA CAR
168	<p>QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSINWVKRA PGKGLKWMGWINTETREPAYAYDFRGRFAFSLETSASTA</p>	анти-BCMA CAR

	<p>YLQINNPKYEDTATYFCALDYSYAMDYWGQGTSVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQSPASLAMSLGKRATISCRA SESVSVIGAHLIHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLETGVPARF SGSGSRTDFTLTIDPVEEDDVAIYSCLSRIFPRTFGGGTKL EIKTTTTAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTR GLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLY IFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSA DAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR</p>	
169	<p>QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFRHYSMNWVKQ APGKGLKWMGRINTESGVPIYADDFKGRFAFSVETSASTA YLVINNLKDEDTASYFCSNDYLYSLDFWGQGTALTVSSG GGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRA ESVTILGSHLIYWYQQKPGQPPTLLIQLASNVQTGVPARFS GSGSRTDFTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSRTIPRTFGGGTKL EIKTTTTAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTR GLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLY IFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSA DAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR</p>	анти-BCMA CAR
170	<p>QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTHYSMNWVKQ APGKGLKWMGRINTETGEPLYADDFKGRFAFSLETSAST AYLVINNLKNEDTATFFCSNDYLYSCDYWGQGTTLTVSS GGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRA SESVTILGSHLIYWYQQKPGQPPTLLIQLASNVQTGVPARF SGSGSRTDFTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSRTIPRTFGGGTK LEIKTTTTAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTR GLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLY IFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSA DAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR</p>	анти-BCMA CAR
171	<p>DIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRA SESVTILGSHLIHWYQ</p>	анти-BCMA

	<p>QKPGQPPTLLIQLASNVQTGVPARFSGSGSRTDFTLTIDPV EEDDVAVYYCLQSRTIPRTFGGGTKLEIKGSTSGSGKPGS GEGSTKGGIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSI NWVKRAPGKGLKWMGWINTETREPAYAYDFRGRFAFSL ETSASTAYLQINNLKYEDTATYFCALDYSYAMDYWGQG TSVTVSSFPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPE ACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVI TLYCNHRNRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYA PPRDFAAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRR EEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALH MQALPPR</p>	CAR
172	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYSEFPDYYINWVR QAPGQGLEWMGWIFYFASGNSEYNQFTGRVTMTRDTSI NTAYMELSSLTSEDVAVYFCASLYDYDWFVWGQGM VTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGQPAS ISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVS NRF SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCSQSSIYPW TFGQGTKLEIKGLAVSTISSFFPPGYQIYWAPLAGTCGVL LLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSC RFPEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKD KMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDA LHMALPPR</p>	анти-BCMA CAR
173	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYSEFPDYYINWVR QAPGQGLEWMGWIFYFASGNSEYNQFTGRVTMTRDTSI NTAYMELSSLTSEDVAVYFCASLYDYDWFVWGQGM VTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGQPAS ISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVS NRF SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCSQSSIYPW TFGQGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA AGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKR GRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDR RGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGM</p>	анти-BCMA CAR

	KGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	
174	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFPDYYINWVR QAPGQGLEWMGWIFYFASGNSEYNQKFTGRVTMTRDTSI NTAYMELSSLTSEDNAVYFCASLYDYDWYFDVWGQGM VTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGQPAS ISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNR SGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCSQSSIYPW TFGQGTKLEIKEPKSPDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPK PKDTLMIARTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGKIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFK QPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADA PAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLKRRGRDPGEMGGK PRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGH DGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR</p>	анти-BCMA CAR
175	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFPDYYINWVR QAPGQGLEWMGWIFYFASGNSEYNQKFTGRVTMTRDTS STAYMELSSLRSEDNAVYFCASLYDYDWYFDVWGQGM VTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGEPAS ISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNR SGVPDRFSGSGGADFTLKISRVEAEDVGVYYCAETSHVP WTFGQGTKLEIKGLAVSTISSFFPPGYQIYIWAPLAGTCGV LLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCS CRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNL GRREEYDVLKRRGRDPGEMGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYD ALHMQALPPR</p>	анти-BCMA CAR
176	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFPDYYINWVR QAPGQGLEWMGWIFYFASGNSEYNQKFTGRVTMTRDTS STAYMELSSLRSEDNAVYFCASLYDYDWYFDVWGQGM VTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGEPAS ISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNR</p>	анти-BCMA CAR

	SGVPDRFSGSGSGADFTLKISRVEAEDVGVYYCAETSHVP WTFGQGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA AGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCK RGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCE LRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDK RRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIG MKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR	
177	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYSFPDYYINWVR QAPGQGLEWMGWIFYFASGNSEYNQKFTGRVTMTRDTSS STAYMELSSLRSEDVAVYFCASLYDYDWYFDVWGQGM VTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGEPAS ISCKSSQSLVHSGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNR SGVPDRFSGSGSGADFTLKISRVEAEDVGVYYCAETSHVP WTFGQGTKLEIKEPKSPDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPP KPKDTLMIARTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGKIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIF KQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSAD APAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGG KPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGD GLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR	анти-BCMA CAR
178	IYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC	CD8 TM
179	gaatctaagtacggaccgccctgccctcctgccctgctcctctgtgacctgaccaccgctg gttctgtttccacctaagcctaagataccctgatgattcccgcacacctgaagtacttgc gtgctgtggacgtgagccaggaggatccagaagtgcagtcaactggtacgtggacggc gtggaagtccacaatgctaagactaaaccccgagaggaaacagtttcagtcaactaccggg tcgtgagcgtgctgaccgtcctgcatcaggattggctgaacgggaaggagtataagtgaa agtgtctaataagggactgcctagctccatcgagaaaacaattagtaaggcaaaaggcgag cctcgagaaccacaggtgataccctgcccctagccaggaggaaatgaccaagaaccag gtgacctgacatgtctgtcaaggttctatccaagtacatgccgtggagtgggaatc aatgggcagcccgagaacaattacaagaccacaccaccgtgctggactctgatggaag tttcttctgtattccaggctgaccgtgataaatctcgtggcaggagggaacgtgttctt	Модифицирован ный IgG4 шарнир- IgG2/IgG4 CH2- IgG4 CH3 спейсер (нт)

	gcagtgtcatgcacgaagccctgcacaatcattatacacagaagtcactgagcctgtccctg ggcaaa	
180	QSALTQPASVSASPGQSIASCTGTSSDVGWYQQHPGKAP KLMIYEDSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEA DYYCSSNTRSSTLVFGGGTKLTVLGSRRGGGSGGGGSGG GGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGASLKLSCKASGYTFIDY YVYWMRQAPGQGLESMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVT MTRDTSISTAYMELSRLSDDTAMYYCARSQRDGYMDY WGQGTLVTVSS	BCMA-55 scFv (ак)
181	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQT YTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPCPAPPVAGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDISVEWESNGQPENNYKTTPPML DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKLSLSLSPGK	IgG2 Fc человека (Uniprot P01859)
182	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKT YTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV DSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYT QKLSLSLGLGK	IgG4 Fc человека (Uniprot P01861)
183	gagtctaaatacggaccgctgtcctcctgtcccgtcctcctgttgccggacctccgtgt tctctgttctccaaagcctaaggacaccctgatgatcagcaggaccctgaagtgacctgc gtggtggtgatgtgtcccaagaggatcccagggtgcagtcaactggtatgtggacggcg tggaagtgcacaacgccaagaccaagcctagagaggaacagttccagagcacctacaga gtggtgtccgtgctgacagtgctgaccaggattggctgaacggcaagagtacaagtgca agggtccaacaagggcctgcttagcagcatcgagaaaaccatctccaaggccaagggc cagccaagagagccccaggttacactgctccaagccaagaggaatgaccaagaat cagggtcctgacatgctgtcaagggtctaccctccgatatgccgtggaatggga	оптимизированный SSE модифицированный IgG4 шарнир-IgG2/IgG4 C _H 2-IgG4 C _H 3 спейсер (нт)

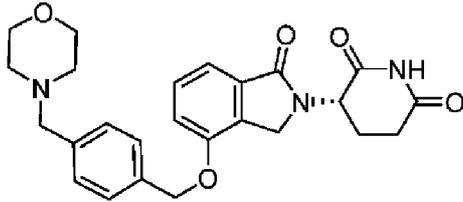
	gagcaatggccagcctgagaacaactacaagaccacacctctgtgctggacagcgacg gcagtttcttctgtatagtagactcacgtggataaatcaagatggcaagagggcaacgtgt tcagctgcagcgtgatgcacgaggccctgcacaaccactacaccagaaaagcctgagcc tgtctctgggcaag	
--	--	--

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения множественной миеломы, где способ включает:

(а) введение Т-клеточной терапии субъекту с рецидивирующей или трудно поддающейся лечению множественной миеломой (R/R MM), где указанная Т-клеточная терапия включает дозу генетически сконструированных Т-клеток, экспрессирующих химерный антигенный рецептор (CAR), который специфически связывается с ВСМА; и

(b) введение субъекту иммуномодулирующего соединения, которое представляет собой (S)-3-[4-(4-морфолин-4-илметилбензилокси)-1-оксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил]-пиперидин-2,6-дион, имеющий следующую структуру:



или его фармацевтически приемлемую соль, сольват, гидрат, сокристалл, клатрат или полиморф,

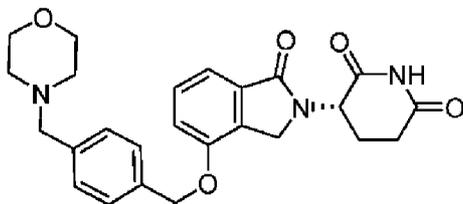
отличающийся тем, что введение иммуномодулирующего соединения начинают после введения Т-клеточной терапии.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что до начала введения Т-клеточной терапии и иммуномодулирующего соединения субъект получил одну или несколько предшествующих терапий для лечения R/R MM, где указанная одна или несколько предшествующих терапий включают иммуномодулирующий агент.

3. Способ лечения множественной миеломы, где способ включает:

(а) введение Т-клеточной терапии субъекту с рецидивирующей или трудно поддающейся лечению множественной миеломой (R/R MM), где указанная Т-клеточная терапия включает дозу генетически сконструированных Т-клеток, экспрессирующих химерный антигенный рецептор (CAR), который специфически связывается с ВСМА; и

(b) введение субъекту иммуномодулирующего соединения, которое представляет собой (S)-3-[4-(4-морфолин-4-илметилбензилокси)-1-оксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил]-пиперидин-2,6-дион, имеющий следующую структуру:



или его фармацевтически приемлемую соль, сольват, гидрат, сокристалл, клатрат или полиморф,

где до начала введения Т-клеточной терапии и иммуномодулирующего соединения субъект получил одну или несколько предшествующих терапий для лечения R/R MM, где указанные одна или несколько предшествующих терапий включают

иммуномодулирующий агент.

4. Способ по любому из пп. 1-3, отличающийся тем, что иммуномодулирующее соединение представляет собой или содержит фармацевтически приемлемую соль (S)-3-[4-(4-морфолин-4-илметилбензилокси)-1-оксо-1,3-дигидро-изоиндол-2-ил]-пиперидин-2,6-диона.

5. Способ по любому из пп. 1-3, отличающийся тем, что иммуномодулирующее соединение представляет собой или содержит гидрат (S)-3-[4-(4-морфолин-4-илметилбензилокси)-1-оксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил]-пиперидин-2,6-диона.

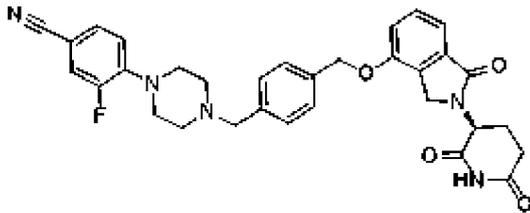
6. Способ по любому из пп. 1-3, отличающийся тем, что иммуномодулирующее соединение представляет собой или содержит сольват (S)-3-[4-(4-морфолин-4-илметилбензилокси)-1-оксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил]-пиперидин-2,6-диона.

7. Способ по любому из пп. 1-3, отличающийся тем, что иммуномодулирующее соединение представляет собой или содержит (S)-3-[4-(4-морфолин-4-илметилбензилокси)-1-оксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил]-пиперидин-2,6-дион.

8. Способ лечения множественной миеломы, где способ включает:

(a) введение Т-клеточной терапии субъекту с рецидивирующей или трудно поддающейся лечению множественной миеломой (R/R MM), отличающийся тем, что указанная Т-клеточная терапия включает дозу генетически модифицированных Т-клеток, экспрессирующих химерный антигенный рецептор (CAR), который специфически связывается с ВСМА; и

(b) введение субъекту иммуномодулирующего соединения, которое представляет собой (S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил, имеющий следующую структуру:



или его фармацевтически приемлемую соль, сольват, гидрат, сокристалл, клатрат или полиморф,

отличающийся тем, что введение иммуномодулирующего соединения начинают после введения Т-клеточной терапии.

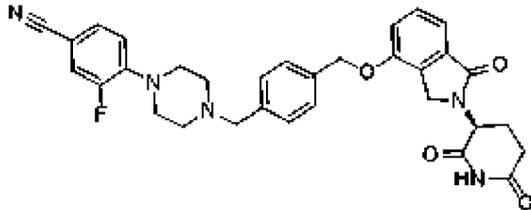
9. Способ по п.8, отличающийся тем, что до начала введения Т-клеточной терапии и иммуномодулирующего соединения субъект получил одну или несколько предшествующих терапий для лечения R/R MM, где указанная одна или несколько предшествующих терапий включают иммуномодулирующий агент.

10. Способ лечения множественной миеломы, где способ включает:

(a) введение Т-клеточной терапии субъекту с рецидивирующей или трудно поддающейся лечению множественной миеломой (R/R MM), отличающийся тем, что

указанная Т-клеточная терапия включает дозу генетически модифицированных Т-клеток, экспрессирующих химерный антигенный рецептор (CAR), который специфически связывается с ВСМА; и

(b) введение субъекту иммуномодулирующего соединения, которое представляет собой (S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил, имеющий следующую структуру:



или его фармацевтически приемлемую соль, сольват, гидрат, сокристалл, клатрат или полиморф, где до начала введения Т-клеточной терапии и иммуномодулирующего соединения субъект получил одну или несколько предшествующих терапий для лечения R/R MM, где указанные одна или несколько предшествующих терапий включают иммуномодулирующий агент.

11. Способ по любому из пп. 8-10, отличающийся тем, что иммуномодулирующее соединение представляет собой или содержит фармацевтически приемлемую соль (S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрила.

12. Способ по любому из пп. 8-10, отличающийся тем, что иммуномодулирующее соединение представляет собой или содержит гидрат (S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрила.

13. Способ по любому из пп. 8-10, отличающийся тем, что иммуномодулирующее соединение представляет собой или содержит сольват (S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрила.

14. Способ по любому из пп. 8-10, отличающийся тем, что иммуномодулирующее соединение представляет собой или содержит (S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил.

15. Способ по любому из пп. 1-10, отличающийся тем, что у субъекта возник рецидив или он трудно поддавался лечению после, по меньшей мере, 3 или, по меньшей мере, 4 предшествующих терапий множественной миеломы.

16. Способ по любому из пп. 1-15, отличающийся тем, что субъект получил, и у него возник рецидив или он трудно поддавался лечению тремя или несколькими терапиями, выбранными из:

- трансплантации аутологичных стволовых клеток (ASCT);
- иммуномодулирующего агента;

ингибитора протеасомы; и
анти-CD38 антитела; кроме случаев, когда субъект не был кандидатом или не имел противопоказаний для одной или нескольких терапий.

17. Способ по любому из пп. 2-7 и 9-16, отличающийся тем, что иммуномодулирующий агент выбран из талидомида, леналидомида и помалидомида.

18. Способ по п. 16, отличающийся тем, что ингибитор протеасом выбран из бортезомиба, карфилзомиба и иксазомиба.

19. Способ по п. 16, отличающийся тем, что анти-CD38 антитело представляет собой или содержит даратумумаб.

20. Способ по любому из пп. 1-19, отличающийся тем, что во время введения субъект трудно поддавался лечению или не отвечал на бортезомиб, карфилзомиб, леналидомид, помалидомид и/или анти-CD38 моноклональное антитело.

21. Способ по любому из пп. 1-20, отличающийся тем, что, на момент введения, субъект имеет цитогенетику высокого риска IMWG.

22. Способ по любому из пп. 1-2, 4-9 и 11-21, отличающийся тем, что введение иммуномодулирующего соединения начинают во время или до достижения пикового размножения Т-клеточной терапии у субъекта.

23. Способ по п. 22, отличающийся тем, что пиковое размножение Т-клеточной терапии приходится на период от точно или примерно 11 дней до точно или примерно 15 дней после введения Т-клеточной терапии.

24. Способ по любому из пп. 1-2, 4-9 и 11-23, отличающийся тем, что введение иммуномодулирующего соединения начинают в период от точно или примерно 1 дня до точно или примерно 15 дней, включительно, после введения Т-клеточной терапии.

25. Способ по любому из пп. 1-2, 4-9 и 11-24, отличающийся тем, что введение иммуномодулирующего соединения начинают в период от точно или примерно 1 дня до точно или примерно 11 дней, включительно, после введения Т-клеточной терапии.

26. Способ по любому из пп. 1-2, 4-9 и 11-25, отличающийся тем, что введение иммуномодулирующего соединения начинают в период от точно или примерно 8 дней до точно или примерно 15 дней, включительно, после введения Т-клеточной терапии.

27. Способ по любому из пп. 1-2, 4-9 и 11-26, отличающийся тем, что введение иммуномодулирующего соединения начинают через или примерно через 1 день после введения Т-клеточной терапии.

28. Способ по любому из пп. 1-2, 4-9 и 11-26, отличающийся тем, что введение иммуномодулирующего соединения начинают через или примерно через 8 дней после введения Т-клеточной терапии.

29. Способ по любому из пп. 1-2, 4-9 и 11-26, отличающийся тем, что введение иммуномодулирующего соединения начинают через или примерно через 15 дней после введения Т-клеточной терапии.

30. Способ по любому из пп. 1-2, 4-9 и 11-21, отличающийся тем, что введение иммуномодулирующего соединения начинают через от примерно 14 до примерно 35 дней

после начала введения Т-клеточной терапии.

31. Способ по любому из пп. 1-2, 4-9 и 11-21 и 30, отличающийся тем, что введение иммуномодулирующего соединения начинают через от примерно 21 до примерно 35 дней после начала введения Т-клеточной терапии.

32. Способ по любому из пп. 1-2, 4-9 и 11-21, 30 и 31, отличающийся тем, что введение иммуномодулирующего соединения начинают через от примерно 21 до примерно 28 дней после начала введения Т-клеточной терапии.

33. Способ по любому из пп. 1-2, 4-9 и 11-21 и 30-32, отличающийся тем, что введение иммуномодулирующего соединения начинают через точно или примерно 21 день, точно или примерно 22 дня, точно или примерно 23 дня, точно или примерно 24 дня, точно или примерно 25 дней, точно или примерно 26 дней, точно или примерно 27 дней или точно или примерно 28 дней после начала введения Т-клеточной терапии.

34. Способ по любому из пп. 1-2, 4-9 и 11-21 и 30-33, отличающийся тем, что введение иммуномодулирующего соединения начинают через или примерно через 28 дней после начала введения Т-клеточной терапии.

35. Способ по любому из пп. 3-7 и 10-21, отличающийся тем, что иммуномодулирующее соединение вводят от или от примерно 0 до 30 дней, от 0 до 15 дней, от 0 до 6 дней, от 0 до 96 часов, от 2 часов до 15 дней, от 2 часов до 6 дней, от 2 часов до 96 часов, от 6 часов до 30 дней, от 6 часов до 15 дней, от 6 часов до 6 дней, от 6 часов до 96 часов, от 12 часов до 30 дней, от 12 часов до 15 дней, от 12 часов до 6 дней или от 12 часов до 96 часов до начала Т-клеточной терапии.

36. Способ по любому из пп. 3-7, 10-21 и 35, отличающийся тем, что иммуномодулирующее соединение вводят не более чем примерно за 96 часов, 72 часа, 48 часов или 24 часа до начала Т-клеточной терапии.

37. Способ по любому из пп. 1-36, отличающийся тем, что иммуномодулирующее соединение вводят, по меньшей мере, один раз в день по курсовой схеме.

38. Способ по п. 37, отличающийся тем, что иммуномодулирующее соединение вводят по курсовой схеме, включающей введение иммуномодулирующего соединения в течение множества дней подряд с последующим периодом отдыха, в течение которого иммуномодулирующее соединение не вводят.

39. Способ по п.38, отличающийся тем, что количество дней подряд составляет вплоть до 21 дня.

40. Способ по любому из пп. 37-39, отличающийся тем, что курсовая схема представляет собой четырехнедельный (28-дневный) курс, где иммуномодулирующее соединение вводят ежедневно в течение трех недель подряд в четырехнедельном курсе и не вводят в течение последней недели.

41. Способ по любому из пп. 37-40, отличающийся тем, что курсовая схема представляет собой четырехнедельный (28-дневный) курс, где иммуномодулирующее соединение вводят ежедневно в течение с 1 по 21 день каждого четырехнедельного курса.

42. Способ по любому из пп. 37-41, отличающийся тем, что курсовую схему

повторяют множество раз.

43. Способ по любому из пп. 1-42, отличающийся тем, что иммуномодулирующее соединение вводят вплоть до точно или примерно шести месяцев после начала введения Т-клеточной терапии.

44. Способ по любому из пп. 1-43, отличающийся тем, что иммуномодулирующее соединение вводят в количестве от точно или примерно 0,1 мг до примерно 1,0 мг в день.

45. Способ по любому из пп. 1-44, отличающийся тем, что иммуномодулирующее соединение вводят в количестве от точно или примерно 0,3 мг до примерно 0,6 мг.

46. Способ по любому из пп. 1-45, отличающийся тем, что иммуномодулирующее соединение вводят в количестве точно или примерно 0,3 мг.

47. Способ по любому из пп. 1-45, отличающийся тем, что иммуномодулирующее соединение вводят в количестве точно или примерно 0,45 мг.

48. Способ по любому из пп. 1-45, отличающийся тем, что иммуномодулирующее соединение вводят в количестве точно или примерно 0,6 мг.

49. Способ по любому из пп. 1-48, отличающийся тем, что иммуномодулирующее соединение вводят перорально.

50. Способ по любому из пп. 1-49, отличающийся тем, что во время начала введения иммуномодулирующего соединения субъект не демонстрирует тяжелую токсичность после введения Т-клеточной терапии.

51. Способ по п. 50, отличающийся тем, что:

тяжелая токсичность представляет собой тяжелый синдром высвобождения цитокинов (CRS), необязательно 3 степени или выше, длительный CRS 3 степени или выше или 4 или 5 степени; и/или

тяжелая токсичность представляет собой тяжелую нейротоксичность, необязательно 3 степени или выше, длительную нейротоксичность 3 степени или выше или 4 или 5 степени.

52. Способ по любому из пп. 1-51, отличающийся тем, что введение иммуномодулирующего соединения приостанавливают и/или курсовую схему изменяют, если субъект демонстрирует токсичность после введения соединения, необязательно, гематологическую токсичность.

53. Способ по п. 52, отличающийся тем, что токсичность выбрана из тяжелой нейтропении, необязательно, фебрильной нейтропении, пролонгированной нейтропении 3 степени или выше.

54. Способ по любому из пп. 1-53, отличающийся тем, что введение иммуномодулирующего соединения:

обращает фенотип истощения в CAR-экспрессирующих Т-клетках у субъекта;

предотвращает, ингибирует или задерживает начало фенотипа истощения в CAR-экспрессирующих Т-клетках у субъекта;

или снижает уровень или степень фенотипа истощения в CAR-экспрессирующих Т-клетках у субъекта; или

уменьшает долю от общего числа CAR-экспрессирующих Т-клеток у субъекта, которые имеют фенотип истощения.

55. Способ по любому из пп. 1-54, отличающийся тем, что после введения иммуномодулирующего соединения или его начала, субъект демонстрирует восстановление или сохранение антиген- или опухолеспецифической активности или функции CAR-экспрессирующих Т-клеток у указанного субъекта, необязательно, где указанное восстановление, сохранение и/или начало введения указанного соединения происходит в момент времени после того, как CAR-экспрессирующие Т-клетки у субъекта или в крови субъекта демонстрируют истощенный фенотип.

56. Способ по любому из пп. 1-55, отличающийся тем, что введение иммуномодулирующего соединения включает введение в количестве, частоте и/или продолжительности, эффективных для того, чтобы:

(а) вызывать повышение антигенспецифической или управляемой антигенным рецептором активности наивных или не истощенных Т-клеток у субъекта, которые необязательно содержат Т-клетки, экспрессирующие указанный CAR, после воздействия на Т-клетки ВСМА или агониста CAR, необязательно, где агонист представляет собой анти-идиотипическое антитело, по сравнению с отсутствием указанного введения указанного соединения; или

(b) предотвращать, ингибировать или задерживать начало фенотипа истощения у наивных или не истощенных Т-клеток у субъекта, которые необязательно содержат Т-клетки, экспрессирующие указанный CAR, после воздействия на Т-клетки ВСМА или агониста CAR, необязательно, где агонист представляет собой анти-идиотипическое антитело, по сравнению с отсутствием указанного введения указанного соединения; или

(с) обратить фенотип истощения в истощенных Т-клетках, необязательно содержащих Т-клетки, экспрессирующие указанный CAR, у субъекта по сравнению с отсутствием указанного введения указанному субъекту.

57. Способ по любому из пп. 1-56, отличающийся тем, что, во время введения иммуномодулирующего соединения был обнаружен или измерен истощенный фенотип одной или нескольких CAR-экспрессирующих Т-клеток или маркер или параметр, указывающий на это, у субъекта или в биологическом образце субъекта.

58. Способ по п. 57, отличающийся тем, что, по меньшей мере, точно или примерно 10%, по меньшей мере, точно или примерно 20%, по меньшей мере, точно или примерно 30%, по меньшей мере, точно или примерно 40% или, по меньшей мере, точно или примерно 50% общего количества CAR-экспрессирующих Т-клеток в биологическом образце субъекта имеет истощенный фенотип.

59. Способ по п. 57 или п. 58, отличающийся тем, что более точно или примерно 10%, более точно или примерно 20%, более точно или примерно 30%, более точно или примерно 40% или более точно или примерно 50% CAR-экспрессирующих Т-клеток в биологическом образце от субъекта имеют истощенный фенотип по сравнению с долей CAR-экспрессирующих Т-клеток, имеющих истощенный фенотип в сопоставимом

биологическом образце в предыдущий момент времени.

60. Способ по любому из пп. 57-59, отличающийся тем, что фенотип истощения по отношению к Т-клетке или популяции Т-клеток включает:

увеличение уровня или степени поверхностной экспрессии на Т-клетке или Т-клетках, или доли Т указанной популяции Т-клеток, демонстрирующих поверхностную экспрессию, одного или нескольких маркеров истощения, необязательно 2, 3, 4, 5 или 6 маркеров истощения, по сравнению с эталонной популяцией Т-клеток в тех же условиях; или

снижение уровня или степени активности, демонстрируемой указанными Т-клетками или популяцией Т-клеток при воздействии ВСМА или агониста CAR, необязательно, отличающийся тем, что агонист представляет собой анти-идиотипическое антитело, по сравнению с эталонной популяцией Т-клеток, при тех же условиях.

61. Способ по п. 60, отличающийся тем, что увеличение уровня, степени или доли составляет более чем точно или примерно 1,2 раза, точно или примерно 1,5 раза, точно или примерно 2,0 раза, точно или примерно 3 раза, точно или примерно 4 раза, точно или примерно 5 раз, точно или примерно 6 раз, точно или примерно 7 раз, точно или примерно 8 раз, точно или примерно 9 раз, точно или примерно 10 раз или более.

62. Способ по п. 60, отличающийся тем, что снижение уровня, степени или доли составляет более чем точно или примерно 1,2, точно или примерно 1,5 раза, точно или примерно 2,0 раза, точно или примерно 3 раза, точно или примерно 4 раза, точно или примерно 5 раз, точно или примерно 6 раз, точно или примерно 7 раз, точно или примерно 8 раз, точно или примерно 9 раз, точно или примерно 10 раз или более.

63. Способ по любому из пп. 60-62, отличающийся тем, что эталонная популяция Т-клеток представляет собой популяцию Т-клеток, о которых известно, что они имеют не истощенный фенотип, представляет собой популяцию наивных Т-клеток, представляет собой популяцию Т-клеток центральной памяти, или представляет собой популяцию стволовых Т-клеток центральной памяти, необязательно от того же субъекта или того же вида, что и субъект, от которого произошли Т-клетка или Т-клетки, имеющие истощенный фенотип.

64. Способ по любому из пп. 60-63, отличающийся тем, что эталонная популяция Т-клеток (а) представляет собой совместимую с субъектом популяцию, включающую основную массу Т-клеток, выделенную из крови субъекта, из которой происходит Т-клетка или Т-клетки, имеющие истощенный фенотип, необязательно, когда основная масса Т-клеток не экспрессирует CAR, и/или (б) получена от субъекта, от которого произошли Т-клетка или Т-клетки, имеющие истощенный фенотип, до введения дозы CAR-экспрессирующих Т-клеток.

65. Способ по любому из пп. 60-64, отличающийся тем, что эталонная популяция Т-клеток представляет собой композицию, содержащую образец Т-клеточной терапии, или фармацевтическую композицию, содержащую CAR-экспрессирующие Т-клетки, до ее введения субъекту, необязательно, где композиция представляет собой

криоконсервированный образец.

66. Способ по любому из пп. 60-65, отличающийся тем, что один или несколько из одного или нескольких маркеров истощения представляют собой ингибиторный рецептор.

67. Способ по любому из пп. 60-66, отличающийся тем, что один или несколько из одного или нескольких маркеров истощения выбраны из числа PD-1, CTLA-4, TIM-3, LAG-3, VTLA, 2B4, CD160, CD39, VISTA и TIGIT.

68. Способ по любому из пп. 60-67, отличающийся тем, что активность представляет собой одно или несколько из пролиферации, цитотоксичности или продуцирования одного или комбинации воспалительных цитокинов, необязательно, отличающийся тем, что один или комбинация цитокинов выбраны из группы, состоящей из IL-2, IFN-гамма и TNF-альфа.

69. Способ по любому из пп. 60-68, отличающийся тем, что воздействие ВСМА или агониста CAR, необязательно, где агонист представляет собой анти-идиотипическое антитело, включает инкубацию с ВСМА или агонистом CAR.

70. Способ по п. 69, отличающийся тем, что антиген содержится на поверхности экспрессирующих антиген клеток-мишеней, необязательно, клеток или клеточной линии множественной миеломы.

71. Способ по любому из пп. 1-70, отличающийся тем, что доза Т-клеток составляет от точно или примерно 5×10^7 CAR⁺ Т-клеток до точно или примерно 1×10^9 CAR⁺ Т-клеток.

72. Способ по любому из пп. 1-70, отличающийся тем, что доза Т-клеток составляет от точно или примерно 1×10^8 CAR⁺ Т-клеток до точно или примерно 1×10^9 CAR⁺ Т-клеток.

73. Способ по любому из пп. 1-70, отличающийся тем, что доза Т-клеток составляет точно или примерно $1,5 \times 10^8$ клеток или CAR⁺ Т-клеток.

74. Способ по любому из пп. 1-70, отличающийся тем, что доза Т-клеток составляет точно или примерно 3×10^8 клеток или CAR⁺ Т-клеток.

75. Способ по любому из пп. 1-70, отличающийся тем, что доза Т-клеток составляет точно или примерно $4,5 \times 10^8$ клеток или CAR⁺ Т-клеток.

76. Способ по любому из пп. 1-70, отличающийся тем, что доза Т-клеток составляет точно или примерно 6×10^8 клеток или CAR⁺ Т-клеток.

77. Способ по любому из пп. 1-76, отличающийся тем, что доза содержит CD3⁺ CAR-экспрессирующие Т-клетки.

78. Способ по любому из пп. 1-77, отличающийся тем, что доза содержит комбинацию CD4⁺ Т-клеток и CD8⁺ Т-клеток и/или комбинацию CD4⁺ CAR-экспрессирующих Т-клеток и CD8⁺ CAR-экспрессирующих Т-клеток.

79. Способ по п. 78, отличающийся тем, что отношение CD4⁺ CAR-экспрессирующих Т-клеток к CD8⁺ CAR-экспрессирующим Т-клеткам и/или CD4⁺ Т-клеток к CD8⁺ Т-клеткам составляет или составляет приблизительно 1:1, или составляет от точно или приблизительно 1:3 до точно или приблизительно 3:1.

80. Способ по любому из пп. 1-79, отличающийся тем, что перед введением дозы Т-клеток субъект получил противолимфомную терапию, включающую введение флударабина в дозе точно или примерно $20-40 \text{ мг/м}^2$ поверхности тела субъекта, необязательно, в дозе точно или примерно 30 мг/м^2 , ежедневно, в течение 2-4 дней, и/или циклофосфамид в дозе точно или примерно $200-400 \text{ мг/м}^2$ площади поверхности тела субъекта, необязательно, в дозе точно или примерно 300 мг/м^2 , ежедневно, в течение 2-4 дней.

81. Способ по любому из пп. 1-80, отличающийся тем, что субъект получает противолимфомную терапию, включающую введение флударабина в дозе точно или примерно 30 мг/м^2 площади поверхности тела субъекта, ежедневно, и циклофосфамида в дозе точно или примерно 300 мг/м^2 площади поверхности тела субъекта, ежедневно, в течение 3 дней.

82. Способ по любому из пп. 1-81, отличающийся тем, что CAR содержит антигенсвязывающий домен, который связывается с BCMA, трансмембранный домен и внутриклеточную сигнальную область, содержащую цепь CD3-дзета (CD3 ζ).

83. Способ по п. 82, отличающийся тем, что антигенсвязывающий домен представляет собой одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv).

84. Способ по п. 82 или п. 83, отличающийся тем, что антигенсвязывающий домен содержит область V_H и V_L , отличающийся тем, что область V_H содержит CDR-H1, представленную в SEQ ID NO: 56, CDR-H2, представленную в SEQ ID NO:57 и CDR-H3, представленную в SEQ ID NO:58, и область V_L содержит CDR-L1, представленную в SEQ ID NO:59, CDR-L2, представленную в SEQ ID NO:60 и CDR-H3, представленную в SEQ ID NO:61.

85. Способ по любому из пп. 82-84, отличающийся тем, что антигенсвязывающий домен содержит область V_H , имеющую последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:36, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98%, по меньшей мере, 99% с SEQ ID NO:36, и область V_L имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:37, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98%, по меньшей мере, 99% с SEQ ID NO:37.

86. Способ по любому из пп. 82-84, отличающийся тем, что антигенсвязывающий домен содержит последовательность аминокислот V_H области, представленную в SEQ ID NO:36, и последовательность аминокислот V_L области, представленную в SEQ ID NO:37.

87. Способ по любому из пп. 82-86, отличающийся тем, что антигенсвязывающий домен представляет собой scFv, который имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:180, или последовательность аминокислот, имеющую, по

меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98%, по меньшей мере, 99% с SEQ ID NO:180.

88. Способ по любому из пп. 82-87, отличающийся тем, что антигенсвязывающий домен представляет собой scFv, который имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:180.

89. Способ по п. 82 или п. 83, отличающийся тем, что анти-BCMA CAR содержит область V_H и V_L , отличающийся тем, что область V_H содержит CDR-H1, представленную в SEQ ID NO: 62, CDR-H2, представленную в SEQ ID NO:63 и CDR-H3, представленную в SEQ ID NO:64, и область V_L содержит CDR-L1, представленную в SEQ ID NO:65, CDR-L2, представленную в SEQ ID NO:66 и CDR-H3, представленную в SEQ ID NO:67.

90. Способ по п. 82, 83 или 89, отличающийся тем, что антигенсвязывающий домен содержит область V_H , которая имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:30, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98%, по меньшей мере, 99% с SEQ ID NO:30, и область V_L имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO: 31, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98%, по меньшей мере, 99% с SEQ ID NO:31.

91. Способ по п. 82, 83, 89 или 90, отличающийся тем, что антигенсвязывающий домен содержит область V_H , имеющую последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:30, и область V_L , имеющую последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:31.

92. Способ по любому из пп. 82, 83 и 89-91, отличающийся тем, что антигенсвязывающий домен представляет собой scFv, который имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:68, или последовательность аминокислот, имеющую, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98%, по меньшей мере, 99% с SEQ ID NO:68.

93. Способ по любому из пп. 82, 83 и 89-91, отличающийся тем, что антигенсвязывающий домен представляет собой scFv, представленную в SEQ ID NO:68.

94. Способ по любому из пп. 82-93, отличающийся тем, что внутриклеточная сигнальная область дополнительно содержит костимулирующий сигнальный домен.

95. Способ по п. 94, отличающийся тем, что костимулирующая сигнальная область содержит внутриклеточный сигнальный домен CD28, 4-1BB или ICOS или его сигнальную часть.

96. Способ по п. 94 или п. 95, отличающийся тем, что костимулирующая сигнальная область содержит внутриклеточный сигнальный домен 4-1BB, необязательно, 4-1BB человека.

97. Способ по любому из пп. 94-96, отличающийся тем, что костимулирующая сигнальная область находится между трансмембранным доменом и цитоплазматическим сигнальным доменом цепи CD3-дзета (CD3 ζ).

98. Способ по любому из пп. 82-97, отличающийся тем, что трансмембранный домен представляет собой или содержит трансмембранный домен CD28 человека.

99. Способ по любому из пп. 82-97, отличающийся тем, что трансмембранный домен представляет собой или содержит трансмембранный домен CD8 человека.

100. Способ по любому из пп. 82-99, отличающийся тем, что CAR дополнительно содержит внеклеточный спейсер между антигенсвязывающим доменом и трансмембранным доменом.

101. Способ по любому из пп. 100, отличающийся тем, что спейсер находится между точно или примерно 50 аминокислот до точно или примерно 250 аминокислот.

102. Способ по п. 100 или варианту осуществления 101, отличающийся тем, что спейсер составляет от точно или примерно 125 аминокислот до точно или примерно 250 аминокислот, необязательно, отличающийся тем, что спейсер составляет точно или примерно 228 аминокислот.

103. Способ по любому из пп. 100-102, отличающийся тем, что спейсер представляет собой иммуноглобулиновый спейсер, содержащий весь или часть константного домена иммуноглобулина или его модифицированную форму.

104. Способ по любому из пп. 100-103, отличающийся тем, что спейсер содержит химерный шарнир IgG4/2 или модифицированный шарнир IgG4; химерную область C_H2 IgG2/4; и область C_H3 IgG4.

105. Способ по любому из пп. 100-104, отличающийся тем, что спейсер представлен в SEQ ID NO: 29 или кодируется последовательностью нуклеотидов, представленной в SEQ ID NO: 179.

106. Способ по п. 100 или варианту осуществления 101, отличающийся тем, что спейсер представляет собой шарнир CD8.

107. Способ по любому из пп. 1-106, отличающийся тем, что анти-BCMA CAR имеет последовательность, представленную в любой из SEQ ID NO: 126-177, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичность последовательности с любой из SEQ ID NO: 126-177.

108. Способ по любому из пп. 1-107, отличающийся тем, что анти-BCMA CAR имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:160, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере

мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO:160.

109. Способ по любому из пп. 1-108, отличающийся тем, что CAR кодируется последовательностью нуклеотидов, представленной в SEQ ID NO:69.

110. Способ по любому из пп. 1-107, отличающийся тем, что анти-BCMA CAR имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:161, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO:161.

111. Способ по любому из пп. 1-107, отличающийся тем, что анти-BCMA CAR имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:152, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO:152.

112. Способ по любому из пп. 1-107, отличающийся тем, что анти-BCMA CAR имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:168, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO:168.

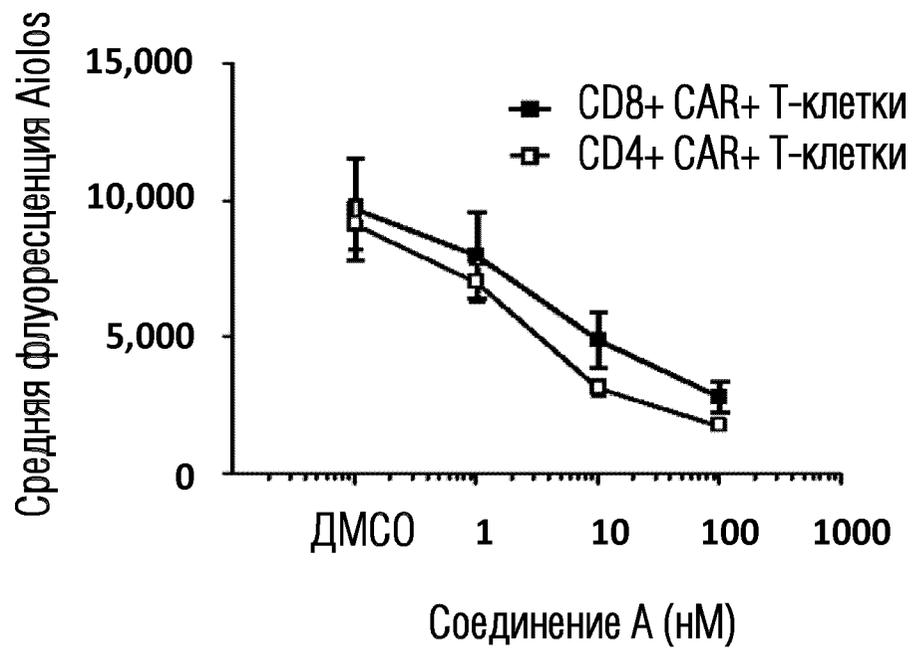
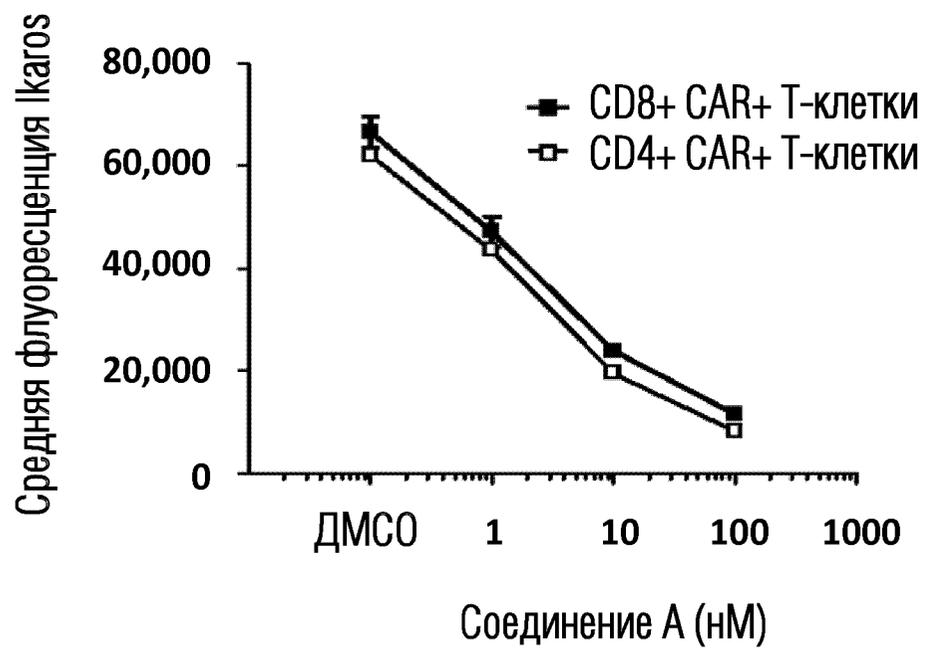
113. Способ по любому из пп. 1-107, отличающийся тем, что анти-BCMA CAR имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO:171, или последовательность аминокислот, которая имеет, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 91%, по меньшей мере, 92%, по меньшей мере, 93%, по меньшей мере, 94%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 96%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98% или, по меньшей мере, 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO:171.

114. Способ по любому из пп. 1-113, отличающийся тем, что анти-BCMA CAR связывает BCMA, необязательно, отличающийся тем, что BCMA представляет собой BCMA человека.

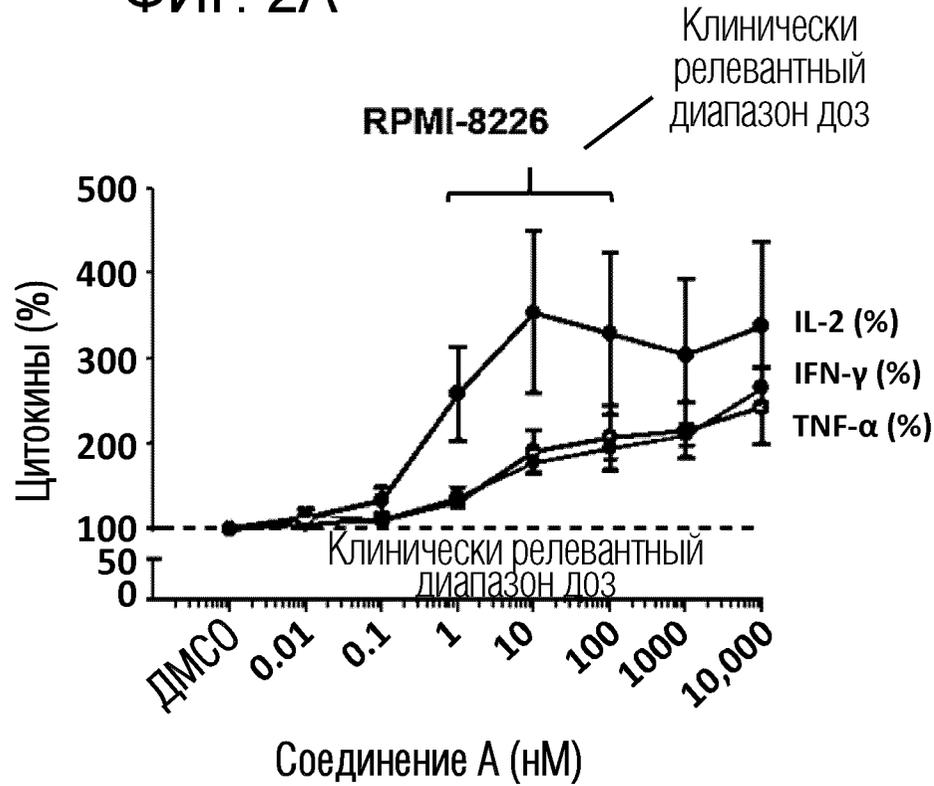
115. Способ по п. 114, отличающийся тем, что BCMA представляет собой мембраносвязанный BCMA, экспрессируемый на поверхности клетки.

116. Способ по п. 114 или п. 115, отличающийся тем, что анти-BCMA CAR обладает большей аффинностью связывания с мембраносвязанным BCMA, чем с растворимым BCMA, необязательно, отличающийся тем, что отношение константы диссоциации (K_D) для растворимого BCMA и K_D для мембраносвязанного BCMA составляет более 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 500, 1000, 2000 или более.

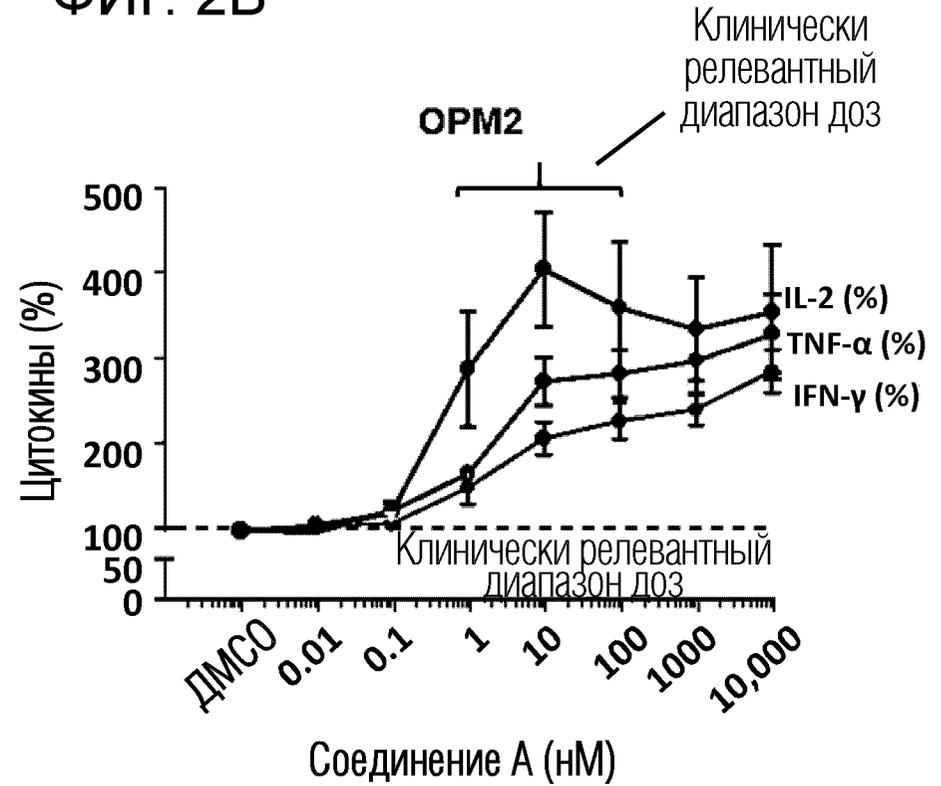
ФИГ. 1



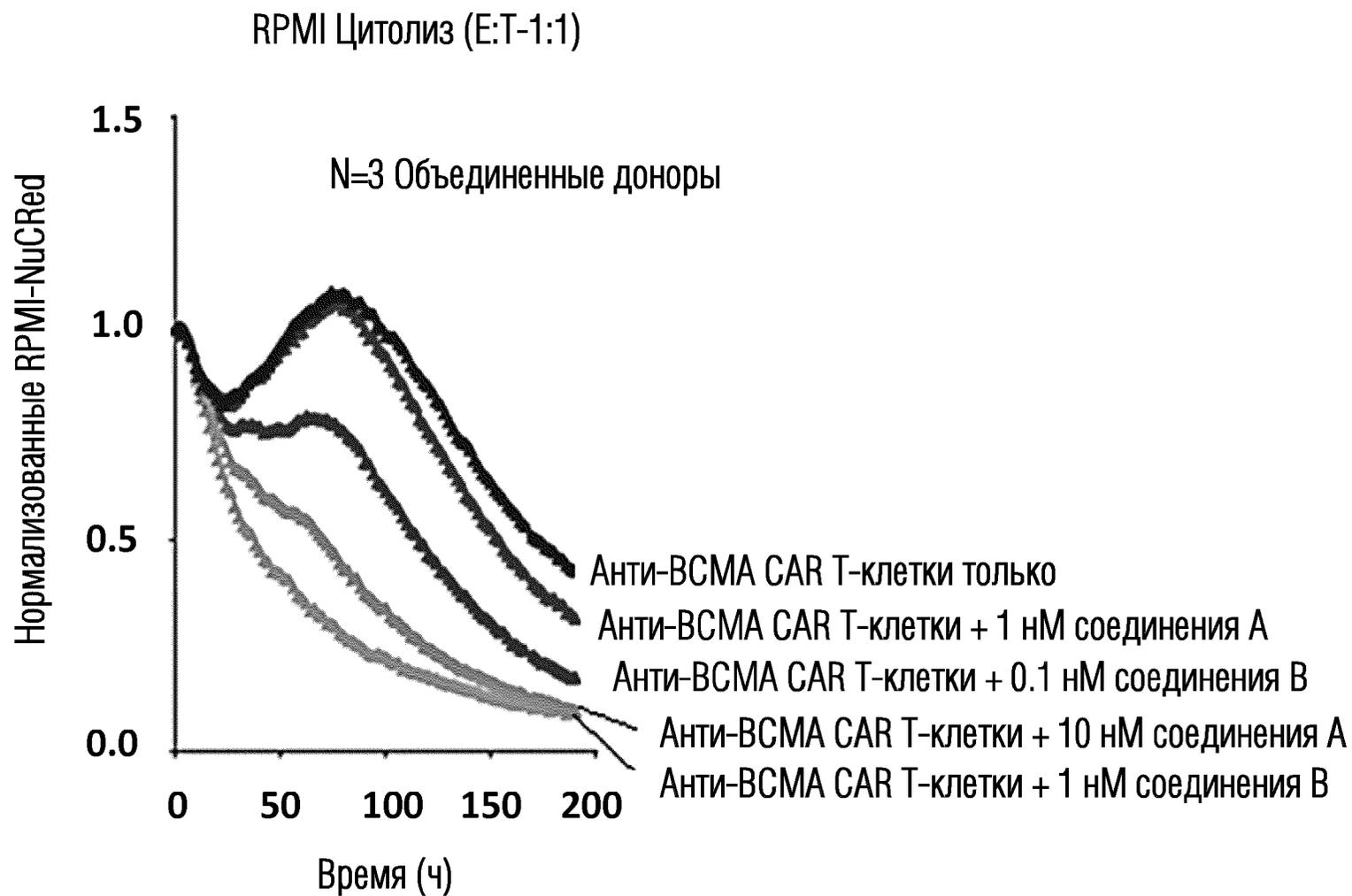
ФИГ. 2А



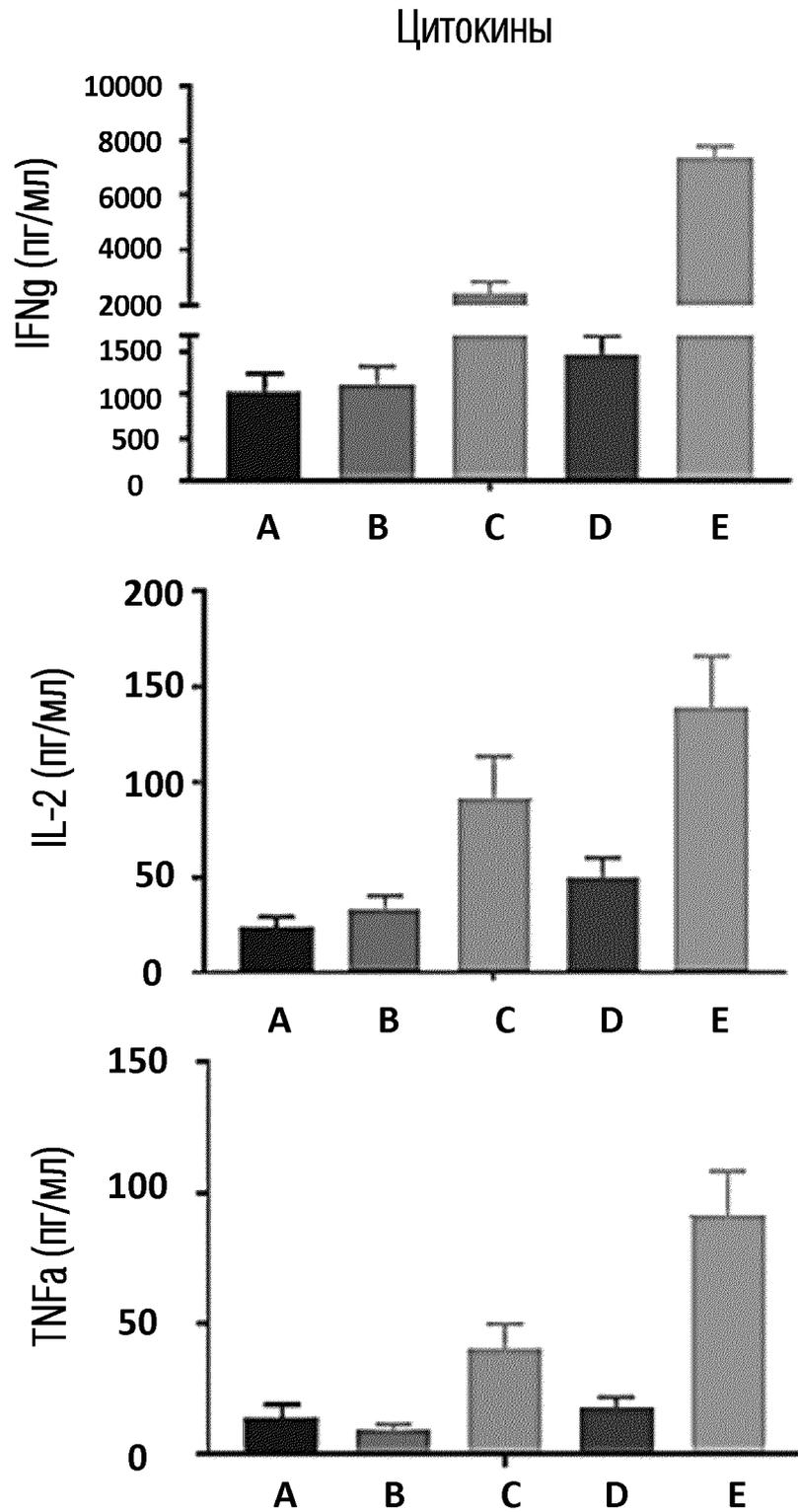
ФИГ. 2В



ФИГ. 3А



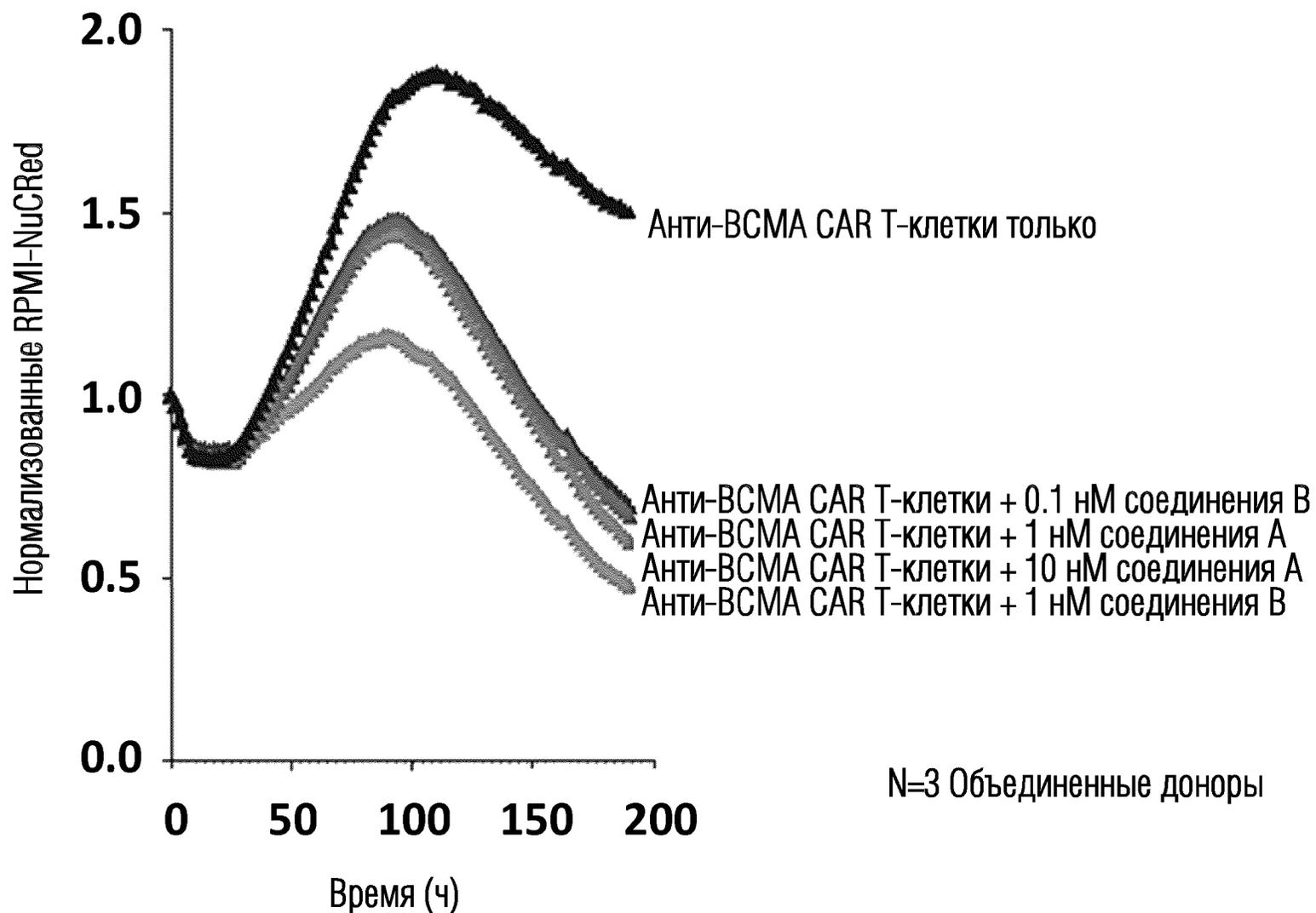
ФИГ. 3В



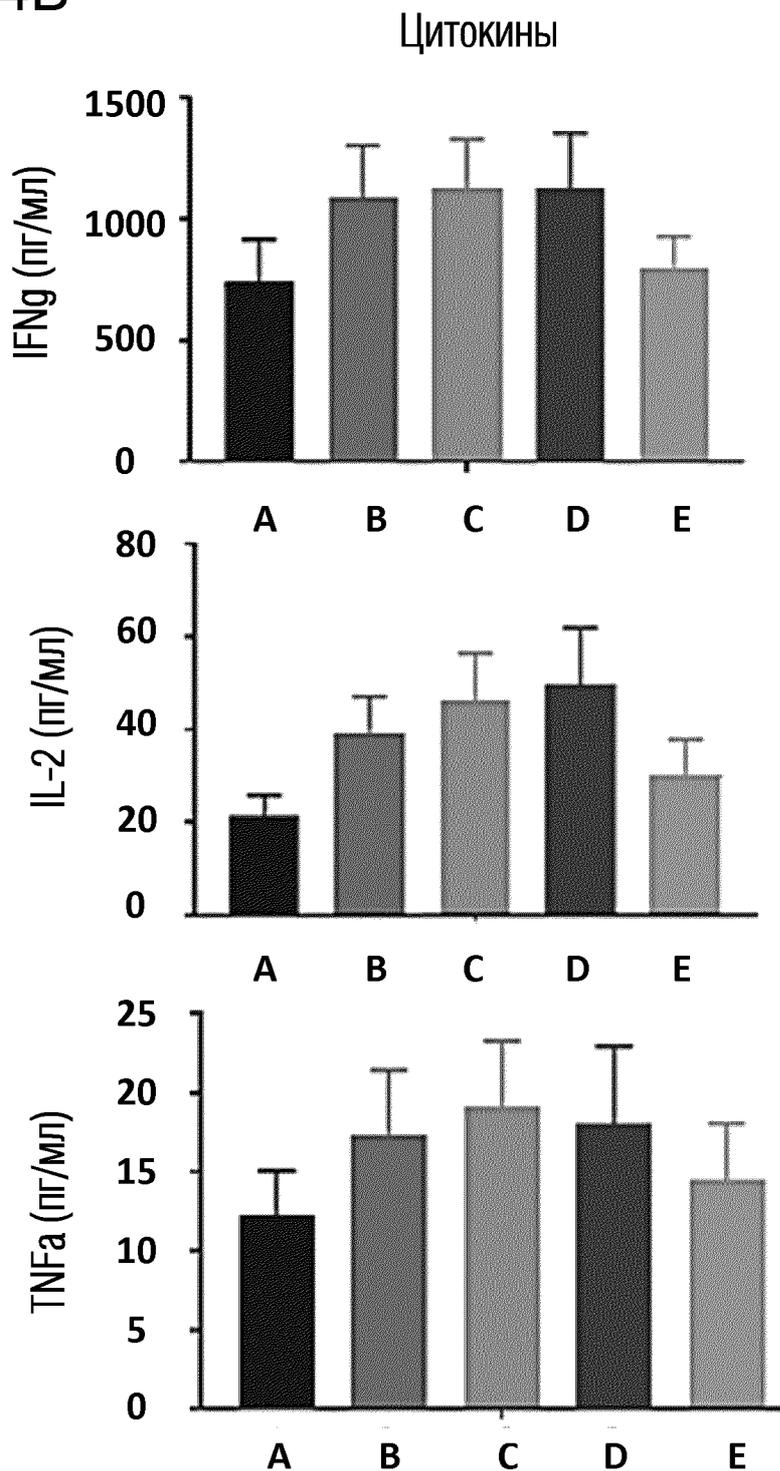
A – Анти-BCMA CAR T-клетки только
B – 1 нМ соединения А
C – 10 нМ соединения А
D – 0.1 нМ соединения В
E – 1 нМ соединения В

ФИГ. 4А

RPMI Цитолиз (1:1 E:T)

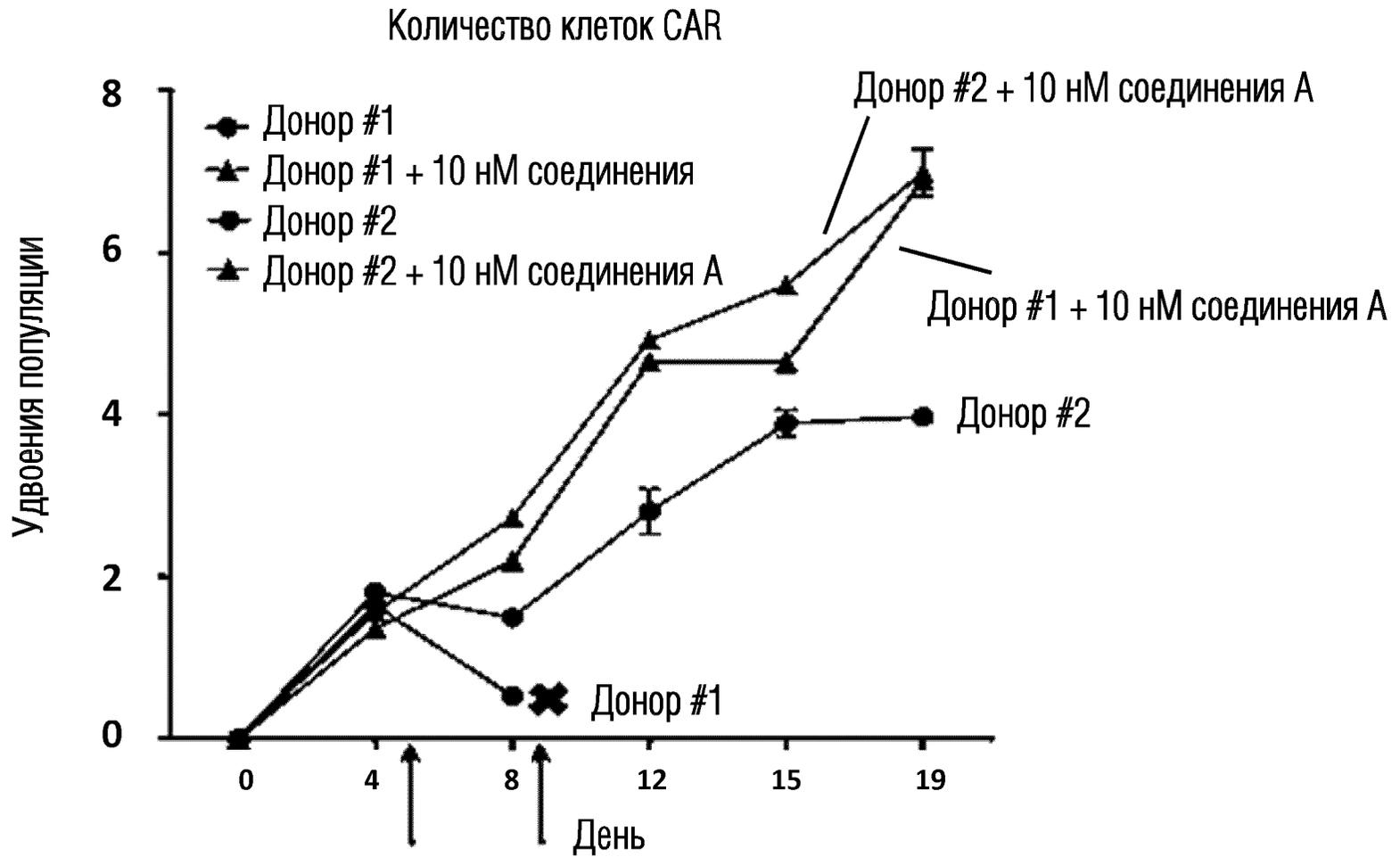


ФИГ. 4В



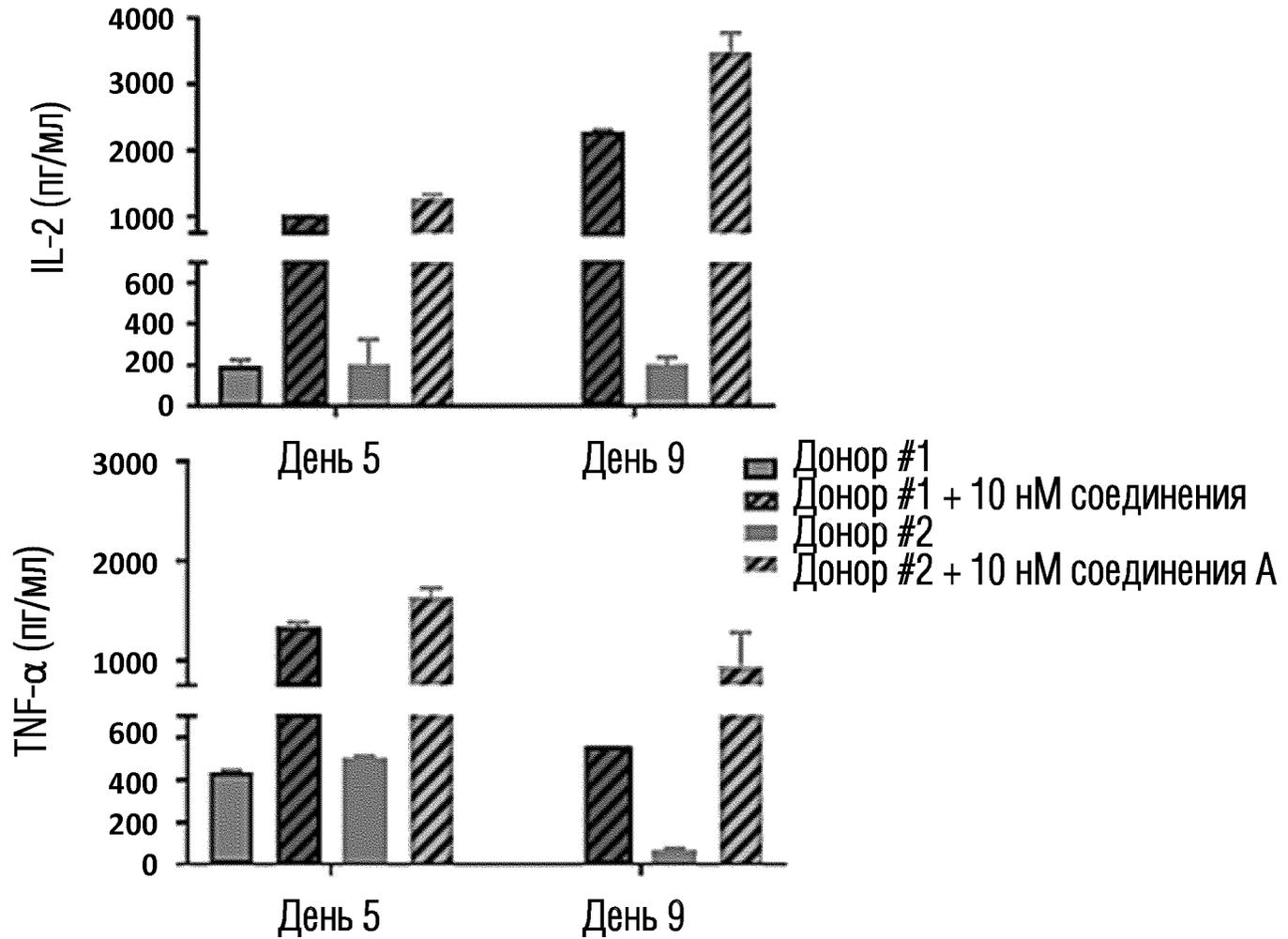
А – Анти-BCMA CAR T-клетки только
В – 1 нМ соединения А
С – 10 нМ соединения А
D – 0.1 нМ соединения В
Е – 1 нМ соединения В

ФИГ. 5А



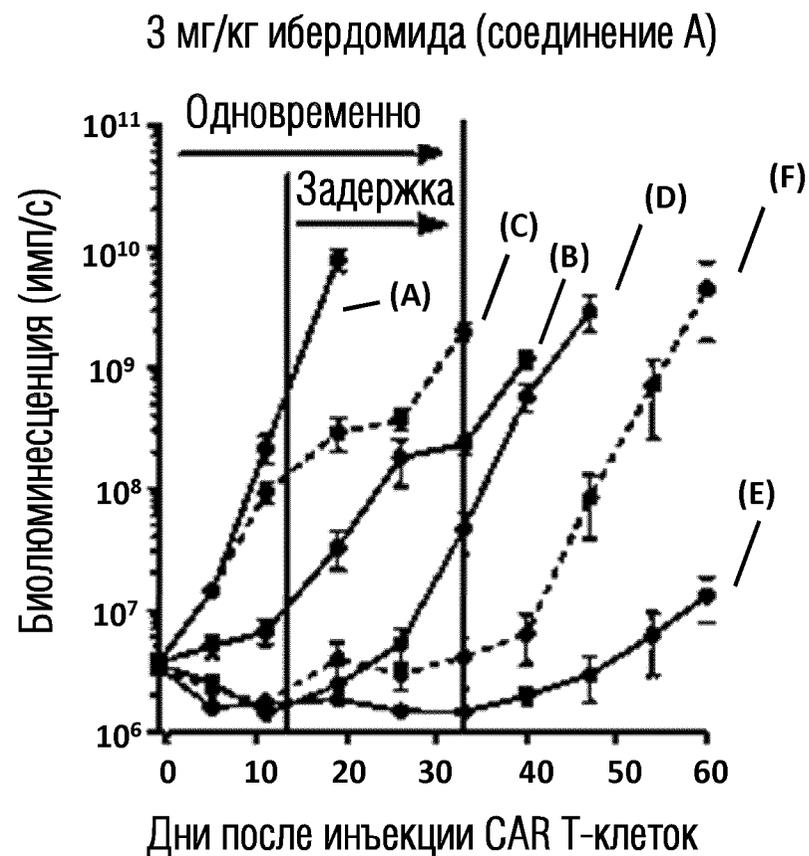
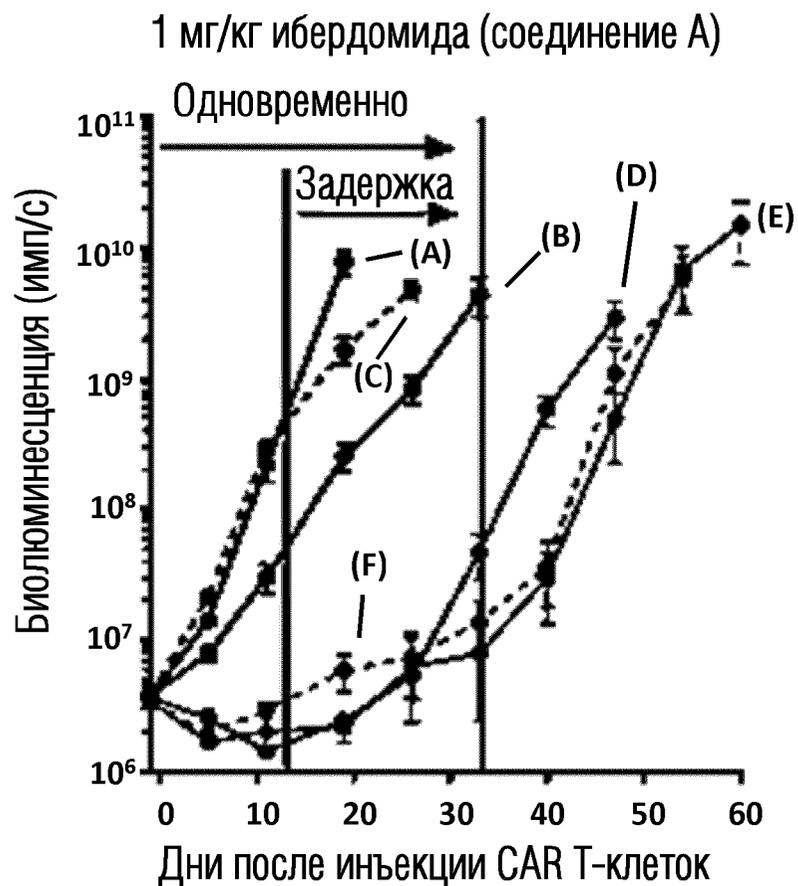
ФИГ. 5В

Среднее (СО) измерение цитокинов в 5 и 9 дни после 24 часов перезагрузки



ФИГ. 6А

B1I
Среднее/группа

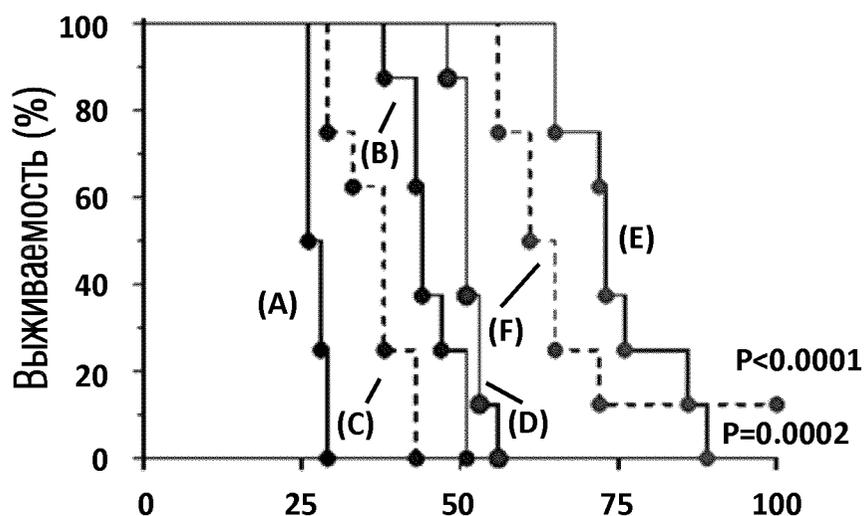


(А) Тх без опухоли (В) одновременный ибердомид (С) задержка ибердомида
(D) анти-BCMA CAR T-клетки (Е) одновременная комбинация (F) задержка комбинации

ФИГ. 6В

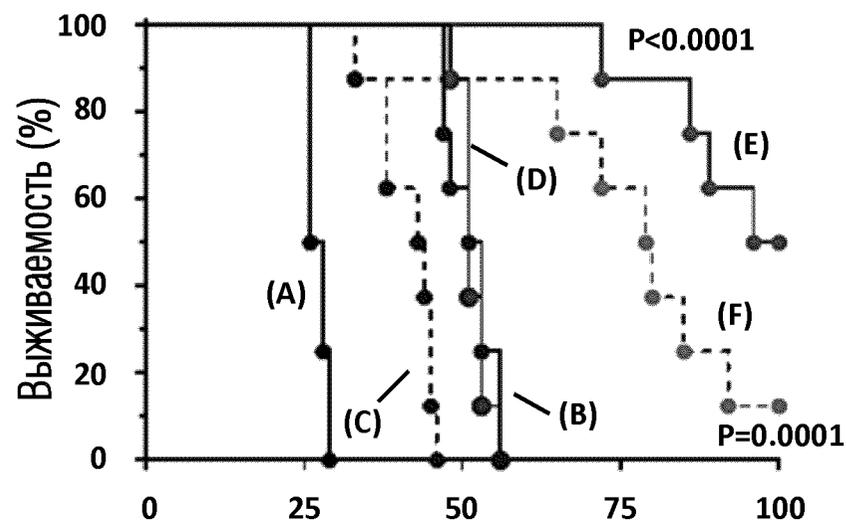
Выживаемость

1 мг/кг ибердомида (соединение А)



Дни после инъекции CAR T-клеток

3 мг/кг ибердомида (соединение А)

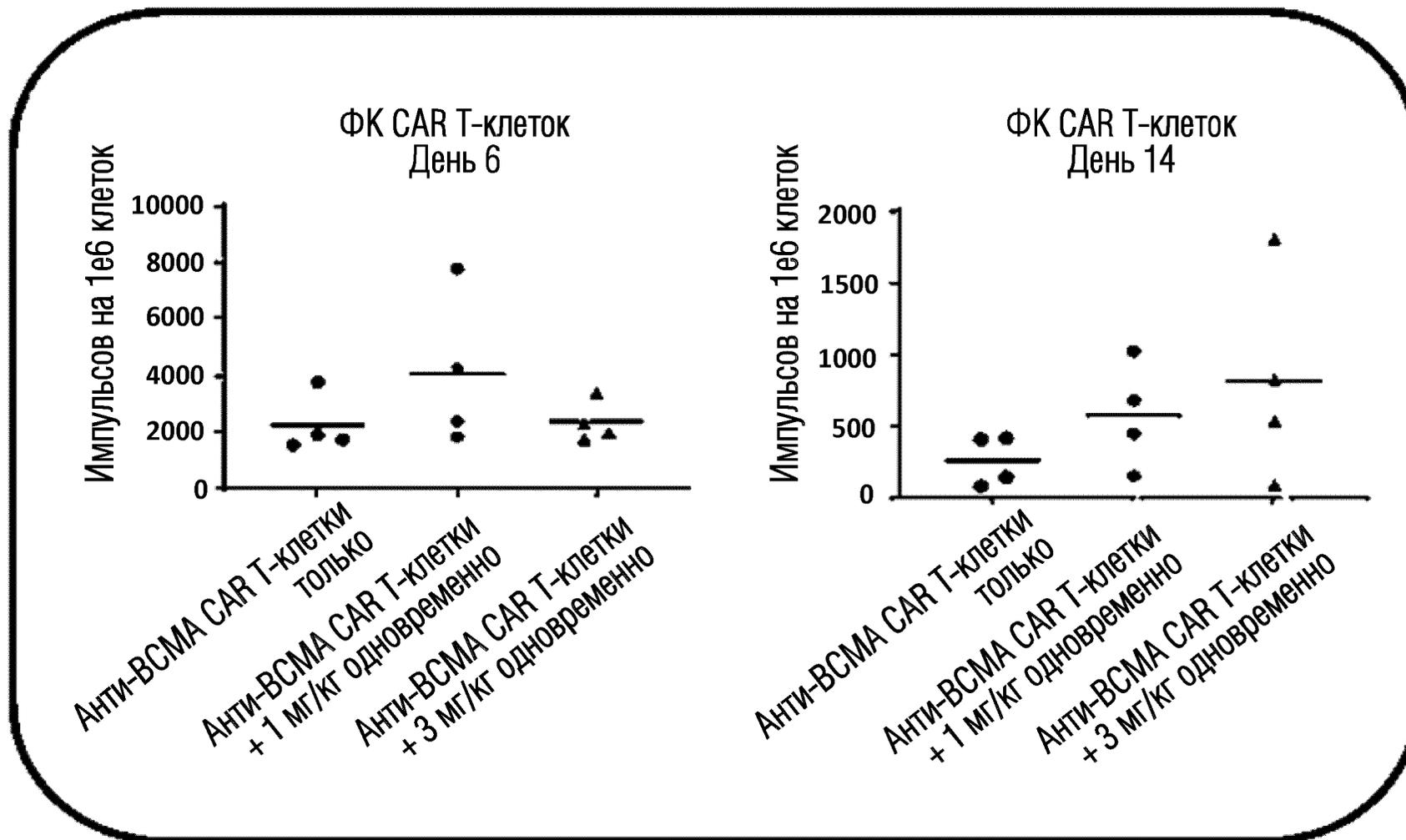


Дни после инъекции CAR T-клеток

- (A) Tx без опухоли (B) одновременный ибупрофен (C) задержка ибупрофена
 (D) анти-BCMA CAR T-клетки (E) одновременная комбинация (F) задержка комбинации

ФИГ. 6С

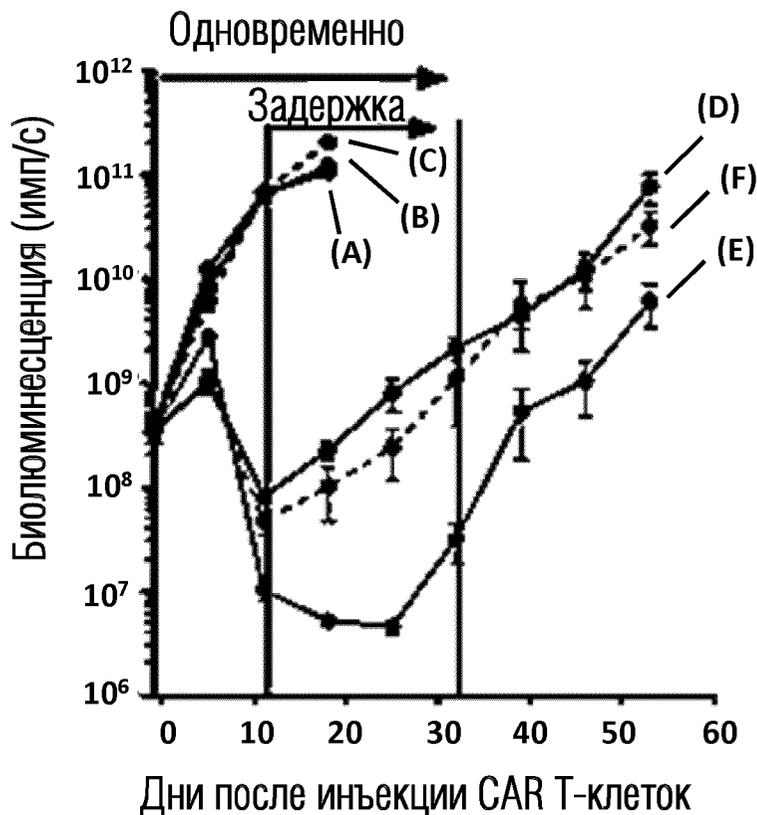
Модель чувствительных к
ибердомиду ОРМ2



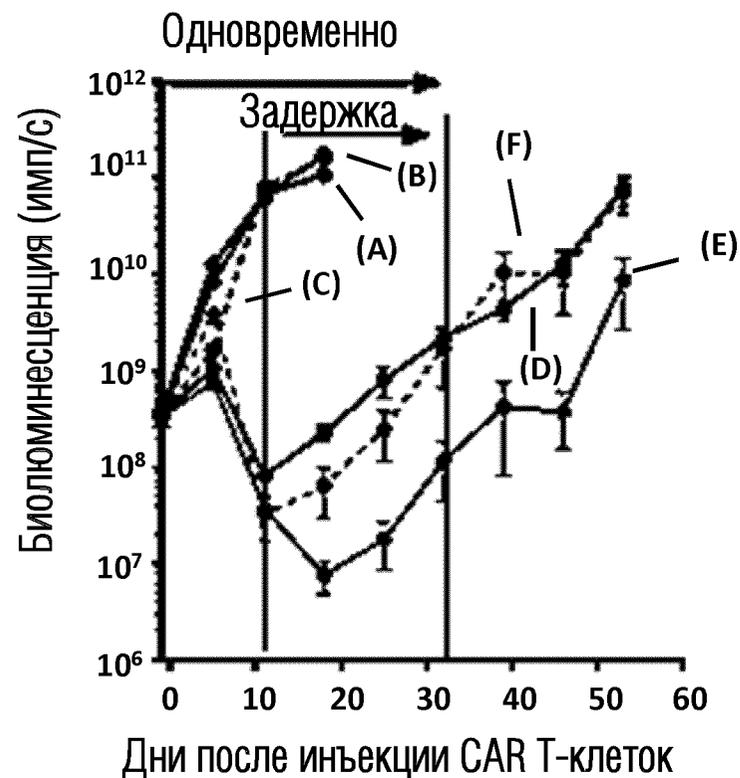
ФИГ. 7А

B1I
Среднее/группа

1 мг/кг ибердомида (соединение А)



3 мг/кг ибердомида (соединение А)

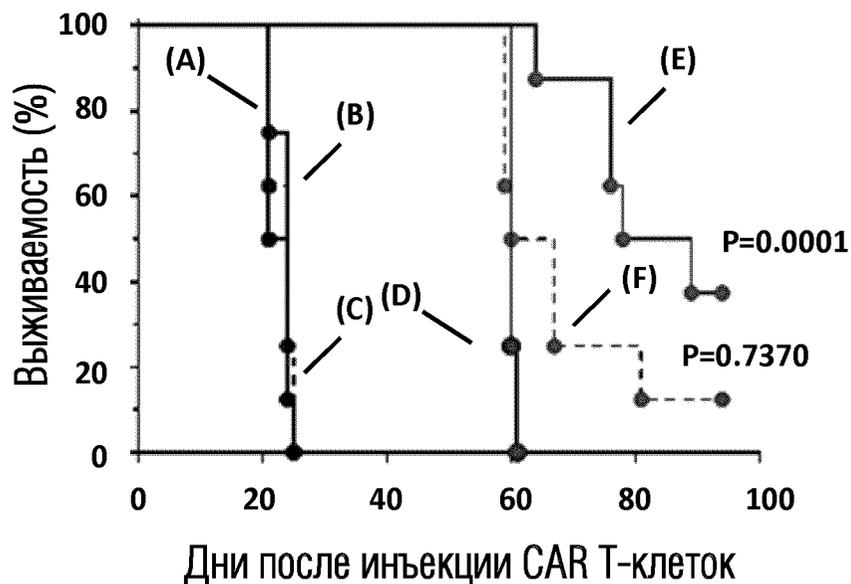


(A) Тх без опухоли (B) одновременный ибердомид (C) задержка ибердомида
(D) анти-BCMA CAR T-клетки (E) одновременная комбинация (F) задержка комбинации

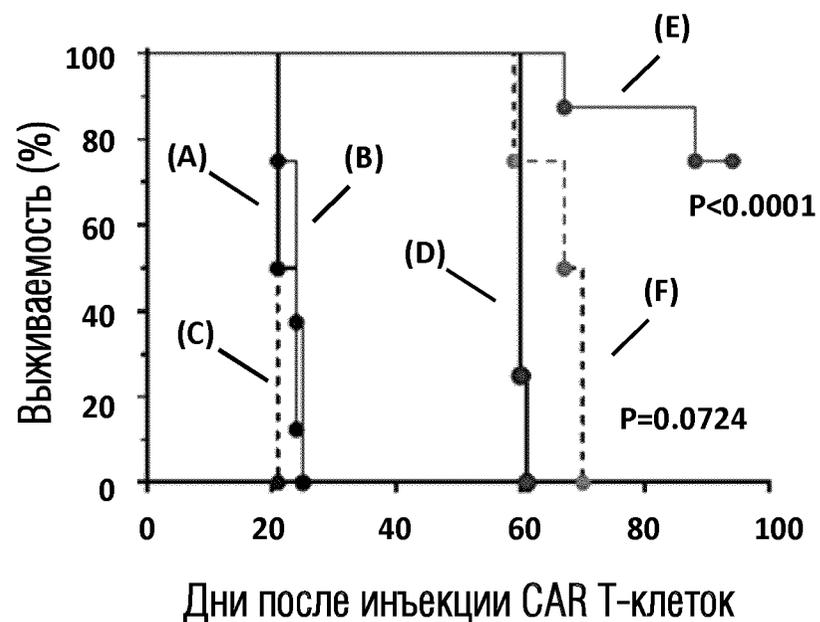
ФИГ. 7В

Выживаемость

1 мг/кг ибердомида (соединение А)



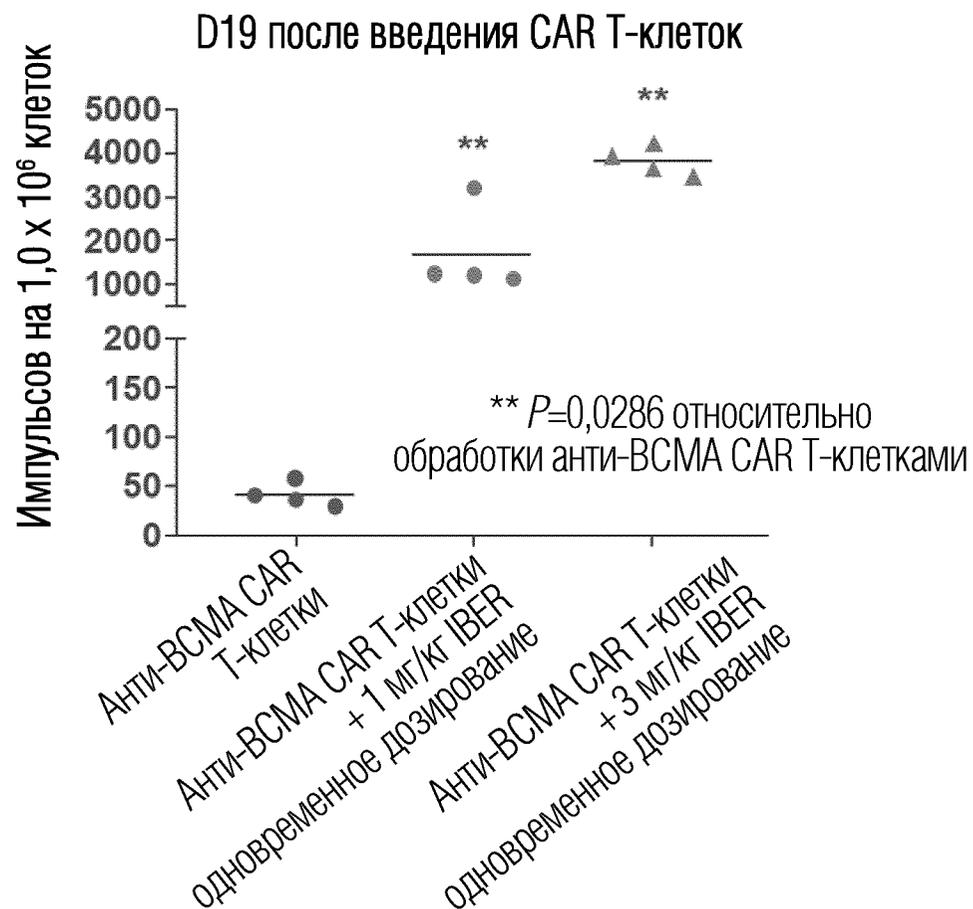
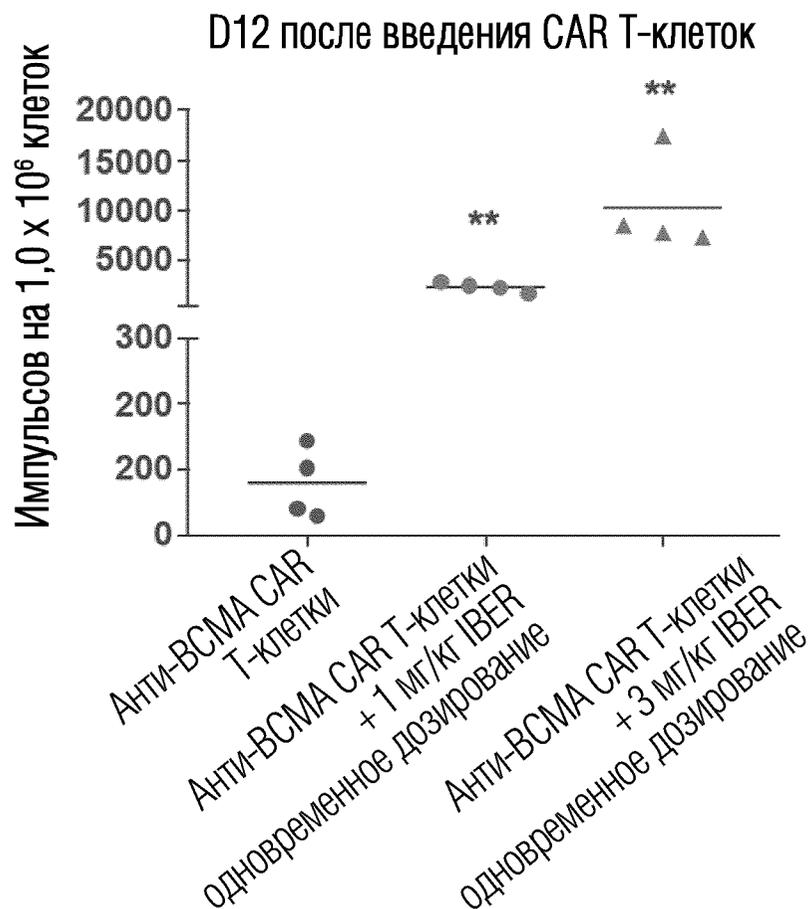
3 мг/кг ибердомида (соединение А)



(A) Tx без опухоли (B) одновременный ибердомид (C) задержка ибердомида
 (D) анти-BCMA CAR T-клетки (E) одновременная комбинация (F) задержка комбинации

ФИГ. 7С

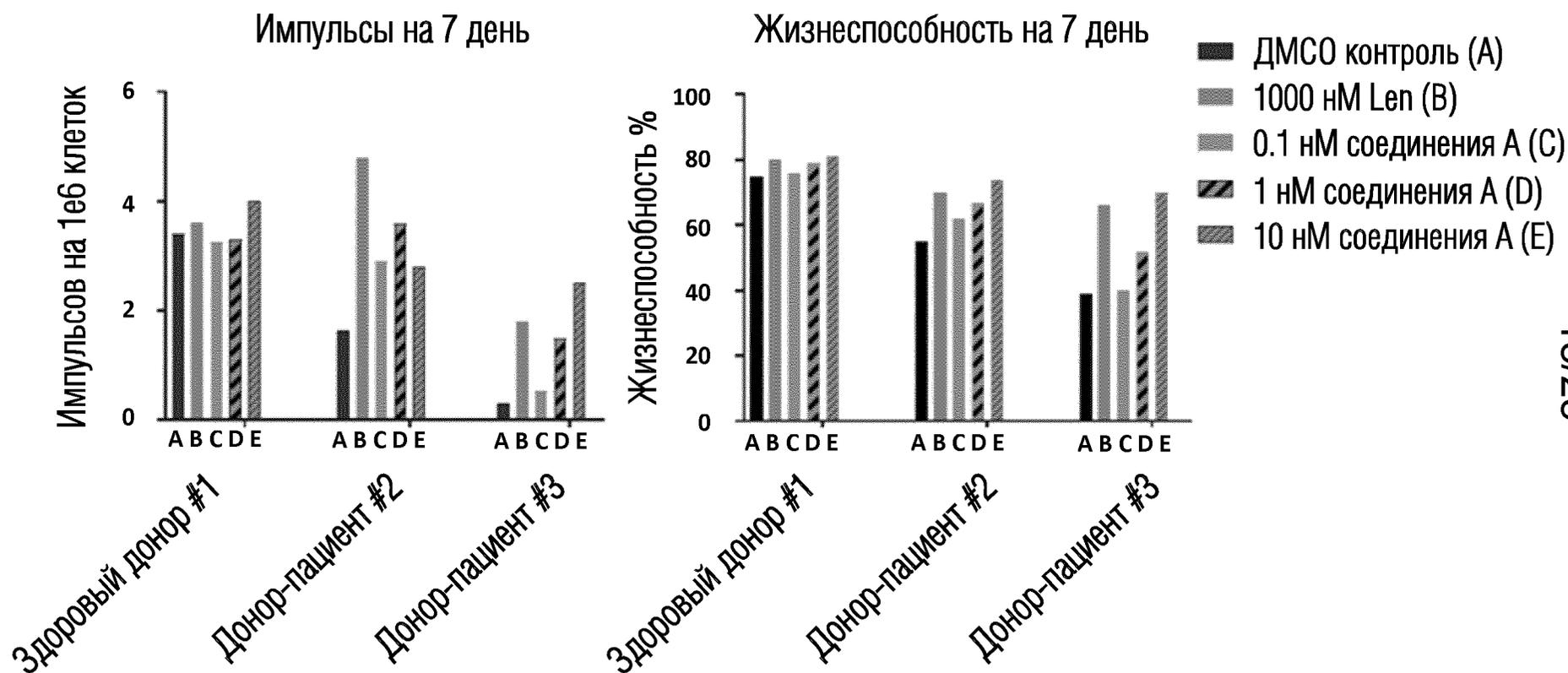
DF-15(R) Модель ксенотрансплантата диссеминированной ММ (резистентной к ибердомиду)



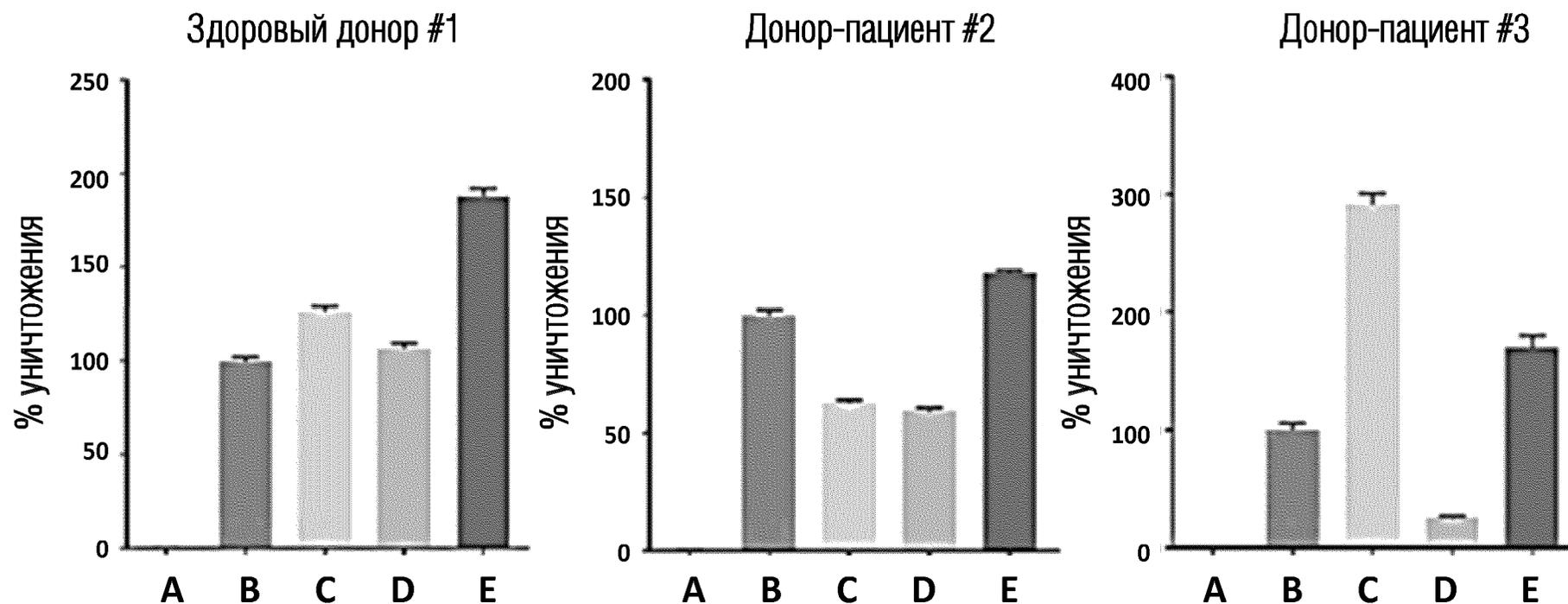
14/25

Включенные клетки > живые > синглеты > Hu-CD45^+ > Hu CD3^+ > Erb BCMA+

ФИГ. 8

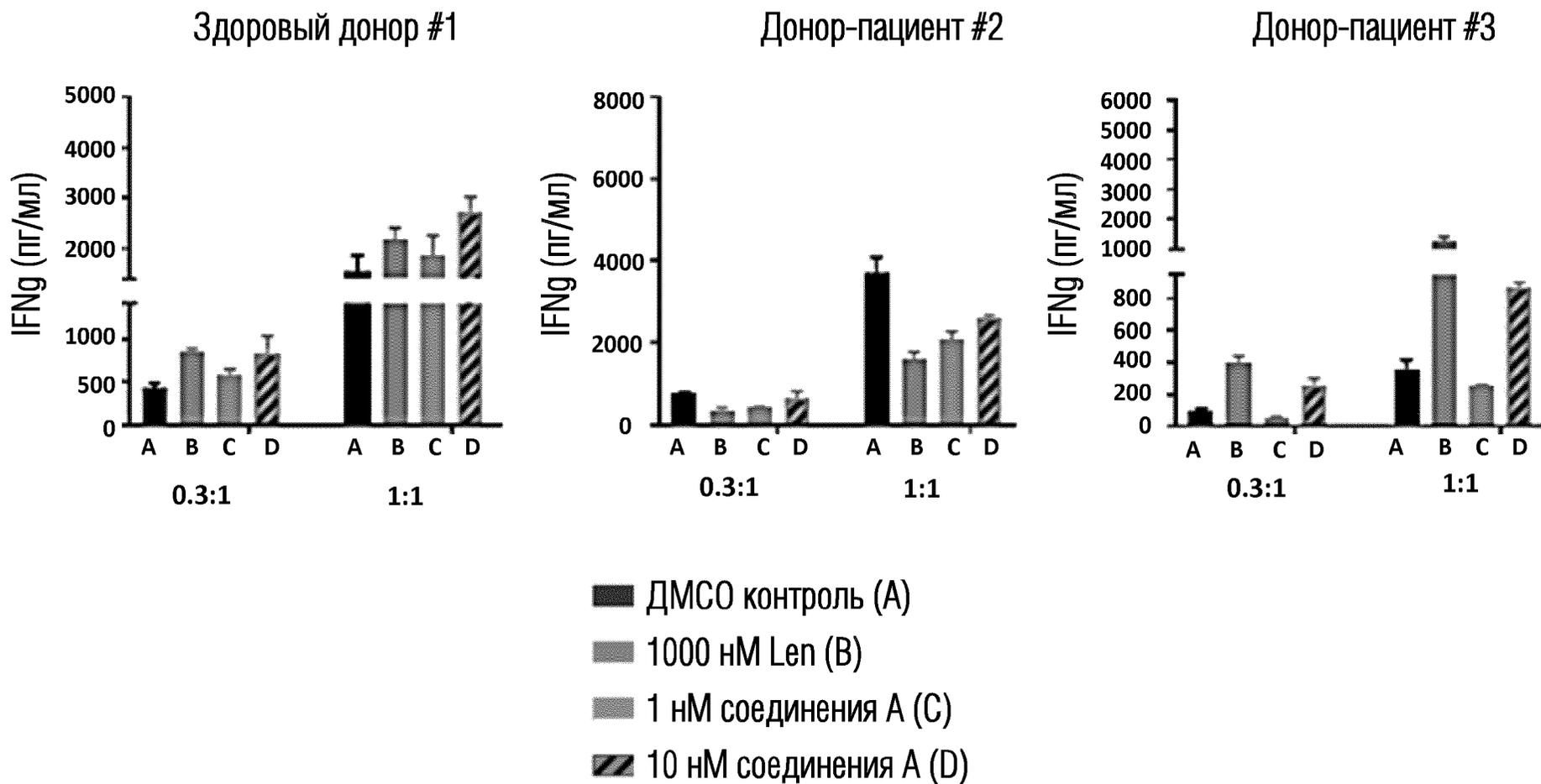


ФИГ. 9А

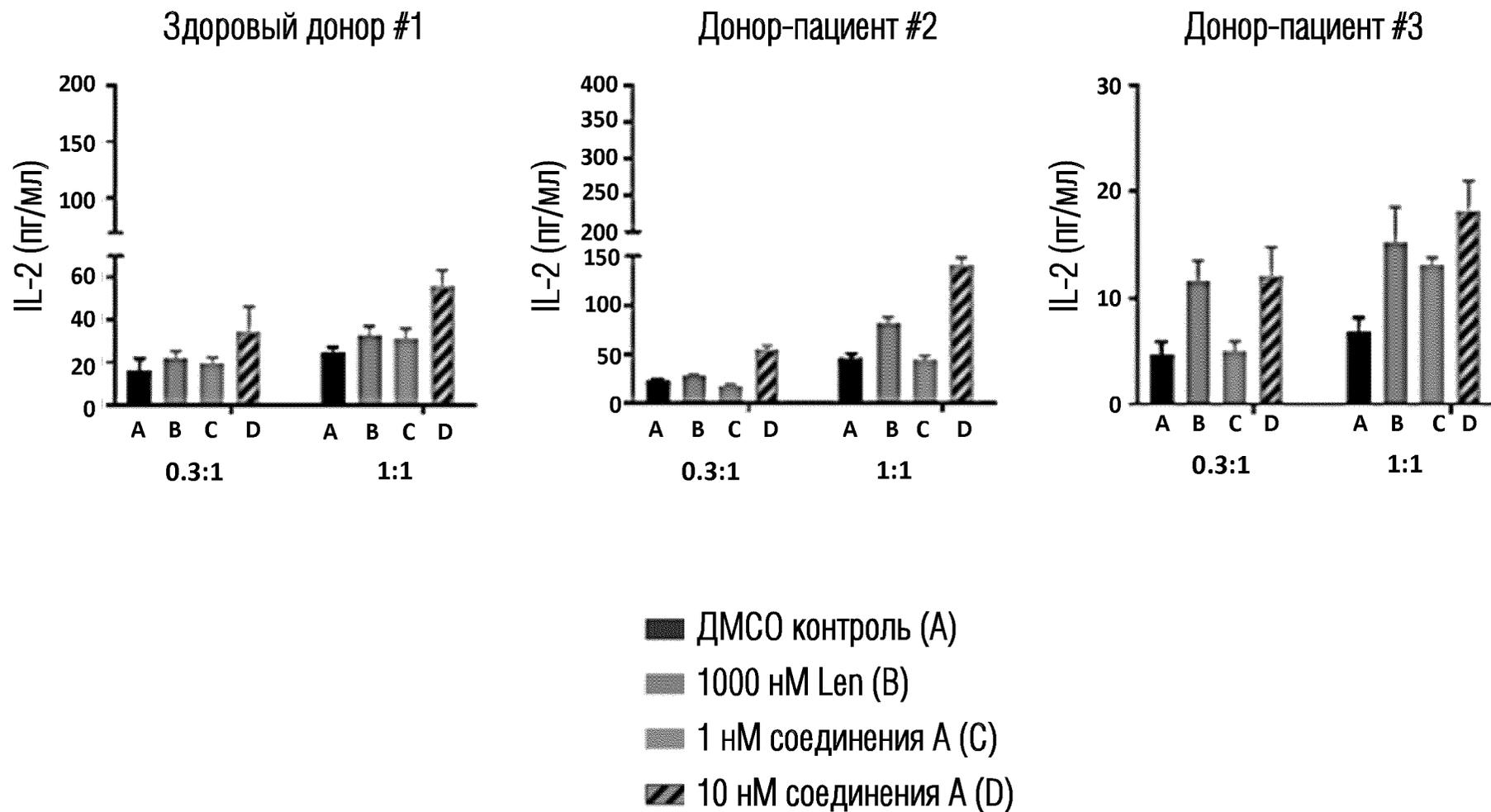


A = RPMI alone
B = Анти-BCMA CAR T-клетки только
C = Анти-BCMA CAR T-клетки + 1000 нМ Len
D = Анти-BCMA CAR T-клетки + 1 нМ соединения А
E = Анти-BCMA CAR T-клетки + 10 нМ соединения А

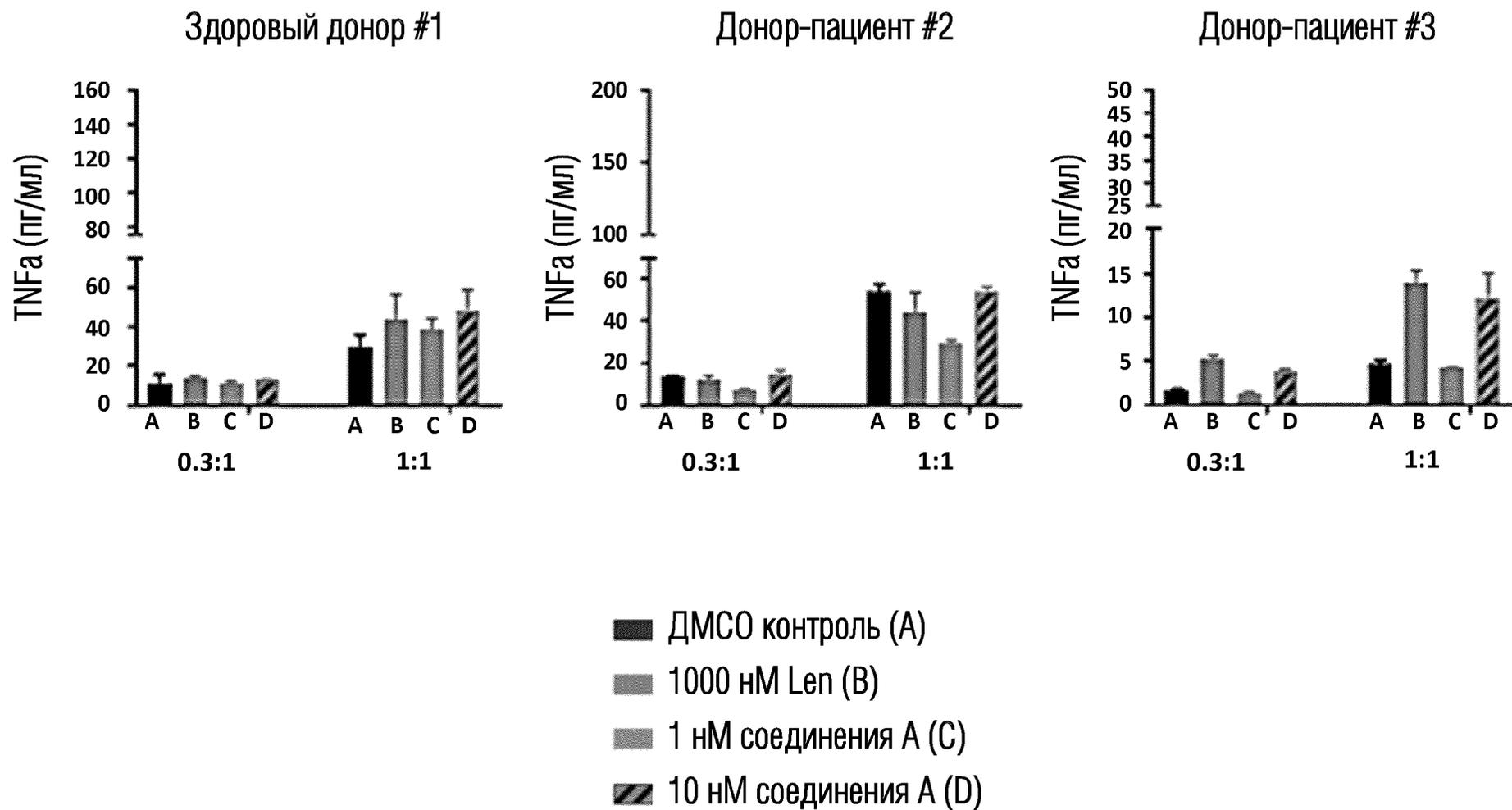
ФИГ. 9В



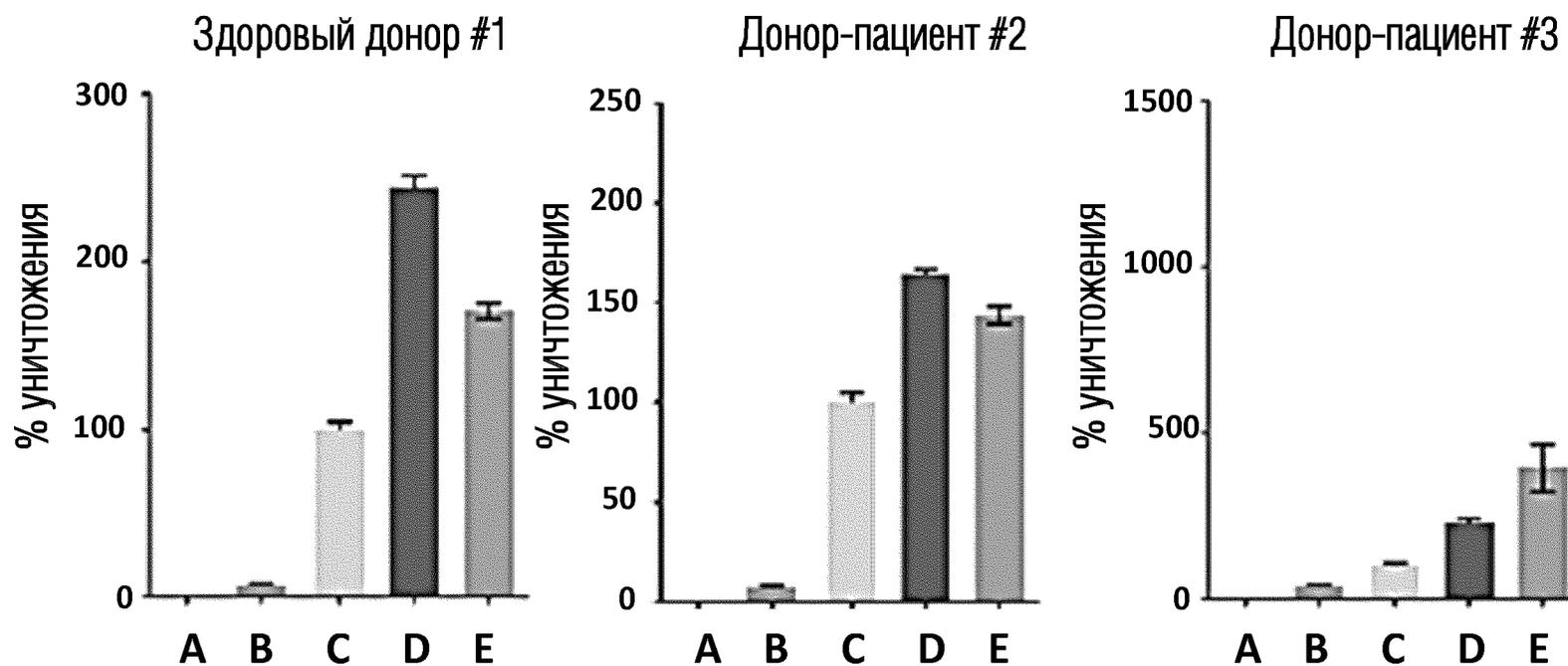
ФИГ. 9С



ФИГ. 9D

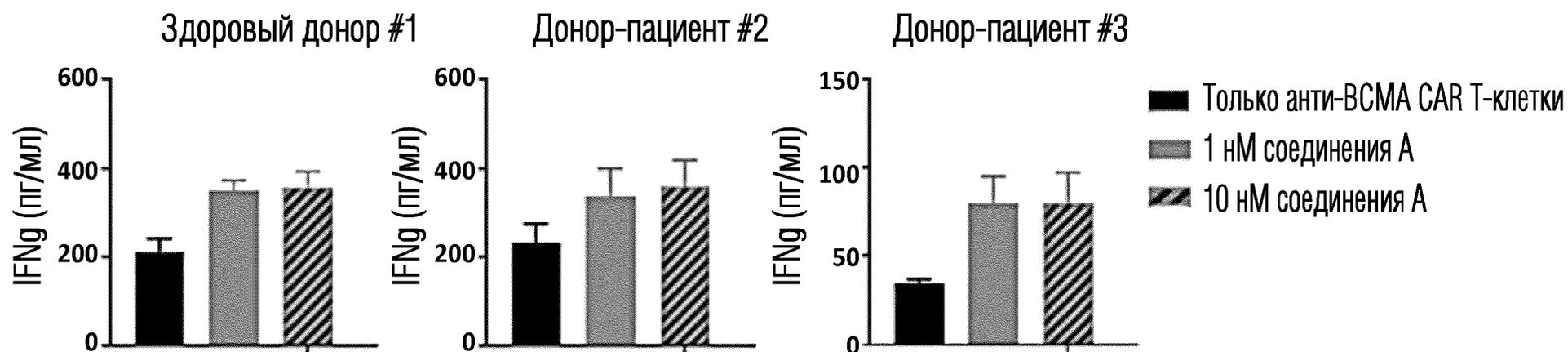


ФИГ. 10А

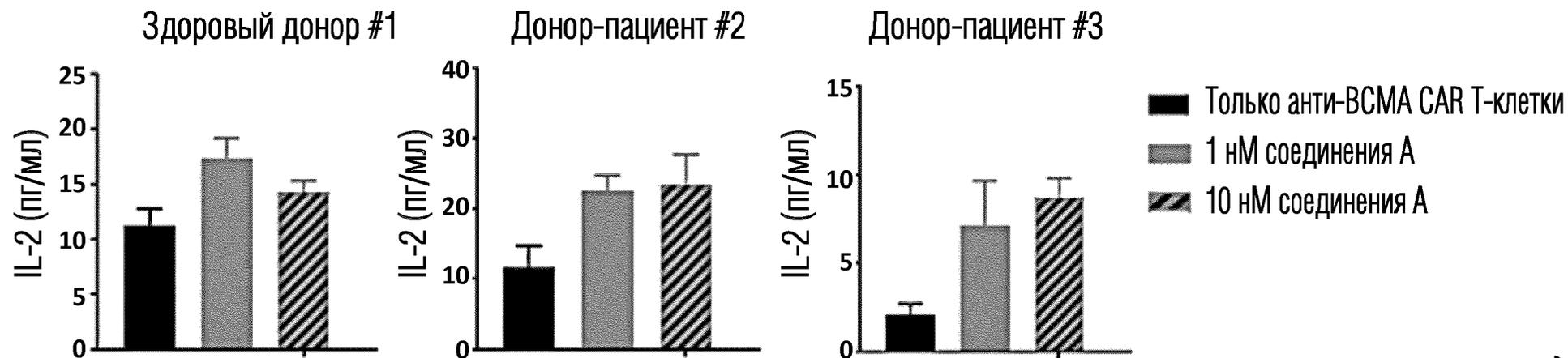


A = RPMI только
B = RPMI + 10 nM Compound A
C = Анти-BCMA CAR T-клетки только
D = Анти-BCMA CAR T-клетки + 1 нМ соединения А
E = Анти-BCMA CAR T-клетки + 10 нМ соединения А

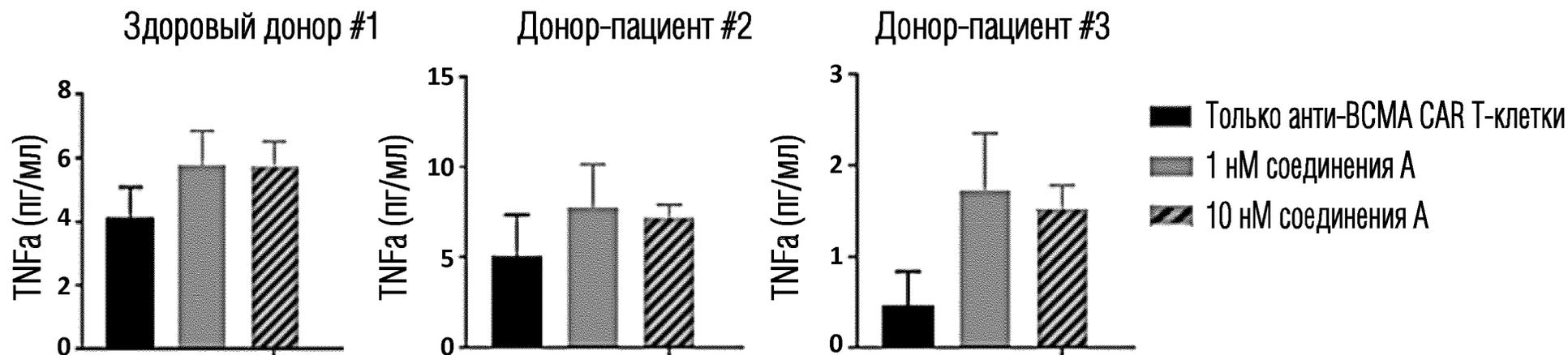
ФИГ. 10В



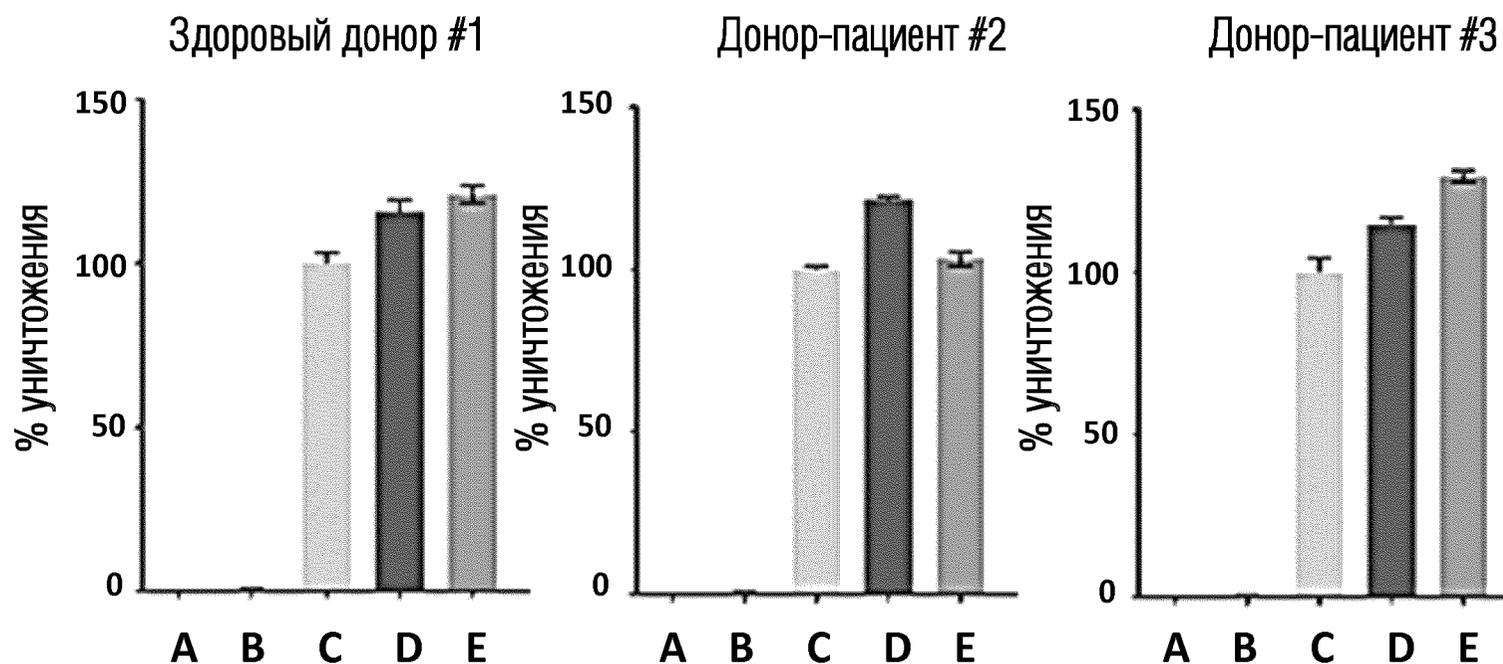
ФИГ. 10С



ФИГ. 10D

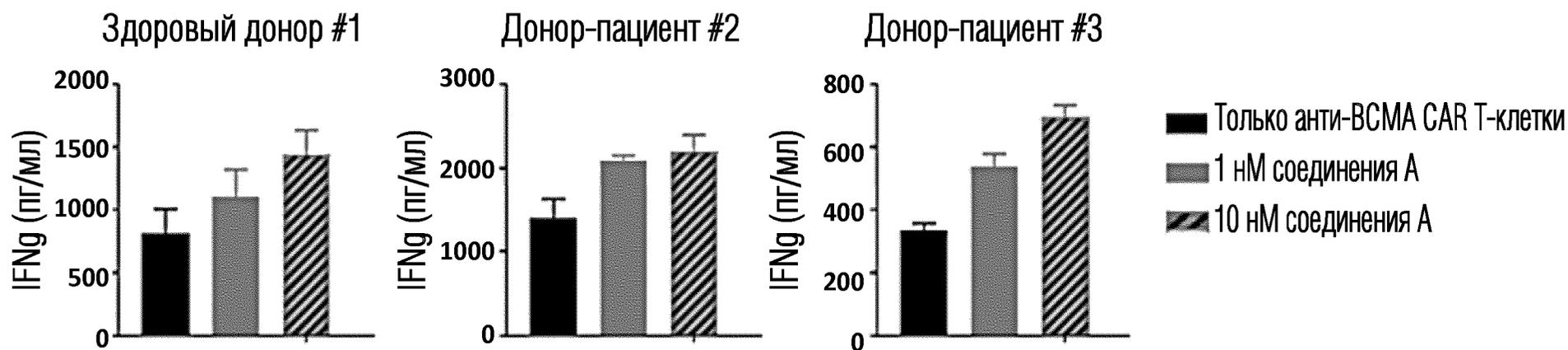


ФИГ. 11А

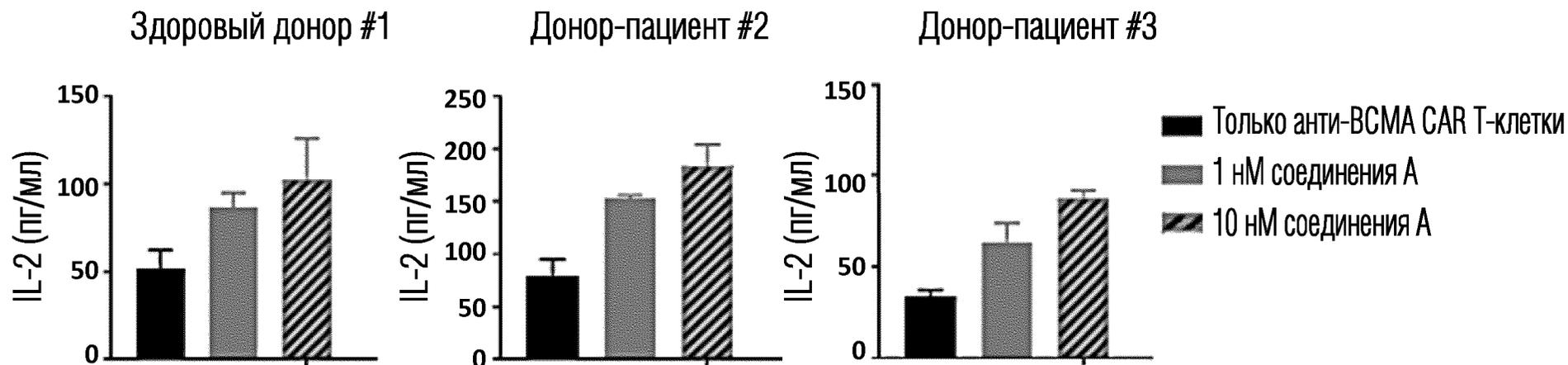


A = DF-15-(R) только
B = DF-15-(R) + 10 нМ соединения А
C = Анти-BCMA CAR Т-клетки alone
D = Анти-BCMA CAR Т-клетки + 1 нМ соединения А
E = Анти-BCMA CAR Т-клетки + 10 нМ соединения А

ФИГ. 11В



ФИГ. 11С



ФИГ. 11D

